



## CHRONIC TREATMENT WITH NIFEDIPINE DOES NOT CHANGE THE NUMBER OF [3H] NITRENDIPINE AND [3H] DIHYDROALPRENOLOL BINDING SITES

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 西山, 照正 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/889">http://hdl.handle.net/10271/889</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 36号	学位授与年月日	昭和61年 3月26日
氏 名	西 山 照 正		
論文題目	<p>CHRONIC TREATMENT WITH NIFEDIPINE DOES NOT CHANGE THE NUMBER OF [<sup>3</sup>H] NITRENDIPINE AND [<sup>3</sup>H] DIHYDROALPRENOLOL BINDING SITES (Nifedipine 慢性投与の [<sup>3</sup>H]Nitrendipine 結合および [<sup>3</sup>H]Dihydroalprenolol 結合に与える影響)</p>		

医学博士 西山 照正

# 論文題目

## CHRONIC TREATMENT WITH NIFEDIPINE DOES NOT CHANGE THE NUMBER OF [ $^3$ H]NITRENDIPINE AND [ $^3$ H]DIHYDRO-ALPRENOLOL BINDING SITES

(Nifedipine 慢性投与の [ $^3$ H]Nitrendipine 結合および [ $^3$ H]Dihydroalprenolol 結合に与える影響)

### 論文の内容の要旨

薬剤の突然の中止によるリバウンド現象 (withdrawal 現象) をきたすことは  $\beta$  遮断剤においてよく知られているが、最近 Ca 拮抗剤においても withdrawal 現象の存在を示唆する報告がなされ、狭心症に広く使用されている Ca 拮抗剤の治療に新たな問題が提起された。また放射性リガンドを用いた Ca 拮抗剤結合部位の研究により、[ $^3$ H]Nitrendipine の高親和性部位が明らかにされ、この結合部位がカルシウムチャンネルと関連することが明らかにされた。そこで今回、 $\beta$  遮断剤および Ca 拮抗剤の withdrawal 現象の機序を受容体の面から検討するため、ラット心筋を用い、Propranolol 慢性投与による [ $^3$ H]Dihydroalprenolol (DHA) 結合に与える影響、ならびに Nifedipine 慢性投与による [ $^3$ H]Nitrendipine および [ $^3$ H]DHA 結合に与える影響について検討した。

#### <方法>

7～8週令の雄 Sprague Dawley ラットを用い、Propranolol 投与群には Propranolol 15mg/kg を生理食塩水に溶解し、8時間毎に2週間腹腔内投与、最終投与8時間後に心臓を摘出した。Nifedipine 投与群には Nifedipine 50mg/kg を 0.5% CMC (カルボキシメチルセルロース) 液に懸濁し、12時間毎に2週間ゾンデにて経口投与、最終投与12時間および48時間後に心臓を摘出した。摘出した心臓より膜標品を作製し、結合実験に使用した。

[ $^3$ H]DHA 結合実験: 0.5～13 nM の [ $^3$ H]DHA を用い、30℃、20分間インキュベーションを行い、ガラス線維濾紙で吸引濾過した。その濾紙を洗浄後、濾紙の放射活性を液体シンチレーションカウンターにて測定した。10  $\mu$ M Propranolol 存在下の結合を非特異的結合とした。結合曲線の Scatchard 解析より総受容体数 (Bmax) と解離定数 (Kd) を求めた。

[ $^3$ H]Nitrendipine 結合実験: 0.03～0.80 nM の [ $^3$ H]Nitrendipine を用い、4℃、90分間暗室にてインキュベーションを行い、同様に濾紙の放射活性を測定した。1  $\mu$ M Nifedipine 存在下の結合を非特異的結合とした。結合曲線の Scatchard 解析より Bmax と Kd を求めた。

#### <結果>

1) Propranolol 投与群では [ $^3$ H]DHA 結合の Bmax は対照群に比し有意に増加し ( $p < 0.01$ )、また Kd も対照群に比し有意に増加した ( $p < 0.01$ )。

2) Nifedipine 投与群では [ $^3$ H]Nitrendipine 結合の Bmax、Kd とともに最終投与12時間および48時間後で有意な変化は見られなかった。

3) Nifedipine 投与群では [ $^3$ H]DHA 結合の Bmax、Kd とともに最終投与12時間および48時間後で有意な変化は見られなかった。

#### <考案>

Lefkowitz らは Propranolol の慢性投与により心筋の  $\beta$  受容体の数が増加することを示し、これにより withdrawal 現象が起こることを示唆した。我々の結果も [ $^3$ H]DHA 結合の Bmax が Propranolol 投与群で有意に増加し、 $\beta$  受容体数の増加が認められた。最近 [ $^3$ H]Nitrendipine 結合で測定される脳のカルシウムチャンネルの数が morphine 投与により増加したという報告があり、カルシウムチャンネルの数が薬剤投与により変化し得ることが示唆された。そこで今回、Nifedipine の慢性投与による心

筋のカルシウムチャンネルおよび $\beta$ 受容体の変動を、 $[^3\text{H}]$ Nitrendipine 結合および $[^3\text{H}]$ DHA 結合により検討したが、心筋のカルシウムチャンネルおよび $\beta$ 受容体には有意な変動は見られなかった。以上より、 $\beta$ 遮断剤withdrawal 現象には心筋の $\beta$ 受容体数の増加の関与が示唆されたが、Ca拮抗剤withdrawal 現象には心筋のカルシウムチャンネルおよび $\beta$ 受容体数の増加の関与はなく $\beta$ 遮断剤withdrawal 現象とは異なる機序によると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

治療中の薬物を突然中止することにより反踏現象として病状の悪化を来す、いわゆるリバウンド現象(withdrawal 現象)が数種の薬物で報告されている。

このwithdrawal 現象の発生メカニズムについては数多くの研究がなされているが、各薬物により異なり、また要因も一つではない。

申請者は、Ca拮抗薬の一つのNifedipineによるwithdrawal 現象の発生メカニズムをレセプターの変化により説明できるか否かを検討した。withdrawal 現象がレセプターの変化によりおけると報告されているPropranololと比較し、Nitrendipine結合部位とDihydroalprenolol結合部位について研究を行った。

本論文の主な内容と特色は次の様なものである。

1.  $\beta$ レセプターのligandとしてよく用いられている $[^3\text{H}]$ -Dihydroalprenolol, Ca-channelのligandとしては、新しく開発された $[^3\text{H}]$ -Nitrendipineを用いた。
2.  $[^3\text{H}]$ -Nitrendipineおよび $[^3\text{H}]$ -Dihydroalprenololのラット心臓から調整した膜標本への特異的結合は、いずれも飽和特性を呈し、かつScatchard解析の結果、その特異的結合部位は、各々ただ一か所である。
3. Nifedipineの $[^3\text{H}]$ -Nitrendipine結合に対する抑制効果、およびPropranololの $[^3\text{H}]$ -Dihydroalprenolol結合に対する抑制効果はいずれもcompetitiveであり、各々一つの結合部位を競合する。
4. Propranolol投与により、心筋 $\beta$ レセプターの数、親和性は増加した。
5. Nifedipine投与により心筋Ca-channel数、 $\beta$ レセプター数の変化は認められなかった。
6. Nifedipineによるwithdrawal 現象はPropranololと異なる機序によると推論した。

この研究に対し審査委員から次の様な質疑がなされた。

1. withdrawal 現象の発生するまでの薬物投与期間と実験で行った投与期間
2. withdrawal 現象が発生したことを動物で確認する方法
3. 心筋膜標本作製方法の詳細について
4. 光に不安定なNifedipineの扱い方について
5. Propranololで $\beta$ レセプターが減少するメカニズム
6. PropranololでKdの増す理由
7. Nifedipineは主に血管に働きwithdrawal 現象を起こすのに心筋を用いた理由

これらの質問に対し申請者は適切な回答を行った。

以上審査の結果、本審査委員会は、本論文が学位授与に値する十分な内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	中 島 光 好			
	副査	教授	一 瀬 典 夫	副査	教授	市 山 新
	副査	教授	吉 見 輝 也	副査	助教授	仁 瓶 禮 之