



Affinities for α -and β -Adrenoceptor Subtypes of YM-09538, a New Combined α -and β -Adrenoceptor Antagonist, by Radioligand Binding Assay

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: 作成者: 浅野, 雅晴 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1285

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	医博論第 8号	学位授与年月日	昭和61年 2月28日
氏名	浅野雅晴		
論文題目	<p>Affinities for α-and β-Adrenoceptor Subtypes of YM-09538, a New Combined α-and β-Adrenoceptor Antagonist, by Radioligand Binding Assay (新しいα・β遮断薬 YM-09538 のα及びβ受容体のサブタイプに対する親和性の標識化合物結合実験による検討)</p>		

医学博士 浅野雅晴

論文題目

Affinities for α - and β -Adrenoceptor Subtypes of YM-09538, a New Combined α - and β -Adrenoceptor Antagonist, by Radioligand Binding Assay

(新しい $\alpha \cdot \beta$ 遮断薬YM-09538の α 及び β 受容体のサブタイプに対する親和性の標識化合物結合実験による検討)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

最近、放射性同位元素により標識した化合物を用いた受容体結合実験(以下binding assayと略す)の手法が開発され、各種薬剤とその特異的結合部位との相互作用及び各々の受容体のサブタイプに対する親和性を検討することが可能になりつつある。本研究においては最近開発された標識化合物である[^3H]-prazosin, [^3H]-clonidine及び[^3H]-dihydroalprenolol ([^3H]-DHA)を用いたbinding assayを実施し、これら標識化合物と各々の結合部位との結合性を明らかにし、更に、これら標準化合物の特異的結合部位への各種アドレナリン作働薬の結合性とその薬理作用の相関を検討した。また、1分子に $\alpha \cdot \beta$ 受容体遮断作用を有する化合物の交感神経受容体及びそのサブタイプに対する結合性も検討した。

〔方法〕

[^3H]-Prazosin及び[^3H]-clonidineを用いたbinding assayはラット全脳から調整した膜標本を用い、[^3H]-DHAを用いたbinding assayはモルモット心臓及び肺から調整した膜標本を用いて行なった。

〔結果及び考察〕

[^3H]-Prazosin及び[^3H]-clonidineのラット全脳から調整した膜標本への特異的結合並びに[^3H]-DHAのモルモット心臓及び肺から調整した膜標本への特異的結合は可逆的かつ飽和現象を呈した。Scatchard解析よりこれら標識化合物の特異的結合部位は各々1箇所であることが示された。各標識化合物の特異的結合部位に対する親和性及び結合部位の数は以下の通りであった。([^3H]-prazosin : $K_d = 0.20 \pm 0.03 \text{ nM}$, $B_{\text{max}} = 105 \pm 7.0 \text{ fmoles/mg protein}$; [^3H]-clonidine : $K_d = 1.9 \pm 0.1 \text{ nM}$, $B_{\text{max}} = 130 \pm 2.0 \text{ fmoles/mg protein}$; [^3H]-DHA心臓 : $K_d = 3.8 \pm 0.3 \text{ nM}$, $B_{\text{max}} = 52 \pm 1.7 \text{ fmoles/mg protein}$; [^3H]-DHA肺 : $K_d = 3.2 \pm 0.1 \text{ nM}$, $B_{\text{max}} = 1.8 \pm 0.28 \text{ pmoles/mg protein}$)。[^3H]-Prazosin結合部位に対する α アドレナリン作働薬の抑制作用の相対効力順(prazosin>phentolamine>yohimbine>clonidine)及び、[^3H]-clonidine結合部位に対する α アドレナリン作働薬の抑制作用の相対効力順(clonidine>phentolamine>yohimbine>prazosin)より、この[^3H]-prazosin及び[^3H]-clonidine結合部位が各々 α_1 及び α_2 受容体であることが明らかとなった。また、このbinding assayにより求めた K_i 値と pA_2 値との間に有意な相関が認められたことから、この中枢の[^3H]-prazosin及び[^3H]-clonidine結合部位は各々末梢での α_1 及び α_2 受容体と基本的に同様の性質を有していることも明らかとなった。一方、[^3H]-DHAの心臓及び肺での特異的結合部位に対する β アドレナリン作働薬の抑制作用の相対効力順からも心臓での結合部位が β_1 受容体、肺での結合部位が β_2 受容体であることが明らかとなった。しかし、 β_2 受容体での K_i 値と pA_2 値との間には有意な相関が認められたが、 β_1 受容体においては両者間に有意な相関が認められなかった。1分子中に異なる薬理活性を持つ化合物であるYM-09538及びlabetalolは[^3H]-prazosin, [^3H]-clonidine及び[^3H]-DHAのいずれの結合部位においても、併有する薬理活性に影響されることなく1分子で α 及び β 両受容体を各々競合的に拮抗することが明らかとなった。

以上の結果より、 α 受容体に関しては、1) [^3H]-prazosin 及び [^3H]-clonidine が選択的に α_1 及び α_2 受容体を標識する優れた標識化合物であること、2) この binding assay は α アドレナリン作動薬の α 受容体のサブタイプに対する結合性を正確に測定できる優れた実験方法であること、3) 中枢において求めた K_i 値と末梢において求めた薬理活性とが良く相関することが明らかとなった。一方、 β 受容体に関しては、 β 受容体の標識自体には問題はないが、 β 受容体のサブタイプに対する選択性の検討には問題の有ることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

従来、薬剤の α 遮断作用、 β 遮断作用は古典的薬理的方法により検討されていたが、それらの方法では α 受容体及び β 受容体のサブタイプに対する選択的な親和性を検討することができなかった。

本申請者は新しく開発された標識化合物である [^3H]-prazosin, [^3H]-clonidine 及び [^3H]-dihydroalprenolol ([^3H]-DHA) を用い、これら標識化合物自体の結合特性を明らかにし、これら標識化合物の特異的結合部位への各種アドレナリン作動薬の結合性とその薬理作用の相関について検討した。更に、1分子で α 及び β 両受容体遮断作用を有する新しい化合物である YM-09538 の交感神経受容体およびそのサブタイプに対する結合性について検討した。

審査委員会において、申請者によってなされた口頭発表と論文審査について審議した結果、まとめられた本論文の特徴と評価すべき点は、次の如くである。

1. [^3H]-Prazosin 及び [^3H]-clonidine のラット全脳から調整した膜標本への特異的結合ならびに [^3H]-DHA のモルモット心臓及び肺から調整した膜標本への特異的結合はいずれも可逆的で、飽和現象を呈し、かつ Scatchard 解析の結果、その特異的結合部位は各々、ただ1箇所であることを確認した。
2. [^3H]-Prazosin 及び [^3H]-clonidine 脳結合部位に対する α アドレナリン作動薬の抑制作用の相対効力順より、前者は α_1 受容体を、後者は α_2 受容体を選択的に標識する優れた標識化合物であることを確認した。
3. この binding assay により求めた K_i 値と摘出臓器において求めた pA_2 値との間に有意な相関が認められたことから、中枢の [^3H]-prazosin 及び [^3H]-clonidine 結合部位は各々末梢での α_1 及び α_2 受容体と基本的に同様の性質を有していることを明らかにした。
4. [^3H]-DHA の心臓及び肺での結合部位に対する β アドレナリン作動薬の抑制作用の相対効力順により、心臓での結合部位が β_1 受容体、肺での結合部位が β_2 受容体であることを確認したが、 β_1 受容体の場合には薬理学的手法により求めた pA_2 値と binding assay により求めた K_i 値との間に相関が認められず、binding assay による β 受容体のサブタイプの研究には問題があることを明らかにした。
5. 1分子中に α 及び β 受容体遮断作用を有する新しい化合物 YM-09538 は [^3H]-prazosin、 [^3H]-clonidine 及び [^3H]-DHA いずれの結合部位においても、受容体レベルにおいて併有する薬理活性に影響されることなく1分子で α 及び β 両受容体を各々競合的に拮抗することを明らかにした。

以上の点で高い評価を与えることについて全員が同意したが、以下の問題点について指摘され、質疑が行われた。

1. α 受容体の binding assay に血管ではなく脳の膜標本を使用しているが、組織による差はないか。また動物の種類による差はないか。
2. 本剤 (YM-09538) の光学異性体のうち、*l* 体と *d* 体で薬理作用に差がないか。
3. 本剤とラベタロールとの臨床的有用性の比較について。
4. 本剤の吸収・排泄および bioavailability について。
5. β 受容体のサブタイプ研究における標識化合物の問題点について。

以上の点に、申請者は概ね適切な回答がなされた。以上の審査の結果、本審査委員会は本論文が学位授与

に値する充分の内容を備えているものと全員一致で判定し審査を終了した。

論文審査担当者	主査	教授	山崎	昇				
	副査	教授	藤田	道也	副査	教授	藤本	大三郎
	副査	教授	吉見	輝也	副査	助教授	芳賀	達也