



Muscarinic Receptors in Porcine Caudate Nucleus

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: 額田, 敏秀 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/876

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 23号	学位授与年月日	昭和60年 3月26日
氏 名	額 田 敏 秀		
論文題目	Muscarinic Receptors in Porcine Caudate Nucleus (ブタ脳尾状核のムスカリン性アセチルコリン受容体)		

医学博士 額田 敏秀

論文題目

Muscarinic Receptors in Porcine Caudate Nucleus

(ブタ脳尾状核のムスカリン性アセチルコリン受容体)

論文の内容の要旨

ブタ脳尾状核のシナプス膜分画のムスカリン性アセチルコリン受容体の特性を標識アゴニストの $[^3\text{H}]$ cis-methyldioxolane ($[^3\text{H}]$ CD)及び標識アンタゴニストの $[^3\text{H}]$ quinuclidinyl benzylate ($[^3\text{H}]$ QNB)を用いて調べ以下の結果を得た。

1. $[^3\text{H}]$ シス-メチルダイオキソレンのグアニンヌクレオチド感受性部位への結合に対するニッケルイオン及び他のカチオンによる増大効果。

1) $[^3\text{H}]$ CD結合の K_d , B_{max} は8.1 nM, 390 fmol/mg 蛋白質と求まり、後者の値は $[^3\text{H}]$ QNB結合部位の10%に相当した。2) 種々のムスカリン性アゴニストと $[^3\text{H}]$ CDとの競合結合実験により、 $[^3\text{H}]$ CDはアゴニストに対し親和性の高い部位に選択的に結合すると考えられた。3) 0.1-1.0 mMのNiイオンにより $[^3\text{H}]$ CD結合量は2-3倍増加し、1.0 mM以上では逆に結合が阻害された。4) GTPにより $[^3\text{H}]$ CD結合量は20%に減少した。このGTPの効果はNiイオン存在化でも認められた。

2. 易熱性(グアニンヌクレオチド感受性)及び耐熱性(グアニンヌクレオチド非感受性)部位への $[^3\text{H}]$ シス-メチルダイオキソレンの結合に対するN-エチルマレイミドの異なる効果。

1) ブタ脳尾状核のシナプス膜分画の $[^3\text{H}]$ CD結合の約80%は熱処理(50℃、7分)及びトリプシン処理により失われた。同一の処理条件で $[^3\text{H}]$ QNB結合は影響を受けなかった。これらの処理後に残った20%の $[^3\text{H}]$ CD結合はもはやグアニンヌクレオチド及びNiイオンの影響を受けなかった。2) N-エチルマレイミド(NEM)は $[^3\text{H}]$ CD結合に対し2種の異なる効果を示した。即ち易熱性でグアニンヌクレオチド感受性の $[^3\text{H}]$ CD結合は低濃度のNEMで阻害され、耐熱性でグアニンヌクレオチド非感受性の結合は高濃度のNEMで増大した。

以上の結果よりブタ脳尾状核のシナプス膜分画のムスカリン性アセチルコリン受容体のうちアゴニストに親和性の高い部位又は状態はGTP感受性とは非感受性の2種あることがわかった。前者の熱、トリプシン、NEMなどに対する感受性は他の受容体のアゴニスト高親和性結合の性質と良く似ており、受容体-GTP結合蛋白質(G_i)複合体の性質を反映しているものと考えられる。Niなどのイオンによりこの結合が増加することは生体膜上でも受容体と G_i の結合が固定したものではなくなんらかの平衡関係にあることを示唆する。一方GTP非感受性結合に対するNEMの効果はムスカリン性アセチルコリン受容体に特異的なものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

標識アゴニストを用いて高親和性受容体-アゴニスト結合を研究する技術が進歩し、ムスカリン性アセチルコリン受容体のアゴニスト及びアンタゴニスト結合を解析することが可能となった。

申請者はブタ脳尾状核から調製したシナプス膜標品を用いて、ムスカリン受容体の標識アゴニストである $[^3\text{H}]$ シス-メチルダイオキソレン(以下単にCD)及び同標識アンタゴニストである $[^3\text{H}]$ キヌクリジニルベンジレート(以下単にQNB)の結合を解析した。

論文審査の結果、以下の点を明らかにしたことが今回の研究で主な成果であることが認められた。

1. CDは脳のムスカリン受容体結合の場合も高い親和性を示す。
2. 結合のヒル係数を測定し、CDが均一な受容体サブクラスに結合することを示した。
3. 脳の受容体によるCD結合もグアニンヌクレオチドによって影響される。
4. 金属イオンとしては、マグネシウムよりニッケルがはるかに有効である。
5. ムスカリン受容体の場合もアゴニスト結合は熱に弱い。

6. 加熱で失われたCD結合はそのSH基をアルキル化すると相当程度の回復を示す。

本研究は、 μ 受容体とドーパミン受容体の研究で有効であった方法に基づいて中枢神経系のムスカリン受容体の性質を解析したものであって、従来他の受容体で得られた知見を確認するとともに脳のムスカリン受容体独自の性格をも明らかにしたすぐれた学問的業績として高く評価できる。

したがって、本論文は学位授与にふさわしいものであると、全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	藤田	道也			
	副査	教授	菅野	剛史	副査	教授	中島光好
	副査	教授	藤本	大三郎	副査	助教授	仁瓶禮之