



Carbachol-induced potentiation and inhibition of acid secretion by guinea pig gastric glands

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 梶村, 昌良 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/925

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 72号	学位授与年月日	平成 元年 3月27日
氏 名	梶 村 昌 良		
論文題目	Carbachol – induced potentiation and inhibition of acid secretion by guinea pig gastric glands (モルモット遊離胃腺におけるカルバコール刺激による胃酸分泌促進および抑制作用)		

Carbachol-induced potentiation and inhibition of acid secretion by guinea pig gastric glands

(モルモット遊離胃腺におけるカルバコール刺激による胃酸分泌促進および抑制作用)

論文の内容の要旨

胃酸の産生部位である壁細胞には、主にヒスタミン(H_2)、ムスカリン性アセチルコリン、ガストリンの3種類のレセプターが存在し、それぞれ単独に酸分泌を刺激する。さらにヒスタミンとカルバコール(ムスカリン性アゴニスト)、およびヒスタミンとガストリンの同時刺激による酸分泌の相乗作用が報告されている。今回、カルバコールがヒスタミンの作用を増強するだけでなく高濃度では逆に抑制することが見いだされた。この増強、抑制作用を仲介するムスカリン性アセチルコリンレセプター(ムスカリンレセプター)の薬理学的特性を調べる目的でモルモット胃底腺粘膜より遊離胃腺を調製しヒスタミンおよび種々のムスカリン性アゴニスト、アンタゴニストの効果を検討した。

(方法)

モルモット胃底腺領域より胃粘膜を剥離、細切し95% O_2 、5% CO_2 通気下でブローナーゼP(20 μ g/ml、15分)、コラゲナーゼ(0.4mg/ml、60分)処理をした。未消化の粘膜片を100meshのナイロンクロス濾過にて除去し、遊離胃腺を得た。 $[^{14}C]$ アミノピリン($[^{14}C]$ AP、 $pK_a=5$)0.1 μ Ci/ml、アゴニスト、アンタゴニストを含むEearle溶液に遊離胃腺を浮遊させ、37 $^{\circ}C$ で反応させた後、遠心法およびガラス繊維口紙(Whatman GF/B)による濾過洗浄法を用い、細胞内に蓄積された $[^{14}C]$ APをカウントし、酸分泌能の指標とした。結合阻害実験は、0.6 nM $[^3H]$ N-メチルスコポラミンを用い検討した。

(結果)

$[^{14}C]$ AP蓄積は、ヒスタミン(10^{-9} ~ 10^{-3} M)あるいはカルバコール(10^{-8} ~ 10^{-3} M)で用量依存的に増加し、最大刺激はそれぞれ 10^{-4} M($p<0.01$)、 10^{-6} M($p<0.01$)で得られた($[^{14}C]$ AP蓄積比:コントロール; 2.3 ± 0.4 、ヒスタミン 10^{-4} M; 7.3 ± 0.9 、カルバコール 10^{-6} M; 4.6 ± 0.7 ; 反応時間20分)。ヒスタミン 10^{-4} M刺激における $[^{14}C]$ AP蓄積をカルバコールは 10^{-6} Mで増強($p<0.01$)、 10^{-3} Mで抑制($p<0.01$)した。ヒスタミン 10^{-4} M刺激に対するカルバコールによる増強、抑制作用は、アンタゴニストであるアトロピン、ピレンゼピン、AF-DX116により抑制された。アトロピン、ピレンゼピン、AF-DX116の存在、非存在下におけるカルバコールの用量反応曲線をカルバコールが2つのレセプター部位に結合し、そのうち1つの部位(部位1)は $[^{14}C]$ AP蓄積の促進、他方(部位2)は $[^{14}C]$ AP蓄積の抑制に作用すると考え非線形最小二乗法を用いて解析した。これらのリガンドの両部位に対する解離定数を(部位1: K^1d 、部位2: K^2d)として以下の値を得た。カルバコール(K^1d : 0.28 μ M、 K^2d : 7.1 μ M)、アトロピン(K^1d : 0.28nM、 K^2d : 0.54nM)、ピレンゼピン(K^1d : 45nM、 K^2d : 560nM)、AF-DX116(K^1d : 380nM、 K^2d : 4400nM)。同様に $[^3H]$ N-メチルスコポラミン結合阻害実験により以下の解離定数を得た。カルバコール(0.18 μ M 10%、31 μ M)アトロピン(1.24nM)、ピレンゼピン(15nM 16%、220nM)、AF-DX116(370nM 10%、2970nM)。

(考察)

モルモットの胃酸分泌におけるヒスタミン刺激をカルバコールが増強(相乗作用)するだけでなく、高濃度ではヒスタミン刺激を逆に抑制することが示された。2つの作用ともアトロピン、ピレンゼピン、AF-DX116で抑制されることよりムスカリンレセプターを介する作用と考えられる。ピレンゼピン、AF-DX116は部位1には高親和性を示し、部位2には低親和性を示した。このことよりカルバコールによる2つの作用は異なったムスカリンレセプターサブタイプを介する可能性が示唆された。さらに結合阻害実験から2種類以上のサブタイプの存在を示唆する結果が得られた。

(結論)

モルモットの胃酸分泌におけるヒスタミン刺激に対し、ムスカリン性アセチルコリンレセプター刺激は、

増強、抑制と2つの作用を示す両作用はそれぞれ異なったレセプターサブタイプを介する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

胃酸の分泌は過去10年単離した胃腺ないし壁細胞を用いて研究されてきた歴史がある。本研究ではムスカリン性アセチルコリンレセプター (mAChR) を介する系が酸分泌に及ぼす効果と形式をmAChRの種々のリガンドを用いて検討した。その結果、mAChRの2種のサブタイプの存在が示唆された。審査委員会は以上の実験結果と考察を評価した。

研究発表は質疑を交えつつ行われ、発表後も質疑を続行した。質問の主なものは以下のとおりである。

- 1 用いた標品の性質
- 2 H^+ , K^+ -ATPaseの制御とリン酸化
- 3 アセチルコリンレセプターと Ca^{2+} の細胞内流入
- 4 壁細胞の収縮タンパク質
- 5 K^2d の意味
- 6 結合部位1及び2の割合
- 7 ビレンセピンの中樞神経系への影響
- 8 ムスカリン性アセチルコリンレセプターのサブタイプ
- 9 本研究の臨床への還元

以上の試問に対する申請者の解答はおおむね適切であり、本研究は学位授与に値するものと委員全員が一致して判定した。

論文審査担当者	主査	教授	藤 田 道 也		
	副査	教授	高 田 明 和	副査	教授 中 島 光 好
	副査	助教授	中 村 真 一	副査	助教授 馬 場 正 三