Osaka University Knowledge Archive

Title	中枢神経系ムスカリニックアセチルコリンレセプターの研究 : ラット脳シナプス膜へのアセチルコリンおよびアトロピンの結合について
Author(s)	内田, 修次
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32349
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【29】

氏名・(本籍)	内田修次（うちだしゅうじ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4431 号
学位授与の日付	昭和53年12月6日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**中枢神経系ムスカリニックアセチルコリンレセプターの研究 —ラット脳シナプス膜へのアセチルコリンおよびアトロピンの結合について—**
論文審査委員	(主査) 教授 吉田 博 (副査) 教授 垣内 史朗　教授 和田 博

論文内容の要旨

〔目　的〕

薬物は，それぞれ生体の特定の高分子と結合することによってその作用を発現すると考えられ，そのような高分子をレセプターと呼んだ。最初，概念として出発したレセプターは，近年ニコチニックアセチルユリンレセプターを中心としてその分子的性質が明らかになりつつある。ムスカリニックレセプターにおいても，3-Quinuclidinyl benzilate (QNB)，Benzilylcholinemustardなどのアンタゴニストの結合の性質が研究されている。

中枢神経系において，種々の抗ムスカリン剤が作用を有していること，抗ムスカリン剤に対する特異的で親和性の高い結合部位の存在，また，電気生理学的事実よりムスカリニックレセプターの存在が示唆されている。

Ariëns等は，種々のレセプターで，アゴニストとアンタゴニストがレセプター分子上の別の部位に結合する可能性を示し，ムスカリニックレセプターにおいても同様であると主張している。

我々は，脳シナプス膜へのアセチルコリン (ACh) およびアトロピン (Atr) の結合を調べ，その性質および両者の結合の差について若干の知見を得た。

〔実験方法〕

シナプス膜は，小脳，橋を除いたラット脳より，Whittaker等の方法に準じて調製した。〔^{3}H〕-ACh (200mCi/m mole) および〔^{3}H〕-Atr sulfate (880mCi/mmole) の結合は100mM NaCl 50mM Tris-HCl (pH 7.4)，1 mM $CaCl_2$，約300 μg蛋白のシナプス膜を含む溶液中で，0℃ 1 hrのインキュベーションの後，メンブランフィルター (0.45 μ, 13mmϕ) にて沪過し，フィルターをBray液中で

カウントすることにより測定した。非特異的結合は，1000～10,000倍の非放射性ACh もしくはAtr を加えて測定し，これと総結合量の差をもって特異的結合とした。

〔結　　果〕

ACh，Atr の結合は完全に可逆的で，0℃40分で平衡に達した。結合のK_Dは，それぞれ2×10^{-8}M，1×10^{-9}Mであり最大結合量は，0.8～1.2p mole/mg prot. および1.5p mole/mg prot. であった。またこのACh結合は，ムスカリニックアゴニストである oxotremorineにより完全に阻害された。

1mM5-5′-dithiobis（2-nitrobenzoic acid）（DTNB）で37℃20分処理すると，ACh 結合量は増加して，最大結合量は，1.5p mole/mg prot. とAtr の最大結合量と近い値となった。一方Atr結合自体は，全くDTNBで影響をうけないが，AChによるAtr結合阻害はDTNBによって約10倍強められた。DithiothreitolはDTNBの効果を阻害して，ACh結合量をDTNB存在下の約半分にした。以上の結果より，ムスカリニックレセプターもニコチニックレセプター同様S-S結合を持っている可能性がある。しかし，他のSH酸化剤（cystine，酸化型glutathione）が効果がなかったことより，DTNBの作用は，それ自体の結合によって生じているとも考えられる。いずれにせよ，SH基またはS-S結合がムスカリニックレセプターのACh結合部位に重要な役割を持っていると考えられる。

Atr結合に対するいくつかのアゴニスト，アンタゴニストの効果を見ると，1.7×10^{-9}M Atr に対する50%阻害濃度は，Atr およびMethyl-Atr.：2×10^{-9}M，trihexyphenidyl；2×10^{-8}M，oxotremorine 2×10^{-6}M，ACh：1×10^{-5}M（DTNB存在下1×10^{-6}M），pilocarpine 2×10^{-5}M であった。Snyder等が，QNB結合で示したのと同様に本実験の場合も，アゴニストによる阻害は，その末梢神経での作用強度および前述のACh結合のK_Dと較べて非常に弱い。アンタゴニストの阻害作用は，その末梢神経での薬理作用強度とよく一致する。一方，ACh結合に対するアゴニスト，アンタゴニストの阻害作用は，Atr結合に対する場合とは異なり，両者とも，その末梢神経での作用強度とよく一致している。

〔総　　括〕

以上の結果は，一つの結合部位でのアゴニスト，アンタゴニストの拮抗という従来のレセプター理論では説明し難いと思われる。アゴニスト，アンタゴニスト結合に対する両者の阻害強度の差，DTNBの作用の差は，アゴニスト，アンタゴニストが一分子のレセプター上の異った部位に，しかも同時に結合し得ることを示唆している。

論文の審査結果の要旨

本研究はラット脳のムスカリニック・レセプターに対するagonistとantagonistの結合の比較を行った論文である。レセプター分子上のSH基の役割，agonist，antagonistの結合に対する相互の拮抗関係の解析より，両者の結合の性質に大きな相違のあることを指摘し，従来の伝統的なレセプター理論に新しく疑問を提示したもので，充分学位論文に値するものと考える。