

Title	内因性ムスカリニック受容体阻害因子について
Author(s)	野口, 豊
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32682
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	野 口 肇
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5214 号
学位授与の日付	昭和56年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	内因性ムスカリニック受容体阻害因子について
論文審査委員	(主査) 教授 吉田 博 (副査) 教授 和田 博 教授 垣内 史朗

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

神経伝達調節機構に関して、これまでに伝達物質の合成、遊離および受容体レベルで検討されてきた。受容体レベルでは、アゴニストの持続的刺激により受容体量の減少することが、ムスカリニックアセチルコリン受容体や β -アドレナージック受容体で報告されている。また、受容体のアゴニストに対する親和性に変化を生ずることも、 α -および β -アドレナージック受容体で報告されている。これらの現象の分子レベルでの詳細は未だ解明されていない。神経伝達調節物質の可能性が期待される内因性伝達物質結合阻害物質の存在がGABA受容体において報告され、神経伝達調節に重要な役割を果たすと考えられている。そこで、神経伝達調節を分子レベルで理解するため、ムスカリニックアセチルコリン受容体に対する内因性アセチルコリン結合阻害物質について調べた。

〔方法ならびに成績〕

I. 実験方法：ムスカリニックアセチルコリン受容体を豊富に含むと考えられるラット脳（小脳を除く）膜分画を用い、ムスカリニックACh受容体と特異的に結合することが知られている ^3H -キナクニジルベンジレート(^3H -QNB)を用いて、 ^3H -QNBの膜分画への結合量を測定した。内因性結合阻害物質は、ラット各組織から10mM EDTA-25mM Tris·HCl緩衝液でホモゲナイズしその105,000×g上清の ^3H -QNB結合阻害活性を測定した。

II. 成 績

1. ^3H -QNB結合阻害物質の確認について

①各組織における ^3H -QNB結合阻害活性は、同一蛋白質質量当り、副腎>小腸>睾丸>肺臓>

>脳>腎臓>肝臓>心臓>脾臓の順であった。②阻害能が強かつムスカリニック受容体も多いと考えられる小腸を用いて³H-QNB 阻害物質の性質を調べた。限外濾過(分子量1万で分画)を行ったところ、透析性および非透析性の両画分において³H-QNB 阻害活性が認められた。③透析性分画の³H-QNB 阻害活性は37℃10分間で約50%失活した。非透析性分画では約30%失活したが、非透析性分画のpH 4.6 extract では37℃5時間まで安定であった。④透析性分画の³H-QNB 結合阻害の阻害形式は、³H-QNB と拮抗阻害を示した。一方、非透析性分画では、非拮抗阻害を示したことから、少なくとも分子量の異なる二種以上³H-QNB 結合阻害物質の存在することが見出された。

2. 分子量/万以下と推定される結合阻害物質 (Inhibitor I) の性質について

①アセチルコリンエステラーゼ処理を行ったが、阻害活性は減弱せずACh 以外の物質であることが示された。②ジチオスライトール、アスコルビン酸とシステイン各1mMで37℃での失活は防げなかった。

3. 分子量/万以上と推定される結合阻害物質 (Inhibitor II) の性質について

①トリプシンおよびアミノペプチダーゼ処理の結果、³H-QNB 結合阻害活性は40~60%失活した。一方、ホスホリパーゼCでは結合阻害活性に全く影響を与えなかった。②熱安定性について検討したところ、60℃で約50%、90℃以上でほぼ100%失活した。以上のことから、蛋白質を含む化合物であることがわかった。③Inhibitor II の結合阻害は、可逆的な阻害であることが示された。④プロテアーゼ・インヒビターにより、Inhibitor II の阻害活性は影響を受けなかった。よって、Inhibitor II のプロテアーゼである可能性は否定された。⑤1価カチオン (Na⁺およびK⁺) により、阻害活性は減弱した。⑥³H-QNB 結合阻害活性にSH基が必須であるか否か、NE MおよびDTNB 前処置を行い阻害活性を測定し検討したが、阻害活性に変化がなく、阻害活性にSH基は必須でないことが示された。

[総括]

1. ムスカリニックアセチルコリン受容体とアンタゴニスト³H-QNB の結合を阻害する生体内物質の存在することを認めた。
2. 生体内阻害物質は、その阻害形式や37℃での安定性の違いから、分子量の異なる少なくとも二種以上の物質の存在していることが示された。
3. 分子量/万以上と考えられる阻害物質は、蛋白質を含み、阻害形式は³H-QNB と非拮抗的で、その阻害活性にSH基は必須でなく、1価カチオンにより阻害の減弱する可逆的結合阻害活性を示す物質であることが認められた。
4. 分子量/万以下と推定される阻害物質は、アセチルコリン以外の物質で、SH基によらない失活を37℃で生じ、³H-QNB と拮抗的阻害を示す物質であることが認められた。

論文の審査結果の要旨

神経伝達の調節機構に関して、伝達物質の合成、遊離および受容体レベルで検討されているが不明な点が多い。

本論文は、アセチルコリンムスカリン様受容体において、AChの結合を阻害する少なくとも二種の内在性物質が存在していることを見出した。神経伝達調節機構の解明に貢献するもので、学位論文に充分値するものと考えられる。