



Title	ラット大脳皮質切片からのアセチルコリン放出におよぼすcyclic nucleotide誘導体の効果
Author(s)	米原, 典史
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32905
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	米 原 典 史
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 0 6 0 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 8 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	ラット大脳皮質切片からのアセチルコリン放出におよぼす cyclic nucleotide誘導体の効果
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]

中枢神経系における神経伝達物質の一つとされるアセチルコリン (ACh) はシナプス前部位において合成され、神経興奮に伴い放出され神経伝達にたずさわっている。近年、シナプス前部位に放出調節部位 (pre-receptor) が存在し、神経伝達物質の放出調節に関与することが示唆されている。しかしながら、その詳細な性質等に関しては、まだ不明な点が多い、今回中枢神経の伝達物質であるAChの放出調節部位に注目し、その存在、性質について検討を行った。さらに脳切片へのムスカリン様作用薬の添加、あるいは脱分極刺激によりcyclic GMPが上昇すること、cerebral cortexのpyramidal cellへのcyclic GMPのelectrophoreticalな投与によりAChのムスカリン様作用と類似した作用が表われる等の報告があるため、ACh放出調節機構へのcyclic nucleotideの関与についても検討を行った。

[方法ならびに成績]

実験動物として雄性SD系ラット (体重150—200g) を使用した。断頭後、直ちに脳を摘出、Stadie-Riggs スライサーを用い厚さ0.3~0.4mmの大脳皮質切片を作製した。得られた切片 (80~100mg) を eserine 5×10^{-5} M を含む Krebs-Ringer 重炭酸液 (120mM NaCl, 25.5mM NaHCO₃, 4.8mM KCl, 2.7mM CaCl₂, 1.2mM MgSO₄, 1.2mM KH₂PO₄, 10mM glucose) 中で好氣的条件下、37℃で15分間pre-incubationを行った後、被検薬物と 5×10^{-5} M eserine を含む反応液に移し、さらに15分間incubationを行った。incubation終了後、反応液と切片に分離し、切片は8倍量の蟻酸-アセトン (15:85V/V) 混合液中でホモジェネートした。反応液および切片中のACh量をGoldberg &

McCamanの方法に準じて測定し、その合成と放出を検討した。

ACh放出に関するムスカリン様作用薬およびcyclic nucleotideの影響

反応液中の K^+ 濃度の上昇（5—45mM）に伴いAChの放出は増加し、atropine (Atr.) 5×10^{-6} Mの添加により、さらに著しい放出が認められた。一方クラレ様作用薬はAtr. 様作用を示さなかった。このhigh K^+ (25mM) 下でのAtr. の効果は、Atr. 濃度 5×10^{-6} M, 反応時間10分以上において最大となり、ムスカリン様作用薬であるoxotremorine (OXT) 5×10^{-4} Mにより拮抗された。神経伝導を遮断するtetrodotoxin (TTX) 2×10^{-7} Mは、high K^+ およびhigh K^+ , Atr. 併用によるACh放出に影響を与えなかった。これらの知見は脳皮質からのACh放出が、シナプス前野に存在しているムスカリン様ACh受容体を介してfeedback inhibitionを受けていることを示している。

Cyclic GMP 誘導体 (dibutyl- γ -cyclic GMP, 8-bromo cyclic GMP) は、high K^+ , Atr. 併用によるACh放出を抑制したが、cyclic AMP 誘導体 (dibutyl- γ -cyclic AMP, 8-bromo cyclic AMP) は共に有意な変動を示さなかった。この知見から前シナプス性ムスカリン様ACh受容体を介するACh放出抑制にはcyclic GMPが関与するものと思われる。

脳切片中のACh量におよぶムスカリン様作用薬およびcyclic nucleotideの影響

反応終了後、脳切片中のACh量は、 31.6 ± 3.0 nmol/g slicesであり、high K^+ およびhigh K^+ , Atr. 併用時のACh量は、それぞれ 26.0 ± 1.3 nmol/g slices, 20.9 ± 1.3 nmol/g slicesであった。OXT, cyclic nucleotideは、high K^+ およびhigh K^+ , Atr. 併用時の切片中ACh量に有意な変動を与えなかった。この知見は、muscarinic ligands及びcyclic GMP 誘導体によるACh放出調節がACh合成でなく直接放出過程へ関与することを示唆している。

[考 察]

Polackらの報告と同様、抗ムスカリン様作用薬であるAtr.によりAChの放出促進が認められた。このAtr. の放出促進作用には脱分極が必要であり、このことはAtr. の効果発現には、膜構造の変化あるいはイオン透過性の変動が要求されるものと思われる。さらに脱分極により放出されたAChは、feedback抑制を行いAtr. はこの抑制作用に拮抗すると思われる。TTXがAtr. の放出促進効果に影響を与えないことからAChのfeedback抑制部位は、前シナプス部位に存在し、ムスカリン様性質を有する受容体と考えられる。しかしながらAtr. の放出促進効果の抑制に高濃度のOXTが必要であることより、この受容体は後シナプス受容体と性質が異なるものと思われる。

cyclic GMP 誘導体は、OXTと同様Atr. のACh放出促進効果を抑制したが、cyclic AMP 誘導体には、この効果がみられなかった。一方ACh総量（放出量+組織量）は、high K^+ および high K^+ Atr. 併用時のいずれの場合でもcyclic GMP誘導体の添加により影響を受けなかった。以上のことは、cyclic GMPがACh合成の抑制を介してではなく直接ACh放出機構に働くことを示唆するものと思われる。

論文の審査結果の要旨

本論文は、中枢及び末梢神経系のcholinergic neuronからのアチルコリンの放出調節部位に着目し、前シナプス性受容体の存在、性質及び機構につき検討したものである。

その結果(1)中枢神経系、末梢神経系のcholinergic neuronの前シナプス部位には、アセチルコリンの放出を主として調節するムスカリニック受容体が存在し、この調節機構にはcyclic GMPが関与すること(2)前シナプス受容体は、後シナプス受容体とaffinityが異なることを明らかにした。本論文は、神経伝達物質の放出調節機構の解明に重要な示唆を与えられ、学位取得に価する。