

Title	ヒト・リンパ球の β 受容体について
Author(s)	渡邊, 康裕
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33107
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)	わた 渡	なべ 邊	やす 康	ひろ 裕
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	5 4 7 5	号	
学位授与の日付	昭和 56 年 12 月 1 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	ヒト・リンパ球の β 受容体について			
論文審査委員	(主査)			
	教授	吉田	博	
	(副査)			
	教授	和田	博	教授 吉矢 生人

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

ある種の疾患において、catecholamineに対する感受性の変化が示唆され、それらの疾病の患者のリンパ球の β 受容体の動態をとらえ得るならば、病態の理解、適確な薬物療法につながると思われる。近年、進歩した結合実験により、ヒト・リンパ球の β 受容体の研究がなされているが、その多くは、リンパ球の膜分画と、放射性物質でラベルした β -antagonistとの結合実験により、進められている。最近、膜結合性受容体は、その細胞の可溶性分画の影響を受けると報告されているので、本研究では、intactなリンパ球を用い、agonist, antagonistの結合実験を行い、膜分画を用いた実験結果と比較検討することにより、リンパ球の β -受容体の性質を明らかにすることを目的とした。

[方法ならびに成績]

Boyumの変法により、intactヒト・リンパ球を調製した。これを低張処理し、10万g 30分間4℃の遠沈にて得たペレットを膜分画、その上清をcytoplasmic fractionとした。結合実験は、 ^3H -dihydroalprenolol (DHA), ^3H -hydroxybenzylisoproterenol (HBI) を用いて、リンパ球への特異的結合量を求めた。 ^3H -DHAの膜分画への結合は速やかに飽和に達し、可逆性を示した。飽和曲線より、Scatchard plotを求めると、 B_{max} , K_D はそれぞれ、0.11 pmoles/mg protein, 15 nMであった。 ^3H -DHA (17nM) に対する IC_{50} 値は、(-)isoproterenol, (-)adrenaline, (-)noradrenalineについて、それぞれ $3 \times 10^{-6}\text{M}$, $1 \times 10^{-5}\text{M}$, $4 \times 10^{-5}\text{M}$ であった。dichloroisoproterenol, oxyprenolol, propranololの IC_{50} 値は、それぞれ、 $4 \times 10^{-7}\text{M}$, $1 \times 10^{-7}\text{M}$, $1 \times 10^{-7}\text{M}$ であった。 α -antagonistの阻害は弱く、その結合部位は、 β 受容体との結合を示すと思われる。次に、 ^3H -DHAとintactヒト・リン

パ球との結合実験では、totalの結合、nonspecificの結合は、incubationと共に直線的に増加し、約3分から19分まで、特異的結合は一定であり、 10^{-5} M propranololを加えると、大部分は速やかに解離した。このことは、intactリンパ球の表面細胞膜への $^3\text{H-DHA}$ の結合を示すものであり、細胞内へのuptake, trappingではないであろう。Scatchard plotより、その K_D は約15nMであり、膜分画における K_D と有意差はない。また、 B_{max} は、 $1.48 \pm 0.57 \times 10^4$ sites/cell ($N=10$)であった。 β -antagonistの阻害の IC_{50} 値は膜分画とほぼ等しかったが、 β -agonistの IC_{50} 値は膜分画に比し、約10~100倍高かった。そこで、 $^3\text{H-DHA}$ の膜分画への結合に対するcytoplasmic fractionの影響を観た所、 $^3\text{H-DHA}$ の特異的結合には影響はみられず、17nMの $^3\text{H-DHA}$ の結合に対し、250 μg 蛋白量のcytoplasmic fractionは、(-)isoproterenolの阻害を有意に($p < 0.05$)減弱した。次に、 $^3\text{H-HBI}$ とヒトintactリンパ球との結合実験を行った所、12分から26分までのincubation時間において、specificの結合量は変化せず、 10^{-5} M(-)isoproterenolの添加で速やかな可逆性を示したので、intactリンパ球表面への結合を示すと思われる。Scatchard plotより、 K_D 、 B_{max} は、30nM、 $1.36 \pm 0.35 \times 10^4$ sites/cell ($N=10$)であった。その結合に対する(±)propranolol、(-)isoproterenolの K_i 値は、それぞれ、 2×10^{-8} M、 2×10^{-7} Mであった。phenolamine, phenylephrine, apomorphine等は、 10^{-5} ~ 10^{-4} Mの高濃度においても阻害は弱く、 $^3\text{H-HBI}$ の結合部位は、 β 受容体であろう。

〔総括〕

intactリンパ球への $^3\text{H-DHA}$ 、 $^3\text{H-HBI}$ の結合量はほぼ等しい。それらの結合に対する(±)propranololの K_i 値は、 4×10^{-8} M、 2×10^{-8} Mであり、ほぼ等しい。しかし、(-)isoproterenolの K_i 値は、 $^3\text{H-DHA}$ 結合では、 1×10^{-4} M、 $^3\text{H-HBI}$ 結合では、 2×10^{-7} Mと差が認められる。さらに、膜分画への $^3\text{H-DHA}$ の結合実験において、cytoplasmic fractionは(-)isoproterenolの阻害を軽度ではあるが減弱する。これらの事から、intactリンパ球では、cytoplasmic fractionが細胞膜内側より働き、 β 受容体にconfigurational change、又は、 β -agonist receptor complexにallosteric changeを引き起こす可能性等が示唆されるが、agonistとantagonistの結合部位は同一ではなく、intact cellでは、 $^3\text{H-DHA}$ より $^3\text{H-HBI}$ の結合部位に対し、 β -agonistがより親和性の強い状態である可能性も考えられる。また、intactリンパ球と $^3\text{H-DHA}$ の結合実験より得た(-)isoproterenolの K_i 値が、adenylate cyclaseのstimulationの K_a 値に比し、差がみられる事から、 $^3\text{H-DHA}$ のintactリンパ球における結合部位について更に検討する必要がある。最近、 β 受容体の脱感作現象時に、agonistとantagonistの結合部位数の変化に差があり、 β -agonistのadenylate cyclaseのstimulationとの相関は β -agonistの結合部位に認められるとの報告があり、かつ、膜分画に比し、簡便な調整が可能なintact cellと $^3\text{H-HBI}$ との結合は、 β 受容体であろうと思われるので、ヒト・リンパ球の β 受容体のassayには、 $^3\text{H-HBI}$ とintactヒト・リンパ球の結合実験が適当であると思われる。

論文の審査結果の要旨

本研究は、intactなヒト・リンパ球と、 β -adrenergic antagonist, agonistとの結合実験を行ない、膜分画を用いた結果と比較し、リンパ球の β 受容体の性質を明らかにし、また、ヒト・リンパ球のassay法を確立せんとしたものである。本論によれば、膜結合性である β 受容体は、可溶性分画に影響を受ける。その影響がみられるintactリンパ球と、 β -agonistの結合は、生理的 β 受容体を反映するので、その実験系が、 β 受容体のassayに適するという。これは、各種疾病における β 受容体の動態の変化を観る上で、参考になるものであり、その業績は、博士号に相当するものとする。