The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ラット精管におけるα受容体とアデノシン受容体の関連について
Author(s)	頼, 榮燦
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33311
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

【40】

氏名・(本籍)	頼(らい)　榮(えい)　燦(さん)
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　6012　号
学位授与の日付	昭和58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	**ラット精管におけるα受容体とアデノシン受容体の関連について**
論文審査委員	(主査)教授 吉田　博 (副査)教授 岩間　吉也　教授 和田　博

論文内容の要旨

〔目　的〕

カテコールアミンは交感神経末端の含粒顆粒中にATPと共に貯蔵され，刺激に応じATPと共に放出されると考えられる。一方，ラット輸精管等でカテコールアミンのα-受容体を介する反応が adenine nucleotide等で修飾されることが知られている。本研究ではカテコールアミンとadenine nucleotideとの関連をreceptor levelで解明することを目的とした。

〔方　法〕

1．収縮実験

A．摘出したラット精管を10mℓのMagnus管中に懸垂し，10^{-7}M～10^{-4}Mのnorepinephrine（NE）とphenylephrine（PE）による収縮を10^{-5}M 2-chloroadenosine（2CA）共存下又は30分間処置前后でisometric式に収縮張力を測定した。

B．Magnus管中に懸垂した精管を釣針電極で1msec，1Hz，supramaximal voltage（30Volt以上），7分間隔で刺激し，isometric式に収縮張力を記録した。まず，control tensionを得てからclonidine 10^{-8}M～10^{-7}Mの抑制曲線を観察した。その后10^{-5}M 2CAを30分間処理した。その后30分の間に10回洗ってから2回目のcontrol tensionとclonidine抑制曲線を観察した。

2．receptor binding assayの条件

摘出したラットの精管を湿重量40倍量の25mM Tris HCl bufferにhomogenizeし，nylon cloth濾過后結合実験を行った。最終反応液の組成は6.25mg tissue/mℓと50mM Tris HCl（ph 7.4）であった。反応はradioligands（^{3}H・clonidine又は^{3}H・yohimbine）を入れてから37℃（^{3}H・clonidine）

又は25℃（^{3}H・yohimbine），30分間incubateしたのち，Whatman GF/F glass-fiber filterに濾過し，filter上に残ったradioactivityをAloka scintillation counterで測定した。

3．homogenateの前処置

精管のhomogenateを10^{-5} M2 CAと37℃，30分間incubateしたのち，2 CAを100,000xg, 20分間の超遠沈2回で除き，最后のpelletを50mM Tris HCl bufferでsuspendし，37℃で1～5時間のincubateの後，^{3}H・clonidineの結合実験を行った。

4．intact精管での2CA前処置

摘出した精管を10mℓ Locke液の入ったMagnus管中に懸垂し，10^{-5} Mの2CAと30分間preincubateしたのち30分の間にLocke液で10回洗い，その后^{3}H・clonidineの結合実験を行った。

〔成　績〕

1．NE，PEによる収縮はα_1 antagonist, prazosine 3×10^{-8} Mで完全に抑制されたが，α_2 antagonist, yohimbine 10^{-7} Mで抑制されなかった。10^{-5} M 2CAの共存並びに30分間の前処置ではNE, PEによる精管収縮は変化しなかった。

2．電気刺激による収縮はTTX 10^{-7} Mにて完全に抑制された。電気刺激による収縮の control tensionは2 CA 10^{-5} M 30分の前処置にて変化しなかったが，clonidineによる阻害は増強した。clonidineのIC_{50}値は処置前の$2.04\pm0.40\times10^{-8}$ Mから$1.52\pm0.28\times10^{-8}$ Mに減少した($p<0.01$)。clonidineの最大抑制は変化しなかった。

3．無処置の精管homogenateにはα_2 agonistである^{3}H・clonidine結合は測定できなかったが，homogenateを10^{-5} M 2CAと30分間incubateするとK_D 4.5±2.0nM, Bmax 0.71±0.26 pmol/g・wet wtの結合部位が測定された。この結合部位の増加は10^{-7} M～10^{-5} Mの濃度の2 CAによって観察され，アデノシン受容体antagonistであるtheophylline（1.25mM）の同時添加によって完全に抑制された。また，2 CA前処置の効果は37℃，30分で最大であった。30分間2 CA 10^{-5} Mで前処置したhomogenateのpelletにおいて，5時間后でも^{3}H・clonidine結合が測定できた。

4. intactのままで，10^{-5} M 2 CAと30分間incubateした精管は22.5nM^{3}H・clonidineで0.73±0.12 pmol/g・wet wtの結合部位が測定された。

5．α_2 antagonistである^{3}H・yohimbineの結合は2 CA10^{-5} M前処置にて変化しなかった。

〔総　括〕

1．NE並びにPEによる収縮反応は2 CAに影響されなかったが，電気刺激による収縮に対するclonidineの抑制効果は増強した。

2．ラット精管において，アデノシン受容体agonistにより，α_2 antagonistの結合は変化しなかったが，α_2 agonistの結合は増加した。この変化は細胞外膜に有するアデノシン受容体の活性化を介してα_2受容体に何らかの構造変化を起した結果と思われた。

3．以上の結果より，アデノシン受容体agonistは精管膜外側に有するアデノシン受容体に働き，シナプス前性α_2受容体に特異的な構造変化を生じさせ，精管交感神経終末よりのNEの遊離に対するclonidineのfeedback阻害を増強したと考えられた。

論文の審査結果の要旨

神経伝達物質の遊離機構に関して，不明な点が多い。本論文では，ラット精管において，シナプス前性α_2受容体がアデノシン作働薬にて質的変化を受け，同受容体を介するpresynaptic inhibitionが増強されることを見い出した。神経伝達物質の遊離機構を受容体レベルで検討した価値あるもので，学位論文に充分値すると考える。