

Title	ラット精管における $\alpha$ 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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33311">https://hdl.handle.net/11094/33311</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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)	頼	榮	燦
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 $\alpha$ 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 $\alpha$ -受容体を介する反応が ad-  
enine 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 nu-  
cleotide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 $\sim 10^{-4}$ 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分間処置前後で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1 msec, 1Hz, supramaximal voltage (30 Volt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 $\sim 10^{-7}$ Mの抑制曲線を観察した。その後 $10^{-5}$ M 2CAを30分間処理した。その後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 濾過後結合実験を行った。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 $\cdot$ clonidine又は $^3$ H $\cdot$ yohimbine) を入れてから37 $^{\circ}$ C ( $^3$ H $\cdot$ clonidine)

又は25℃ ( $^3\text{H}\cdot\text{yohimbine}$ ), 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  $10^{-5}\text{M}$  2 CA と 37℃, 30分間 incubate したのち, 2 CA を 100,000 $\times\text{g}$ , 20分間の超遠沈 2 回で除き, 最後の pellet を 50mM Tris HCl buffer で suspend し, 37℃ で 1 ~ 5 時間の incubate の後,  $^3\text{H}\cdot\text{clonidine}$  の結合実験を行った。

### 4. intact 精管での 2 CA 前処置

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

[成 績]

1. NE, PE による収縮は  $\alpha_1$  antagonist, prazosine  $3 \times 10^{-8}\text{M}$  で完全に抑制されたが,  $\alpha_2$  antagonist, yohimbine  $10^{-7}\text{M}$  で抑制されなかった。 $10^{-5}\text{M}$  2 CA 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  $10^{-7}\text{M}$  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  $10^{-5}\text{M}$  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  $\text{IC}_{50}$  値は処置前の  $2.04 \pm 0.40 \times 10^{-8}\text{M}$  から  $1.52 \pm 0.28 \times 10^{-8}\text{M}$  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  $\alpha_2$  agonist である  $^3\text{H}\cdot\text{clonidine}$  結合は測定できなかったが, homogenate を  $10^{-5}\text{M}$  2 CA と 30分間 incubate すると  $K_D$   $4.5 \pm 2.0\text{nM}$ ,  $B_{\text{max}}$   $0.71 \pm 0.26\text{pmol/g}\cdot\text{wet wt}$  の結合部位が測定された。この結合部位の増加は  $10^{-7}\text{M} \sim 10^{-5}\text{M}$  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 (1.25 mM) 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  $10^{-5}\text{M}$  で前処置した homogenate の pellet において, 5 時間后でも  $^3\text{H}\cdot\text{clonidine}$  結合が測定できた。
4. intact のままで,  $10^{-5}\text{M}$  2 CA と 30分間 incubate した精管は  $22.5\text{nM}$   $^3\text{H}\cdot\text{clonidine}$  で  $0.73 \pm 0.12\text{pmol/g}\cdot\text{wet wt}$  の結合部位が測定された。
5.  $\alpha_2$  antagonist である  $^3\text{H}\cdot\text{yohimbine}$  の結合は 2 CA  $10^{-5}\text{M}$  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,  $\alpha_2$  antagonist の結合は変化しなかったが,  $\alpha_2$  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  $\alpha_2$  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  $\alpha_2$  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 $\alpha_2$ 受容体がアデノシン作働薬にて質的变化を受け、同受容体を介する presynaptic inhibition が増強されることを見出した。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。