



Title	ドーパミン受容体の内在性調節因子
Author(s)	平田, 彰
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33327
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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)	平	田	彰
学 位 の 種 類	医	学	博 士
学 位 記 番 号	第	6 0 0 2	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	ドーパミン受容体の内在性調節因子		
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〕

神経活動の物質的基盤として神経伝達物質のシナプスでの伝達機構が明らかにされつつあるが、神経系において伝達物質の他に多くの未知物質が生理的役割を担っていると考えられる。これら未知物質を同定し作用機構を解明することは神経機構を理解する上で極めて重要である。本研究ではドーパミン (DA) アゴニストである³H-アポモルヒネ (APO) のDA受容体 (DA-R) への結合を特異的に阻害する物質 (以下、調節因子) を部分精製し、DA-Rに対する作用を明らかにするとともに、調節因子の動物行動に対する作用にも検討を加え、調節因子の作用機構を考察した。

〔方 法〕

1) 牛脳線条体を 5 倍容の蒸留水でホモゲナイズ遠心後、得られる上清を除蛋白、脱脂、メタノール抽出する。メタノール抽出物の SP-Sephadex, QAE-Sephadex, 活性炭の素通り分画を集め、Sephadex G-25ゲルろ過で、³H-APO 結合阻害を指標として、活性分画を分取し、約1500倍の部分精製標品を得、以下の実験に用いた。

2) 線条体 DA-R の標識には、³H-APO, ³H-スピロペリドール (SPL) の特異的結合で測定した。 10^{-6} M の (+) 体ブタクラモール存在下での測定値を非特異的結合とし、 10^{-6} M の (-) 体ブタクラモール存在下での総結合量との差をもって立体特異的結合とした。反応液は 25mM トリス塩酸 (pH 7.5), 2mM MgCl₂, 0.02% アスコルビン酸の組成とし全量 2.0ml で行なった。調節因子は反応液に 100 μ l 加え、³H-APO 結合を 30% 阻害する量を 1 unit とした。反応は 37℃, 5 分間行ない直ちにグラスフィルターで吸引ろ過することによって停止した。

3) SD系ラット (雄280—300g) をネブタール (40mg/kg) 麻酔下に脳定位固定装置に固定し, Cushmanらの脳図譜に従い, 線条件 (A 2.2, L 2.8, V 4.8) に渡辺らの方法に従い慢性カニキュレを植え込み, 手術後3週間目にAPO, ハロペリドール (KAL), 調節因子を液量1—5 μ l注入し, 動物行動を観察した。

4) ドーパミン感受性アデニレートサイクレース (DA-ACase) の測定は ^3H -ATPを基質にKebabianらの方法に従って反応させ, 生成した ^3H -cAMPをSolomonらの方法に準じて分離測定した。

〔結 果〕

1) 調節因子の性質

Sephadex G-25ゲルろ過, 限外ろ過により調節因子は分子量1000前後のものであると推定された。定性反応を行なうと, 糖反応, リン反応は陰性で, ニンヒドリン反応, フルオレスカミン反応は陽性であり含窒素化合物であると推定された。しかしながら, Pronase E など種々のペプチターゼによる酵素処理で失活せず, pH1, pH14で30 $^{\circ}\text{C}$, 5時間処理することでようやく失活し, 調節因子は極めて安定であることが分かった。また, 調節因子はDAでもGTPでもなかった。結合実験において, ムスカリニック受容体, α -および β -アドレナジック受容体には全く影響を与えなかった。

2) 調節因子のDA-Rへの作用態度

^3H -APO結合を用量依存性に最大限約60%阻害したが, DAアンタゴニストである ^3H -SPL結合には全く影響しなかった。調節因子存在下に ^3H -APO結合を行なった結果, 調節因子の阻害様式は解離定数に影響せず, 最大結合量のみを減らす, 即ち, 非競合的なものであった。

3) 調節因子の動物行動に対する効果

・調節因子単独投与では全く影響は観られなかったが, APO (250 μ g/kg) 投与によって惹起される運動量増加現象を調節因子10 unitsの前投与で抑えた。この効果は, 単独投与で鎮静作用をもつDAアンタゴニストであるHALの効果とは異なるものであった。

4) 調節因子のDA-ACaseへの効果

調節因子の低濃度 (1—10units) ではbasal活性には殆んど影響せず, DA-ACaseを抑制した。高濃度 (100units) では, basal, DA-ACaseともに抑制した。

〔総 括〕

調節因子は, 安定な低分子化合物であり, 結合実験から明らかなようにDA-Rに特異的に作用するものである。また, DAアゴニストである ^3H -APO結合のみを阻害し, DAアンタゴニストである ^3H -SPL結合には全く影響しないことから, その作用部位は受容体のリガンド結合部位にあるのではなく, それ以外の部位にあり, 動物行動で観られるようにDAアゴニストの作用を調節しているものと考えられる。

論 文 の 審 査 結 果 の 要 旨

ドーパミン受容体を調節する内在性物質の存在の報告は今までになく, その点で本研究は独創性が

高いと評価できる。しかも本物質はドーパミン受容体に於いてアンタゴニストの結合には影響せず、アゴニストの結合のみを阻害することによってアゴニストの作用を調節しているという点で、精神分裂病等の精神疾患と深い関わりを持つドーパミン作動性神経系の機能を解明する上でも、また、精神病治療薬の開発に新しい視点をもたらす可能性を持つという意味でも極めて意義のある研究である。