



Title	心臓におけるオピオイドペプチドの分布とその生理的意義に関する研究
Author(s)	前田, 定秋
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/36596
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	前 田 定 秋
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 8292 号
各位授与の日付	昭和63年6月16日
各位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	心臓におけるオピオイドペプチドの分布とその生理的意義に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 岩田平太郎 (副査) 教授 近藤 雅臣 教授 三浦 喜温 教授 鈴木不二男

論文内容の要旨

麻薬性鎮痛薬であるモルヒネに対する特異的な受容体が哺乳類の脳内に存在することが1971年にGoldsteinらにより明らかにされ、さらに1975年Hughesらによりブダ脳から内因性モルヒネ様ペプチド（オピオイドペプチド）としてmethionine-enkephalin（Met-Enk）およびleucine-enkephalin（Leu-Enk）が発見された。この後、種々のオピオイドペプチドが脳および下垂体より発見され、その生体内での分布、生理的役割および薬理作用について多くの研究がなされてきた。心循環系に対するオピオイド類の作用は主に中枢を介したものと考えられてきたが、最近、心臓にMet-Enk, dynorphinを初めとする数種のオピオイドペプチドが存在することが生化学的研究により明らかにされ、これらペプチドが心臓に対して直接作用を有している可能性が示唆されている。本研究は、オピオイドペプチドの心臓における生理的役割を追求する目的でMet-Enk, Leu-Enkの心臓での分布とその存在形態について免疫組織化学的手法を用いて調べ、また、摘出心房標本の収縮に対する種々のオピオイド類の作用を検討した。さらに、その作用機序を明らかにする目的で心筋のNa⁺,K⁺-ATPase活性に対するオピオイド類の作用について検討した。

幼若ネコを用い、関節蛍光抗体法により心臓におけるMet-EnkおよびLeu-Enkの分布を調べ、さらに、そのEnk含有神経の分布とsubstance P(SP)およびvasoactive intestinal polypeptide(VIP)を含有する神経線維との関連についても調べた。また、Enkとカテコールアミンの共存について検討するためカテコールアミンの分布についても調べた。心房の洞房結節と冠状静脈洞の周辺において数多くのMet-EnkおよびLeu-Enk含有神経線維が観察され、これらの神経線維は副交感神経節細胞周囲や血管壁および筋組織中に認められた。一方Met-Enk, Leu-Enk含有細胞が心房の洞房結節周辺、大

動脈開口部と肺動脈開口部の間の結合組織中に多数観察され、また、冠状静脈洞および下大静脈開口部周辺にも比較的多くの Enk 含有細胞が観察された。これらの Enk 含有細胞の直径は $15\text{--}25\mu\text{m}$ で、単独あるいは集団で存在し、一本ないし複数の比較的太い突起を副交感神経節細胞、血管壁、心筋に伸ばしているものも認められた。また、Enk 含有細胞の周囲に SP あるいは VIP 含有神経線維が密に分布しているのが観察された。グリオキシル酸法による組織化学的実験によりカテコールアミン蛍光を有する小型の細胞（直径 $15\text{--}25\mu\text{m}$ ）が多数観察された。これらの細胞は従来より small intensely fluorescent (SIF) cell として知られているものであり、その形態および分布が Enk 含有細胞のそれと非常によく類似していたことより Enk 含有細胞は SIF cell であると考えられた。これらの結果から心臓の Enk が直接的に、あるいはカテコールアミンの作用を介して心機能を調節している可能性が示唆され、また、その作用が SP、VIP とも密接に関与していることが考えられた。次に、ラットの摘出心房標本を用いて、その収縮に対する種々のオピオイド類の作用を検討した。

オピオイド類はその結合する受容体の違いにより μ 、 δ 、 κ の三つのタイプに分類されている。右心房の自動収縮に対して、 μ -タイプのモルヒネ、 δ -タイプの Met-Enk および Leu-Enk はまったく影響を示さなかったが、 κ -タイプの ethyl-ketocyclazocine (EKC) は $10\mu\text{M}$ 以上で濃度依存的に収縮力の増加（陽性変力作用）と心拍数の減少（陰性変時作用）を引き起こした。また、左心房の経壁電気刺激による収縮に対して κ -タイプの EKC と dynorphin (1-13) は陽性変力作用を示した。この EKC と dynorphin (1-13) による陽性変力作用は β 遮断薬のプロプラノロール、 Ca^{2+} の細胞内への流入を阻害するベラパミール、ジルチアゼムにより影響をうけなかつたことより、アドレナリン系あるいは Ca^{2+} -channel の関与は少ないことが示唆された。次に EKC と dynorphin (1-13) による陽性変力作用の作用機序を明らかにする目的で心筋の Na^+, K^- -ATPase 活性に対するオピオイド類の作用について検討した。

ラット心臓より部分精製した Na^+, K^- -ATPase を用いて、その活性に対する種々のオピオイド類の作用を調べた。 μ -タイプのモルヒネ、 δ -タイプの Met-Enk および Leu-Enk は心筋 Na^+, K^- -ATPase 活性に対して影響を示さなかつたが、 κ -タイプの dynorphin (1-13), dynorphin (1-17), EKC は著明な阻害作用を示した。その 50% 阻害濃度 (IC_{50}) は、dynorphin (1-13) が $12\mu\text{M}$ 、dynorphin (1-17) が $21\text{--}1\text{M}$ 、EKC が 0.28mM であり、強心配糖体のウツバインによる阻害 ($\text{IC}_{50}=0.15\text{mM}$) に匹敵あるいはそれ以上の強さを示した。dynorphin (1-13) による心筋 Na^+, K^- -ATPase の阻害を Lineweaver-Burk プロットにより解析した結果、ATP、 Na^+, K^+ の酵素に対する親和性は変化せず最大反応速度が減少したことより、dynorphin (1-13) は、本酵素の ATP、 Na^+, K^+ が結合する部位とは異なる部位に作用し、その活性を阻害するものと考えられた。 Na^+, K^- -ATPase の反応は Na^+ 依存性のリン酸化と K^+ 依存性の脱リン酸化の二つの部分反応により成り立っているが、この両反応に対する dynorphin (1-13) の作用を検討した結果、主に脱リン酸化過程を抑制することにより Na^+, K^- -ATPase 反応を阻害していることが明らかとなった。脳と腎臓の Na^+, K^- -ATPase に対する dynorphin (1-13) の作用について検討した結果、脳の酵素においても阻害がみられたが心臓の酵素と比べてその作用は非常に弱く、また、腎臓の酵素はまったく影響をうけなかつた。

このことは Na^+, K^+ -ATPase の性質が臓器により異なっていることを示唆しており, dynorphin (1-13) による阻害作用が心臓の Na^+, K^+ -ATPase に特異的であることが示された。

本研究により Met-Enk, Leu-Enk 含有細胞および神経線維が心房, 特に洞房結節周辺, 大動脈開口部と肺動脈開口部の間, 冠状静脈洞および下大静脈開口部周辺に多数存在し, 副交感神経節, 心筋, 血管と密接に関係していることが示された。また, 種々のオピオイド類のなかで κ -タイプの EKC と dynorphin (1-13) が摘出心房標本の収縮に対して陽性変力作用を有していることが明らかとなり, さらに, この作用が心筋の Na^+, K^+ -ATPase の阻害を介したものであることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本論文は心臓における内因性オピオイドペプチドの存在様式と分布を明らかにし, さらにダイノルフィンの示す陽性変力作用は心筋 Na^+, K^+ -ATPase の阻害に由来することを示したもので薬学博士の称号を授与するに値すると考えられる。