



Title	GABA開口クロライドチャンネルの薬物による機能的制御 : Benzodiazepines, $\beta$ -carboline および cage convulsants の作用
Author(s)	小畠, 隆明
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38258">https://hdl.handle.net/11094/38258</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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>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	小 畠 隆 明
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 4 3 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 10 月 6 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	GABA開口クロライドチャンネルの薬物による機能的制御 —Benzodiazepines, $\beta$ -carbolines および cage convulsantsの作用—
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岩 田 宙 造  (副査) 教 授 真 弓 忠 範    教 授 馬 場 明 道    教 授 三 村 務

### 論 文 内 容 の 要 旨

中枢神経系において重要な抑制性の神経伝達物質として機能している $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) の作用は、電気生理学的研究と受容体結合実験の結果から、GABA 受容体・クロライドチャンネル複合体を介していることが推測され、この複合体は GABA 受容体, benzodiazepine 受容体, barbiturates と picrotoxin 関連化合物の認識部位, クロライドチャンネルを有する oligomeric protein complex であると考えられている。しかしながら、これらの受容体および認識部位とクロライドチャンネルの機能的なカップリングおよびその制御は生化学的に明らかではなかった。本研究は $^*Cl^-$  uptake を測定する生化学的手法を用いて、ラット大脳皮質の membrane vesicles への GABA 刺激 $^*Cl^-$  uptake に対する benzodiazepines,  $\beta$ -carbolines および cage convulsants の作用を検討し、GABA 受容体, benzodiazepine 受容体, cage convulsants 認識部位およびクロライドチャンネルの間の機能的なカップリングとその制御を明らかにしたものである。

GABA はラット大脳皮質の membrane vesicles への  $^*Cl^-$  uptake を 3-300  $\mu M$  で濃度依存的に増加させ、その  $EC_{50}$  値は 33-38  $\mu M$  であった。30  $\mu M$  の GABA 刺激  $^*Cl^-$  uptake は GABA<sub>A</sub> receptor antagonist の bicuculline 1  $\mu M$  およびクロライドチャンネル阻害剤の picrotoxin 1  $\mu M$  により有意に阻害され、100  $\mu M$  pentobarbital により有意に増強された。これは調製したラット大脳皮質の membrane vesicles には GABA 受容体, barbiturate 受容体およびクロライドチャンネルの間に機能的なカップリングがあることを示している。薬理学的に有用な benzodiazepine agonists の diazepam, clonazepam, flunitrazepam, triazolam, adinazolam および alprazolam は、30  $\mu M$  の GABA 刺激  $^*Cl^-$  uptake を 1  $\mu M$  で約 20-50% 増強させ、alprazolam, flunitrazepam, triazolam および diazepam で有意な増強作用が認められた。Benzodiazepine agonists とは反対の作用を有する inverse benzodiazepine agonists の  $\beta$ -carbolines では、 $\beta$ -CCM,  $\beta$ -CCE および DMCM が、1  $\mu M$  で GABA 刺激  $^*Cl^-$  uptake を約 20-40% 阻害し、DMCM,  $\beta$ -CCM,  $\beta$ -CCE の順に強い阻害活性を示した。これらの作用は、中枢性 benzodiazepine receptor antagonist の Ro15-1788 1-100  $\mu M$  で拮抗され、benzodiazepines,  $\beta$ -carbolines の作用が benzodiazepine 受容体を介することが明らかになった。したがって、benzodiazepine 受容体が GABA 開口クロライドチャンネルに機能的にカッ

プリングしており, benzodiazepine agonists および inverse benzodiazepine agonists である  $\beta$ -carbolines が, アロステリックにこの機能を上向きまたは下向き調節していることが生化学的にはじめて明らかになった。痙攣作用を有する convulsant benzodiazepines の Ro5-3663 および Ro5-4864 は,  $10\ \mu\text{M}$  で GABA 刺激  $^*\text{Cl}^-$  uptake を有意に阻害したが, その作用は Ro15-1788 および末梢性 benzodiazepine receptor antagonist の PK11195 により拮抗されなかった。Convulsant benzodiazepines は中枢性 benzodiazepine 受容体に対する親和性が非常に弱く, GABA 開口クロライドチャンネルの放射性リガンドである [ $^3\text{S}$ ] *t*-butylbicyclophosphorothionate (TBPS) の結合を阻害するので, GABA 開口クロライドチャンネルに作用し, その機能を阻害したものと推測される。

$\text{X}^1(\text{CH}_2\text{O})_3\text{CR}^4$  で示される bicycloorthocarboxylates, bicyclopophosphorus esters および他の cage convulsants は,  $100\ \mu\text{M}$  の GABA 刺激  $^*\text{Cl}^-$  uptake を阻害した。これらの化合物の中で 4-cyano-*t*-butylbicycloorthobenzoate が最も強い阻害活性を示し, その  $\text{IC}_{50}$  値は  $40\text{ nM}$  で picrotoxinin より 50 倍強かった。Bicycloorthocarboxylates および bicyclopophosphorus esters では, 1 位 (X) と 4 位 (R) の置換基の立体パラメーターと極性パラメーターが GABA 刺激  $^*\text{Cl}^-$  uptake の阻害活性に大きく影響を与えていることが示唆された。ヒトとマウスの脳受容体に対するこれらの化合物の [ $^3\text{S}$ ] TBPS 結合の阻害活性と GABA 刺激  $^*\text{Cl}^-$  uptake の阻害活性の間には有意な相関があることから, これらの化合物は GABA 開口クロライドチャンネルの TBPS 結合部位を占有し, GABA 受容体とクロライドチャンネルの機能的なカップリングを直接的に阻害したと考えられる。Polychlorocycloalkanes についても同様の結果が得られた。

ラット大脳皮質の membrane vesicles への GABA 刺激  $^*\text{Cl}^-$  uptake に対する benzodiazepines,  $\beta$ -carbolines および cage convulsants の作用を検討し, 以下の結論を得た。

- 1) ラット大脳皮質の membrane vesicles への  $^*\text{Cl}^-$  uptake は GABA により増加し, この反応は benzodiazepine 受容体, cage convulsants 認識部位を介して制御された。これは GABA 受容体, benzodiazepine 受容体および cage convulsants 認識部位が GABA 受容体・クロライドチャンネル複合体に存在し, これらの受容体とクロライドチャンネルが機能的にカップリングしていることが生化学的に明らかとなった。
- 2) GABA 開口クロライドチャンネルの機能は benzodiazepine agonists によりアロステリックに上向き調節され, inverse benzodiazepine agonists の  $\beta$ -carbolines によりアロステリックに下向き調節された。
- 3) Convulsant benzodiazepines は benzodiazepine 受容体を介さず, GABA 開口クロライドチャンネルに作用し, その機能を阻害したと推測される。
- 4) Bicycloorthocarboxylates, bicyclopophosphorus esters, polychlorocycloalkanes などの cage convulsants は GABA 開口クロライドチャンネルを直接的に阻害した。
- 5) GABA 刺激  $^*\text{Cl}^-$  uptake の測定は benzodiazepines や convulsants の薬効評価に有用な生化学的手法であり, GABA 受容体・クロライドチャンネル複合体の機能解明に役立つものとする。

## 論文審査の結果の要旨

中枢神経系において重要な抑制性の神経伝達物質である  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) の作用は GABA 受容体・クロライドチャンネル複合体を介していることが推測されている。そこで  $^*\text{Cl}^-$  uptake を測定する生化学的手法を用いてラット大脳皮質を使って benzodiazepines,  $\beta$ -carbolines および cage convulsants の作用を検討し, GABA 受容体, benzodiazepine 受容体, cage convulsants 認識部位およびクロライドチャンネルの間の機能的カップリングとその制御を明らかにした。

以上の成果は博士 (薬学) の学位請求論文として価値あるものとする。