

講演

血管カテコールアミン受容体

辻本 豪三*

座長(岡田) 第1席のお話を山梨医科大学薬理学教室の辻本豪三先生にお願いいたします。

プロフィールをご紹介させていただきますと、辻本先生は昭和28年に誕生され、昭和53年北海道大学医学部をご卒業になり、54~55年と東京女子医科大学脳神経センターで研修され、その後55~56年と国立医療センターの臨床薬理部門で石崎先生といわれるファルマコキネティクスに関する日本の大家のもとにおられ、その後56年~59年、スタンフォード大学の内科臨床薬理の fellow として留学し、59年から現在まで山梨医科大学薬理学教室の助手として勤務していられます。

私も先生のお仕事を全部網羅しているわけではありませんが、心循環器系の薬理の研究、特に細胞膜における神経伝達部門、ホルモン等の刺激伝達機構に関する研究を中心に精力的になさっている若手の研究者でございます。

では、この演題にある「血管カテコールアミン受容体」ということで辻本先生にお話を伺おうと思います。よろしくお願いいたします。

辻本 当教室では従来より心臓、循環器系統のホルモン、あるいは神経伝達物質の細胞内刺激伝達系の各種病態、あるいは生理状態における調節機構を主題に研究していますが、きょうは「血管カテコールアミン受容体」という題をいただきましたので、血管のカテコールアミン受容体をモデル・システムとして、若干の当教室の知見を交えて概略をご説明をしたいと思っております。

きょうご出席の先生方は皆さん臨床経験の豊かな方と拝しますので、臨床サイドからのコメントをいただければ非常に幸いと存じます。

この図1はエピネフリン、ノルエピネフリンを中心とする、生体内のアミンの中で特に最もよく研究されている、カテコールリングを持つアミンであるカテコールアミンの構造式を示したものです。

この図1で見られるように、カテコールアミンは非常に単純な化学構造式を持っており、分子量も約300程度と非常に小さな分子ですが、生体内の各種臓器、特に今日述べる血管、心臓等において神経伝達物質、あるいは流血中のホルモンとして多種多様な生理反応を示しています。

このカテコールアミンがいろいろな臓器でそういう生理反応を示す入り口になる、細胞の応答を引き起こす最初の引金となるとところが受容体ですが、それについて、最近実際に定量できるようになってきたことと、それを応用してどのようなことがわかってきたかを若干述べたいと思います。

カテコールアミンの細胞内への情報伝達を行う受容体が考えられたのは20世紀の初頭です。しかし、図2に示す様な具体的にこの受容体、特にカテコールアミンに関して受容体を分類しようという試みがなされたのは1948年、アメリカの Ahlquist で、 α 受容体、 β 受容体という名前を提唱

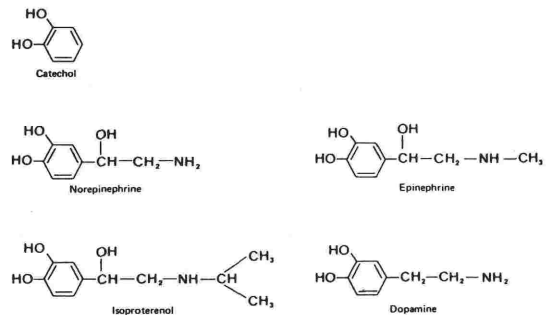


図1

*山梨医科大学薬理学教室助手

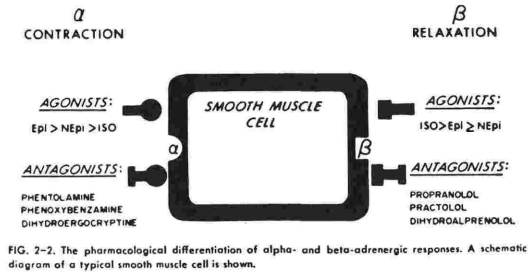


図2

し始めました。彼が分類したことは非常に有名ですが、具体的に行ったのは各種の臓器、心臓、血管等を生理食塩水中に吊り下げ、いろいろな薬物を入れてその収縮力を測って反応を見、エピネフリン、ノルエピネフリン、イソプロテノール等の作働薬を用いてその収縮、拡張反応を測定していました。すると、この図2に示すようにエピネフリン、ノルエピネフリンが強く、イソプロテノールが非常に弱い、あるいはイソプロテノールが非常に強く、エピネフリン、ノルエピネフリンが非常に弱いと、大きく分けて2つのパターンが見られた。それを彼は α 反応、 β 反応と呼んでいます。これは平滑筋のモデルですが、平滑筋では α を介して収縮、 β を介して弛緩反応が出るわけです。

その後、まず β 受容体では同様な手技で分類されて β_1 、 β_2 というサブクラスが登場し、特に特異的な β 遮断剤の登場が臨床的に非常に衝撃を与えました。

α 受容体に関しても後ほど述べますが、 α_1 、 α_2 の分類に基づいて、現在少なくとも2つのサブタイプがあります。また α 受容体の特異的に遮断するフェントラミン、フェノキシベンザミン、ジヒドロエルゴクリプチン等の拮抗剤が出ており、サブタイプに選択的な拮抗剤が現在臨床でやはり大きな影響を与えています。

話を戻すと、1948年に Ahlquist は α 、 β の2つの分類を行いました。私が Dr. Lefkowitz から聞いたところでは、彼は生理的な反応として α 、 β と想定したが、受容体を物としてはその当時はまだ考えていませんでした。

1950年代に入ると、Sutherland 一派により肝細胞の β 受容体やグルカゴン受容体を刺激すると細胞内の cAMP がふえることがわかり、それが生理反応とよく並行しており、いわゆるセカン

ドメッセンジャーという概念を打ち出し、1948年に Ahlquist が出した α 、 β の概念より細胞内のセカンドメッセンジャーの考えの方が主流を占め、注目されました。実際の細胞膜にあって刺激をとってそれを細胞内へ伝える受容体自身の同定、あるいはそれより詳しい検討に関してはこの間十分にはなされなかったわけです。

ところが1970年代に入り、2層の脂質の膜の上にある物として受容体をとらえる考え方が出てきました。これを実際に定量する試みがなされ、それが成功をおさめました。現在よく行われているラジオ受容体リガンドアッセイによってこの受容体を物として直接定量、検討することが可能となったわけです。現在ではそのラジオ受容体アッセイから進歩し、実際に受容体遺伝子を取ってきてクローニング等ができ、一次構造も特殊な β 受容体ではわかっています。例えば7回膜を貫いて、どのあたりがラジオリガントによって同定される部位であるか、あるいはそれが後述する GTP 依存性蛋白と結合してどのように情報が入っていくか等が現在明らかにされつつあります。

1970年代に起こった受容体を直接的に定量する方法が進歩し、その方法とセカンドメッセンジャー、最終的な、古典的な薬理学手法を統合することによって各種の生理・病態状態が現在つかめ

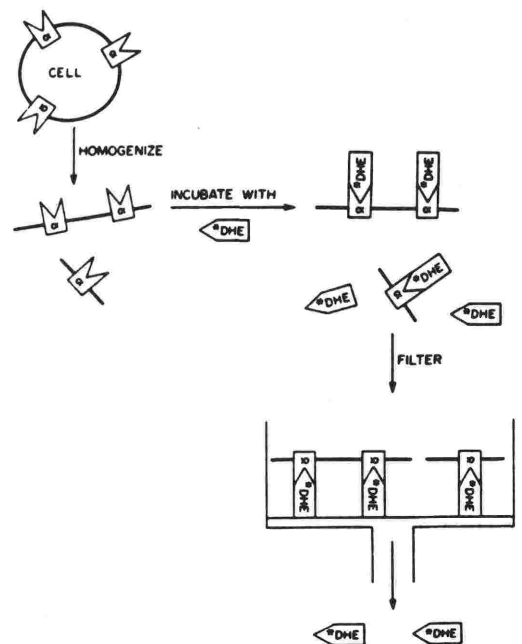


図3

表1 血管カテコラミン受容体直接定量に用いられているラジオリガンド

(A) α-受容体	
Nonselective antagonist	[³ H] - dihydroergocryptine
Alpha ₁ -selective antagonist	[³ H] - WB4101
	[³ H] - prazosin
	[¹²⁵ I] - BE2254
Alpha ₂ -selective agonist	[³ H] - clonidine
Alpha ₂ -selective antagonist	[³ H] - yohimbine
	[³ H] - rauwolscine
(B) β-受容体	
Nonselective antagonist	[³ H] - dihydroalprenolol
	[¹²⁵ I] - hydroxybenzylpindolol
	[¹²⁵ I] - cyanopindolol

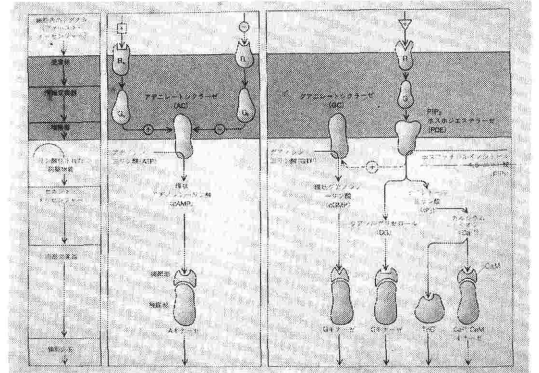


図4

てくるようになりました。

ラジオ受容体アッセイについて少し述べたいと思います。図3は方法論を描いた組織図です。例えば血管の平滑筋細胞の上に α 受容体があり、それを直接定量したいとき使うラジオ受容体アッセイの方法は次のようなものです。この細胞を破壊して組織懸濁液をつくり、細胞膜上にある受容体と特異的に付く「ラジオリガンド」と呼んでいるリガンドにラベルを施したものを一緒にインキュベートします。この図ではジヒドロエルゴクリプチンという、α 受容体に非選択的で α₁, α₂ の両方につく拮抗剤にラベルしたものがかいてあります。それでつかなかったものとついたものとを濾過、あるいは遠沈法によって分離し、残ったついたものを定量することによって受容体の数、親和性を測ろうというものです。

ラジオ受容体アッセイ、特に血管のカテコールアミン受容体の直接定量に用いられているラジオリガンドを表1にしてみました。α 受容体に関しては、今述べた非特異的な α₁, α₂ 両方をラベルするようなラジオリガントとしてジヒドロエルゴクリプチン、α₁ に選択的なものとしては、臨床上也よく使われているプラゾシンにトリチウムをラベルしたもの、あるいは WB4101、また BE2254 に ¹²⁵I をラベルしたもの等があります。

また α₂ に選択的な拮抗剤や作働薬にラベルしたもの、例えばクロニジンにラベルしたもの、あるいはヨヒンビンにラベルしたものがああります。

一方、β 受容体に関しては、近年 β₁, β₂ のいずれかのサブタイプに選択的な拮抗剤を用いたラジオリガンドが出てきましたが、少なくとも血管のカテコールアミン受容体を現在までに同定した

報告によると、すべてのデータは非特異的な拮抗剤であるジヒドロアロプレノールや、¹²⁵I をラベルしたシアノピンドロル等の非選択的な拮抗剤、β₁, β₂ の両方につくようなラジオリガンドがよく用いられています。我々は ¹²⁵I ラベルのシアノピンドロルをよく用いております。

図4は雑誌サイエンスからとったものですが、細胞膜のところにある受容体は外からの、例えばカテコールアミンが平滑筋の β 受容体、α 受容体のところについて、その情報の細胞内の伝達が行われていく、すなわち受容体は外からの刺激を取り、なおかつ中へ伝えていく役目を果たしています。

くり返しますが、その受容体を現在ラジオ受容体アッセイによって直接測ることができます。また Sutherland らの cAMP 発見以降のセカンドメッセンジャーの定量化、また最後の細胞応答として古典的な薬理学的手法の3つを組み合わせることによって、きょう述べるような例えば脱感作や、老化により血管の弛緩性が低下することの検討等が統合的にできるようになりました。

特にラジオ受容体アッセイを用いてそういう細胞応答の変化を説明する際に問題になるのは、例えば受容体自身の数が減少することが最終的な細胞応答の低下を説明するのではないか(受容体の数の“down regulation”)。また受容体がセカンドメッセンジャーを生み出す、例えば cAMP ではアデニレートシクラーゼへの親和性が悪くなって共役状態が悪くなり、細胞内への情報伝達がうまくいなくなる“uncoupling”等、各種の機序で説明できるわけです。

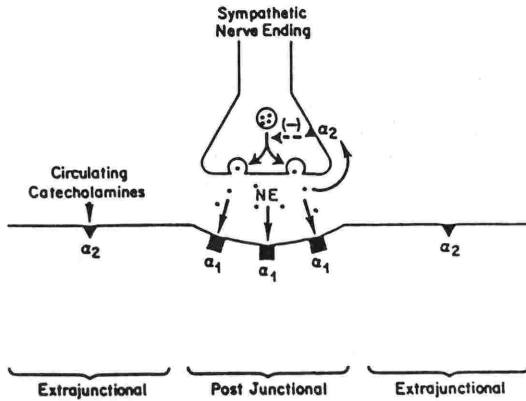


図 5

α 受容体に関しては、当研究室で従来より関心を持っている長期間にホルモンに曝された場合に標的臓器、例えば血管の収縮反応が低下し、脱感作することが受容体レベルで説明できないか。あるいは血管の β 受容体を介する弛緩反応に関しては、例えば老化に伴って β 受容体を介する血管弛緩反応が特異的に低下することは実験的にもよく知られているわけですが、これが受容体レベルで説明できないか。あるいはセカンドメッセンジャー・レベルではどうなのか等を検討したので、そのことを述べたいと思います。

まず血管の α 受容体について、図5に示されている様に、交感神経の末端に貯えられているノルエピネフリンが上位からの電気活動によって放出され、それが標的細胞、血管であれば血管平滑筋の上にある α 受容体、 β 受容体に到達し、最終的な収縮、あるいは拡張反応を生ずるわけですが、シナプスの前にもう1つ α 受容体があり、これをサブタイプとして α_2 と考えられていました。これは Langer ら一派がシナプス後 α_1 、シナプス前 α_2 と解剖学的に一応分類をしました。 α_2 はノルエピネフリンの放出に抑制をかける機能をしています。

現実には、この α_2 、 α_1 を解剖学的に分けた後でさらに調べると、各種の作働薬、あるいは拮抗薬が特異的な親和性を持ち、 α_1 、 α_2 それぞれに違うという薬理学特性の相違が判明してきました。さらに、典型的なものとして血小板等、こういう神経の支配のない細胞にも、 α_2 に非常に特異的な作働薬が血小板にはよく作用するとか、あるいは α_2 に特異的な拮抗薬がその反応を抑える等、

薬理学的特性から見て α_2 としか同定できないようなものが遊離細胞にも検出されるようになりました。すなわち、解剖学的なシナプス後 α_1 、シナプス前 α_2 という分類では包含し切れなくなってきたわけです。

従って現在では、この α_1 、 α_2 の分類は純粹に薬理学的な特性にのみよって分類されるべきであるとなっています。

そういう分類に立脚して血管の反応を、pithed rat を用いて主として α_1 、 α_2 を分けてみると、特にこの図5で示すようにシナプス後側にも α_2 が存在することが現在同定されています。pithed rat とは完全に神経を破壊し、生きた、薬理学的によく使う tissue bath、心臓が動いている血管がそこにあり血液が流れているだけのいわゆる脳死状態のような実験モデルです。それは上位からの調節が完全になくなり末梢器官のみが存在するようなものなのですが、そういう pithed を行ったモデルを使って各種の作働薬、拮抗薬の昇圧反応への影響を調べていくと、 α_2 と呼ばざるを得ない昇圧反応が出てきました。

この図5はちょっと極端にあらわしたのですが、特に α_1 受容体はシナプスの直後あたりによく集中しているのであろう。それに対して α_2 は循環血液に触れるようなところ、即ち神経の接合部からは遠いようなところに主として局在するであろうと現在言われています。また解剖学的に最初に分類されたシナプス前の α_2 も存在します。これは α 受容体だけを示した図ですが、 β 受容体に関してもシナプス前にも存在し、またシナプス後側にも β_1 、 β_2 とともに混在することが現在知られています。また β_1 、 β_2 の方はともにアデニレートシクラーゼと共役して弛緩反応をしていることがわかっています。また、 α_1 、 α_2 、 β_1 、 β_2 等、各種の血管のカテコールアミン受容体はその動物の種、血管の部位によって分布が非常に異なっていることが現在知られています。

実際に α 受容体を介して血管が収縮する機構について漫画をかいてみました(図6)。 α_2 の作用機序はまだはっきりとはわかっていないのでこれは疑問符ですが、少なくともシナプス後 α_1 に関しては、主として平滑筋にある筋小胞体を中心とする細胞内のカルシウムの貯蔵部位へ刺激を送り、そこからカルシウムを放出させる。もう一つ

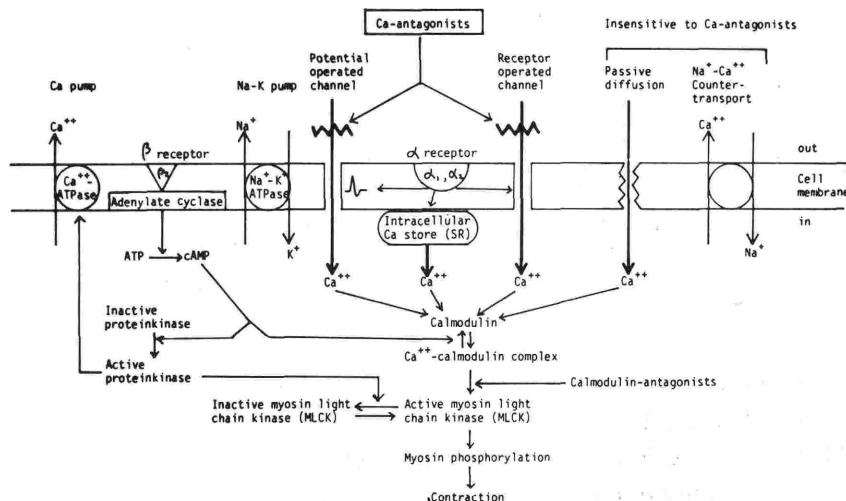


図 6

の機序としては、受容体を介する経路を介してカルシウムが外から入ってくる。また α_1 の刺激で電位依存性の経路が開き、やはり外から中へのカルシウムの流入が引き起こされる可能性も示唆されています。

この図6で真ん中にかいてあるように、カルシウム拮抗薬というのは主として電位依存性のカルシウム経路を遮断するわけですが、中には受容体を介した細胞外から細胞内へのカルシウムの流入を遮断するものもあることが現在考えられています。

いずれにしろ、細胞内の非常に重要な伝達物質であるカルシウムが増加することにより、ここにかいてあるようなそれぞれの段階を経て最終的に収縮という機序に至ります。この部位に関しては私の次の演者であられる日高先生からお話があると思いますので私は割愛させていただきます。

いずれにしろ、 α 受容体に関しては細胞内のカルシウムの放出、あるいは受容体を介する経路による外からの流入が大きな機序であります。

ここ数年、今述べた細胞内のカルシウム貯蔵部位、平滑筋であれば筋小胞体からのカルシウムの放出に関してより細かなことがわかってきています。すなわち α_1 受容体が刺激されると特異的なホスホジエステラーゼであるホスホリパーゼCを刺激して膜のリン脂質であるホスファチジルイノシトール二リン酸がそれぞれイノシトール三リン

酸 (IP3) とジアシルグリセロールに分解されます。その IP3 が細胞内の貯蔵部からのカルシウムの放出をしているであろうことが各種の実験から裏づけられています。

この細胞内のカルシウムの放出は今のところ血管カテコールアミン受容体を介した平滑筋収縮の少なくとも最初の引金になっていると考えられています。

もう1つのジアシルグリセロールも神戸大の西塚先生が発見されたCキナーゼを特異的に刺激して何らかの生理反応を行っている、特に平滑筋の収縮に関してはその持続的な収縮を維持するのに何らかの役目を果たしているだろうと考えられており、現在の非常にトピックになっています。

当教室で行っている脱感作について、今日はまずこの血管の α 受容体に関する脱感作について述べたいと思います。

脱感作は、先ほど述べたように、一定時間薬物あるいはホルモンに細胞、あるいは組織が曝されるとだんだんその反応が鈍ってくる。例えば臨床では、喘息の患者で β 刺激剤の量がどんどん必要になるとか、心不全ショックの患者でカテコールアミン等の薬物によって血圧を維持するときの必要量がどんどんふえる等、いわゆる“耐性”という現象が生じます。

この耐性はどのような機序によって起こるのか、また生体内で実際に起こるのか等をまず検討して

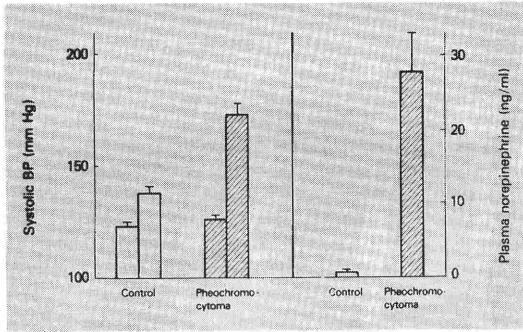


図 7

みました。麻酔科領域でも非常に危険性の高い患者として挙げられる褐色細胞腫を、免疫学的に拒絶できない褐色細胞腫ラットを我々は持っています。このラットの皮下に褐色細胞腫を埋め込むと宿主ラットはどんどんと腫瘍を増殖させ、この図7に見られるように移植後約3~4週間では血圧が非常に高くなり、そのときの流血中のノルエピネフリン値も正常値と比べると約70倍も高いという典型的な褐色細胞腫になります。このモデルは高血圧を生じ、腫瘍移植後約7~8週間で人間の褐色細胞腫の最終期と同じ腎不全、不整脈等の病態で死んでいきます。褐色細胞腫の臨床モデルとして非常に面白いものではないかと思えます。このラットを用いて、流血中に非常に高いカテコールアミンが維持されたときにその末梢の血液のカテコールアミン受容体を介する収縮、昇圧反応はどのようになるかを検討してみました。

このラットのシナプス後 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ 受容体を介する昇圧反応を検討するために先ほど御説明しました pithing, 脊柱管から rod を落として脊柱管を完全に破壊してしまい、上位からの調整をすべてなくした状態で行いました。

おもしろい所見だと思えるのは、麻酔下における拡張期血圧、収縮期血圧、いずれにしろ褐色細胞腫を植えられたラットで非常に高血圧を起こしており、そのときの心拍数は有意に高いです。それを pithing して上からの調節をとると、正常でも下がりますが、教科書的には流血中の非常に高いカテコールアミンが血管収縮を起こして高血圧を維持していると考えられている褐色細胞腫でも非常に急激な低下を起こします(図8)。すなわちこの褐色細胞腫の高血圧には何らかの交感神経活動亢進の関与があるだろうということが1つあり

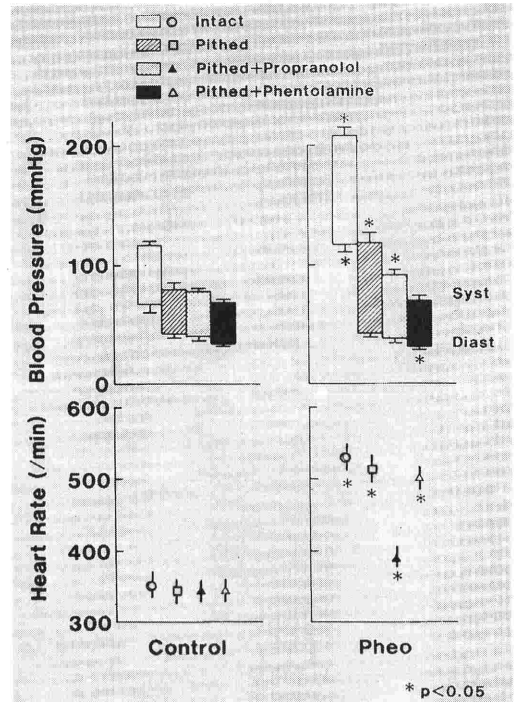


図 8

ます。

その状態においても、この収縮期血圧の高い状態は維持されますが、この状態が α 刺激によって起こっているのか、あるいは β 刺激によって起こっているのかを区別するために、 β 遮断剤であるプロプラノール、あるいは $\alpha 1$, $\alpha 2$, とともに拮抗する、臨床診断上でもレジチン試験として用いられますフェントラミンを入れてみました。すると β 遮断剤で心拍数は有意に落ちますが、やはり高い血圧状態は維持されます。一方、フェントラミン、 α 遮断剤を入れると拡張期血圧は正常よりも低い値になってしまいます。すなわち間接的にですが、血圧に対してこの刺激をなくすとその状態がより低くなり、脱感作があり得ることを意味するのではないかという印象を受けました。

次にこのラットにそれぞれ $\alpha 1$ 受容体を刺激する薬、 $\alpha 2$ 受容体を刺激する薬を入れてシナプス後の $\alpha 1$, $\alpha 2$ それぞれが脱感作を受けているか否かを検討してみました。

図9に示します様に、 $\alpha 1$ 受容体に特異的な作働薬メトキサミン、フェニレフィリンの反応を、褐色細胞腫移植後4週間の早期と8週間目の最終期の2つのレベルに分けて行いましたが、それぞ

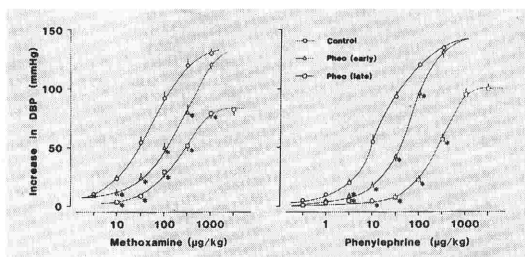


図9

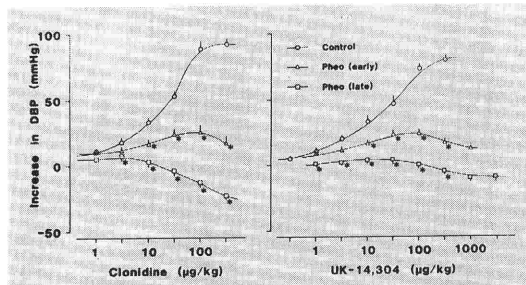


図10

れ脱感作が起こっています。早期には最大昇圧反応は変わっていませんが、後期に至ってかなり落ちることがわかります。

一方、 α_2 作働薬であるクロニジン、UK-14,304 という薬をやると早期、後期ともにやはり脱感作が生じています(図10)。すなわち高いレベルのカテコールアミンが維持されると、このラットモデルのシナプス後 α_1 , α_2 受容体を介する昇圧反応は脱感作を生じることがわかりました。

更に、この脱感作がカテコールアミンに特異的なものであるかどうかを調べるために、非アドレナリン性血管作働物質であるアンジオテンシンII、あるいはバゾプレシンの昇圧を見ました。すると、この図11AとBに示されているように、早期にはその反応は全く変化なく、後期に至って反応が有意に低下する。

すなわちこの褐色細胞腫の流血中カテコールアミンの高い状態が維持された早期では、カテコールアミンの α_1 , α_2 受容体を介する昇圧のみが低下を示しました(同種脱感作)。一方、後期に至ると、長期間高血圧が維持されるためと考えられますが、血管の構築が変わるせい、すべての血管作働物質に対する反応が低下する非特異性の脱感作の状態に至ることがわかりました(異種脱感作)。

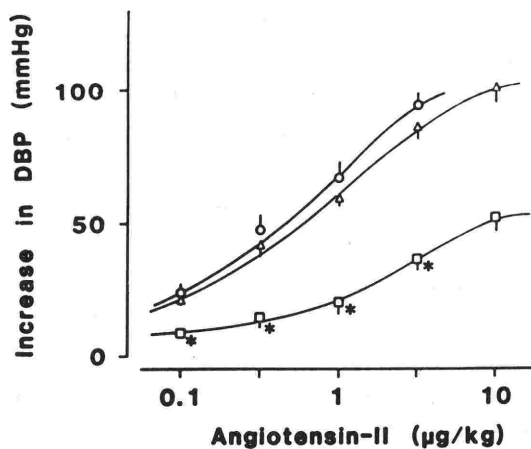


図11A

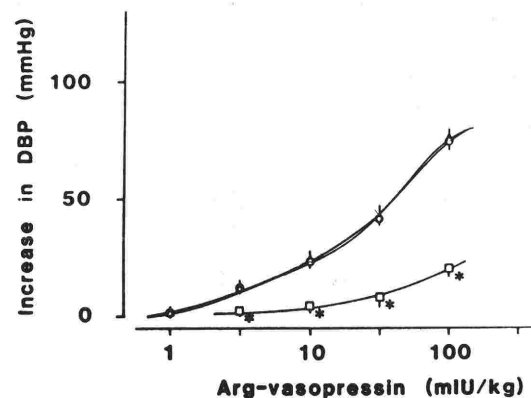


図11B

表2

	³ H]Prazosin Sites		³ H]Yohimbine Sites	
	Bmax	Kd	Bmax	Kd
CONTROL	234 ± 19	0.65 ± 0.1	453 ± 34	32.6 ± 6.5
PHEO	150 ± 12*	0.56 ± 0.1	486 ± 47	28.3 ± 4.2

Bmax (fmol/mg protein) and Kd(nM) were Mean ± SEM of n=4 each.
* P<0.01.

その状態で血管のシナプス後の α_1 受容体と α_2 受容体をラジオ受容体アッセイを用いて測りました。これは腸間膜動脈の膜標本を用いましたが、 α_1 受容体を特異的にラベルする ³H ラベルのプラゾシンの結合部分はこの褐色細胞腫ラットでは有意に数が低下していました。ところが親和性の方は変わりありません。ところが α_2 受容体の方は数及び親和性に全く変化が見られませんでした(表2)。すなわち、褐色細胞腫早期のいわゆる同種脱感作、カテコールアミンに対する昇圧

反応のみが脱感作された状態では、その α_1 受容体を介する昇圧反応の脱感作はその受容体の数が減少することが一部関与するのではないか。また α_2 受容体に関しては逆にその受容体の数及び親和性に変化がないところから、受容体以降の機序が重要であることが示唆されました。

またその褐色細胞腫ラットを pithing した rod に電気刺激を与えました。図12が電気刺激を与えている間の昇圧反応ですが、対照群、褐色細胞腫を植えられたラットで比べてみると、電気刺激を与えている間の昇圧反応に関しては、褐色細胞腫の有無に関わらずそれほど差はありません。

ところがその後の段階、電気刺激をとめると、その刺激に呼応した2つ目のピークは、交感神経刺激に応じて、主として副腎から流血中へエピネフリンが放出されることによる昇圧だと現在考えられています。この副腎から流血中に流入したカテコールアミンによる昇圧反応が完全になくなっている。すなわち褐色細胞腫を植えられたラットの方では交感神経を介する神経性の昇圧に関しては変化がありませんが、副腎を介する流血中のカテコールアミンに対する昇圧反応が脱感作されています。

これは临床上においても、褐色細胞腫の患者で、

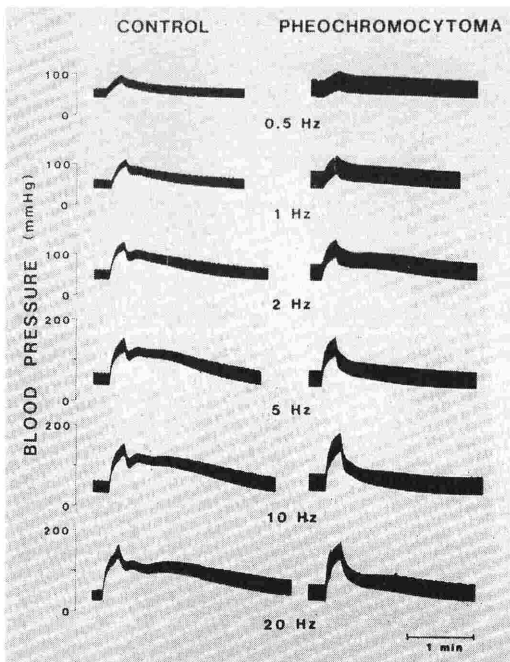


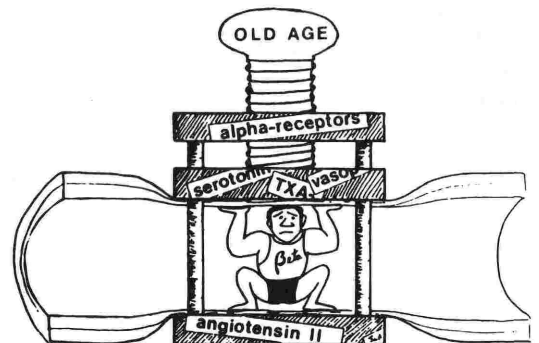
図12

腫瘍から直接のカテコールアミンの流出がふえることなしに、交感神経の緊張を上げるような操作をすると高血圧エピソードが起こることがありますが、それとよく対応するのではないか。すなわち交感神経の緊張を介する神経性の昇圧には脱感作はなかなか起きないことを意味しているのではないかと考えています。

次に、 β 受容体を介した調節機構を若干述べたいと思います。この反応は先ほど述べたように受容体、アデニレートシクラーゼを介して細胞内のセカンドメッセンジャー、cAMP を産出するわけですが、その間に、GTP 依存性蛋白が仲介してこの細胞内への情報伝達が行われております。この受容体/cAMP を介する最終的な平滑筋の拡張反応が各種の生理・病態状態で変わっていくことがわかっていますが、それを少し検討しました。

その1つとして、1970年代の真ん中ごろから Fleisch が各種の動物の動脈において、 β アドレナリン受容体を介する血管拡張反応のみが加齢とともに低下していくことを発見しました。この漫画は Fleisch 自身がかいているものですが、アンジオテンシンII、 α 受容体等の血管作働物質に囲まれて、 β 受容体が加齢と戦っている様をかいているらしいのですが、 β 受容体を介した血管弛緩反応のみが加齢とともに特異的に低下する(図13)。これを我々は取り上げてみました。

2カ月齢、12カ月齢のラットを用いて腸間膜動脈の血管弛緩反応を比べました。 β 受容体を β_1 , β_2 , 両方とも非特異的に刺激するイソプロテレノールによる血管拡張反応は、老化に伴って有意に低下しています(図14)。一方、カテコールアミン受容体を介さない血管拡張剤であるニトログ



From J.H. Fleisch (TIPS, 1981)

図13

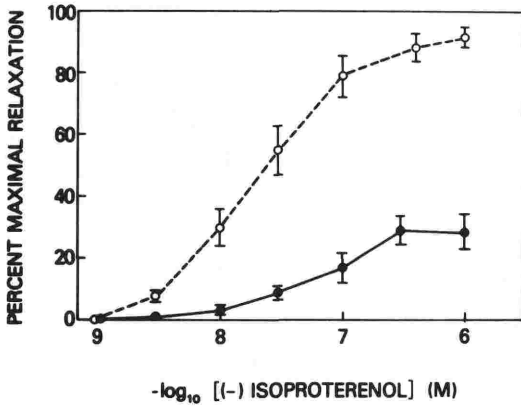


図14

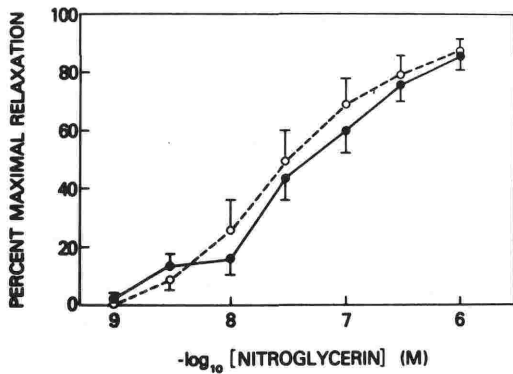


図15 A

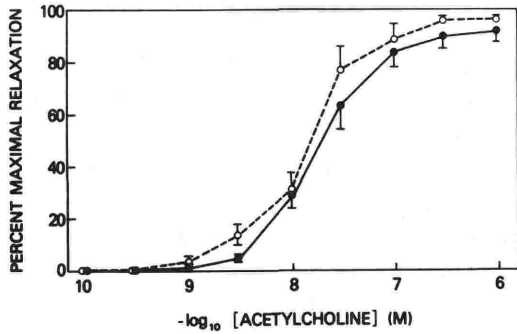


図15 B

リセリン、アセチルコリン等の血管弛緩反応は変化していません(図15AとB)。

またニトログリセリンは直接平滑筋に働いて、またアセチルコリンは、最近話題になっている内皮系由来の血管弛緩因子を介して平滑筋内のcGMPをふやすことによって血管弛緩を起こすと言われていますが、アセチルコリン、ニトログリセリンは加齢によって変化を起こさないが、イソプロテレンールのみが特異的に反応が落ちるこ

表 3

	B _{max} (fmol/ug protein)	KD (pM)
5-8 weeks	29±4	131±13
26-40 weeks	31±7	129±14

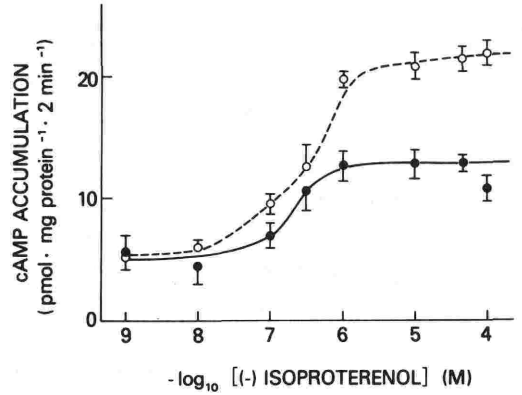


図16

とから、β受容体/cAMP系に特異的に反応が低下する何かが起きているのではないかと考えました。次に、実際に受容体を測ってみました。ラジオリガンドは¹²⁵Iをシアノピンドロールという薬でラベルしたのですが、受容体の数また親和性に関しては加齢による変化は全くありませんでした(表3)。すなわち受容体レベルではこれは説明はできないと思われます。

次に、細胞内のセカンドメッセンジャーであるcAMP量を測りましたが、最大レベルでは、若年齢に対し、老齢ラットから得られた血管ではcAMPの産生量は有意に低下をしていました(図16)。すなわちこれだけを見るとcAMPの量が有意に違い受容体の変化がないので、受容体からアデニレートシクラーゼへの共役がおかしくなっている、さらに具体的にはGTP依存性の蛋白等がおかしいのではないとも考えられるわけですが、生理学的に重要なのは、イソプロテレンールの先ほどの拡張反応を見てみると10⁻⁷レベルで既に最大に弛緩しています。すなわち老齢ラットと若年ラットで変化のないレベルのcAMP量で十分にその差が生じていることから、多分cAMP産生以降に、加齢により特異的に低下すると言われるβ受容体を介する血管弛緩反応を説明する機序があるのではないかと考えました。

同じラットの腸間膜動脈を用いてcAMPのA

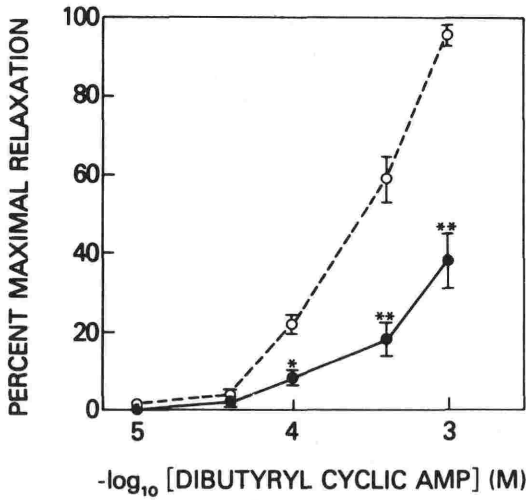


図17A

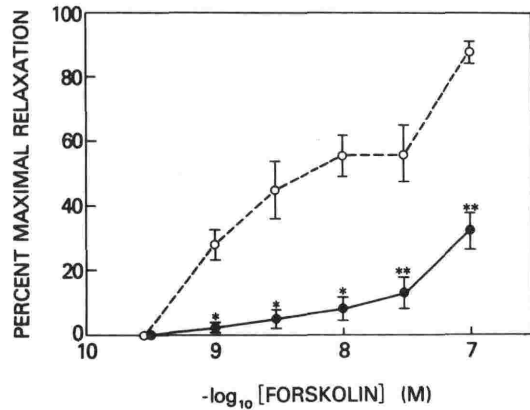


図17B

ナログで細胞内へ非常に透過性の高い dibutyryl cAMP を用いてその弛緩反応を見たところ、図17Aに示す様に老年ラットから得られた血管は有意に弛緩反応が低下しており、また受容体を介さず、アデニレートシクラーゼを直接刺激することによって細胞内の cAMP をふやし、血管弛緩を引き起こすフォスコリンという薬物を使うと、やはり老年ラットの腸間膜動脈輪は反応が低下している (図17B)。すなわち cAMP 産生以降のところこのことを説明する機序があるのではないかと現在考えます。

次に、ラット腸間膜動脈の β 受容体に対する弛緩反応が老化によって特異的に低下することをもとに戻すことができないかと考えました。1つは甲状腺ホルモンがそういう因子として考えられています。甲状腺ホルモンを添加して、若年ラッ

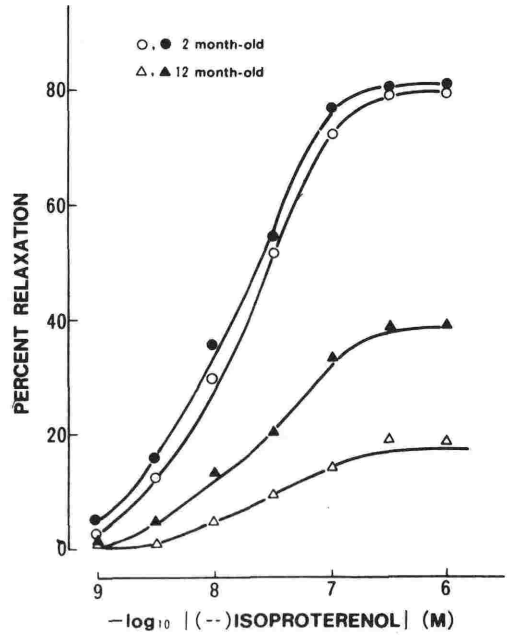


図18

ト、老年ラット、ともに甲状腺機能亢進に陥らせ、それから取ってきた血管の弛緩反応を見ると、図18に示すように対照群のラット同士では確かに老年ラットが血管の反応が低下しているのですが、甲状腺機能亢進症にするとその血管反応が老年ラットでのみ回復してきます。すなわち甲状腺ホルモンは何らかの血管弛緩反応の加齢による低下をとめる、あるいは予防する作用があるのではないかと。若年ラットではその効果が見られないことから、何らかの効果を老年ラットにのみ及ぼしているのではないかと。

よく臨床で言われる甲状腺機能亢進症のときの血液力学の機能亢進は、例えば心臓においては β 受容体が増加することが1つの原因ではないかと言われてはいますが、血管でも β 受容体の特異的に老年ラットでふえることによって説明できないかと考えました。

β 受容体を直接定量してみますと、図19Aに示す様に、心室筋、心臓の方では若年、老年ラットに関わらず β 受容体は非常に特異的に上がり、心臓の運動機能亢進の状態を説明できるように思われますが、図19Bに示す様に血管の β 受容体は全くいずれの年齢でも変化がありません。すなわち、甲状腺ホルモンによる加齢現象を停止させる何らかの効果は、少なくとも β 受容体のレベル

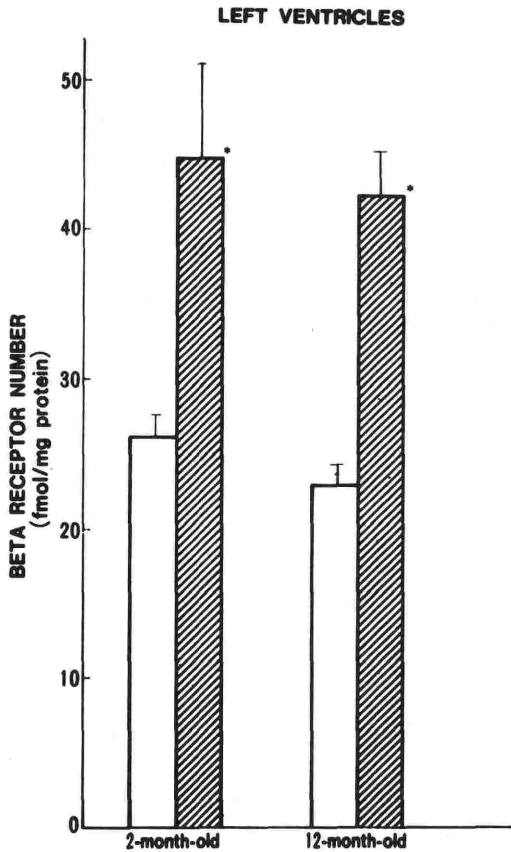


図19A

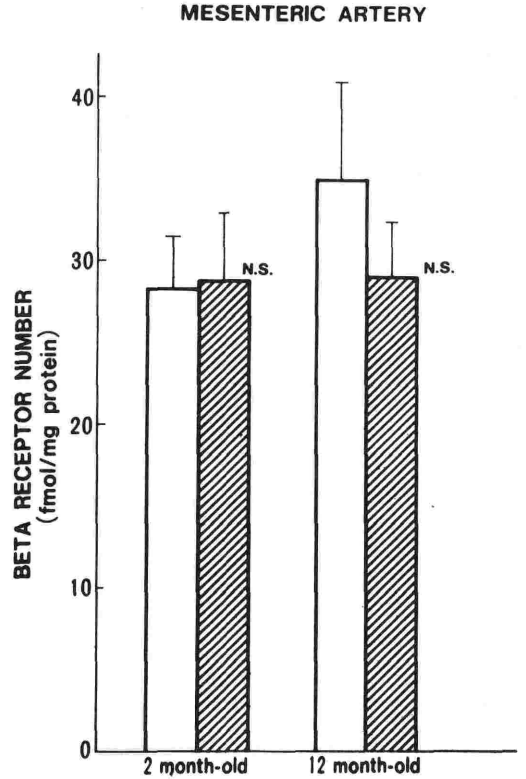


図19B

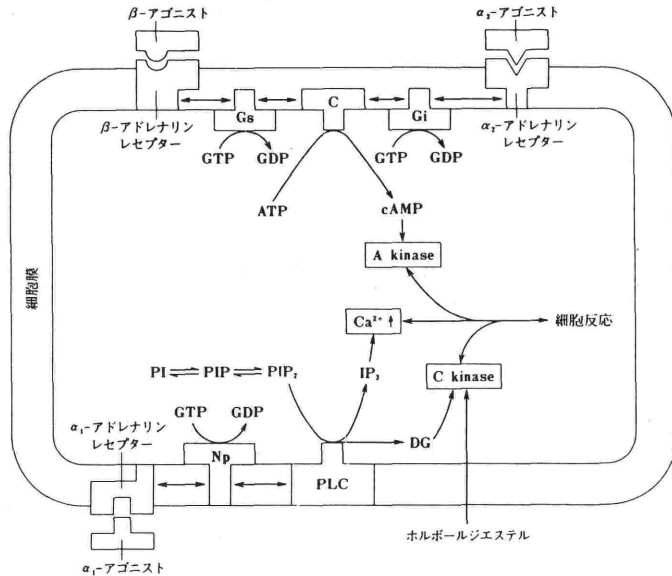


図20 アドレナリンレセプターとその細胞内情報伝達系

- | | |
|-----------------------|---------------------------------------|
| C: アデニル酸シクラーゼ | PIP: ホスファチジルイノシトール4-リン酸 |
| Gs, Gi, Np: GTP 結合蛋白質 | PIP ₂ : " 4,5-二リン酸 |
| PLC: ホスホリパーゼC | IP ₃ : イノシトール 1, 4, 5-三リン酸 |
| PI: ホスファチジルイノシトール | DG: ジアシルグリセロール |

ではないと我々は現在考えています。

以上のことをまとめると、図20に示しますように β 受容体に関しては血管弛緩反応に及ぼす加齢現象、 α 受容体に関しては脱感作現象を例にとって述べましたが、細胞膜、平滑筋においては α_1 , α_2 及び β_1 , β_2 受容体がともにあるわけですが、それが β 受容体に関しては cAMP を介し、またこの図はちょっとかき過ぎていますが、 α_1 と α_2 では、 α_2 受容体はアデニレートシクラーゼを抑制する方で働いているのではないかと現在考えられています、これは確かめられてはいません。

一方、少なくとも α_1 受容体に関しては細胞内のカルシウムをふやすことによって収縮反応が起こる。この α_1 , α_2 , β 受容体、それぞれの反応を引き起こす細胞膜の一番最初の入り口である受容体自身の調節で、例えば α_1 の脱感作で見たように、その数によって調節される可能性もあれば、一方、 α_2 , あるいは加齢による β 受容体への影響等で示したように、数ではなく、むしろ受容体以後の機序で何かが起こっているらしいことがより統合的に現在わかってきたことを述べさせていただきました。

座長 辻本先生、ありがとうございます。

私ども、 β , または α の受容体を血管の拡張、収縮として考えていたのですけれども、今のお話で受容体の格好が浮かび上がってきたことと、数、感受性の問題を、 α_1 に関しては褐色細胞腫を例にとりました。私どもは例えばこれがショックという極端なカテコールアミンの状況に曝されたというもっと短期間の場合にこれがどうなるかを先生にお聞きしたいと思います。

β に関しては cAMP があるにしても、 β 受容体の次の問題、例えば甲状腺機能を介した老化の作用として非常に明快地に、私どもは簡単に受容体と考えていても後のものも含めながら理解しなければいけないことがわかったと思います。

ご質問をいただければありがたいと思います。

福田 (新潟大学) 先生は今結合部位外 (extra-junctional site) のところには α_2 , 結合部 (junctional site) のところには α_1 というランガーの模式図を示されましたが、私たちが例えばヒトでフェニレフリン、メトキサミン等の薬を入れると確

かに昇圧するし、実際に結合部位から遠いところに α_2 がヒトの場合にあるのかどうかについて、まず先生のお考えをお願いします。

それから、加齢で β のことを強調されましたが、血圧が下がったときにフェニレフリンを入れる場合がありますが、確かに年をとった人ほどその量が若い人に比べ少量で済むわけです。 α 受容体と加齢の関係について先生はどうお考えか、教えていただきたいと思います。

辻本 第1点の α_1 , α_2 のことです。確かに私が示したスライドは Langer の総説から取ってきたものですが、Langer たちは α_1 , α_2 が図5のように分布していると極端に考えていますが、我々の実験データ、あるいは他ののを見てもシナプス以外のところにももちろん α_1 は存在します。また去年の "Circulation Research" だと思いますが、人間の手の静脈で体積変動記録器等を用いて、シナプスより遠い部位にも α_1 , α_2 がともに存在するという所見が出ていると思います。

第2点の加齢に β 受容体の話をしましたが、加齢の α 受容体を介した収縮の方に関しては我々はデータはありませんが、グラスゴウの John Reid 等が実際に人間、また各種の動物の腸間膜動脈を取ってその加齢による変化を見ているデータがあります。人間では α の変化はないと彼は報告しています。また最近はラット等の加齢モデルを用いて α 受容体を介するシナプス後 α_1 と α_2 を見っていますが、 α_2 が加齢によって、先生が言われたように敏感になるのではなく、少し落ちるというデータを出している方もあります。しかしそれはまだ結論的ではないと思います。

川端 (帝京大学) 2つほど教えていただきたいと思います。

1つは作働薬の濃度に依存した down regulation の程度はどのように考えたらいいかということです。

もう1つは受容体の内面化ということがあると思いますが、それはリガンドアッセイで、実験的に計測したときに細胞内に取り込まれた受容体はどういうふうに計測されるか。あるいは、最初の質問と関連するかと思いますが、それが細胞の膜表面に出てくる早さはどのようにわかっているのでしょうか。

辻本 まず1つ目の down regulation の作働薬

の濃度と時間の問題がもちろんあると思いますが、確かに濃度依存性であるし、また時間依存性であると、少なくとも培養細胞とかこういう intact な組織を用いて、down regulation に関しては言われています。また “down-regulation” がなくとも脱感作が生ずる。即ち、もう少し早いレベルの事象として非共役ということがありますが、これも濃度依存的だと思います。

2つ目の内面化をして戻ってくる話ですが、事実、再生循環しているのか、それとも一たんつぶされてもう一回合成されてくるのかはまだ明確にはわかっていません。確かに組織細胞膜表面から隠れて潜んでいてそれがまた再生循環していると言っている人もいれば、それは一たんつぶされて、もう一回合成されると考えている人もいます。α 受容体、β 受容体に関して、非可逆的に薬物でつぶして、それが何日で回復してくるかという実験がありますが、それによると α 受容体では約24時間、β 受容体も大体24~48時間というレベルで少なくとももとの数にはなると言われていると思います。

座長 今の討論の間で内面化というお話が出てきました。これは例えば先生の言われた β、あるいは α に関しての受容体の数が減るときに、ちょっと中に隠れていて受容体の役をなさず、それが再び出てくるという可逆性の変化をしているのか、それとも破壊されてしまって、その数はなくなってまた別口が出てくるのだと考えるという討論ではなかったかと思います。

例えば、今の褐色細胞腫等長期間の場合ではな

く、ショックのときにカテコールアミンの感度が鈍くなり、しかもある時期たってくるとまた感度がよくなってくる。生体がカテコールアミンの血中濃度の異常上昇に曝されていると余り反応しなくてもいいというのでちょっと隠れていて、状態がよくなってくると出現するという可逆的な格好で考えたらどうかという質問ではなかったかと思います。たまたまそういう研究がショックの面になされているので私も興味がある点です。

辻本 きょうは話しませんでしたでしたが、down regulation が、数が減ることがすべてを説明するようなことを言いましたが、実はそうではなくて、もっと短期間の脱感作に関しては数が減らなくても脱感作が起きる。すなわち Lefkowitz 一派がよく言っているのは、受容体自身がリン酸化を受けて働かなくなっていく過程がまず最初にかかるのではないか。また事実それを説明するような所見も我々は得ています。

それから、これも Lefkowitz の一派ですが、潜んでいた受容体が実際の機能を持って潜んでいるのか、あるいは全く機能がなくなってしまうのかに関し、潜んでいるような受容体の分画を取ってきてそれを再構成した実験があります。そこから Lefkowitz らは intact の機能を持っている。ところが違う一派の人たちはやはり機能を持っていなかったと。まだ賛否に分かれていると思います。

座長 まだお話があると思いますが、先へ進ませていただきます。