

アドレノセプター研究の最近の進歩

遠藤 政夫*

はじめに

非常に多岐にわたる循環器系の制御は細胞外情報伝達物質（神経伝達物質，オートコイド，ホルモンなど）による細胞膜外側表面に存在するレセプター刺激により始動される。

循環器系の調節に関与するレセプターはシグナル共役タンパクである GTP 結合タンパク（G タンパク）を活性化することによってこれらの細胞外伝達物質によるシグナルを細胞内に伝達する。これらのレセプターは G タンパク共役型レセプターと呼ばれる。循環器系の調節に関与しているレセプターの中でアドレノセプターは活性化およびその調節範囲の広さでもっとも重要なレセプター系である。

I. アドレノセプターの歴史

Ahlquist は1948年に各種の臓器の交感神経アミンに対する反応性の相違からアドレノセプター（AR）を α と β レセプターに分類した¹⁾。その後 β AR はさらに β_1 AR と β_2 AR に亜分類され²⁾、 α AR も α_1 AR と α_2 AR に亜分類された³⁾。現在では個々の AR はさらに細分類され、 α_1 AR は α_{1A} 、 α_{1B} 、 α_{1C} 、 α_{1D} AR に⁴⁾、また α_2 AR も α_{2A} 、 α_{2B} および α_{2C} AR に細分類された⁵⁾。

また β AR に関しては β_3 AR の存在も確立された^{6,7)}。アドレノセプターの現在の分類とその特徴を表1 A, B, C に示す。

レセプターは長い間薬理作用を説明するのに都合のよい仮説上の概念として実体のない存在に留まっていたが、ラジオリガンド結合実験法の開発により破壊細胞膜片に特異的結合部位の存在が確

認された。さらに分子生物学的実験方法の進歩により α 、 β レセプターを含む多くの受容体のアミノ酸配列が明らかにされるに至った⁸⁻¹²⁾。

これらの受容体タンパクは精製され、リン脂質膜顆粒に再構成されて機能修飾（cAMP 生成能）が研究された。これらの受容体の遺伝子または cDNA が単離され、クローニングにより受容体構造のアミノ酸配列が決定された。

これによりアドレノセプターで代表される gene family は非常に広範なホルモン、薬物、神経伝達物質（ムスカリン受容体など）さらには光受容器ロドプシン（G タンパクであるトランスデュースインを介して cGMP-PDE 活性化に共役されている）をも包含する巨大な family であることが明らかになった¹²⁾。

これらのレセプターに共通する特徴は細胞外に N 末端をもち細胞膜を七回貫通し、細胞内に C 末端をもつポリペプチド鎖であることである（図1）¹⁰⁾。

従来の分類はアドレノセプターに対する反応性または受容体遮断薬に対する感受性の差違という機能的な基盤に基づいてなされてきた¹⁻⁵⁾。それに対して遺伝子工学的にクローニングでアミノ酸配列の相違から分類されたレセプター^{4-6,8-10)}との間には今後の研究で埋められなければならない喰い違いが有る。

II. レセプターと情報伝達

レセプターを介した細胞機能の調節は循環器系に限らず、より一般的に一定の情報伝達過程に従って起こることが確立されている。すなわちこれらの調節は一般的に

細胞外伝達物質→レセプター→G タンパク→細胞内セカンドメッセンジャー→細胞機能変化

*山形大学医学部薬理学教室

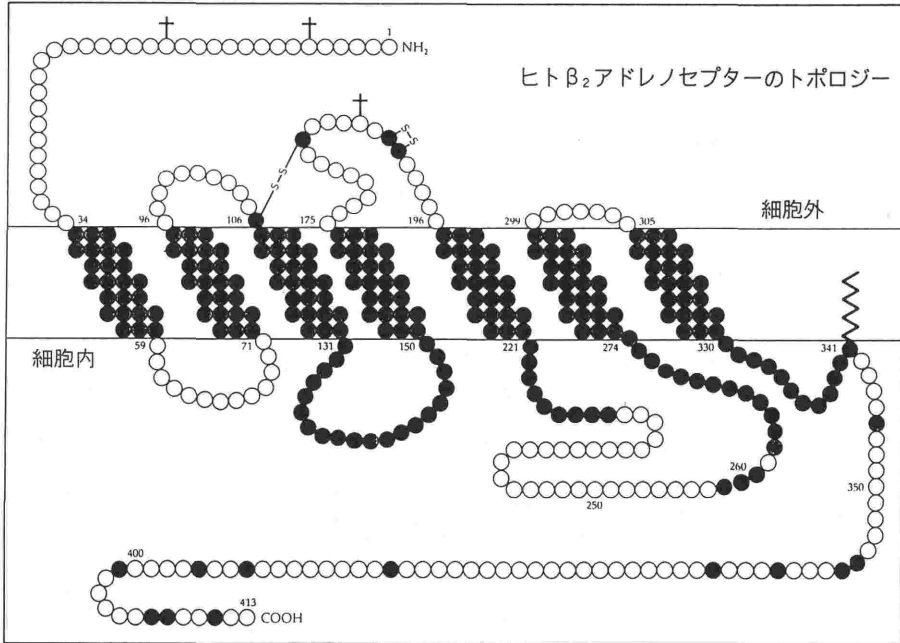


図1 ヒトβ₂アドレノセプターの一次構造

(イオンチャネル, イオン交換機構, 遺伝子発現など)→個々の細胞応答 (機能変化, 細胞肥大・増殖, 代謝調節)→統合的調節
という情報伝達過程を経て達成される。

情報伝達の最初のステップは細胞外伝達物質の存在である。これはアドレナリン, ノルアドレナリン, ドパミンなどの分子量の小さい化学物質でこれらの化学物質が個々の物質に特有のレセプターに結合することによって情報伝達過程が始動される。これらの化学物質は個々のレセプターと強固に結合して複合体を形成しリガンド (L) と呼ばれる。

レセプター (R) は細胞形質膜外側表面に存在するタンパク分子でR・L複合体を形成することにより形質膜内に存在するGタンパクを活性化する (図2)。したがってR・L複合体はレセプター結合情報を翻訳し以下の情報伝達系に伝える役割を演じている。

Gタンパクは細胞内酵素活性化により細胞内セカンドメッセンジャーを生成したりあるいは直接的に形質膜イオンチャネルを活性化することにより情報伝達における中心的な役割を演じている^{13, 14)}。

細胞内セカンドメッセンジャーは主として形質膜結合酵素により細胞質内で生成される。循環器系細胞においてはその数は非常に限られており, cAMP, cGMP, イノシトール 1, 4, 5-三リン酸 (IP₃), プロテインキナーゼC (PKC) 活性化を起こすジアシルグリセロール (DAG) などである。

βARのサブタイプはすべてcAMP生成に共役されている (表1C)。ATPからcAMPが生成される伝達系は心筋細胞における促進性調節にもっとも重要な意義をもち情報伝達系の中でその解明がもっとも進んでいる。

一方α₁AR刺激は細胞膜脂質であるホスファチジルイノシトール (PI) 4, 5-二リン酸からホスホリパーゼC (PLC) 活性化によりIP₃とDAGを産出する^{4, 11)} (表1A)。これら二つの細胞内セカンドメッセンジャーによる情報伝達機構の解明は平滑筋および心筋細胞において現在大きな研究課題となっている。

Ⅲ. アドレノセプター (AR)

交感神経系はアドレノセプターを介して循環器系を含む広範にわたる生体機能のホメオスタシス (恒常性の維持) にきわめて重要な役割を演じて

いる。これらの中には心拍数・心筋収縮力・血管平滑筋の収縮性・血圧・気管支平滑筋収縮・糖および脂肪酸代謝・その他の末梢臓器機能調節が含まれる。これらの多岐にわたる機能調節は非常に数の限られた生体アミン（神経伝達物質およびホルモン）すなわち主として交感神経興奮によりその節後線維終末部から遊離されるノルアドレナリンと副腎髄質から遊離されるアドレナリンによって行なわれている。

これらのカテコールアミンの作用は種々の細胞の質膜外側表面に存在する交感神経 α および β ARへの結合によって細胞内情報伝達過程を経て発揮される。 α 、 β ARはそれぞれのサブタイプをもちそれらのサブタイプの臓器による分布の不均一性およびそれに共役した細胞内情報伝達過程の多様性が交感神経系を介する多岐にわたる機能調節を可能にしている（表1A, B, C）。

表1A α_1 アドレノセプターの分類と性状

| サブタイプ | α_{1A} | α_{1B} | α_{1C} | α_{1D} |
|---------------|----------------------|---------------------|-------------------------------------|--------------------|
| 以前の命名 | α_{1a} | α_{1b} | — | α_{1A} |
| 効力(ポテンシー) | NA \geq adrenaline | adrenaline = NA | adrenaline = NA | adrenaline = NA |
| 選択的刺激薬 | — | — | — | — |
| 選択的拮抗薬 | WB4101 (~9.2) | CEC (irreversible) | WB4101 (~9.2) CEC (irreversible) | WB4101 (~9.2) |
| 主な効果器(エフェクター) | IP ₃ /DG | IP ₃ /DG | IP ₃ /DG | — |
| 遺伝子 | — | α_{1B} -C5 | α_{1C} -C8 | α_{1A} -C20 |

表1B α_2 アドレノセプターの分類と性状

| サブタイプ | α_{2A} | α_{2B} | α_{2C} |
|---------------|--|--|--|
| 効力(ポテンシー) | adrenaline \geq NA | adrenaline \geq NA | adrenaline \geq NA |
| 選択的刺激薬 | oxymetazoline (weak partial agonist) | — | — |
| 選択的拮抗薬 | — | prazosin (~7.5) ARC239 (~8.0) | prazosin (~7.5) ARC239 (~8.0) |
| 主な効果器(エフェクター) | cAMP ↓ K ⁺ channel ↑ (G) Ca ²⁺ channel ↓ (G) | cAMP ↓ Ca ²⁺ channel ↓ (G) | cAMP ↓ |
| 遺伝子 | α_{2A} -C10 | α_{2B} -C2 (mg α 2 rat) | α_{2C} -C4 (rg 10 α 2 rat) |

表1C β アドレノセプターの分類と性状

| サブタイプ | β_1 | β_2 | β_3 |
|---------------|--|---|--|
| 以前の命名 | — | — | atypical β |
| 効力(ポテンシー) | NA \geq adrenaline | adrenaline > NA | NA > adrenaline |
| 選択的刺激薬 | noradrenaline xamoterol | procaterol | BRL37344 |
| 選択的拮抗薬 | CGP20712A (8.5-9.3) betaxolol (8.5) atenolol (7.0) | ICI 118551 (8.3-9.2) butoxamine (6.2) α -methylpropranolol (8.5) | — |
| 選択的ラジオリガンド | [³ H] bisoprolol (10 nM) | [³ H] ICI 118551 (10 nM) | [¹²⁵ I] iodocyanopindolol (0.5 nM) |
| 主な効果器(エフェクター) | cAMP ↑ | cAMP ↑ | cAMP ↑ |
| 遺伝子 | β_1 | β_2 | β_3 |

1) α -アドレノセプター

α_1 受容体は PLC 活性化を介して PI hydrolysis に促進性に (α_{1B}), または L 型 Ca チャネルに直接促進性に (α_{1A}) 共役されている (α_{1A} を介する PI hydrolysis 促進も報告されている). 生成された IP₃は細胞内 Ca 貯蔵部位からの Ca 遊離によって, またもうひとつの生成産物である DAG が PKC の活性化を介して細胞内情報伝達機序に関与していることを示唆する実験データが蓄積されつつある^{4,11,15-17}).

α_1 受容体は Na-H 交換機構, Na-K ATPase, K チャネルなど多岐にわたる細胞機能調節系に共役されている^{11,18}).

一方 α_2 受容体は抑制性 G タンパク “Gi” を介してアデニル酸シクラーゼの活性化サブユニットに抑制性に共役されている⁵).

α_{1B} 受容体刺激は PI hydrolysis を触媒する PLC に共役されているが, この共役に関与している G タンパクは G_q と呼ばれ, G_s, Gi のようにはその性状は明らかにされていない¹²).

α_{1B} サブタイプはアルキル化薬である chlorethylclonidine (CEC) で選択的に遮断される¹⁹). 血管平滑筋では IP₃ と DAG の情報伝達における意義を示唆する実験結果が得られている^{4,11,15}). IP₃は細胞内 Ca 貯蔵部位からの Ca 遊離作用により細胞内 Ca 濃度を上昇させることにより, また DAG は PKC 活性化による機能調節タンパク質 (イオンチャネル, イオン交換系, 酵素など) のリン酸化により細胞機能を修飾すると考えられている²²⁻²⁴).

心筋 α 受容体がことに興味をひく点はある種の心肥大実験モデルで α 受容体刺激が心筋細胞肥大促進作用をもつこと, また心筋虚血後再灌流時不整脈発生に α 受容体刺激が役割を演じていることを示唆する実験結果が得られていることなどである^{25,26}).

2) β -アドレノセプター

β AR 刺激は cAMP 生成酵素アデニル酸シクラーゼ (AC) を活性化する. β_1 , β_2 , β_3 AR はともに促進性 G タンパク “G_s” を介して AC の活性化サブユニットに促進性に共役されている. β_1 AR は心臓機能促進に, β_2 AR は血管・気管平滑筋弛緩に関与しているのに対し, 新しく同定された β_3 サブタイプは脂肪組織・肝臓・骨格筋・

気管支平滑筋・回腸などに存在する^{6,7}). 心筋細胞においてもある種の部分活性化薬の陽性変力作用は既存の β 遮断薬に抵抗性を示し, 非定型 β 受容体の存在が推定されている^{25,27}). しかし心筋細胞に β_3 AR が存在するかどうかについてはまだ確立されていない. β 受容体を介する cAMP 蓄積はムスカリンおよびアデノシン受容体刺激により G_i を介して容易に拮抗される²⁸).

生成された cAMP はプロテインキナーゼ A (PKA) 活性化による細胞機能調節タンパク (L 型 Ca チャネル, ホスホランパン, トロポニン I など) のリン酸化によりそれらのタンパク構造の変化を起こして細胞機能を修飾する²⁶).

IV. 受容体の構造

G タンパクに共役する受容体の中で β アドレノセプターがもっともよく研究されている.

β_2 受容体のアミノ酸配列の一次構造とそれらの細胞膜内への配置を図 1 に示す⁸). α_1 および β_2 受容体はまったく異なった細胞内情報伝達過程を介してそれぞれの受容体に特異的な細胞機構調節を行なっているが分子的相同性は高い.

その特徴は脂質二重層内に配置されていると推定される 7 つの疎水性アミノ酸鎖 (20-28 個のアミノ酸よりなる) である (図 1)¹⁰).

受容体間におけるアミノ酸の相同性はこれらの経膜性領域 (M-1 から M-VII) に集中している. 個々の経膜性領域の疎水性アミノ酸鎖はロドプシンとの類似性から α 螺旋を形成していると考えられている. 最初の二つの細胞内ループ (C-1 と C-II) にも弱い相同性は見られる. その他の構造 (N-末端, C-III, C-末端) は受容体間で非常に多岐にわたっている. N-末端に近い glycosylation 部位, 調節性リン酸化部位にも受容体間における相同性が見られる¹⁰).

受容体は細胞外情報を認識する機能とそれを情報伝達機構に共役する機能を有する. これらの機能はそれぞれ受容体タンパク分子のリガンド結合部位と G タンパク結合部位によって達成される. リガンド結合部位は受容体分子の経膜性領域に存在すると推定される. 親水性ループの欠如したハムスター β_2 受容体 mutant にリガンド結合性状の変化は見られないが 7 番目の経膜性領域の中間で切断された mutant ではリガンド結合性がまった

く消失する²⁹⁾。M-II、M-IIIまたはM-II領域の単一アミノ酸の変化はリガンド結合性状の著しい変化をもたらす。またM-V領域のSer²⁰⁴とSer²⁰⁷がカテコールアミンとの結合に関与していることが示唆されている³⁰⁾。β₁とβ₂受容体のリガンド結合性状は非常に類似している。図1の経膜性領域、細胞外および330と241の●はリガンド結合ポケットを形成しているアミノ酸を示す⁴⁾。

受容体のもうひとつの重要な機能である細胞内情報伝達機構への共役は細胞内ループとC末端に存在する。C-Iは受容体間に相同性が高いで効果器への特異的共役ではなく非特異的共役機構に関与していることが推定されている。C-IIIのAsp¹³⁰がβ受容体のG_sへの共役に重要なことが示唆されている²⁹⁾。β受容体は比較的短いC-IIIと長いC末端をもつものに対してGi (α₂とM₂)やPLC (M₁)に共役する受容体は長いC-IIIと短いC末端をもつ³¹⁾。

図1の細胞内ループの131-150, 221-229, 258-260, 263-273, 331-340の●はGタンパク共役に重要な役割をもつことが想定されている⁴⁾。

後述する受容体脱感作現象には細胞内ループのリン酸化が重要な役割を演じている。図1中262と346の●はPKAによるリン酸化部位を、また355以降の●はβARKによりリン酸化されるアミノ酸を示す⁴⁾。

βAR分布は臓器により著しい不均一性を示す。たとえばβ₁ARは心筋細胞に、β₂ARは気管支平滑筋および血管平滑筋に主として分布する。しかしβARはβ₁, β₂ARともに促進性GタンパクGsを介して細胞内情報伝達物質であるcAMP生成酵素のアデニル酸シクラーゼを活性化する(表1C)。

これらの受容体刺激はこの細胞内機序により個々の臓器に特有な細胞機能修飾効果を引き起こす。cAMPはPKAを活性化する。これにより例えば心筋細胞においてはL型Caチャンネル、心筋小胞体ホスホランパン、収縮タンパクトロポニンIなどの機能タンパク質をリン酸化することによりそれらタンパク質の構造変化を引き起こし、細胞内イオン動態および収縮タンパク質Ca感受性を調節することにより心筋収縮性を制御する。その結果としてβ受容体刺激による心筋収縮時間の短縮と顕著な弛緩速度の促進をともなった特徴的

な収縮張力の増強が起こる³²⁾。

βアゴニストがβARに結合するとGTPの存在下でG_sが活性化される。GTP結合タンパク質はαβγの3つのサブユニットからなる。βアゴニストが受容体に結合するとαサブユニットがβγから解離し、β受容体活性化の情報をアデニル酸シクラーゼの活性化サブユニットに伝達する。

Kobilkaらはアデニル酸シクラーゼ活性化または抑制にそれぞれ共役されているβ₂とα₂のキメラ受容体を作ることによってリガンド結合およびGタンパク共役特性を分析した³³⁾。その結果G_sへの共役にはM-VからM-VIのC末端への領域が、またリガンド結合特性にはM-VII領域が重要な役割を演じていることを明らかにした。

V. α, β受容体刺激とイオンチャネル

形質膜イオンチャネル機能ことにL型Caチャンネル活性がα, β受容体刺激で促進性の調節を受けていることは広く知られている。βAR刺激によるL型Caチャンネル機能促進はcAMPによるリン酸化機構による。さらにβ刺激で活性化されたG_sがcAMPを介さずに直接的にCaチャンネル活性化を起こすことが提唱され注目を浴びた^{13,14)}がその機構に否定的な実験結果も報告されている³⁴⁾。

α_{1A}ARのα₁サブタイプはL型Caチャンネルに直接的に共役していることが推定されている。Gタンパク(Gr)の関与している可能性もあるがその詳細は今後の研究課題として残されている¹²⁾。

心筋細胞α受容体刺激による細胞内Ca濃度上昇は種々の機構を介して起こる¹⁸⁾。Ca influxの増加はCaチャンネルに対する直接効果よりもむしろKコンダクタンス抑制による活動電位持続時間延長による間接効果によると考えられる。心筋αアドレノセプターは非常に多岐にわたる細胞内情報伝達機構に共役されている¹⁸⁾。その中にはNa-H交換機構促進、トロポニンTとIのリン酸化(これはPKCによる作用でα刺激では証明されていない)。Kコンダクタンスの抑制または活性化、百日ぜき毒素感受性Gタンパクを介するNa, K-ATPase活性化などの調節が含まれている¹⁸⁾。

VI. 脱感作現象 (desensitization : DSZ)

レセプターが長時間にわたり高濃度のアゴニストに曝されるとその受容体を介する情報伝達系の効果は減弱する。これは脱感作現象として長い間知られていた。脱感作現象にはその受容体を介する情報伝達のみが減弱する“homologous DSZ”とその受容体と細胞内情報伝達過程を同じくする他の受容体を介する伝達も減弱する“heterologous DSZ”が存在する。前者がより一般的に観察される。たとえばうっ血性心不全の増悪期に心筋細胞は代償性に起こる交感神経興奮によるノルアドレナリンの放出過剰と副腎髄質からの高濃度の血中アドレナリンに曝されることにより、 β_1 レセプターの down-regulation (RDR) が起こる。実験的には高濃度のカテコールアミンの長期投与により同様の RDR が起こる。逆に β 遮断薬の長期投与により receptor up-regulation (RUR) が起こる。このことは臨床的に高血圧治療薬として β 遮断薬を長期投与していた患者になんらかの理由で投与を中止しなければならぬ時慎重な注意を要することを意味する。すなわちあまりに急激な投与中止は RUR による反跳現象 (rebound phenomenon) として知られる症状の急性増悪を引き起こす。

RDR の起こる細胞内過程の研究も著しく進んでいる³³⁾。図 2 に示すように第一ステップは β -adrenergic receptor protein kinase (β ARK) が蓄積された cAMP で活性化され、活性化状態にある β 受容体がこの酵素でリン酸化を受けることにより不活性化されることである。この過程は細胞外シグナルによる過剰刺激に対するネガティブフィードバックで細胞を保護する機構として重要である。この時にアレスチンと呼ばれるタンパクがリン酸化された受容体と G タンパクとの相互作用を遮断する (図 2)。

第二のステップは内部化 (internalization) という過程で、リン酸化によってアデニル酸シクラーゼから脱共役された受容体は形質膜表面から消失し internalization という状態に置かれる。この状態にあるレセプターは結合活性を維持しているので受容体結合実験で測定することが可能である。受容体は次のステップとして破壊されるかあるいはホスファターゼによる脱リン酸化によりアレスチンから解離して再び形質膜表面に現われる

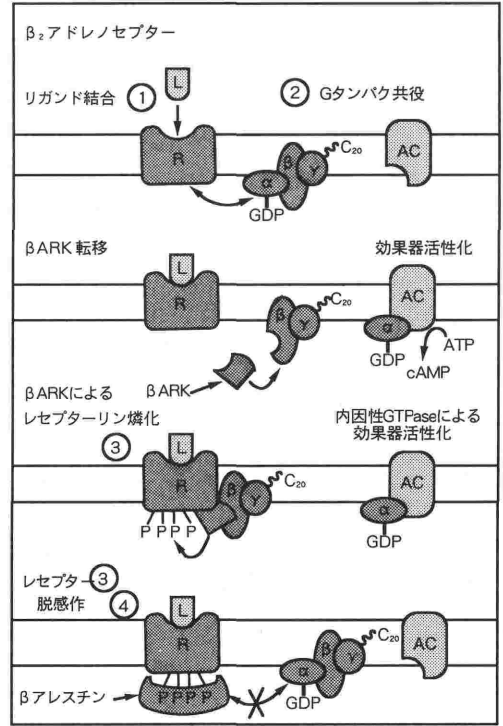


図 2 β_2 アドレノセプターの活性化と脱感作機構
L : リガンド, R : レセプター, AC : アデニル酸シクラーゼ

まで内部化の状態に置かれる。

交感神経刺激またはアゴニストによる受容体刺激が停止すれば内部化された受容体は形質膜に戻る。しかしアゴニストへの細胞の暴露が遷延すると第三のステップとして細胞内リソゾーム酵素による受容体タンパクの分解が起こる。第一および第二のステップと異なり第三のステップは不可逆性なので、この過程まで進むと回復は新しい受容体の再合成にまたなければならない。

α_1 レセプターにも上述の β 受容体で起こる過程が protein kinase C 活性化を介して起こることが実験的に示されている。

G タンパクが影響を受けると heterologous DSZ が起こることが予測される。しかし実験的にはまだ示されていない。

その他甲状腺機能も循環器系レセプターに顕著な影響を与えることが知られている。甲状腺機能亢進は β 受容体の増感現象を、また逆に甲状腺機能低下は β 受容体の感受性低下を引き起こす。

VII. ヒト心臓のアドレノセプター

ヒト心臓にも α_1 , β_1 および β_2 アドレノセプターが存在し心機能調節に与っている。最近 α_1 受容体刺激が収縮力増強作用に関与していることが生体位ヒト心臓において明確に示されたが β 受容体が主役を演じていることは広く認められている。ヒト心臓には β_2 サブタイプも存在するが β_1 サブタイプがもっとも重要である。 β_1 サブタイプは心臓の各部位に満遍なく分布しているが β_2 サブタイプは歩調とり細胞に最も多く存在し、心房筋、心室筋細胞とその分布は粗になる。心室筋細胞では約20%が β_2 サブタイプである³⁵⁾。

両サブタイプ共に共役タンパク G_s を介してアデニル酸シクラーゼ活性化による cAMP 蓄積により作用を起こすので細胞内伝達機構に差はない。しかし、種々の心疾患において β_1 サブタイプは一貫して down-regulation を受けるのに対して β_2 サブタイプの受ける影響は心疾患によって非常に異なる。 β 受容体は虚血生心疾患による心筋症末期、僧帽弁疾患、ファロー四徴症などで減少するが拡張型心筋症や大動脈弁疾患では変化しない³⁵⁾。このような状態における患者ではアドレノセプターを介する陽性変力効果は顕著に減少する。実験動物においては余剰受容体 (spare receptor) の存在によって非常に高度な down-regulation に到るまで効力 (potency) の低下のみが起こるがヒト心臓においては β 受容体の余剰受容体は存在しないので down-regulation は直接的に最大反応を含む効果 (efficacy) の低下を引き起こす。

カテコールアミン類をはじめとする交感神経アミン受容体作動薬の効果は当然減少するが短期間の心筋収縮維持のためには投与しうる。このような状態における交感神経アミンの効果は down-regulation の起こり方に依存し、エピニンとドパミンは完全活性化薬として、デノパミンとドパミンは部分活性化薬として作用するが、ザモテロールは作用をもたない³⁶⁾。

おわりに

アドレノセプターの研究は他のレセプターを介する情報伝達系の解明とともに最近の十年間で著しく進んだ。これは従来の薬理学的方法に加え

て、遺伝子光学の進歩による受容体分子を始め G タンパク、イオン・チャンネルなどの分子構造の決定が可能となり、さらにパッチ・クランプ法による単一イオン・チャンネル活性の測定、細胞内イオン動態測定法の進歩などにより細胞内情報伝達過程を種々のステップで正確に把握することが可能になったことによる。これらの生理的な情報伝達過程の異常と循環器疾患との因果関係の解明および新しい薬物による病態の人工的抑制が今後の重要な研究課題となっている。

文 献

- 1) Ahlquist, R. P. : A study of the adrenergic receptors. *Am. J. Physiol.* **153**: 586-600, 1948.
- 2) Lands, A. M., Arnold, A., McAuliff, J. P., Luduena, T. P., Braun, T. G. : Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature (Lond.)* **214**: 597-598, 1967.
- 3) Berthelsen, S., Pettinger, W. A. : A functional basis for classification of α -adrenergic receptors. *Life Sci.* **21**: 595-606, 1977.
- 4) Minneman, K. P. : α_1 -Adrenergic receptor subtypes, inositol phosphates and sources of Ca^{2+} . *Pharmacol. Rev.* **40**: 87-119, 1988. Lomasney, J. and Allen, L. : A seven transmembrane domain receptor: the β_2 -adrenergic receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 1993, Receptor Nomenclature Supplement.
- 5) Bylund, D. B. : Subtypes of α_2 -adrenergic receptors: pharmacological and molecular biological evidence converge. *Trends Pharmacological Sci.* **9**: 356-361, 1988.
- 6) Emorine, L. J., Marullo, S., Briand-Sutren, M.-M., Patey, G., Tate, K., Delavier-Klutchko, C., Strosberg, A. D. : Molecular characterization of the human β_3 -adrenergic receptor. *Science (Wash. DC)* **245**: 1118-1121, 1989.
- 7) Van Liefde, I., Van Witzenburg, A., Vauquelin, G. : Multiple β adrenergic receptor subclasses mediate the l-isoproterenol-induced lipolytic response in rat adipocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **262**: 552-558, 1992.
- 8) Schwinn, D. A., Lomasney, J. W., Lorenz, W., Szklut, P. J., Fremeau, R. T., Jr., Yang-Feng, T. L., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J., Cotecchia, S. : Molecular cloning and expression of the cDNA for a novel α_1 -adrenergic receptor subtype. *J. Biol. Chem.* **265**: 8183-8189, 1990.
- 9) O'Dowd, B. F., Hnatowich, M., Regan, J. W., Leader, W. M., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J. : Site-directed mutagenesis of the cytoplasmic domains of the human β_2 -adrenergic receptor localization of regions involved in G-protein-receptor coupling. *J. Biol. Chem.* **263**: 15985-15992, 1988.
- 10) Lefkowitz, R. J., Caron, M. G. : Adrenergic receptors: models for the study of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *J. Biol. Chem.* **263**: 4993-4996, 1988.
- 11) Ruffolo, R. R., Jr., Nichols, A. J., Stadel, J. M., Hieble, J. P. : Structure and function of α -adrenoceptors. *Phar-*

- macol. Rev. **43**: 475-505, 1991.
- 12) Harrison, J. K., Pearson, W. R., Lynch, K. R.: Molecular characterization of α_1 - and α_2 -adrenoceptors. Trends Pharmacol. Sci. **12**: 62-67, 1991.
 - 13) Birnbaumer, L., Abramowitz, J., Brown, A. M.: Receptor-effector coupling by G proteins. Biochem Biophys. Acta. **1031**: 103-224, 1990.
 - 14) Birnbaumer, L.: G proteins in signal transduction. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. **30**: 675-705, 1990.
 - 15) Abdel-Latif, A. A.: Calcium-mobilizing receptors, polyphosphoinositides, and the generation of second messengers. Pharmacol. Rev. **38**: 227-272, 1986.
 - 16) Berridge, M. J., Irvine, R. F.: Inositol phosphates and cell signalling. Nature (Lond.) **341**: 197-205, 1989.
 - 17) Shearman M. S., Sekiguchi, K., Nishizuka, Y.: Modulation of ion channel activity: a key function of the protein kinase C enzyme family. Pharmacol. Rev. **41**: 211-237, 1989.
 - 18) Endoh, M.: Signal transduction of myocardial α_1 -adrenoceptors: regulation of ion channels, intracellular calcium, and force of contraction - a review. J. Appl. Cardiol. **6**: 379-399, 1991.
 - 19) Takanashi, M., Norota, I., Endoh, M.: Potent inhibitory action of chlorethylclonidine on the positive inotropic effect and phosphoinositide hydrolysis mediated via myocardial α_1 -adrenoceptors in the rabbit ventricular myocardium. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. **343**: 669-673, 1991.
 - 20) Manning, A. S., Hearse, D. J.: Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. J. Mol. Cell. Cardiol. **16**: 497-518, 1984.
 - 21) Simpson, P.: Stimulation of hypertrophy of cultured neonatal rat heart cells through an α_1 -adrenergic receptor and induction of beating through an α_1 - and β_1 -adrenergic receptor interaction. Evidence for independent regulation of growth and beating. Circ. Res. **56**: 884-894, 1985.
 - 22) Moncada, S., Radomski, M. W., Palmer, R. M. J.: Endothelium-derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. Biochem. Pharmacol. **37**: 2495-2501, 1988.
 - 23) Ahlner, J., Andersson, R. G. G., Torfgard, K., Axelsson, K. L.: Organic nitrate esters: clinical use and mechanisms of actions. Pharmacol. Rev. **43**: 351-423, 1991.
 - 24) Löffelholz, K., Pappano, A. J.: The parasympathetic neuroeffector junction of the heart. Pharmacol. Rev. **37**: 1-24, 1985.
 - 25) Kaumann, A. J.: Is there a third heart β -adrenoceptor? Trends Pharmacol. Sci. **10**: 316-320, 1989.
 - 26) Katz, A. M. Physiology of the Heart, 2nd ed. Raven Press, New York, 1992.
 - 27) Kaumann, A. J.: Some aspects of heart beta adrenoceptor function. Cardiovasc. Drugs Ther. **5**: 549-560, 1991.
 - 28) Endoh, M.: Dual inhibition of myocardial function through muscarinic and adenosine receptors in the mammalian heart. J. Appl. Cardiol. **2**: 213-230, 1987.
 - 29) Frazer, C. M., Chung, F.-Z., Wang, C.-D., Venter, J. C.: Site-directed mutagenesis of human β -adrenergic receptors: substitution of aspartic acid-130 by asparagine produces a receptor with high-affinity agonist binding that is uncoupled from adenylate cyclase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **85**: 5478-5482, 1988.
 - 30) Strader, C. D., Candelore, M. R., Hill, W. S., Sigal, I. S., Dixon, R. A. F.: Identification of two serine residues involved in agonist activation of the β -adrenergic receptor. J. Biol. Chem. **264**: 13572-13578, 1989.
 - 31) Kobilka, B. K., Kobilka, T. S., Daniel, K., Regan, J. W., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J.: Chimeric α_2 - β_2 -adrenergic receptors: delineation of domains involved in effector coupling and ligand binding specificity. Science (Wash. DC) **240**: 1310-1316, 1988.
 - 32) Endoh, M., Blinks, J. R.: Actions of sympathomimetic amines on the Ca^{2+} transients and contractions of rabbit myocardium: reciprocal changes in myofibrillar responsiveness to Ca^{2+} mediated through α - and β -adrenoceptors. Circ. Res. **62**: 247-265, 1988.
 - 33) Kerlavage, A. R., Fraser, C. M., Venter, J. C.: Muscarinic cholinergic receptor structure: molecular biological support for subtypes. Trends Pharmacol. Sci. **8**: 426-431, 1987. (cf. Receptor nomenclature supplement, TiPS January, 1991).
 - 34) Hartzell, H. C., Méry, P.-F., Fischmeister, R., Szabo, G.: Sympathetic regulation of cardiac calcium current is due exclusively to cAMP-dependent phosphorylation. Nature (Lond.) **351**: 573-576, 1991.
 - 35) Brodde, O.-E.: β_1 and β_2 -adrenoceptors in the human heart: properties, function, and alterations in chronic heart failure. Pharmacol. Rev. **43**: 203-242, 1991.
 - 36) Deighton, N. M., Motomura, S., Bals, S., Zerkowski, H.-R., Brodde, O.-E.: Characterization of the *beta* adrenoceptor subtype(s) mediating the positive inotropic effects of epinine, dopamine, dobutamine, denopamine and xamoterol in isolated human right atrium. J. Pharmacol. Exp. Ther. **262**: 532-538, 1992.