



Regional distribution of [3H] nitrendipine binding in human brain

花田, 進

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1985-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0579

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000579>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	はな だ すすむ 花 田 進 （大阪府）
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医博い第 482号
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の日付	昭和60年 3 月31日
学 位 論 文 題 目	REGIONAL DISTRIBUTION OF [^3H] NITRENDIPINE BINDING IN HUMAN BRAIN (ヒト脳における [^3H] NITRENDIPINE 結合の分布)

審 査 委 員	主査 教授 中 井 久 夫
	教授 岡 田 安 弘 教授 田 中 千賀子

論 文 内 容 の 要 旨

緒 言

カルシウムチャンネルは平滑筋や心筋の収縮、神経伝達物質の遊離などに重要な役割を演じている。カルシウム拮抗薬は不整脈、高血圧、狭心症などの循環器障害だけでなく、くも膜下出血後の脳動脈の攣縮、偏頭痛、感情障害に対しても有効であるといわれている。また、抗精神病薬でありカルシウム拮抗作用を有するジフェニルピペリジンが精神分裂病の陰性症状を改善するという報告がある。

カルシウム拮抗薬ジヒドロピリジン誘導体の結合部位は ^3H -nitrendipine などのリガンドにより標識することができる。この結合部位は脳を含むいろいろの器官で確認されている。 ^3H -nitrendipine の特異的かつ高親和性の結合部位の存在はラット、マウス、モルモット脳で証明されてきたが、ヒト脳においては未だ報告がない。

中枢神経系におけるカルシウム拮抗薬結合部位の役割解明の一助とするために、本研究ではまずヒト死後脳における ^3H -nitrendipine 結合部位の存在を証明し、その特性さらに脳内分布について検索した。

対象と方法

精神神経疾患の既往のない患者死後脳7例（42-70歳）を剖検後、 -75°C で凍結保存した。左大脳半球脳組織（27部位）の重量を測定し、氷冷50mM Tris/HCl緩衝液（pH7.4）を加え、ポリトロンでホモジナイズした後、48,000g、10分間遠沈した。その沈澱を同緩衝液で再浮遊と遠沈

(48,000g, 10分間)を3回繰り返して洗浄したものを膜標品とした。

この膜標品を用いて、1時間以内に結合実験を実施した。基礎実験では、前頭前野(Brodmann 9野)および尾状核頭からの膜標品を用いた。1 μ M nifedipine 存在下あるいは非存在下に、膜標品を ^3H -nitrendipine (比活性, 70 Ci/mmol), 50 mM Tris/HCl 緩衝液 (pH7.4) 中で、25 $^{\circ}\text{C}$, 90分間、遮光の条件下でインキュベートした。その後、膜標品に結合した ^3H -nitrendipine を含む溶液は速やかに Whatman GF/B グラスファイバー・フィルターをとおして吸引濾過し、同氷冷緩衝液 8 ml で3回洗浄した。乾燥したフィルターの放射活性をトルエンシンチレータを用いて測定した。

^3H -nitrendipine 特異的結合は 1 μ M nifedipine の存在下と非存在下における膜標品と ^3H -nitrendipine の結合量の差と定義した。 ^3H -nitrendipine の最終濃度は、飽和実験においては、0.03–4.0 nMとし、その他の実験では 0.5 nMとした。蛋白定量は Lowry らの方法に従った。

結果と考察

1) ヒト死後脳における H-nitrendipine 特異的結合

^3H -nitrendipine 特異的結合は saturable で、1 nM以下のリガンド濃度では全結合量の65–70%を示した。Scatchard 解析の結果、 ^3H -nitrendipine 結合は単一成分で、前頭前野においては、解離定数 (Kd) は0.62 nM, 最大結合数 (Bmax) は57.5 fmol/mg protein, 尾状核においては、Kdは0.82 nM, Bmax は32.3 fmol/mg protein であった。これらの値はラット、モルモットにおける値とはほぼ一致していた。 ^3H -nitrendipine の特異的かつ高親和性結合部位の存在の証明はヒト脳においてはじめてのものである。

2) H-nitrendipine 結合における薬物置換実験

5種類のカルシウム拮抗薬(ニフェジピン、ニカルジピン、ベラパミル、ジルチアゼム、フルナリジン)による ^3H -nitrendipine 結合に対する影響を薬物置換実験により検索した。ジヒドロピリジン誘導体(ニフェジピン、ニカルジピン)による ^3H -nitrendipine 結合の抑制は最も強力で、その IC_{50} 値は1 nM以下であった。ベラパミルは特異的結合の約30%を抑制したに過ぎず、フルナリジンの IC_{50} 値はマイクロモル単位であった。一方、ジルチアゼはむしろ結合量を増加させた。これらの結果は以前の動物実験の結果を支持するものであった。

3) ^3H -nitrendipine 結合の脳内分布

ヒト脳における ^3H -nitrendipine 特異的結合の脳内27部位の分布は不均一であった。その結合量は、大脳皮質および嗅脳で高値を示し、間脳、基底核がそれにつぎ、中脳、小脳で低値を示した。これらの成績は脳内分布に関する以前の報告、すなわち Marangos ら (1982) のラット脳6部位での報告、Gould ら (1982) のラットおよびモルモット脳8部位での報告、Schoemaker ら (1983) のラット脳7部位での報告とはほぼ一致した。本研究においては、大脳皮質9部位のなかでは12野で最も値が高く、17, 39, 1–3, 44, 9野と続き、46野では最も低値で各々12野の56.4, 46.3%であった。嗅脳では、海馬、扁桃核 側坐核が各々12野の51.9, 78.2, 66.1%であった。海馬での結果は、

Schoemaker らの報告と一致しているが、海馬で最高値を示した Marangos らおよび Gould らの報告とは若干の相違がみられた。基底核では、尾状核、被殻のいずれも12野の50%以下の値で、特に淡蒼球では15-18%であった。間脳すなわち視床、視床下核、視床下部では、各々65.4、50.4、31.8%であった。中脳、小脳においては、赤核は12野の14.1%、黒質、脚間核は5-10%、小脳皮質と虫部は各々18.2、14.4%に過ぎなかった。ヒト脳においてカルシウム拮抗薬結合部位がこのような特徴的な分布を示したことはカルシウムの脳機能調節機序を解明する上で重要な意味をもつと思われる。

論文審査の結果の要旨

精神科領域におけるカルシウム・チャンネルの役割とカルシウム拮抗薬の意義は充分示唆されている。さて³H-nitrendipine などのリガンドでカルシウム拮抗薬ジヒドロピリジン誘導体の結合部位を標識する方法が開発されているが、特異的かつ高親和性結合部位の存在証明は従来実験動物脳のみにおいてであった。本研究はヒト死後脳における³H-nitrendipine 結合部位の存在を証明し、その特性と脳内分布を検索し、中枢神経系におけるカルシウム拮抗薬結合部位の役割解明に寄与せんとしたものである。

精神科的に異常のなかった7個体の凍結保存脳(42~70歳)についてその左半球の膜標品を調製し、その一時間以内に結合実験を行った。基礎実験では前頭前野(Brodmann 9)および尾状核頭の膜標品を上記³H標識薬物と pH7.4, 25 C, 90分、遮光下にインキュベートし、濾過後乾燥したフィルターの放射性を測定した。特異的結合を1 μ M nifedipine の存在下と非存在下における膜標品と³H-nitrendipine の結合量の差と定義した。

結 果

- (1) ³H-nitrendipine の特異的結合は飽和性があり、1 nM以下のリガンド濃度で全結合量の65~70%である。Scatchard 解析の結果、結合部位は単一成分で、前頭前野では解離定数0.62 nM, 最大結合数57.5 fmol/mg protein, 尾状核では解離定数 0.82 nM, 最大結合数 32.3 fmol/mn protein で、ラット、モルモットにおける数値とはほぼ等しい。
- (2) ³H-nitrendipine 結合における薬物置換実験。5種類のカルシウム拮抗薬による³H-nitrendipine 結合への影響を薬物置換実験で調べた。ジヒドロピリジン誘導体(ニフェジピン、ニカルジピン)による結合抑制がもっとも強力で IC₅₀ 値は1 nM以下、ベラパミルは特異的結合の30%しか抑制せず、フルナリジンの IC₅₀ 値は μ M単位であり、ジルチアゼムに至ってはむしろ結合量を増加させた。これらは以前行った動物実験結果と同一傾向にある。
- (3) ³H-nitrendipine 結合部位の脳内分布

ヒト脳27部位の特異的結合の分布は一様でなく、大脳皮質、嗅脳で高値を示し、間脳、基底核がこれに次ぎ、中脳、小脳が低値だった。これらの成績は他報告のラット、モルモット脳での分布と一致

する。大脳皮質では12野が最高で17, 39, 1～3, 44, 9 野と順次低下し, 4, 6 野および嗅脳, 基底核中尾状核と被殻, 視床および視床下部は大脳皮質12野の半分以下, 淡蒼球, 赤核, 黒質, 脚間核, 小脳皮質, 同虫部は十数%であった。このような特徴的分布はカルシウムの脳機能調節機制を説明する上で, 重要な意味を持つものと思われる。

以上, 本研究は中枢神経系について, そのカルシウム拮抗薬結合部位を研究したものであるが, 従来ほとんど行われなかったヒト脳について, 重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって本研究者は, 医学博士の学位を得る資格があると認める。