



Regulation of [3H] GABA release from strips of guinea pig urinary bladder

白川, 淳二

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1989-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0804

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000804>

※ 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）	白 川 淳 二 （大 阪 府）
学 位 の 種 類	医 学、博 士
学 位 記 番 号	医博い第627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	平成元年3月31日
学 位 論 文 題 目	Regulation of [^3H] GABA release from strips of guinea pig urinary bladder (モルモット膀胱条片からのトリチウム γ -アミノ酪酸遊離の調節)
審 査 委 員	主査 教授 岩 井 誠 三 教授 岡 田 安 弘 教授 田 中 千 賀 子

論 文 内 容 の 要 旨

緒 言

膀胱の運動機能は、主に交感神経、副交感神経からの情報が膀胱の副交感神経節で膀胱固有の内在性神経と相互に関連し修飾されることによって、制御されている。膀胱内に存在する非コリン、非アドレナリン作動性興奮性神経の伝達物質としてアデノシン3リン酸（ATP）やサブスタンスP、VIP、ソマトスタチンなどのニューロペプチドが、一方、非コリン、非アドレナリン作動性抑制性神経の伝達物質として γ -アミノ酪酸（GABA）が提唱されている。本研究は膀胱運動の神経性調節機構を解明する一環として抑制性神経のGABA作動性神経に着目し、その神経活動を調節する受容体を同定することを目的とした。

方 法

雌雄のモルモット（体重300–350 g）の膀胱を摘出し、膀胱体部の輪状方向の条片を作成した。摘出膀胱条片を〔 ^3H 〕GABAを含む栄養液（Krebs液）に1時間浸漬し、20分間新しい栄養液で洗浄した後、灌流装置に装着し、GABA分解酵素阻害剤である5-aminooxy acetic acidを含む栄養液で灌流した。1分間毎に採取した灌流液中の放射活性を液体シンチレーションカウンターにて測定した。灌流開始後120分後においても灌流液中の〔 ^3H 〕の93%以上は刺激の有無にかかわらず〔 ^3H 〕GABAであったので遊離〔 ^3H 〕量をもって遊離GABA量とした。

結 果

〔 ^3H 〕GABAを取り込ませた膀胱条片に高 K^+ 栄養液を適用すると〔 ^3H 〕GABAの灌流液中への遊離が増加し、このGABA遊離の増加は Ca^{2+} 除去栄養液中では消失し、神経伝導を遮断するテ

トロドトキシンの前処置により約26.3%抑制された。以下の実験では、テトロドトキシン存在下の高K⁺誘発GABA遊離（テトロドトキシン抵抗性の高K⁺誘発GABA遊離）に対する薬物の影響を調べた。GABA（10⁻⁸～10⁻⁵M）の前処置は濃度依存性により高K⁺誘発GABA遊離を抑制した。ムシモル（GABA_A受容体作用薬）（10⁻⁸～10⁻⁵M）も濃度依存性により高K⁺誘発GABA遊離を抑制したが、バクロフェン（GABA_B受容体作用薬）（10⁻⁵M）は自発遊離および高K⁺誘発GABA遊離に影響しなかった。GABA及びムシモルのEC₅₀はそれぞれ170 nM, 50.4 nMであった。GABA_A受容体拮抗薬であるピククリンの前処置は自発GABA遊離及び高K⁺誘発GABA遊離には影響を与えなかったがムシモルによる高K⁺誘発GABA遊離の抑制効果に拮抗した。ジアゼパム（10⁻⁵M）、クロナゼパム（10⁻⁷M）、及びペントバルビタール（10⁻⁵M）の前処置はムシモルによる高K⁺誘発GABA遊離の抑制効果を増強した。Ro15-1788の前処置はクロナゼパムの効果に拮抗した。アセチルコリン（10⁻⁷M）の前処置は高K⁺誘発GABA遊離を抑制した。このアセチルコリンの抑制効果はアトロピン、ピレンゼピンによって拮抗されたがヘキサメトニウムによっては拮抗されなかった。ノルエピネフリン（10⁻⁶M）、クロニジン（10⁻⁷M）の前処置は高K⁺誘発GABA遊離を抑制した。このノルエピネフリン、クロニジンの効果はヨヒンビンによって拮抗されたがブラゾシンによっては拮抗されなかった。

考 察

テトロドトキシン抵抗性的高K⁺誘発GABA遊離はカルシウム除去栄養液の前処置により完全に抑制されたので遊離されたGABAは神経由来であり、主にK⁺による神経終末の脱分極の結果遊離されたものである。GABA作動性神経終末に存在する受容体を検索するためにテトロドトキシン存在下の高K⁺誘発GABA遊離に対するGABA受容体作用薬、コリン作用薬、アドレナリン作用薬の影響を調べた。ムシモル（GABA_A受容体作用薬）は高K⁺誘発GABA遊離を抑制し、ムシモルの作用はGABA_A受容体拮抗薬のピククリンにより拮抗されたのでGABA作動性神経終末には自己の遊離を抑制する自己受容体としてGABA_A受容体が存在すると考えられる。中枢神経系のGABA_A受容体はベンゾジアゼピン結合部位を有し、受容体蛋白質自体がCl⁻チャンネルを形成している。クロナゼパムがGABA作用を増強し、Ro15-1788がクロナゼパムの作用に拮抗したので、膀胱のGABA作動性神経に存在するGABA自己受容体は中枢におけるGABA_A受容体複合体と同一の構造を持ったものと思われる。この考えはペントバルビタールがGABA受容体を介した反応を増強させた実験結果からも支持される。GABA遊離に対するアセチルコリン及びノルアドレナリンの作用を検討したところ両者はGABA遊離を抑制し、アセチルコリン及びノルアドレナリンの作用はそれぞれピレンゼピン、ヨヒンビンによって拮抗されたので、GABA遊離を抑制するピレンゼピン感受性ムスカリニック受容体及びα₂アドレナリン受容体の存在が示唆された。壁内神経節は膀胱への遠心性神経投射経路においてフィルターとして働いていると考えられている。膀胱において抑制性神経として提唱されているGABA作動性神経の活動は、自己受容体、コリン作動性神経、アドレナリン作動性神経によって調節され、膀胱の運動機能の維持に関与している

ことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

膀胱の運動は促進性の副交感神経及び抑制性の交感神経節後神経によって調節され、これらの神経が壁内神経叢に分布していることが知られている。申請者のグループは第3の自律神経系である膀胱壁内神経叢において、GABA 作動性神経が介在神経として膀胱運動の調節機構にかかわっていることを見出した。本研究は、これらの交感神経及び副交感神経と GABA 作動性神経との関連を解明することを目的とした。

モルモットの摘出膀胱条片に ^3H -GABAを取り込ませ、高濃度の K^+ の適用による脱分極刺激で遊離するGABAが神経由来であることを確認した後、さらに神経伝導を遮断するtetrodotoxinを併用することにより高濃度 K^+ による脱分極を神経終末に局限させる方法を用いてGABA作動性神経活動に対する交感神経、副交感神経の調節機構を実証した。

AChは高 K^+ 誘発GABA遊離を濃度依存性に抑制した。このAChの抑制作用が、ニコチン受容体、ムスカリン受容体のいずれのACh受容体によるかを知るため、それぞれの遮断薬のGABA遊離に対する作用を調べた。GABA遊離はAChによって抑制され、その作用はhexamethoniumでは拮抗されず、Atropineによって拮抗されることから、ムスカリン受容体が関与することが明らかとなった。 M_1 -ムスカリン受容体の選択的遮断剤であるpirenzepineの作用を調べたところ、atropineと同様AChのGABA遊離抑制作用に拮抗したので副交感神経は M_1 -ムスカリン受容体を介してGABA遊離を抑制することが証明された。Noradrenaline及び α_2 作用薬のclonidineはGABA遊離抑制作用を示した。このclonidineによるGABA遊離抑制作用は α_1 -遮断薬のprazosinによって影響を受けなかったが α_2 -遮断薬のyohimbineによって拮抗されることから α_2 -受容体を介してGABA遊離が抑制性調節を受けていることが証明された。以上のように本研究は膀胱壁内神経叢に分布する交感神経、副交感神経と第3の自律神経系の1つであるGABA作動性神経との関連を証明し膀胱における自律神経系の調節機構の一部を解明したものであり、価値ある業績と認める。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。