



# Excitatory effects of adenosine receptor agonists and antagonists on neurotransmission in guinea pig superior collicular slices

石川, 朗宏

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1994-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1308

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001308>

※ 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）	いし かわ あき ひろ 石 川 朗 宏	（兵庫県）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）	
学位記番号	博い第916号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成6年3月31日	
学位論文題目	Excitatory effects of adenosine receptor agonists and antagonists on neurotransmission in guinea pig superior collicular slices （モルモット上丘切片の神経伝達におけるアデノシン受容体作動薬および拮抗薬の興奮性効果）	
審査委員	主査 教授 岡 田 安 弘	
	教授 玉 木 紀 彦	教授 西 塚 泰 美

### 論文内容の要旨

#### 〈研究〉

アデノシンは一般に中枢神経系で抑制性の神経調節因子と考えられている。アデノシンの抑制性効果は神経伝達物質の放出の抑制と部分的にはシナプス後膜のKコンダクタンスの上昇によると考えられる。一方、孤束核、海馬においてアデノシンが興奮性の効果を有するとする報告もいくつかみられる。われわれはこれまでに上丘切片においてアデノシンが興奮性効果を有することを報告してきた。上丘にはアデノシンデアミナーゼ活性が高く認められ、また、アデノシン受容体が豊富であることもよく知られている。Wan と Geiger は上丘ではシナプス前膜には主にアデノシン A<sub>1</sub> 受容体が存在し、シナプス後膜には A<sub>2</sub> 受容体が存在することを報告している。

本研究においてはアデノシン受容体のうち、A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>のいずれが興奮性効果に関与するかを調べるために、上丘切片に視神経層刺激で誘発されるシナプス後電位(PSP)を指標として選択的な A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 受容体に対する作動薬、拮抗薬の効果を調べた。A<sub>1</sub> 作動薬として N<sup>6</sup>-cyclohexyladenosine (CHA), N<sup>6</sup>-R-phenylisopropyladenosine (R-PIA) を、A<sub>2</sub> 作動薬として 2-p-(2-carboxy ethyl) phenethylamino-5'-N-ethylcarboxamido adenosine (CGS-21680) を用いた。また、非選択的アデノシン作動薬として 5'-N-ethylcarboxamideadenosine (NECA) を使用した。A<sub>1</sub> 拮抗薬として 8-cyclopentyltheophylline (8-CPT)、A<sub>2</sub> 拮抗薬として 3,7-dimethyl-1-propargylxanthine (DMPX) と triazoloquinazoline 9-chloro-2-(2-furanyl)-5,6-dihydro-1,2,4-triazolo (1,5-c) quinazoline-5-imine (CGS-15943) を使用した。また非選択的アデノシン拮抗薬として theophylline を使用した。

#### 〈方法〉

200-300 gm のモルモットを断頭し、即座に脳を摘出した。上丘切片（厚さ400-600 μm）を作成し、人工髄液（mM；NaCl；125，NaHCO<sub>3</sub>；26，KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>；1.2，KCl；3，CaCl<sub>2</sub>；2，MgSO<sub>4</sub>；1.3，D-Glucose 10）の中に灌流した。人工髄液は95% O<sub>2</sub> と 5% CO<sub>2</sub> で飽和し、灌流

液の温度は摂氏35度に保った。切片は顕微鏡下に記録チャンバーにいれ、人工髄液で灌流した。被覆した双極電極を通して視神経層を電気刺激し、ガラス電極（抵抗  $1\text{ M}\Omega$ ）により浅灰白層におけるPSPを記録した。刺激は5秒毎に行い、刺激強度は最大電位の  $1/2$  の振幅が得られる強度に設定した。すくなくとも30分以上安定したPSPが保たれることを確認してから薬剤を灌流液中に適用した。薬剤の効果は薬剤投与前のPSPの振幅を100%とし、投与後30分のPSP振幅を百分率で表わした。

### 〈結 果〉

上丘の浅灰白層の神経伝達に対してアデノシンは  $10\text{ nM}$ - $1\text{ mM}$  の濃度で興奮性効果を示した。例えば、PSPの振幅は  $0.1\text{ }\mu\text{M}$  の濃度のアデノシンを投与後徐々に増大し、20-30分で安定し、もとの振幅の約130%に増大した。この興奮性効果は5分以内のアデノシンの投与であるとアデノシン除去後振幅はもとに戻るが、5分以上の投与ではアデノシンを除去した後も持続性の効果が得られた。

つぎにアデノシン作動薬の効果について検討した。A<sub>1</sub> 受容体作動薬であるR-PIAは  $0.1\text{ }\mu\text{M}$  と  $1\text{ nM}$  で、またCHAは  $0.1\text{ }\mu\text{M}$  で、A<sub>2</sub> 受容体作動薬であるCGS-21680は  $0.1\text{ }\mu\text{M}$  と  $1\text{ nM}$  で、またNECAは  $0.1\text{ }\mu\text{M}$  と  $1\text{ nM}$  でそれぞれ有意な興奮性効果を示した。以上よりA<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> いずれの受容体作動薬も上丘切片で興奮性であることがわかった。

さらにアデノシンの興奮性効果に対するA<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 拮抗薬の作用を調べるために、8-CPT, DMPX, CGS-15943を適用した。しかし、これらの物質は投与後それ自体として興奮性効果を示した。8-CPTとtheophyllineは  $1\text{ }\mu\text{M}$ ,  $0.1\text{ M}$ ,  $1\text{ nM}$  でDMPXは  $0.1\text{ }\mu\text{M}$ ,  $1\text{ nM}$  で有意な興奮性効果を示した。このようにアデノシン拮抗薬もアデノシン同様PSPに対して緩徐な時間経過の興奮性効果を有していた。これらの拮抗薬はキサンチンの基本骨格をもつため非キサンチン性とされるA<sub>2</sub> 受容体拮抗薬のCGS15943を試したが、この物質も  $1\text{ }\mu\text{M}$  の濃度で興奮性を示した。

以上の結果より、上丘切片においてはA<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 受容体に対する作動薬のみならず、A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 受容体に対する拮抗薬も興奮性効果を有することが示された。

### 〈考 察〉

海馬における神経伝達に関するアデノシンの抑制性効果についてはDunwiddieとFredholmがA<sub>1</sub> 受容体を介して起こると報告している。またLinとPhillisはA<sub>2</sub> 受容体作動薬であるCGS-21680が皮質ニューロンにおいて抑制性効果を有しているとの結果を報告している。NikodijevicらはA<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 両受容体に対する作動薬が相乗的に抑制性効果をもっているとしている。これらの報告はA<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> のいずれの受容体も抑制性であるとするものである。一方でMosqueda-Garciaは孤束核においてはアデノシンが興奮性の効果をもつことを報告している。Sebastiaoらは海馬切片においてCGS-21680が興奮性効果を有していることを報告している。さらにAmeriらは海馬ニューロンでR-PIAが同じ濃度でも興奮性と抑制性の二重性効果を有していることを報告している。このようにアデノシンの興奮、抑制作用についてA<sub>1</sub> 受容体を介するかA<sub>2</sub> 受容体を介するかは機能的な面から確立していない。

海馬切片ではアデノシンは濃度依存性に興奮性 ( $10\text{ nM}$ - $1\text{ }\mu\text{M}$ )、抑制性 ( $10\text{ }\mu\text{M}$ - $1\text{ mM}$ ) の二相性の効果を有する。一方、上丘切片ではアデノシンは  $10\text{ nM}$ - $1\text{ mM}$  の範囲では濃度に依らず興奮性効果のみを有する。

このような海馬と上丘におけるアデノシンの効果の相違について考えてみると、アデニルシクラー

ゼ活性に対する作用の違いによるアデノシン受容体の古典的分類は機能的にみた生理作用については当てはまらなないと考えられる。機能的な観点からみるとアデノシン受容体には2つのサブタイプがあり、一方は、アデノシンに高い親和性を有し、他方は親和性が低い。前者は興奮に関与し（excitatory adenosine receptor；A<sub>E</sub>）、後者は抑制に関与する（inhibitory adenosine receptor；A<sub>I</sub>）受容体であるといえる。海馬においてはA<sub>E</sub>、A<sub>I</sub>の両者がほぼ均等に存在し、低濃度のアデノシンがA<sub>E</sub>受容体を活性化する。また、高濃度ではA<sub>I</sub>受容体の活性化による抑制性効果が興奮性効果を隠蔽する。このように仮定すれば海馬におけるアデノシンの興奮性、抑制性の二相性の作用が説明される。他方、上丘では主に高親和性のA<sub>E</sub>受容体のみが存在し、どのような濃度のアデノシンにも興奮作用を呈すると考えられる。

上丘においてはA<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>の作動薬および拮抗薬のいずれもが興奮性効果を有した。もし、仮定のごとくこれらの物質がA<sub>E</sub>受容体を活性化するとすれば、その物質はアデノシンあるいはキサンチン骨格を有していると考えられる。上丘神経伝達におけるアデノシンの興奮性効果の機序における構造-活性関連についてのより詳細な検討がなお必要ではあるが、上丘における高活性アデノシンデアミナーゼの存在、アデノシン受容体の高密度の存在と並んで本研究で明らかにしたアデノシンおよびその作動薬、拮抗薬の興奮作用は、視覚系、聴覚系、感覚系の統合作用をもっている上丘の機能の解明に重要な示唆を与えるものである。

## 論文審査の結果の要旨

アデノシンは一般に中枢神経系で抑制性の神経調節因子と考えられているが、本研究者は上丘の神経伝達に対してはアデノシンが興奮性の効果しかもたないことを報告してきた。一方、機能的な面からアデノシンの受容体としてはアデニルスクラーゼ活性を低下させるA<sub>1</sub>受容体と、アデニルスクラーゼを活性化してcAMPを上昇させるA<sub>2</sub>受容体とに分類されている。本研究においてはアデノシンによる興奮作用の機序を明らかにするために、上丘切片にアデノシンのA<sub>1</sub>及びA<sub>2</sub>受容体のアゴニスト、アンタゴニストを作用させ、上丘における神経伝達の興奮作用とアデノシン受容体の関係を明らかにしたものである。

方法としてはモルモット上丘切片を作成し、視神経層の電気刺激で浅灰白質層に誘発されるシナプス電位を指標にして灌流液にA<sub>1</sub>及びA<sub>2</sub>受容体のアゴニスト、アンタゴニストを作用させ、その効果を検討した。A<sub>1</sub>受容体アゴニストとしてはR-PIA、CHA、A<sub>2</sub>アゴニストとしてはCGS-21680及びNECAをいずれも1 nM、0.1 μMを作用させたが、いずれの場合にもシナプス電位の振巾は増大し、興奮性効果を顕した。さらにアデノシンの興奮性効果に対するA<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>受容体アンタゴニストとして8-CPT、テオフィリン、およびDMPX、GS-15943（いずれも1 nM、0.1 μM）の効果を検討した。しかしこれらの物質はそれ自体として興奮性効果を示し、アデノシンの興奮作用には拮抗しなかった。これらの事実、上丘でみられるアデノシンによる興奮性作用が古典的なアデニルスクラーゼに対する作用差をもとにしたA<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>受容体に適用されるのではなく、興奮を惹起する新たなアデノシン受容体の存在することを強く示唆するものである。一方上丘においてはアデノシンの興奮作用は記憶に関係した長期増強（LTP）と類似性をもつことが明らかにされている。アデノシンの上丘での興奮作用に関する本研究結果は従来に行なわれなかった中枢におけるアデノシンの興奮作用機序およびLTPの発現機序を明らかにする上に重要な知見を得たものとして価値ある集積である。

よって本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。