

土居寿志 論文内容の要旨

主論文

Characterization of functional effects of Z-338, a novel gastroprokinetic agent, on the muscarinic M1, M2, and M3 receptors expressed in *Xenopus* oocytes

Z-338、胃前駆運動物質の M1, M2 および M3 ムスカリン受容体に対する機能特性の検討

土居寿志、村崎修、貝原宗重、上園保仁、林日出喜、矢野捷介、谷山紘太郎

European Journal of Pharmacology 505 (2004) 31-35

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻（指導教授：矢野捷介）

緒言

N-[2-(diisopropylamino)ethyl]-2-[(2-hydroxy-4,5-dimethoxybenzoyl)amino]-1,3-thiazole-4-carboxamide monohydrochloride trihydrate (Z-338) は新しく合成された gastroprokinetic agent であり、犬における胃小腸蠕動の亢進、ラットおよび犬における胃内容排出効果を認める。胃小腸蠕動亢進の作用機序は腸内コリン作用性神経末端からのアセチルコリン放出促進による。Z-338 は M1, M2 ムスカリン受容体に拮抗作用を要し、アセチルコリン放出に対するネガティブフィードバック機構を抑制する作用を示す。コリン作用性神経終末部に存在する M1, M2 ムスカリン受容体は、コリン作用性神経末端からのアセチルコリン放出調節作用を有する。放出されたアセチルコリンは胃小腸平滑筋細胞に存在する M3 ムスカリン受容体を刺激し筋収縮を生じる。このことから M3 ムスカリン受容体は平滑筋収縮において重要な因子である。しかしながら Z-338 が M3 ムスカリン受容体に対しどのように作用しているかは判明していない。

今回我々は Z-338 の作用機序を解明するため、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させた M1, M2 および M3 ムスカリン受容体に対する機能特性を検討した。

対象と方法

(1)アフリカツメガエル卵母細胞に cRNA (M1 5ng, M2 5ng, M3 5ng, Kir3.1 0.2ng)を注入し 19 で 2 ~ 4 日間培養液に浸す。(2)機能評価は two-electrode voltage clamp amplifire による電気生理学的検査で行った。(3) cRNA を注入した oocyte を -60mV の電位で clamp、ND96 と 1mM CaCl₂ を 2ml/min で環流させた。(4) M1, M3 ムスカリン受容体によるアセチルコリン誘発電流を観察するため、100nM アセチルコリンを voltage clamp 開始 15 分後に 15 秒間添加。アセチルコリン添加 30 分後 Z-338 もしくは選択的阻害薬 (M1 に対しては pirenzepine、M3 に対しては 4-DAMP) を、二回目のアセチルコリン添加 30 秒前に加えた。(5) M2 受容体を介した Kir3.1 チャネルによるアセチルコリン誘発電流を観察するために voltage clamp 開始 15 分後に環流液を high K solution へ変更し、その後アセチルコリン含有 high K solution を持続環流した。アセチルコリン添加 5 分後にアセチルコリンに Z-338 もしくは選択的阻害薬である AF-DX116 を含有する high K solution を環流した。なお 100nM というアセチルコリン濃度はいずれの受容体に対しても半効果量である。

結果

- 1: M1 もしくは M3 ムスカリン受容体を発現させた卵母細胞におけるアセチルコリン誘発電流が、再現性をもって発現した。
- 2: M1 ムスカリン受容体に対し Z-338 は濃度依存性に阻害作用を示した。その阻害作用は M1 ムスカリン受容体の選択的阻害薬である pirenzepine の IC₅₀ 144.0nM よりも高濃度の 1.8 μ M であった
- 3: M2 ムスカリン受容体に対し Z-338 は濃度依存性に阻害作用を示した。その阻害作用は M2 ムスカリン受容体の選択的阻害薬である AF-DX116 の IC₅₀ 13.2nM よりも 10.1 μ M と高濃度であった。
- 4: M3 ムスカリン受容体に対し Z-338 は濃度依存性の阻害作用を示さなかった。

考察

今回の結果から、Z-338 にはムスカリン受容体に対する刺激作用はなく、阻害作用のみ持っていたことが確認できた。Z-338 は M1、M2 ムスカリン受容体におけるアセチルコリン誘発反応を阻害するが、M3 ムスカリン受容体のアセチルコリン誘発反応に対する阻害作用は示さなかった。この結果は、荻島らの実験で得られた Z - 338 が M1 ムスカリン受容体を多く含む大脳皮質細胞膜への[3H]pirenzepine 結合と置換し、また M2 ムスカリン受容体を優位に含むラット心筋への[3H]NMS 結合を阻害するものの、M3 ムスカリン受容体を多く含むラット顎下腺への[3H]NMS 結合置換作用は示さないという、細胞膜標品を用いた受容体結合実験で得た結論と矛盾しない。M1 および M2 ムスカリン受容体はコリン作用性神経末端に存在し、ネガティブフィードバック機能として作用する。一方 M3 ムスカリン受容体は胃小腸平滑筋の収縮に関与しており、その収縮は M3 ムスカリン受容体へのコリン作用性神経末端からのアセチルコリン放出に依存している。このため Z-338 が、M3 ではなく M1 および M2 ムスカリン受容体への阻害作用を有することで、M1、M2 ムスカリン受容体機能であるアセチルコリン放出に対するネガティブフィードバックからの解除により Z-338 の prokinetic action を示すという機序が考えられる。以上のことより Z-338 は臨床において新しい作用機序を有する効果的な gastroprokinetic agent として有用と思われる。