

川上 俊介 論文内容の要旨

主論文

Characterization of GABA<sub>B</sub> Receptors Involved in Inhibition of Motility Associated With  
Acetylcholine Release in the Dog Small Intestine:

Possible Existence of a Heterodimer of GABA<sub>B1</sub> and GABA<sub>B2</sub> Subunits

GABA<sub>B</sub>受容体のアセチルコリン遊離を介した消化管運動抑制への関与

および

GABA<sub>B1</sub>、GABA<sub>B2</sub>サブユニットの存在

についてのイヌ小腸を用いた解析

Shunsuke Kawakami<sup>1,2</sup>, Yasuhito Uezono<sup>2</sup>, Noriaki Makimoto<sup>1</sup>, Akihito Enjoji<sup>1</sup>

Muneshige Kaibara<sup>2</sup>, Takashi Kanematsu<sup>1</sup>, and Kohtaro Taniyama<sup>2</sup>

Divisions of <sup>1</sup>Surgery and <sup>2</sup>Pharmacology, Department of Translational Medical Sciences,  
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

Journal of Pharmacological Science 94, 368-375 (2004)

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻

(指導教授：兼松隆之)

## 緒言

GABA<sub>B</sub>受容体にはGABA<sub>A</sub>とGABA<sub>B</sub>の2つのサブタイプがある。GABA<sub>B</sub>受容体はG蛋白結合型受容体の中で、GABA<sub>B1</sub>とGABA<sub>B2</sub>という異種蛋白のヘテロ二量体を形成する受容体として最初に発見されたものである。GABA<sub>B1</sub>サブユニットは作動薬の結合に、GABA<sub>B2</sub>サブユニットはG蛋白共役型シグナル経路の活性化に関与する。GABA<sub>B1</sub>には7種類のisoformが、GABA<sub>B2</sub>は1種類のみが存在することが知られている。GABAは消化管神経系での神経伝達物質としての存在が確認されており、GABA<sub>A</sub>受容体とGABA<sub>B</sub>受容体ともに腸に存在する。消化管運動においてGABAは、In vitroでGABA<sub>A</sub>受容体を介する興奮性反応とGABA<sub>B</sub>受容体を介する抑制性反応の二相性の作用を起こす。一方in vivoの実験では、GABAの作用はGABA<sub>A</sub>よりGABA<sub>B</sub>受容体を介する反応の方が優位であると報告されている。マイクロダイアリシス法を使用すると、消化管組織を用いて運動機能と生理活性物質の遊離を同時に測定することが可能である。イヌ小腸において、マイクロダイアリシス法とRT-PCR法を用いて、消化管運動におけるGABA<sub>B</sub>受容体の機能を解析した。

## 材料と方法

(1) 雑種成犬を麻酔導入し開腹。薬物の動脈内投与用カテーテルを小腸の辺縁動脈内に留置した。小腸漿膜にストレインゲージフォーストランスデューサーを縫着し消化管輪状筋の等尺性収縮を記録した。マイクロダイアリシスプローブの透析膜部分が、ストレインゲージ・フォース・トランスデューサーを縫着した小腸の筋層間神経叢を含む輪状筋内に位置する様に小腸の接線方

向に挿入した。フィズステイグミン含リンゲル液で透析プローブを灌流し、15分毎の透析試料をHPLC-ECDで濃度分析した。実験薬物は生理食塩水に溶解して辺縁動脈より0.2ml/hrで動注した。

(2) イヌ小腸からRNA全量を抽出しRT-PCRを施行した。

### 結果

(1) 15分間隔の4回分の透析試料のアセチルコリン濃度から平均基礎濃度を求めた。試料中のアセチルコリン濃度は灌流開始後60分から240分まで安定しており、 $0.702 \pm 0.059 \text{ pmol}/15 \text{ min}$ であった。

(2) GABA<sub>A</sub>受容体特異的作動薬の muscimol の投与はアセチルコリン遊離量を増加し、消化管運動を亢進させた。

(3) GABA<sub>A</sub>受容体拮抗薬 Bicuculline の同時投与は、muscimol の作用を抑制した。

Bicuculline の単独投与でアセチルコリン遊離量は増加しなかったが、消化管運動は亢進した。

(4) GABA<sub>B</sub>受容体特異的作動薬の baclofen 投与はアセチルコリン遊離量を減少し、消化管運動を抑制した。

(5) GABA<sub>B</sub>受容体拮抗薬 CGP62349 の同時投与は baclofen の作用を抑制した。

CGP62349 の単独投与でアセチルコリン遊離量が増加し、消化管運動は亢進した。

(6) GABA の投与はアセチルコリン遊離量と消化管運動をともに抑制した。

(7) イヌ小腸で GABA<sub>B1</sub>・GABA<sub>B2</sub> の mRNA について RT-PCR を用いた解析を行い、それぞれのクローン受容体をコントロールとして用いて比較した。イヌ小腸には、GABA<sub>B1</sub> isoform として GABA<sub>B1(d)</sub> 以外の、GABA<sub>B1(a)</sub>、GABA<sub>B1(b)</sub>、GABA<sub>B1(c)</sub>、GABA<sub>B1(e)</sub>、GABA<sub>B1(f)</sub>、GABA<sub>B1(g)</sub> および GABA<sub>B2</sub> のメッセージが存在することが確認できた。

### 考察

コリン作動性神経からのアセチルコリン遊離量の調節により、GABA<sub>A</sub>受容体が興奮性に、GABA<sub>B</sub>受容体が抑制性に消化管運動に作用することを、生体のイヌを用いた実験で実証した。

GABA の投与はアセチルコリン遊離量減少を伴う消化管運動抑制を来すことから、生体内では GABA<sub>B</sub>受容体の方が優位に働いているものと考えられた。RT-PCR の結果 GABA<sub>B1</sub> と GABA<sub>B2</sub> のメッセージのいずれもがイヌ小腸に発現していたので、GABA<sub>B</sub>受容体は GABA<sub>B1</sub> と GABA<sub>B2</sub> のヘテロニ量体を形成することにより、機能的 GABA<sub>B</sub>受容体として消化管コリン作動性神経の活動を制御する可能性が示唆された。GABA<sub>B1</sub> isoform について、さらに詳細に検討することが、腸に特異的に作用する GABA<sub>B</sub>受容体作動薬、遮断薬の開発に役に立つ。