

ヒト気管支における、ムスカリン受容体、アドレナリン受容体の同定と喫煙の影響

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2013-01-15 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 池田, 岳史, 村松, 郁延 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/7078

福井大学トランスレーショナルリサーチ推進センター平成23年度公募採択型研究費
「重点プロジェクト研究」

ヒト気管支における、ムスカリン受容体、アドレナリン受容体の同定と喫煙の影響

研究代表者： 池田 岳史（医学部・助教）
共同研究者： 村松 郁延（医学部・教授）

概 要	ヒト呼吸器系組織のムスカリン受容体およびβアドレナリン受容体は、喘息や慢性閉塞性肺疾患の治療上重要な対象であるが、得られる検体が制限されるため、放射性リガンドを用いたそれらの系統的な定量、定性的評価は未だなされていない。今回、気道部位別（区域気管支～亜区域気管支～肺実質）のムスカリン受容体およびβアドレナリン受容体の分布とその subtype について少量の組織検体でも解析可能な組織片結合実験法を用いて定量した。また気管支においては機能実験を追加した。M ₃ 受容体は気管支に有意に発現するもその密度は区域気管支から亜区域気管支へ移行するにつれ減少した。一方、M ₁ 受容体は肺実質でのみ検知され、M ₂ 受容体は気管支と肺で一様に存在した。β ₂ 受容体は気道が末梢へ移行するにつれ増加し、その密度は各部位においてムスカリン受容体の約 2 倍であった。β ₁ 受容体は肺実質でのみ検知された。気管支の収縮、弛緩はそれぞれ M ₃ 受容体、β ₂ 受容体により制御されていた。今回、intact な組織片を用いた結合実験法にてはじめて作製されたヒト気管支～肺までのムスカリン受容体およびβアドレナリン受容体の分布図は、今後の呼吸器疾患における薬物治療および新薬開発に重要な知見を与えるものと考えられる。
関連キーワード	Human airway; bronchus; mAChR; β-adrenoceptor; intact segment binding

研究の背景および目的

ヒト気管支のムスカリン受容体およびアドレナリン受容体は、喘息や慢性閉塞性肺疾患（COPD）治療薬の主要なターゲットであるが、これら呼吸器系組織の G protein-coupled receptor は(GPCR)の部位別の発現量や割合に関しては未だ一致した見解は得られていない。

放射性リガンドを用いた結合実験は GPCR 検出に頻用される方法ではあるが、従来方法では相当量の検体を要し、ヒト組織のような貴重なサンプルでは系統的評価が非常に困難であった。

本研究では近年、我々が開発した少量のサン

プルでも解析可能な組織片結合実験法を用いて、肺癌患者から外科手術時に摘出された肺の少量のサンプルにてヒト呼吸器系組織におけるムスカリン受容体、アドレナリン受容体の系統的薬理学的解析を行うことを目的とした。さらに将来的には受容体発現パターンと薬剤感受性、喫煙歴、基礎疾患（間質性肺炎など）、および病理組織学的所見との関係についても検討し、喘息や COPD 治療薬、治療法開発に繋がる研究の基盤となり得る知見を得ることを目的とした。

研究の内容および成果

肺癌に対して肺葉切除を施行され摘出された肺の健常部位（1 区域）を使用した。男性 19 人、女性 8 人（年齢 50～78 歳）が本研究の対象となった。今回は全例非喫煙であり術前にムスカリン受容体拮抗薬、β 受容体刺激薬の非使用を確認した。検体として使用した組織片の病理像を次項に示す（小枠が使用した組織片）。

区域気管支 (A)、亜区域気管支 (B)、肺実質 (C) を剖出、病理組織学的に正常であること確認し、組織片結合実験法を用いて各受容体の分布を検討した。

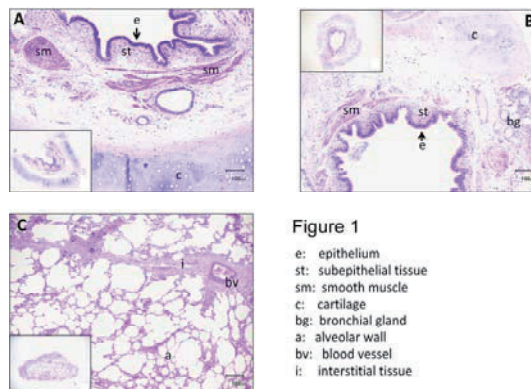
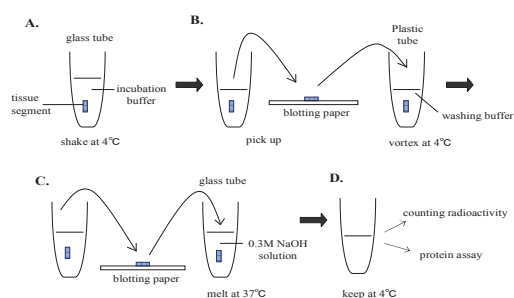


Figure 1

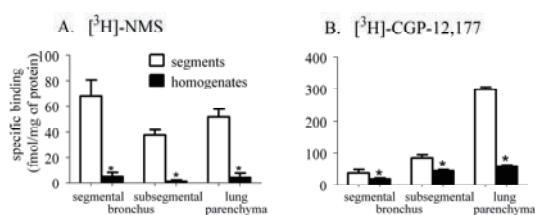
e: epithelium
st: subepithelial tissue
sm: smooth muscle
c: cartilage
bg: bronchial gland
a: alveolar wall
bv: blood vessel
it: interstitial tissue

組織片結合実験法の詳細については以下の通り行なった。



組織片を放射性リガンドとともに incubation し、洗浄した後に 0.3 M 規定の水酸化ナトリウムで溶解し、単位タンパク質あたりの受容体量を計測する方法である。

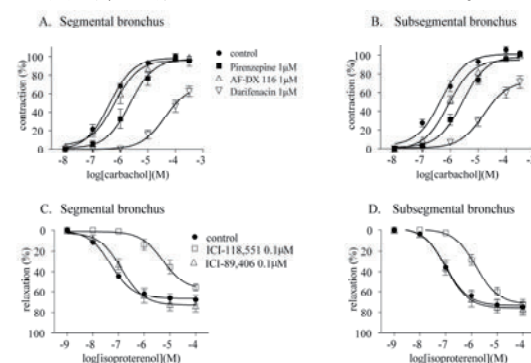
従来の組織を homogenize する方法と組織片結合実験法を比較するための結合実験結果を下に示す。



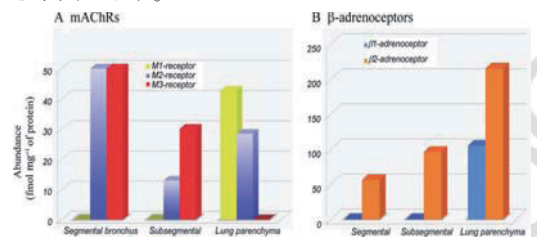
いずれの組織においても組織片結合実験法が従来のホモジネートを用いた方法に比して 2~5 倍の受容体量を検出した。そこで組織片結合実験法を用いて飽和実験を行い、ムスカリン受容体、アドレナリン受容体の各部位における総発現量を検討し、次 (右上) 表の結果を得た。

	Region of the airway	Bmax (fmol·mg ⁻¹ of protein)	K _d (pM)
[³ H]-NMS binding sites	Segmental bronchus	97 ± 11*	220 ± 28
	Subsegmental bronchus	43 ± 3*	105 ± 26
	Lung parenchyma	71 ± 7*	130 ± 14
[³ H]-CGP-12,177 binding sites	Segmental bronchus	47 ± 9*	100 ± 37
	Subsegmental bronchus	90 ± 10*	81 ± 30
	Lung parenchyma	320 ± 26*	98 ± 10

また、得られた組織片 (区域気管支 A、亜区域気管支 B) が機能的であるか、つまり組織片結合実験法により検出された受容体が機能的であるかどうかの検討のため下図に示すとおり、carbachol と isoproterenol を使用した気管支平滑筋の収縮、弛緩の機能実験を行い、有意な収縮 (Derifenacin: M₃ 選択的 antagonist で阻害)、弛緩 (ICI-118,551: β₂ 選択的 antagonist で阻害) 反応を検出し、実験の対象部位が機能的であることを証明した。



各受容体に選択的な薬物を使用して競合実験を行い、各組織における受容体別の発現様式を明らかにした。現在、その存在が証明されている M₁~M₃ 受容体および β₁、β₂ 受容体の部位別の発現量を下図に示す。



気管支平滑筋の収縮に関係するとされる M₃ 受容体発現量 (赤) は末梢の組織へ移行するにつれ減少した。一方、平滑筋弛緩すなわち気道の拡張に関係する β₂ 受容体 (橙) は末梢に移行するにつれ増加した。この結果は末梢における気道閉塞を防ぐ機構を考える上で貴重な結果であり、非常に興味深く思われた。

トランスレーショナル研究
推進センター公募採択型研究費

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

発表論文

Ikeda T, et al. Regional quantification of muscarinic acetylcholine receptors and β-adrenoceptors in human airways.

British J Pharmacology, in press (2012)