

## リンパ管平滑筋細胞における $\alpha_2$ 受容体の存在

大橋 俊夫 東 健彦

信州大学医学部第1生理学教室, 心脈管病研究室

### Postjunctional Alpha 2-like Adrenoceptors in Bovine Mesenteric Lymphatics

Toshio OHASHI and Takehiko AZUMA

Department of Physiology and Research Laboratory for Cardiovascular Diseases,  
Shinshu University School of Medicine

We studied pharmacological properties of the postjunctional adrenoceptor in isolated bovine mesenteric lymphatics. Rings of the lymph vessel were mounted for isometric tension recording in organ chambers filled with Krebs-Ringer bicarbonate solution. Phenylephrine and clonidine caused dose-dependent contractions in the preparations. The relative sensitivity of the preparations to clonidine was greater than to phenylephrine. Yohimbine was a competitive antagonist against phenylephrine and clonidine in the lymph vessel. Prazosin also caused a parallel shift to the right of the dose-response curve to phenylephrine, but not to clonidine in the preparations. The Schild's plot for yohimbine in the preparations suggests that the presence of both alpha 1- and alpha 2-like adrenoceptors on lymphatic smooth muscle cells. *Shinshu Med. J.*, 31: 301-304 1983

(Received for publication April 9, 1983)

**Key words** : lymphatic smooth muscle, neuroeffector mechanisms,  $\alpha_1$ -adrenoceptor,  $\alpha_2$ -adrenoceptor, Schild's plot

リンパ管平滑筋, 自律神経平滑筋接合部調節,  $\alpha_1$  受容体,  $\alpha_2$  受容体, シルドのプロット

#### I はじめに

カテコラミン受容体のなかで, 臨床的に最も大きな意義をもつものは血管壁の  $\alpha$  受容体である。ここにカテコラミンが結合すれば, 血管収縮反応がおこる。

リンパ管, ことにウシの腸間膜リンパ管の平滑筋細胞膜にはカテコラミン  $\alpha$ ,  $\beta$  受容体が密に分布しており, 前者の興奮は収縮, 後者の興奮は弛緩反応を誘起する<sup>1)</sup>。またこのリンパ管には密な交感神経節後線維の分布が認められ<sup>2)-4)</sup>, 神経末端には prejunctional な  $\alpha_2$  受容体が存在する<sup>5)</sup>。

本稿では, リンパ管平滑筋に分布する postjunctional な  $\alpha$  受容体の特性を薬物受容体理論に基づい

て解析し, その生理学的意義について考察を試みた。

#### II 実験材料ならびに方法

実験材料はウシの腸間膜リンパ管(外径 2~3 mm)を用いた。長さ 5 mm の円筒状リンパ管標本を臓器槽内に装着し, 400mg の基本張力を負荷した。実験方法の詳細は文献<sup>1)</sup>を参照されたい。円周方向の発生張力を等尺性に記録しながら, phenylephrine hydrochloride (Sigma), clonidine hydrochloride (Boehringer) に対する用量-反応曲線を求めた。またそれぞれの用量-反応曲線に対する種々濃度 ( $10^{-9}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ M) の  $\alpha$  拮抗剤 prazosin hydrochloride (Pfizer Ltd.), yohimbine hydrochloride (Sigma) の影響

を探索した。実験結果は Schild のプロット<sup>6)</sup>を用いて解析した。これらの実験はすべて  $5 \times 10^{-6}$  M cocaine hydrochloride (Duncans Flockhart),  $10^{-7}$  M propranolol hydrochloride (I. C. I) を含んだ標準保生液を用いて行った。標準保生液には  $37^{\circ}\text{C}$  に加温した Krebs 液 (組成 [mM]: NaCl 120.0, KCl 5.9,  $\text{NaHCO}_3$  25.0,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.2,  $\text{CaCl}_2$  2.5,  $\text{MgCl}_2$  1.2, glucose 5.5) を用い,  $95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$  混合ガスの通気を行い, pH を 7.4 に維持した。

III 実験結果

Phenylephrine ならびに clonidine を活性剤とした用量-反応曲線に対する  $\alpha$  拮抗剤  $10^{-6}$  M prazosin (図 1),  $10^{-7}$  M yohimbine (図 2) の影響の結果をまとめた ( $n = 5$ )。それぞれの縦軸は標本の発生張力を phenylephrine の最大反応量を 100% として規準化した値を表し, 横軸は活性剤の濃度を negative logarithm で示した。図 1 からわかるように, リンパ管平滑筋の phenylephrine, clonidine の  $\text{pD}_2$  ( $= -\log \text{ED}_{50}$ ) 値はそれぞれ 6.3, 6.9 であり, clonidine の最大反応量は phenylephrine の約 80% であった。両活性剤の用量-反応曲線は  $10^{-6}$  M prazosin の処置により黒丸・黒三角印で示す曲線に移動した。すなわち phenylephrine の用量-反応曲線は典型的に右方に平行移動し, その dose ratio (拮抗剤処置前後で等価反応量を呈する活性剤の濃度比) は約 20 であった。Clonidine の用量-反応曲線は平行移動せず右下方に抑制された。

図 2 は両活性剤の用量-反応曲線に対する  $10^{-7}$  M yohimbine の影響を示している。図からわかるように, 両曲線はともに右側に平行移動を示すが, その dose ratio は著しく異なり, phenylephrine では約 6, clonidine では約 40 であった。

以上の実験を 3 種類の濃度 ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M) の拮抗剤を用いて行い, 使用した拮抗剤のモル濃度の negative logarithm を横軸, (dose ratio-1) の対数を縦軸に取った (Schild のプロット)。得られた直線の勾配 (slope), 横軸との切片 ( $\text{pA}_2$ ) の値を表 1 にまとめた ( $n = 5$ )。Phenylephrine 使用時における prazosin の slope は 1.0,  $\text{pA}_2$  は 7.3 であった。すなわち競合的拮抗の行われたことを示している<sup>6)</sup>。Phenylephrine, clonidine に対する yohimbine の slope はともに 1 近傍であるが,  $\text{pA}_2$  の値は著しく異なり, 前者は 6.2, 後者は 7.8 であった。

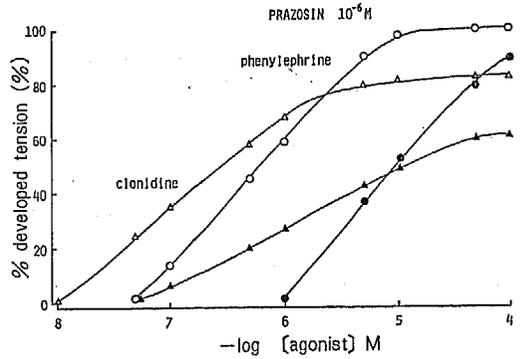


図 1 Phenylephrine (白丸) ならびに clonidine (白三角) の用量-反応曲線に対する  $10^{-6}$  M prazosin の効果 ( $n = 5$  平均値)。

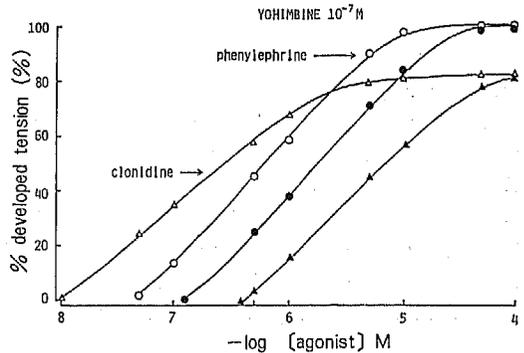


図 2 Phenylephrine (白丸) ならびに clonidine (白三角) の用量-反応曲線に対する  $10^{-7}$  M yohimbine の効果 ( $n = 5$  平均値)。

表 1 Antagonism by prazosin and yohimbine against phenylephrine and clonidine-induced contractions in bovine mesenteric lymphatics ( $n = 5$ )

|               | prazosin |               | yohimbine |               |
|---------------|----------|---------------|-----------|---------------|
|               | slope    | $\text{pA}_2$ | slope     | $\text{pA}_2$ |
| phenylephrine | 1.02     | $7.3 \pm 0.3$ | 0.96      | $6.2 \pm 0.4$ |
| clonidine     | 0.84     |               | 1.04      | $7.8 \pm 0.4$ |

IV 考 察

最近,  $\alpha$  受容体の研究が進み, シナプス前部以外にも  $\alpha_2$  受容体の存在することが示され,  $\alpha_1 \cdot \alpha_2$  という区分は存在部位や機能とは切り離して行方べきであるという意見が抬頭してきた。すなわち, radioligand binding assay の実験結果<sup>7)8)</sup>から, 活性剤の受容体

に対する親和性が clonidine  $\geq$   $\alpha$ -methylnoradrenaline  $>$  noradrenaline  $\geq$  phenylephrine, 拮抗剤については yohimbine  $>$  phentolamine  $\geq$  prazosin であるような受容体と、活性剤の親和性が clonidine  $>$  noradrenaline  $>$  phenylephrine  $\geq$   $\alpha$ -methylnoradrenaline で、拮抗剤のそれが prazosin  $>$  phentolamine  $\geq$  yohimbine であるような受容体とに分けられることが明らかになった<sup>8)</sup>。この成績と機能を指標として得られた結果とを対比すると前者が  $\alpha_2$  受容体、後者が  $\alpha_1$  受容体を意味する<sup>8)</sup>。

図 1, 2 で示したように、特異性の高い  $\alpha$  拮抗剤 prazosin ( $\alpha_1$  受容体) と yohimbine ( $\alpha_2$  受容体) を用いて、受容体に対する親和性の強さを測定することにより、われわれはリンパ管平滑筋細胞膜に分布する  $\alpha$  受容体を分類した。

競合的拮抗剤の受容体に対する親和性の強さを示す指標として  $pA_2$  という値がしばしば用いられる。 $pA_2$  とは活性剤の用量-反応曲線を 2 倍だけ高用量側に平行移動させるのに必要な競合的拮抗剤のモル濃度の negative logarithm と定義される値である。表 1 に示すように phenylephrine ならびに clonidine を活性剤とした際、yohimbine は両者に対して競合的拮抗を示すが、それぞれの  $pA_2$  値は 6.2, 7.8 であった。各種生体内組織 (特に血管平滑筋) を用いて検索した yohimbine の  $\alpha_1$  ならびに  $\alpha_2$  受容体に対する  $pA_2$

はそれぞれ  $6.4 \pm 0.1$ ,  $7.8 \pm 0.2$  である<sup>9)</sup>。こうした事実より、リンパ管平滑筋膜にも  $\alpha_1$  ならびに  $\alpha_2$  両受容体が存在するらしいことが判る。Phenylephrine を活性剤として得られた prazosin の  $pA_2$  が 7.3 であることは  $\alpha_1$  受容体の存在を確証するものである。また clonidine を活性剤とした場合、prazosin は競合的拮抗を示さなかった。同様の結果はイヌ動・静脈平滑筋でも知られている<sup>10)</sup>。この現象は、選択的な  $\alpha_2$  活性剤と言われている clonidine にもかなり強い  $\alpha_1$  刺激作用が存在するために生ずると考えられている<sup>10)</sup>。

リンパ管平滑筋細胞に分布する  $\alpha_1$  ならびに  $\alpha_2$ , 2 つの受容体の生理学的意義はいまだ明確ではない。しかしリンパ管平滑筋細胞の  $\alpha$  受容体に対する活性剤の親和性は  $\alpha_2$  受容体の方が強い傾向を示す (clonidine の  $pD_2 >$  phenylephrine の  $pD_2$ )。このような観点からわれわれは次のような作業仮説を考えている。神経末端に対面する部分の平滑筋細胞膜には  $\alpha_2$  受容体が主として分布し、化学伝達物質の情報を受容しやすくなっており、 $\alpha_1$  受容体は神経からの伝達物質の直接影響が少ない部分に分布する。すなわち  $\alpha_1$  受容体の活性はおもに体液性カテコラミンによって調節される。ただしこの仮説を証明するためには、今後の活性剤の親和性解折、電気刺激による pre- ならびに postjunctional な活動に対する  $\alpha$  拮抗剤の親和性の検索などが必要となる。

## 文 献

- 1) Ohhashi, T., Kawai, Y. and Azuma, T. : The response of lymphatic smooth muscle to vasoactive substances. *Pfluegers Arch*, 275 : 183-188, 1978
- 2) Ohhashi, T., McHale, N.G., Roddie, I.C. and Thronbury, K.D. : Electrical field stimulation as a method of stimulating nerve or smooth muscle in isolated bovine mesenteric lymphatics. *Pfluegers Arch*, 388 : 221-226, 1980
- 3) Ohhashi, T. and Roddie, I.C. : Relaxation of bovine mesenteric lymphatics in response to transmural stimulation. *Am J Physiol*, 240 : H498-H504, 1981
- 4) Ohhashi, T., Kobayashi, S., Tsukahara, S. and Azuma, T. : Innervation of bovine mesenteric lymphatics : From the histochemical point of view. *Microvasc Res*, 24 : 377-385, 1982
- 5) 大橋俊夫, 東 健彦, Roddie I.C. : リンパ管における prejunctional な  $\alpha$  受容体の存在. *医学のあゆみ*, 123 : 857-859, 1982
- 6) Arunlakshana, O. and Schild, H.O. : Some quantitative uses of drug antagonists. *Br J Pharmacol* 14 : 48-58, 1952
- 7) Drew, G.M. and Whiting, S.B. : Evidence for two distinct types of postsynaptic  $\alpha$ -adrenoceptor in vascular smooth muscle *in vivo*. *Br J Pharmacol*, 67 : 207-215, 1979
- 8) Langer, S.Z. : Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol Rev*, 32 : 337-362, 1981
- 9) Ruffolo, R.R., Waddell, J.E. and Yaden, E.L. : Postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes differentiated by yohimbine in tissues from the rat. Existence of alpha-2 adrenergic

- receptors in rat aorta. *J Pharmacol Exp Ther*, 217 : 235-240, 1981
- 10) De Mey, J. and Vanhoutte, P.M. : Uneven distribution of post-junctional alpha 1- and alpha 2-like adrenoceptors in canine arterial and venous smooth muscle. *Circ Res*, 48 : 875-884, 1981

(58. 4. 9 受稿)

---