

学位論文題名

新規 K^+ -チャンネル開口薬の各種気道平滑筋

弛緩作用に関する研究

学位論文内容の要旨

動物細胞には、神経、心臓、平滑筋細胞等多くの興奮性細胞が存在している。これらの細胞の興奮性は、主に膜電位により制御されており、この膜電位の維持には、さまざまなイオンチャンネルが関与している。その中でも重要な役割をはたしているのが K^+ -チャンネルであると考えられている。最近、この K^+ -チャンネルを開口する薬剤が数多く報告されている。 K^+ -チャンネル開口薬は、細胞膜に存在する K^+ -チャンネルを開口させ、膜を過分極させる。この過分極により、主に電位依存性の Ca^{2+} の流入を抑制することで、平滑筋での弛緩作用あるいはアゴニスト収縮抑制作用を発現すると考えられている。これらのことから、 K^+ -チャンネル開口薬を抗高血圧薬あるいは気管支拡張薬として開発する試みが行われてきた。しかし、いずれの K^+ -チャンネル開口薬においても、その平滑筋に対する作用の詳細な検討はほとんど血管平滑筋で行われており、気管平滑筋ではほとんど行われていない。本研究では、 K^+ -チャンネル開口薬として最もよく知られているlevcromakalimと、最近、我々のグループで合成した新しい K^+ -チャンネル開口薬 (KC399, KC128)を用いてイヌおよびウサギ気道平滑筋に対する K^+ -チャンネル開口薬の作用を膜電位、収縮および細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を中心に検討した。その結果、イヌおよびウサギ気管平滑筋において、KC399は、膜を濃度依存的に過分極させ、その作用がglyburideによって濃度依存的に抑制されることが示された。また、これらの過分極作用は、carbacholやacetylcholine存在下でも同様に見られた。また、イヌ気管平滑筋のcarbacholによる持続的収縮も濃度依存的に抑制し、その作用はlevcromakalimの約100倍強いものであることが示された。

また、これら K^+ -チャンネル開口薬は、単に過分極による電位依存性の Ca^{2+} -チャンネルの活性化の抑制だけでなく、アゴニストによる $InsP_3$ 生成の抑制や、収縮タンパク系の Ca^{2+} 感受性の減少を引き起こすことが血管平滑筋で報告されている。血管平滑筋系における、 K^+ -チャンネル開口薬の弛緩作用は、これらのいずれのメカニズムも関与したものと考えられるが、気管平滑筋における K^+ -チャンネル開口薬の弛緩のメカニズムについての詳細な検討はまだ行われていない。イヌ気管平滑筋にcarbacholを投与すると、速い収縮に引き続いて、遅い持続的な収縮が起った。また、acetylcholineによる始めの速い収縮は、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位からの Ca^{2+} 放出により、また、持続的収縮は電位依存性 Ca^{2+} -チャンネルを介した細胞外からの Ca^{2+} の流入により引き起こされ则认为られている。さらに始めの速い収縮に関しては $InsP_3$ の関与が示唆されている。KC399およびlevcromakalimは、

イヌあるいはウサギ気管平滑筋において、carbacholあるいはacetylcholine収縮の最初の一過的な収縮より持続的な収縮をより強く抑制した。また、ウサギ気管平滑筋において、acetylcholineによる一過的な細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇より持続的な上昇ををより強く抑制した。一方、KC399は、イヌ気管平滑筋において、carbachol刺激での気管平滑筋内 InsP_3 量の増加に対しわずかな抑制作用しか示さなかった。これらのことより、気管平滑筋では、血管平滑筋とは異なり、 K^+ -チャネル開口薬の過分極が、アゴニストによる InsP_3 生成をあまり抑制しないことが示された。また、ウサギ気管平滑筋において、KC399は、acetylcholine刺激時の細胞内 Ca^{2+} 濃度と張力の関係にほとんど影響を及ぼさなかった。このことは、 K^+ -チャネル開口薬がウサギ気管平滑筋の収縮タンパク系の Ca^{2+} 感受性にほとんど影響しないことを示している。これらの点において気管平滑筋は血管平滑筋とは異なっていることが示された。一方、levcromakalim, nicorandilおよびpinacidilなどの従来の K^+ -チャネル開口薬は、血管平滑筋や気管平滑筋などほとんどの平滑筋において弛緩作用を示す。これらの K^+ -チャネル開口薬のターゲットとなるチャネルは、ATPや、選択的なアンタゴニストであるglyburideで抑制されるATP-感受性 K^+ -チャネルと考えられている。しかし、これらのチャネルには、コンダクタンスや Ca^{2+} 感受性の異なったものなど様々なタイプのものがあることが、多くの血管平滑筋で報告されている。しかしながら、これらのチャネルを区別する選択的 K^+ -チャネル開口薬についてはほとんど知られていない。最近、我々の研究室でラット大動脈を弛緩させずに、モルモット気管平滑筋を弛緩させるKC128が合成された。そこで、このような選択性を持つKC128のイヌ気道平滑筋に対する作用を検討した。levcromakalimは、carbacholで収縮させたイヌ気管、気管支平滑筋を濃度依存的に弛緩したが、KC128は、気管平滑筋に比べ、気管支平滑筋を強く弛緩させた。これらの弛緩は、glyburideによって抑制されたが、charybdotoxinでは抑制されなかった。また、levcromakalimは、気管、気管支平滑筋いずれの細胞膜も過分極させたが、KC128は、気管支平滑筋のみを過分極させた。また、levcromakalimは、いずれの標本からの ^{86}Rb 流出速度も増加させたが、KC128では気管支平滑筋のみで増加作用がみられた。これらの増加作用はいずれもglyburideで抑制された。さらに、KC128は、イヌ気管支平滑筋、モルモット気管筋を弛緩させるが、イヌ気管、ヒト気管支平滑筋を弛緩させなかった。しかし、levcromakalimは、いずれの標本においても弛緩作用がみられた。これらの結果より、glyburide-感受性 K^+ -チャネルの分布は、その気道の部位や種によって異なっており、イヌ気道平滑筋系には少なくとも2種類のglyburide-感受性 K^+ -チャネルが存在している可能性が示唆された。また、イヌ気管平滑筋にはヒト気管支平滑筋と同様のKC128非感受性のglyburide感受性 K^+ -チャネルが存在している可能性が示唆された。

様々な K^+ -チャネル開口薬のターゲットとなるチャネルが多様性である可能性についてはしばしば指摘されてきたが、薬理学的手法による報告はほとんどなかった。今回示したKC128を用いた実験結果は、そのターゲットとなるチャネルの生理学的、生化学的性質は不明であるもののATP-感受性 K^+ -チャネルがイヌ気管と気管支平滑筋で異なる可能性を示唆するものである。また、levcromakalimが今回用いた平滑筋のほとんどを同濃度で弛緩させるにも関わらず、KC128は、イヌ気管およびヒト気管支をほとんど弛緩させなかったことから、ヒト気管支平滑筋には、イヌ気管平滑筋と同じ種類のATP-感受性 K^+ -チャネルが存在している可能性が示唆された。また、KC128のような薬剤が見つかったことは組織特異的な K^+ -チャネル開口薬の開発を示すものと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 栗 原 堅 三
副 査 教 授 野 村 靖 幸
副 査 助教授 徳 光 幸 子
副 査 助教授 三 宅 教 尚

学 位 論 文 題 名

新規 K^+ -チャンネル開口薬の各種気道平滑筋 弛緩作用に関する研究

申請者は、長年にわたり平滑筋作用薬の薬理学的研究を行ってきたが、今回、新たに合成された K^+ -チャンネル開口薬の気管および気管支平滑筋に対する弛緩作用に関する研究成果が以下のようにまとまったので、学位論文として申請した。

K^+ -チャンネル開口薬は、細胞膜に存在する K^+ -チャンネルを開口させ細胞を過分極させる。この過分極により、主として電位依存性 Ca^{2+} -チャンネルを介した細胞内への Ca^{2+} 流入を抑制することで、平滑筋での弛緩作用あるいはアゴニスト収縮に対する抑制作用を発現する。このことから、 K^+ -チャンネル開口薬を抗高血圧薬あるいは気管支拡張薬として開発する試みが為され、平滑筋に対する弛緩作用やその弛緩のメカニズムが検討されている。しかし、いずれの K^+ -チャンネル開口薬も主として血管平滑筋で研究が進められており、気管平滑筋での弛緩の作用機作はほとんど検討されていない。本研究では K^+ -チャンネル開口薬として最もよく知られている *levcromakalim* および新規に合成された血管平滑筋弛緩薬である *KC399* と *KC127* を用いてイヌおよびウサギ気道平滑筋の収縮、膜電位さらに細胞内 Ca^{2+} 濃度に対する作用を検討した。

KC399 は、イヌ気管平滑筋の膜電位を濃度依存的に過分極させるとともに、*carbachol* による持続収縮に対しても濃度依存的な弛緩作用を示した。その作用は *levcromakalim* の約 100 倍強いものであった。これらの作用は、ATP 感受性 K^+ -チャンネル遮断薬である *glyblyde* によって拮抗的に抑制された。また、高 K^+ 刺激による脱分極および収縮にはほとんど作用しなかった。以上のことから、*KC399* は、

ATP 感受性 K^+ -チャネルを開口させ、細胞膜を過分極させることによりイヌ気管平滑筋を弛緩させることが示された。

K^+ -チャネル開口薬は単に過分極による電位依存性 Ca^{2+} チャネルの活性化の抑制だけでなく、アゴニストによる $InsP_3$ 生成の抑制や収縮タンパク系の Ca^{2+} 感受性の減少を引き起こすことが血管平滑筋で知られている。イヌおよびウサギ気管平滑筋に carbachol あるいは acetylcholine を投与すると、最初の速い収縮とそれに続く持続的な収縮がみられた。これらのアゴニスト存在下でも、KC399 は濃度依存的に細胞膜を過分極させた。また、最初の速い一過的な収縮よりも持続的な収縮をより強く抑制した。一方、KC399 は、イヌ気管平滑筋で carbachol 刺激による気管平滑筋内 $InsP_3$ 量の増加に対しほとんど作用しなかった。また、KC399 は細胞内 Ca^{2+} 濃度と張力の関係に影響しなかった。以上のことから、気管平滑筋では、 K^+ -チャネル開口薬による過分極が、アゴニストによる $InsP_3$ 生成の抑制や収縮タンパク系の Ca^{2+} 感受性の減少をほとんど起こさないことが明らかとなった。これらの点で、 K^+ -チャネル開口薬の作用メカニズムが気管平滑筋と血管平滑筋とは異なっていることが示された。

KC127 は、イヌ気管支およびモルモット気管平滑筋では筋収縮の弛緩作用がみられたが、イヌ気管およびヒト気管支平滑筋ではほとんどその作用がみられなかった。一方、levcromakalim はいずれの平滑筋も弛緩させた。KC127 は、イヌ気管支平滑筋を過分極させるとともに $^{86}Rb^+$ の細胞内への流入を増加させたが、イヌ気管平滑筋ではそれらの作用がほとんどみられなかった。これらのことは、 K^+ -チャネル開口薬としての KC127 の作用に種および部位特異性があること、また、ATP 感受性 K^+ チャネルに薬理学的に異なった種類のもの-KC127 感受性と非感受性-が存在することを示している。さらに、これらの ATP 感受性 K^+ チャネルは種および器官・部位で異なった分布を示し、イヌ気管支およびモルモット気管平滑筋には KC127 感受性のチャネルが、イヌ器官およびヒト気管支平滑筋には KC127 非感受性のチャネルが存在することが明らかとなった。以上の結果は、副作用の少ない器官特異性を持った平滑筋弛緩薬開発のための 1 つの方向性を示した例である。

以上のように、申請者は K^+ -チャネル開口薬による弛緩のメカニズムを各種気道平滑筋で詳細に解析したのみならず、薬理学的に異なった ATP 感受性 K^+ チャネルを初めて明確に同定しており、本論文は博士（薬学）の学位を受けるに充分値するものと判定した。