

11495

神経毒メチル水銀のアセチルコリン受容体に対する作用の吟味

小林 晴男 鈴木 忠彦

(岩手大学農学部獣医学科畜薬理学教室)

メチル水銀は強力な中枢神経毒性を有する重金属化合物である¹⁾。この毒性機序の1つに神経伝達機構の障害があり²⁾、究極的には伝達物質の放出の変化あるいは受容体の変化である。後者を調べる方法の一つに受容体標本への特異的リガンドの結合特性に対するメチル水銀の影響の有無がある。しかし、この方法は、メチル水銀に較べてこのリガンドの受容体に対する親和性が高すぎるためにその影響を *in vitro* では検出しにくい場合がある。アセチルコリン受容体 (AChR) に対するメチル水銀の影響を、脳組織 AChR 標本と回腸縦走筋標本および骨格筋標本を用いて吟味した。

材料と方法

塩化メチル水銀 (MMC) を用いた。

成熟 ICR 系雄マウスの大脳皮質より AChR 標本を作製した。標識は、ムスカリン性 (m) AChR には [³H]quinuclidinyl benzilate (QNB) を、ニコチン性 (n) AChR には [³H] α ブンガロトキシン (α BTX) を用いた。mAChR は 10^{-6} M アトロピンおよび nAChR は 10^{-4} M d-ツボクラリンの前処理によって非特異的結合を消去して補正し、 [³H]QNB および [³H] α BTX の特異的結合量として算出した。

成熟雄モルモットの回腸より縦走筋条片を、またトノサマカエルより腹直筋条片を作製し、マグヌス法によって累積的濃度のアセチルコリン (ACh) または塩化カリウム (KCl) に対する筋収縮を等張性に記録した。

結果

1. AChR 標本の mAChR および nAChR に対する MMC の影響

図1に示すように、大脳 mAChR 標本への [³H]QNB 結合に対して、 10^{-6} 、 10^{-5} および 10^{-4} M MMC は約 9、15 および 29% 阻害した。 [³H] α BTX 結合に対して、 10^{-6} 、 10^{-5} および 10^{-4} M MMC は約 30、64 および 80% 阻害した。

2. 縦走筋の mAChR および腹直筋の nAChR に対する MMC の影響

表1に示すように、縦走筋の ACh による収縮を MMC は K_i 値 (50% 阻害濃度 IC_{50} に近似) = $12.5 \mu\text{M}$ 、KCl 収縮を K_i 値 = $11.0 \mu\text{M}$ で阻害した。腹直筋の

English Title for No. 11495: Effects of a neurotoxin methylmercury on acetylcholine receptors *in vitro*. Haruo Kobayashi and Tadahiko Suzuki [Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka.] *Medicine and Biology*. 140 (3): 49-51, March 10, 2000. (著者校正)

ACh 収縮に対して MMC は K_i 値 = $47.5 \mu\text{M}$, KCl 収縮に対して K_i 値 = $43.0 \mu\text{M}$ で阻害した。

考察

ACh による縦走筋の収縮は mAChR を介して行われる。高濃度 KCl による収縮は AChR には関係なく、平滑筋細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させて筋収縮連関を活

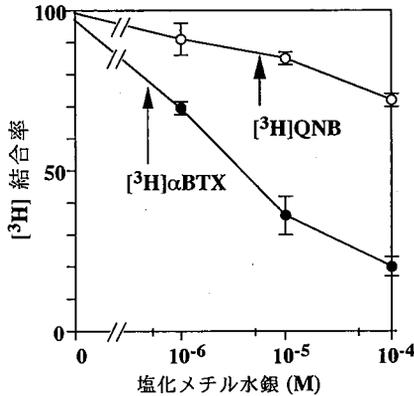


図 1 大脳皮質アセチルコリン受容体標本の $[^3\text{H}]$ QNB 結合および $[^3\text{H}]$ α BTX 結合に及ぼす塩化メチル水銀の影響
平均値 \pm 標準誤差。

表 1 アセチルコリン収縮 (アセチルコリン受容体) および塩化カリウム収縮 (筋収縮連関) に対する塩化メチル水銀の影響

筋標本	筋収縮薬	塩化メチル水銀 阻害定数 ($K_i \approx 50\%$ 阻害濃度)	有意差 (ACh 対 KCl)
回腸縦走筋	ACh	$1.25 \pm 0.13 \times 10^{-5} \text{ M}$	} 有意差無し
	KCl	$1.10 \pm 0.26 \times 10^{-5} \text{ M}$	
腹直筋	ACh	$4.75 \pm 1.37 \times 10^{-5} \text{ M}$	} 有意差無し
	KCl	$4.30 \pm 0.33 \times 10^{-5} \text{ M}$	

数値は平均値 \pm 標準誤差 (n=5)

性化することによる。図 1 より MMC は mAChR に対する阻害作用は強いことがわかる。縦走筋の AChR に対する作用は強いように思われるが、その阻害定数 K_i 値は KCl 収縮に対する K_i とほぼ等しいことから、MMC の ACh 収縮に対する阻害作用は主に筋収縮連関に対する阻害作用によるものであるかもしれ

ない。13.7mM MMC は [^3H] QNB 結合を 50%, 149 μM MMC は [^3H] AF-DX 384 結合を 50% 阻害すると報告されている^{3,4)}。mAChR には M_1 - M_5 のサブタイプが存在し、AF-DX 384 は M_2 AChR を、QNB は全ての mAChR を標識する。MMC はいずれの標識をも高濃度で阻害したことから、mAChR に対する作用は弱いことで本研究結果と符合する。

図1より MMC は nAChR に対する [^3H] α BTX 結合を、3.6 μM で約 50% 阻害する。一方、表1より MMC はおおよそ 45 μM で nAChR または筋収縮連関を阻害することがわかる。すなわち、脳の nAChR は筋の nAChR より MMC に対して 10 倍以上感受性が高いことを示唆している。この感受性の違いの理由は明らかではないが、両 nAChR のサブユニットが大きく異なることが⁵⁾原因かもしれない。

結語

MMC の中枢 AChR に対する阻害作用は、mAChR に対するよりも、nAChR に対してより大であった。

- 1) Chang, L. W.: Neurotoxic effects of mercury-A review. *Env Res* 14: 329-373 1977
- 2) Chang, L. W.: The Vulnerable Brain and Environmental Risks. Vol. 2 (Isaacson, R. L. & Jensen, K. F.), Plenum Press New York 61-82 1994
- 3) Zang, Z. & Wu, D.: Effect of methylmercury chloride on brain muscarinic receptor in rat. *華西医科大学学報* 25: 388-392 1994
- 4) Castoldi, A. F., et al.: Interaction of mercury compounds with muscarinic receptor subtypes in the rat brain. *Neurotoxicology* 17: 735-741 1996
- 5) Albuquerque, E. X., et al.: Properties of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: Pharmacological characterization and modulation of synaptic function. *J Pharmacol Exp Ther* 280: 1117-1136 1997

(受付: 2000年1月6日)

[通信先 小林晴男: 岩手大学農学部獣医学科家畜薬理学教室,

盛岡市上田 3-18-8 (〒020-8550)]