

秒間灌流し膜電流の変化を記録し，これを2回繰り返して2回目の膜電流の変化をコントロールとした．環境ホルモン類 $1\mu\text{M}$ で20秒間灌流した後，環境ホルモン類 $1\mu\text{M} + \text{ATP } 1\text{mM}$ で10秒間灌流し，環境ホルモン類存在下でのATPによる膜電流の変化を記録した．同じ手順で各物質について低い濃度から測定を行い，コントロールに対してそれぞれの反応の大きさを%で示した．

Ⅲ 結 果

図 1 は $30 \mu\text{M}$, $100 \mu\text{M}$, $300 \mu\text{M}$, 1 mM , 3 mM の ATP 溶液を灌流した時の Dose-response curve である。最大反応つまり 3 mM の時の反応をコントロールにとり，% で示した。電流は濃度依存的に増加した。

図 2 ～ 図 6 は ATP 1 mM 単独で灌流した時の反応を 100% としてパーセンテージで示した。

図 2 は 17β -エストラジオール (Est) 存在下，ATP 1 mM を灌流した時の反応である。反応は Est $1 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{M}$ ではやや増強され， $100 \mu\text{M}$ では 80% 近くまで抑制された。

図 3 はビスフェノール A (BPA) 存在下，ATP 1 mM を灌流した時の反応である。BPA も Est と同様に，BPA $1 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{M}$ ではやや増強され， $100 \mu\text{M}$ では 80% 近くまで抑制された。

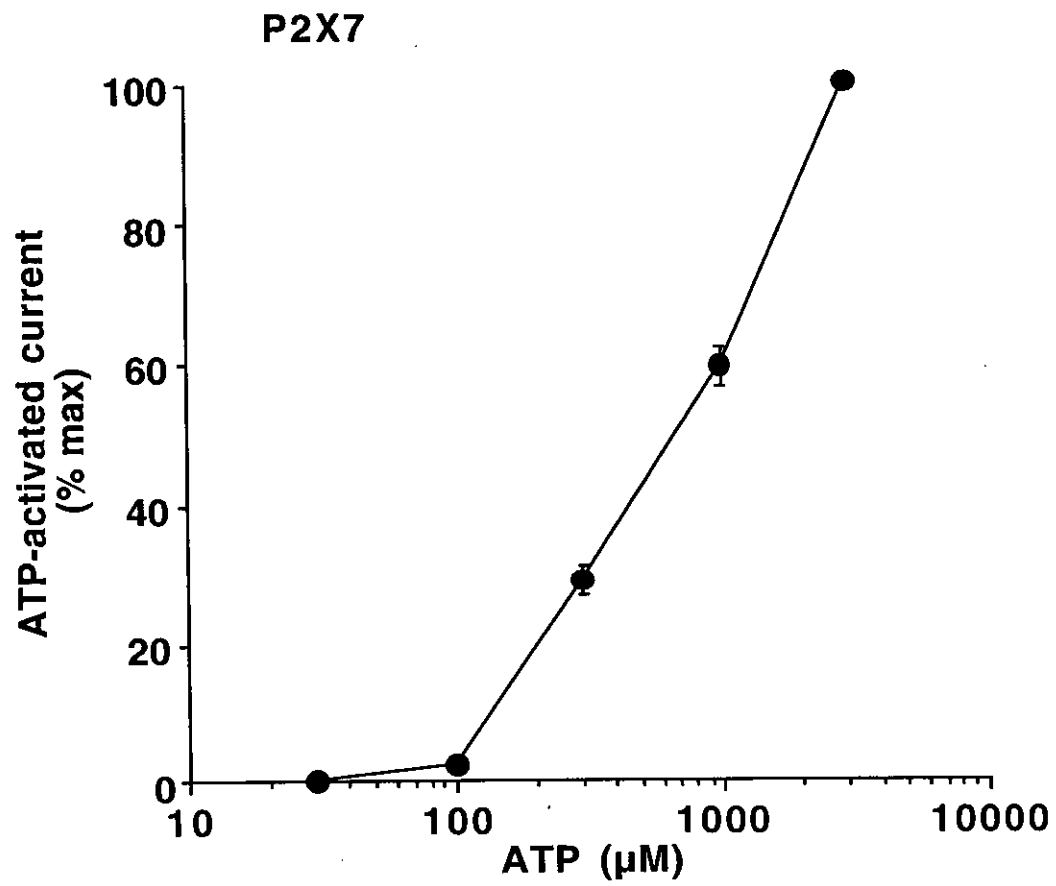


Fig 1 Dose-response curve

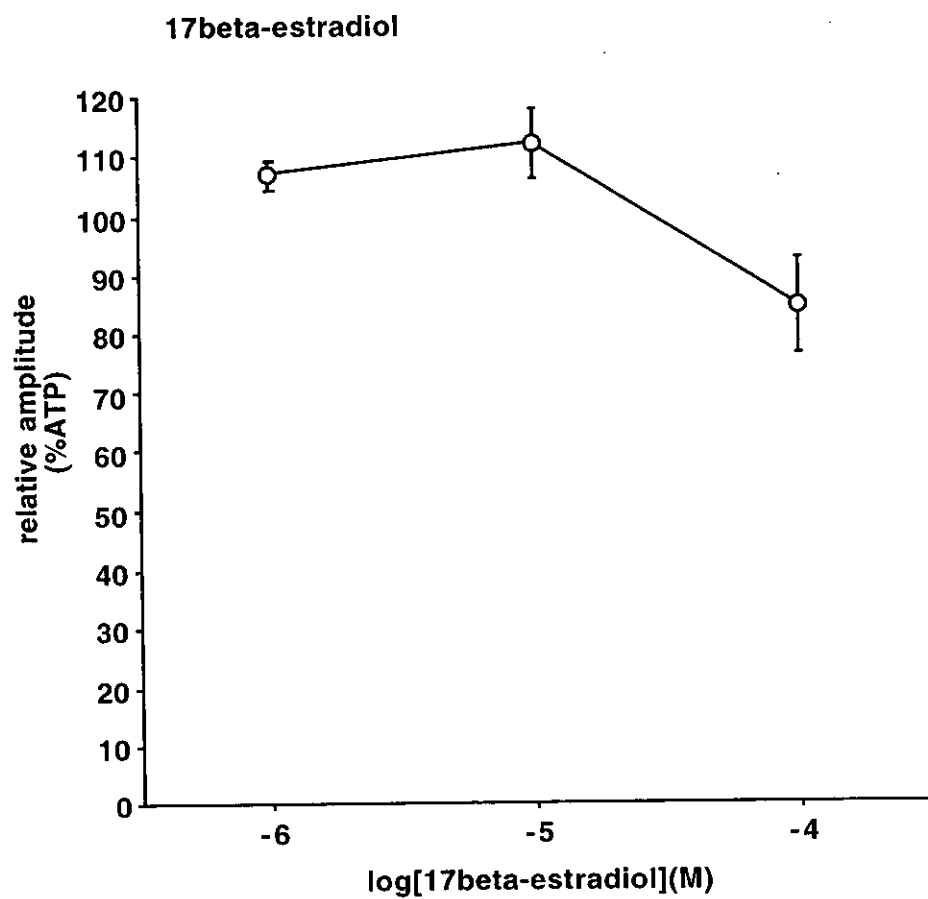


図2 17 β -エストラジオール存在下での影響

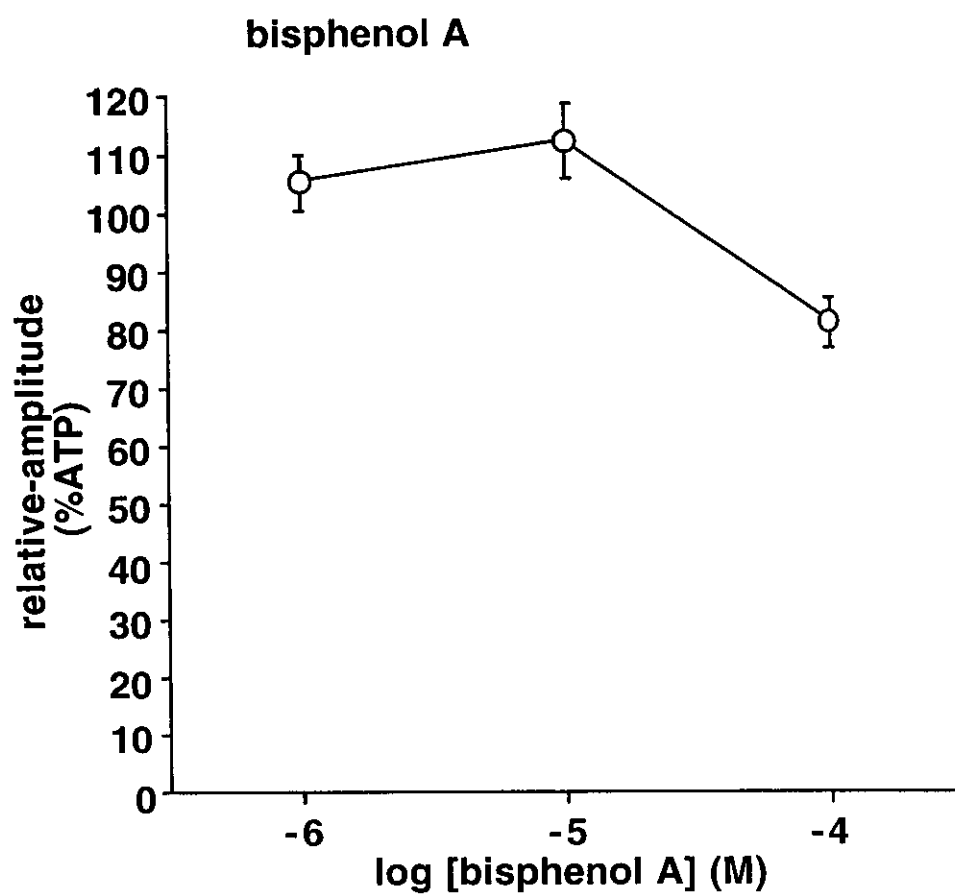


図3 ビスフェノールA存在下での影響

図 4 は 17 α - エチニルエストロール (17 E E) 存在下, ATP 1 m M を灌流した時の反応である. 17 E E 1 μ M, 10 μ M 存在下ではやや反応が増強され, 100 μ M では 90 % 近くまで抑制された.

図 5 は p - ノニルフェノール (p N P) 存在下, ATP 1 m M を灌流した時の反応である. p N P 存在下では増強作用はあまり見られず, 抑制作用が見られた. この抑制は濃度に依存して強くなる傾向を示した.

図 6 は p - オクチルフェノール (p O P) 存在下, ATP 1 m M を灌流した時の反応である. p O P 存在下でも p N P と同様に, 抑制が強く見られた. p O P 100 μ M では 70 % 近くまで抑制された.

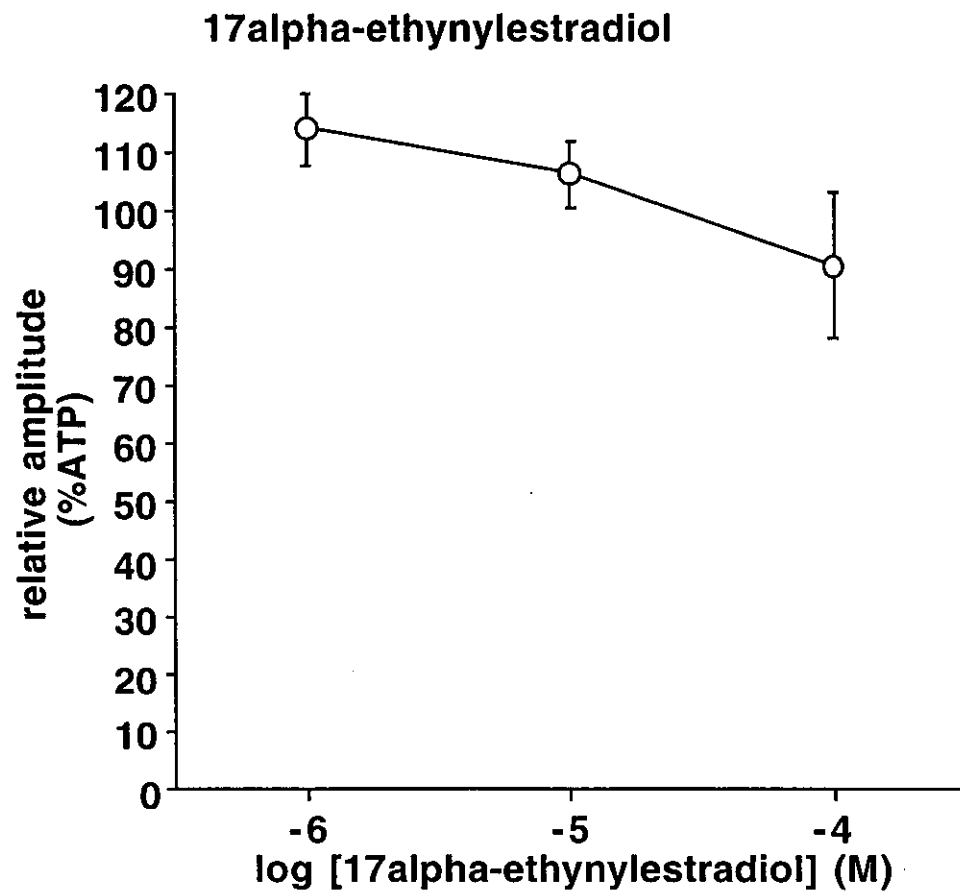


図4 17 α -エチニルエストラジオール存在下での反応

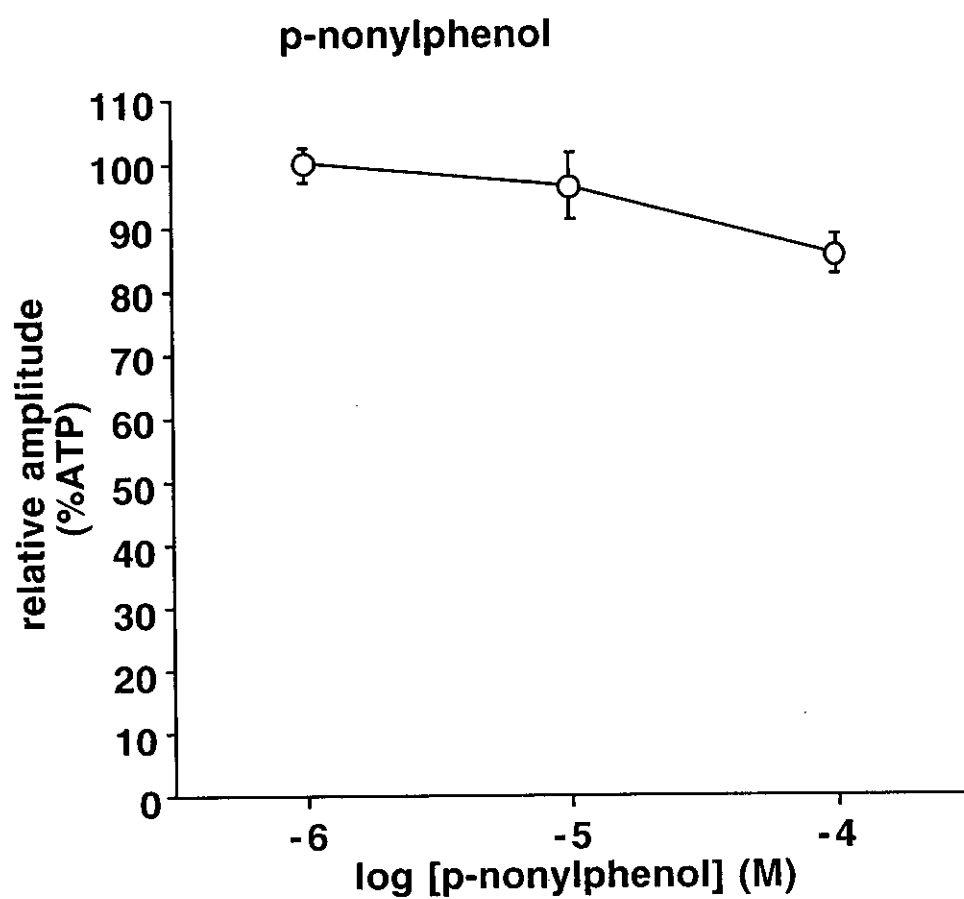


図5 p-ノニルフェノール存在下での反応

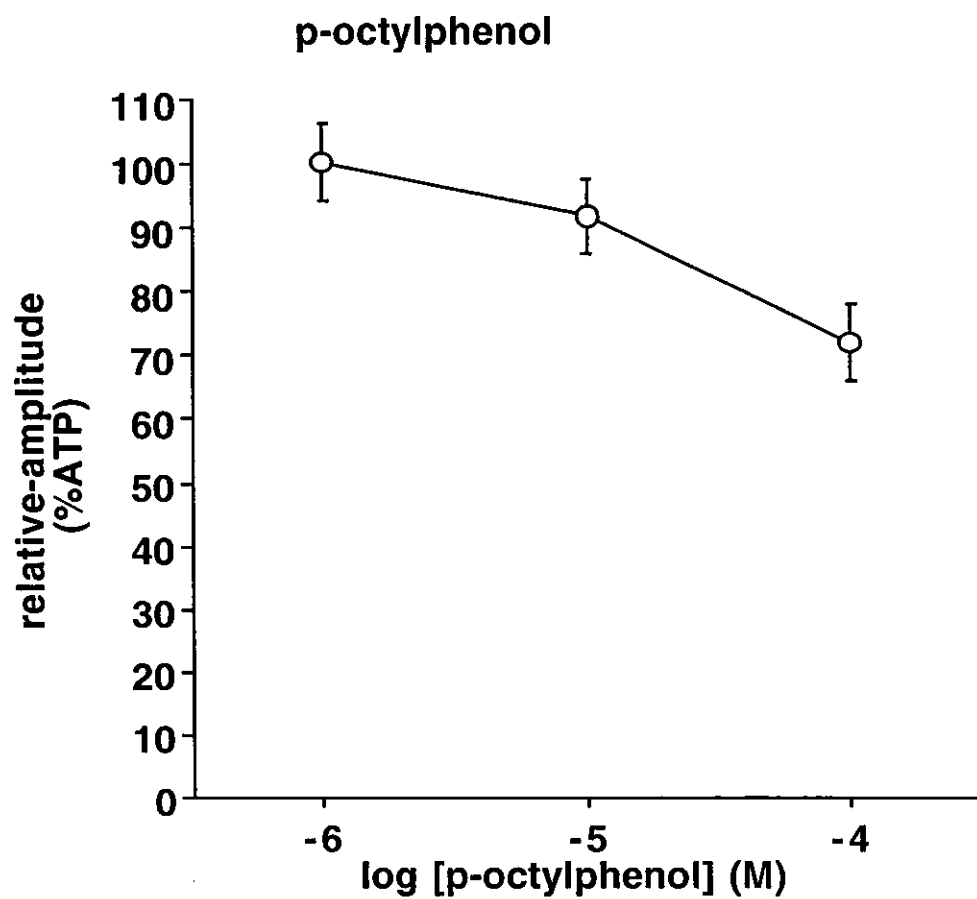


図6 p-オクチルフェノール存在下での反応

IV 考 察

h P 2 X 7 受 容 体 では ニ コ チ ン 様 ア セ チ ル コ
リ ン 受 容 体 の よ う に 明 確 な 抑 制 や 増 強 は 見 ら
れ な か っ た . ニ コ チ ン 様 ア セ チ ル コ リ ン 受 容
体 では , 1 7 β - エ ス ト ラ ジ オ ー ル や ビ ス フ ェ
ノ ー ル A に よ っ て 5 0 % 以 下 に ま で 抑 制 さ れ
る が 4) , h P 2 X 7 受 容 体 では 7 0 ~ 8 0 % 程
度 に 抑 制 さ れ る の み で あ っ た . エ ス ト ロ ゲ ン
類 へ の 反 応 性 の 違 い は 同 じ カ チ オ ン チ ャ ネ ル
を 形 成 す る 受 容 体 で も エ ス ト ロ ゲ ン 感 受 性 に
か な り 差 が あ る こ と を 示 し て い る . こ の 違 い
は , ニ コ チ ン 様 ア セ チ ル コ リ ン 受 容 体 は 膜 5
回 貫 通 型 で あ り , P 2 X 受 容 体 は 膜 二 回 貫 通
型 1 0) の サ ブ ユ ニ ッ ト か ら 成 る と い う 大 き
な 構 造 の 違 い に よ っ て 生 じ る も の だ と 考 え ら
れ る . P 2 X に は エ ス ト ロ ゲ ン 様 物 質 に 対 す
る 抵 抗 性 が あ る の か も 知 れ な い . 緒 言 に 述 べ
た よ う に , ニ コ チ ン 様 ア セ チ ル コ リ ン 受 容 体
と P 2 X 受 容 体 は 互 い に 影 響 す る 5) と 言 わ れ
て い る の で ニ コ チ ン 様 ア セ チ ル コ リ ン 受 容 体

と共存するような環境では P₂X 受容体に対するエストロゲン類の反応性が異なる可能性が考えられる。この点についてはさらに検討が必要である。

h P₂X₇ 受容体はアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた場合、P₂X 受容体の他のサブクラスと比べて観察される電流が小さかった⁹⁾。これは h P₂X₇ は m a m m a l i a n 由来なのでアフリカツメガエルの卵には発現しにくいためなのではないかと考えられる。サルの腎臓由来の細胞に h P₂X₇ を発現させ 17β-エストラジオールによる抑制を観察した報告では、十分な大きさの電流が認められているという事実もこの考えを支持している¹¹⁾。しかしベクター（プラスミド）の種類による発現量の違いが原因である可能性も否定できない。さらに、P₂X₇ の活性化には脱リン酸化が関与すると言われている¹²⁾ので、細胞膜にあるリン酸化部位がリン酸化されてしまうことによって反応が弱く

な っ た こ と も 考 え ら れ る . ま た R N A の 分 解
が は や い と い う こ と も 考 え ら れ る の で ,
R N A を 保 存 す る 際 に 小 分 け に し た り そ の つ
ど R N A を 合 成 す る な ど , R N A に 対 す る 工
夫 に よ っ て も 電 流 が 大 き く な る 可 能 性 が あ る .
こ れ ら の 点 の 改 善 に よ り 電 流 量 が 増 大 し , エ
ス ト ロ ゲ ン 類 に よ る 受 容 体 へ の 影 響 の 解 明 が
進 展 す る こ と が 期 待 さ れ る .

V 謝 辞

この卒業論文を作成するにあたり，国立医薬品食品衛生研究所にて研究する機会を与えて下さった国立衛研薬理部部長大野泰雄先生，明治薬科大学臨床薬理学教室竹内幸一先生，野沢玲子先生に深く感謝いたします．そしてこの研究をすすめるにあたり技術的なことなど多くのことで御指導・御鞭撻いただきました中澤憲一先生には心から感謝しています．ありがとうございました．また，実験をすすめる中で暖かい助言をして下さった薬理部の皆様，臨床薬理学教室大学院生の皆様にも感謝いたします．最後に，毎回実験のたびにお世話になったアフリカツメガエルのみなさんにも感謝いたします．

IV 参考文献

- 1) Corbone, T., von Saal, F.S., Soto, A.M., 1993. Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspect.*, 101, 378-384.
- 2) Korach, K.S., 1993. Surprising places of estrogenic activity. *Endocrinology* 132, 2277-2278.
- 3) Stone, R., 1994. Enviromental estrogens stir debate. *Science*, 265, 308-310.
- 4) Nakazawa, K., Ohno, Y., 2001. Modulation by estrogens and xenoestrogens of recombinant human neuronal nicotinic receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 430, 175-183.
- 5) Khakh, B.S., Zhou, X., Sydes, J., Galligan, J.J., Lester, H.A., 2000. State-dependent cross-inhibition between transmitter-gated cation channels. *Nature*, 406, 405-410.
- 6) 井上和秀, 1997. 中枢ATPレセプターに関して. *日薬理誌*, 110, 173-182.
- 7) 中澤憲一, 1997. ATP受容体チャネル: 構造-機能相関探究への展望を中心に. *ファルマシア*, 33, 862-866.
- 8) 井上和秀, 1998. ATP受容体. *生命の科学*, 49, 326-328.
- 9) Nakazawa, K., Ohno, Y., Inoue K., 1998. An aspartic acid residue near the second transmembrane segment of ATP receptor/channel regulates agonist sensitivity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 244, 599-603.
- 10) 中澤憲一, 2001. ATP受容体の構造と機能. *生体の科学*, 52,

152-157.

11) Cario-Toumaniantz C., Loirand G., Ferrier L., Pacaud P., 1998. Non-genomic inhibition of human P2X7 purinoceptor by 17β -oestradiol. J. Physiol., 508, 659-666.

12) Kim M., Jiang LH., Wilson HL., North RA., Surprenant A., 2001. Proteomic and functional evidence for a P2X7 receptor signalling complex. EMBO J., 20, 6347-6358.

研究成果の刊行に関する一覧表

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ	文献番号
Nakazawa, K.	ATP receptors	T. Creighton	Encyclopedia of Molecular Medicine	John Wiley & Sons	New York, U.S.A.	2001	282-284	1
Nakazawa, K.	Purinergic receptors	T. Creighton	Encyclopedia of Molecular Medicine	John Wiley & Sons	New York, U.S.A.	2001	2693-2695	2

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版年	文献番号
Nakazawa, K. Ohno, Y.	Modulation by Estrogens and xenoestrogens of recombinant human neuronal nicotinic receptors	Eur. J. Pharmacol.	430	175-183	2001	3
中澤憲一	ATP 受容体の構造と機能	生体の科学	52	152-157	2001	4
Sato, K. Matsuki, N.	A 72 kilodalton-heat shock protein is protective against the selective vulnerability of CA1 neurons and is essential for the tolerance exhibited by CA3 neurons in hippocampus	Neuroscience	109	745-756	2002	5
Nakazawa, K. Ojima, H. Ohno, Y.	A highly conserved tryptophane residue indispensable for cloned rat neuronal P2X receptor activation	Neurosci. Lett.	in press		2002	6