

学位論文要旨

(SUMMARY OF DOCTORAL THESIS)

氏名 (Name) 泉澤 有

題目 (Title) : Dynamics of The Cytosolic Ca^{2+} Concentration in Acutely Dissociated Subformical Organ Neurons of Rats: Mechanisms of Angiotensin II-induced Activation and GABA-mediated Inhibition

(ラット急性単離脳弓下器官ニューロンにおける細胞内 Ca^{2+} 動態: それに対する Angiotensin II と GABA の作用機序)

論文要旨 (Summary) :

脳弓下器官(SFO)は血液脳関門を欠き、循環血中の様々な分子を感知する。SFOが血中のAngiotensin II (AII)を感知すると飲水行動が誘発され、その結果、体液量が増加する。SFO除去ラットにおいてAIIを適用しても血圧の上昇が認められなかったという報告があり、SFOと高血圧症との関連が注目されている。

本研究では、はじめにWistar ラット(3~4週齢, ♂)のSFOから急性単離したSFO神経細胞を用い、 Ca^{2+} imaging法でSFO神経単独での基本的な細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 動態について調べた。すると、半数以上のSFOニューロンが繰り返し起こる $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の増減 (Ca^{2+} オシレーション)を自発的に示し、残りではほぼ一定の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が維持されていた。低濃度(1~100 pM)のAIIを適用すると、前者の細胞では Ca^{2+} オシレーションの頻度と振幅が増加し、後者の細胞では Ca^{2+} オシレーションが誘発された。自発性と誘発性の Ca^{2+} オシレーション両方が細胞外 Ca^{2+} 除去、細胞外 Na^+ 置換により阻害された。また、非特異的電位依存性 Ca^{2+} チャネルブロッカーとL型 Ca^{2+} チャネルブロッカー、電位依存性 Na^+ チャネルブロッカーにより自発性と誘発性の Ca^{2+} オシレーションは有意に抑制された。これらのことから、SFOの Ca^{2+} オシレーションの基盤となる細胞外からの Ca^{2+} 流入の少なくとも一部はL型 Ca^{2+} チャネルを介して起こることが示唆された。高濃度(1nM以上)AIIを適用すると1時間以上続く持続性の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇が起こった。この上昇はAT1アンタゴニストによって阻害された。持続相は細胞外 Ca^{2+} 除去によって抑制されたが、 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出を抑制しても影響を受けなかった。さらに、L型とP/Q型の電位依存性 Ca^{2+} チャネルブロッカーとCaMK, PKCの抑制薬によってそれぞれ有意に抑制された。これらのことから、AIIによる持続性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇には、細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出ではなく、電位依存性 Na^+ チャネルと非選択性陽イオンチャネルの活性化を介した細胞外からの Ca^{2+} 流入が関わっていると考えた。また、一旦AT1受容体を介して持続性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇が起こると、AT1受容体の活性化は不要となり、この持続性にはCaMKとPKCによる蛋白リン酸化が関わっていると考えられた。

自発性の Ca^{2+} オシレーションとAIIによる持続性の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇は、GABAにより可逆的に抑制された。この抑制作用は、 GABA_A および GABA_B 受容体アゴニストによって模倣された。 GABA_A および GABA_B 受容体拮抗薬の両者が存在する場合にのみGABAを介した抑制が阻害された。ホールセルパッチクランプ法で、 GABA_B 受容体アゴニストは、電位依存性 Ca^{2+} チャネル (VGCC) 電流を迅速かつ可逆的に阻害し、この反応は GABA_B 受容体アンタゴニストによって拮抗された。また、 GABA_B 受容体アゴニストによるVGCC電

流阻害の大きさは、N型、P/Q型、およびL型VGCCの選択的遮断薬の適用によって減少した。以上のことから、GABAの抑制作用は、GABA_A受容体とGABA_B受容体の両方によって媒介され、GABA_B受容体がSFOニューロンのVGCCを介したCa²⁺流入を抑制することが示唆された。

正常ラットの血漿AII濃度は5~40 pM程度であるが、脱水ラットは約150 pM、高血圧症モデルラットは約400~600 pMまで到達するという報告がある。本研究では、正常ラットの血漿AII濃度の範囲である1 pM~100 pMのAIIでCa²⁺オシレーションの誘発、増強が認められた。また、持続性[Ca²⁺]_i上昇を引き起こすAII濃度の閾値は100 pMと1 nMの間にあると考えられ、この範囲に脱水ラットや高血圧症モデルラットのAII濃度が含まれる。これらのことから、生体においてSFOニューロンのCa²⁺オシレーションは、SFOの生理的機能の維持や調節において重要な役割を担っており、AIIによる持続性[Ca²⁺]_i上昇は、SFOの病態生理学的な機能変化に関与する可能性があると考えられる。さらに、GABAがCa²⁺オシレーションも持続性[Ca²⁺]_i上昇も可逆的に抑制したことから、SFOの[Ca²⁺]_i動態は、生体においてAIIとGABAによって両方向性に調節されていることが示唆された。