



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	5-HT release from chemoreceptor cells in the chicken thoracic aorta [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Dugar, Delgermurun
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第12396号
Issue Date	2016-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/63566
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Delgermurun_Dugar_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学） 氏名：デルゲルモロン ドーカラ
Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

5-HT release from chemoreceptor cells in the chicken thoracic aorta
(ニワトリ胸部大動脈の化学受容器細胞からの 5-HT 放出機構に関する研究)

5-HT (セロトニン) は伝達物質として様々な生体反応に重要な役割を果たしている。哺乳類では、腸管クロマフィン細胞や中枢神経系の 5-HT 作動性ニューロンが 5-HT を含有している。これらの細胞は生合成した 5-HT を小胞モノアミントランスポーター (VMAT) によって分泌小胞に貯蔵し、開口放出によって細胞外へ放出する。放出された 5-HT は 5-HT トランスポーター (SERT) によって細胞に再び取り込まれるか、あるいは主にモノアミン酸化酵素 (MAO) によって分解される。ニワトリの胸部大動脈にも 5-HT を含有する類上皮細胞が帯状に集積した箇所があり、これらの細胞も哺乳類の 5-HT 含有ニューロンと同様の 5-HT 産生、代謝、輸送機構を有していると考えられる。またその形態的・機能的特徴が頸動脈小体の化学受容器細胞と類似しているため、ニワトリ大動脈の 5-HT 含有細胞も化学受容器としての働きを担っていることが示唆される。そこで本研究は、ニワトリ大動脈化学受容器細胞の 5-HT 放出機構を明らかにすることを目的とし、第 1 章では、5-HT 輸送や代謝に影響を与える薬物の 5-HT 放出に対する効果について検討した。また近年、ガス状伝達物質である硫化水素 (H_2S) が頸動脈小体の酸素感受反応などの化学受容機構に重要な役割を果たしていることがわかってきた。そこで第 2 章では、ニワトリ大動脈化学受容器細胞からの 5-HT 放出反応に対する H_2S の効果について検討した。実験には孵化後 2-4 週間の白色レグホン系ニワトリを使用した。実験は 37°C で行い、各薬物を 10 分間適用した時の 5-HT 放出量を HPLC 法によって測定した。

第 1 章において、ニワトリ胸部大動脈 5-HT 含有化学受容器細胞が、哺乳類の 5-HT 含有ニューロンと同様の 5-HT 輸送機構を有しているかを明らかにするために、SERT を阻害する 5-HT 取込阻害薬と、VMAT 及び MAO を阻害するアンフェタミン誘導体をそれぞれ用い、5-HT 放出に対する効果を検討した。化学受容器細胞を含むニワトリ胸部大動脈標本において、アンフェタミン誘導体のパラクロロアンフェタミン (PCA) とメタンフェタミン (MET) 及び 5-HT 取込阻害薬のクロミプラミン (CLM)、フルボキサミン、フルオキセチンは時間及び濃度依存性に 5-HT 放出量を増加させた。これらの 5-HT 放出反応は 27°C 以下では見られず、細胞傷害による漏出ではないと考えられた。また、アンフェタミン誘導体や 5-HT 取込阻害薬による

5-HT 放出は細胞外 Ca^{2+} 除去や電位依存性 Ca^{2+} チャネル阻害薬の影響を受けなかった。一方、CLM による 5-HT 放出は細胞外 NaCl 除去によって消失したが、PCA による放出反応は影響を受けなかった。以上の結果から、5-HT 取込阻害薬とアンフェタミン誘導体は、 Ca^{2+} 非依存性に細胞からの 5-HT 放出量を増加させることが明らかとなった。アンフェタミン誘導体は、VMAT と MAO の阻害によって細胞質内の 5-HT 濃度を増加させることで、細胞膜を介した 5-HT 輸送機構を逆転させ、5-HT 流出を促進していると考えられる。一方、5-HT 取込阻害薬は NaCl 依存性の SERT を阻害することによって 5-HT 取込を抑制し、結果的に細胞外 5-HT 量を増加させていることが示唆された。これらの薬物の効果は、哺乳類の 5-HT 作動性ニューロンにおける報告と類似しており、ニワトリ胸部大動脈の化学受容器細胞がニューロンと同様の 5-HT 輸送機構を有していることが示された。

第 2 章において、 H_2S のニワトリ胸部大動脈化学受容器細胞への効果を検討するために、 H_2S ドナーである NaHS を用いて 5-HT 放出反応に対する影響を検討した。 H_2S は濃度依存性に 5-HT 放出量を増加させた。この放出反応は、細胞外 Ca^{2+} 除去や電位依存性 L 及び N 型 Ca^{2+} チャネル阻害薬 (ニフェジピン及び ω -コノトキシン GIVA) により著しく減弱した。また、 H_2S 惹起 5-HT 放出反応は、非選択的 TRP 阻害薬 (ルテニウムレッド) と TRPA1 阻害薬 (HC030031) で抑制されたが、TRPV1 阻害薬 (SB366791) では影響を受けなかった。そこで、TRPA1 作動薬のシンナムアルデヒドの効果を検討したところ、5-HT 放出が増加し、この反応も TRPA1 阻害薬で抑制された。また H_2S は酸化されてポリスルファイドとなることで TRPA1 に対しより強い活性を示すことが報告されていることから、ポリスルファイドの Na_2S_3 を適用したところ 5-HT 放出量は増加し、この反応も TRPA1 阻害薬で抑制された。ついで、免疫組織染色によりニワトリ胸部大動脈での TRPA1 の発現を検討した。TRPA1 陽性細胞は胸部大動脈の内壁に帯状に存在し、その分布様式は 5-HT 陽性細胞と一致していた。さらに 5-HT と TRPA1 の二重染色によって TRPA1 は 5-HT 陽性細胞に限局して発現していることが示された。これらの結果から、 H_2S はニワトリ胸部大動脈の化学受容器細胞に発現する TRPA1 を活性化することで、5-HT 放出を引き起こすことが明らかとなった。この 5-HT 放出反応は、主に電位依存性 Ca^{2+} チャネルを介して流入した Ca^{2+} によって引き起こされていることが示唆された。

本研究結果から、ニワトリ胸部大動脈に存在する 5-HT 含有化学受容器細胞は、哺乳類の 5-HT 作動性ニューロンや頸動脈小体の化学受容器細胞と同様な機能的性質を備えていることが明らかとなった。ニワトリ大動脈 5-HT 含有細胞は、化学受容器として血中の酸素濃度変化などを感じ、5-HT を放出することによって情報伝達を行っていることが示唆される。TRPA1 は他の化学受容器細胞で酸素感受性に関与していることが報告されており、ニワトリ大動脈 5-HT 含有細胞でも内因性の H_2S が TRPA1 を介して細胞反応を起こしている可能性が考えられる。また、化学受容器細胞の酸素感受性機構や 5-HT 作動性ニューロンの 5-HT 放出機構を検討するうえで、ニワトリ胸部大動脈標本を用いた 5-HT 放出解析は、簡便で有益なアプローチ法を提供しうると期待される。