

| | |
|---------------|--|
| 氏 名 (国籍) | Marwan Mustafa Ali Draid (社会主義人民リビア・アラブ国) |
| 学 位 の 種 類 | 博士 (獣医) |
| 学 位 記 番 号 | 獣医博甲第196号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成18年3月13日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第3条第1項該当 |
| 研 究 科 及 び 専 攻 | 連合獣医学研究科 獣医学専攻 |
| 研究指導を受けた大学 | 岐阜大学 |
| 学 位 論 文 題 目 | Electrophysiological Study on the Interplay between Purinergic Nerves and Endothelial Cells in the Chicken Anterior Mesenteric Artery (ニワトリ前腸間膜動脈におけるプリン作動性神経と血管内 皮細胞との相互作用に関する電気生理学的研究) |
| 審 査 委 員 | 主査 岐 阜 大 学 教 授 武 脇 義 副査 帯広畜産大学 教 授 西 村 昌 数 副査 岩 手 大 学 教 授 小 林 晴 男 副査 東京農工大学 教 授 田 谷 一 善 副査 岐 阜 大 学 教 授 小 森 成 一 |

論 文 の 内 容 の 要 旨

哺乳動物の血管の調節において、プリン作動性神経と内皮が重要な役割を果たしていることはよく知られている。そのため、鳥類の血管におけるプリン作動性神経伝達の役割を調べることは非常に重要である。そこで、本研究は、ニワトリ前腸間膜動脈の局所血管調節機構におけるプリン作動性神経と内皮の相互作用を明らかにすることを目的として行った。なお、実験は、ガラス微小電極法と張力記録を用いた。

ニワトリ前腸間膜動脈輪走平滑筋の静止膜電位は $-61.8 \pm 0.4 \text{ mV}$ だった ($n=148$)。輪走平滑筋は無刺激時には電氣的に静止状態だった。単パルス電気刺激を血管標本に加えたところ、輪走平滑筋に過分極が引き起こされた。20 Hz の多パルス電気刺激 (2~20 回) によって、刺激頻度に応じて過分極の振幅が徐々に増強した。この過分極反応は、テトロドトキシンおよびグアネシジンによって阻害された。これは、過分極が交感神経

の活性化によって生じたものであることを示している。また、内皮を除去したところ、経壁電気刺激（EFS）によって引き起こされる過分極は生じなくなり、いくつかの標本では、小さな脱分極が記録された。なお、内皮の除去は静止膜電位には影響しなかった。また、EFS 性過分極における一酸化窒素（NO）とプロスタノイドの関与を調べた。NO 合成酵素の阻害薬である L-NAME、シクロオキシゲナーゼ阻害薬であるインドメタシンともに、EFS 性過分極に影響しなかった。

非選択的 P2 受容体アンタゴニストであるスラミンによって、この非アドレナリン非コリン性（NANC）過分極は消失した。分子構造とシグナル伝達機構によって、P2 受容体は P2X 受容体と P2Y 受容体の 2 種類に大別できる。本研究で記録されたプリン性過分極はゆっくりとしたものだったので、ATP は P2Y 受容体を介して反応したと考えられる。この仮説は、1) 特異的な P2Y 受容体アンタゴニストである CBF3GA によって NANC 過分極が抑制された、2) P2Y 受容体アゴニストの 2-MeSATP (1 μ M) の投与によって、ゆっくりとした過分極が生じた、3) 2-MeSATP による P2Y 受容体の脱感作によって過分極が消失、または、小さな脱分極が生じた、4) カリウムチャネル阻害薬であるアパミンやカリブトキシシンによって過分極が抑制された、5) 特異的な P2Y₁ 受容体のアンタゴニストである MRS 2179 や A3P5PS によって、過分極が消失、または、小さな脱分極に転じた結果などによって支持される。

本研究結果は、ニワトリ前腸間膜動脈のプリン作動性神経終末から放出された ATP が内皮細胞まで拡散し、P2Y₁ 受容体に作用して内皮依存性因子を産生・放出させる。次いで、この因子が輪走平滑筋細胞まで拡散し、膜の過分極を惹起したことを示している。以上の知見から、ATP はニワトリ前腸間膜動脈における血管抵抗性の局所調節において重要な生理的役割を果たしていることが示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、ニワトリの循環動態を解明することを目的に、特に前腸間膜動脈輪走平滑筋を支配するプリン作動性神経と血管内皮細胞の相互作用について、電気生理学的・薬理的検討を行なったものである。

(一) 神経刺激に応じて、輪走平滑筋細胞から非アドレナリン非コリン作動性(NANC)過分極電位が導出されることを明らかにした。この NANC 過分極は、非選択的プリン受容体(P2)拮抗薬により遮断されることより交感神経の終末から遊離した伝達物質 ATP に起因してい

ると考えた。また、血管内皮細胞を除去した動脈標本では、神経刺激によって誘発される平滑筋細胞膜の過分極は発生しないことから内皮細胞を介した NANC 過分極であると推論した。

(二) 1) 特異的な P2Y 受容体拮抗薬であるシバクロン・ブルー-F3GA によって、NANC 過分極が抑制された。2) P2Y 受容体作動薬の 2-MeSATP の投与によって、NANC 過分極と似た時間経過の過分極が生じた。3) 2-MeSATP による P2Y 受容体の脱感作によって、過分極が消失した。4) カリウムチャネル阻害薬であるアパミンやカリブトキシシンによって、過分極が抑制された。5) 特異的な P2Y₁ 受容体の拮抗薬である MRS 2179 や A3P5PS によって、過分極が消失した。これらの結果から、ニワトリ前腸間膜動脈においては、プリン作動性神経終末から遊離した ATP が、内皮細胞に存在する P2Y 受容体を介して過分極因子を産生・放出させ、輪走平滑筋に NANC 過分極を誘発したと結論した。これは、哺乳動物などの動脈輪走平滑筋における神経性 ATP の作用機序とされる P2X 受容体を介して興奮性接合部電位を発生させることと対照的であり、極めて興味深い発見といえる。

本研究結果から、ニワトリ前腸間膜動脈の輪走平滑筋細胞がプリン作動性神経と血管内皮細胞の相互作用による影響を受けていることを明らかにした。本研究による新発見は、今後の抵抗血管における血流調節に関する研究に不可欠な基盤となるはずである。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

題 目 : Neurally released ATP mediates endothelium-dependent hyperpolarization in the circular smooth muscle cells of chicken anterior mesenteric artery

著 者 名 : Draid, M., Shiina, T., El-Mahmoudy, A., Boudaka, A., Shimizu, Y. and Takewaki, T.

学術雑誌名 : British Journal of Pharmacology

巻・号・頁・発行年 : 146(7): 983-989, 2005