

39. ラット大脳動脈における張力活性化型, 細胞内 Ca^{2+} 感受性, 非特異的陽イオンチャンネル

九州大学・医・生体情報薬理¹

Department of Pharmacology, College of Medicine, University of Vermont, USA²

森田 浩光^{1,2}, 本田 啓², 伊東 祐之¹, Mark T. Nelson², Joseph E. Brayden²

血管や膀胱などの内臓器を構成する平滑筋細胞において, 張力活性化型非特異的陽イオンチャンネルの報告があるが, その分子実体は未だ解明されていない. そこで, 我々はその実体を解明すべく, ラット大脳動脈より平滑筋細胞を単離し, パッチクランプ法を用い, 陰圧により活性化されるイオンチャンネルについて検討した. Cell-attached mode で, 単離したラット大脳動脈平滑筋に suction tube より 20mmHg 以上の陰圧を加えると, 20~25 pS の Na^+ 及び Cs^+ 透過性の陽イオン電流が活性化された. この張力感受性のイオンチャンネルは inside-out mode では活性化されなかった. しかし, 細胞内からの Ca^{2+} (>1 mM) の投与により同コンダクタンスの陽イオンチャンネルが活性化された. このチャンネルは, 細胞内からの Gd^{3+} (100 μM), DIDS (100 μM) の投与により完全に抑制されたが, La^{3+} (100 μM), ruthenium red (30 μM) または NPPB (50 μM) では抑制されなかった. また, 同様の非特異的陽イオンチャンネルが HEK293 細胞でも観察された. 非特異的陽イオンチャンネルの一つである TRP チャンネルには, 浸透圧感受性チャンネルを含む機械刺激感受性のチャンネルが含まれることから, 我々は RT-PCR 法を用い, 約 25 pS の TRP チャンネルを検索した. その結果, 細胞内 Ca^{2+} 感受性の TRPM4 チャンネルが両細胞に共通して発現していることが明らかになった. そこで, TRPM4B チャンネルを過剰発現し, その性質を調べると上記のチャンネルと類似した性質を有するチャンネルが活性化され, また, 未発現の HEK 細胞に比して開口確率の顕著な増加が観察された. これらの実験結果は, 大脳動脈平滑筋において TRPM4 が張力活性化型非特異的陽イオンチャンネルとして血管の筋緊張維持に重要な役割を果たしていることを強く示唆する.

40. モルモット回腸平滑筋のムスカリン作動性非選択的陽イオンチャンネルの活性化におけるホスホリパーゼ C の関与について

岐阜大学・農・獣医薬理

小森 成一, 岡本 寛之, 有馬 大輔, 海野 年弘, 松山 勇人

平滑筋には, 受容体アゴニストで活性化される非選択的陽イオンチャンネルが存在する. マウス胃やウサギ門脈では, ホスホリパーゼ C (PLC) あるいはその下流のジアシルグリセロール (DAG) が同イオンチャンネル電流 (Icat) の誘発に関与している, と示唆されている. 本研究では, モルモット回腸縦走筋のムスカリン作動性 Icat を対象に PLC および DAG の関与について検討した. Icat はカルバコール (CCh) で誘発し, パッチクランプ法を用いて記録した. 一部の実験では, Gq 蛋白質/PLC 系を介して発生することが知られている Ca^{2+} 活性化 K 電流を同アゴニストで誘発した. <結果> (1) PLC 阻害薬 (U73122) は, CCh 濃度-Icat 反応曲線の最大反応を濃度依存性に抑制し, その 50% 抑制濃度は 0.12 μM であった. この値は報告されている PLC 活性 50% 阻害濃度の約 1/10 であった. (2) 同阻害薬は, $\text{GTP}\gamma\text{S}$ により受容体非依存性に誘発した Icat も著しく抑制した. (3) U73122 の不活性型類似体 (U73343) は CCh 濃度-Icat 反応曲線の最大反応を抑制しなかった. (4) DAG の膜透過型類似体である OAG は, それ自身で Icat を誘発せず, また, CCh 誘発 Icat に有意な影響を与えなかった. (5) PLC 阻害薬は Ca^{2+} 活性化 K 電流を濃度依存性に抑制し, 50% 抑制濃度は 1.2 μM であった. この値は PLC 活性 50% 阻害濃度に近似していた. 不活性型類似体は同電流を抑制しなかった.

以上の結果は, ムスカリン作動性 Icat の活性化には PLC が関与していることを示唆する. しかし, その下流の DAG は関与していないものと考えられる. また, Icat の活性化に関与する PLC は Gq 蛋白質とリンクしている PLC とは異なる可能性がある.