

O-5. マウス小腸のコリン作動性神経-平滑筋のシナプス伝達における M_2 と M_3 ムスカリン受容体サブタイプの役割

¹岐阜大学応用生物科学部獣医薬理学分野, ²岐阜大学大学院連合獣医学研究科病態獣医学連合講座, ³独立行政法人日本学術振興会, ⁴理化学研究所脳科学総合研究センター山田リサーチユニット, ⁵NIH 生物有機化学講座

松山 勇人¹, 海野 年弘^{1,2}, 坂本 貴史², 棚橋 靖行^{2,3}, 山田 真久⁴, Jurgen Wess⁵, 小森 成一^{1,2}

腸管におけるコリン作動性神経から平滑筋へのシナプス伝達を仲介するムスカリン受容体サブタイプの役割を明らかにする目的で, M_2 または M_3 サブタイプを欠損したマウスの小腸縦走平滑筋細胞から興奮性接合部電位 (EJP) を記録し, 野生型のものと比較した. 膜電位反応はガラス微小電極法を用いて記録し, 経壁電気刺激 (0.5 msec, 30V, 5 パルス, 20 Hz) により EJP を誘発した. 【結果】野生型の標本に電気刺激を加えると EJP が発生し, その平均振幅は 7.4 ± 0.5 mV ($n=18$) であった. EJP は, tetrodotoxin ($1 \mu\text{M}$), atropine ($1 \mu\text{M}$), あるいは陽イオンチャネルのブロッカーの SK&F96365 ($10 \mu\text{M}$) を処置すると消失した. 一方, physostigmine (30 nM) を処置すると EJP の振幅は 11.4 ± 1.8 mV ($n=8$) に増大した. M_2 欠損型の標本においても atropine 感受性の EJP が記録され, その振幅 (1.5 ± 0.2 mV, $n=14$) は physostigmine 適用後に増大 (3.8 ± 0.4 mV; $n=13$) したものの, 野生型の場合よりも明らかに小さかった. M_3 欠損型では, physostigmine の適用後に EJP が検出されたものの, その振幅はわずか 0.9 ± 0.2 mV ($n=18$) であった. Physostigmine 適用後における M_2 または M_3 欠損型の EJP の振幅を足し合わせても, 野生型の振幅には全く及ばなかった. M_2/M_3 両欠損型では atropine 感受性の EJP は検出されなかった. 野生型の標本に百日咳毒素 (PTX; $100 \mu\text{g}/\text{Kg}$) を処置すると, EJP の発生は著しく抑制され, その振幅は 1.4 ± 0.4 mV ($n=19$) であった. 以上の結果は, マウス小腸縦走筋におけるコリン作動性神経-平滑筋のシナプス伝達には, M_2 と M_3 それぞれのサブタイプにより仲介される経路に加えて, M_2 と M_3 の両方の刺激を必要とする経路 (M_2/M_3 経路) が関与していることを示唆している. M_2/M_3 経路は PTX 感受性 G 蛋白質を介して陽イオンチャネルを活性化し, これが EJP の発生に主要な役割を果たしていると考えられる.

O-6. アシル化グレリンおよびデスアシルグレリンのラット大腸運動に対する作用

岐阜大学大学院連合獣医学研究科獣医生理学研究室

平山 晴子, 椎名 貴彦, 志水 泰武

グレリンは, 主に胃から分泌されるペプチドホルモンであり, 成長ホルモン分泌促進や摂食亢進といった作用がよく知られている. グレリンは, 3 番目のセリン残基が脂肪酸 (n-オクタン酸) でアシル化修飾された特徴的な構造をもち, この脂肪酸修飾がその活性発現に必須であると言われている. しかし近年, 脂肪酸修飾を受けていないデスアシルグレリンもアシル化グレリンとは異なる種々の作用をもつとの報告がなされている. 我々はこれまでに, 非ペプチド性グレリン受容体アゴニストが腰仙髄部の排便中枢を活性化し, 大腸の運動性を高めることを明らかにしてきた. しかし, ペプチドであるグレリンそのものの大腸に対する効果は詳細には検討されていない. そこで本研究では, アシル化グレリンおよびデスアシルグレリンのラット大腸運動への影響を解析した.

大腿動脈に設置したカテーテルから α クロラロースとケタミンの混合液を持続注入することによりラットの麻酔状態を維持した. 結腸と肛門にカニューレを挿入後, 肛門側へ圧トランスデューサーを接続して大腸内腔の圧変化を記録するとともに, 蠕動運動により肛門側へ推送された液量を測定し, 大腸の運動性を評価した.

アシル化グレリンを血中投与した場合, 大腸運動性に変化はなかったが, 脊髓腔内 (腰仙髄部) に投与すると用量依存的に強い蠕動運動の亢進が誘発された. 一方, デスアシルグレリンの脊髓腔内への単独投与は大腸運動に影響しなかった. しかし, アシル化グレリンの投与により誘発した蠕動亢進に対し, デスアシルグレリンの脊髓腔内投与は抑制効果を示した. また, RT-PCR 法により, グレリンおよびグレリン受容体 mRNA の脊髓における発現が確認された. これらの結果より, グレリンは脊髓において産生され, 腰仙髄部の排便中枢を介して大腸運動を調節すること, その調節にはグレリンの脂肪酸修飾が関与している可能性が示唆された.