

Title	脳幹孤束核細胞におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチドおよびアドレノメディリンのカルシウムチャンネルに対する促進作用と細胞内シグナル伝達機構
Author(s)	細川, 壮平
Journal	歯科学報, 112(1): 51-53
URL	http://hdl.handle.net/10130/2686
Right	

解説(学位論文 解説)

脳幹孤束核細胞におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチドおよびアドレノメディリンのカルシウムチャネルに対する促進作用と細胞内シグナル伝達機構

Modulation of calcium channels by calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin using different signal pathways in nucleus tractus solitarius



細川 壮平
Sohei Hosokawa

東京歯科大学口腔健康臨床科学講座総合歯科 講師
略歴 2000年に東京歯科大学卒業, 2001年から同大学水道橋病院総合歯科 病院助手, 2005年より同大学口腔健康臨床科学講座 助手, 助教を経て2011年より現職

キーワード: 嚥下運動, 孤束核, シナプス伝達

Key words: Calcitonin gene-related peptide, calcium channels, nucleus tractus solitarius

(2011年10月18日受付, 2011年11月22日受理, 歯科学報 112: 51~53, 2012.)

はじめに

脳幹孤束核細胞(NTS)は顔面神経, 舌咽神経, 迷走神経などの多くの感覚神経の入力を受け, それらを統合し, 心肺機能や呼吸機能, 嚥下のリズム形成などを調節する, 自律神経機能統合中枢である^{1,2)}。しかしながら, その機能は不明な点が多い。

カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)は三叉神経感覚神経終末より放出される神経伝達物質である。侵害刺激により三叉神経感覚神経終末より放出されたCGRPがNTSの働きを調節することが推測されている^{3,4)}。

電位依存性カルシウムチャネル(VDCCs)は細胞内カルシウムイオンの濃度およびカルシウムシグナルを調節する膜タンパク質である。さらに, 電位依存性カルシウムチャネルは, 細胞内カルシウムイオン濃度だけではなく, 細胞の興奮性, 細胞の生存, 細胞の分化・増殖, 酵素活性の調節, 遺伝子発現の調節などをも司る⁵⁻⁷⁾。

CGRPをNTS領域に投与すると高血圧を発生することが報告されている^{8,9)}。従って, NTSにCGRP受容体が存在し, その興奮性を調節していることが推測される。しかしながら, その詳細は明らか

かではない。

様々な細胞におけるCGRPのVDCCsに対する作用が報告されている¹⁰⁻¹²⁾。そこで, 我々は, NTSにおけるCGRPのVDCCsに対する作用, およびその細胞内シグナル経路を調べた。CGRPと同じファミリーに属するアドレノメディリン(ADM)についても同様に検討を行った。

ラット脳幹を400ミクロンにスライスし, 酵素処理を施すことによって摘出・単離したNTSに, 全細胞膜記録法パッチクランプ法¹³⁾を適用し, 電位固定法で膜電位を -80mV に固定し, 0mV への100ミリ秒間の脱分極刺激を与えることにより, 全細胞膜を流れるカルシウムイオン電流(IBa)を記録した^{14,15)}。電位刺激はアクソン社コンピュータソフトウェア「pCLAMP ver10」で与えられ, ヘカ・エレクトロン社増幅器「L/M-EPC7」を介して細胞に与えた。イオン電流記録は20秒ごとに行った。イオン電流の解析は「pCLAMP ver10」で行った。CGRPおよびADM, 1nM から $10\mu\text{M}$ は灌流液を介して投与した。GTP結合タンパク質抗体はガラス管電極を介して細胞内に投与した。各種セカンドメッセンジャー阻害薬, カルシウムチャネル阻害薬は細胞外液に添加することにより投与した。

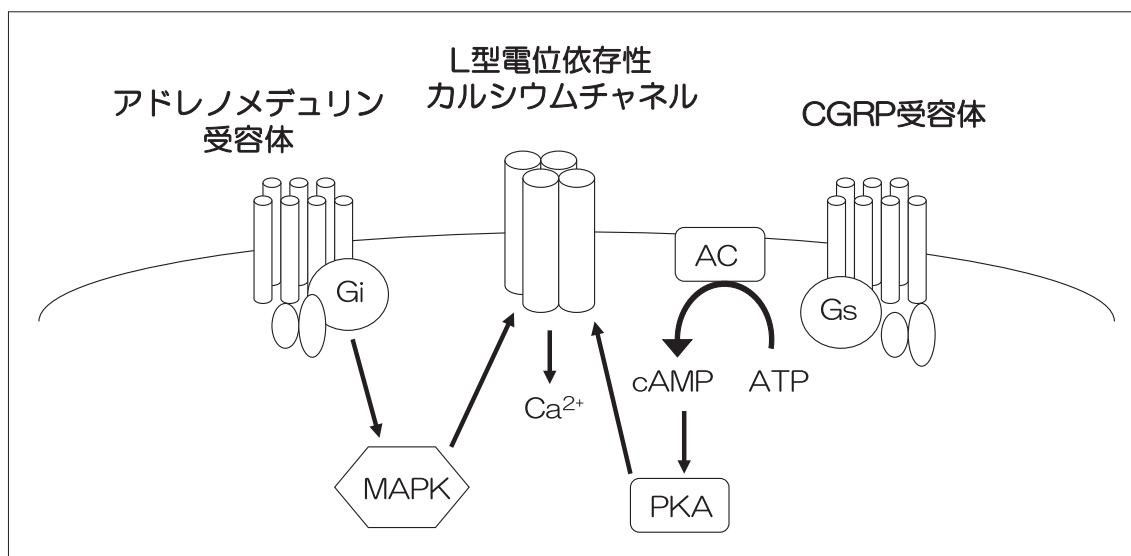


図 脳幹孤束核細胞におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチド受容体およびアドレノメディリン受容体のシグナル伝達
AC：アデニル酸シクラーゼ，PKA：タンパクキナーゼ A，MAPK：ミトゲン活性化型チロシンキナーゼ

結果と考察

CGRP および ADM は 1 nM から 10 μM の範囲で濃度依存性に IBa を促進した。脱分極刺激電位を -80 mV から 40 mV へと変化させたが，CGRP，ADM 共に，電流電圧関係に影響を及ぼさなかった。CGRP の IBa 促進作用は CGRP 受容体アンタゴニストである CGRP (8-37) の前投与によって消失した。ADM の IBa 促進作用は ADM 受容体アンタゴニストである ADM (22-52) の前投与によって消失した。CGRP の IBa 促進作用は，細胞内に GTP 結合タンパク質 αGs 抗体を投与した細胞においては減少した。ADM の IBa 促進作用は，細胞内に GTP 結合タンパク質 αGi 抗体を投与した細胞においては減少した。CGRP の IBa 促進作用は，アデニル酸シクラーゼ阻害薬 SQ22536 の前処理，および細胞内へのタンパクキナーゼ A 阻害剤 PKI (5-24) の投与によって減少した。ADM の IBa 促進作用は，ミトゲン活性化型チロシンキナーゼ阻害薬 PD 98, 059 の前処理によって減少した。CGRP および ADM の IBa 促進作用は，L 型 VDCCs 阻害薬であるニフェジピンでの前処理によって減少した。

上記の結果より，NTS においては，CGRP は Gs タンパク質→アデニル酸シクラーゼ→タンパクキナーゼ A のシグナルによって，ADM は Gi タンパク質→ミトゲン活性化型チロシンキナーゼのシグナル

によって L 型 VDCCs を促進することが明らかになった。

CGRP および ADM を NTS 領域に投与すると，高血圧症を発症する報告と低血圧症を発症するという報告がある^{4,16,17}。何故このような反対の報告があるのであろうか？

NTS 神経はグルタミン酸を放出する glutamatergic 神経と γアミノ酪酸 (GABA) を放出する GABAergic 神経に分類出来る^{18,19}。本研究で得られた結果のような，CGRP および ADM が L 型 VDCCs を促進するものは，glutamatergic 神経を脱分極させ，心臓血管作用を促進するものであろう。もし GABAergic 神経の VDCCs を促進した場合，本神経からの GABA の放出を促進し，心臓血管作用を抑制することが考えられる。また，NTS はカルシウム活性化型カリウムチャンネルを有していることも無視出来ない²⁰。このチャンネルの活性化により本神経は過分極を発現する^{21,22}。これにより，心臓血管作用が抑制されることが考えられる。

今後 NTS のネットワークおよび分子機構も含めた自律神経系の機能の詳細を明らかにしていきたい。

まとめ

ラット NTS における CGRP および ADM の VDCCs に対する効果を検討した。その結果，

CGRPはCGRP受容体と結合することにより、細胞内においてGTP結合タンパク質のGsタンパク質を介してアデニル酸シクラーゼを活性化し、生産されたサイクリックAMPがタンパクキナーゼAを活性化することにより、L型VDCCsを促進することが明らかになった。一方、ADMはADM受容体と結合することにより、GTP結合タンパク質のGiタンパク質を介してミトゲン活性化型チロシンキナーゼを活性化することにより、L型VDCCsを促進することが明らかになった。

本研究は東京歯科大学口腔科学研究センター hrc7の文部科学省ハイテクリサーチセンター事業による研究費の補助を受けた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究にご尽力下さいました東京歯科大学口腔科学研究センター hrc7 基礎研究班①の方々には深謝致します。

文 献

- Jean, A.: Brain stem control of swallowing: neuronal network and cellular mechanisms. *Physiol Rev* 81 : 929~969, 2001.
- Lawrence, A., Jarrott, B.: Neurochemical modulation of cardiovascular control in the nucleus tractus solitarius. *Prog Neurobiol* 48 : 21~53, 1996.
- Torrealba, F.: Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the nucleus tractus solitarius and the carotid receptors of the cat originates from peripheral afferents. *Neuroscience* 47 : 165~173, 1992.
- Vallejo, M., Lightman, S., Marshall, I.: Central cardiovascular effects of calcitonin gene-related peptide: interaction with noradrenalin in the nucleus tractus solitarius of rats. *Exp Brain Res* 70 : 221~224, 1988.
- Miller, R. J.: Multiple calcium channels and neuronal function. *Science* 235 : 46~52, 1987.
- Murphy, T. H., Worley, P. H., Baraban, J. M.: L-type voltage-sensitive calcium channels mediate synaptic activation of immediate early genes. *Neuron* 7 : 625~635, 1991.
- Reuter, H.: Calcium channel modulation by neurotransmitters, enzymes and drugs. *Nature* 301 : 569~574, 1983.
- Lewis, S. J., Shulkes, A., Bodsworth, B., Jarrott, B.: Regional brain concentrations of calcitonin gene-related peptide in spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. *J Hypertens* 8 : 315~319, 1990.
- Supowit, S. C., Zhao, H., DiPette, D. J.: Nerve growth factor enhances calcitonin gene-related peptide expression in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 37 : 728~732, 2001.
- Nakazawa, K., Saito, H., Matsuki, N.: Effects of calcitonin gene-related peptide (CGRP) on Ca²⁺-channel current of isolated smooth muscle cells from rat vas deferens. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 346 : 515~522, 1992.
- Ono, K., Nakajima, T., Irisawa, H., Giles, W. R.: Calcitonin gene-related peptide regulates calcium current in heart muscle. *Nature* 340 : 721~724, 1989.
- Zhang, X.-H., Li, G.-R., Bourreau, J.-P.: The effect of adrenomedullin on the L-type calcium current in myocytes from septic shock rats: signaling pathway. *Am J Physiol* 293 : H2888~H2893, 2007.
- Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B., Sigworth, F. J.: Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch* 391 : 85~100, 1981.
- Endoh, T.: Involvement of Src tyrosine kinase and mitogen-activated protein kinase in the facilitation of calcium channels in rat nucleus of the tractus solitarius by angiotensin II. *J Physiol* 568 : 851~865, 2005.
- Endoh, T.: Pharmacological characterization of inhibitory effects of postsynaptic opioid and cannabinoid receptors on calcium currents in neonatal rat nucleus tractus solitarius. *Br J Pharmacol* 147 : 391~401, 2006.
- Cui, H., Kohsaka, A., Waki, H., Gouraud, S., Nakamura, T., Yukawa, K., Hatada, A., Bhuiyan, M. E. R., Maeda, M.: Adrenomedullin 2 microinjection into the nucleus tractus solitarius elevates arterial pressure and heart rate in rats. *Auton Neurosci* 142 : 45~50, 2008.
- Ho, L. K., Chen, K., Ho, I.-C., Shen, Y.-C., Yen, D. H. T., Li, F. C. H., Lin, Y. C., Kuo, W.-K., Lou, Y. J., Yen, J. C.: Adrenomedullin enhances baroreceptor reflex response via cAMP/PKA signaling in nucleus tractus solitarius of rats. *Neuropharmacology* 55 : 729~736, 2008.
- Mifflin, S. W., Felder, R. B.: Synaptic mechanisms regulating cardiovascular afferent inputs to solitary tract nucleus. *Am J Physiol* 28 : H653~H661, 1990.
- Brooks, P. A., Glaum, S. R., Miller, R. J., Spyer, K. M.: The actions of baclofen on neurons and synaptic transmission in the nucleus tractus solitarius of the rat in vitro. *J Physiol* 457 : 115~129, 1992.
- Tell, F., Bradley, R. M.: Whole-cell analysis of ionic currents underlying the firing pattern of neurons in the gustatory zone of the nucleus tractus solitarius. *J Neurophysiol* 71 : 479~492, 1994.
- Halliwel, J. V.: Potassium channels in the central nervous system. In potassium Channels. Structure, Classification, Function and Therapeutic Potential, ed. Cook NS, pp. 348~381, Wiley, New York, 1990.
- Hille, B.: Ion Channels of Excitable Membrane. 3rd edn. Sinauer Associates Sunderland MA USA 2001.

本論文は、下記学位論文の内容を解説した。

Calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin-induced facilitation of calcium current by different signal pathways in nucleus tractus solitarius. Hosokawa, S., Endoh, T., Shibukawa, Y., Tsumura, M., Ichikawa, H., Tazaki, M., Furusawa, M. *Brain Res* 1327 : 47~55, 2010.

別刷請求先：〒101-0061 東京都千代田区三崎町2-9-18
東京歯科大学口腔健康臨床科学講座総合歯科学分野
細川壮平