

学位研究紹介

Neuropeptide Yによる頸静脈収縮動態と その受容体サブタイプについて Effect of neuropeptide Y and its receptor subtype in common jugular vein

¹⁾ 新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻
顎顔面再建学講座 歯科侵襲管理学分野
²⁾ 新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞医学専攻
遺伝子制御・シグナル伝達講座 薬理学分野
弦巻 立^{1) 2)}

¹⁾ Division of Dental Anesthesiology, Department of Tissue
Regeneration and Reconstruction, Course for Oral Life Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
²⁾ Division of Pharmacology, Department of Molecular Genetics
and Signal Transduction Research, Course for Molecular and
Cellular Medicine, Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences
Tatsuru Tsurumaki^{1) 2)}

背景および目的

ニューロペプチド Y (NPY) は36アミノ酸残基からなる神経ペプチドであり、生体内に広く分布し、中枢、末梢で多様な働きを担っている。心血管系では、交感神経終末に存在しNPY単独もしくはノルアドレナリンとの相乗作用によって血管収縮を起こすことが知られている。しかし、NPYの心血管系に対する作用は、動物種、血管部位により異なる。ラット、ヒト間でNPYペプチド構造は100%同一であるが、ラット頸静脈はノルアドレナリン刺激によって血管収縮を起こさないという特異な性質を持つ。現在までラット頸静脈におけるNPYによる収縮反応について詳細な検討はなされていない。また、NPYは現在ヒト、ラットにおいてY₁、Y₂、Y₃、Y₄、Y₅の少なくとも5種類のレセプターサブタイプが働いていることが知られ、このうち、Y₁もしくはY₂が血管収縮に関わっていることが示唆されているが、動物種、血管部位により関与しているレセプターの種類は未だ明らかでない。

そこで本研究ではラット頸静脈でのNPYによる血管収縮反応とその脱感作現象の有無、および、この反応に関与しているレセプターサブタイプについて検討を行った。

研究方法

1. 血管収縮の測定方法

ウイスター系雄性ラットの総頸動脈、総頸静脈を用い幅3~5mmのリング標本とした。標本は95% O₂, 5% CO₂で通気したpH7.4, 37°Cに保ったKrebs-Henseleit溶液を満たした5mlマグヌス管内に懸垂し、等尺性収縮を記録した。静脈では静止張力を0.2gとし、動脈では2gとした。静止張力が安定したのを確認後、124mM-K⁺ Krebs-Henseleit溶液にて、30分おきに4回血管を収縮させて収縮の安定をはかった。目的とする薬物はこの124mM-K⁺溶液での4回目の収縮を得た30分後に収縮が弛緩し、安定したのを確認した後に投与した。なお、4回目の124mM-K⁺ Krebs-Henseleit溶液による血管収縮をコントロールとした。

2. RT-PCRによる、NPYレセプターの検出

総頸静脈標本からTrizol試薬 (GIBCO-BRL Life Technologies, Rockville, MD, U.S.A.) を用いてRNAを抽出した後、RNA中のNPYレセプターを検出するため、RT-PCRを、Access RT-PCR system Kit (Promega, Madison, MI, U.S.A.) と、サーマルサイクラーGenAmp PCR System9700 (Perkin-Elmer, Branchburg, NJ, U.S.A.) を用いて行った。

結 果

総頸静脈リング標本では、30nMのNPY投与によりコントロール (124mM K⁺収縮) の20.4±2.8%の収縮反応が得られ、1 μMのフェニレフリン投与によりコントロールの-0.8±0.3%の弛緩反応を認めた (図1 a)。総頸動脈リング標本では30nMのNPY投与により収縮、弛緩いずれも認めなかった (検出外)。しかし、1 μMのフェニレフリン投与によりコントロールの146.9±11.8%の著しい収縮反応を認めた (図1 b)。NPY濃度反応曲線を図2に示した。図に示すように収縮反応はNPY濃度依存的に増大し、30nMのNPY投与により最大値に達した。なおグラフから求めた50%反応量は9.1nMであった。

RT-PCRを用いてNPYレセプターサブタイプのmRNAを増幅したところ、図3の上段に示すように、総頸静脈、および脳から抽出したRNAからNPY-Y₁レセプターのバンドが検出された。Y₂、Y₅レセプターサブタイプについては脳で発現が検出されたが、総頸静脈では発現を検出できなかった。

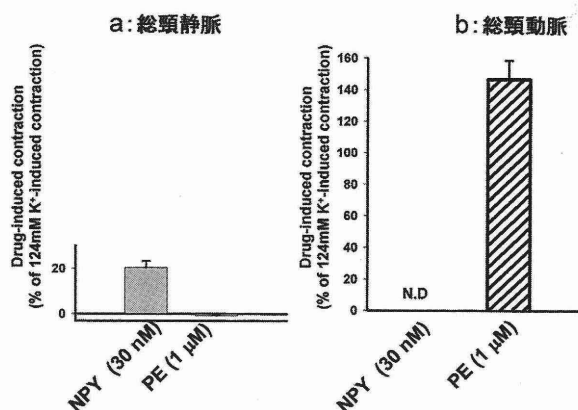


図1 NPYおよびphenylephrine (PE) 収縮
 a: 総頸静脈におけるNPY (30 nM) とPE (1 μM) 投与による収縮反応
 b: 総頸静脈におけるNPY (30 nM) とPE (1 μM) 投与による収縮反応
 NPYによる頸動脈の収縮は認めなかった。

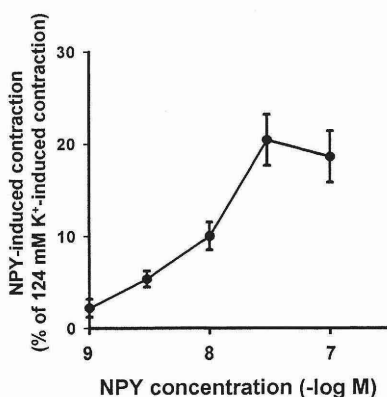


図2 NPY濃度反応曲線
 各濃度で124 mMカリウムイオン溶液による収縮の% (平均±標準誤差) で表している。

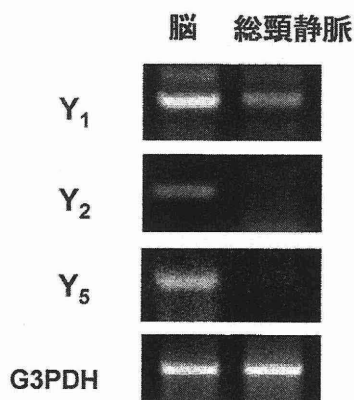


図3 RT-PCRによるNPY受容体の検出
 総頸静脈から抽出したRNAからはY₁受容体のバンドのみが検出された。解糖系酵素G3PDH mRNAはコントロールとして示した。

考 察

現在、さまざまな内在性血管作用物質が知られているが、動物種、血管部位などにより作用がさまざまであり、NPYの血管に対する作用についても、未だ不明な点が多い。

ラット頸静脈は、モルモットやウサギの頸静脈と大きく異なり、ヒスタミンで血管収縮を起こさず、セロトニンで比較的強い収縮を起こす血管である。さらに、ノルアドレナリンで収縮を起こさないという点で末梢血管としては薬理的に極めて特異な性質を示すことが知られている。ラット頸静脈で交感神経伝達物質のノルアドレナリンで収縮を起こさないということは、主にNPYが交感神経興奮時に血管収縮に働いている可能性がある。

ラット総頸静脈を用いた本研究で、NPYの単独投与による著しい収縮が明らかになり、交感神経興奮時に総頸静脈血管収縮に関わる主な神経伝達物質はNPYである可能性が明らかになった。また、総頸動脈と総頸静脈でのNPYによる収縮反応を比較検討すると、NPYは動脈血管収縮よりも、静脈系を収縮著しくさせることが明らかになった。このNPYの特徴的な静脈系の収縮作用の生理的意味については、現在全身静脈系について検討している。

本実験で得られた濃度反応曲線から求めた50%反応量は、9.1nMであったが、これは、Y₁レセプターを介してNPYによる収縮を起こしているとされるラット冠動脈の8.5nM¹³⁾と非常に近い濃度であり、ラット総頸静脈ではY₁レセプターの関与が推定された。さらに総頸静脈からRNAを抽出し、RT-PCRを行った結果、Y₁レセプターmRNAを検出した。Y₁以外のレセプターの血管収縮への関与も考えられるが、本研究ではY₂、Y₅レセプターのmRNA発現は認めず、選択的Y₁アンタゴニストが強くNPYによる血管収縮反応を阻害するので(データ未発表)ラット総頸静脈では主にY₁レセプターは存在し、Y₁レセプターを介してNPY血管収縮がおきると考えられる。

結 語

今回の研究でラット頸静脈における著しいNPYの血管収縮作用が明らかとなった。また、これらの収縮反応に関わるNPYレセプターサブタイプはY₁であると考えられる。

今後、静脈系のNPY受容体を介するNPY血管収縮反応の分子メカニズムの解明が交感神経の血管支配の新しい局面を切り開いていくと考えられる。