報告書(体育研究所プロジェクト研究)

## 小胞性モノアミントランスポーターを指標にした化学受容細胞分類の試み

## Classification of arterial chemoreceptor cells using immunoreactivity of vesicular monoamine transporter

羽 田 克 彦\*, 山 本 欣 郎\*\*, 日下部 辰三\*

Katsuhiko HATA\*, Yoshio YAMAMOTO\*\* and Tatsumi KUSAKABE\*

小胞性モノアミントランスポーター(Vesicular Monoamine Transporter:VMAT)は、小胞性神経伝達物質輸送体タンパク質の1つであり、モノアミン神経終末にあるシナプス小胞などに存在する。合成されたモノアミンを開口放出するために小胞内に輸送および貯蔵することに関与していると考えられている。哺乳動物では、VMATはサブタイプである VMAT1と VMAT2に分類されるトランスポーターファミリーの1つである。

これまでの報告から、ラット頸動脈小体の化学 受容細胞は、ドーパミンを分泌するチロシン水酸 化酵素(TH)陽性細胞とノルアドレナリンを分泌するドーパミン $\beta$ 水酸化酵素(DBH)陽性細胞の2種類が存在することが明らかとなっているが、本研究課題では、上記2種類の小胞性モノアミントランスポーター(VMAT1、VMAT2)を指標に、化学受容細胞に更なる詳細な分類を試みた。

材料にはWistarラットの頸動脈小体を4%パラホルムアルデヒドで固定した試料を用い、抗チロシン水酸化酵素(TH)抗体、抗ドーパミン $\beta$ 水酸化酵素(DBH)抗体、抗VMAT1抗体および抗VMAT2抗体を用いて間接蛍光抗体法を行っ

た。さらに、二重蛍光抗体法も行った。実験に先立ち、摘出したラット頚動脈小体試料を対象にRT-PCRによりmRNAの発現を調べた。

ラット頚動脈小体では、VMAT1およびVMAT2 ともにmRNAの発現が認められた(図1)。VMAT1 およびVMAT2免疫陽性反応は頚動脈小体内の化 学受容細胞に認められた。VMAT2はvaricosity (軸索瘤)を持つ神経線維にも陽性反応を示した。

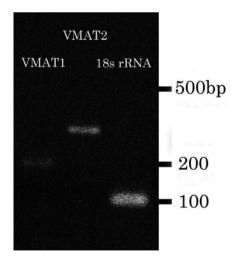


図 1. ラット 頚動脈小体の RT-PCR. VMAT1 および VMAT2にmRNA 発現が認められる

<sup>\*</sup> 国士舘大学体育学部スポーツ医科学科(Department of Sport and Medical Science, Kokushikan University)

<sup>\*\*</sup> 岩手大学農学部獣医細胞システム学

<sup>(</sup>Laboratory of Veterinary Biochemistry and Cell Biology, Faculty of Agriculture, Iwate University)

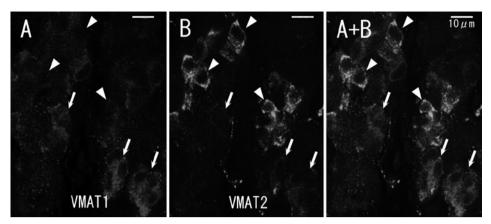


図2. ラット頚動脈におけるVMAT1(A) およびVMAT2(B) の二重蛍光像(A+B)。頚動脈小体内の化学受容細胞に VMAT1およびVMAT2陽性反応が認められる。VMAT1陽性細胞(矢印)とVMAT2陽性細胞(矢頭)は異なる 化学受容細胞を標識することが多く、VMAT2陽性反応は多数のvaricositiesを持つ神経線維にも認められる。

多くの化学受容細胞はVMAT1あるいはVMAT2のいずれかの抗体に対してのみ陽性反応を示したが、両抗体に陽性反応を示す化学受容細胞も混在していた。さらに、多くのVMAT1陽性細胞はTH陽性を、VMAT2陽性細胞はDNH陽性を示した。

これらの結果から、ラット頚動脈小体化学受容 細胞において、VMAT1はドーパミン分泌に、VMAT2はノルアドレナリン分泌に関与する可能性が示唆された。VMAT1およびVMAT2の機能的役割のメカニズムに関しては、今後さらなる詳細な検討を行う必要がある。

本研究は国士舘大学体育学部体育研究所・令和2年度研究助成ならびに、一部は公益財団法人磁気健康科学研究振興財団と日本学術振興会・令和2年度科学研究費(基盤研究C)助成により行なわれた。