

動脈系化学受容細胞における小胞性モノアミントランスポーターと P2X2 ATP受容体の二重免疫標識による解析

Double immunofluorescence analysis of vesicular monoamine transporter and P2X2 ATP receptor

羽田 克彦*, 山本 欣郎**, 日下部 辰三*

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

ラット頸動脈小体には、小胞性モノアミントランスポーター (Vesicular Monoamine Transporter: VMAT) である神経伝達物質輸送体タンパク質 (VMAT1とVMAT2) が存在することがRT-PCR法により確認され、VMAT1およびVMAT2に対する抗体を用いて間接蛍光抗体法により化学受容細胞に反応が認められることを昨年度のプロジェクト研究で報告した。さらに、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β水酸化酵素 (DBH) 陽性細胞との関連性についても共焦点レーザー顕微鏡観察し、ドーパミンとノルアドレナリン分泌に関与している可能性を示した。本研究課題では、細胞外ATPの結合と膜電位の変化を感知して活性化に関係するとされるATP受容体チャンネルP2X2に着目し、小胞性モノアミントランスポーターとP2X2受容体の二重免疫標識による解析を行い、低酸素環境下における複雑な化学受容メカニズム解明の一助になるべく計画された。

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、VMAT1

抗体、VMAT2抗体およびATP受容体 (P2X2) に対する抗体を用いて、二重蛍光標識を行い、共焦点レーザー顕微鏡で解析した。

VMAT1およびVMAT2とP2X2の二重免疫蛍光像 (図1) を観察すると、P2X2免疫反応はラット頸動脈小体内に存在する化学受容細胞を取り囲む知覚神経終末に陽性反応を示した。P2X2陽性神経終末は、化学受容細胞の中でもVMAT1陽性細胞を取り囲む傾向を示し、VMAT2陽性細胞の周囲には少なかった。複数枚の切片で観察された二重免疫蛍光像を合成して得られる三次元像では (図2)、P2X2陽性神経終末は、VMAT1陽性細胞を密着して取り囲んでいたが、一方、P2X2陽性神経終末とVMAT2陽性細胞との関係は前者に比較して密ではなかった。

ATP受容体はATPやADPなどのヌクレオチドをリガンドとする細胞膜上受容体であり、P2Xはそのファミリーの一つである。P2X2はその中でも最も広く発現する受容体で、中枢神経系および末梢神経系に特に高頻度に発現する。末梢神経系や自律神経系では、シナプス伝導を制御すると

* 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)

** 岩手大学農学部獣医細胞システム学

(Laboratory of Veterinary Biochemistry and Cell Biology, Faculty of Agriculture, Iwate University)

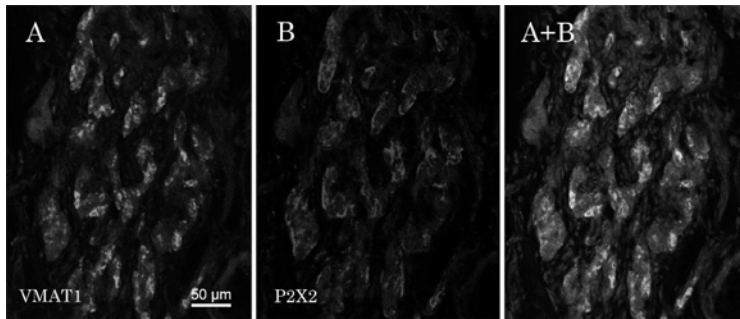


図1 ラット頸動脈小体におけるVMAT1とP2X2の二重免疫蛍光像

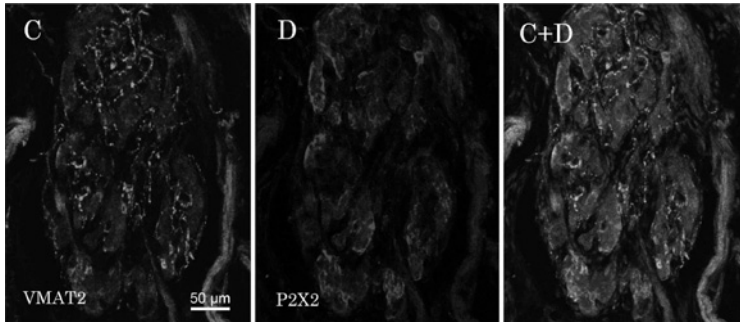


図2 ラット頸動脈小体におけるVMAT2とP2X2の二重免疫蛍光像

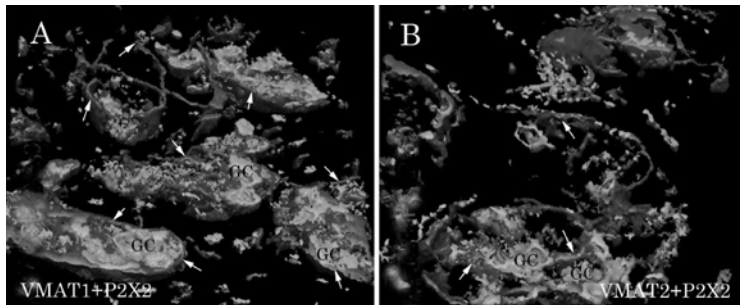


図3 ラット頸動脈小体におけるVMAT1およびVMAT2とP2X2の二重免疫蛍光像の三次元立体解析. GC：化学受容細胞、→：P2X2陽性神経終末

いう報告もある。P2X2受容体は視覚器、聴覚器および味覚器などに存在する受容体にも発現が認められ、それぞれの機能との関連が推測されている。動脈系化学受容領域では、低酸素環境下におけるP2X2受容体の換気応答との関連が示唆されているが、その生理学的メカニズムの詳細は明らかにされていない。今回の実験結果から、P2X2陽性神経終末はドーパミン分泌に関与すると推測されているVMAT1陽性化学受容細胞との密接な

関連が示唆された。ドーパミンを介した化学受容メカニズムにおけるATP受容体を介したシグナル伝達の関与が推測される。

本研究は国士舘大学体育学部体育研究所・令和3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。