



The effects of angiotensin II on ion transport in the guinea pig distal colon

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 飯田, 貴之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1094

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 241号	学位授与年月日	平成10年 3月26日
氏 名	飯 田 貴 之		
論文題目	The effects of angiotensin II on ion transport in the guinea pig distal colon (アンギオテンシンⅡのモルモット遠位大腸イオン輸送に対する作用)		

博士(医学) 飯 田 貴 之

論文題目

The effects of angiotensin II on ion transport in the guinea pig distal colon

(アンギオテンシンⅡのモルモット遠位大腸イオン輸送に対する作用)

論文内容の要旨

〔はじめに〕

アンギオテンシンⅡ(ATⅡ)は体液のホメオスターシスの維持に重要な役割を果たしている。近年、ATⅡが様々な臓器に直接作用し、全身的な作用とは別に局所における作用について報告されている。しかし、消化管の終末臓器として水電解質輸送に関与している大腸に対するATⅡの作用についてはほとんど検討されていない。そこで、今回我々はモルモット遠位大腸上皮細胞に対し、ATⅡがその電解質輸送に対しいかなる作用を及ぼしているのか検討した。

〔材料ならびに方法〕

1. モルモット遠位大腸から分離した陰窩細胞と表層上皮細胞に蛍光色素 Fura-2 を負荷し、蛍光顕微鏡にて観察し、細胞内カルシウム画像解析装置 ARGUS50 を用いて、ATⅡ投与時の細胞内カルシウムの変化を経時的に測定し、検討した。
2. Ussing 型 chamber にモルモット遠位大腸から剥離した粘膜を装着し、短絡電流(Isc)と経上皮伝導度(Gt)を経時的に測定し、遠位大腸粘膜のイオン能動輸送に対するATⅡの作用について検討した。

〔結果〕

1. 細胞内カルシウム

ATⅡを陰窩細胞に投与すると、細胞内カルシウムは急速に上昇してピークに達し、その後速やかに低下して元に戻る経過を示した。カルシウム上昇のピークの値はATⅡの濃度(10^{-10} – 10^{-6} M)に依存性を示した。EDTA 1mMを加える事により細胞外のカルシウム濃度を低い状態にしても、細胞内カルシウムの上昇に変化は認めなかった。ATⅡタイプ1受容体選択的拮抗剤(TCV11974)を前投与しておく、ATⅡによる細胞内カルシウムの上昇は抑制された。表層上皮細胞においても、これと同様の細胞内カルシウム上昇反応が認められた。

2. 短絡電流(Isc)と経上皮伝導度(Gt)

ATⅡ(10^{-10} – 10^{-6} M)の漿膜側に投与すると、Iscはマイナス側に変化し、Gtは上昇した。あらかじめブメタマイド(0.1mM)を漿膜側に投与してカリウムとクロライドの分泌を抑制した状態でATⅡを投与すると、Iscはマイナス側に変化し、Gtは低下した。これはナトリウム吸収抑制によるものと考えられた。一方、あらかじめアミロライド(0.1mM)を粘膜側に投与してナトリウム吸収を抑制した状態でATⅡを投与するとIscはマイナス側に変化し、Gtは上昇した。これはカリウム分泌亢進によるものと考えられた。これらの反応はATⅡタイプ1受容体選択的拮抗剤(TCV11974)を前投与しておく、抑制された。また、インドメサシン(10^{-6} M)を前投与しても反応に変化はみとめられなかった。

〔考察〕

ATⅡの消化管に対する作用については*in vivo*での検討はみられるが、*in vitro*上皮細胞での検討はほ

とどなされていない。この研究での結果は、ATIIが上皮細胞に直接作用し、細胞内カルシウムをセカンドメッセンジャーとして電解質分泌に寄与する事を示唆している。この研究における ATIIの反応濃度の範囲は循環血中濃度より消化管局所の濃度に一致しており、上皮細胞レベルでは全身的な作用とは別に局所において特異的に作用している可能性がある。

〔結論〕

ATIIは遠位大腸上皮細胞にタイプ1受容体を介して作用し、細胞内カルシウム濃度を上昇させることによりナトリウム吸収の抑制とカリウム分泌の亢進を生じさせると考えられた。

論文審査の結果の要旨

アンギオテンシンII受容体は心・腎・性腺・胎盤・下垂体・副腎や末梢血管・中枢神経系など多くの臓器・組織に分布している。腸管では平滑筋層と粘膜層の両方に分布していてそのサブタイプは主に AT₁であり、腸管の運動と水・イオンの吸収を調節していることが知られている。

本研究では、crypt 細胞塊を用いてアンギオテンシンII刺激時の細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 経時的変化を測定し、粘膜シートについてアンギオテンシンIIが短絡電流とコンダクタンスに与える影響を調べた。アンギオテンシンII投与によって $[Ca^{2+}]_i$ は速やかな一過性の増加を示したが、この Ca^{2+} は細胞内 Ca^{2+} 貯留区画に由来するものと思われる。アンギオテンシンIIの拮抗剤はこのような $[Ca^{2+}]_i$ の変化を阻害する。短絡電流はアンギオテンシンIIによって濃度依存的に抑制されるが、これは主としてアミロリド感受性 Na^+ チャンネルの抑制によるものと思われた。その根拠の一つは、アンギオテンシンIIによって短絡電流が抑制されたにもかかわらずコンダクタンスには大きな変化がないのにブメタニドを共存させるとコンダクタンスの著明な減少がみられるからである。

短絡電流およびコンダクタンスを指標とし、アミロリド、ブメタニドなどの特異輸送阻害剤を援用することによって、アンギオテンシンIIが大腸上皮輸送に及ぼす効果を詳細に解析した点が評価された。

以上の研究について次のような質疑を行った。

- 1) 短絡電流の正負の意味するところは何か
- 2) アンギオテンシンII受容体の拮抗剤について
- 3) fura-2負荷細胞のviability について
- 4) K^+ 輸送体の最大容量は漿膜側と粘膜側でどちらが大きいのか
- 5) アンギオテンシンII $\rightarrow [Ca^{2+}]_i \uparrow \rightarrow$ アミロリド感受性 Na^+ 取り込み $\downarrow$ のメカニズムについて
- 6) アミロリド感受性 Na^+ 取り込みのうちアンギオテンシンII感受性部分の本体について
- 7) fura-2の吸収スペクトルと励起スペクトルの関係について
- 8) ' Ca^{2+} バッファー' について
- 9) Ca チャンネルの分類とコンダクタンス変化の関係について
- 10) アンギオテンシンIIの代謝系について
- 11) 尿細管におけるアンギオテンシンII作用部位について
- 12) アンギオテンシンII受容体のサブタイプ (AT₂) の生理機能について
- 13) アンギオテンシンIIとアルドステロン合成の関係について

これらの試問に対して申請者は適切に解答し、問題点も十分理解していたので、本文は博士(医学)の学位論文としてふさわしいものであると論文審査担当者全員が一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 藤 田 道 也

副査 教授 藤 瀬 裕 副査 助教授 小 田 敏 明