

刺激-分泌連関に関する研究—器官・細胞生理学から比較・応用生理学へ 菅野 富夫 (矢内原研究所)

はじめに

1969年3月、北海道大学に着任して間もなく、獣医生理学・薬理学懇談会でセミナーの依頼を受け、Albert Einstein医大でWilliam W. Douglas教授等と共に行った副腎髄質細胞の刺激-分泌連関stimulus-secretion couplingの研究をお話した。現在では、分泌細胞に刺激が作用し分泌物が細胞外に放出されるまでの諸過程の総称として「刺激-分泌連関」が広く用いられており、分泌始動シグナルが細胞質カルシウムイオン濃度、 $[Ca^{2+}]_i$ 、の上昇であるとするDouglas教授の考えが、多くの分泌細胞に適用されている。

膵腺房細胞の刺激-分泌連関

北大に赴任後は、膵腺房細胞の刺激-分泌連関の研究を開始した。この細胞の分泌顆粒（酵素原顆粒）の開口放出を微分干渉顕微鏡映画と走査電子顕微鏡によって確認した。摘出ラット膵臓血管灌流標本を開発し、食事後の血漿濃度に相当する生理的濃度のコレシストキニン（CCK；10pM以下）を灌流液に加えて持続的に刺激すると、*in situ*の膵臓と同様に膵消化酵素・酵素原と等張性NaClの分泌が持続することを確かめた。灌流液に含まれる Ca^{2+} を除くと、分泌反応の大部分は消失した。細胞内電位記録法を適用して、 Ca^{2+} 流入と同時に起電性 Na^+ - K^+ ポンプも活性化され過分極することを示した。現在発表されている膵腺房細胞の分泌モデルの全てにおいて、基底・側面膜に Na^+ - K^+ ポンプが存在するとしている。細胞内に流入した Ca^{2+} は、酵素原果粒の開口放出の細胞内シグナルとなると同時に、ミトコンドリアの電子伝達系の回転速度を促進するシグナルにもなることを、走査型器官分光光度計によるチトクロームの酸化還元位の記録によって証明した。このようにして産生されたATPは、 Na^+ - K^+ ポンプ活動に必要なエネルギーを供給し、食後数時間も続く膵外分泌活動を維持する。

$[Ca^{2+}]_i$ 振動と分泌

fura-2やindo-1などの Ca^{2+} 感受性蛍光色素を細胞内に取り込ませて、蛍光強度の変化から $[Ca^{2+}]_i$ 動態を連続的に測定する技術が急速に発達し、膵腺房細胞にも応用した。顕微画像解析装置を用い、遊離腺房標本を生理的濃度のCCKで持続刺激し、 $[Ca^{2+}]_i$ を連続的に測定してみると、腺房細胞それぞれの Ca^{2+} スパイク群が一見非同調性のように見えた。共焦点顕微画像解析装置を用い、厚さ2 μ mの光学的細胞断面の $[Ca^{2+}]_i$ 変動を連続的に記録して分析してみると、生理的濃度のCCK刺激後、最初に Ca^{2+} スパイク群を発生する腺房細胞（先

導細胞）が腺房にあり、その細胞に隣接する腺房細胞に約20s遅れて Ca^{2+} スパイク群が伝播することがわかった。イノシトール1,4,5-三リン酸、その受容体（小胞体）と $[Ca^{2+}]_i$ との相互作用が Ca^{2+} スパイク群の繰り返し発生を始動し、細胞間の伝播にも関与していると考えている。

パラニューロンの刺激-分泌連関

ニューロンと共通する特性を有する受容器・分泌細胞群をパラニューロンと呼んでいる。その一員、膵島B細胞は、種々の刺激によって、インスリンを分泌するが、血漿ぶどう糖濃度の上昇が生理的に最も重要な刺激である。細胞内に取り込まれたぶどう糖から、ATPが作られ、ATP感受性カリウムチャンネルが閉じ、脱分極依存性のカルシウムチャンネルが開いて細胞外から Ca^{2+} が細胞内に流入すると理解されている。共焦点顕微画像解析装置によって $[Ca^{2+}]_i$ 動態を解析してみると、ぶどう糖によって引き起こされた活動電位と対応する $[Ca^{2+}]_i$ 動態が記録された。温度を下げると、アミノ酸同時投与時と類似の緩やかな $[Ca^{2+}]_i$ 振動波が観察された。膵腺房細胞と異なり、同じ膵島内のB細胞間ではこれらの $[Ca^{2+}]_i$ 動態はよく同調していた。B細胞は活動電位を発生する能力を有しており、ギャップ結合を介して速やかに隣接B細胞群に広がって $[Ca^{2+}]_i$ 動態を同調させると考えている。

比較・応用生理学へ

矢内原研究所では、多彩な免疫抗体を作製している。カテコールアミンと共存している酸性蛋白質であるクロモグラニンA（CgA）の抗体によってヒトの唾液中のクロモグラニンAが測定され、ストレス反応の初期の交感神経活動期に上昇することが、豊田中央研究所との共同研究によって明らかにされた。ラットでは、CgAは顎下腺の導管顆粒細胞に含まれ、1 μ Mノルアドレナリン刺激によって開口放出され、高濃度のCgA（約1 μ M）が唾液中に分泌されてくる。この分泌反応を、ストレス反応の初期の交感神経活動の指標とすることができる。ウマのストレス反応をCgAによって測定する共同研究を中央競馬公競走馬総合研究所との間で進めている。

謝辞

上述の研究は、北海道大学獣医学部および岡崎国立共同研究機構・生理学研究所における多数の共同研究者との共同研究によって行われたものであり、共同研究者の方々に心から感謝申し上げる。