

| | |
|--------------|--|
| Title | Physiology of rat retinal pericytes : modulation of ion channel activity by serum-derived molecules |
| Author(s) | 坂上, 憲史 |
| Citation | 大阪大学, 2000, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/42773 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

| | |
|------------|--|
| 氏名 | 坂 上 憲 史 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学) |
| 学位記番号 | 第 15651 号 |
| 学位授与年月日 | 平成12年6月30日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 |
| 学位論文名 | Physiology of rat retinal pericytes : modulation of ion channel activity by serum-derived molecules (ラット網膜血管周皮細胞の生理：血清由来物質によるイオンチャンネルの変化) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 田野 保雄 (副査) 教授 倉智 嘉久 教授 不二門 尚 |

論文内容の要旨

「目的」

血管周皮細胞(ペリサイト)は、微小血管の外壁に位置する収縮機能を持った細胞である。血管内皮細胞に対するペリサイトの比率が他のいかなる臓器よりも高い網膜では、ペリサイトはとりわけ重要な細胞と考えられている。ペリサイトが毛細血管の血流を調節していること、血液網膜関門の破綻によって生じる糖尿病網膜症の初期段階でこの細胞が選択的に消失することなどが判明するにつれ、ペリサイトに対する関心は強まっている。

血液網膜関門の破綻は網膜疾患において頻繁にみられる病理学的状態にもかかわらず、血液由来物質のペリサイトに対する影響はあまり知られていない。イオンチャンネルは細胞機能において決定的な役割を果たしているという考えに基づいて、我々は網膜ペリサイトのイオンチャンネルに対する血清の影響を電気生理学的手法を用いて検討した。

「方法」

ラット網膜から摘出した微小血管上に位置するペリサイトに対してパッチクランプ法の一変法である perforated-patch 法を行い、全細胞電流を記録した。

なお、通常の記録には以下の溶液を用いた。すなわち、bathing solution (mM) : NaCl 140, KCl 3, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 0.8, Na-Hepes 10, glucose 5, Mannitol 15, pH7.4 310 mosmol l⁻¹, pipet solution (mM):KCl 50, K₂SO₄ 65, MgCl₂ 6, Na-Hepes 10, pH7.4, 280mosmol l⁻¹である。

「結果」

1) 血清による全細胞電流の変化

血清は実験に用いた全てのペリサイトにおいて内向きおよび外向きの電流を増大させ、その反応は可逆的であった。血清によって誘導された電流は、カルシウム透過性非特異的陽イオン電流と電位依存性カリウム電流、さらに一時的な脱分極を起こすクロライド電流であった。

電流の誘導に伴って、細胞膜電位は-56mV から-46mV へ10±2 mV 恒常的に減少し、さらに一時的に-30mV 近くまで脱分極した。血清によって引き起こされた脱分極は網膜ペリサイトに存在する電位依存性カルシウムチャンネルを活性化すると考えられる。

カルシウム透過性非特異的陽イオンチャンネルは血清由来物質に対するペリサイトの反応において決定的な役割を果たしていると思われた。なぜならば、クロライドとカリウムチャンネルの活性化は非特異的陽イオンチャンネルの

ブロッカーである SK&F 96365 により阻害されたからである。さらに、クロライドとカリウムチャンネルの活性化は細胞外カルシウムにも依存していた。

2) insulin-like growth factor-1 (IGF-1) の効果

血清中のどの成分がこれらの反応を担う物質であるかを検討した。

通常 of 血液中に存在する insulin-like growth factor-1 (IGF-1) も、血清と同様の影響をペリサイトのイオンチャンネルに与えた。

3) 血管平滑筋に対する血清の効果

ペリサイトと血管平滑筋細胞との間には、血清による影響に明らかな違いがあった。血清はペリサイトにおいて恒常的にイオンチャンネルを活性化したが、平滑筋細胞においては活性化しなかった。この結果は、血清由来物質がこれら二種類の細胞に影響を与える機構に根本的な違いがあることを示している。

「総括」

本研究により、IGF-1 などの血清由来物質が網膜ペリサイトの数種類のイオンチャンネルを活性化することが明らかになった。これらの変化は、血液網膜関門が破綻した状態、すなわち糖尿病網膜症などにおいてペリサイトが致命的な変化をきたす原因の一つを示しているものと思われた。

論文審査の結果の要旨

本論文は血清が網膜血管周皮細胞 (ペリサイト) に与える影響についてパッチクランプ法を用いて電気生理学的に検討したものである。血清はペリサイトの種々のイオンチャンネルに作用を及ぼすことが示された。すなわち、1) Ca^{2+} 透過性非選択的陽イオンチャンネルを活性化する、2) クロライドチャンネルを活性化する、3) 電位依存性外向きカルシウムチャンネルを活性化することである。また、ペリサイトに電位依存性カルシウムチャンネルが存在することも明らかとなった。血清によるイオンチャンネルの活性化によってペリサイトの膜電位は脱分極し、この脱分極が電位依存性カルシウムチャンネルを活性化、その結果として細胞内カルシウム濃度が上昇することも明らかとなった。この細胞内カルシウム濃度の上昇は、糖尿病網膜症におけるペリサイトの選択的消失を来す原因の 1 つである可能性が示された。これらの結果は糖尿病網膜症など血液網膜関門の破綻を来す疾患におけるペリサイトの障害のメカニズムを解明する一助となるものと考えられ、学位論文に値するものと認める。