

## 低酸素環境下の動脈系化学受容器：カルシウム結合タンパクの動態

### Arterial chemoreceptors in hypoxia : Changes in the distribution of calcium-binding protein

日下部 辰三, 林田 嘉朗\*, 竹中 敏文

Tatsumi KUSAKABE, Yoshiaki HAYASHIDA \*  
and Toshifumi TAKENAKA

哺乳動物を長期間低酸素状態に暴露すると、動脈血中の酸素、炭酸ガスおよび水素イオン濃度等の変化を感受し呼吸調節を司る器官である頸動脈小体 (Carotid body) の容積は数倍に増大し、化学受容細胞 (Type I cell, Glomus cell) は過形成を示す。化学受容細胞内の有芯小胞の大型化、細胞質突起の洞様毛細血管壁への接近、求心性および遠心性シナプスの変化等が認められ、酸素要求量の低い下等脊椎動物の化学受容細胞と極めて類似した形態学的特徴を示す。生理学的には、化学受容細胞における酸素および炭酸ガスの知覚機構を增強させ、その結果、呼吸反射の活性化が促進すると推測されている。これらの所見は、慢性低酸素状況下の頸動脈小体が動脈血中の酸素および炭酸ガスの化学受容に関する『構造-機能連関』を究明する上で極めて適した実験モデルであることを示している。

Calbindin D-28kを初めとするカルシウム結合タンパクは、細胞内カルシウムの貯蔵および輸送において重要な役割をもつタンパクとして注目されている。Calbindin D-28kは中枢および末梢神経系に出現するが、頸動脈小体においては詳細な報告は少ない。今回は、長期間暴露されたラット頸動脈小体を対象にcalbindin D-28k免疫陽性反応を検

出し、その分布をglomus cellsあるいは血管系との関連において検討し、低酸素環境下における形態学的順応の一端を解明することを目的とした。

Wistar系ラット (7週令) を低酸素下 (10% O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>, 3-4% CO<sub>2</sub>) にて12週間飼育した。これを慢性低酸素暴露群とし、正常 (大気圧) 環境下にて同期間飼育ラットをコントロール群とした。4% パラホルムアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液で灌流固定し、頸動脈小体を採取し、常法に従い16 μmの凍結切片を作成した。Hematoxylin Eosin (HE) 染色像を500倍に拡大したモニター上で頸動脈小体の長径と短径、および小体内血管の短径を組織計測し、低酸素暴露の効果を確認した。低酸素暴露したラットから血液を採取し血液ガス (PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>) およびpHを測定した (図1)。一次抗体としてcalbindin D-28k抗体を使用し、PAP法により免疫染色した。単位面積 (10<sup>4</sup> μm<sup>2</sup>) 当

	PO <sub>2</sub> (mmHg)	PCO <sub>2</sub> (mmHg)	pH
正常(大気圧)環境群	94.2±2.3	34.3±0.8	7.43±0.01
低酸素暴露群	50.5±1.6*	35.4±0.8	7.43±0.01

ラット6匹の平均値。\* 正常(大気圧)環境群に対する有意差 (p<0.05)

図1 正常 (大気圧) 環境群ラットと低酸素暴露群ラットの血液ガス組成の比較。

たりのvaricosity数を測定し (ARGUS 100)、低酸素暴露群と正常 (大気圧) 環境群で比較した。

Calbindin D-28k陽性線維はラット頸動脈小体内の化学受容細胞 (glomus cells) のおよび血管系の周囲に存在し (図2)、微細構造学的には陽性線維の終末部とglomus cellの間にはシナプス様構造が見られ、膜の肥厚ならびにglomus cell内の有芯小胞の集積も認められた。長期間 (12週間) 低酸素暴露後の肥大した頸動脈小体では、glomus cell周囲に分布するcalbindin D-28k陽性線維の密度は単位面積当り約70%減少したが、血管周囲のcalbindin D-28k陽性線維の密度には大きな変化が見られなかった (図3)。

これらの結果より、glomus cell周囲に分布する

calbindin D-28k陽性線維の減少率は、先に報告したNOS陽性線維の減少率と極めて類似していた。Nitric oxide (NO) は頸動脈小体の化学受容器機構に抑制的に働いていることから、NOSの減少に基づくNOレベルの低下により「抑制の抑制/Disinhibition」が起こっていることを既に報告し、低酸素環境下の頸動脈小体における化学受容機構はこのメカニズムにより亢進する可能性を報告して来たが、この過程におけるカルシウム結合タンパク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の平成16年度研究助成により行なわれた。

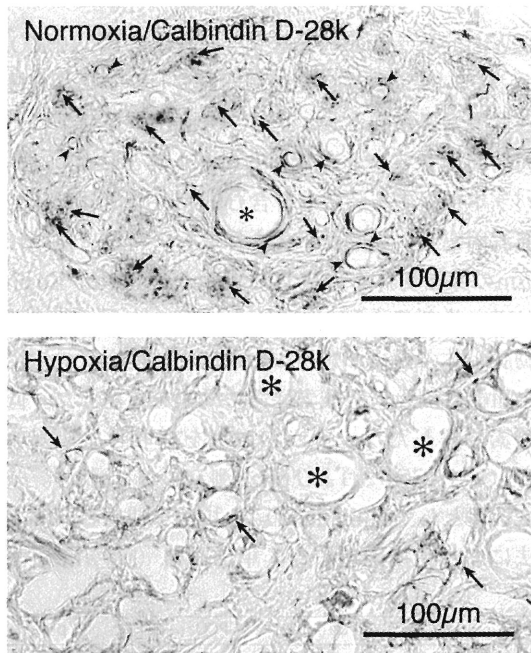


図2 正常 (大気圧) 環境群 (Normoxia) ラットおよび低酸素暴露群 (Hypoxia) ラット頸動脈小体におけるcalbindin D-28k免疫染色像。矢印はglomus cell 周囲の陽性線維を、矢頭は血管周囲の陽性線維を示す。

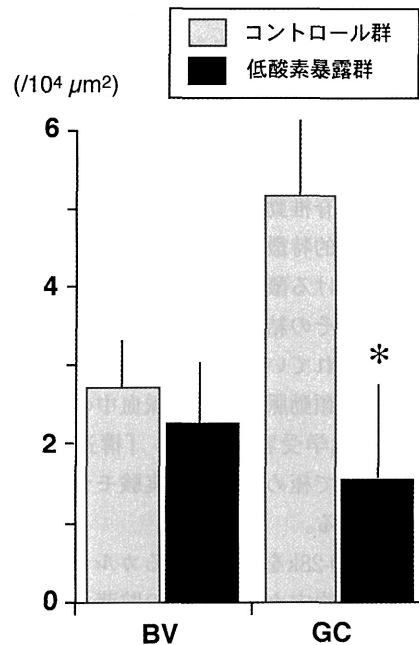


図3 正常 (大気圧) 環境群 (Normoxia) および低酸素暴露群 (Hypoxia) の頸動脈小体における血管 (BV) および化学受容細胞 (GC) 周囲のcalbindin D-28k陽性線維のvaricosity数の比較。