

虎島泰洋 論文内容の要旨

主 論 文

Presence of GABA_B receptors forming heterodimers with GABA_{B1} and GABA_{B2} subunits in the human lower esophageal sphincter.

(GABA_{B1} 及び GABA_{B2} サブユニットによる二量体を形成した GABA_B 受容体のヒト下部食道括約筋における局在)

共著者名：虎島泰洋、上園保仁、金出政人、安藤優子、円城寺昭人、兼松隆之、谷山紘太郎

J Pharmacol Sci 111, 253-259 (2009)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：兼松隆之教授)

緒 言

γ -aminobutyric acid (GABA)_B 受容体は GABA_{B1} と GABA_{B2} のサブユニットが二量体を形成する G 蛋白質共役型受容体であり、さらに GABA_{B1} には a から g の 7 個のサブタイプが存在することが知られている。GABA_B 受容体アゴニストであるバクロフェンは下部食道括約筋 (LES) の弛緩を抑制することが知られており、逆流性食道炎の治療薬として期待されている。バクロフェンの作用部位は、迷走神経背側核、求心性迷走神経、食道下部の遠心性迷走神経が考えられているが、ヒトの LES における GABA_B 受容体の局在は不明であった。そこで我々はヒト LES における GABA_B 受容体の局在についての検討を行った。

対象と方法

対象) 当院にて行われた胃癌・食道癌症例 7 例

摘出標本の腫瘍から 3 cm 以上離れた食道下部及び胃体部を採取し、粘膜層・筋層に分離し、それぞれから total RNA 及びタンパク質を抽出した。またそれぞれの部位よりパラフィン切片を作成した。

方法)

1. Western blot

筋層より抽出したタンパク質において各 GABA_B 受容体に対する抗体を用いて Western blot を行った。

2. 粘膜・筋層分離の確認

α -Smooth muscle actin (SMA) と MUC5AC に対するプライマーを用いて RT-PCR を行い、粘膜・筋層の分離が確実に出来ているか確認を行った。

3. 免疫染色
パラフィン切片において $GABA_{B1}$ 、 $GABA_{B2}$ 受容体に対する一次抗体を用いて蛍光抗体法で染色し、蛍光顕微鏡にて観察した。
4. RT-PCR
抽出した total RNA において各 $GABA_B$ サブタイプに特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行い、得られた増幅産物をヒト脳での発現と比較した。

結 果

1. Western blot
 $GABA_{B1(a)}$ 、 $GABA_{B1(b)}$ および $GABA_{B2}$ サブユニット両者がタンパク質レベルで存在する事が証明された。
2. 粘膜・筋層分離の確認
SMA は粘膜層のみ、MUC5AC が筋層層のみにみられ、粘膜・筋層の分離は確実に行われていると思われた。
3. 免疫染色
LES 及び胃体部の筋層間神経叢の同一の神経細胞内に $GABA_{B1}$ 、 $GABA_{B2}$ サブユニットが認められた。
4. RT-PCR
 $GABA_{B1}$ 、 $GABA_{B2}$ サブユニットが粘膜及び筋層ともに確認された。また $GABA_{B1}$ サブタイプは $GABA_{B1(a)}$ 、 $GABA_{B1(b)}$ 、 $GABA_{B1(c)}$ 、 $GABA_{B1(e)}$ 、 $GABA_{B1(f)}$ 、 $GABA_{B1(g)}$ がみられ、その発現パターンをヒト脳での発現と比較すると $GABA_{B1(c)}$ 、 $GABA_{B1(e)}$ 、 $GABA_{B1(f)}$ がより多く出現していた。

考 察

ヒトの LES 及び胃体部に $GABA_B$ 受容体のタンパク質と mRNA が存在することを初めて証明した。また免疫組織学的に $GABA_{B1}$ 、 $GABA_{B2}$ サブユニットが筋層間神経叢の同一神経細胞内に認められたことから、機能的な $GABA_B$ 受容体として存在し、バクロフェンが LES に直接作用し、その効果を発揮している可能性が考えられた。また、LES や胃体部における $GABA_{B1}$ サブタイプの発現パターンをヒト脳での発現と比較すると $GABA_{B1(c)}$ 、 $GABA_{B1(e)}$ 、 $GABA_{B1(f)}$ がより多く出現しており、末梢における $GABA_B$ 受容体が中枢のものとは異なった機能を担っている可能性が示唆された。これらのことから末梢に特異的に作用する $GABA_B$ 受容体作動薬の開発が逆流性食道炎の治療に結びつくことが期待されている。