

# 谷口 美和 論文内容要旨

## 主 論 文

Nitric oxide sensitivity in pulmonary artery and airway smooth muscle: a possible role for cGMP responsiveness

肺動脈と気道平滑筋での一酸化窒素感受性: cGMP 反応性が果たしている役割

谷口美和、Young Lan Kwak, Keith A. Jones, David O. Warner, William J. Perkins

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 290: L1018-L1027, 2006.

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: 澄川耕二教授)

### 緒言

一酸化窒素(NO) を気管平滑筋(TSM) に投与したときの弛緩反応は肺動脈平滑筋(PASM) より小さい。肺高血圧症の治療に使用される NO が速やかな肺血管抵抗減少を起こす場合、気道抵抗への影響はほとんど見られない。本論文は、この NO 感受性の組織間差異が細胞内伝達系の何に起因するかの研究である。

NOは soluble guanylyl cyclase (sGC)を介して cGMP を生成し、これが cGMP dependent protein kinase (cGK) を活性化して細胞内構造を動かし、平滑筋を弛緩させる。別系として、心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP) が細胞膜に存在する particulate GC (pGC)を活性化して cGMP を増やし、cGK につながる系も知られている。

以前、イヌ PASM で NO 感受性が大きく、sGC の発現と活性が高く、cGMP 生成量が多いことを報告した。今回 cGMP- cGK 系の検証のため、ANP を使って 組織内 cGMP 濃度 ( $[cGMP]_i$ ) を増加させ、組織間比較を行った。

PASMでNO感受性が高いのはcGMP反応性が大きいからで、それはcGKの発現と活性が高いためである、という仮説を検証する。

### 対象と方法

ブタを麻酔下に失血死させ、気管と肺動脈から平滑筋切片を作成した。ティッシュバスを使用した張力実験にはこの切片を用い、その他の実験には切片破碎標本を用いて、組織間比較を行った。

濃度弛緩反応曲線作成は、KClの50%最大収縮からNOドナーを投与して張力を測定した。

ANP 投与後の張力と  $[cGMP]_i$  の時間的推移は、張力を得た時点で切片を凍結し、 $[cGMP]_i$  を既製の RIA キットで測定した。

cGK の mRNA 発現量を quantitative RT-PCR 法で、蛋白量を Bradford 法で、酵素活性を ATP リン酸基の基質への移動量によって測定した。

## 結果

濃度反応曲線は PASM で有意に大きな反応を示し( $EC_{50}$ と最大値共  $p < 0.01$ )、NO 感受性差異が確認された。両組織とも NO ドナー投与後、基線までの弛緩反応が得られた。

ANP 投与後の張力と  $[cGMP]_i$  変化は、組織間差異があった。PASM は ANP 投与後 40 分かけて基線まで弛緩したが  $[cGMP]_i$  の変化は小さく、15 分の時点でかろうじて増加が捉えられた。TSM では  $[cGMP]_i$  は張力と共に動き、ANP 投与後 2 分で基線の 10 倍に上昇したが、このとき弛緩反応は 20%であった。

cGK mRNA 発現量は PASM が有意に高値であったが( $p < 0.01$ )、cGK 蛋白質量の有意差はなかった。cGMP 濃度 cGK 活性曲線で、cGMP  $EC_{50}$  の組織間有意差はなかったが、活性最高値は PASM で有意に高かった。 $(p < 0.01)$

## 考察

NO 感受性の組織間差異が確認された。TSM では NO と ANP で弛緩パターンに違いが見られた。ANP 投与時の張力と  $[cGMP]_i$  の関係と合わせ、弛緩反応制御の組織間差異が明らかになった。

TSM では sGC 由来 cGMP 反応性が高く、pGC 由来 cGMP 反応性は低い可能性があり、PASM ではこの現象はみられない。この理由を明らかにするには、関連蛋白質の細胞内分布情報が必要であろう。cGMP 生成の位置、生成されてから cGK までの距離や、cGMP を分解する phosphodiesterase(PDE) までの距離、各酵素活性も大きく影響するであろう。破碎標本では今回以上の情報は得られないため、今後の展開が期待される。

cGK の発現と活性の結果は単純ではなかった。PASM での最大活性高値は仮説を支持するが、cGK mRNA と蛋白質の結果は一致しなかった。転写後の修飾など、cGK の発現が複雑に制御されていることをうかがわせる。

cGMP 反応性の違いが、PASM と TSM の NO 感受性差異を説明する可能性があり、これには cGK 制御の組織間差異が関連している。