

総説

頸動脈小体および副腎髄質の機能組織学

横山拓矢

はじめに

哺乳動物の生存には体内への酸素供給が不可欠であり、呼吸と血液循環はその基盤となる。呼吸により大気中の酸素と体内の二酸化炭素が交換され、血中に酸素が取り込まれる。体内の血流は心拍数および血圧により適切に調節され、血中の酸素が全身の臓器へ供給される。一方で、環境変化や呼吸器疾患により血中の酸素分圧が低下すると、呼吸数を増加させて体内への酸素供給量を確保する。また、心拍数および血圧を上昇させて臓器への酸素供給の改善を図る。すなわち、低酸素状態では呼吸と血液循環によって身体の恒常性が維持されている。

頸動脈小体は血中酸素分圧の低下を検出し、呼吸数および交感神経活動を増加させる。交感神経系の活性化により副腎髄質からカテコールアミンの分泌が促進され、心血管機能が変調する。このように、頸動脈小体および副腎髄質は低酸素状態における身体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。本稿では、実験動物であるラットの頸動脈小体および副腎髄質の機能調節に関して得られた知見を紹介する。

1. 頸動脈小体の構造および機能

ラットの頸動脈小体は直径 200~300 μm の微小な器官で、内頸動脈および外頸動脈の間の頸動脈分岐部に存在している。頸動脈小体には、舌咽神経の分枝である頸動脈洞枝が分布している。実質は、酸素感受性の化学受容細胞（Ⅰ型細胞）およびグリア細胞様の支持細胞（Ⅱ型細胞）からなる細胞集団で構成されている。このうち、化学受容細胞は頸動脈洞枝の感覚神経終末と双方向性のシナプスを形成している [1]。細胞集団の周囲には毛細血管が豊富に分布し、化学受容細胞が血中酸素分圧を感知しやすい構造をとっている。

頸動脈小体内の細動脈および毛細血管には、前頸神経節に由来する交感神経節後線維が分布している [2]。

血中酸素分圧低下を検出すると化学受容細胞は脱分極し、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇後、アデノシン三リン酸 (adenosine 5'-triphosphate : ATP) を放出する [3]。ATP は感覚神経終末に発現するイオンチャネル型 P2X2, P2X3, および P2X2/P2X3 受容体に結合し、頸動脈洞枝の発火頻度を増加させる [4]。酸素分圧低下の情報が頸動脈洞枝を介して延髄の呼吸中枢へ伝えられる結果、呼吸数が増加し、交感神経系が活性化される。ATP のほか、頸動脈小体内にはドーパミン、ノルアドレナリン、グルタミン酸、セロトニン (5-hydroxytryptamine : 5HT) といった生理活性物質が含まれている [5]。このうち、ドーパミンおよびノルアドレナリンは化学受容細胞から放出され、電位依存性 Ca^{2+} チャネルを抑制し、低酸素に対する細胞興奮を自己分泌・傍分泌的に抑制していると考えられている [6, 7]。一方で、頸動脈小体におけるグルタミン酸および 5HT の動態は不明であった。そこで、頸動脈小体における神経伝達物質 ATP と P2X 受容体、グルタミン酸、および 5HT の機能的意義に焦点を当て、研究を推進した。

(1) 頸動脈小体の ATP

前述の通り、化学受容細胞-感覚神経終末の機能連関が低酸素情報伝達の要となる。しかしながら、頸動脈小体における感覚神経終末の組織分布および形態の詳細は不明であった。P2X2 および P2X3 受容体は感覚神経終末に発現することが報告されていたため [4]、抗 P2X2 および抗 P2X3 抗体を用いた間接蛍光抗体法により頸動脈小体における感覚神経終末の分布および形態を解析した結果、頸動脈小体内に広く分布

する神経終末が抗 P2X2 および抗 P2X3 陽性を示した。陽性神経終末は、蔦状あるいは平板状といった特徴的な末端部を形成して細胞集団に分布していた。細胞集団には、陽性神経終末が密に分布するもの、疎らに分布するものが存在した。頸動脈小体の化学受容細胞は、ドパミンを合成・分泌する細胞集団と、ノルアドレナリンを合成・分泌する少数の細胞集団に分けられることが指摘されていたため [8, 9]、抗 P2X3 抗体およびドパミン合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素 (tyrosine hydroxylase : TH) に対する抗体を用いて蛍光二重免疫染色を実施した結果、P2X3 陽性神経終末は薄板状の末端部を形成し、TH 陽性化学受容細胞を包み込んでいた。末端部は蔦状の線維を伸ばし、個々の陽性細胞と接していた。神経終末によっては袋状の末端部を形成し、1 個の TH 陽性細胞を完全に包み込んでいた。以上から、感覚神経終末は化学受容細胞由来の ATP を受容するために効果的な形態を示していることを明らかにした。一方で、抗 P2X3 抗体およびノルアドレナリン合成の律速酵素であるドパミン β -水酸化酵素 (dopamine β -hydroxylase : DBH) に対する抗体を用いて蛍光二重免疫染色を実施した結果、一部の化学受容細胞および血管周囲に分布する交感神経線維が DBH 陽性を示した。DBH 陽性細胞に対する P2X3 陽性神経終末の分布は疎らであったこ

とから、頸動脈小体において特定の化学受容細胞が ATP を放出している可能性を見出した [10]。

頸動脈小体の化学受容細胞には多数の分泌小胞が存在し、うち約半数の化学受容細胞は頸動脈洞枝の感覚神経終末と求心性シナプスを形成している [1]。この報告から、化学受容細胞は開口放出によって血中酸素分圧低下の情報を伝達していると考えられていた。その後、生理学的研究により頸動脈小体に存在する ATP が興奮性神経伝達物質として機能することが判明したものの [4]、ATP の開口放出に関わる分子は特定されていなかった。小胞型ヌクレオチドトランスポーター (vesicular nucleotide transporter : VNUT) は、分泌小胞へ ATP を能動輸送する [11]。VNUT は、副腎髄質クロム親和性細胞の有芯小胞、膵 β 細胞のインスリン顆粒、および血小板の濃染顆粒といった、神経細胞・内分泌細胞において高濃度の ATP を蓄積する分泌小胞膜に発現している [11-13]。したがって、VNUT は ATP を開口放出する頸動脈小体の化学受容細胞に発現していると予想した。RT-PCR 法の結果、頸動脈小体の抽出産物において VNUT mRNA の発現が認められた。抗 VNUT 抗体を用いた免疫組織化学により、約 23% の化学受容細胞が VNUT 陽性を示した (図 1)。P2X3 陽性神経終末は、VNUT 陽性細胞を取り囲んでいたが、VNUT 陰性細胞にはほとんど

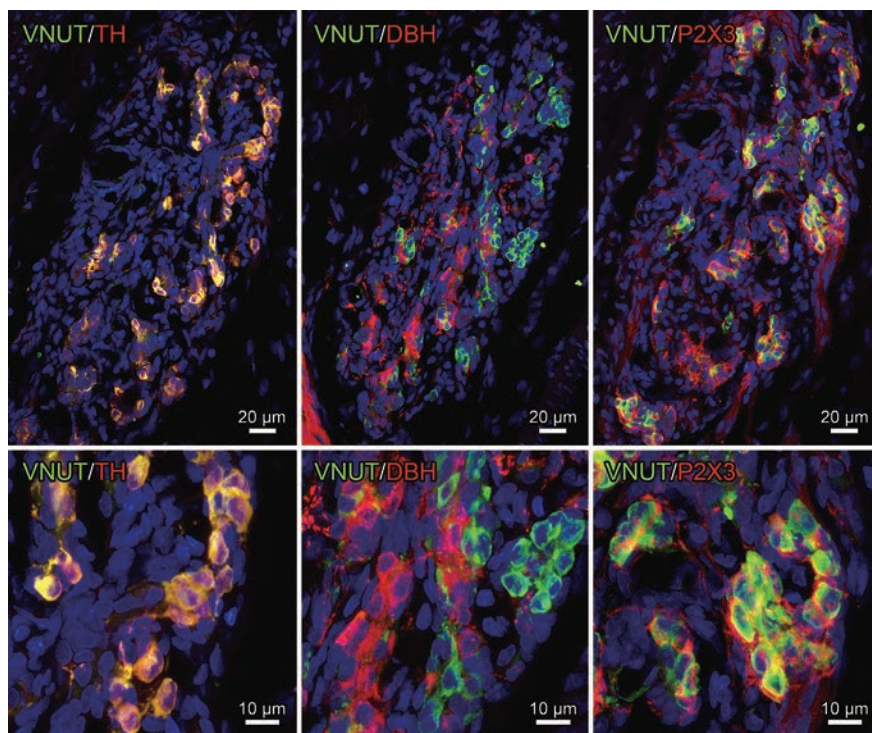


図 1 頸動脈小体の抗 VNUT 抗体および抗 TH, 抗 DBH, 抗 P2X3 抗体による蛍光二重免疫染色像

VNUT 陽性反応 (緑色) は TH 陽性化学受容細胞 (左, 赤色) に認められ、DBH 陽性化学受容細胞 (中央, 赤色) に認められない。VNUT 陽性細胞には P2X3 陽性神経終末 (右, 赤色) が分布する。細胞核を DAPI で標識している (青色)。

分布しなかった。抗 VNUT 抗体および抗 TH 抗体を用いた二重蛍光免疫染色では、すべての TH 陽性化学受容細胞が VNUT 陽性を示した。抗 VNUT 抗体および抗 DBH 抗体を用いた二重蛍光免疫染色では、DBH 陽性化学受容細胞は VNUT 陽性を示さなかった。以上から、VNUT は感覚神経支配を受ける化学受容細胞集団に局在することを明らかにした。これまで、頸動脈小体の化学受容細胞は機能的に同一な細胞集団とみなされてきたが、VNUT を有する細胞集団が選択的に ATP を開口放出し、血中酸素分圧低下の情報を伝達している可能性がある [14]。

(2) 頸動脈小体のグルタミン酸

グルタミン酸は哺乳類の中枢神経系における主要な興奮性神経伝達物質で、その受容体には代謝型とイオンチャネル型がある。イオンチャネル型グルタミン酸受容体は細胞膜上に存在し、AMPA 受容体、NMDA 受容体およびカイニン酸受容体の3種類に分類される。NMDA を頸動脈へ注入すると頸動脈洞枝の神経活動が増加する [15]。NMDA 受容体を阻害すると低酸素換気応答が抑制され、頸動脈洞枝を切断すると抑制作用が消失する [16]。以上の報告から、頸動脈小体の機能はグルタミン酸によって調節されている可能性が指摘されていた。しかしながら、頸動脈小体におけるグルタミン酸の放出部位および受容体に関する報告はなかった。

小胞型グルタミン酸トランスポーター (vesicular glutamate transporter : VGLUT) は分泌小胞膜に発現し、グルタミン酸を分泌小胞内へ輸送する [17]。VGLUT には3種類のサブタイプ (VGLUT1~3) が存在している。抗 VGLUT 抗体を用いた免疫組織化学は、中枢神経系のグルタミン酸作動性神経終末を

標識する目的で汎用されている。そこで、抗 VGLUT 抗体を用いた免疫組織化学の結果、VGLUT2 陽性反応のみ頸動脈小体に認められた。また、VGLUT2 陽性反応は P2X3 陽性神経終末内に局在した (図2)。一方で、化学受容細胞は VGLUT2 陽性を示さなかった。以上から、感覚神経終末に VGLUT2 を発現する分泌小胞が存在することが示唆され、グルタミン酸が神経終末から開口放出される可能性を見出した [18]。実際、頸動脈小体の感覚神経終末には分泌小胞が存在している [1]。中枢神経系のグルタミン酸作動性神経終末は、終末内の Ca^{2+} 上昇によってグルタミン酸を開口放出する。頸動脈小体の化学受容細胞から放出された ATP は P2X2/P2X3 受容体を介して感覚神経終末内における Ca^{2+} 上昇を引き起こすため [4]、感覚神経終末の活性化に応じてグルタミン酸が開口放出されている可能性がある。

次いで、頸動脈小体における NMDA 受容体の発現および局在を検索した。通常、NMDA 受容体は2個の GluN1 サブユニットおよび2個の GluN2 サブユニットによって構成されている [19, 20]。このうち、GluN2 はグルタミン酸結合部位を有し、4種類のサブタイプ (GluN2A~D) が存在する。RT-PCR 法により、頸動脈小体に GluN1, GluN2A および GluN2B の mRNA 発現が認められた。抗 GluN2A および抗 GluN2B 抗体を用いた免疫組織化学により、ほぼ全ての TH 陽性化学受容細胞は GluN2A および GluN2B 陽性を示し、ほとんどの DBH 陽性化学受容細胞は陰性であった。NMDA 受容体は感覚神経終末が分布する化学受容細胞に発現することが示唆された。また、GluN2A および GluN2B 陽性細胞は VGLUT2 陽性感覚神経終末と接していた。以上から、感覚神経終末から開口放出されたグルタミン酸は、化学受容細胞

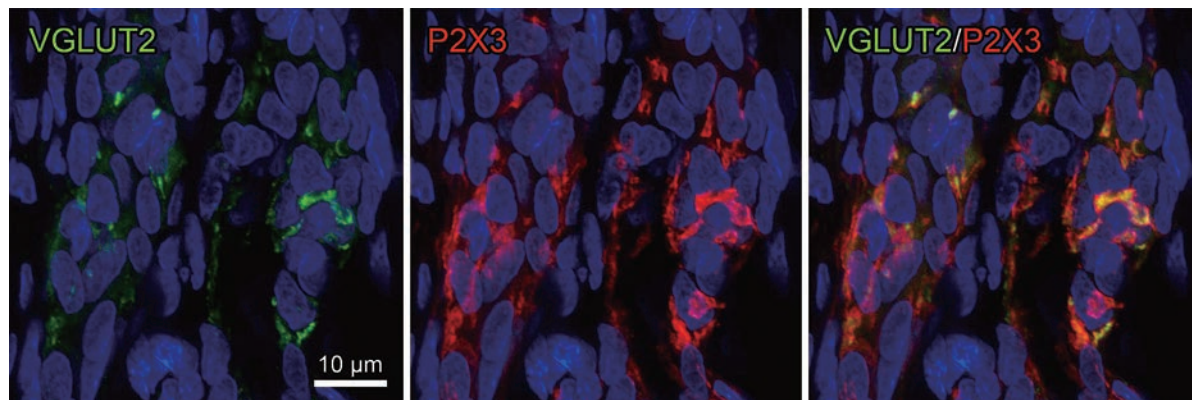


図2 頸動脈小体の抗 VGLUT2 抗体および抗 P2X3 抗体による蛍光二重免疫染色像

VGLUT2 陽性反応 (緑色) は P2X3 陽性神経終末 (赤色) に存在する。細胞核を DAPI で標識している (青色)。

胞に発現する NMDA 受容体を活性化させることが示唆された [21]。グルタミン酸が GluN2 に結合すると NMDA 受容体のイオンチャネルが開き、 Na^+ 、 K^+ 、および Ca^{2+} などの陽イオンを流入させる [22]。化学受容細胞は細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇に応じて ATP を放出するため [3]、グルタミン酸は NMDA 受容体を介して化学受容細胞の ATP 放出量を増加させ、頸動脈小体の低酸素情報伝達を間接的に増強している可能性がある。

(3) 頸動脈小体の 5HT

5HT は律速酵素であるトリプトファン水酸化酵素 (tryptophan hydroxylase : TPH) によってトリプトファンから合成される。TPH には 2 種類のアイソフォーム (TPH1~2) が存在し、TPH1 は末梢組織および松果体、TPH2 は中枢神経系に特異的に発現する [23]。細胞外の 5HT は細胞膜上に発現するセロトニントランスポーター (serotonin transporter : SERT) によって細胞内に取り込まれる。5HT を頸動脈小体に注入すると頸動脈洞枝の神経活動が増加することが報告されているものの [24]、頸動脈小体における 5HT の合成部位は不明であった。RT-PCR 法の結果、頸動脈小体に TPH1 および SERT の mRNA 発現が認められた。抗 TPH1 および抗 SERT 抗体を用いた免疫組織化学により、化学受容細胞および外来性神経線維が陽性を示した。神経線維は DBH 陽性交感神経線維であり、頸動脈小体内の血管に分布していた。以上から、頸動脈小体の化学受容細胞および交感神経線維が 5HT を合成・分泌していることが示唆された [25]。

次いで、カルシウムイメージング法により化学受容細胞に対する 5HT の作用を検討した。同法は Ca^{2+} 感受性蛍光指示薬 (Fluo-4 AM 等) を細胞へ導入し、細胞内 Ca^{2+} 濃度の変動を可視化する実験技術である。細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は神経伝達物質の放出、筋収縮といった様々な細胞機能に関わる。頸動脈小体から分離した化学受容細胞の Ca^{2+} 濃度に対する 5HT の影響を解析した結果、21% O_2 濃度の灌流液を流した正常酸素条件下において、5HT は細胞内 Ca^{2+} 濃度に影響を及ぼさなかった。一方で、1% O_2 濃度の低酸素刺激液により生じる間歇的な細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇の頻度は 5HT により増加した。この増強反応には 5HT2 受容体が介在していた。以上から、5HT は化学受容細胞の低酸素反応性を増強していることが示唆された [26]。

さらに、カルシウムイメージング法により頸動脈小体内の血管に対する 5-HT の作用を解析した。頸動脈

小体内の細動脈および毛細血管には、前頸神経節由来の交感神経節後線維が分布している。前頸神経節の電気刺激により頸動脈小体内の血流量が低下し、頸動脈洞枝の神経活動が増加することが報告されている [27]。頸動脈小体内の細動脈および毛細血管は、収縮能を有する平滑筋細胞および周皮細胞によってそれぞれ取り囲まれている。これら収縮性細胞の Ca^{2+} 濃度に対し、5HT および交感神経節後線維の神経伝達物質であるノルアドレナリンが及ぼす影響を解析した。ノルアドレナリンおよび 5HT は細動脈平滑筋および毛細血管周皮細胞の Ca^{2+} 濃度上昇をそれぞれ引き起こした。5HT による毛細血管周皮細胞の Ca^{2+} 上昇には 5HT 受容体が介在していた。以上から、ノルアドレナリンおよび 5HT は細動脈および毛細血管に対してそれぞれ収縮性に作用すること、5HT は 5HT2 受容体を介して毛細血管周皮細胞に作用することが示唆された。交感神経節後線維から分泌された 5HT は毛細血管内の局所血流を制御し、頸動脈小体の機能増強に関与している可能性を示した [28]。

以上の知見から、5HT は化学受容細胞の低酸素反応性の増強、毛細血管血流の局所調節という 2 種類の経路を介して、頸動脈小体の機能を増強していることが示唆された。

2. 副腎髄質の 5HT

副腎髄質は、主にクロム親和性細胞からなる細胞集団で構成されている。副腎髄質は発生学的に交感神経系に由来し、その節後ニューロンと同様に、クロム親和性細胞には節前線維の神経終末が分布している。低酸素状態では、神経終末から分泌されるアセチルコリン (acetylcholine : ACh) に応じて、クロム親和性細胞はアドレナリンやノルアドレナリンといったカテコールアミンを血中へ開口放出する。その結果、心拍数や血圧が上昇し、各組織への酸素供給が促進される。免疫組織化学により、ラット副腎髄質のクロム親和性細胞は 5HT 陽性および SERT 陽性を示すことが報告されている [29, 30]。SERT 欠損マウスでは、拘束ストレスに対する血漿中のアドレナリン量が対照群よりも増大することが報告されている [31]。以上の報告から、副腎髄質内の 5HT はクロム親和性細胞の機能を調節していることが指摘されていた。クロム親和性細胞における細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇はカテコールアミン放出の指標となるため [32]、ラット副腎髄質から分離したクロム親和性細胞に対する 5HT の作用をカルシウムイメージング法により検討した。

全てのクロム親和性細胞は、ACh に反応して細胞

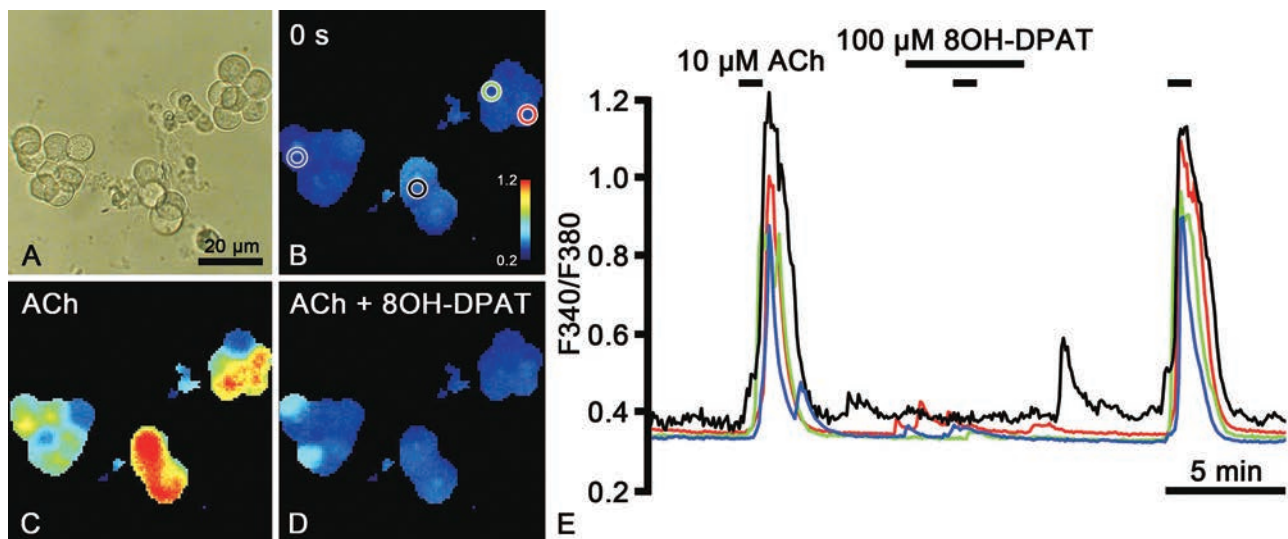


図3 副腎髄質クロム親和性細胞のAChによる細胞内Ca²⁺上昇反応に対する5HT_{1A}受容体作動薬の作用

A: 単離したクロム親和性細胞の位相差像。B-D: 蛍光変化の疑似カラー画像。細胞内Ca²⁺濃度の上昇に応じて暖色になる。E: Bで指示した細胞の色調変化を示したグラフ。AChによる細胞内Ca²⁺濃度上昇は5HT_{1A}受容体作動薬(8OH-DPAT)の存在下で抑制される。

内Ca²⁺濃度上昇を示した。65.7%の細胞において、AChにより生じる細胞内Ca²⁺上昇は5HTにより抑制された。97.3%の細胞において、AChによる細胞内Ca²⁺上昇は5HT_{1A}受容体作動薬8OH-DPATにより抑制された(図3)。一方で、5HT_{1B}、5HT₂、および5HT₃受容体作動薬はAChによる細胞内Ca²⁺上昇反応に影響を及ぼさなかった。RT-PCR法および抗5HT_{1A}抗体を用いた免疫組織化学により、クロム親和性細胞が5HT_{1A}陽性を示した。以上から、5HTはクロム親和性細胞に発現する5HT_{1A}受容体を介してAChに対する反応を抑制していることが示唆された。5HTはクロム親和性細胞の興奮を自己分泌・傍分泌的に抑制することによって、副腎髄質の内分泌機能を組織レベルで負のフィードバック調節している可能性がある[33]。

おわりに

頸動脈小体および副腎髄質の機能は、各種生理活性物質によって組織レベルで複雑に調節されていることが示唆される。これらのメカニズムは、低酸素に対する適切な心血管系の反応を制御する上で重要な役割を果たしていると考えられる。

引用文献

[1] McDonald DM, Mitchell RA: The innervations of glomus cells, ganglion cells and blood vessels in the rat carotid body: A quantitative ultrastructural analysis, *J Neurocytol*, 4, 177-230

(1975)

- [2] McDonald DM: A morphometric analysis of blood vessels and perivascular nerves in the rat carotid body, *J Neurocytol*, 12, 155-199 (1983)
- [3] Piskuric NA, Nurse CA: Expanding role of ATP as a versatile messenger at carotid and aortic body chemoreceptors, *J Physiol*, 591, 415-422 (2013)
- [4] Prasad M, Fearon IM, Zhang M, Laing M, Vollmer C, Nurse CA: Expression of P2X2 and P2X3 receptor subunits in rat carotid body afferent neurones: role in chemosensory signaling, *J Physiol*, 537, 667-677 (2001)
- [5] Nurse CA: Neurotransmission and neuromodulation in the chemosensory carotid body, *Auton Neurosci*, 120, 1-9 (2005)
- [6] Carroll JL, Boyle KM, Wasicko MJ, Sterni LM: Dopamine D2 receptor modulation of carotid body type 1 cell intracellular calcium in developing rats, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 288, L910-L916 (2005)
- [7] Almaraz L, Pérez-García MT, Gómez-Nino A, González C: Mechanisms of alpha2-adrenoceptor-mediated inhibition in rabbit carotid body, *Am J Physiol*, 272, C628-C637 (1997)
- [8] Kato K, Yamaguchi-Yamada M, Yamamoto Y: Short-term hypoxia increases tyrosine hydroxylase immunoreactivity in rat carotid

- body, *J Histochem Cytochem*, 58, 839-846 (2010)
- [9] Kato K, Yokoyama T, Yamaguchi-Yamada M, Yamamoto Y : Short-term hypoxia transiently increases dopamine β -hydroxylase immunoreactivity in glomus cells of the rat carotid body, *J Histochem Cytochem*, 61, 55-62 (2013)
- [10] Yokoyama T, Saino T, Nakamuta N, Kusakabe T, Yamamoto Y : Three-dimensional architectures of P2X2-/P2X3-immunoreactive afferent nerve terminals in the rat carotid body as revealed by confocal laser scanning microscopy, *Histochem Cell Biol*, 146, 479-488 (2016)
- [11] Sawada K, Echigo N, Juge N, Miyaji T, Otsuka M, Omote H, Yamamoto A, Moriyama Y : Identification of a vesicular nucleotide transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105, 5683-5686 (2008)
- [12] Sakamoto S, Miyaji T, Hiasa M, Ichikawa R, Uematsu A, Iwatsuki K, Shibata A, Uneyama H, Takayanagi R, Yamamoto A, Omote H, Nomura M, Moriyama Y : Impairment of vesicular ATP release affects glucose metabolism and increases insulin sensitivity, *Sci Rep*, 4, 6689 (2014)
- [13] Hiasa M, Togawa N, Miyaji T, Omote H, Yamamoto A, Moriyama Y : Essential role of vesicular nucleotide transporter in vesicular storage and release of nucleotides in platelets, *Physiol Rep*, 2, e12034 (2014)
- [14] Yokoyama T, Yamamoto Y, Hirakawa M, Kato K, Saino T : Vesicular nucleotide transporter-immunoreactive type I cells associated with P2X3-immunoreactive nerve endings in the rat carotid body, *J Comp Neurol*, 528, 1486-1501 (2020)
- [15] Liu Y, Ji ES, Xiang S, Tamisier R, Tong J, Huang J, Weiss JW : Exposure to cyclic intermittent hypoxia increases expression of functional NMDA receptors in the rat carotid body, *J Appl Physiol*, 106, 259-267 (2009)
- [16] Ohtake PJ, Torres JE, Gozal YM, Graff GR, Gozal D : NMDA receptors mediate peripheral chemoreceptor afferent input in the conscious rat, *J Appl Physiol*, 84, 853-861 (1998)
- [17] Özkan ED, Ueda T : Glutamate transport and storage in synaptic vesicles, *Jpn J Pharmacol*, 77, 1-10 (1998)
- [18] Yokoyama T, Nakamuta N, Kusakabe T, Yamamoto Y : Vesicular glutamate transporter 2-immunoreactive afferent nerve terminals in the carotid body of the rat, *Cell Tissue Res*, 358, 271-275 (2014)
- [19] Anson LC, Chen PE, Wyllie DJ, Colquhoun D, Schoepfer R : Identification of amino acid residues of the NR2A subunit that control glutamate potency in recombinant NR1/NR2A NMDA receptors, *J Neurosci*, 18, 581-589 (1998)
- [20] Laube B, Hirai H, Sturgess M, Betz H, Kuhse J : Molecular determinants of agonist discrimination by NMDA receptor subunits: analysis of the glutamate binding site on the NR2B subunit, *Neuron*, 18, 492-503 (1997)
- [21] Yokoyama T, Yamamoto Y, Hirakawa M, Saino T : GluN2A- and GluN2B-immunoreactive type I cells attached to vesicular glutamate transporter 2-immunoreactive afferent nerve terminals of the rat carotid body, *Histochem Cell Biol*, 155, 719-726 (2021)
- [22] Edmonds B, Gibb AJ, Colquhoun D : Mechanisms of activation of glutamate receptors and the time course of excitatory synaptic currents, *Annu Rev Physiol*, 57, 495-519 (1995)
- [23] Walther DJ, Bader M : A unique central tryptophan hydroxylase isoform, *Biochem Pharmacol*, 66, 1673-1680 (2003)
- [24] Nishi K : The action of 5-hydroxytryptamine on chemoreceptor discharges of the cat's carotid body, *Br J Pharmacol*, 55, 27-40 (1975)
- [25] Yokoyama T, Yamaguchi-Yamada M, Yamamoto Y : Immunohistochemical localization of tryptophan hydroxylase and serotonin transporter in the carotid body of the rat, *Histochem Cell Biol*, 140, 147-155 (2013)
- [26] Yokoyama T, Nakamuta N, Kusakabe T, Yamamoto Y : Serotonin-mediated modulation of hypoxia-induced intracellular calcium responses in glomus cells isolated from rat carotid body, *Neurosci Lett*, 597, 149-153 (2015)
- [27] Eyzaguirre C, Lewin J : The effect of sympathetic stimulation on carotid nerve activity, *J Physiol*, 159, 251-267 (1961)
- [28] Yokoyama T, Nakamuta N, Kusakabe T,

- Yamamoto Y : Sympathetic regulation of vascular tone via noradrenaline and serotonin in the rat carotid body as revealed by intracellular calcium imaging, *Brain Res*, 1596, 126-135 (2015)
- [29] Brownfield MS, Poff BC, Holzwarth MA : Ultrastructural immunocytochemical colocalization of serotonin and PNMT in adrenal medullary vesicles, *Histochemistry*, 83, 41-46 (1985)
- [30] Schroeter S, Levey AI, Blakely RD : Polarized expression of the antidepressant-sensitive serotonin transporter in epinephrine-synthesizing chromaffin cells of the rat adrenal gland, *Mol Cell Neurosci*, 9, 170-184 (1997)
- [31] Tjurmina OA, Armando I, Saavedra JM, Goldstein DS, Murphy DL : Exaggerated adrenomedullary response to immobilization in mice with targeted disruption of the serotonin transporter gene, *Endocrinology*, 143, 4520-4526 (2002)
- [32] García AG, García-De-Diego AM, Gandía L, Borges R, García-Sancho J : Calcium signaling and exocytosis in adrenal chromaffin cells, *Physiol Rev*, 86, 1093-1131 (2006)
- [33] Yokoyama T, Yamamoto Y, Saino T : Serotonin-mediated modulation of acetylcholine-induced intracellular calcium responses in chromaffin cells isolated from the rat adrenal medulla, *Neurosci Lett*, 644, 114-120 (2017)

