

氏名	よね だ たけ し 米 田 武 史
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	論医博第 1847 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Calcium handling and sarcoplasmic-reticular protein functions during heart-failure transition in ventricular myocardium from rats with hypertension (高血圧ラットの心室筋における心不全移行期のカルシウムの動態と筋小胞体蛋白機能の検討)
論文調査委員	(主査) 教授 野間昭典 教授 横出正之 教授 北 徹

論 文 内 容 の 要 旨

【テーマ】

高血圧ラットの心室筋における心不全移行期のカルシウムの動態と筋小胞体蛋白機能の検討

【背景と目的】

不全心において収縮期・拡張期ともに細胞内カルシウム動態の異常がみられる。筋小胞体は心筋細胞内でカルシウムを制御している重要な小器官であり、従来より $\text{SRCa}^{2+}\text{ATPase}$ (SERCA2) などの筋小胞体蛋白 mRNA の発現が低下することが報告されている。しかしながら不全心筋におけるこれら mRNA 発現の低下が、どのような転写調節因子によるものかははっきりとわかっていない。この研究では心不全移行の前後で、収縮力変化・細胞内カルシウム動態・カルシウムを制御する筋小胞体の蛋白量・mRNA の発現の関係を調べた。

【方法】

11週齢で代償性心肥大に、18週齢で非代償性心肥大(不全期)となるダール高血圧食塩感受性(DS)ラットを用いて以下の実験を行った。なお対照としてダール食塩低抗性(DR)ラットを用いた。左室乳頭筋を取り出し、 Ca^{2+} 感受性発光蛋白エクオリンによる細胞内カルシウムトランジェントと発生張力を同時測定した。さらに細胞外カルシウム濃度を変化させた時のカルシウムトランジェントと発生張力の変化を調べた。また心筋組織を取り出した後、筋小胞体に富んだ膜成分を分離抽出し、濾過法により筋小胞体へのカルシウムの取り込みを調べた。更にはウェスタンブロット法によりSERCA2, phospholamban, calsequestrinの蛋白レベルを、ノーザンブロット法によりSERCA2, calsequestrinのmRNAのレベルをそれぞれ定量した。

【結果】

1) 11週齢ではDRラットに比較して細胞内カルシウムトランジェントの大きさや発生張力に変化はみられなかった。一方18週齢ではDRラットに比較して、カルシウムトランジェントのピークレベルが有意に減少し(18週齢DS 0.55 ± 0.03 , DR 0.65 ± 0.08 , $p < 0.05$), ピーク到達時間も延長した。また発生張力も減少し(18週齢DS 5.5 ± 1.7 , DR 9.0 ± 4.5 , $p < 0.05$), 最大張力までの到達時間も延長した。2) 細胞外カルシウム濃度を変化させると、11週齢DS・DR, 18週齢DRラットではほぼ同じ発生張力をカルシウム濃度依存性に生じるが、18週齢DSラットでは発生張力が小さかった。3) 筋小胞体へのカルシウムの取り込みは、11週齢では差がなかったが、18週齢ではDRラットに比較して41%減少した。4) SERCA2, phospholamban, calsequestrin蛋白量は11週齢DS・DR, 18週齢DS・DRラットの4群間で差はみられなかった。5) SERCA2, calsequestrin mRNAの発現量も4群間で差はみられなかった。

【考察】

本研究において、心肥大期ではカルシウム動態の異常は生じなかったが、心不全期には筋小胞体へのカルシウム取り込み減少とともに、カルシウムトランジェントの大きさも減少していることが示された。しかし本研究では筋小胞体の蛋白量や

mRNA量は変化を認めなかったことから、心不全移行での筋小胞体のカルシウム制御は転写以降の制御機構、とりわけ蛋白質リン酸化に伴う機能蛋白の変化等により影響を受けることが想像される。またこの研究からカルシウムトランジェントを制御する機構と筋小胞体のカルシウム取り込み機能は密接な関係があり、筋小胞体のカルシウム取り込み能の減少が心不全移行とともに起こり、その結果として収縮不全を引き起こすことが実証されたと考えられる。

論文審査の結果の要旨

不全心において収縮期・拡張期ともに細胞内カルシウムの動態の異常がみられる。筋小胞体は心筋細胞内でカルシウムを制御している主要な器官であり、不全心筋ではSR Ca²⁺ATPase (SERCA2) などの筋小胞体蛋白mRNAの発現が低下することが報告されている。本研究では慢性心不全移行の前後において、収縮力変化・細胞内カルシウム動態・カルシウムを制御する筋小胞体の蛋白量・mRNAの発現の関係を検討した。11週齢で代償性心肥大に、18週齢で非代償性心肥大（不全期）に移行するダール食塩感受性高血圧（DS）ラットを用いて実験を行った。代償性心肥大期ではカルシウム動態の異常は認められなかったが、心不全期においては筋小胞体へのカルシウム取り込み能の減少とともに、カルシウムトランジェントの振幅の減少が示された。一方、心肥大期・心不全期を通して筋小胞体のカルシウム制御蛋白のmRNA・蛋白量の発現量は差はみられなかった。これらの結果からカルシウムトランジェントを制御する機構と筋小胞体のカルシウム取り込み能は密接な関係があるものの、その制御は従来緒家が報告している遺伝子発現レベルのみならず、蛋白構造の修飾などポストトランスレーションレベルにおいても行われている可能性を示した。

以上の研究は、慢性心不全発症におけるカルシウム動態異常の解明に貢献し、心筋収縮弛緩障害のメカニズムの理解に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成15年1月13日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。