

氏名	伊藤 彰子
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	論医博第1606号
学位授与の日付	平成9年3月24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	Histamine modulates three types of $K^+$ current in a human intestinal epithelial cell line (ヒスタミンにより制御されるヒト小腸上皮細胞株における3種類の $K^+$ 電流)
論文調査委員	(主査) 教授 千葉 勉 教授 野間昭典 教授 大熊 稔

### 論文内容の要旨

本研究は、小腸上皮細胞におけるカリウムチャンネル電流の、小腸分泌刺激剤であるヒスタミンに対する感受性について考察したものである。

ヒスタミン、アセチルコリン、セロトニン、Vasoactive Intestinal Polypeptide, ATP, セクレチンに対するレセプターを保持する小腸上皮細胞株 (Intestine 407) をヒト小腸クロライド分泌上皮細胞モデルとして用いて、カリウムチャンネル電流をパッチクランプ法にて、Whole-cell-modeで観察した。その結果、脱分極性コマンドパルスによって、外向き整流性カリウム電流が速やかに活性化されること、 $K^+$ の平衡電位 ( $E_K$ ) よりも陰性の過分極パルスでは、内向き整流性電流もまた速やかに活性化されることが確認された。 $Ca^{2+}$  ionophore であるイオノマイシンにより、さらに別のカリウム電流の活性化が観察された。イオノマイシンにより惹起される反応は、プロテインキナーゼCの阻害剤であるポリミキシンBや活性剤である1-oleoyl-2-acetylglycerol (OAG) によって、影響されなかった。ヒスタミン (10~200 $\mu$ M) もイオノマイシン刺激時と同様のカリウム電流の活性化をもたらし、この電流は、BAPTA (5mM) による細胞内カルシウム緩衝によって消失した。BAPTAによって細胞内カルシウム動員を最小限に抑えた条件下で、ヒスタミンは、内向き整流性カリウム電流を増加させるが、一方、外向き整流性カリウム電流は抑制することが確認された。ポリミキシンBは、このヒスタミンの両電位依存性カリウムチャンネルへの効果を阻止した。OAGは、ヒスタミンと同様に外向き整流性カリウム電流を制御し、内向き整流性カリウム電流を増大させた。

以上のことから、(1)小腸上皮細胞が2種類の電位依存性 (内向き整流性及び外向き整流性) カリウムコンダクタンスと  $Ca^{2+}$  依存性カリウムコンダクタンスを持つこと、(2)ヒスタミンは、カルシウム動員を介したカルシウム依存性カリウム電流の活性化だけでなく、プロテインキナーゼCの活性化を介して外向きおよび内向き整流性電流を相反性に調節することが結論づけられた。

種々のクロライド分泌上皮細胞において、カリウムチャンネル活性が、その分泌にとって非常に重要であることが明らかにされ、小腸上皮細胞においては、分泌刺激がカリウムコンダクタンスの活性化による過

分極をもたらすことが報告されている。また、プロテインキナーゼCの小腸分泌における役割が報告されており、プロテインキナーゼCがカリウムチャネルの調節にも関与することが推測された。本研究により、小腸上皮細胞において、H1レセプター/IP3/カルシウムの経路を介してヒスタミンにより活性化されるカリウムチャネルに加えて、H1レセプター/Diacylglycerol/プロテインキナーゼCの経路を介してそれぞれ抑制及び活性化される外向き整流性および内向き整流性カリウムチャネルが存在することが明らかになった。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、小腸上皮細胞におけるカリウムチャンネル電流の、ヒスタミンに対する感受性について検討したものである。

ヒスタミン、アセチルコリン、セロトニン、Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP)、ATPおよびセクレチンに対するレセプターを保持する小腸上皮細胞株である Intestine 407 をヒト小腸クロライド分泌上皮細胞モデルとして用いて、カリウムチャンネル電流をパッチクランプ全細胞記録法にて観察した。

Intestine 407 が、2種類の電位依存性すなわち内向き整流性及び外向き整流性カリウムコンダクタンスと、カルシウム依存性カリウムコンダクタンスを持つことが確認された。ヒスタミンは、カルシウム動員を介したカルシウム依存性カリウム電流の活性化だけでなく、プロテインキナーゼCの活性化を介して外向き整流性電流および内向き整流性電流を相反性に調節することが明らかになった。

以上の研究は、小腸分泌細胞におけるヒスタミン刺激時のカリウムコンダクタンスと細胞内調節機構との関連を検討した点に特徴があり、消化管上皮細胞における細胞内情報伝達の解明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9年3月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。