

氏名	寺島啓介
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	論医博第1935号
学位授与の日付	平成19年9月25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	Modeling Cl^- homeostasis and volume regulation of the cardiac cell (心筋細胞における Cl^- ホメオスタシスと細胞容積調節機構のモデル化に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 大森治紀 教授 渡邊大 教授 横出正之

論文内容の要旨

心筋細胞では、膜興奮性、膜イオン輸送、筋収縮、エネルギー代謝を含むコンピュータによる細胞モデルが数種類発表されているが、膜を介するイオン輸送が Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} の陽イオンに限られており、細胞容積は細胞の活動に関係なく一定として計算されている。この理由は、膜を介するイオン輸送が Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} の陽イオンに限られていたため、生理的範囲の膜分極に関わる微量のイオン量を見捨てることは、細胞内溶質総量に変化がないためである。ところが細胞膜を介した Cl^- イオンの輸送を導入すると、陽イオンに伴って陰イオンも移動し、つまり NaCl 或いは KCl が移動するため、浸透圧変化によって細胞容積が変化する。容積変化は逆にイオン濃度変化を惹起する。この複雑なシステムを包括的に解析するため、 Cl^- チャネルを心筋細胞モデルに組み込む事を試みた。心筋 Cl^- チャネルとしては、細胞容積変化に応じてコンダクタンスを変化させる Volume regulated Cl^- channel (VRCC)、 β アドレナリン刺激下で活性化される CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)、それに、 Cl^- 背景電流を加えた。さらに、 Na^+ 、 K^+ と共に Cl^- 2分子を細胞内に取り込む $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ cotransporter 1 (NKCC1)を加えた。

Na^+/K^+ pump, NKCC1, CFTR, VRCCと Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- の各背景電流と膜水透過性、膜を通過できない巨大陰イオンからなる簡易モデルを作成し、 Na^+-K^+ pump 阻害による細胞容積の増大メカニズムを解析した。ポンプを阻害すると、細胞内 K^+ が Na^+ で置き換わり、 K^+ 平衡電位の変化に伴い細胞膜は脱分極する。その結果、チャネルを介する Cl^- の移動は流出から流入へ変化し、細胞容積増大が惹起された。容積の増大によるVRCCの活性化は容積増加をさらに助長することが示された。実際の心筋細胞ではポンプを阻害しても最初の1時間余り容積変化が認められていないが、これは Cl^- および Na^+ コンダクタンスが低いためであることが予測された。実際、心筋では低浸透圧液中での細胞容積増大に続くregulatory volume decrease (RVD)は極めて小さい。次にCFTRによる Cl^- 電流を活性化すると細胞容積が減少する実験結果を検証した。平衡状態で Cl^- イオンの平衡電位(E_{Cl})が約 -40mV であるため、通常静止膜電位(-80mV 付近)でCFTR_ Cl^- チャネルが活性化すると細胞膜は 5mV 程度脱分極し、 K^+ と Cl^- イオンの流出が惹起され、細胞容積は減少した。

簡易モデルで確立した細胞容積調節機構を心筋細胞モデルに移入した。まず、実験で記録されている浸透圧—細胞容積関係を再現するため、細胞内浸透圧空間の割合を80%に再調整した。これに伴い、イオンチャネル電流密度、筋小胞体による Ca^{2+} ダイナミクスを調整したところ、細胞内外のイオン濃度や興奮時における活動電位波形は正常な振る舞いを示した。長いプラトー相を伴う心筋活動電位発生の間には、 Cl^- イオンの移動は内向であり、 Cl^- 移動の収支は活動電位の発生頻度によって変化する。これは、刺激頻度によって細胞容積が変化することを示唆するものである。細胞容積調節を組み込んだ新たな包括的心筋細胞モデルは、文献上の重要な細胞容積に関する実験結果について、そのメカニズム解析に有用なツールであると結論された。

論文審査の結果の要旨

心筋細胞では、Na/Kポンプを阻害しても1時間以上細胞は膨化しない。この機序解明のため心筋細胞モデルにCl⁻イオンの膜輸送を加えた。Cl⁻チャンネルとして、細胞容積変化に応じてコンダクタンスを変化するVolume regulated Cl⁻チャンネル (VRCC)、βアドレナリン刺激で活性化されるCFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)、それに、Cl⁻背景電流を加えた。さらに、Na⁺1、K⁺1と共にCl⁻2分子を細胞内に取り込む共輸送 (NKCC1) と細胞膜水透過性を加えて、簡易モデルを作成した。このモデルによる新たな所見として、(1) Na⁺-K⁺ pumpを阻害すると、細胞内K⁺がNa⁺で置き換わり、K⁺平衡電位の変化に伴って細胞膜が脱分極する。その結果、チャンネルを介するCl⁻の移動は流出から流入へ転じ、細胞容積は増大する。(2) Na⁺-K⁺ pumpを阻害時、容積の増大によるVRCCの活性化は容積増加を助長する。(3) 心筋でCFTR活性化Cl⁻フラックス変化を介して細胞容積を減少する、(4) 心筋細胞ではポンプをブロックしても最初の1時間余り容積変化が認められないには細胞膜Cl⁻およびNa⁺透過性が低いためである、ことが示された。

以上の研究は、心筋細胞の容積調節メカニズムの解明に貢献し、心筋の生理学に寄与するところが多い。従って、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19年8月29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。