

氏名	藍 智 彦
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2109号
学位授与の日付	平成11年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Accentuated antagonism by angiotensin II on guinea pig cardiac L-type Ca-currents enhanced by $\beta$ -adrenergic stimulation ( $\beta$ 刺激により活性化されるモルモット心筋L型カルシウム電流に対するアンギオテンシンIIの拮抗作用に関する研究) (主査)
論文調査委員	教授 米田正始 教授 今村正之 教授 篠山重威

### 論 文 内 容 の 要 旨

【序】近年、レニン・アンギオテンシン系の主役であるアンギオテンシンII (A-II) の心筋に対する作用が明らかにされてきた。特に、心不全の様な病的な心筋に対する効果について注目され、アンギオテンシン変換酵素阻害剤やアンギオテンシン1型受容体拮抗剤を用いた研究が行われている。しかしながら、現在のところA-IIの心筋収縮に対する影響については、種差があり定説はない。家兎ではPKC系を介して陽性変力作用を示すと報告されている。最近、心筋肥大モデルラット (Dahl salt-sensitive rat) で、プロテインキナーゼAの活性酵素であるフォルスコリンで発生される心筋張力をA-IIが増強し、コントロールラット (Dahl salt-sensitive rat) では、逆にA-IIが拮抗作用を持つことが報告されたが、そのメカニズムは明らかにされていない。本実験では、A-IIが直接作用を示さないモルモット心室筋を用い、アンギオテンシンIIのPKA系を介する作用について、心筋収縮力およびL型Ca電流の変化を観察し、研究を行った。

【力法】モルモット右室乳頭筋を切離し、Tyrode液灌流槽内に固定し1 Hzの電気刺激を加え発生張力を測定する。A-II (100nM) 単独、イソプロテレノール (ISO100nM) 単独、及び両者を同時に投与し、各条件時の心筋収縮力の変化を観察した。さて次に、心筋収縮にはL型Ca電流 (Ica) が深く関与しているため、Icaを心室筋細胞レベルで観察した。ランゲンドルフ法にて、モルモット心室筋細胞を単離する。全細胞型パッチ・クランプ法を用いて、-80mVに電位を保持し、-40mV (40ms) のプレパルス後、300msのテストパルスにて電流-電圧関係を求めた。

【結果】標本外に投与したA-II (100nM) 単独では、心筋収縮力に影響を与えなかったが、ISO (100nM) により心筋収縮力は約4倍に増強し、A-II (100nM) は増加分の59%を抑制した。従って、A-IIはcyclicMPを介する細胞内伝達系を抑制する事が推測された。A-IIは、無刺激時のIcaに対して有意な作用を示さなかったが、ISO (100nM)、histamine (500 nM)、forskoin (1  $\mu$ M) により増大されるIcaをそれぞれ、93.8%、85%、79%抑制した。ISO (100nM) 誘発電流のIC<sub>50</sub>は88pMであった。この作用はCV11974 (AT-1受容体拮抗薬) により阻害されるが、CGP42112A (AT-2受容体拮抗薬) はその作用を阻害しなかった。AT-1受容体はGi蛋白を介しadenylate cyclaseと共役している。この結合を脱共役する百日咳毒素 (PTX) で前処理 (36°Cで60分間以上、PTX濃度5  $\mu$ g/ml) をするとA-IIのISO誘発性電流の抑制作用は消失した。また、細胞内に電極ピペットを介して直接cAMP) を投与すると、Icaは増強するが、A-IIはこれを抑制しなかった。

【考察】モルモット心室筋において、アンギオテンシンIIは、AT-1受容体及びPTX感受性G蛋白を介して、adenylate cyclaseを阻害し、L型Ca電流を抑制することにより、交感神経刺激による陽性変力作用に拮抗作用を示すと考えられた。従来、A-IIにはPKC系を介し心筋に作用する事は知られているが、本研究により、PKA系を介する作用が有る事が明らかとなった。人不全心において、 $\beta$ 受容体の減少やGi蛋白の増加が観察されており、A-IIが心不全を助長する可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

近年、レニン・アンギオテンシン系の主役であるアンギオテンシンⅡ (A-Ⅱ) の病的心筋に対する効果が注目され、アンギオテンシン変換酵素阻害剤やアンギオテンシンⅠ型受容体拮抗剤を用いた研究が行われている。しかし、A-Ⅱの心筋収縮に対する影響については、種差があり定説はない。本実験では、モルモット心室筋を用い、A-ⅡのPKA系を介する作用について研究を行った。

A-Ⅱ単独では、心筋収縮力に影響を与えなかったが、ISO誘発性収縮力はA-Ⅱにより抑制された。心筋収縮にはL型Ca電流 (I<sub>Ca</sub>) が関与しているため、I<sub>Ca</sub>を観察した。A-Ⅱは、無刺激時のI<sub>Ca</sub>に対して作用を示さなかったが、ISO, histamine, forskolinにより増大されるI<sub>Ca</sub>を抑制した。ISO (100nM) 誘発電流のIC<sub>50</sub>は88pMであった。この作用はCV11974 (AT-1受容体拮抗薬) により阻害された。AT-1受容体はGi蛋白を介しadenylate cyclaseと共役する。これを脱共役する百日咳毒素で前処理をするとA-ⅡのISO誘発性電流の抑制作用は消失した。細胞内に直接cAMPを投与すると、I<sub>Ca</sub>は増強するが、A-Ⅱはこれを抑制しなかった。

モルモット心室筋において、A-Ⅱは、AT-1受容体及びPTX感受性G蛋白を介して、adenylate cyclaseを阻害し、L型Ca電流を抑制することにより、陽性変力作用に拮抗作用を示すと考えられた。本研究により、A-ⅡのPKA系を介する作用が解明された。

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11年2月12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。