

氏名	カ 過 シュウ ケイ 集 慶
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 1824 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 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学位論文題目	兎心臓洞房結節細胞の新たな内向き電流に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 大 森 治 紀 教 授 篠 山 重 威 教 授 野 間 昭 典

論 文 内 容 の 要 旨

心臓ペースメーカーである洞房結節細胞の自動能は拡張期に見られる細胞膜の緩徐な自動脱分極、すなわちペースメーカー電位に依存する。しかしペースメーカー電位発生のイオン機構の詳細は未だに決定されていない。本研究では酵素処理により単離したウサギ洞房結節細胞で膜電位固定実験を行い、拡張期電位で活性化する新たな持続性内向き電流を発見したので、その性質について検討し、その役割を明らかにした。洞房結節細胞で、カリウム電流と過分極活性化陽イオン電流を抑制して、 -80 mV から -60 , -50 mV に脱分極すると不活性化をほとんど示さない持続性内向き電流の活性化が観察された。テストパルスの電位を -40 mV 以上にすると、この電流に加えて L 型カルシウム電流 ($I_{\text{Ca,L}}$) の活性化が記録された。電位パルスを与えた 1 秒後の電流—電位関係では、 -70 mV から内向き電流が活性化することが判明した。その持続電流の振幅は平均で $-49.7 \pm 4.0\text{ pA}$ (-50 mV) であった。細胞内灌流による人工産物を排除するため nystatin 穿孔パッチ法を使っても同じ結果を得ることができた。以下、この低閾値持続性内向き電流を I_{st} と略称する。洞房結節から分離した細胞でも自発活動電位を示さない細胞が多くあったが、このような細胞では I_{st} は見られなかった。

I_{st} は Ca チャネル抑制剤、 $0.25\sim 1\text{ }\mu\text{M}$ nicardipine によって完全に抑制された。他に $0.2\sim 1\text{ }\mu\text{M}$ D600, 1 mM Ni^{2+} , 1 mM Co^{2+} も I_{st} を完全に抑制する。 $40\text{ }\mu\text{M}$ Ni^{2+} は 56% 程度 I_{st} を抑制する。 Mg^{2+} も I_{st} を抑制する作用を持つ ($K_d=2.2\text{ mM}$)。TTX 対して I_{st} は非感受性である。Tyrode 液中で -80 mV から -50 mV に脱分極するとパルス最初の速い内向き spike 電流 (主に Na 電流) と I_{st} が記録できるが、 $30\text{ }\mu\text{M}$ TTX を加えると最初の spike 電流は著しく小さくなったが ($37.0 \pm 3.8\%$)、 I_{st} は全く抑制を受けることはなかった ($99.6 \pm 5.8\%$)。

以上のように I_{st} は $I_{\text{Ca,L}}$ と類似している薬理学的性質を持っているが、イオン選択性が $I_{\text{Ca,L}}$ と異なる。細胞外液 Ca^{2+} イオン濃度を 0.1 , 1.8 , 5.0 mM と変化すると、 $I_{\text{Ca,L}}$ が増えるのに対して、 I_{st} は変わらないか逆に小さくなった。外液の Ca^{2+} を全て Mg^{2+} に置き換えると、 $I_{\text{Ca,L}}$ は完全に抑制されたが、 I_{st}

は残った。細胞外液 Na^+ を有機陽イオンに置き換えると、 I_{st} はなくなったのに対して、 $I_{Ca,L}$ は残った。これらの実験結果に基づき、 I_{st} チャンネルを通るイオンは生理的状态で Ca^{2+} でなく Na^+ であり、 $I_{Ca,L}$ チャンネルと異なる新たなチャンネルによると結論した。コントロール実験として、 I_{st} が無い細胞で、細胞外 Ca^{2+} が 0.1 mM に下がると、時間依存性 $I_{Ca,L}$ とウインドー $I_{Ca,L}$ 両方とも著しく小さくなり、 $I_{Ca,L}$ の Ca^{2+} 依存性を確認することができた。 I_{st} のイオン選択性については、外液 Na^+ を全て Li^+ 、 Cs^+ 、 K^+ で置換して電流を記録した実験から、 I_{st} のイオン透過性順位は $\text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{K}^+ \cong \text{Cs}^+$ であることが結論された。

$0.1 \mu\text{M}$ isoprenaline を灌流液に加えると I_{st} が2倍ぐらい増加した ($206 \pm 27\%$)。 I_{st} は拡張期緩徐脱分極に重要な膜電流であり、 β アドレナリン刺激と ACh 刺激にも制御されることから、心臓洞房結節細胞の自動性制御にも関与していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、心ペースメーカー洞房結節細胞における拡張期緩徐脱分極の背景にある内向き電流に関するものである。実験にはウサギ心より単離した洞房結節細胞を用い、パッチワークランプ法による膜電流の記録を行った。自発活動電位を示している細胞で、保持電位を -80 mV とし、脱分極パルスを与えると、活性化の閾値を -70 mV 付近に示し、不活性化の殆ど見られない内向き電流を記録することができた。この内向き電流は、テトロドトキシンで抑制されないが、ジヒドロピリジンなど Ca 拮抗薬で抑制された。しかし、L-型 Ca チャンネルと異なり、外液の Ca を除去しても電流は消失せず、逆に、外液の Na を除去すると、電流が消失することから、この内向き電流は Na イオンによって運ばれる新たな電流系によって示された。自発活動電位を示さない細胞からは、持続性内向き電流を記録することはできなかった。この電流がまさに拡張期緩徐脱分極電位の範囲で活性化することから、この電流がペースメーカー電位発生に重要な役割を演じていることが強く示唆された。

以上の研究は心拍動リズムの形成とその調節のメカニズム解明に重要な知見をもたらすもので、心臓の生理学に新たな展開をもたらすものである。

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8年12月10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。