

氏 名	ふじ 藤 岡 靖 忠
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2123 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	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Interaction of Na^+-K^+ pump and $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ exchange via $[\text{Na}^+]_i$ in a restricted space of guinea-pig ventricular cells (モルモット心室筋細胞における限局した細胞内領域での Na^+ を介する Na^+-K^+ ポンプと $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換の相互作用) (主査)
論文調査委員	教授 上田 國 寛 教授 中尾 一 和 教授 米田 正 始

論 文 内 容 の 要 旨

心臓手術において特に問題となるのは、心筋虚血に起因する心収縮力の低下である。このメカニズムは次のように考えられている。即ち、虚血時は細胞内ATPの減少により Na^+-K^+ ポンプ機能が低下し、細胞膜を介する Na^+ イオン濃度勾配が減少する。その結果、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換による Ca^{2+} 排出が抑制され、細胞内 Ca^{2+} 過負荷が生じ、心筋細胞のダメージを招く。これまでこの Na^+-K^+ ポンプと $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換の相互作用に関する仮説は定性的な概念に止まり、定量的な証明はなされていない。この論文では、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換の逆転電位を測定することによって、 Na^+-K^+ ポンプ活性の変化に伴う細胞膜直下の Na^+ 濃度を求め、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換活性が定量的にどのように修飾されるかを実験的に調べた。

パッチクランプ法によりモルモット単一心室筋細胞から Na^+-K^+ ポンプ電流と $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換電流を独立に記録した。即ち、 Na^+-K^+ ポンプ電流は外液 K^+ 誘発電流、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換電流は Ni^{2+} 感受性電流として記録した。ピペット内 20mMNa^+ 、 $1\mu\text{M}\text{Ca}^{2+}$ 存在下に、 5mMNa^+ を間欠的にごく短時間与え、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換電流を単離し、逆転電位を測定した。 Na^+-K^+ ポンプを K^+ により活性化すると、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換電流の振幅が約1/2に減少した。ところが、逆転電位はほとんど変化しなかった。これは細胞内 Na^+ の減少とともに $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換を介して細胞内 Ca^{2+} も減少したためと考えられた。そこで、 Na^+-K^+ ポンプを活性化する際、同時に $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換を Ni^{2+} で抑制し、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換電流を Na^+-K^+ ポンプ活性化を解除した直後から記録した。その結果、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換の逆転電位はコントロールの $-43.7 \pm 4.8\text{mV}$ から最大 $+90\text{mV}$ に移動し、細胞内 Na^+ が Na^+-K^+ ポンプ活性化により減少することが確認された。その後、逆転電位は時間とともにコントロールの値に回復し、その時間経過は単一指数関数で近似された(時定数 $=25.0 \pm 8.4\text{秒}$)。この実験では Na^+-K^+ ポンプ電流を連続して記録しているので、その時間積分から膜を介する Na^+ の移動量を求めることができた。そこで、 Na^+-K^+ ポンプ電流から求めた Na^+ 移動量を単純に細胞容積で割ると、細胞内 Na^+ 濃度変化は $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換逆転電位変化から計算される細胞内 Na^+ 濃度変化の約7分の1であった。この結果は、 Na^+-K^+ ポンプによって運ばれる Na^+ は全細胞容積の約1/7 (14%) の領域に限局していることを示している。即ち、 Na^+-K^+ ポンプと $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換の相互作用はこの限局した領域の Na^+ を介して、より効率的に行われると結論された。実際、細胞内のかかなりの部分は細胞内膜要素により分離されている。以上の細胞内 Na^+ 濃度の時間経過は、 Na^+ 移動に関わる容積を全細胞容積の1/7、 Na^+ の拡散定数を1/10に仮定した細胞モデルにより再構成することができた。このモデルは、心筋虚血に起因する心収縮力低下の機序のみならず、強心配糖体の作用機序を考察する上でも重要な基礎を与える。

論文審査の結果の要旨

心臓手術における問題の一つに、心筋虚血に起因する心収縮力の低下がある。この原因として、虚血時 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプ機能の低下を介して $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交換による Ca^{2+} 排出が抑制され、細胞内 Ca^{2+} 過負荷が生じ、心筋細胞の障害を招くと考えられている。これまで $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交換の $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプ依存性に関する仮説は定性的な概念に止まり、定量的な証明はなされていない。この論文では、単離された心室筋細胞の $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプと $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交換の活性を膜電流記録により測定し、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ 活性の変化に伴う細胞膜直下の Na^+ 濃度を、 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交換の逆転電位から求めた。その結果、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプが活性化されると、細胞内 Na^+ の減少を介して $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交換による Ca^{2+} 排出が促進することが証明され、さらに $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ポンプと $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交換は、全細胞容積の約14%の限局した領域の Na^+ を介して、効率的に相互作用すると結論された。

以上の研究は、心筋細胞内 Ca^{2+} ホメオスタシスの機序の解明に貢献し、心臓手術中または術後の心筋保護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11年2月24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。