

氏 名	さ ら い のぶ あき 皿 井 伸 明
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1832 号
学位授与の日付	平 成 15 年 7 月 23 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	Nonuniformity of Sarcomere Shortenings in the Isolated Rat Ventricular Myocyteに関する研究 (単離ラット心室筋細胞におけるサルコメア収縮の不均一性に関する研究)

論文調査委員	(主 査) 教 授 大 森 治 紀	教 授 北 徹	教 授 野 間 昭 典
--------	----------------------	---------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

心筋の膜興奮-収縮連関は細胞膜L型カルシウム (Ca^{2+}) チャネルを介する Ca^{2+} 流入が筋小胞体 (SR) Ca^{2+} 放出チャネルを活性化することによっている。SRから放出された Ca^{2+} も Ca^{2+} 放出チャネルを活性化することができるにも拘わらず、SRの Ca^{2+} 放出チャネル活性化は、局所のL型 Ca^{2+} チャネルによって限定的に制御されているとの仮説が提唱されている (局所制御説)。L型 Ca^{2+} チャネルの開口確率は最大でも0.5以下で各チャネル独立であることを考慮すると、収縮単位である筋節の短縮に時間的ゆらぎや場所による変動があると考えられる。そこで、静止時及び収縮中における個々の筋節長変動を計測し、局所制御説を検証した。

単離したラット心室筋細胞の像を、40倍対物レンズを通してリニアイメージセンサーに投影した。センサー軸を細胞長軸に一致させると筋節パターンを反映した周期的な明暗波形を得た。これを2ms間隔、1MHzでサンプリングした。波形の一次微分の1周期長を単一筋節長と見なした。測定限界について調べると、この方法では0.0061 μm 以上の変位が測定できることが示された。

静止時における個々の筋節長を1秒間記録したところ、筋節長は平均値1.88 μm を中心に0.02 μm 程度の変動 (ゆらぎ) を示した。細胞外液 Ca^{2+} を除去したところ、時間軸データをフーリエ変換して求めた power spectrum において、10Hz以下の低周波数成分の減少を認めた。逆に、外液 Ca^{2+} 濃度を1.8から5.4mMに増加させ、ウバイン10 μM を加えると、10Hz以下の低周波数成分で示されるゆらぎが著明に増加した。これらの変化は可逆的であった。また、 Ca^{2+} 過負荷の状態では、リアノジン10 μM を加えると筋節長ゆらぎの増加は消失し、ゆらぎはSR Ca^{2+} 放出チャネルの活動によることが示唆された。これを支持する所見として、膜電位固定下、脱分極パルスによる筋節長短縮、あるいは Ca^{2+} 過負荷時の自発収縮の時間経過から求めた power spectrum は、上記ミクロなゆらぎと同様に10Hz以下の低周波数成分の著明な増大を示した。さらに、L型 Ca^{2+} チャネルの活性化閾値を僅かに越えた-30mV脱分極パルスを連続して与えると、細胞全体の収縮の大きさは一定していたが、個々の筋節の脱分極誘発短縮は相互に大きくばらついていた。この電位ではL型 Ca^{2+} チャネルの開口確率が比較的低いことから、膜興奮に伴う細胞内局所 Ca^{2+} 濃度のばらつきを反映するものと考えられた。これらの所見は、SRの自己再生的 Ca^{2+} 誘発 Ca^{2+} 放出メカニズムにも拘わらず、生理的条件下では、SR Ca^{2+} 放出チャネルの活性化は、それにカップルしたL型 Ca^{2+} チャネルの活動によって局所的に制御されているとする局所制御説を支持するものであろうと結論した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

心筋の膜興奮-収縮連関は細胞膜L型カルシウム (Ca^{2+}) チャネルを介する Ca^{2+} 流入が近傍の限られた筋小胞体 (SR) Ca^{2+} 放出チャネル群を活性化することによっているとの局所制御説が提唱されている。L型 Ca^{2+} チャネルの開口は各チャネル独立であり、収縮単位である筋節の短縮に時間的ゆらぎや場所による変動が予想される。そこで、リニアイメージセンサーを用い静止時及び収縮中におけるラット心室筋細胞の個々の筋節長変動を計測し、局所制御説を検証した。静止時にお

ける個々の筋節長は $1.88\mu\text{m}$ を中心に $0.02\mu\text{m}$ 程度のゆらぎを示した。細胞外液 Ca^{2+} を除去したところゆらぎがほぼ消失した。逆に、 Ca^{2+} 過負荷では、ゆらぎが可逆的かつ著明に増加し、周波数解析において低周波数成分が増加していた。これに、リアノジンを加えるとゆらぎは消失し、ゆらぎは SRCa^{2+} 放出チャネルの活動によることが示唆された。さらに、 -30mV への脱分極で誘発される個々の筋節短縮は相互にばらついていた。この電位ではL型 Ca^{2+} チャネルの開口確率が低いことから、局所 Ca^{2+} 濃度のばらつきを反映するものと考えられた。これらの結果は筋節長のゆらぎを系統的に解析した初めての報告であり、明らかに局所制御説を支持する。以上の研究は膜興奮-収縮連関における制御機構の解明に貢献し、心筋収縮メカニズムの理解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15年5月22日実地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。