

氏 名	はる な てつ や 春 名 徹 也
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2339 号
学位授与の日付	平 成 13 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	Alteration of the membrane lipid environment by l-palmitoylcarnitine modulates K_{ATP} channels in guinea-pig ventricular myocytes (1-パルミトイルカルニチンによる細胞膜脂質環境の変化はモルモット心室筋細胞の ATP 感受性カリウムチャネル活動を修飾する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 間 昭 典 教 授 中 尾 一 和 教 授 篠 山 重 威

論 文 内 容 の 要 旨

Alteration of the membrane lipid environment by l-palmitoylcarnitine modulates K_{ATP} channels in guinea-pig ventricular myocytes

(1-パルミトイルカルニチンによる細胞膜脂質環境の変化はモルモット心室筋細胞の ATP 感受性カリウムチャネル活動を修飾する。)の要旨

アデノシン三リン酸 (ATP) 感受性 K^+ チャネル (K_{ATP}) は、膵臓 β 細胞を始め、多くの組織において、細胞内 ATP の変化を感知し、開閉するため、細胞の代謝センサーとして働くと考えられている。心筋では、虚血時に開口し、活動電位を著しく短縮することから、虚血時の不整脈の発生や心筋保護作用に関与していると考えられている。この K_{ATP} チャネルは多くの細胞内制御因子により調節されているが、なかでも、最近、細胞膜リン脂質構成成分のひとつである phosphatidyl 4,5-bisphosphate (PIP_2) が、非常に強力な K_{ATP} チャネルの開口促進因子であることが判明した。ところが、心筋虚血時、細胞膜脂質環境は脂肪酸代謝産物の蓄積などにより、著しく変化することが知られており、 K_{ATP} チャネル調節は膜脂質環境の変化により、実際には修飾される可能性がある。そこで、我々は脂肪酸代謝産物のひとつである l-palmitoyl-carnitine (1-PC) の蓄積により、 K_{ATP} チャネル制御機構が影響をうけるかを検討した。

モルモット単離心室筋細胞をパッチ・クランプ法に供し、電位固定実験を行なった。細胞外を 5mM K^+ として、0mV にて電位固定し、ATP を含まない 150mM K^+ 溶液にパッチ膜を切り出すインサイド・アウト・モードにて、単一チャネル記録を行った。この条件下に観察された単一チャネル電流は 1mM ATP 及び K_{ATP} チャネルの阻害薬のグリベンクラマイドにより抑制されたことから K_{ATP} チャネル電流であることが判った。ここで、膜の内側から μM 単位の 1-PC を投与すると投与量に依存して、 K_{ATP} チャネル電流を抑制した。1 μM の 1-PC による K_{ATP} チャネル電流抑制作用は、単一チャネル記録の解析により、単一チャネル電流量を変化させずに、バースト開口間の平均閉時間を延長し、チャネルの開口確率を減少させることでもたらされることが判明した。また K_{ATP} チャネル電流を 50% 抑制する ATP 濃度 (IC_{50}) は、1 μM の 1-PC の投与により、62.0 $\pm$ 2.7 μM から 30.3 $\pm$ 5.5 μM へと有意に減少した。一方、 PIP_2 は、 Ca^{2+} により不活性化した K_{ATP} チャネル電流を再活性化すると共に、1-PC とは逆に、 IC_{50} を 343.6 $\pm$ 54.4 μM へと有意に増加させた。以上から、1-PC と外来性 PIP_2 は K_{ATP} チャネルに対し、相反する作用を持つことが判った。

ところで、 K_{ATP} チャネルは ATP を含まない細胞内液下では不活性化するが、 PIP_2 の前駆体である phosphatidyl-inositol (PI) を高濃度 MgATP によりリン酸化し内因性 PIP_2 増加させるか、または体外的に PIP_2 を投与することで、活性が回復すること事が知られている。しかしながら、1-PC を前もって膜に蓄積しておく、内因性及び外来性 PIP_2 の K_{ATP} チャネル再活性化作用は減弱した。一方、前もって PIP_2 を投与し、 K_{ATP} チャネル活動を活性化しておくと、1-PC のチャネル抑制作用は減弱した。ただし、 PIP_2 により増加していた MgATP による IC_{50} は、1-PC 投与後に、再び低下していたことから、1-PC は、 PIP_2 のチャネルの ATP 感受性低下作用を抑制していると考えられた。以上より、心筋虚血時、細胞膜

に蓄積する 1-PC の濃度は $\sim 5\mu\text{M}$ と推定されており、共に両親性物質である PIP_2 と 1-PC は実際に細胞膜において相互に作用しながら K_{ATP} チャンネル活動を制御している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

アデノシン三リン酸 (ATP) 感受性 K^+ チャンネル (K_{ATP}) は、心筋では、虚血時の不整脈の発生や心筋保護作用に関与すると考えられている。最近、細胞膜リン脂質の一つである phosphatidyl 4,5-bisphosphate (PIP_2) が強力な K_{ATP} チャンネルの開口促進因子であることが判明した。ところが、細胞膜脂質環境は、虚血時、脂肪酸代謝中間体の蓄積等、著しく変化するため、 K_{ATP} チャンネル制御機構も修飾される可能性がある。本論文では脂肪酸代謝中間体 1-palmitoyl-carnitine (1-PC) の蓄積による K_{ATP} チャンネル制御機構の修飾について報告した。

モルモット単離心室筋細胞をパッチ・クランプ実験に供し、1-PC の K_{ATP} チャンネル電流に対する作用を観察した。 μM 単位の 1-PC は、単一チャンネル電流量を変化させず、チャンネルの開口確率を減少させ、 K_{ATP} チャンネル電流を抑制した。更に、1-PC は ATP による K_{ATP} チャンネル抑制作用を増強した。

一方、不活性化した K_{ATP} チャンネルでは、膜 PIP_2 増加により、チャンネル活性が回復し、ATP によるチャンネル抑制も減弱する。しかしながら、1-PC を膜に前負荷しておく、と、上述した PIP_2 の K_{ATP} チャンネル開口促進作用は阻害された。以上、1-PC と PIP_2 は K_{ATP} チャンネルに対し、相反する作用を持ち、虚血時の細胞膜において、相互に作用し、 K_{ATP} チャンネル活動を制御している可能性が示唆された。

以上の研究は心筋細胞膜 K_{ATP} チャンネルの制御機構の解明に貢献し、心筋虚血時の心筋障害の軽減や致死的不整脈の予防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13年2月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格とみとめられたものである。