

氏 名	い ず み と し あ き 和 泉 俊 明
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1867 号
学位授与の日付	平 成 16 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	Reinduction of T-type Calcium Channels by Endothelin-1 in Failing Hearts In Vivo And in Adult Rat Ventricular Myocytes In Vitro (ダールラット不全心及びラット培養心筋細胞におけるエンドセリン-1 による T 型カルシウムチャンネルの再発現誘導に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 米 田 正 始 教 授 北 徹

論 文 内 容 の 要 旨

心室筋細胞膜のカルシウムチャンネルには L 型カルシウムチャンネル及び T 型カルシウムチャンネルの 2 種類が存在する。前者が胎児期から成熟期を通して多量に発現しているのに対し、後者が成熟期には認められず、胎児期もしくは新生児期にのみ一過性に観察されることから、T 型カルシウムチャンネルは心筋細胞の分化、成長に関与していると考えられている。

肥太心筋や不全心筋等の病的な心筋で T 型カルシウムチャンネルが再発現しているという報告があるが、その発現誘導の機序は不明である。一方、心肥大期または心不全期において内因性のアンギオテンシン II (AII) 及びエンドセリン-1 (ET-1) が増加している事が知られており、病的な心筋での T 型カルシウムチャンネル発現がこれらのサイトカインの制御を受けている可能性がある。

Dahl 食塩感受性高血圧ラットは 8% 高食塩食付加により高血圧を示し、11 週齢で求心性心肥大を、その後 16~18 週齢において非代償性心不全を呈する高血圧性心不全の動物モデルである。我々は、心肥大期及び心不全期における Dahl 食塩感受性高血圧ラットの心室筋細胞をランゲンドルフ法を用いて単離し、patch clamp 法で T 型カルシウム電流 ($I_{Ca,T}$) を測定した。また各時期における心筋 T 型カルシウムチャンネル α サブユニット (α -1G mRNA) を RT-PCR 法、northern blot 法で、心筋組織 AII を radioimmunoassay 法で、また心筋組織 ET-1 を enzyme immunoassay 法でそれぞれ測定した。

その結果、心肥大期では AII は増加していたが ET-1 は増加を認めず、 $I_{Ca,T}$ 、 α -1G mRNA は発現していなかった。一方、心不全期においては AII と ET-1 は共に増加しており、 $I_{Ca,T}$ 、 α -1G mRNA が発現している事を確認した。T 型カルシウムチャンネル発現が組織 ET-1 の影響を受けている事を確認するため、ET-1 拮抗薬であるボセンタンを心肥大期より慢性投与したところ、心不全期における $I_{Ca,T}$ 、 α -1G mRNA 発現が共に抑制された。

また Sprague-Dawley ラットの単離成熟心筋細胞を ET-1 に 48 時間曝露し培養した所、 $I_{Ca,T}$ 発現が認められたが、AII 曝露では認められなかった。この ET-1 による $I_{Ca,T}$ 誘導は ET-1 拮抗薬である BQ-123 を培地に加える事で抑制された。 $I_{Ca,T}$ は肥太心室筋細胞には認められないが、不全心筋において発現しており、それは組織 ET-1 の活性化に関連している事が示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

心室筋細胞膜には L 型及び T 型カルシウムチャンネルの 2 種類のカルシウムチャンネルが存在する。通常後者は胎児期もしくは新生児期にのみ観察されるが、肥太心筋や不全心筋等の病的な心筋での再発現が報告されている。同様に病的な心筋における内因性アンギオテンシン II (AII) 及びエンドセリン-1 (ET-1) の増加が知られており、T 型カルシウムチャンネル再発現がこれらのサイトカインの制御を受けている可能性がある。本研究では 11 週齢で代償性心肥大を、18 週齢で非代償性心肥大 (心不全) を呈するダール食塩感受性高血圧 (DS) ラットを用い、各時期における T 型カルシウム電流 ($I_{Ca,T}$)、心筋 T 型カルシウムチャンネル α サブユニット (α -1G mRNA)、心筋組織 AII 及び ET-1 を測定した。心肥大期では AII

は増加していたが ET-1 は増加せず, $I_{Ca,T}$, α_{1G} mRNA は発現していなかった。一方, 心不全期では AII, ET-1 共に増加しており, $I_{Ca,T}$, α_{1G} mRNA が発現していた。またラット成熟心筋細胞を ET-1 に48時間曝露し培養した所 $I_{Ca,T}$ 発現が認められたが, AII 曝露では認められなかった。これらの結果から不全心筋における $I_{Ca,T}$ 発現が組織 ET-1 の活性化に関連している事が示された。

以上の研究は不全心における細胞内カルシウム動態異常の解明に貢献し, ET-1 による心筋障害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16年6月21日実施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。