

氏 名	オウ 王 王 鑄 人
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1825 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 規 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	Cell Distension-Induced Increase of the Delayed Rectifier K^+ Current in Guinea Pig Ventricular Myocytes (細胞伸展によるモルモット心室筋細胞遅延整流カリウム電流の増加)
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

心筋を伸展すると、自動性は亢進し、心筋収縮力は増大する。この自家調節機転は細胞膜イオンチャネルの伸展受容機転に依存するところが多い。このメカニズムを明らかにするため、低浸透圧溶液を与え、細胞膨張による細胞膜伸展に伴う膜電流変化の解析を行った結果、遅延整流 K^+ 電流 (I_K) と Na/K ポンプ電流が細胞の膨張時間経過にほぼ一致して増大することを観察した。そこで、酵素処理により単離したモルモット心室筋細胞を用いて全細胞型パッチクランプ実験を行い、膜伸展による I_K の増大のメカニズムと活動電位に与える影響について検討した。低張液による細胞膨張では、いろいろな二次的な反応が知られているので、細胞内液に通じているパッチ電極内に圧力を加え、電極内液を細胞内に微量注入し、細胞をゆっくり膨張させる方法を独自に開発した。

電極内に 5～20 mmHg の圧力を加え細胞を膨張させると、 I_K の振幅は約 1.5 倍に増大した。電極内の圧力を解放しても、増大した電流レベルに止まっていたが、電極内に -10～-30 mmHg の陰圧を加えると、細胞膨張は減弱し、 I_K の振幅も減少した。細胞膜伸展と I_K の増大の関係を調べると、この両者が比列することが分かった。この細胞膜伸展に対する反応は I_K の一部の成分に選択的な反応と考えられた。すなわち、例えば、内向き整流 K^+ 電流や Ca 電流には変化が認められず、また、容積感受性 Cl^- 電流の活性化も認められなかった。さらに、最近 I_K は二つの電流成分、すなわち活性化が速い I_{Kr} と活性化が遅い I_{Ks} からなることが知られているが、膜伸展によって活性化されるチャネルは E-4031 で抑制を受けない I_{Ks} のみであることがわかった。

一般に膜イオン電流振幅が増大する場合、例えば、チャネルを組み込んだ細胞内小胞が表面膜に癒合してチャネルの総数が増える、あるいは、チャネルの一部は通常不活性化されていて刺激に応じて活性化し、有効なチャネルの総数が増える、さらに個々のチャネルの膜電位依存性活性化機構が変化し開口確率が増えるなどの可能性が考えられる。これらの可能性を調べるため、-40 mV の保持電位から、+60 mV に

30秒以上持続的に脱分極し、電位依存性チャネル活性化によりチャネルの開口確率を最大にした状態で、細胞を膨張させたところ、電流振幅は $170 \pm 30\%$ ($n=4$) に増大した。さらに、この増大した I_K の膜電位依存性のチャネル活性化、および脱活性化カイネテイクスについての通常の解析ではコントロールと有意の差を認めることはできなかった。これらの実験結果は細胞膜伸展によって、脱分極で活性化できる I_{Ks} チャネルの数が増加した可能性を強く示唆している。

細胞膨張による I_K の増大が活動電位に及ぼす影響を調べるために、膜電流固定実験を行ったところ、圧力で細胞を膨張させると、再分極の時間が短縮されることが観察された。すなわち、活動電位持続時間が細胞膨張の前に比べて $68 \pm 4\%$ になった。数学モデルの解析でこの活動電位の短縮が I_K の増大により引き起こされていることを確認した。 I_K は膜伸展の機械的な刺激を電気シグナルに転換させる役割を果たしていることが結論された。

論文審査の結果の要旨

心筋を伸展すると、細胞膜イオンチャネルの働きが変化することが知られているが、本研究では、モルモット心から酵素処理によって得られた単離心室筋細胞で、細胞膜伸展による電流変化を記録し、解析している。まず、遅延整流 K 電流は低張液中細胞膨張では、振幅が増大し、逆に高張液細胞縮小で振幅が減少した。Na/K ポンプ電流も同様な反応を示した。低張液中細胞膨張で、一部の細胞で Cl 電流が活性化するのが認められた。そこで遅延整流 K 電流の変化についてさらに詳細を検討した。細胞の膨張の程度と電流振幅増大にはほぼ直線的な関係が認められた。細胞内液の注入によって、最大活性化時の電流振幅がほぼ倍増する。この際、膜脱分極による電流の活性化の時定数や活性化の程度などチャネルの電位依存性開閉機構に顕著な変化を認めることはできない。さらに、細胞内骨格修飾剤のこの反対に対する影響を調べたが、明らかな効果を認めることができなかった。これらの所見は膜伸展によって、脱分極で活性化しうるチャネルの総数が増加することを示唆する。

以上の研究は心筋細胞膜伸展によるイオンチャネル活動の変化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。