

氏 名	おお ばやし かず ひこ 大 林 和 彦
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1720 号
学位授与の日付	平 成 12 年 9 月 25 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	Angiotensin II Inhibits Protein Kinase A-Dependent Chloride Conductance in Heart via Pertussis Toxin-Sensitive G Proteins (アンギオテンシン II は百日咳毒素感受性 G 蛋白を介してプロテイン・キナーゼ A 依存性心筋クロライド電流を抑制する。)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 間 昭 典 教 授 成 宮 周 教 授 篠 山 重 威

論 文 内 容 の 要 旨

レニン-アンギオテンシン系は心血管ホメオスタシスに不可欠であり、その生理学的作用の主たる mediator がアンギオテンシン II (A-II) である。近年、虚血性・非虚血性心不全に対するアンギオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬の長期大規模臨床研究が多数行われ、心不全に対する ACE 阻害薬の臨床的有用性が確立されている。A-II は陽性変力作用を示し心肥大に関与していると報告されているが、A-II の細胞内情報伝達経路に関してはプロテインキナーゼ C を介した系を活性化することはいくつかの報告で示されているものの、プロテインキナーゼ A (PKA) を介した経路に対する作用に関してはまだ一定の見解が得られていない。そこで今回 PKA 依存性クロライド (Cl) 電流に対する A-II の作用について検討した。モルモット単離心室筋細胞を全細胞型パッチ・クランプ法に供し、電圧固定実験を行なった。0 mV に電位を保持し、voltage clamp (I; 100mV / 2 秒) にて電流電圧関係を求めた。細胞内は 20 mM Cl⁻、細胞外は 150 mM Cl⁻ として PKA 依存性 Cl 電流 (I_{Cl-PKA}) にて A-II の作用を検討した。イソプロテレノール (ISO) 投与にて逆転電位が -30 mV の外向き電流が増加し I_{Cl-PKA} と考えた。A-II は ISO にて増加した電流を逆転電位を変えずに濃度依存性に抑制した。AT 1 受容体を選択的な拮抗薬 CV11974 をあらかじめ投与しておくと、ISO にて増加した Cl 電流に対する A-II の作用は抑制されたが、AT 2 受容体を選択的拮抗薬 PD123319 では A-II の抑制作用は影響を受けなかったことから、A-II の作用は AT 1 受容体を介していると考えられた。ムスカリン受容体刺激は抑制型 G 蛋白 (Gi) を介してアデニレート・サイクレーズ (AC) を抑制し、この Cl 電流を抑制するが、ムスカリン受容体を刺激するカルバコールをあらかじめ投与して ISO にて増加した Cl 電流を抑制しておくと A-II はその残存した Cl 電流には抑制効果を示さず、ムスカリン受容体刺激と同じ細胞内情報伝達経路を介して働いている可能性が示唆された。ヒスタミンにて増加した Cl 電流も AT-II は抑制し AC の活性化に拮抗していると思われた。加水分解されない GTPγS を最初に細胞内投与しておくと ISO にて活性化された電流は ISO の投与を中止した後も電流は維持されるが、この電流に対して A-II は抑制作用を示さず A-II の作用は G 蛋白を介していると考えられた。そこでムスカリン受容体と G 蛋白の間を脱共役する百日咳毒素 (PTX) を用いた。PTX 処理後ではカルバコール、A-II とも ISO に対する効果が消失し、PTX 感受性 Gi 蛋白を介して抑制していると思われた。フォルスコリンにて AC を直接活性化し増加した電流も A-II は抑制した。さらに細胞内をあらかじめ cAMP (1 mM) で灌流すると Cl 電流が活性化されるが、A-II はこの電流は抑制出来なかった。これらのことから A-II は AC を抑制し、細胞内 cAMP 濃度を減少させ Cl 電流を抑制すると思われた。実際、RIA にて心室筋細胞内 cAMP 濃度を測定してみると ISO500nM 投与下に比し A-II 投与により細胞内 cAMP 濃度の減少を確認できた。以上より A-II は PTX 感受性 Gi 蛋白を介して AC を抑制し細胞内 cAMP 濃度を減少させることにより I_{Cl-PKA} を抑制すると思われ、A-II は活動電位を延長させることにより細胞内カルシウムの流入を増加させ陽性変力作用や心肥大に関与している可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

レニン-アンギオテンシン (R-A) 系は心血管ホメオスタシスに不可欠であり心不全の病態に大きく関与している。ま

た近年アンギオテンシン変換酵素阻害薬の長期大規模臨床研究が多数行われ心不全に対する臨床的有用性が確立されている。R-A系の生理学的作用の主たる mediator がアンギオテンシンⅡ（A-Ⅱ）であり陽性変力作用や心筋細胞肥大の発現への関与が報告されているが、A-Ⅱの細胞内情報伝達経路に関してはプロテインキナーゼC（PKC）を介した系の活性化やこの経路の活性化が心筋細胞肥大の誘発に関与していることが報告されている。一方、プロテインキナーゼA（PKA）を介した経路に対する作用に関してはまだ一定の見解が得られていない。この研究ではモルモット単離心室筋細胞を全細胞型パッチ・クランプ法に供しPKA依存性クロライド電流（I_{Cl-PKA}）に対するA-Ⅱの作用について検討されている。研究の結果、A-ⅡはPTX感受性Gi蛋白を介しアデニレートサイクレーズを抑制し細胞内cAMP濃度を減少させI_{Cl-PKA}を抑制する事が示されPKAに対して抑制的に働くことが明らかとなった。A-Ⅱは活動電位を延長させることにより細胞内カルシウムの流入を増加させ陽性変力作用・心筋細胞肥大に関与している可能性が示唆され、R-A系の心不全への関与のメカニズムの解明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12年8月8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。