

(3)

氏名(生年月日)	ツツミ 堤 理 映 子
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	甲第278号
学位授与の日付	平成8年11月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	Sodium-potassium pump current in rabbit sino-atrial node cells (家兎洞結節細胞におけるナトリウム-カリウムポンプ電流に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 細田 瑳一 (副査) 教授 宮崎 俊一, 高桑 雄一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

哺乳類の洞結節細胞においてペースメーカー電位を構成する電流は、主に時間および電位依存性電流の観点からのみ論じられてきた。しかし近年、洞結節細胞における時間非依存性ナトリウム背景電流 (I_{bNa}) の存在が確認され、この内向き電流が生理的条件下で洞結節細胞の脱分極に大きく奇与していることが報告された。私達はこの I_{bNa} による脱分極に拮抗すると考えられるナトリウム-カリウムポンプ電流 (I_p) について家兎単一洞結節細胞を用い、その特性およびペースメーカー電位への役割について検討した。

〔対象および方法〕

コラゲナーゼ処理により家兎単一洞結節細胞を分離し、ガラスパッチ電極を用いて whole-cell voltage clamp 法を行なった。既知の膜電流系を抑制した条件下で、細胞内ナトリウム (Na) および細胞外カリウム (K)、ルビジウム (Rb) 等の一価陽イオンの I_p に対する効果を検討した。

〔結果〕

(1) 家兎単一洞結節細胞における I_p の存在
細胞内に Na (10~150mM)、細胞外に K (0.5~10 mM) を負荷し、保持電位 -40mV より +50mV から -90mV までの電位刺激を加えると外向き電流が誘発された。この電流は時間非依存性かつ電位依存性で 0mV 付近で最大活性を示した。この外向き電流は I_p の特異的拮抗薬であるウアバインによって抑制されたことより、家兎単一洞結節細胞に I_p が存在することが確認さ

れた。

(2) 細胞内 Na および細胞外 K 濃度依存性

I_p の電流密度は細胞内 Na および細胞外 K 濃度にそれぞれ依存する。その変化は Hill 方程式によく一致し細胞内 Na 30mM 存在下での半最大活性化細胞外 K 濃度 ($K_{0.5}$) は 1.4mM で Hill 係数 (nH) は 1.2 であった。同様に、細胞内 Na 濃度に関しては、 $K_{0.5}$ は 14mM、nH は 1.3 であった。

(3) イオン選択性

Na-K ポンプの K 側のイオン透過性についてリチウム (Li)、セシウム (Cs) および Rb について検討した。K によって活性化される I_p を 1 とするとその比率は K : Rb : Cs : Li = 1 : 0.94 : 0.38 : 0.07 であった。

(4) 温度依存性

細胞内 Na を 30mM、細胞外 K を 5.4mM の条件下で細胞外液を 25°C から 37°C に変化させると温度上昇に伴い電流密度の直線的な増加を認め、その温度係数 (Q_{10}) は 2.1 であった。

〔考察、結論〕

パッチクランプ法を用いて、家兎単一洞結節細胞における Na-K ポンプ電流 (I_p) の存在が初めて確認された。その特性は他動物種の心房、心室筋における I_p と同様に時間非依存性、かつ電位依存性でありまた細胞内 Na および細胞外 K によって活性化された。また、イオン選択性は $K \geq Rb > Cs >>> Li$ であり陽イオン非選択的であることが確認され、温度依存性も著明であった。生理的条件下における I_p の電流密度は

$0.80 \pm 0.24 \text{ pA pF}^{-1}$ であり、洞結節細胞の膜容量が $36.8 \pm 5.6 \text{ pF}$ のため、 I_p は最大で 30 pA の外向き電流を供給することが確認された。今回の研究より、ペー

スメーカー電位の領域では約 20 pA の外向き電流として I_p が自動能に大きく寄与していると考えられた。

論文審査の要旨

哺乳類の洞結節細胞において時間または電位依存性でない背景電流が最近見出され、当研究室でも時間非依存性ナトリウム背景電流が発見された。

本論文は家兎単一洞結節細胞においてガラスパッチ電極を用い、wholecell voltage clamp 法により、既知の膜電流系を抑制した条件下で、細胞内に Na を細胞外に K を負荷し、電位刺激を与えて誘発される外向き電流が、時間非依存性で、且つウアバインで抑制されることから Na-K ポンプ (I_p) の存在を確認した。そのイオン濃度依存特性とイオン選択性を Li, Cs, Rb を用いて検討した。温度依存特性について外液温度 $25 \sim 37^\circ\text{C}$ における直線的関係を証明した。このことから洞結節細胞のペースメーカー電位の領域では外向き電流として、 I_p が自動能に大きく寄与していることが示された。

新しい電流を証明し、特性を明らかにした優れた研究であり、自動能に関与するいくつかの条件を示唆する有意義な研究と評価できる。

主論文公表誌

Sodium-potassium pump current in rabbit sinoatrial node cells (家兎洞結節細胞におけるナトリウム-カリウムポンプ電流に関する研究)

Journal of Physiology Vol 490 No 1, 51-62 頁 (1996年1月1日発行) 坂井理映子, 萩原誠久, 松田直樹, 笠貫 宏, 細田瑛一

副論文公表誌

- 1) Chloride conductance in human atrial cells (ヒト心房筋細胞におけるクロール電流に関する研究). J Moll Cell Cardiol 27: 2403-2408 (1995) 坂井理映子, 萩原誠久, 笠貫 宏, 細田瑛一
- 2) 静脈血栓症を併発した蛋白漏出性胃腸症の1例. 呼と循 43(3): 293-296 (1995) 坂井理映子, 屋田千佳子, 石塚尚子, 岩出和徳, 細田瑛一, 橋本明政, 齊藤寿仁, 森 治樹
- 3) The circadian fluctuation in the frequency of ventricular premature complexes (心室性期外収縮の日内変動に関する研究). Ther Res 14(10): 4325-4239(1993) 坂井理映子, 松田直樹,

笠貫 宏, 山田辰一, 細田瑛一

- 4) Changes in membrane conductance by mechanical stretch in rabbit sinoatrial node cells (家兎心房筋細胞における機械的伸展刺激による膜抵抗の変化). Heart Vesels 9: 210-211 (1995) 萩原誠久, 松田直樹, 坂井理映子, 笠貫 宏, 細田瑛一
- 5) 心不全と不整脈—伸展活性化チャンネルの意義—。呼と循 43(4): 343-348 (1995) 萩原誠久, 松田直樹, 坂井理映子, 庄田守男, 笠貫 宏, 細田瑛一
- 6) 洞結節細胞の膜伸展により活性化されるイオン電流. Jpn J Electrocardiol 14(1): 12-17 (1994) 萩原誠久, 松田直樹, 坂井理映子, 笠貫 宏, 細田瑛一
- 7) ヒト心房筋細胞におけるクロール電流. Jpn J Electrocardiol 15(3): 211-215 (1995) 萩原誠久, 坂井理映子, 松田直樹, 笠貫 宏, 細田瑛一, 八田光弘, 星野修一, 今井康晴, 小柳 仁