

氏名(生年月日)	ナガ 長	サキ 崎	ヨウ 陽	コ 子
本 籍				
学位の種類	博士(医学)			
学位授与の番号	甲第370号			
学位授与の日付	平成16年3月19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	虚血負荷後のラット培養心筋細胞において PKC で活性化される Cl 電流			
主論文公表誌	東京女子医科大学雑誌 第74巻 第1号 33-38頁 2004年			
論文審査委員	(主査) 教授 笠貫 宏 (副査) 教授 宮崎 俊一, 尾崎 眞			

論文内容の要旨

〔目的〕

心筋細胞を含む全ての細胞容積は固有の値に設定されており, 異常浸透圧環境下において収縮・膨張が強いられても, 速やかに正常容積に復帰する能力を有する. 虚血に伴う心筋傷害に, この容積調節機構の破綻が関与することが知られている. また, 虚血に伴う細胞膨張が PKC や Cl 電流の活性化により緩和されることも報告されている. 本研究では, PKC の活性化が虚血心筋の細胞膜電流に与える影響について検討した.

〔対象および方法〕

対象として, 生後3~5日の新生仔 Wister ラットから単離した初代培養単一心筋細胞を用いた. さらに虚血負荷群では, 電気生理学的実験前に4時間の擬似虚血(無酸素・無グルコース)を負荷した. 全ての電気生理学的記録は, whole-cell パッチクランプ法を応用し, 擬似負荷虚血前後の細胞膜電流を測定した.

〔結果〕

擬似虚血負荷後の細胞では, PKC activator である phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) の投与により, +40mV における膜電流が $2.9 \pm 0.2 \text{ pA/pF}$ から $21.3 \pm 1.7 \text{ pA/pF}$ まで増加した. しかし, 非虚血細胞群では PMA の投与による膜電流変化は認められなかった. また虚血負荷細胞でも, PKC を活性化しないアナログである $4\alpha\text{-PMA}$ の投与では, 膜電流変化は観察されなかった. さらに選択的 PKC 阻害剤 chelerythrine は, 膜電流に対する PMA の効果を完全に抑制した. 虚血負荷群において PMA により活性化された膜電流は Cl の選択性が非常に高く, Cl チャネルブロッカーにより特異的に抑制された. この PMA 感受性 Cl 電流は著明な外向き整流性を示し, 陰イオンの透過性比は $\text{I} > \text{Br} > \text{Cl} > \text{F}$ の順であった.

〔考察〕

本研究では PKC が擬似虚血負荷後のラット培養心筋細胞で Cl 電流 (PMA 感受性 Cl 電流) を活性化したが, 虚血負荷を与えなかった群では活性化を認めなかった. さらにこの虚血負荷後 PMA により活性化される Cl 電流は, これまでに様々な動物の心筋細胞で確認され, 細胞容積調節を担うと考えられている, 容積感受性 Cl 電流 ($I_{\text{Cl.vol}}$) の電気生理学的性質と極めて類似していた.

虚血傷害には浸透圧性膨張が関与することから, 虚血条件下で $I_{\text{Cl.vol}}$ (あるいは機能が類似した Cl 電流) が活性化された場合, 容積調節能力の増強により過度の細胞膨張が抑制され, 虚血傷害に対して細胞保護効果を示す可能性がある. しかしながら, 今回虚血負荷後のみ観察された PMA 感受性 Cl 電流が $I_{\text{Cl.vol}}$ と完全に同じ電流か, あるいは性質は類似するが異なる Cl 電流なのかは, 今後更に比較実験あるいは分子生物学的検討を行い検討する必要がある.

〔結論〕

虚血による心筋傷害には浸透圧性膨張が関与する. 今回の研究では, 虚血後のラット培養心筋細胞において,

PKC が容積感受性 Cl 電流と類似した性質の Cl 電流を活性化し、細胞の過膨張を抑制することにより心筋保護に寄与する可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 要 旨

最近、虚血に伴う心筋傷害には、容積調節機構の破綻が関与し、細胞膨張が PKC や Cl 電流の活性化により緩和されることが報告されている。

本研究では、PKC の活性化が虚血心筋の細胞膜電流に与える影響を検討するため、ラット培養単一心筋細胞の whole-cell パッチクランプ法により、擬似負荷虚血前後の細胞膜電流を測定した。PKC は擬似虚血負荷後のラット培養心筋細胞で Cl 電流 (PMA 感受性 Cl 電流) を活性化したが、虚血負荷を与えなかった群では活性化を認めなかった。さらにこの虚血負荷後 PMA により活性化される Cl 電流は、これまでに様々な動物の心筋細胞で確認され、細胞容積調節を担うと考えられている、容積感受性 Cl 電流の電気生理学的性質と極めて類似していた。

したがって本研究は、虚血傷害時には、PKC が容積感受性 Cl 電流と類似した性質の Cl 電流を活性化し、細胞の過膨張を抑制することにより心筋保護に寄与する可能性を示唆した学術的意義の高い研究である。