



Title	心筋の膜興奮における細胞内ヌクレオチドの役割
Author(s)	谷口, 淳一
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34617
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・（本籍）	たに 谷	ぐち 口	じゅん 淳	いち 一
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	6783	号	
学位授与の日付	昭和60年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科 生理学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	心筋の膜興奮における細胞内ヌクレオチドの役割			
論文審査委員	(主査)			
	教授 中村 隆雄			
	(副査)			
	教授 岸本卯一郎 助教授 向畑 恭男			

論文内容の要旨

心臓の洞結節や房室結節など自発興奮性細胞の弛緩期脱分極や、心房、心室筋の活動電位のプラトー相は細胞内外の諸因子の影響を受け、各々、拍動頻度や収縮張力の調節と密接な関連を持っている。自律神経性調節や虚血性心疾患の研究から、これらの因子の中でも細胞内ヌクレオチドが膜興奮性の維持、調節に大きな役割を果たしている事が示唆されて来た。本研究では、アセチルコリン (Ach) のムスカリン様作用におけるcGMPの役割 (第1章)、活動電位のプラトー相形成におけるATPの役割 (第2章) を検討する為、家兎及びモルモットから房室結節細胞、心室筋細胞を分離し、細胞内に各々のヌクレオチドを微量注入した効果を調べた。また、第2章の研究からプラトー相付近の膜コンダクタンスが、背景電流の内向き整流性の為に小さい事がプラトー相形成の要因のひとつである事が分った。第3章ではパッチクランプ法によるチャネルの開閉反応の解析から、背景電流の内向き整流性を検討した。

1. Achのムスカリン様作用におけるcGMPの役割

Achは結節細胞や心房筋で、特定の K^+ 電流 (I_{Ach}) を活性化し膜を過分極させる。また、心房筋や心室筋で Ca^{+2} 電流 (I_{si})、時間依存性 K^+ 電流 (I_x) を減少させて、活動電位を短縮する。cGMPはAch存在下で生成され、Ach受容器と各チャネルの間の反応の共通なメッセンジャーであると考えられて来た。

房室結節細胞の過分極応答の大きさ、経時変化は細胞内にcGMPを注入する前と注入中で全く変化がなかった。一方、心室筋の活動電位はcGMPによって最初短縮し、その後延長した。後の延長はcGMPが加水分解されたGMPの効果と推定され、cGMPは I_{Ach} の活性化には関与しないが、 I_{si} や I_x の減少には関与する事が示唆された。

2. 活動電位のプラトー相形成におけるATPの役割

心筋活動電位は低酸素下で短縮するが、その機序は不明であった。Isenbergらは、 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇をその原因と考えたが、無グルコース、5.4 mM CNを含むタイロード液（CNタイロード液）中で短縮した心室筋の活動電位は、EGTAを細胞内注入しても全く回復せず、 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は短縮の原因とは考えられなかった。そこで、同じ条件でATPを注入すると速やかに回復を示した。この時、プラトー相付近の外向き電流はCNタイロード液中で顕著に増加し、逆にATP注入によって減少した。ATPはプラトー相での膜コンダクタンスを小さくしてプラトー相形成に寄与している事が分った。

3. 内向き整流性単一 K^+ チャンネル電流の解析

背景電流の主成分と考えられる単一 K^+ チャンネル電流は強い内向き整流性を示すが、 K^+ の平衡電位 E_k より負電位側でチャンネルを開閉する不活性化ゲートの性質と整流性の関係は不明だった。膜電位を瞬間的に変えてもこのゲートの開閉状態は変わらないので、 E_k より正電位側の試験電位でゲートが開く確率を、負電位側の保持電位に再分極させた直後チャンネルが開いている確率から求めると0.8-0.9だった。また、再分極直後の開時間は特異な分布を示し、この分布は E_k より正電位側で2つの開状態を取り、ゲートが再分極後逐次反応によって閉じるとするモデルで説明された。これらの結果は E_k より正電位側で不活性化ゲートがほぼ常に開いている事を示し、内向き整流性を持つ他のゲート機構が存在する事を示唆している。

論文の審査結果の要旨

心筋細胞の拍動を引き起こす活動電位は細胞内外の諸因子の影響を受け、その変化は拍動頻度や収縮張力の調節と密接な関係にあるが、これら因子の中でヌクレオチドは特に大きな役割を果たしている。細胞内物質の影響を観察するためには各々の物質を細胞内に微量注入するのが最も直接的な方法であるが従来用いられてきたような組織片標本では微量注入の結果を観察することは容易でなかった。

本研究は、成体家兎及びモルモットの心臓から単離した細胞標本について細胞内に微量注入した物質の効果を容易に観察できるような実験系を完成させ、cGMP、ATPなどのヌクレオチドが心筋細胞の拍動調節においてもっている役割を電気生理学的に明らかにしたものである。

(1) cGMPを注入しても結節細胞の過分極はおこらず自発興奮頻度は抑制されなかったが、心室筋の活動電位は短縮した。またアセチルコリンで誘導される過分極はcGMPで変化しなかった。これらの結果はcGMPは電位依存性のチャンネルの調節に関係しているが、アセチルコリンのムスカリン様作用の機構とされている K^+ チャンネル活性化の媒介をするものではないと思われる。

(2) 細胞内にATPを注入すると正常な活動電位を延長し、またシアンを含むタイロード液中で短縮した活動電位のプラトー相を回復した。ADP、AMP、クレアチンリン酸、クレアチン注入の結果もATPがプラトー相形成のため必要な因子であることを示した。また、膜電流に及ぼす効果を研究した。

(3) パッチクランプ法により心筋細胞膜 K チャンネルの内向き整流特性の機構を研究し K^+ イオンの平

平衡電位より正電位側で開閉するゲートの性質を電気生理学的に明らかにした。また不活性化ゲート以外に弁のような働きをするゲートの存在を推定しその速度論的性質を研究した。

本研究は心筋各部位から細胞を単離し、これに種々のヌクレオチドを微量注入して活動電位にあらわれる変化を研究する手段をはじめて開発し、またパッチクランプ法などの最新の技法を導入してcGMP, ATPなどの調節因子としての役割を電気生理学的に明らかにした独創的研究で、今迄組織片についてしか行われなかったこの課題に対し単離細胞を用いることにより明確な結論を与えたものとして重要である。これらは心筋膜興奮機構解明に重要な寄与をなすもので、この論文は理学博士の学位論文として充分の価値のあるものと認める。