



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | シャジクモ節間細胞細胞膜電気的特性の定量的解析                                                                                                                         |
| Author(s)    | 筒井, 泉雄                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1987, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35327">https://hdl.handle.net/11094/35327</a>                                                             |
| 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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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) | 筒井泉雄                                                     |
| 学位の種類   | 理学博士                                                     |
| 学位記番号   | 第 7622 号                                                 |
| 学位授与の日付 | 昭和 62 年 3 月 26 日                                         |
| 学位授与の要件 | 理学研究科生理学専攻<br>学位規則第 5 条第 1 項該当                           |
| 学位論文題目  | シャジクモ節間細胞細胞膜電気的特性の定量的解析                                  |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 永井 玲子<br>(副査)<br>教授 原 富之 助教授 向畑 恭男 名誉教授 岸本卯一郎 |

### 論文内容の要旨

淡水産緑藻シャジクモの一種, *Chara corallina* の節間細胞は膜興奮性を持ち, 外部からの電気刺激に応答して, 活動電位を発生することが知られている。この活動電位は, 主として,  $K^+$ ,  $Cl^-$  に対する細胞膜の透過性の一過的な増大によって起こると説明されてきた。この膜興奮性は, 細胞外液中の  $Ca^{2+}$  濃度変化に応答して鋭敏に変化するが,  $Ca^{2+}$  が細胞膜興奮に対してどのような役割を果たしているのかは現在まで不明であった。本研究は, この  $Ca^{2+}$  と密接に関連したシャジクモ節間細胞の興奮メカニズムを解明することを目的として行われ, 結果として, シャジクモ節間細胞興奮の  $Ca^{2+}$  による制御機構が明らかになった。

細胞外液 (人工池水) 中の  $Ca^{2+}$  チャンネル閉口剤や EGTA は細胞膜の興奮性を著しく抑制させた。この結果は興奮性チャンネルが,  $Ca^{2+}$  チャンネルを通じて流入した  $Ca^{2+}$  によって trigger されていることを示唆しており, 従来観測されてきた興奮性に対する外液  $Ca^{2+}$  の効果が,  $Ca^{2+}$  チャンネルおよび  $Ca^{2+}$  流入の性質を反映したものであることが判明した。

膜電位固定 (voltage clamp) 条件下の細胞の電流電圧特性の測定から,  $Ca^{2+}$  チャンネル閉口剤によって 2 種の ( $Cl^-$  及び  $K^+$ ) 電流のうち, 一過性の  $Cl^-$  電流だけが特異的に消失し,  $K^+$  電流は阻害効果を受けないことが判明した。これは,  $Ca^{2+}$  依存に活性化を受けるチャンネルが  $Cl^-$  チャンネルであり,  $K^+$  チャンネルは  $Ca^{2+}$  非依存的なチャンネルであることを示唆している。また,  $Sr^{2+}$  等の  $Ca^{2+}$  とよく似たイオンで長時間細胞を処理する実験から,  $Ca^{2+}$  だけが,  $Cl^-$  チャンネルの活性化を引き起こすことが判明した ( $Ca^{2+}$  activated  $Cl^-$  channel)。

さらに, 細胞内に流入した  $Ca^{2+}$  によって引き起こされた, 細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の一過的な上昇が, カル

モジュリン等で代表される  $\text{Ca}^{2+}$  受容蛋白質を通じて、 $\text{Cl}^-$  チャンネル活性を調節する可能性を、カルモジュリン阻害剤 W-7 を用いて調べた。W-7 は選択的に  $\text{Cl}^-$  電流を阻害したが、 $\text{K}^+$  電流には変化を与えなかったことから、 $\text{Cl}^-$  チャンネルの活性化にカルモジュリン系が関与していることが示唆された。また、 $\text{Cl}^-$  チャンネルの制御に対して、他の  $\text{Ca}^{2+}$  調節系である C キナーゼ系がどのような効果を持つのかについて、C キナーゼの阻害剤 H-7 を用いて同様の実験を行い、C キナーゼ系がカルモジュリン系とは逆に  $\text{Cl}^-$  チャンネルの不活性化過程に働いている可能性を見いだした。

$\text{K}^+$  チャンネルは単純に  $\text{Cl}^-$  チャンネルの活性化、不活性化にともなう、脱分極、過分極によって、活性化、不活性化が制御され、 $\text{Cl}^-$  チャンネルは細胞外から流入した  $\text{Ca}^{2+}$  とカルモジュリン系によって活性化され、つづけて C キナーゼ系を通じて不活性化されるという、電位と  $\text{Ca}^{2+}$  による興奮の制御様式が明らかになった。

### 論文の審査結果の要旨

淡水産緑藻シャジクモの節間細胞は、膜興奮性をもち、外部からの電気刺激に応じて活動電位を発生する。この活動電位は、主として、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  に対する細胞膜透過性の一過的な増大によって起ると説明されてきた。また、活動電位の絶対値や、時間的経過が外液中の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度によって鋭敏に影響をうけることも観察されてきた。しかし、これまでの多くの研究に拘らず、神経における  $\text{Na}^+$  チャンネルに適用されたような特異的阻害剤が発見されなかったことから、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  チャンネルの性質に関する研究が進展しなかった。一方調節因子として中心的役割を担っていることが予想されながら、 $\text{Ca}^{2+}$  の働きは明確にされ得ないまま残されていた。本論文は、上記のような膜興奮に関する中心の問題に解答を与えたものといえることができる。

$\text{La}^{3+}$ 、ベラパミル、ニフェジピン等は、 $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルの特異的閉口剤として知られている。筒井泉雄君はこれらによって、興奮時に  $\text{Cl}^-$  チャンネルを通して流れる電流が特異的に消滅すること、一方  $\text{K}^+$  電流は影響を受けることなく残存することを見出し、詳細な電気生理学的検討の上に立ってチャンネルの性質を明らかにした。即ち  $\text{Cl}^-$  チャンネルは  $\text{Ca}^{2+}$  の流入が引き金となって開口する。 $\text{Ca}^{2+}$  は必須、且つ特異的であり、他の 2 価カチオンによっては代用され得ない。一方、 $\text{K}^+$  チャンネルは電位変化のみに依存して開口するような性質のものである。同君は、また、 $\text{Ca}^{2+}$  はカルモジュリンと協同して  $\text{Cl}^-$  チャンネルの開口に働き、C キナーゼ系が閉口に関与していることをも示した。これらの発見は、本研究を通じて、その存在が初めて明らかにされた  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルの構成と性質を分子レベルで解明するための道を開いたといえよう。

以上の点を考慮し、本論文は学位論文として価値あるものと判断した。