

Title	心筋拍動の液性調節機構 : 単離心筋細胞を用いた生化学的研究
Author(s)	都田, 悟朗
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35328
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【24】

氏名・(本籍)	みやこ 都	た 田	こ 悟	ろう 朗
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	7632	号	
学位授与の日付	昭和62年3月26日			
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	心筋拍動の液性調節機構—単離心筋細胞を用いた生化学的研究—			
論文審査委員	(主査)			
	教授	中村	隆雄	
	(副査)			
	教授	福井	俊郎	教授 中川 八郎

論文内容の要旨

ほ乳動物の心筋の収縮機構については、収縮を直接引き起こすのは心筋小胞体からの Ca^{2+} 遊離であり、細胞膜の興奮時に一過性に細胞内に流入する少量の Ca^{2+} がその引き金となっているという説 (calcium-induced calcium release) が現在のところ有力である。心筋における β アドレナリン作用の発現機構はこの心筋小胞体の Ca^{2+} 輸送を含んだ細胞内 Ca^{2+} 動態に密接に関係していると考えられている。すなわち、 β レセプター、アデニレートシクラーゼを介したcAMP-cAMP依存性プロテインキナーゼ系の活性化により、1) 細胞膜の Ca^{2+} チャンネルの活性化、2) 筋小胞体膜上のタンパク、ホスホランパンのリン酸化に伴う Ca^{2+} ポンプATPアーゼの活性化、3) 収縮系のタンパク、トロポニンIのリン酸化とトロポニンCの Ca^{2+} 親和性の変化等が観察されている。そこで、心筋としての運動性を保持した系の中で、これらの事実が持つ生理的意義、すなわちホルモン作用の結果として起こる心筋の収縮性の制御における役割を検証する目的で、単離心筋細胞を用いた研究を計画した。単離心筋細胞は1) 個々の細胞の運動性の定量化が容易で、2) 神経系の影響をうけない均一な細胞系であり、3) 細胞膜が直接外液に接しているのでホルモンや薬物の効果を定量的かつ速やかに調べることができる、という特徴をもっている。よって、ホルモン刺激時の運動性の変化と細胞内 Ca^{2+} 動態さらにはタンパク質のリン酸化反応が同一条件の下で測定できる。単離心筋細胞をEGTAと界面活性剤サポニンで処理することにより細胞膜の透過性を高めたいわゆる、スキンドセルを調製した。この細胞は細胞膜の興奮が起こらない為普通の単離心筋細胞に比べさらに系が単純化されており、しかもATP存在下に $\sim 10^{-7}M$ の Ca^{2+} で周期的な収縮運動を起こした。この周期的運動は心筋小胞体での Ca^{2+} の取込みと自発的な遊離によるものなので、この細胞が細胞内 Ca^{2+} 動態と運動性の変化をみるのに適した系であるといえる。

cAMPはこの周期的運動の同期と収縮の大きさをともに増大させるが、 β アゴニストのイソプロテレンオールとGTPによっても同様の効果が観察された。またこのときホルモン刺激に応じたcAMPも生成した。これらのことからこのスキンドセルが機能的な β レセプターを細胞膜上に保持していることが明らかになった。そこでアゴニスト投与によるタンパクのリン酸化と運動性の変化を比較した。スキンドセルの収縮頻度の増大に伴いリン酸化されるのは収縮系のタンパク、Cプロテイン、トロポニンI、膜タンパク、ホスホランパン、15Kタンパクであった。一方、アンタゴニスト添加後の収縮頻度の減少とともに速やかに脱リン酸化をうけるのは15Kとホスホランパンのみであった。また、スキンドセルを用いて筋小胞体への Ca^{2+} の取込みを Ca^{2+} 遊離を阻害した条件下で測定するとcAMPにより Ca^{2+} 取込み速度は約2倍に促進された。以上のことから心筋拍動の β アドレナリン調節機構において、ホスホランパンと15Kタンパクはそのリン酸化、脱リン酸化を介して弛緩速度や収縮の大きさを直接制御していることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

心臓の拍動は種々の要因によって調節されているが、中でもベータアドレナリン作用によるものが最も重要である。しかしその調節メカニズムの分子論的基礎については未だ不明の点が多い。その原因の一つはこれ迄の研究が多くは全心臓を対象としたものであって、血管と心筋への作用を重複して観察するものに限られていたことにある。

都田君の研究はこの難点を解決するため心筋組織から細胞を単離し、培養液中に浮遊した状態でアドレナリン投与時における心筋細胞の拍動能の変化と特定タンパクのリン酸化を平行して測定する系を開発した。特に今迄この様な系では死細胞が半数近くを占めることが難点とされてきたが、本研究ではサポニン処理等により殆ど生細胞100%の標品を得ることに成功し、生化学的な解析法の導入を可能ならしめた点は高く評価される。その結果、ベータアドレナリン作用又はその拮抗剤的作用により拍動の促進又は制御と平行してホスホランパンと15Kタンパクのリン酸化が促進又は制御されることが示されたことは、心筋細胞の拍動機構研究に対する大きな寄与である。よって本研究は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。