



Title	Inwardly Rectifying K ⁺ Channel in Retinal Muller Cells : Comparison with the KAB-2/Kir4.1 Channel Expressed in HEK293T Cells
Author(s)	多田, 仁彦
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40760
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	た だ よし ひ 多 田 仁 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 3 6 9 0 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	Inwardly Rectifying K ⁺ Channel in Retinal Müller Cells : Comparison with the K _{AB} -2/Kir4.1 Channel Expressed in HEK293T Cells 網膜ミュラー細胞における内向き整流性カリウムチャネルK _{AB} -2/Kir4.1の発現)
論文審査委員	(主査) 教授 倉智 嘉久 (副査) 教授 福田 淳 教授 吉矢 生人

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

網膜において細胞K⁺濃度を一定にする機能を持つといわれる、ミュラー（グリア）細胞の内向き整流K⁺チャネルを電気生理学的に調べ、これが10種類以上存在する内向き整流K⁺チャネルファミリーのいずれに一致するかを、分子のレベルで明らかにすることを目的とした。

【方法ならびに成績】

方法

ウサギ網膜からパピリン分解によって単離したミュラー細胞と、クローン化された内向き整流K⁺チャネルを発現させたヒト胎児由来の培養細胞HEK293T細胞について、whole-cellおよびsingle-channelの両モードでのパッチクランプ法による電気生理学的実験を行い、観察されたK⁺チャネルを詳細に比較した。

成績

ウサギミュラー細胞での200パッチを超える実験からは、内向き整流K⁺チャネルが1種類のみ観察された。このK⁺チャネルの性質は、HEK293T細胞に発現させた内向き整流K⁺チャネルクローンのうちK_{AB}-2/Kir4.1チャネルの性質に類似していた。そこでさらにこの2種類のチャネルについて詳細な比較検討を行った。Whole-cellモードにおいて両細胞にはBa²⁺感受性内向き整流性の電流を観察した。Single-channelモードにおいては両チャネルの単位コンダクタンス、イオン選択性を比較し、その結果両チャネルがともに約25pSの単位コンダクタンスを有し、K⁺特異的なイオン選択性を示すことを明らかにした。さらにキネティック解析の結果、両チャネルの開口時間・閉鎖時間の一致が見られることを示した。これらを総括し、ウサギミュラー細胞に発現する内向き整流K⁺チャネルはK_{AB}-2/Kir4.1であると結論した。

【総括】

グリア細胞は脳においてその体積の実に90%を占めながら、その働きについては神経細胞ほど深く解明されていない。神経系において神経細胞が発火することにより細胞外K⁺濃度が上昇すると、これにより神経細胞の静止膜電位

が浅く（脱分極側に偏移）なるが、この傾向が放置されればやがて神経活動は阻害される。グリア細胞には、細胞外 K^+ を取り込んで細胞外濃度の上昇を防ぎ、神経組織の恒常性を維持する spatial buffering と呼ばれる働きがある。この spatial buffering にはグリア細胞に発現する内向き整流 K^+ チャンネルが不可欠と考えられているが、詳細は明らかになっていない。

$K_{AB-2}/Kir4.1$ はラット脳から cDNA として単離された内向き整流 K^+ チャンネルクローンであり、特にグリア細胞に強く発現することから、 $K_{AB-2}/Kir4.1$ が spatial buffering に関与することが示唆された。今回パッチクランプ法による比較を行った結果、網膜のグリア細胞であるミュラー細胞に存在する内向き整流 K^+ チャンネルが、 $K_{AB-2}/Kir4.1$ と電気生理学的に一致することが示された。この事実は今まで電気生理学的にのみ同定されていたウサギミュラー細胞の内向き整流 K^+ チャンネルに分子的背景を与え、さらに $K_{AB-2}/Kir4.1$ が spatial buffering において重要な役割を果たす可能性がきわめて高いことを示すものである。

論文審査の結果の要旨

本論文は、ウサギ網膜の主なグリア細胞であるミュラー細胞の内向き整流 K^+ チャンネルをパッチクランプ法を用いて電気生理学的に調べ、このチャンネルがクローン化された内向き整流 K^+ チャンネルのひとつである $K_{AB-2}/Kir4.1$ に一致することを示したものである。

神経系で神経細胞の活動により細胞外 K^+ 濃度 ($[K^+]_o$) が大きく変動していると考えられている。この $[K^+]_o$ の変動はシナプスの伝達を妨げ、神経系の正常な機能を阻害する。グリア細胞にはこの $[K^+]_o$ の変動を調節して神経系の恒常性を保つ機能が存在し (spatial buffering), この機能はグリアの内向き整流 K^+ チャンネルによって行われるとされてきたが、実際に10種以上存在するチャンネルのうちいずれが関与するかは不明であった。本論文は網膜の主要なグリア細胞であるミュラー細胞において $K_{AB-2}/Kir4.1$ がこの spatial buffering を行っている本体である可能性を強く示した点で意義深い。それらを示すため本論文は、緻密に計画され精細な観察手法に裏付けられた実験に基づいており、また総じて実験医学としての総意に富んでいるため、博士（医学）の学位授与に値すると判断した。