

Title	心筋Na <sup>+</sup> -Ca <sup>2+</sup> 交換系の病態的意義に関する研究
Author(s)	綿野, 智一
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43033">https://hdl.handle.net/11094/43033</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	わたのともかず 綿野智一
博士の専攻分野の名称	博士 (薬学)
学位記番号	第 15060 号
学位授与年月日	平成12年2月2日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	心筋 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交換系の病態的意義に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 松田 敏夫 (副査) 教授 前田 正知 教授 馬場 明道 教授 東 純一

### 論文内容の要旨

$\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$  交換系 (NCX) は、細胞膜を介して3個の  $\text{Na}^+$  と1個の  $\text{Ca}^{2+}$  を交換する起電性のイオントランスポーターで、その駆動力は ATP などのエネルギーを必要とせず細胞内外の  $\text{Na}^+$  と  $\text{Ca}^{2+}$  のイオン濃度勾配および電位勾配によって規定されている。そのため本トランスポーターは細胞内外のイオン濃度および膜電位によって順モード、逆モード、どちら向きにも  $\text{Ca}^{2+}$  を輸送することのできる両方向性の輸送体である。NCX は様々な臓器での存在が知られており、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) の調節を介して細胞の生理機能や病態発現に重要な働きをしていると考えられている。

通常の心筋細胞では NCX は  $\text{Ca}^{2+}$  排出方向である順モードとして働き、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を細胞外の  $1/10,000 \sim 1/1,000$  に維持するために重要な働きをしている。一方、心筋虚血時や再灌流時には、逆に  $\text{Ca}^{2+}$  流入の逆モードとして働き、過剰な  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇を引き起こす ( $\text{Ca}^{2+}$  オーバーロード) と考えられている。この  $\text{Ca}^{2+}$  オーバーロードは不整脈や心筋細胞壊死などの種々の虚血・再灌流障害の発現に関与していると考えられている。このため、NCX の逆モードの選択的な阻害薬は、心筋の障害を保護する可能性があり、また NCX の心筋における生理的および病態的意義を明らかにする上で重要なツールとなり得る。しかしながら、このような目的として利用可能な NCX 阻害薬は開発されていない。重金属イオンの  $\text{La}^{3+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$  や amiloride 誘導体の 3',4'-dichlorobenzamil (DCB) は NCX を阻害するが他のチャンネル等も抑制し選択性は低い。NCX 抑制ペプチド XIP は NCX を選択的に抑制するが、細胞内に適用しないと作用しないため有用ではない。

本研究では心筋における NCX の病態的意義を明らかにすることを目的として、新規に合成された KB-R7943 (2-[2-[4-nitrobenzyloxy]phenyl]ethyl)isothiourea methanesulfonate) の NCX 阻害作用の特性、および  $\text{Ca}^{2+}$  オーバーロードと関連する病態発現に対する作用を検討したものである。

電気生理学的手法によって、KB-R7943 が逆モードである外向き NCX 電流を、 $\text{IC}_{50}$  値約  $0.3 \mu\text{M}$  で抑制し、この抑制作用は順モードである内向き NCX 電流、電位依存性  $\text{Na}^+$  電流、電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  電流および内向き整流性  $\text{K}^+$  電流よりも20-50倍強いことを示した。また、KB-R7943は外向き NCX 電流の  $K_m[\text{Ca}^{2+}]_o$  値を増加させ、 $I_{\text{max}}$  を変化させ

なかったことより、KB-R7943は $[Ca^{2+}]_i$ と競合して外向きNCXを抑制し、KB-R7943の $[Ca^{2+}]_i$ との競合部位は1つであると考えられた。さらに、KB-R7943の抑制作用は可逆的であり、細胞外からしか作用しないことより、KB-R7943の結合部位は細胞膜の外側にあると考えられた。また生化学的な手法によっても、KB-R7943は逆モードのNCXを順モードのNCXより強く抑制し、 $Na^+/H^+$ 交換系、 $Ca^{2+}$ -ATPase、 $Na^+/K^+$ -ATPase等のNCX以外のイオン輸送系に対しては明らかな影響を与えないことを示した。以上、電気生理学的手法および生化学的手法を用いて、KB-R7943が逆モード( $Ca^{2+}$ 流入方向)に選択的なNCX阻害薬であることを明らかとした。また、以前よりNCXを抑制することが知られているDCB(10、30  $\mu$ M)は、内向きNCX電流を抑制したが、外向きNCX電流に対しては明らかな作用を示さなかったことより、KB-R7943とは逆に順モード( $Ca^{2+}$ 排出方向)に選択的なNCX阻害薬であることを明らかとした。

次に、NCXの病態発現に対する関与を検討するために、心室筋細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 除去、再負荷による $Ca^{2+}$ パラドックスに対するKB-R7943の作用を検討した。逆モードのNCXのみ抑制すると考えられる低濃度(3および10  $\mu$ M)のKB-R7943が、 $[Ca^{2+}]_i$ 除去、再負荷時の $Ca^{2+}$ パラドックスによる $Ca^{2+}$ の過剰流入を抑制したことより、心筋の $Ca^{2+}$ パラドックスに逆モードのNCXが関与していることが考えられた。また、モルモット単離心房標本におけるouabain誘発positive tonotropic作用および不整脈に対するKB-R7943の抑制作用を示し、そして、麻酔モルモットにおけるouabain誘発不整脈に対するKB-R7943の抑制作用を示し、triggered activityタイプの不整脈にNCXが関与していることを明らかにした。

以上、 $Ca^{2+}$ オーバーロード関連の病態発現に逆モードのNCXが関わっていること、そして逆モードNCXの選択的な阻害が心筋障害を軽減する可能性を示した。今後、逆モードのNCXをターゲットとする新しい心筋障害保護薬の開発が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

$Na^+$ - $Ca^{2+}$ 交換系(NCX)は、細胞膜を隔て $Na^+$ と $Ca^{2+}$ を逆方向に輸送するイオントランスポーターで、正常時には $Ca^{2+}$ を汲み出し(順モード)病態時には $Ca^{2+}$ を取り込む方向(逆モード)に働くと考えられている。本研究は、まず、新規に開発されたKB-R7943のNCXに対する作用を電気生理学、生化学的手法で検討し、本化合物がNCXの逆モード選択的な阻害薬であることを明らかにした。そして、本化合物の作用の薬理学的解析から、NCXが心筋細胞の $Ca^{2+}$ パラドックス障害、ウアバイン誘発不整脈の発現に関わっていることを明らかにした。

以上、本研究におけるNCXの選択的阻害薬の開発並びにNCXの病態的意義の解明は、NCXを標的とする医薬品開発に大きく貢献するものであり、薬学博士の学位に十分値するものである。