OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Methamphetamine directly accelerates beating rate in cardiomyocytes by increasing Ca2+ entry via L-type Ca2+ channel
Author(s)	杉本, 香奈
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54119
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

【39】

氏名	杉本香奈（すぎもとかな）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第　23608　号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Methamphetamine directly accelerates beating rate in cardiomyocytes by increasing Ca^{2+}entry via L-type Ca^{2+}channel （メタンフェタミンの培養心筋細胞に対する直接作用に関する研究）
論文審査委員	（主査） 教授　的場　梁次 （副査） 教授　澤　芳樹　教授　倉智　嘉久

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

現在、覚醒剤(メタンフェタミン:MAP)は我が国で最も乱用されている薬物の一つであり、社会的に大きな問題となっている。

覚醒剤は主に末梢神経の神経終末に作用し、カテコールアミンを過剰放出させることで心毒性を惹起することが知られている。一方、近年覚醒剤が直接的に心筋に作用し、心臓突然死を引き起こす可能性を示唆する報告もある。しかしながら、MAPの心筋に対する直接作用に関する詳細なメカニズムについては不明な点が多い。従って、本研究では心筋細胞の興奮－収縮連関に及ぼすMAPの直接的影響について検討を行った。

〔　方法ならびに成績　〕

新生仔ラットから心筋細胞を単離し、培養4-5日目にMAP(1-500μM)を添加した。その結果、MAP(500μM)を添加後、5分間で心筋細胞の拍動数の増加およびCa^{2+}オシレーションの変化(振動数の増加、振幅の減少、弛緩時細胞内Ca^{2+}濃度の増加)が認められた。この変化がMAPの神経細胞を介した間接的作用によるものかを検討するために、培養心筋細胞への神経細胞の混入について検討した。神経細胞のマーカーであるmicrotubule-associated protein 2に対する免疫蛍光染色を行ったところ、培養心筋細胞中への神経細胞の混入は認められなかった。このことから、MAPによる拍動数の増加およびCa^{2+}オシレーションの変化は神経終末における神経伝達物質

の過剰放出によるものではないことが示唆された。

次に、心筋細胞の興奮－収縮連関に関連する種々の分子に対するMAPの作用について検討を行った。まず、α1受容体の阻害剤(プラゾシン)およびβ受容体阻害剤(プロプラノロール)の存在下でMAPを添加し、拍動数およびCa^{2+}オシレーションの変化を検討した。その結果、α1およびβ受容体を阻害した場合でも、MAPにより引き起こされる拍動数およびCa^{2+}オシレーションの変化は抑制されなかった。また、β受容体刺激薬であるイソプロテレノールを添加したところ、Ca^{2+}オシレーションの振動数は増加したが、MAP添加時に認められた振幅の減少や弛緩時の細胞内Ca^{2+}濃度の増加は認められなかった。これらの結果から、MAPによる心筋細胞の拍動数の増加およびCa^{2+}オシレーションの変化はアドレナリン受容体を介して引き起こされていないことが示唆された。

次に、筋小胞体におけるCa^{2+}動態を制御しているリアノジン受容体の阻害剤(ルテニウムレッド)および筋小胞体Ca^{2+}-ATPaseの阻害剤(シクロピアゾン酸)の存在下でMAPを添加し、拍動数およびCa^{2+}オシレーションの変化を検討した。その結果、リアノジン受容体および筋小胞体Ca^{2+}-ATPaseを阻害した場合でも、MAPにより引き起こされる拍動数およびCa^{2+}オシレーションの変化は抑制されなかった。一方、細胞膜に存在するL型Ca^{2+}チャネルの阻害剤であるニフェジピンの存在下では、MAPにより引き起こされる心筋細胞の拍動数の増加やCa^{2+}オシレーションの変化が抑制された。さらに、L型Ca^{2+}チャネルの主要なサブユニットであるα1Cサブユニットを強制発現させたHEK-293T細胞にMAPを添加し、細胞内Ca^{2+}の変化を観察した。その結果、MAP刺激により細胞内Ca^{2+}濃度の増加が認められた。このMAPにより引き起こされた細胞内Ca^{2+}濃度の増加は、ニフェジピンにより抑制された。また、L型Ca^{2+}チャネルを発現していないHEK-293T細胞においては、MAP刺激による細胞内Ca^{2+}濃度の上昇は認められなかった。これらの結果から、MAPはL型Ca^{2+}チャネルと相互作用することにより心筋細胞の細胞内Ca^{2+}濃度を上昇させていることが示唆された。

〔　総　　括　〕

MAPは心筋細胞に直接作用し、L型Ca^{2+}チャネルからのCa^{2+}流入を増加させ、Ca^{2+}オシレーションを変化させることにより、心筋細胞の拍動数を増加させることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

覚醒剤は我が国で最も乱用されている薬物の一つである。覚醒剤は神経終末に作用しカテコールアミンを過剰放出させることで心毒性を惹起することが知られている。一方、覚醒剤が直接的に心筋に影響を与える可能性を示唆する報告もあるが、その詳細なメカニズムについては不明な点が多い。

今回、我々は心筋細胞の興奮－収縮連関に及ぼすメタンフェタミン(MAP)の直接的影響について検討を行った。新生仔ラットから心筋細胞を単離し、MAP (500 μM)を投与した。MAP投与後、5分間で心筋細胞の拍動数の増加およびCa^{2+}オシレーションの変化が認められた。これらの変化は、L型Ca^{2+}チャネルの阻害剤であるニフェジピンにより明らかに抑制された。

以上の結果から、MAPは心筋細胞に直接作用し、L型Ca^{2+}チャネルを活性化することで、拍動数やCa^{2+}オシレーションを変化させると考えられる。

上記の結果は、博士の学位授与に値するものと認める。