

氏 名	中 村 紘 子
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 4 2 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 3 年 3 月 1 0 日
学 位 論 文 題 目	Presence and functional role of the rapidly activating delayed rectifier K <sup>+</sup> current in left and right atria of adult mice  (マウスの左右心房における急速活性型遅延整流カリウム電流の発現と 機能的役割)
審 査 委 員	主 査 教 授 堀 江 稔 副 査 教 授 村 田 喜 代 史 副 査 教 授 田 中 俊 宏

## 論文内容要旨

*整理番号	647	氏名 (フリガナ)	なかむら ひろこ 中村 絃子
学位論文題目	Presence and functional role of the rapidly activating delayed rectifier K <sup>+</sup> current in left and right atria of adult mice (マウスの左右心房における急速活性化型遅延整流性カリウム電流の発現と機能的役割)		
<p><b>【目的】</b></p> <p>心筋細胞の活動電位は、神経や骨格筋と同様に、細胞膜に存在する種々のイオンチャネル (Na<sup>+</sup>チャネル、Ca<sup>2+</sup>チャネル、K<sup>+</sup>チャネル、Cl<sup>-</sup>チャネル) の開閉に伴う膜電流の消長により形成される。そのうち K<sup>+</sup>チャネルは心筋細胞の活動電位持続時間 (APD) や静止膜電位の形成に関わり、神経伝達物質や抗不整脈が作用する標的となるため重要である。これまでマウス心筋細胞に様々な K<sup>+</sup>チャネルが発現することが報告されている。そのうち超急速活性化遅延整流 K<sup>+</sup>電流 (<math>I_{Kur}</math>) は活動電位の早期再分極の形成に関わり、一方、急速活性化遅延整流 K<sup>+</sup>電流 (<math>I_{Kr}</math>) は活動電位の後期再分極の過程を調節すると考えられている。さらに興味あることは、イヌにおいて左右の心房で <math>I_{Kr}</math> 電流の大きさの違いにより APD の不均一性をもたらし、このことは心房細動の発生頻度につながると考えられている。現在までマウス心房筋における <math>I_{Kr}</math> の発現および <math>I_{Kr}</math> と <math>I_{Kur}</math> との相互作用による心房活動電位の影響はまだ十分に解明されていない。本研究は心房細胞における <math>I_{Kr}</math> の発現とその機能的役割について検討した。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>8 から 10 週齢の雄性 C57B6J マウスを酵素処理により心房細胞を左右別々に単離した。単離した心房細胞にホールセルパッチクランプ法を適用して、電位依存性 K<sup>+</sup>電流 (<math>I_{Kr}</math> と <math>I_{Kur}</math>) と活動電位の記録を行った。</p> <p><b>【結果】</b></p> <p>左右の心房細胞を用いて活動電位および静止電位を記録した。活動電位持続時間 (APD) は 50%あるいは 90%再分極時の活動電位持続時間 (APD<sub>50</sub>, APD<sub>90</sub>) で計測した。結果として左心房よりも右心房では APD<sub>50</sub> と APD<sub>90</sub> ともに有意に長かった。一方、静止電位は左右心房ではほぼ同様であった。<math>I_{Kr}</math> チャネルの発現を調べるために Ca<sup>2+</sup>電流を抑制した (阻害薬 Nisoldipine 投与) 条件下または脱分極電位による Na<sup>+</sup>電流の不活性化された条件下で <math>I_{Kr}</math> 電流を記録した。心房細胞に脱分極刺激を与えると外向き K<sup>+</sup>電流が誘発され、さらに <math>I_{Kr}</math> の選択的阻害剤である E4031 の存在下での差電流により <math>I_{Kr}</math> 電流の機能発現</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

を認めた。 $I_{Kr}$ 電流の大きさや活性化の電位依存性、脱活性化の速さには左右心房において差はなかった。一方、APDに及ぼすE4031の効果は、後期再分極過程を反映するAPD<sub>90</sub>で左心房よりも右心房で有意に大きかった。次は同様な条件下で $I_{Kur}$ の阻害薬である4-aminopyridine (4AP)の存在下での差電流として $I_{Kur}$ を記録した。 $I_{Kur}$ 電流の大きさは右心房よりも左心房で大きいことが認められた。同様にAPDに及ぼす4APの延長効果は、APD<sub>50</sub>で右心房よりも左心房で大きかった。

#### 【考察】

本研究では $I_{Kr}$ チャンネルが成熟マウスの心房細胞に機能発現することを示した。他の哺乳動物では心室筋より心房筋の $I_{Kr}$ の電流密度が大きいと報告され、つまり $I_{Kr}$ が心房筋での再分極過程により重要な役割をもつ可能性が示唆された。近年ヒト $I_{Kr}$ の $\alpha$ サブユニットのhERGの発現をコードする遺伝子に多くのミスセンス変異が見つかっており、これらの変異体は先天性と薬剤誘発性のlong QT症候群や心室性不整脈の発生に結びつく可能性が考えられている。これまで種々の哺乳動物において $I_{Kr}$ が心室筋と同様に心房筋でも適切な電気活動を形成するのに重要な役割をもつことが報告されており、本研究は $I_{Kr}$ がマウスの心房筋の活動電位の形成に大きな役割を果たしていることを示唆した。

イヌ心房では $I_{Kr}$ 電流の大きさの左右心房間の違いによりAPDの不均一性をもたらしたことが報告されたが、本研究では $I_{Kur}$ がより小さい右心房でより長いAPDを形成し、左右の心房間でAPDの不均一性を引き起こすことを示唆した。また本研究は左心房よりも右心房で後期再分極過程において $I_{Kr}$ の作用が有意に大きいことを示した。これはおそらく右心房のより長いAPDが右心房の $I_{Kr}$ の機能的役割を増強させたからと考えられた。今回、マウス心房筋における $I_{Kr}$ の電流特性および $I_{Kr}$ と $I_{Kur}$ との相互作用に対する解明は、ヒト心房活動電位の発生機構や心房性不整脈への病態理解に有用な情報を与えたものと考えられた。

#### 【結論】

本研究では、マウスの左右心房筋において $I_{Kr}$ の機能発現をはじめて証明した。 $I_{Kr}$ 電流の大きさは左右の心房筋でほぼ同じであったが、その機能的役割は左心房よりも右心房でより大きかった。またマウス心房筋では $I_{Kr}$ と $I_{Kur}$ との相互作用は左右心房の活動電位における不均一性の形成に大いに関わった。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	647	氏名	中村 紘子
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>本研究は、マウスの単離心房筋細胞にホールセルパッチクランプ法を適用して活動電位の再分極に重要な役割を示す <math>I_{Kur}</math> (超急速活性化遅延整流性カリウム電流) と <math>I_{Kr}</math> (急速活性化遅延整流性カリウム電流)、そして活動電位の記録を行ったものである。</p> <p>結果は、活動電位の持続時間は左心房よりも右心房で有意に長かった。また両心房で <math>I_{Kr}</math> の選択的阻害剤である E4031 (<math>5\mu\text{M}</math>) に反応する外向き電流を認め、この電流の大きさと特性は左右心房でほぼ同じ結果であった。活動電位に及ぼす E4031 の持続時間延長効果は <math>\text{APD}_{90}</math> で左心房よりも右心房で大きく、これは左心房よりも右心房で後期再分極相における <math>I_{Kr}</math> の関与が大きいことを示した。また両心房でほぼ完全に <math>I_{Kur}</math> のみを阻害する 4AP (<math>50\mu\text{M}</math>) の投与に反応する外向き電流を認め、この電流の大きさは右心房よりも左心房で大きいことがわかった。活動電位に及ぼす 4AP (<math>50\mu\text{M}</math>) の持続時間延長効果は <math>\text{APD}_{50}</math> で右心房よりも左心房で大きく、これは右心房よりも左心房で早期再分極相での <math>I_{Kur}</math> の関与が大きいことを示した。</p> <p>本論文はマウスの心房筋において初めて <math>I_{Kr}</math> の存在を明らかにし、またその機能的意義は左右心房で差があることを証明したものであり、最終試験として論文内容に関連した諮問を受け、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p>			
<p>(総字数 579 字) (平成 23 年 2 月 1 日 )</p>			