

氏 名（本籍） ば ば しげ お
馬 場 恵 夫

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 3 3 6 3 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 17 年 3 月 2 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 平 成 3 年 3 月 28 日
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 心筋梗塞後の残存心筋細胞におけるナトリウムチャ
ネル機能に対する PKA 活性化因子の効果に関する
研究

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 白 土 邦 男 教 授 田 林 暁 一

教 授 上 月 正 博

論文内容要旨

目的・方法

今回の研究において、PKA 活性化因子の正常心外膜側心筋細胞 (NZ) 及び心筋梗塞作成 5 日後の心筋梗塞巣心外膜側心筋細胞 (IZ) におけるナトリウムチャンネルに対する効果について検討した。方法としては、パッチクランプ法を用いた。

結 果

PKA 活性化因子 (IBMX, forskolin, cyclic AMP の混合物) の灌流により、ピークのナトリウム電流は NZ で $32 \pm 5.3\%$ 、IZ で $17 \pm 5.4\%$ といずれも有意に増加した。しかしながら、この増加効果にもかかわらず IZ におけるピークのナトリウム電流はコントロールの NZ の値にまでは回復しなかった。両群の細胞において、細胞 1 個当たりの電流密度に対する PKA 活性化因子の効果は I/I_{max} 曲線のシフト及び不活性化状態からの回復の遅延を伴っていた。イオンチャンネルの closed state からの不活性化は促進された。さらに、細胞内小胞の移動を阻害することで知られている chloroquine の存在下では、PKA 活性化因子のナトリウム電流増加作用は NZ では部分的に抑制されたが、IZ では完全に消失した。両群でのナトリウムチャンネルの基底のリン酸化状態が異なるか否かを調べるため、okadaic acid (OA) 及び protein phosphatase 2A1 (PP2A1) の効果を検討した。NZ に OA を投与した群ではコントロールの NZ と比べてナトリウム電流は有意に大であったが、IZ に OA を投与した群のナトリウム電流は OA を投与しない IZ と比較して有意な差を認めなかった。また、NZ に PP2A1 を投与した群ではコントロールの NZ と比べてナトリウム電流は有意な差を認めなかったが、IZ に PP2A1 を投与した群のナトリウム電流は PP2A1 を投与しない IZ と比較して有意に小であった。その結果から、IZ でのナトリウムチャンネルは基底状態ですでにリン酸化されていることが示唆された。

結 論

IZ における心筋細胞のナトリウムチャンネルに対する PKA 刺激は、イオンチャンネルの細胞膜への移動により電流密度を増加させている可能性がある。しかしながらナトリウム電流は部分的には回復したものの NZ で認められる正常細胞の電流とは異なっていた。Kinetics 変化も IZ での PKA 刺激に伴って起こっており、okadaic acid と PP2A1 の結果から、心筋梗塞によって心筋細胞に電気的リモデリングが起こった状態では IZ におけるナトリウムチャンネルはすでにリン酸化されていることが示唆された。

審査結果の要旨

心室頻拍は危険な不整脈の一つで、失神や突然死の原因となる。中でも心筋梗塞や心筋症に合併した心室頻拍は予後を悪化させる要素の一つとされており、これまで抗不整脈薬、カテーテルアブレーション、植え込み型除細動器の植え込みなど、さまざまな治療法が試みられてきた。予後に関しては、抗不整脈薬や植え込み型除細動器による治療についての大規模試験が数多く行われており、多くの大規模試験によると抗不整脈薬による治療は植え込み型除細動器と比較して予後が不良であるとされてきた。また一部の試験では、抗不整脈薬投与がコントロールと比較しても予後を悪化させるという報告があり、現在でも抗不整脈薬の投与の可否については議論の多いところである。

本研究者は、protein kinase A (PKA) 刺激がイオン電流を増やすことに注目し、その電流増加作用が抗不整脈性に働くかどうかを研究した。実験方法としては器質的心疾患の一つとして心筋梗塞モデルを用い、心筋に存在する多くのイオンチャネルの中でもナトリウムチャネルに注目して研究を行った。その結果、心筋梗塞モデルから単離した心筋細胞 (IZ) では正常対照群 (NZ) と比較してナトリウム電流が有意に小であるものの PKA 刺激による増加作用が保たれていることを示した。さらに、PKA 刺激は両群細胞間の kinetics の差を除去あるいは減少させており、IZ とその周りの NZ に対して強い PKA 刺激を行うと生体内では心筋細胞の電氣的不均一性を減少させる可能性を示唆した。また PKA によるナトリウム電流の増加作用は、NZ ではイオンチャネルの trafficking と直接のリン酸化という二つのメカニズムによって引き起こされるのに対し、IZ でのナトリウム電流増加作用は trafficking のみによって起こっていることを明らかにした。イオンチャネルの基底のリン酸化状態に関しては、okadaic acid および protein phosphatase 2A1 を用いた実験により、IZ ではイオンチャネルがすでにリン酸化されていることを示した。

これらの結果は、PKA 刺激が抗不整脈性を持つ可能性を示唆しており、臨床的に非常に意義深い。また、PKA によるナトリウム電流の増加作用が NZ と IZ で異なることも示しており、興味深い。これまでの抗不整脈薬が全てイオン電流を減少させることによって作用するという発想から考案されていたのに対し、本論文はイオン電流を増加させることによって抗不整脈作用をもたらそうという斬新な発想であり、考案も整っている。今後の不整脈治療に新たな展開をもたらす内容であり、本研究は学位に十分値すると考える。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。