

審査の結果の要旨

氏名 福井 栄一

本研究は、心室筋に発現する内向き整流カリウムチャンネル (Kir) である古典的内向き整流カリウムチャンネル (IK1チャンネル: Kir2.1・Kir2.2)、ATP感受性カリウムチャンネル (K_{ATP} チャンネル: Kir6.2・SUR2) について、肥大大心 (モノクロタリン投与によるラット右室肥大モデル) におけるこれらチャンネルの発現の変化を遺伝子発現の変化という観点から検討したものであり、下記の結果を得ている。

心肥大の形成により

① ノーザンプロット法により検討した IK1 チャンネルのサブユニットの mRNA 発現レベルは、Kir2.1 は肥大にともない発現量が増加しその後も増加傾向を認めたのに対し、Kir2.2 は経過を通して有意な変化を認めなかった。

心室では Kir2.1、Kir2.2 とも発現しているが、成熟心筋細胞での IK1 チャンネルは、Kir2.2 からなると推定され、胎児型心筋細胞の IK1 チャンネルは Kir2.1 で構成されると推定されている。心肥大の形成時に心筋蛋白の多くが胎生期に出現しているアイソフォームへの変換する (胎児型蛋白への移行) ことが知られており、今回認めた Kir2.1 mRNA の発現の増加も、同様の胎児型蛋白への移行をみている可能性が示された。本モデルにおいては IK1 電流に変化を認めないことが知られているが、Kir2.1 で構成される IK1 チャンネルは Kir2.2 で構成される IK1 チャンネルよりチャンネルコンダクタンスが小さいため、チャンネルが増加しても電流密度としては変化を示さないと考えられた。また一方で、Kir2.1 は心筋細胞のみならず、心臓における血管平滑筋細胞や神経細胞にも発現しており、心肥大の形成にともないこれら細胞に存在する Kir2.1 mRNA が増加している可能性も考えられ、心筋細胞の Kir2.2 mRNA が変化しなかったため、IK1 電流はその電流密度に変化を認めなかった可能性も考えられた。

② ノーザンプロット法における検討では、 K_{ATP} チャンネルを構成している Kir6.2 と SUR2 のサブユニットの mRNA 発現レベルは肥大にともない増加し、非代償期心不全期には減少した。また SUR2 mRNA の発現の増加は Kir6.2 mRNA の発現の増加に比し軽度であった。

③ SUR2 のスプライシングバリエントである SUR2A、SUR2B の mRNA 発現量の比は、競合的 RT-PCR 法による検討により、コントロール群、モノクロタリン投与群とも、有意な変化は認めなかった。

今回認めた Kir6.2 mRNA、SUR2 mRNA の変化は、肥大形成期、代償性肥大大期にかけて発現が増加し、非代償性心不全期にはコントロール群のレベルまで減少した。これは肥大にともなう一種の適応現象および非代償期における適応破綻と考えられた。競合的 RT-PCR 法による検討により、SUR2A mRNA の発現の変化は SUR2 mRNA と同様と考えられた。この肥大大期における mRNA の発現の増加は、肥大大心において認める K_{ATP}

チャンネルの電流密度の増加との報告に一致した所見といえる。肥大心における K_{ATP} チャンネルのATP に対する感受性の低下については、今回の結果から次の様に考察している。SUR2 mRNA の発現の増加は Kir6.2 mRNA の発現の増加に比し軽度であったため、この発現量の増加の程度の違いがチャンネルのATP に対する感受性に影響を与えている可能性があるとしている。またもう一つの考察として、今回の SUR2 mRNA の発現の増加は SUR2A mRNA のみならず SUR2B mRNA の発現量の増加も含んでおり、肥大心においては、Kir6.2 と SUR2A で構成される K_{ATP} チャンネルとともに Kir6.2 と SUR2B で構成される K_{ATP} チャンネルが発現しており、そのため ATP に対する感受性が変化している可能性を挙げている。

④ In situ hybridization により検討した Kir6.2 mRNA の発現分布は、左室側ではコントロール群・モノクロタリン投与群ともに経過を通して心外膜側に多く発現していた。右室自由壁では、コントロール群においては経過を通して心外膜側に多く発現していたのに対し、モノクロタリン投与群では、肥大形成初期にはコントロール群と差はなかったが、肥大型には全層性に発現を認めるようになり、非代償性心不全期には内膜側・外側側に比し中層における発現が低下した。

Kir6.2 mRNA の発現分布は、左室側および右室自由壁のコントロール群では心外膜側に多く発現を認めた。これは K_{ATP} 電流 ($I_{K_{ATP}}$) は心外膜側に多いという所見に一致した所見といえる。一方モノクロタリン投与群では、肥大型には全層にわたる Kir6.2 mRNA の発現を認めた。肥大に伴い心筋は相対的虚血にさらされるが、この発現分布の変化は、虚血時に障害心筋に対して保護的に作用すると考えられている K_{ATP} チャンネルの働きに適った変化と考えられた。また非代償性心不全期には中層における発現が低下していた。この中層における Kir6.2 mRNA の発現低下は、機能的に働く K_{ATP} チャンネルが同様な分布を示すとすると、虚血等の低酸素、代謝障害時に K_{ATP} チャンネルが開口した際、中層において活動電位持続時間の短縮の程度が小さくなると考えられ、心室における貫壁性再分極時間のばらつきを増大する可能性があると考えられた。

以上、本論文はモノクロタリン投与ラット右室肥大モデルにおいて、生化学的手法により、肥大に伴い内向き整流カリウムチャンネルを構成するサブユニットごとに、その mRNA の発現に量的かつ質的变化があり、加えてその発現分布も変化していることを明らかにした。これまで肥大心における内向き整流カリウム電流の変化について、主にパッチクランプ法を用いた様々な生理学的検討がなされているが、いずれの電流密度においても、用いた動物種、肥大の作成法などの違いにより観察される結果は一様ではなく、未だ統一した見解は得られていない。本研究は、内向き整流カリウムチャンネルの肥大心における変化を、これまで未知に等しかった遺伝子発現レベルで検討しており、心肥大に伴う内向き整流カリウムチャンネルの電流密度および分布の変化の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。