

## 論文の内容の要旨

論文題目 培養ヒト気管支平滑筋におけるエンドセリン-1の作用

指導教官 森田 寛 助教授

東京大学大学院医学系研究科

平成9年4月 入(進)学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 大沼 仁

ヒト気管支平滑筋 (HBSMC) の Endothelin (ET)-1 による作用を明らかにするために、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) と電気生理学的活動に及ぼす効果を細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度測定法とパッチクランプ法を用いてヒスタミンと比較、検討した。

ET-1 または histamine 投与後、一過性のピークとなる  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の上昇を認めた後に徐々に減少し定常状態の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇を認めた。nicardipine や nifedipine は、ET-1 による定常成分の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の上昇を部分的に減少させたが、非特異的  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルのブロッカーである  $\text{La}^{3+}$  を加えることで定常成分の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の上昇は完全に消失した。外液に histamine (100  $\mu\text{M}$ ) または ET-1 (100nM) を投与すると、膜電位は急速に脱分極して約 -20mV の定常状態に達した。電極内液に低濃度 EGTA を含む  $\text{K}^+$  細胞内液を充填して、保持電位を +0mV にして、histamine または ET-1 を投与したところ、一過性に外向き  $\text{K}^+$  電流の活性化を認めた。パッチ電極内に  $\text{Cs}^+$  及び低濃度 EGTA を充填し、保持電位を -40mV にして histamine または ET-1 を投与したところ一過性内向き  $\text{Cl}^-$  電流を認めた後、持続的内向き電流を認めた。まれに oscillatory な

内向き電流も認められた。ET-1 もしくは histamine による持続的内向き電流は、パッチ内液を Cs<sup>+</sup>、10mM EGTA の条件下でも認められ、又 heparin をパッチ内液に入れた条件でもこの内向き電流は消失しなかった。この電流の逆転電位は約 +0mV であり、外液の [Cl<sup>-</sup>]<sub>o</sub> もしくは [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> を変化させても逆転電位に影響を与えなかったことから ET-1 もしくは histamine にて活性化される持続的な内向き電流は Cl<sup>-</sup> 電流ではなく非選択性陽イオン電流 (I<sub>cat</sub>) と考えられた。

ET-1 と histamine は濃度依存的に I<sub>cat</sub> を活性化させ、half-maximal effective concentration (EC<sub>50</sub>) は ET-1 が 12nM で histamine では 11 μM であった。La<sup>3+</sup> もしくは Cd<sup>2+</sup> は ET-1 もしくは histamine にて活性化される I<sub>cat</sub> を完全に抑制したが、nicardipine や nifedipine は I<sub>cat</sub> を抑制しなかった。ET-1 による [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 上昇もしくは I<sub>cat</sub> 活性化は、BQ123 (ET-A 阻害剤) 及び BQ788 (ET-B 阻害剤) 両方の存在下で完全に抑制された。Sarafotoxin S6c (ET-B アゴニスト) は [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> を上昇させ、かつ I<sub>cat</sub> を活性化させた。RT-PCR 法にて ET-A, B 両受容体の mRNA の発現が認め、免疫染色法にて両タンパクの発現を認めた。

HBSMC において ET-1 は ET-A, B 両受容体を介して強力的に I<sub>cat</sub> を活性化させた。ET-1 による I<sub>cat</sub> の活性化はヒト気道平滑筋の Ca<sup>2+</sup> 流入にとって重要な役割を果たしていると考えられた。