

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 尚哉

心不全は「心筋障害による低心拍出と臓器うっ血を伴う神経液性因子の異常状態を示す症候群」と定義されており、ポンプとしての心臓機能の低下だけでなく、神経系やオートコイドなどの過剰活性化がその背景にある。心筋の収縮及び弛緩は細胞質内の Ca^{2+} 濃度に依存しており、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵庫である筋小胞体は重要な役割を果たしている。しかし、不全心筋における収縮及び弛緩機能の低下と筋小胞体機能の変化との関連は十分解明されていない。また、神経伝達物質やオートコイドに長期間暴露された時の筋小胞体 Ca^{2+} 調節機能変化については全く解明されていない。本研究では、心不全モデル動物を用いて不全心筋における収縮及び弛緩障害への筋小胞体 Ca^{2+} 調節蛋白質の発現及び機能変化の関与を、また培養心室筋細胞を用いて神経液性因子による筋小胞体 Ca^{2+} 調節蛋白質の発現変化とその細胞機能への反映、さらに筋小胞体 Ca^{2+} 調節機能低下に対する代償機構の有無について検討を行った。

ストレプトゾトシン誘発糖尿病性心筋症ラットを用いて検討したところ、左心室乳頭筋において収縮張力の低下、収縮・弛緩時間の延長、 β アドレナリン受容体アゴニストに対する反応性低下など心不全に特徴的な変化が観察され、心不全モデルとして適当であることを確認した。サポニンにより細胞膜に穴を開けた標本を用い、筋小胞体の Ca^{2+} 放出及び Ca^{2+} 取り込み機能の評価を行ったところ、 $10^{-6.5}$ M以上の Ca^{2+} 濃度で誘起される Ca^{2+} -induced Ca^{2+} releaseが不全心筋では有意に低下していた。また、筋小胞体への Ca^{2+} 取り込みも不全心筋で低下していた。次に、筋小胞体の Ca^{2+} release channel及び Ca^{2+} -ATPaseの蛋白質量を定量したところ、不全心筋では両者とも低下しており、収縮・弛緩障害の主要な原因となることが示唆された。

心不全において過度に増加している神経液性因子(アドレナリン、アンジオテンシン、エンドセリン)が筋小胞体の Ca^{2+} release channel及び Ca^{2+} -ATPaseの遺伝子発現に影及ぼす影響について調べた。成熟ラットの心臓より単離培養した心室筋細胞に48時間の慢性的な α アドレナリン受容体刺激、 β アドレナリ

ン受容体刺激、アンジオテンシン受容体刺激及びエンドセリン受容体刺激をそれぞれ与えた後、筋小胞体のCa²⁺ release channel及びCa²⁺-ATPaseのmRNAを測定した。その結果、βアドレナリン受容体刺激、アンジオテンシン受容体刺激及びエンドセリン受容体刺激は全く影響しないが、αアドレナリン受容体の慢性刺激のみが筋小胞体Ca²⁺ release channelおよびCa²⁺-ATPaseのmRNA量を有意に減少させることを明らかにした。

次にαアドレナリン受容体刺激による筋小胞体のCa²⁺ release channelやCa²⁺-ATPase量の減少が心筋細胞機能に与える影響について検討した。成熟ラットの心臓より単離培養した心室筋細胞に48時間の慢性的なαアドレナリン受容体刺激を与えた後、細胞質内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)と細胞長変化を同時に測定した。2ヘルツ電気刺激時の定常状態ではαアドレナリン受容体刺激により心筋細胞の収縮期及び弛緩期[Ca²⁺]_iの減少、最大[Ca²⁺]_iまでの時間及び[Ca²⁺]_i減衰時間の延長および細胞収縮と弛緩時間の延長が認められた。これら細胞機能変化の刺激頻度依存性を調べたところ、高頻度刺激による収縮期[Ca²⁺]_i及び細胞短縮率の増加はαアドレナリン受容体慢性刺激により著しく減弱していた。αアドレナリン受容体慢性刺激は心室筋細胞において[Ca²⁺]_i及び収縮性の低下や動態の遅延をもたらし、これらの変化は高頻度刺激時に顕著となることがわかった。

収縮期に上昇した細胞質内Ca²⁺の一部を弛緩期に細胞外に排出させている細胞膜Na⁺/Ca²⁺交換系に対するαアドレナリン受容体慢性刺激の作用について検討した。慢性的なαアドレナリン受容体刺激によりNa⁺/Ca²⁺交換系の遺伝子及び蛋白質量が有意に上昇していた。また、αアドレナリン受容体刺激はveratridineによる細胞短縮率増加の最大反応を低下させ、用量作用曲線を左方にシフトさせた。これらの結果はNa⁺/Ca²⁺交換系の反応性が亢進していることを示している。以上より、αアドレナリン受容体慢性刺激はNa⁺/Ca²⁺交換系の発現を増加させ、筋小胞体のCa²⁺調節機能低下に対して代償的に働いている可能性が示唆された。

本研究において、不全心筋では筋小胞体のCa²⁺放出および取り込みが減少している原因として、筋小胞体のCa²⁺ release channel及びCa²⁺-ATPase量が低下していることを明らかにした。筋小胞体のCa²⁺調節蛋白を低下させる因子として、慢性的なαアドレナリン受容体刺激が重要な役割を果たしていることを提唱した。さらに、不全心筋においてNa⁺/Ca²⁺交換系が代償的に作用している可能性を示した。これらの知見は不全心筋の病態生理を理解し、心不全の薬物治療を考える上で重要であり、博士(薬学)の授与に値するものと認められた。