

論文審査の結果の要旨

氏名 瀬尾 欣也

本論文は心臓に異常な負荷がかかる病態において観察される不整脈の発生に伸展により開くイオンチャンネル (stretch-activated channel: SAC) が重要な役割を果たしているとの仮説を検証するために 1)ラット単一心筋細胞を用いた細胞レベルでの検討、2)ウサギ灌流右室標本を用いた組織レベルでの検討を行いそこで得られた知見をマルチスケールシミュレーションによって統合し考察した結果をまとめたものである。

第1章では心臓の伸展によって引き起こされる不整脈について細胞レベル、臓器レベルにおける研究の現状からSACの重要性を確認しさらにマルチスケールでの検討の必要性を論じた後に研究の目的を述べている。第2章では細胞レベルでの実験結果と考察が述べられている。単一心筋細胞にカーボンファイバーを用いて伸展および押し込みを行いこれらの操作に対する膜電位および細胞内カルシウムの応答を光電子倍增管、レーザー共焦点顕微鏡によって測定した。さらに細胞のT管構造を薬剤によって修飾する操作にSACおよびL型Caチャンネルの阻害薬などを組み合わせることによってこれらの機能分子の細胞内での局在やチャンネル間の相互作用を検討した。この結果、T管の修飾により伸展に対する膜電位の応答は大きく減弱することからSACはT管に局在している可能性が高いこと、また伸展が局所的に大きくなった場合にカルシウムチャンネルから流入するCaが筋小胞体からのCa放出を引き起こしカルシウムスパーク、カルシウムウェーブとして観察されることなどが示された。これらの知見に加え細胞内の微細構造を可視化するための共焦点顕微鏡像と原子間力顕微鏡像の3次元空間内での重ね合わせなどの技法も示されている。

第3章では組織レベルの実験とそれを考察するためのシミュレーションが紹介されている。右室自由壁の動脈灌流標本にリニアモーターを用いて大きさをコントロールした伸展を加えそれに対する局所の歪みを画像処理に基づくマーカートラッキングにより、膜電位応答を光学マッピングにより測定した。この結果20%の大きな伸展に対しては組織全体からの一様な興奮が見られたのに対し10-15%の中程度の伸展に対しては一様な伸展を加えているにも関わらず不均一な膜電位上昇がみられ興奮は局所から生じた。またこの際歪み分布は不均一であり興奮は歪みの大きな部位から発生していた。さらに歪みの不均一性は組織構造の不均一性に起因するものであり、この構造の不均一性は中程度の伸展に対して不均一な興奮を生み出していることが示唆された。健全な心臓に存在する構造が電気現象を修飾するという視点は新しいものであり社会問題にもなっている心臓震盪という現象にも関連している。続いて実験で得られたこれらの知見を統合する目的で心筋壁の組織形状を再現した有限要素モデルが作成された。この各要素にはチャンネルの動態を含めた心筋の興奮-収縮連関の数理モデルが組み込まれておりさらに伸展に対する応答を再現する目的でSACのモデルも取り入れたマルチスケールシミュレーシ

オンモデルである。このモデルに対し実験と同様の伸展を加えるシミュレーションを行ったところ、中程度の伸展に対しては局所から生じた興奮が心室頻拍の際に起こっていると考えられているスパイラル・ウェーブへと発展していったが、大きな伸展刺激では組織全体が同期して興奮しその後速やかに消退する様子が観察された。さらに中程度の伸展に応じて興奮した領域は実際の組織に模して厚さを薄くした部位であるなど実験の結果を完全に再現することに成功した。第4章では以上の研究全体を総括した結論を述べ、今後の課題を論じている。なお論文中細胞レベルの実験については西村智、杉浦清了との、組織レベルの研究およびシミュレーションは稲垣正司、平林智子、日高一郎、杉町勝、杉浦清了、久田俊明との共同研究であるが論文提出者が主体となって提案し実行・検証したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

このように本論文は不整脈という分子レベルの現象に起因しながら組織というマクロなレベルで初めて観察される現象について異なるレベルで基礎的な特性を検討した後、マルチスケールシミュレーションによって知見を統合することによって機序を解明するという新しいアプローチに取り組んだものである。細部の整合性など未だ解決されていない問題も散見されるが基本的なメカニズムの解明には成功しており生物学研究の新たな領域を開くものである。したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。