

Title	Propagation of Ca ²⁺ release in cardiac myocytes : Role of mitochondria
Sub Title	心筋細胞における細胞内Ca ²⁺ の伝播について : ミトコンドリアの役割
Author	瀬口, 秀孝
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.37-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0037

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Propagation of Ca^{2+} release in cardiac myocytes: Role of mitochondria

(心筋細胞における細胞内 Ca^{2+} の伝播について：ミトコンドリアの役割)

瀬口 秀幸

内容の要旨

心筋細胞の収縮は、 Ca^{2+} チャネルからの Ca^{2+} 流入により起こる筋小胞体からの Ca^{2+} 放出、 Ca^{2+} induced Ca^{2+} releaseによる細胞内 Ca^{2+} の上昇により起こることから知られている。L型 Ca^{2+} チャネルから流入した Ca^{2+} はL型 Ca^{2+} チャネル近傍にあるごく少数のリアノジン受容体を刺激し局所での筋小胞体からの Ca^{2+} 放出が生じる (local control)。 Ca^{2+} 過負荷のない正常の心室筋細胞では、生理的条件下で、この Ca^{2+} 放出が隣接する部位での Ca^{2+} 放出を引き起こすことはない。このlocal controlに影響を与える要因としては心筋細胞における Ca^{2+} 取り込み、放出、バッファー効果等が考えられているが、詳細は明らかではない。本研究では、心筋細胞内における Ca^{2+} 放出のlocal controlに影響を与える因子についての検討を行った。 Ca^{2+} 感受性蛍光色素 fluo-3を用い、マウスの心筋細胞、心室筋細胞の局所に10mMカフェインを500ms作用させ、局所の Ca^{2+} 放出を誘発し、細胞内 Ca^{2+} の動態について観察した。生理的条件下で、この局所の Ca^{2+} 放出は、心筋細胞では次々と隣接する部位の Ca^{2+} 放出を誘発し、あたかも波のごとく細胞内を伝播した。この現象は心室筋細胞では認められなかった。

この差異は①リアノジン受容体の密度、 Ca^{2+} 感受性、②細胞内 Ca^{2+} の筋小胞体への再取り込み及び $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換系による Ca^{2+} の細胞外への排泄、または③細胞内での Ca^{2+} に対する緩衝効果によると考えられる。心室筋細胞で、主な細胞内 Ca^{2+} 低下機序である筋小胞体の Ca^{2+} 取り込みと $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換系による Ca^{2+} の細胞外への排泄を抑制しても細胞内の Ca^{2+} 伝播は生じなかった。リアノジン受容体とミオフィラメントの細胞内密度は、心筋筋と心室筋では同程度であったが、ミトコンドリアの細胞内密度は心筋筋より心室筋で大であった。ミトコンドリアのuniporterを介した Ca^{2+} 取り込みを部分的に抑制すると、ベisingにより得られた心室筋細胞の Ca^{2+} transientは増加し、細胞内の Ca^{2+} 伝播が認められた。この現象は筋小胞体の Ca^{2+} 量の変化に依存しなかった。これらのことから、ミトコンドリアのuniporterを介した Ca^{2+} 取り込みが局所における筋小胞体からの Ca^{2+} 放出の制御に関与していると考えられた。また、心筋細胞で細胞内 Ca^{2+} の伝播がみられるのは、ミトコンドリアの細胞内密度が心室筋細胞より低いことが一因であると考えられた。

論文審査の要旨

心筋細胞の収縮は、calcium-induced calcium release (CICR) による細胞内カルシウム濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の上昇により起こる。L型 Ca^{2+} チャネルから流入した Ca^{2+} によりチャネル近傍にあるごく少数のリアノジン受容体 (RyR) からの Ca^{2+} 放出が生じる。 Ca^{2+} 過負荷のない正常の心室筋細胞では、この Ca^{2+} 放出は隣接する部位の Ca^{2+} 放出を引き起こさない。本研究では、心筋細胞内における Ca^{2+} 放出の局所的制御に影響を与える因子についての検討を行った。 Ca^{2+} 感受性蛍光色素 fluo-3を用い、マウスの心筋、心室筋細胞の局所に10mMカフェインを500ms作用させ、局所の Ca^{2+} 放出を誘発し、細胞内 Ca^{2+} 動態について観察した。局所の Ca^{2+} 放出は、心筋細胞では細胞内を伝播し、心室筋細胞では伝播しなかった。この差異は①RyRの密度、 Ca^{2+} 感受性、② $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の筋小胞体 (SR) への再取り込み及び $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換系 (NCX) による Ca^{2+} の細胞外への排泄、③細胞内での Ca^{2+} に対する緩衝効果によると考えられた。RyRとアクチンの細胞内密度は、心筋筋と心室筋では同程度であったが、Mitの細胞内密度は心筋筋で低かった。Mitのuniporter (U) を介した Ca^{2+} 取り込みを抑制すると、心室筋細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が増加し、 Ca^{2+} の伝播が認められた。以上から、Mit-Uを介した Ca^{2+} 取り込みが局所のSRからの Ca^{2+} 放出の制御に関与していると考えられた。また、心筋細胞での $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の伝播は、Mitの細胞内密度が心室筋細胞より低いことが一因であると考えられた。

審査において、細胞の一部に500msという超短時間薬物を作用させる方法についての質問があり、使用したrapid solution exchanger deviceの構造、使用法が説明された。また、蛍光色素による実験ではしばしば蛍光の減衰が問題となるが、rhod-2の減衰はなかったかとの質問がなされたが、蛍光の減衰がないことを確認した上で実施されたと返答され実験モデルの妥当性が評価された。さらに、Mitによる $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 制御がbeat to beatで行われていた点は新しい知見であるが、この際、取り込みはMit-Uだが、放出はどこからかとの質問に対しては、今後の課題と返答された。Mitの Ca^{2+} 取り込み抑制が心筋保護につながるかとの質問に対しては、逆に細胞内 Ca^{2+} 過負荷を助長するため保護にはつながらないと返答された。

以上、さらに検討する余地はあるものの、Mitの Ca^{2+} 制御と代謝との関連についての検討が可能な良い実験系であり、心不全などMit障害が生じる病態への応用にも期待ができ、学位論文として高く評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 小川 聡
外科学 四津 良平 再生医学 福田 恵一
医化学 末松 誠
学術監査担当者：池田 康夫
審査委員長：四津 良平

試問日：平成19年1月25日