

論 文 内 容 要 旨

題目 Cardioprotective effects of hyperkalemia during simulated ischemia/reperfusion in neonatal rat cardiomyocytes
- Preservation of Na⁺/K⁺-ATPase activity -

(新生児ラット心筋細胞における高カリウム状態が疑似虚血再灌流時の心筋保護作用に及ぼす効果- Na⁺/K⁺-ATPase 活性の保持 -)

著者 Kaori Takata, Yoshinobu Tomiyama, Katsuya Tanaka,
and Shuzo Oshita

平成 25 年 2 月 2 日発行 The Journal of Medical Investigation
第 60 巻第 1 号に掲載予定

内容要旨

(背景) 心筋局所における高 K⁺状態は虚血再灌流時の心筋保護に多彩な効果を持つとされる。Na⁺/K⁺-ATPase 活性は、内因性及び治療目的に投与されるような強心配糖体、低体温、虚血などにより抑制される。我々は高 K⁺状態がもたらす Na⁺/K⁺-ATPase 活性の維持が心筋保護に重要な影響を及ぼす可能性があるという仮説のもとに研究を行った。

(方法) 新生児ラット心筋細胞から培養した遊離単一心筋細胞を用い、電子伝達系を抑制する NaCN (5mM) と解糖系を抑制する 2-deoxyglucose (5.5mM) によって虚血再灌流モデルを作製し、実験を行った。Na⁺/K⁺-ATPase 活性の抑制には強心配糖体の一種であるウアバインを用い、ウアバイン濃度は Na⁺/K⁺-ATPase 活性を 50%抑制しかつ非致死的である 100 μM とした。分離した心筋細胞を対照群、ウアバイン群、虚血群、虚血 + 高 K⁺群、虚血 + ウアバイン群、虚血 + 高 K⁺ + ウアバイン群の 6 群に無作為に割り当てた。各群の心筋細胞を実験溶液に 15 分間曝露した後 30 分間コントロール液により再灌流した。高 K⁺状態 (16mM) ならびに Na⁺/K⁺-ATPase 活性の抑制が虚血再灌流時の心筋保護に及ぼす影響を明らかにするために、生細胞染色用色素であるカルセイン AM を使用して、膜統合性の喪失と細胞障害時に膜透過性亢進前に生じるブレブ形成を観察、測定した。追加実験において、上記 6 群に高 K⁺群を加えた 7 群において Ca²⁺感受性色素である fluo 4-AM を用いて虚血時の心筋興奮性と拡張期細胞内 Ca²⁺イオン濃度 ([Ca²⁺]_i) を測定した。

様式(8)

(結果) 新生児ラット心筋細胞において、虚血再灌流は心筋細胞膜統合性の喪失を引き起こした。ウアバインの存在下で高 K^+ 状態は有意に膜統合性の喪失を抑制した。虚血再灌流はブレブ形成をもたらした。ウアバインはブレブが形成されるまでの時間を有意に短縮させた。高 K^+ 状態は虚血時の拡張期 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を有意に遅らせ、かつ抑制した。さらに、虚血時の拡張期 $[Ca^{2+}]_i$ に及ぼすウアバインの効果をほぼ完全に抑制した。

(結語) 常温下において障害されていない新生児ラット心筋細胞に対して、虚血中の高 K^+ 状態は虚血再灌流障害に対して保護作用を持つこと、ならびにその保護作用には高 K^+ 状態が有する強心配糖体に対する拮抗作用が関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1166 号	氏名	高田 香
審査委員	主査 北川 哲也 副査 玉置 俊晃 副査 佐田 政隆		

題目 Cardioprotective effects of hyperkalemia during simulated ischemia/reperfusion in neonatal rat cardiomyocytes
 - Preservation of Na⁺/K⁺-ATPase activity -
 (新生児ラット心筋細胞における高カリウム状態が疑似虚血再灌流時の心筋保護作用に及ぼす効果- Na⁺/K⁺-ATPase 活性の保持 -)

著者 Kaori Takata, Yoshinobu Tomiyama, Katsuya Tanaka,
 and Shuzo Oshita

平成25年2月2日発行 The Journal of Medical Investigation
 第60巻第1, 2号に掲載予定
 (主任教授 大下修造)

要旨 心筋局所における高K⁺状態は虚血再灌流時の心筋保護に多彩な効果を持つとされる。Na⁺/K⁺-ATPase 活性は、内因性及び治療目的に投与されるような強心配糖体、低体温、虚血などにより抑制される。本研究は高K⁺状態がもたらすNa⁺/K⁺-ATPase 活性の維持が心筋保護に重要な影響を及ぼす可能性があるという仮説のもとに行われた。

新生児ラット心筋から培養した遊離単一心筋細胞を用い、電子伝達系を抑制するNaCNと解糖系を抑制する2-deoxyglucoseによって虚血再灌流モデルを作製し、実験が行われた。Na⁺/K⁺-ATPase 活性の抑制には強心配糖体の一種であるウアバインを用い、ウアバイン濃度はNa⁺/K⁺-ATPase 活性を50%抑制しかつ非致死的である

100 μ M とした。分離した心筋細胞を対照群、ウアバイン群、虚血群、虚血+高 K^+ 群 (16mM)、虚血+ウアバイン群、虚血+高 K^+ +ウアバイン群の 6 群に無作為に割り当てた。各群の心筋細胞を実験溶液に 15 分間曝露した後 30 分間コントロール液により再灌流した。生細胞染色用色素であるカルセイン AM を使用して、膜統合性の喪失と細胞傷害時に生じるブレブ形成を観察、測定した。追加実験において、 Ca^{2+} 感受性色素である fluo 4-AM を用いて虚血時の心筋興奮性と拡張期細胞内遊離 Ca^{2+} イオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) を測定した。

得られた結果は以下の通りである。新生児ラット心筋細胞において、虚血再灌流は心筋細胞膜統合性の喪失を引き起こした。ウアバインの存在下で高 K^+ 状態は有意に膜統合性の喪失を抑制した。ウアバインはブレブが形成されるまでの時間を有意に短縮させた。高 K^+ 状態は虚血時の拡張期 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を有意に遅らせ、かつ抑制した。さらに、虚血時の拡張期 $[Ca^{2+}]_i$ に及ぼすウアバインの効果をほぼ完全に抑制した。

以上の結果により、虚血中の高 K^+ 状態は、常温下における新生児ラット心筋細胞の虚血再灌流傷害に対して保護作用を持つこと、ならびにその保護作用には高 K^+ 状態が有する強心配糖体に対する拮抗作用が関与している可能性が示唆された。本研究は、虚血再灌流時の心筋保護機序の解明に大きく貢献するものであり学位授与に値すると判定した。