

平成24年2月

浦島直 学位論文審査要旨

主 査 山 本 一 博
副主査 二 宮 治 明
同 久 留 一 郎

主論文

Enhancing effects of salicylate on quinidine-induced block of human wild type and LQT3 related mutant cardiac Na⁺ channels

(ヒト野生型およびLQT3型変異Na⁺チャンネルにおけるquinidine-induced blockのサリチル酸の増強効果)

(著者：浦島直、倉田康孝、三明淳一郎、加藤克、小倉一能、矢野暁生、足立正光、田中保則、山田健作、濱田紀宏、水田栄之助、桑原政成、加藤雅彦、山本康孝、荻野和秀、吉田明雄、白吉安昭、久留一郎)

平成23年 Biomedical Research 32巻 303頁～312頁

学位論文要旨

Enhancing effects of salicylate on quinidine-induced block of human wild type and LQT3 related mutant cardiac Na⁺ channels

(ヒト野生型およびLQT3型変異Na⁺チャンネルにおけるquinidine-induced blockのサリチル酸の増強効果)

モルモット心室筋細胞でサリチル酸がキニジンによるNa⁺電流阻害作用を増強させることが報告されているが、その効果がNa⁺チャンネル α subunitの状態/電位依存性や組織特異性を有するか不明である。また、Long QT syndrome type 3 (以下LQT3型と略す) の変異型Na⁺チャンネル (delta KPQ) においても、サリチル酸がNa⁺電流阻害作用の増強効果を示すか不明である。

本研究では、1) 異なった組織の野生型Na⁺チャンネル α subunitを用いてサリチル酸がキニジンによるNa⁺電流阻害を増強するか否かを検討し、2) 野生型Na⁺チャンネルと変異型Na⁺チャンネルにおけるサリチル酸のNa⁺電流阻害作用の増強効果を比較検討することとした。

方法

野生型Na⁺チャンネル α subunitとしてヒト心筋型 (hH1) およびヒト骨格筋型 (hSkM1) を、変異型Na⁺チャンネル α subunitとしてLQT3型 (delta KPQ) をCOS7細胞に遺伝子導入し、ホールセルパッチクランプ法によりNa⁺電流阻害作用を測定した。Holding Potential (以下HPと略す) は、-100 mVと-140 mVの2種類を設定した。また、キニジンの濃度-阻害反応曲線からIC₅₀とHill係数を算出し、Na⁺チャンネルの不活性化過程における薬剤の影響を調べるために不活性化曲線を記録した。Na⁺チャンネル阻害薬としては抗不整脈薬キニジンを0.6 μ Mから30 μ Mまで使用した。増強効果で用いたサリチル酸濃度は1 mMとし、サリチル酸1 mM単独ではNa⁺電流を阻害しないことを確認した。

結果

hH1を用いたTonic blockにおいて、HP=-100 mVではサリチル酸1mMはNa⁺電流阻害作用を有意に増強し、HP=-140 mVでは増強しなかった。また、サリチル酸1 mM存在下では、HP=-100 mVでIC₅₀が減少したが、HP=-140 mVではIC₅₀に大きな変化が認められなかった。hH1の不活性化曲線では、サリチル酸はslope factorを変化させず過分極方向にシフトさせた。また、hSkM1においてもhH1と同様な結果が得られた。以上より、サリチル酸は不活性化状態にあ

るNa⁺チャネル α subunitへのキニジンの親和性を高め、その作用は組織特異性を有さないものと考えられた。

また、hH1を用いたUse dependent block (以下、UDBと略す) は、Tonic blockの結果と同様に、サリチル酸1 mMはHP=-100 mVではNa⁺電流阻害作用を有意に増強したが、HP=-140 mVでは増強しなかった。これは、hSkM1でも同様な結果であった。このことから、サリチル酸はNa⁺チャネル α subunitの組織特異性に関わらずキニジンによるNa⁺電流のUDBを増強することが示唆された。

さらに、delta KPQに対するサリチル酸の増強効果をHP=-100 mVにおいて調べた結果、Tonic blockおよびUDBにおいて、ピーク電流および定常状態電流ともに有意に増強効果が示された。また、UDBにおいてもピーク電流および定常状態電流においてサリチル酸の増強効果が認められたが、Tonic blockおよびUDBともに、ピーク電流よりも定常状態電流において増強効果がより強かった。

考 察

本研究では野生型および変異型Na⁺チャネル α subunitをCOS7細胞に遺伝子導入し、サリチル酸によるNa⁺電流阻害作用の増強効果について検討した。その結果、増強効果はNa⁺チャネルの組織特異性を問わず電位依存性を示し、Na⁺チャネル α subunitの不活性化状態にあるキニジンの結合の親和性を増加させることが示唆された。さらに、サリチル酸は変異型Na⁺チャネルのピークおよび定常状態電流のTonic blockおよびUDBをともに有意に増強させ、ピーク電流よりも定常状態電流で大きな効果を示した。これは、変異型Na⁺チャネルの定常状態電流では不活性化状態からのre-open電流を含んでおり、サリチル酸存在下ではキニジンと結合した不活性化Na⁺チャネルが増加した結果、変異型Na⁺チャネルの定常状態電流を減少していると考えられた。

サリチル酸は抗血小板薬として臨床使用されているが、その作用と別に抗不整脈薬の薬理作用を増強する効果も明らかになった。本研究では、重篤で致死性の高い不整脈を呈するLQT3型変異チャネルに対するサリチル酸の増強効果も初めて確認されたことより、不整脈の新しい治療法を構築することが期待される。

結 論

サリチル酸は不活性化状態のNa⁺チャネル α subunitにおけるキニジンの親和性を増加させることでキニジンによって引き起こされるNa⁺電流阻害作用を増強することが明らかになった。