



Inhibitory effect of cibenzoline on $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange current in guinea-pig cardiac ventricular myocytes

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山川, 知美 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2771

博士(医学) 山川 知美

論文題目

Inhibitory effect of cibenzoline on $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange current in guinea-pig cardiac ventricular myocytes

(モルモット心室筋細胞の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換電流に対するシベンゾリンの抑制作用)

論文の内容の要旨

[背景]

抗不整脈薬分類法の Vaughan Williams 分類では、シベンゾリンは Ia 群に分類される Na チャネル抑制薬である。臨床では、期外収縮や心房細動、心房粗動などの頻脈性不整脈に有効である。シベンゾリンの膜電流に対する作用は Na^+ チャネルをはじめ、 Ca^{2+} チャネル、種々の K^+ チャネルなどに対して抑制作用を示すことが明らかになっている。さらに、シベンゾリンは、イヌの *in vivo* の実験でジギタリス誘発心室性不整脈を抑制することが報告されているが、ジギタリス誘発性不整脈に深く関与する心筋細胞内の Ca^{2+} 調節機構である $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体 (NCX) に対するシベンゾリンの作用については明らかではない。そこで今回、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換電流 (I_{NCX}) に対するシベンゾリンの急性作用を検討した。

[実験方法]

本研究は、浜松医科大学および福島県立医科大学動物実験委員会の承認を得て実施した。雄のハートレー系モルモット (250 ~ 300 g) に対し、ペントバルビタールを腹腔内注射し麻酔した。人工呼吸下で開胸し心臓を摘出した後、コラゲナーゼとプロテアーゼを灌流して心室筋細胞を単離した。単离心筋細胞に対し、whole cell patch clamp 法を用いて I_{NCX} を採取するため、電極内液 (細胞内液) と細胞外液の Na^+ 濃度と Ca^{2+} 濃度を調節し、さらに Cs^+ 、ニフェジピン、ウアバインおよびライアノジンを加えて K^+ 電流、 Ca^{2+} 電流、 Na^+/K^+ ポンプ電流、筋小胞体 Ca^{2+} 放出チャネルをそれぞれ抑制した溶液を用いた。刺激電位は、保持電位を -60 mV に設定し、その後 60 mV、-110 mV、そして再び -60 mV となるランプ波を用いた。得られた I_{NCX} に対し、選択的 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体抑制薬である KB-R7943 を高濃度で投与して完全抑制させ、シベンゾリンの I_{NCX} に対する抑制作用を求め検討した。

[結果および考察]

細胞外液と細胞内液の Na^+ 濃度と Ca^{2+} 濃度を調節した溶液を用いると、 I_{NCX} は次第に活性化して定常状態に達する。定常状態に達した I_{NCX} に対しシベンゾリンを投与しその作用が定常状態になったことを確認し、最後に比較的選択的な $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換電流阻害薬 KB-R7943 を高濃度の 100 μM 投与してシベンゾリンの I_{NCX} 抑制率を求めた。シベンゾリンは、1 μM 付近から濃度依存性に I_{NCX} 抑制作用を示し、1000 μM ではほぼ完全に抑制した。100 μM シベンゾリンは、 I_{NCX} をおよそ 60% 抑制した。両方向型 I_{NCX} の外向き電流成分と内向き電流成分に対するシベンゾリンの IC_{50} 値は、それぞれ 77 μM と 84 μM であった。また Hill 係数はそれぞれおよそ 1 であった。

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体は 5 番目と 6 番目の膜貫通部位の内側に長い細胞内調節部位が存在する。また、細胞外側から Ca^{2+} や薬物が作用をする部位 (α_1 領域と α_2 領域) が存在する。蛋白分解酵素で

あるトリプシンをガラス電極液(細胞内液)に投与すると、抑制効果が弱くなるトリプシン感受性がある薬物と抑制効果に変化が無いトリプシン非感受性の薬物に分類される。そこで、ガラス電極内液に蛋白分解酵素のトリプシン 2.5 $\mu\text{g/ml}$ を加え、シベンゾリンの I_{NCX} 抑制作用の変化を検討した。その結果、シベンゾリン 300 μM の I_{NCX} 抑制作用は、トリプシンを電極細胞内に投与しても抑制作用に変化はなかった。このことから、シベンゾリンの I_{NCX} 抑制作用は、主に細胞外側から、もしくは、細胞膜内に作用して抑制作用を示すことが示唆された。

シベンゾリンの ATP 感受性 K チャネル抑制作用は、細胞外液の pH によって異なることが報告されていることから、 I_{NCX} 抑制作用の pH 感受性を検討した。細胞外液の pH を 8.2、7.4、6.5 と変えると、シベンゾリンの I_{NCX} 抑制作用は中性、アルカリ性の細胞外液に比べ、酸性下で抑制作用が弱くなった。

ウアバイン 0.1 μM を 30 分間先行投与によって Na^+/K^+ ポンプ電流を抑制し、1 Hz の電気刺激で triggered activity (撃発活動) の遅延後脱分極を誘発させ、その遅延後脱分極に対するシベンゾリンの作用を検討した。ウアバイン誘発の遅延後脱分極は、5~6 分間の電気刺激中断後の再度の電気刺激により遅延後脱分極の再現性を確認した。その後、細胞外液にウアバインと電気刺激で誘発した遅延後脱分極に対して、非電気刺激の条件の下 5~6 分間のシベンゾリン 100 μM を投与した。シベンゾリンは、再度の電気刺激においても遅延後脱分極の再発を予防した。

すべての結果から、シベンゾリンは治療域濃度よりも高い濃度では、 I_{NCX} を抑制する可能性があることが示唆された。

[結論]

シベンゾリンは治療域濃度よりも高い濃度で I_{NCX} 抑制作用をもち、心筋細胞内の Ca^{2+} 調節機構に関与する可能性があることが明らかとなった。