G タンパクによるヒト心室筋細胞 K channel の修飾

小海信一*¹ 佐藤良一*² JA Wasserstrom*³ 早川弘一*¹

(心電図 15: No. 3, 200~201, 1995)

細胞内刺激伝達に介在する G タンパクの役割については多くの報告があり, M_2 コリン受容体から Gi タンパクを介した acetylcholine (ACh) 感受性 K channel (K_{ACh} channel) の活性化機構について心房筋細胞で詳細な検討がなされている。一方, 心室筋細胞においては上記のコリン性修飾は β 受容体刺激による cyclase の活性化に対する拮抗作用が電位依存性 Ca channel を抑制することによりもたらされるとされ, 心室筋 K channel の直接的な活性化は議論の残るところであった。しかしながら近年, ACh による K conductance の増加もいくつか報告されてきており, 我々はヒト心室筋細胞において Gi タンパクによる K channel の活性化を確認した。

Key Words ● G protein
● K channel
● human ventricular myocytes

* 1 日本医科大学第一内科
(〒113 東京都文京区千駄木 1-1-3)

* 2 近畿大学第一内科

* 3 Northwestern University School of Medicine

I. 方 法

心臓移植 recipients 9 例および 7 例の術中切除標本から collagenase を用いて心室筋細胞を単離した^{1),2)}。電流記録は cell-attached および inside-out patch-clamp 条件下で single-channel recording を行なった^{3)~5)}。電極 (5 M Ω) および bath 150 K 溶液内で continuous recording を行ない, dwell time histogram は half-amplitude threshold analysis を基礎にした。統計処理は one-way および two-way ANOVA を用いた。

II. 結 果

Cell-attached patch にて電極内 ACh (1 μ M) 存在下に K_{ACh} channel の活性化がみられ, 個々の channel activity は速い kinetics で短い burst を構成し, 時間依存性に消退した (脱感作)。Excised patch にて上記 activity は消失し, bath 内への GTP γ S (100 μ M) 投与にて channel の再活性化が得られた。GTP γ S 活性化 channel の slope conductance は 44 ± 2 pS ($n=12$) で平均開孔時間は 1.8 ± 0.3 msec ($n=10$) であった。電極内 adenosine 存在下においても同様の活性化が

Modulation of Potassium Channels in Human Ventricular Myocytes by G proteins.
Shin-ichi Koumi, Ryoichi Sato, JA Wasserstrom, Hirokazu Hayakawa

みられ pertussis toxin (PTX) 前処理にて防がれ、一方 inside-out patch 下に GTP γ S にて kinetics の異なる channel の活性化が認められ I-V curve は内向きに強い整流作用を示し、内向き電流の slope conductance は 30 ± 2 pS (n=10), 平均開孔時間は 36.4 ± 4.1 msec (n=8), 開孔確率は膜電位依存性に変化した。遅い gating kinetics は長い burst を構成し、I_{K1} channel と矛盾しない。Channel activity は K_{ACh} channel と異なり GTP 除去後も開孔確率は不変であった。さらに ATP 感受性 K channel (K_{ATP} channel) の Gi タンパクによる修飾を次に検討した。Bath 内 ATP (100 μ M) および Mg (2 mM) 存在下に background opening の状態で GTP γ S または G- α subunit がさらに複数の channel を活性化した。slope conductance は内向きに 85 ± 3 pS (n=12), 外向きに 55 ± 3 pS (n=12), 内向き電流の平均開孔時間は 1.4 ± 0.3 msec (n=11) であった。

III. 考 案

以上ヒト心室筋細胞において Gi タンパクを介した K channel の活性化が認められた。K_{ACh} channel はモルモットおよびヒト心房筋細胞同様 GTP により可逆性に活性化された。一方、I_{K1} channel の活性化は非可逆性であり、受容体からの刺激が trigger となって gating の mode change を起こすか、または各状態間の rate constant の変化により、開孔確率の増大がもたらされると推測された。上記 channel の活性化は bath 内 ATP 5 mM 条件下 (inside-out patch) で認められ、

虚血の際細胞内 ATP 枯渇による K_{ATP} channel 活性化以前に adenosine により A₁ 受容体を介した活性化がおり、これが細胞内 ATP 枯渇以前の action potential 短縮に直接関与するものと思われる。

本研究は現在「circulation」に投稿中である。

【文 献】

- 1) Koumi S-i, Wasserstrom JA : Acetylcholine-sensitive muscarinic K⁺ channels in mammalian ventricular myocytes. *Am J Physiol* 266 : H1812, 1994
- 2) Koumi S-i, Backer CL, Arentzen CE : Characterization of the inwardly-rectifying K⁺ channels in human cardiac myocytes : Alterations in channel behavior in myocytes isolated from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation*, in press
- 3) Koumi S-i, Arentzen CE, Backer CL, Wasserstrom JA : Alterations in muscarinic K⁺ channel response to acetylcholine and to G protein-mediated activation in atrial myocytes isolated from failing human hearts. *Circulation* 90 : 2213, 1994
- 4) Koumi S-i, Wasserstrom JA, Ten Eick RE : β -Adrenergic and cholinergic modulation of the inwardly-rectifying K⁺ current in guinea-pig ventricular myocytes. *J Physiol (Lond)*, in press
- 5) Koumi S-i, Wasserstrom JA, Ten Eick RE : Adrenergic and cholinergic agonists and surrogates modulate phosphorylation and function of inward rectifier K⁺ channels. *J Physiol (Lond)*, in press