

氏名(本籍)	いし かわ とも ひさ 石川智久(埼玉県)			
学位の種類	医学博士			
学位記番号	博甲第702号			
学位授与年月日	平成元年7月31日			
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	Positive inotropic effect of calcitonin gene-related peptide mediated by cyclic AMP in guinea pig heart (モルモット心臓におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチドの陽性変力作用はサイクリックAMPを介して発揮される)			
主査	筑波大学教授	医学博士	工藤典雄	
副査	筑波大学教授	医学博士	伊藤巖	
副査	筑波大学教授	医学博士	杉田良樹	
副査	筑波大学教授	医学博士	土屋滋	
副査	筑波大学教授	医学博士	山下亀次郎	

### 論 文 の 要 旨

#### <目 的>

心機能の神経性調節は、これまで促進性の交感神経と抑制性の副交感神経によって担われていると考えられてきた。しかしながら筆者等は、主としてモルモットの摘出心房標本を対象に心筋の神経支配について詳細に検討した結果、交感神経と副交感神経に加え、新たに心機能を促進する非アドレナリン非コリン(NANC)性の神経が存在するを見いだした。さらに、この神経の伝達物質について薬理学的方法と免疫組織学的方法を用いて調べ、それが近年生体内に存在することが証明されたカルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)であることを明らかにした。また、CGRP含有神経の分布とその刺激効果は感覚神経の選択的破壊物質であるカプサイシンの投与によって消失することから、NANC性の心機能促進作用は感覚神経の軸索側枝によってもたらされることが示唆された。

本研究はこれらの背景をもとに、心臓において新たに発見されたCGRP含有神経による心筋への陽性変力反応の機構を薬理学的、生化学的、電気生理学的手法を用いて明らかにすることを目的とした。

#### <方法ならびに結果>

麻酔したモルモットから単離した左心房を95%酸素と5%炭酸ガスを通気した37℃の栄養液中に懸垂した。標本の両側に設置した白金電極により心臓を電氣的に刺激し、その結果生じる収縮力を指標として各薬物の作用について観察した。CGRPは $\beta$ -アドレナリン興奮薬であるイソプロテレ

ノールに匹敵するほどの強力な収縮力増大，すなわち，陽性変力反応を引き起こした。この反応は最大弛緩速度の増加を伴っており，細胞内サイクリック AMP (cAMP) の関与が示唆された。CGRP による陽性変力反応は，cAMP の分解酵素であるフォスホジエステラーゼの作用を阻害するイソブチルキサンチンの存在下では有意に増強され，一方，アデニル酸シクラーゼの阻害薬であるアデノシンによって抑制された。これらのことから CGRP の作用メカニズムとしてアデニル酸シクラーゼの活性化による細胞内 cAMP の上昇が予想された。この仮説を検証するために，さらに以下の検討を加えた。

まず，左心房標本を前述したように栄養液中に懸垂し，CGRP を加えた後に時間を追って組織を瞬時に凍結させ，各時点における cAMP の量をラジオイムノアッセイ法を用いて調べた。その結果，左心房の組織 cAMP 含量は，CGRP によって有意に上昇し，その時間経過は収縮力の増大の経過とほぼ一致することが判明した。さらに，心房の細胞膜標本を作成し，CGRP が膜標本内に存在するアデニル酸シクラーゼを用量依存的に活性化することも証明した。

次に，電気生理学的手法により，CGRP の細胞膜レベルでの作用についての解析を行った。摘出左心房標本を用い，電気刺激によって誘発される活動電位をガラス管微小電極により単一筋細胞から導出した。CGRP は，正常溶液中の標本では活動電位のプラトー相を上昇させ，また，高カリウム液により膜電位を脱分極させた標本では slow response 活動電位を誘発した。これらの結果は CGRP が遅い内向きカルシウム電流を増加させることを示すものであり，さらに，これが細胞内 cAMP レベルの上昇によることが示唆された。

#### < 結 論 >

CGRP 含有神経による心筋の陽性変力反応は，CGRP の心房の筋細胞膜上にある特異的な受容体への結合，アデニル酸シクラーゼの活性化，細胞内 cAMP レベルの上昇，これによるカルシウム内向き電流の増加という一連の過程を経て引き起こされる。

### 審 査 の 要 旨

本研究は，新たに見いだされた CGRP 含有神経による心機能の促進効果について多面的な手法を用いて解析を行い，この陽性変力作用の細胞内機構の詳細について明らかにしている。細胞内 cAMP の関与や収縮力増大の直接原因であるカルシウムイオンの細胞内流入を立証した実験の水準は，いずれも高度なものであり，その結果についても十分な吟味がなされている。著者等によってすでに指摘されているように，CGRP 含有神経の作用は感覚神経の軸索反射による局所的な反応であり，古典的な交感神経と副交感神経による中枢性調節とは概念を異にする。さらに，CGRP 含有神経が血管の調節系としても重要な働きを営んでいることが明らかにされつつあり，本研究とこれに関する一連の研究は循環系の調節における新たな神経性機構を示唆するものとして極めて高く評価される。

よって，著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。