

心筋ミトコンドリアにおける大コンダクタンスCa<sup>2+</sup>活性化K<sup>+</sup>チャンネルβ1サブユニットの役割

○大矢 進<sup>1</sup>, 桑田 有紀子<sup>1</sup>, 坂本 多穂<sup>1</sup>, 村木 克彦<sup>1</sup>, 今泉 祐治<sup>1</sup>(<sup>1</sup>名市大院薬)

【目的】大コンダクタンスCa<sup>2+</sup>活性化K<sup>+</sup>(BK)チャンネルは神経細胞や平滑筋細胞において膜興奮性制御に重要な役割を果たしているが、心筋細胞膜には機能発現していない。2002年 Xu らは Science 誌に心筋のミトコンドリア内膜においてBKチャンネルと類似したK<sup>+</sup>チャンネル(mitoK<sub>Ca</sub>)が機能発現しており、BKチャンネル開口薬が心筋保護作用を有することを報告した。本研究では、哺乳類の心筋においてBKチャンネルβ1サブユニット(BKβ1)が比較的多く発現していることに着目し、BKβ1が心筋mitoK<sub>Ca</sub>の構成分子として寄与しているかどうか検討した。

【方法】yeast two-hybrid法により、ヒトBKβ1をbaitとしてヒト心筋由来cDNAライブラリーをスクリーニングした。ポジティブクローンについては、免疫沈降法により哺乳類培養細胞発現系においてBKβ1とのタンパク質-タンパク質相互作用を再検討するとともに、共焦点レーザー顕微鏡システムを用いてBKβ1との細胞内共在を可視化解析した。また、BKβ1特異的に作用し、BKチャンネル開口作用を発揮するエストロゲンによる実験的虚血心筋細胞の保護作用について検討した。

【結果及び考察】yeast two-hybrid法により、ポジティブクローンとしてミトコンドリア呼吸鎖酵素シトクロムc酸化酵素サブユニットI(Cco1)が得られたが、新規αサブユニットを単離することはできなかった。また、免疫沈降法により、BKβ1とCco1はラット心筋においてもタンパク質-タンパク質結合能を有すること、ラット心筋ミトコンドリアより調製した巨大マイトプラスト膜を用いた免疫染色によりBKβ1とCco1が共発現していることが示された。さらに、実験的虚血心筋細胞においてエストロゲンは有意な保護作用を示し、BKβ1がまだ単離されていないmitoK<sub>Ca</sub>の構成分子として機能していることが示唆された。