

# 29T-am04S

心筋細胞における性ホルモン非ゲノム経路の局在化機構

○五領田 小百合<sup>1</sup>, 児玉 昌美<sup>1</sup>, 古川 哲史<sup>1</sup>, 黒川 洵子<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東医歯大難治研)

心電図 QT 間隔は女性の性周期によって変動し、血中プロゲステロン( $P_4$ )が QT 短縮に作用することが臨床データから示唆されてきた。これまでに我々は、プロゲステロン受容体(PR)を介した非ゲノム経路によって産生された一酸化窒素(NO)が、cAMP の刺激によって活性化された心筋 L 型カルシウム電流( $I_{Ca,L}$ )を抑制することをパッチクランプの実験によって見つけ、活動電位幅の短縮ひいては QT 短縮のメカニズムではないかと考えている。この  $P_4$  による  $I_{Ca,L}$  抑制作用様式から NO と cAMP/PKA シグナルがクロストークすることが示唆された。本研究では、クロストークのメカニズムを解明するために、FRET を利用した cAMP/PKA バイオセンサー(AKAR4)を用い、生細胞において PKA 活性を可視化した。AKAR4 には、脂質ラフト・非ラフトの局在を認識するレポータータグ(ラフト:Lyn-N 末、非ラフト:Kras-C 末)のついた 2 種類の AKAR4(それぞれ Lyn-AKAR4 と AKAR4-Kras)を用いた。 $\beta$  アドレナリン受容体( $\beta$ -AR)のアゴニストである isoproterenol をマウス新生児心室筋初代培養細胞に添加すると、両センサーにおいて FRET が上昇した(Lyn-AKAR4;  $45 \pm 5 \%$ ,  $n = 13$ , AKAR4-Kras;  $39 \pm 5 \%$ ,  $n = 6$ )。HL-1 細胞においても同様な作用を確認した。さらに、cAMP の刺激下で  $P_4$ (10-100nM)を添加すると FRET は抑制された。また、抑制の程度は AKAR4-Kras よりも Lyn-AKAR4 の方が大きいことも示され、クロストークの細胞内局在が示唆された。以上の結果から、PR を介した非ゲノム経路と  $\beta$ -AR シグナル経路のクロストークによる  $I_{Ca,L}$  の制御には、細胞内マクロドメインで局在化された PKA 活性が関連することが示唆された。