

28PA-am058

蛍光イメージング法を用いた SERCA および NCX による細胞質 Ca^{2+} 除去の観測
○濱崎 俊介¹, 行方 衣由紀¹, 風間 章寛¹, 濱口 正悟¹, 田中 光¹ (東邦大・薬・薬物)

【背景・目的】心筋細胞質内の Ca^{2+} 除去機構には、細胞膜の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換機構 (NCX) と筋小胞体 (SR) の SERCA がある。これらを直接的に検討する手法として、培養細胞での ^{45}Ca を用いた方法などが存在するが簡便とは言えない。Ellagic acid は心筋の弛緩時間の短縮及び Ca^{2+} transient の減衰を速めることが知られているが、SERCA や NCX に対する作用は明らかではない。本研究では、より簡便かつ生理的条件下での細胞質内 Ca^{2+} 除去機構に対する薬物の作用を検討できる実験系を構築し、Ellagic acid の作用機序を解明することを目的とした。

【方法】ddy 系マウス 4 週齢のランゲンドルフ灌流心を作成し、単離心室筋細胞を取得した。Fluo-3 (アセトキシメチル体) を取り込ませ、落射蛍光顕微鏡を用いて Ca^{2+} イメージング法により細胞質内 Ca^{2+} 濃度変化を測定した。

【結果・考察】Isoprenaline 10 nM 投与により蛍光強度が低下した。この低下は Propranolol 1 μM または Cyclopiazonic acid 10 μM 処置により抑制され、SEA0400 10 μM 処置では抑制されなかった。Phenylephrine 100 μM 投与により蛍光強度が低下した。この低下は Prazosin 1 μM または SEA0400 10 μM 処置により抑制され、Cyclopiazonic acid 10 μM 処置では抑制されなかった。すなわち、 β 受容体刺激により SERCA が活性化、 α 受容体刺激により NCX が活性化したことで細胞質内の Ca^{2+} 濃度が減少した。以上より簡便な Ca^{2+} 除去機構の検出系を確立した。この系において、Ellagic acid 10 μM 処置により蛍光強度が低下した。この低下は Cyclopiazonic acid 10 μM 処置により抑制され、SEA0400 10 μM 処置では抑制されなかった。よって、Ellagic acid は SERCA の Ca^{2+} 除去機構を活性化することにより細胞質内 Ca^{2+} 濃度を減少させると結論した。