



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## ES細胞（胚性幹細胞）より分化誘導した心筋細胞の イオンチャネルと超微形態の特徴

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 土屋, 邦彦 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/695">http://hdl.handle.net/20.500.12099/695</a>

## <研究成果>

### (1) 心筋イオンチャネルの検討

#### (方法)

マウスの ES 細胞において細胞分化を誘導して最終的に beating 能力を有する心筋細胞へ分化させる。これらの心筋細胞に解糖系代謝阻害薬およびミトコンドリア酸化還元酵素阻害薬による二重の代謝抑制を行い、膜接着型パッチクランプ法を用いて心筋細胞膜 ATP 感受性 K チャネルを活性化し、その発現の程度や電流量を記録する。また同時に K チャネル開口薬および遮断薬に対する反応様式を検討する。

#### (結果)

ES 細胞から得られた心筋細胞においては二重の代謝抑制を加えても、ATP 感受性 K チャネルの活性化が非常に困難であり、細胞が shrinkage する頃に初めて活性化することが多く、記録できてもすぐにパッチ膜が壊れてしまい、安定した電流記録が十分に行えなかった。短い記録ながらも、その電流電圧曲線及び持続性の活性化様式から ATP 感受性 K チャネルと考えられた。しかしこの電流は Glibenclamide によって多くが抑制不能であった。この理由として critical な状態で初めて活性化される ES 細胞が多かったことが原因と考えた。約  $5M\Omega$  のパッチ膜で活性化された ATP 感受性 K チャネルの数は最大でも 2 個であった。また数少ない細胞形態が保たれている状態で活性化された ATP 感受性 K チャネルは成人細胞と同じく濃度依存性に Glibenclamide で抑制された。K チャネル開口薬に対する反応では ES 細胞も成人細胞と同等に pinacidil で活性化された。以上から ES 細胞は虚血に強い可能性が示唆された。

## (2) 超微形態の検討

### (方法)

ES 細胞から分化した心筋細胞をグルタールアルデヒドおよびオスミウムによる電顕固定後に透過型および走査型電顕にてその超微形態や myofibril, sarcomere などを観察し、その形態と ATP 感受性 K チャネルの発現や分布との関連性につき検討する。

### (結果)

ES 細胞から分化した心筋細胞においては myofibril, sarcomere が成人細胞に比して非常に疎であり、これは ATP 感受性 K チャネルの発現数自体が少ないという上記結果とよく一致していた。