

循環器の生体膜の分子生物学

香川靖雄, 中尾慎一^{*,***}
最首俊夫^{**,***}, 清水禮壽^{***}

はじめに：情報とエネルギーの制御

循環系制御を行う基本的な機構は生体膜の中のチャンネル, 受容体, ポンプ, 等の無数の膜蛋白質である。心筋細胞の活動を発動するのは受容体, チャンネルに始まる情報伝達系である。しかし心筋細胞の最大活動量は酸化リン酸化や解糖に依存する ATP 合成速度で制御される。生体膜の分子生物学が飛躍的に発展し(1), これらの構造と機能の測定(2), 薬剤作用が解明された。病的な心筋のチャンネルが ATP の低下やリン脂質の分解産物であるリゾレシチン等で変化を受けることも知られた(3)。さらに悪性高熱(小胞体 Ca チャンネル変異), 筋ジストニー(形質膜 L 型 Ca チャンネル欠損), 周期性四肢麻痺(骨格筋形質膜 Na チャンネル変異), 一部の心筋症(ミトコンドリア DNA 変異)など, 無数の膜異常が確定された(1)。情報は向代謝性受容体, 向イオン性受容体, 電位型チャンネル等で感受され, cAMP, IP₃, Ca 等各種の 2 次メッセンジャーやプロテインキナーゼを経て伝達される(1-3)。

今後の人体の分子生物学の発展の大きい原動力となると考えられるのは, ヒトゲノム解析研究であって, すでに全染色体の物理地図が出来(4), 今世紀中には全遺伝子産物である 10 万個の cDNA の構造が決定される予定である。ここで述べるチャンネルなど各種の膜蛋白質の構造の未知のものも間もなく解明されると考えられる。

心筋のチャンネル

心筋の活動電位 (AP) は下記の 5 相の順に変化し, 多数の電流 (I) の和である (図 1) (3)。これらは Na と Ca チャンネルによる興奮過程と, K チャンネル群やポンプ (Na, K-ATPase), 担体 (Na/Ca-exchanger) 等による回復過程である。心筋の拡張期の静止膜電位は, K の細胞内外濃度差 (140 : 4 mEq) で定まる。I_{K1} 電流は静止電位の原因であり, プラトーも維持するが, 外より内向きにイオンが流れ易い異常整流である。I_K 電流は脱分極 (>30mV) から 100 ミリ秒遅れて外向きにのみ流れる遅延整流である。心筋 AP は Ca の緩徐内向き電流 I_{Ca} と I_K のため骨格筋 AP の 100 倍も持続するので心臓から血液の拍出が出来る。

心筋は活動電気 (AP) の経過とそのイオン電流成分は次のように要約される (図 1)

- 0 相：脱分極相 (AP upstroke) : Na チャンネルの開放による約 1 ミリ秒の内向き I_{Na} 電流。興奮性生体膜の基本的過程である。心電図の鋭い R 波は 0 相の反映である。
- 1 相：初期再分極相 : K チャンネル (RHK1) のキニジン感受性外向き I_{to} 電流。これは電位のオーバーシュートが短時間に一部戻って, 僅かに再分極するものである。
- 2 相：高原相 (AP plateau) : L 型 Ca チャンネルの内向き I_{Ca} 電流と I_{KD1} による。特にこの Ca の流入による脱分極の持続は骨格筋の筋電図には見られない心筋の特有の性質であって, この期間に Ca によるアクトミオシンの収縮で拍出が可能となる。心室の心筋全体が興奮している期間が心電図の ST

自治医科大学第一生化学教室

*京都大学医学部麻酔学教室

**東北大学医学部麻酔学教室

***自治医科大学麻酔学教室

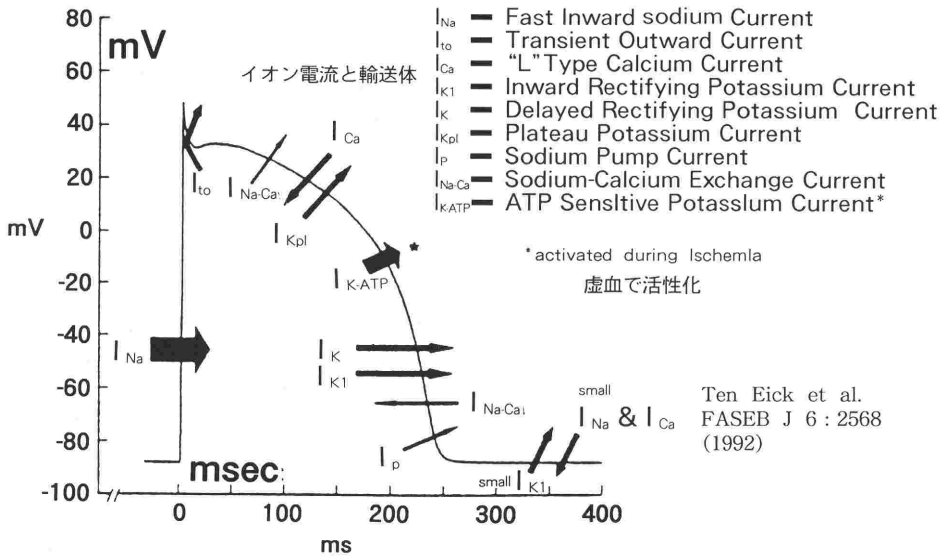


図1 単離した心室筋細胞の活動電位 (AP)

に相当する。

3相：再分極相：外向き整流 K チャネル I_{K1} と ATP 感受性 K チャネルの I_{KATP} によって、脱分極していた心筋が元の電位に戻ることが出来る。後者は細胞内 ATP 濃度を感じて筋収縮期間を短縮する。再分極によって心筋は拡張期に戻る。この再分極の時期は心筋の部位によって差があるので心電図の T 波が生じる。

4相：静止電位相：Na ポンプの I_p 電流と、Na-Ca 交換担体 I_{NaCa} 電流による。この回復過程によって、流入した Na, Ca は細胞外にくみ出され、流出した K は細胞内に戻り、次の興奮に備える。

なお洞房、房室結節には I_{Na} はないため、心電図の P 波は緩やかな曲線となる。しかも 4 相は緩徐脱分極相であって、L 型 Ca チャネルを通して Ca の流入がしだいに増加して一定の脱分極の値に達すると興奮が開始される。これが心室筋の興奮のペースを作る。

心筋の収縮に際して移行した各種のイオンは 4 相でナトリウムポンプ (Na, K-ATPase) と、Na/Ca 交換輸送体によって回復される (図 2)。また図 2 には示されていないが、筋形質膜と筋小胞体膜にはカルシウムポンプ (Ca-ATPase) が存在し、筋収縮時の Ca イオンを細胞外と筋小胞

体内に回収する。このナトリウムポンプを阻害するのがジギタリス剤であって、図 2 の様に細胞内 Ca 濃度を高めるので、筋肉の収縮力を高める強心薬となる。このとき高 Ca 血や低 K 血では当然ジギタリス中毒の危険がある。

チャネル活性の測定

以上に述べた生体膜内の各種のチャネルの 1 分子の開閉を直接測定する方法は単一チャネル電流記録法(2)である。この方法は病的な心筋形質膜のチャネル類にも応用されている(3)。心筋形質膜そのものの単一チャネル記録法では、生体膜に含まれる多くの伝達物質やそれで活性化されるキナーゼ等の要素の影響を受ける。そこでこの影響を除くため、心筋形質膜の L 型の Ca チャネル (L チャネル) を精製することが必要である。そしてチャネルの活性は再び精製標品を脂質二重膜(5)や脂質小胞(6)に再構成して、その blocker と opener の活性を測定したのである (図 3)。特に膜蛋白質を再構成した脂質二重膜における電気測定には技術的に解決すべき問題が多かった(7)。このように分離することによって、単一チャネル電流記録法から推定されていた Ca チャネルが 4 種に分類されたのである (表 1)。

故沼教授の研究によって、形質膜では Na と Ca のチャネルの α サブユニットは 4 個の相同鎖

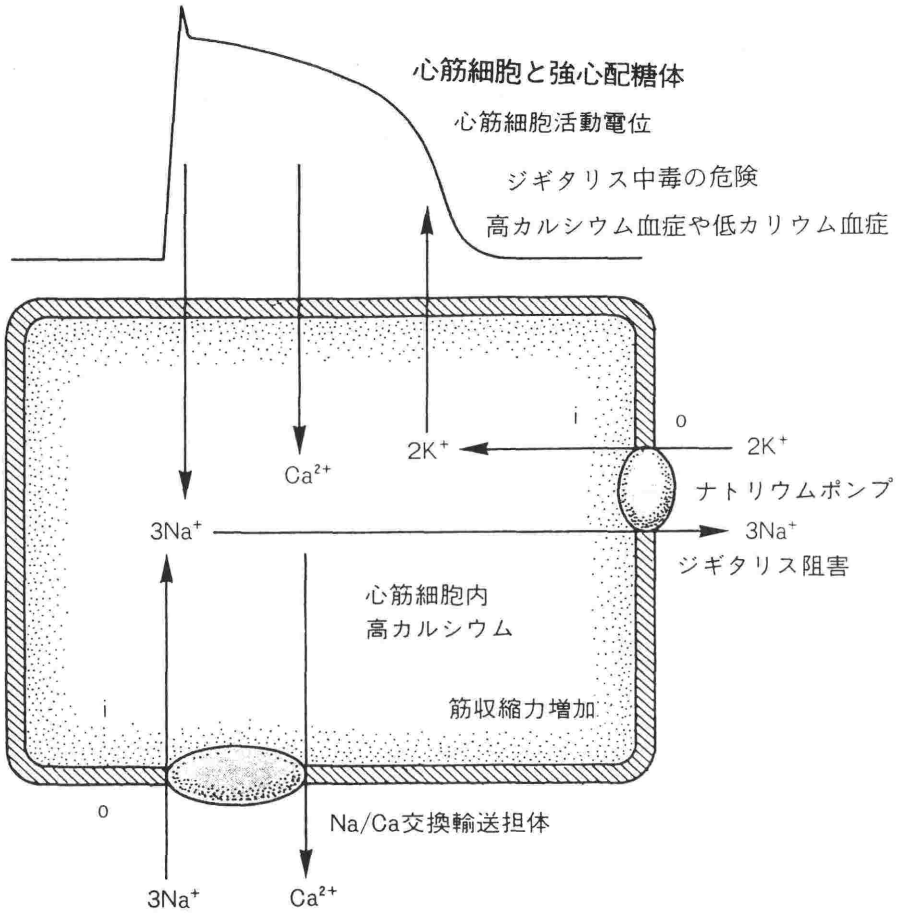


図2 ナトリウムイオンとカルシウムイオンの回復過程とジギタリス作用

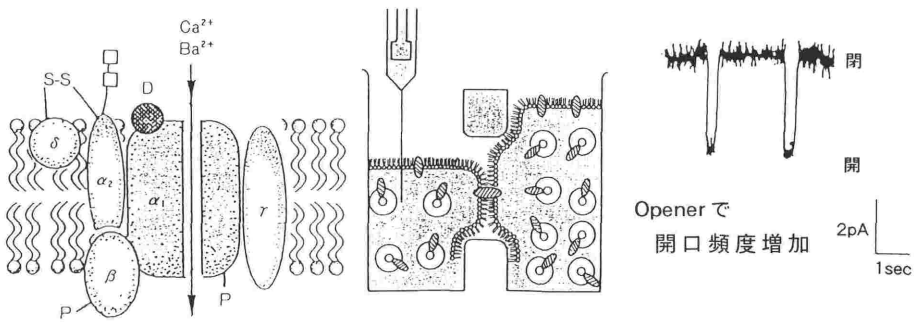


図3 心筋のCaチャンネル(L型)の構造とその単一チャンネル電流

Ca²⁺チャンネルのα₁サブユニットはNa⁺チャンネルと基本構造が等しいが少なくともα₂とβがなければCa²⁺チャンネル活性は出ない。Pはリン酸化部位(調節部位)、α₂の□は糖鎖を示す。Dはジヒドロピリジン結合部位、N型Caチャンネルはα₁が30kDaと大きく、δを欠く点異なる。コンダクタンス28pS、平均開放時間99ms、開いている確率12%。250mMBaCl₂。左はサブユニット構造、中は二重同膜の形成法、右はチャンネル電流。

(Snutch, T. P. et al : Curr. Opin. Neurobiol. 2, 247, 1992 ; 中尾・浜本・香川・清水・森・平田 : Biochem. Biophys. Res. Commun, 152, 1255, 1988)

表1 Caチャンネルのサブタイプの性質

	T型	N型	L型	P型
単一チャンネルコンダクタンス	8~10pS	13pS	20pS	N型に似る
イオン選択	$I_{Ca} = I_{Ba}$	$I_{Ba} > I_{Ca}$	$I_{Ba} > I_{Ca}$	
活性化される電位	-70mV	-30mV	-10mV	
定常状態で不活性化される電位	-100~-60mV	-120~-30mV	-60~-10mV	
不活性化速度	20~50 msec	50~80 msec	遅い(>500msec)	
分布	心房筋, 血管, 後根ニューロン	神経, 特にシナプス前膜(伝達物質放出)	心室筋, 平滑筋, 骨格筋	小脳のプルキンエ細胞, 顆粒細胞
サブユニット	$\alpha_1 \alpha_2 \beta \gamma$	α_1 230kDa α_2 150kDa β 58kDa (γ) 96kDa	α_1 170kDa α_2 150kDa β 52kDa γ 32kDa δ 22kDa	α_1 はL型と40%相同 少なくとも $\alpha_1, \alpha_2, \beta$ で活性
阻害剤	Ni(0.1mM)	ω -コノトキシン Cd(20 μ M)	Ca拮抗薬(ジヒドロピリジン)	クモ毒(FTX)

香川 文献1)

域を持ち各領域は6本の膜貫通性ヘリックスから成ることが解明された(8). 骨格筋と心筋のLチャンネルの相違を知るために両Lチャンネルの α サブユニットの遺伝子を部分的に入れ換えて連結する(図4, 太線部分). そして, α サブユニット欠損のジストニー筋でこのキメラ遺伝子を発現させる. こうして心筋Lチャンネルの細胞外Caへの依存性部位が領域II-III間のループに特定された(図4)(8). その膜電位感受性を示す部位は領域IのS4のArg-Lys残基にあり, またチャンネルのゲートを開閉する能力はS3-S4セグメントにある(9). さらにチャンネルのイオン選択能を決めているフィルターと呼ばれる構造のアミノ酸残基の立体配位までもが知られた.

麻酔薬と抗不整脈薬とチャンネル

興奮膜の機能を担うチャンネルの構造と機能が解明されると, 神経の興奮を制御して麻酔を行う他に, 心筋の興奮性を制御する不整脈の治療薬が開発された(表2). Naチャンネルblockerのリドカインは, 末梢神経線維の伝導には局所麻酔薬として作用するが心室にはIb群抗不整脈薬として使用される. これは図5のBに示すように, 脱分極の最大立ち上がり速度を下げ, さらにK流出を早めて再分極を促すので, 活動電位持続時間(APD)を短縮する. これによって心室頻拍や心筋梗塞時

の細動の危険を防止することができる. おなじ局所麻酔薬であっても, プロカインアミドの場合はK流出を抑制するのでAPDは延長する(図5のA). 局所麻酔薬のNaチャンネルへの結合は, その開閉頻度と膜脱分極の大きい程強くblockしやすい.

Lチャンネルのblockerのベラパミルは心房にはIV群抗不整脈薬であるが, 血管には血圧降下薬である. Caの流入が阻害されるから, 洞房, 房室結節のペースメーカー電位形成の抑制を行う. しかし, 神経のT型Caチャンネルには作用しない. 筋収縮時はNaチャンネルによる脱分極がT管膜のLチャンネルを開口させfoot構造を介して隣接する筋小胞体のリアノジン型Caチャンネルを開口させて, アクトミオシンの収縮を起こす. Lチャンネルは $\alpha_1 \alpha_2 \beta \gamma \delta$ の5つのサブユニットから成り, α_1 がチャンネルとblocker受容体部, β はLambert-Eaton筋無力症候群の抗原である(図3上). この症候群は骨格筋支配神経終末の抗VDCC抗体によって, アセチルコリンの分泌が障害される筋脱力で小細胞性肺癌に伴う自己免疫疾患である.

心筋ミトコンドリアのATP供給能

心筋の活動量は, ミトコンドリアのATP合成速度で定まるため, 心臓は極度にO₂依存度が高く典型的な赤筋である. 急速な運動を行う四肢の

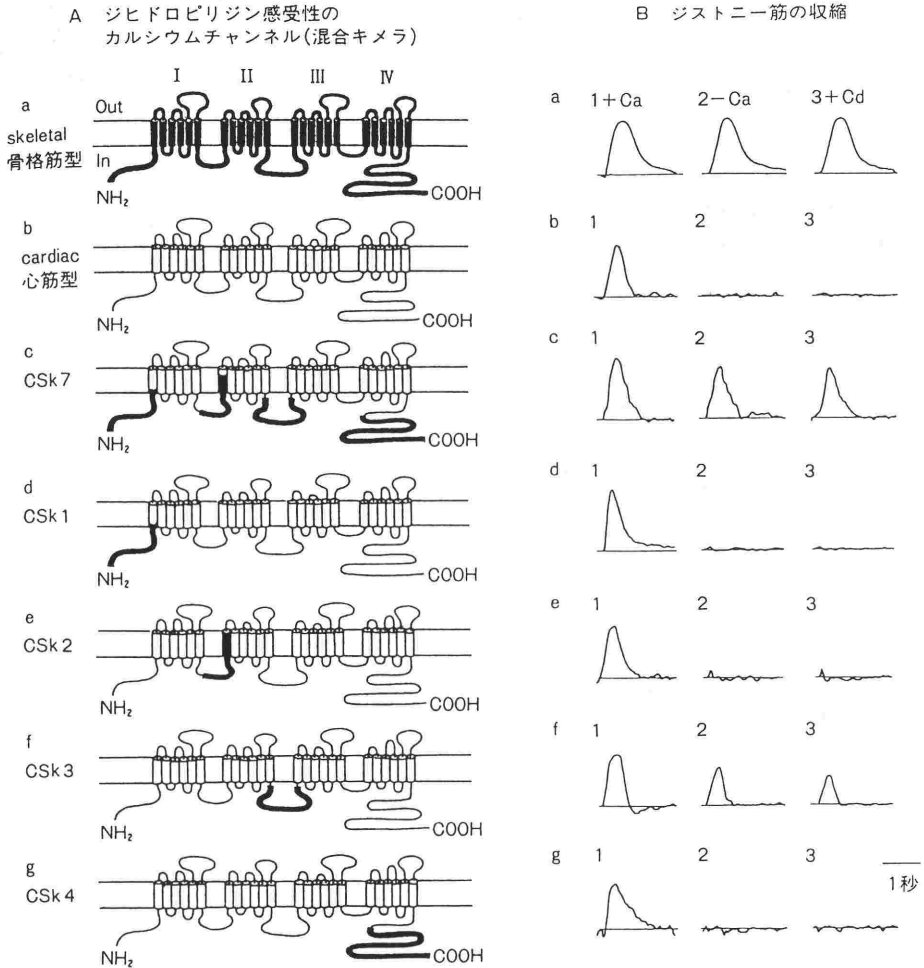


図4 ジヒドロピリジン感受性 Ca^{2+} チャンネルの骨格筋型と心筋型の機能の相違を示す部位

遺伝子のキメラを作り心筋型のチャンネルに太線で示した骨格筋型のチャンネルの細胞液側のループを入れる。この遺伝子をもったプラスミドをジストニー筋(ジストロピリジン感受性 Ca^{2+} チャンネル欠損)で発現させる。

(沼 正作, 他: Cold Spring Harbor Symp, 55, 1, 1990)

骨格筋は酸素の供給が間に合わないので解糖系に依存する白筋が主となっている。しかし、呼吸のための肋間筋や横隔膜は心筋と同様に持続的活動が要求されるために赤筋に属する。ミトコンドリアの酸化的リン酸化は代謝系の中でも最も大量の呼吸-ATP合成反応を行うためにミトコンドリア固有の遺伝子(mtDNA)と核の遺伝子(核DNA)の双方の共同で作られる。ミトコンドリアは細胞質にあり、mtDNAは細胞質の母系遺伝をする。このために組織に共通である。これに対して、核

の遺伝子は組織毎に発現が異なり、組織固有の働きが出来るのである。例えばATP合成酵素のサブユニットの中で、ミトコンドリア遺伝子に支配されるものは全組織同構造である。しかし、核遺伝子に支配される γ サブユニットを例にとると、筋肉と肝臓とでは異なる交代スプライシングを受けて、運動による代謝でpH変動に応じて発現される機構になっている(図6)(10)。

ATP合成酵素は心筋のエネルギー供給の中心であるだけでなく、全ての生物で共通の基本構造

表2 Vaughan Williams の分類に基づく抗不整脈薬の分類

分類	電気生理学的特徴	薬 剤	臨床効果	副作用	
第I群 \dot{V}_{max} を低下	Na チャンネル 抑制	Ia群 APD 延長 遅結合	キニジン (抗コリン作用あれ) プロカインアミド (抗コリン作用なし)	上室性および心室性不整脈 (心房細動など)	排尿障害, 緑内障頻脈, 口渇, 心不全, SLE 様 症候群
		Ib群 APD 短縮 速結合	リドカイン メキシレチン	心室性の期外収縮と頻拍 (心筋梗塞時の心室細動予防)	胃腸症状 中枢神経症状
		Ic群 APD 不変 超遅結合	フレカイナイド エンカイナイド	上室性および心室性不整脈	心不全, 不整脈の悪化
第II群 β_1, β_2 遮断薬	β 遮断作用	プロプラノロール ピンドロール メトロプロロール	洞性頻脈, 上室性および心室性不整脈 WPW 症候群	血圧低下, 心不全, 徐脈, 房室ブロック, 気管支喘息	
第III群	APDの延長	アミオダロン ブレチリウム	心筋症などの心室性不整脈(難治, 重症性)	角膜混濁, 甲状腺機能異常, 肺線維症	
第IV群	Caチャンネル抑制	ベラパミル ジルチアゼム	上室性頻拍	血圧低下, 心不全徐脈, 房室ブロック	

(APDは活動電位持続時間)

(海老原昭夫: 今日の治療, 1, 32, 1993参照)

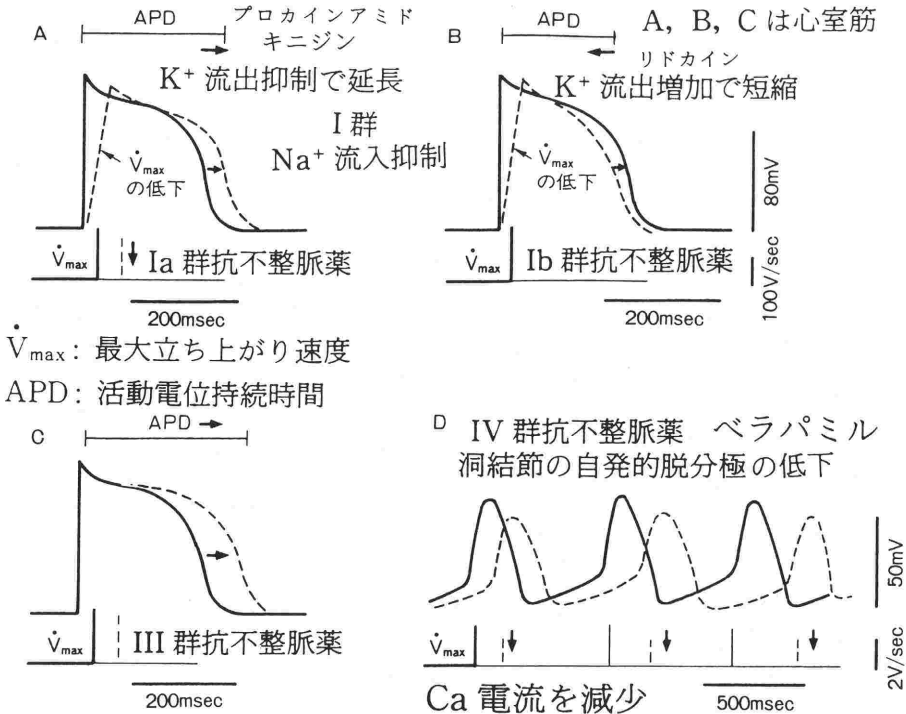


図5 心筋細胞の活動電位に及ぼす各種抗不整脈薬の効果

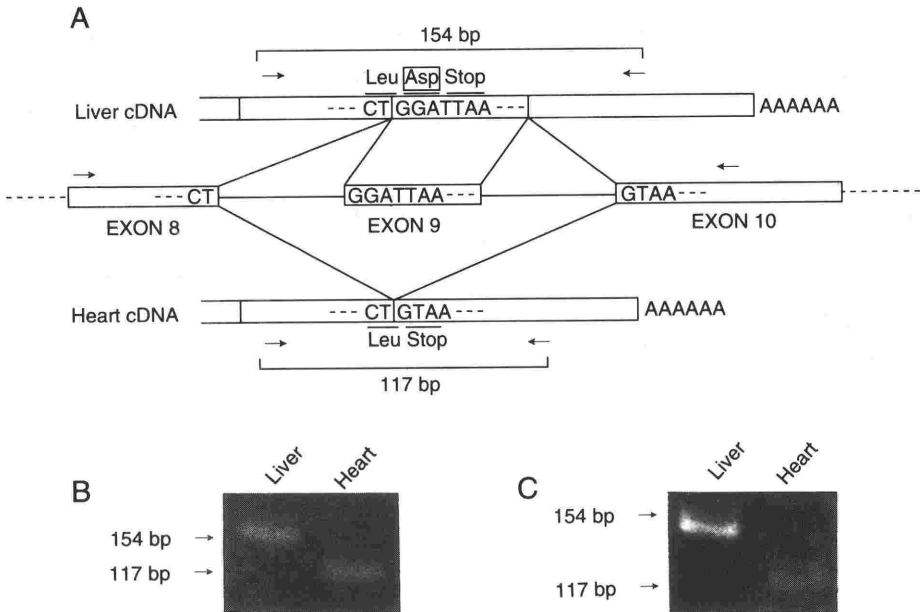


図6 選択的スプライシングによるアイソフォームの生成
 Aは選択的スプライシングの模式図であり、矢印はPCR法に用いたプライマーの位置を示す。Bはヒト、CはウシからRNAを抽出しRT-PCR法にてcDNA断片を増幅し、アガロースゲル電気泳動にてエキソン9の有無を確認した。

を持っている。しかもATP合成酵素分子の中に水素イオンを輸送するチャンネル様構造 F_0 があって、呼吸酵素系が輸送した水素イオンを逆流させてATP合成のエネルギーを得ている(7)。そのためその構造の解析が詳しく行われて来た(10-14)。

高齢者(>80歳)では著しいミトコンドリア機能低下(小児レベルの約20%)が起り(13)、手術等の課題となっている。その上に、プロカイン、テトラカイン、リドカインなど各種の局所麻酔薬が心筋ATP合成酵素を高次構造変化を介して阻害する事が判った(15)。特にプロカイン、テトラカインはリドカインの10倍以上ATP合成酵素を阻害するので問題になるかもしれない(15)。他方mtDNA変異は各種の脳筋症を起し、これに伴う拡大性心筋症が見いだされる(13,16,17)。mtDNAはヒストンを持たない裸のDNAで、年齢と共に変異が蓄積して行く。そこで、老化をミトコンドリアDNA変異の集積で説明する学説が

提唱された(13)。しかし、ミトコンドリア欠損細胞(ρ^0)に高齢者のミトコンドリアを移入すると、老化ミトコンドリアの呼吸や蛋白質合成活性は小児レベルにまで回復された(18)。したがってミトコンドリア機能低下はmtDNAでなく、老化した核DNAに原因がある。

心筋虚血におけるATP合成とチャンネル

ミトコンドリアのATP合成能が心筋梗塞をはじめ多くの心疾患で低下すると、先ずもう一つのATP合成系である解糖系の乳酸形成が進行する。これが冠血流が維持されている低酸素血の場合は乳酸が血流中に除去されるので、しばらく収縮が持続する。しかし、虚血では乳酸が直ちに心筋内に蓄積を始め、pHが低下した時点で、 H^+ がホスホフルクトキナーゼを阻害する一方、 Ca^{2+} をトロポニンCから外して、筋収縮を停止させる。心筋の内層は外層に比較して虚血に侵され易くこれらの変化が先に起こる。

こうして先ず高エネルギーリン酸を一時的に貯えていたクレアチンリン酸の濃度が下がり、ATPの濃度も低下すると、ナトリウムポンプ、カルシウムポンプを駆動できなくなり、細胞内にNa, Caが流入する。これが障害組織の膨張の原因であり、また過剰のCaによって、カルシウム依存性のプロテアーゼ (CANP)、リソソームの各種水解酵素、特にホスホリパーゼが活性化されて心筋組織の破壊が速やかに進行する。ホスホリパーゼ A₂の産物であるリゾレシチン (リゾホスファチジルコリン) は各種のイオンチャンネルを阻害するだけでなく、静止電位を下げる(3)。

これらイオンの流入を停止すれば心筋の保存が可能となる。試験的にはL型Caチャンネルの阻害剤を予め投与して、梗塞の障害を軽減することができる。事実、心筋のATP量を³¹P-核磁気共鳴法で実測して見ると、カルシウムチャンネル阻害薬を投与した場合、特に実験的虚血後のpH、クレアチンリン酸とATP濃度の回復が著しい(図7)(19)。

移植の際にはEuro-Collins液という高K(115mM)、低Na(10mM)、無Ca液が広く用いられる。これによって心臓の活動を停止させ、ATPの損失を防ぎ、組織破壊を最小限にするのである。この細胞内液型の培養液では静止膜電位は消失するが、人体の細胞を増殖させることも可

能であることが示されている(20)。これは今後、入胞外液、組織保存法、イオンチャンネルの研究にとって重要である。

ATP 依存 K チャンネルによる循環制御

イオンチャンネルの働きで心筋の活動が発動され、ATPが消費されるならば、ATP濃度を検知して、心筋の活動を制御するフィードバックの機構が必要となる。再分極の主役は各種のKチャンネルであり、これらは興奮の主役であるNaやCaチャンネルと異なって、きわめて種類が多い。Kチャンネルは図8の様に膜6回貫通型の電位型Kチャンネルと、膜2回貫通型のKチャンネルに分かれる。主な電位型Kチャンネルは表3の様に分けられる。

一方ATP濃度で膜電位の再分極を制御するKチャンネルには、ATP依存KチャンネルとATP制御Kチャンネルの2種がある。後者はむしろ腎臓に多く、ATPで開放される。前者の遺伝子構造は現在自治医大で解析中であるが、後者と似ているので、後者の構造を図9に示しておく。

ATPのミトコンドリアのATP合成速度に応じて活動を制御するATP依存のKチャンネルはK_{ATP}電流を形成し、ATP濃度が主常では閉じている(21)。膵β細胞では血糖の増加に伴うATP濃度上昇によって、K_{ATP}チャンネルが閉じ、脱分極によってLチャンネルを開いてCaによる分泌顆粒

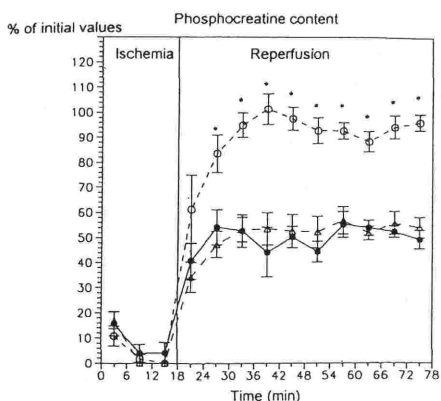


Fig. 2. Phosphocreatine content (in %) of untreated (●—●) and pretreated hearts (△—△: 100 nM, ○—○: 1 μM) during ischemia and reperfusion. * P ≤ 0.05.

P-核磁気共鳴法による非侵襲的心筋測定 Elst.L.V.et al. Europ.J.Pharmacol. 251: 163 (1994)

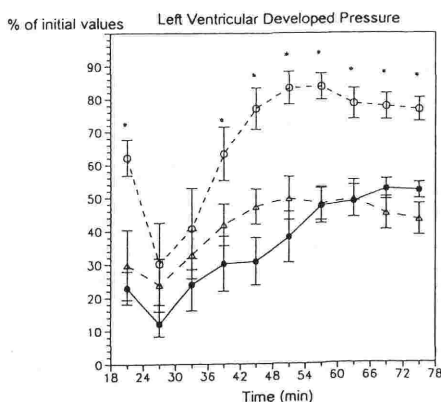


Fig. 7. Left ventricular developed pressure (in %) of untreated (●—●) and pretreated hearts (△—△: 100 nM, ○—○: 1 μM) during reperfusion. * P ≤ 0.05.

図7 カルシウムチャンネル阻害薬による心筋エネルギー産生と拍出力の回復促進

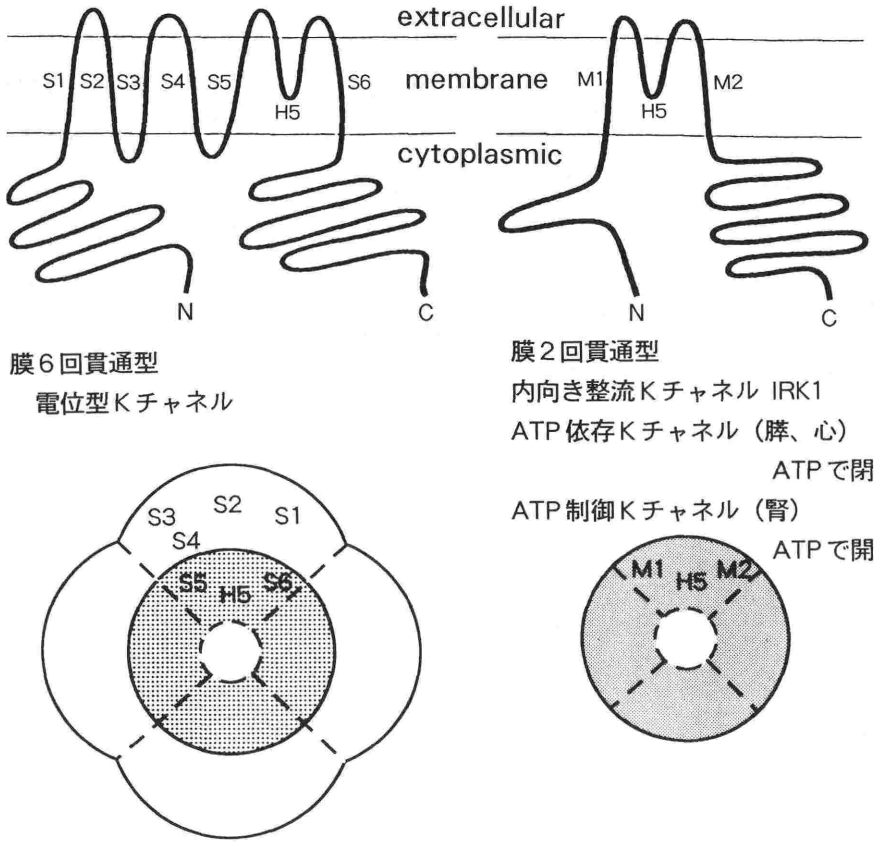


図8 Kチャンネルの2種の基本型
Kubo, Y. et al : Nature 362, 127, 1993

表3 主な電位型Kチャンネルの特徴と役割

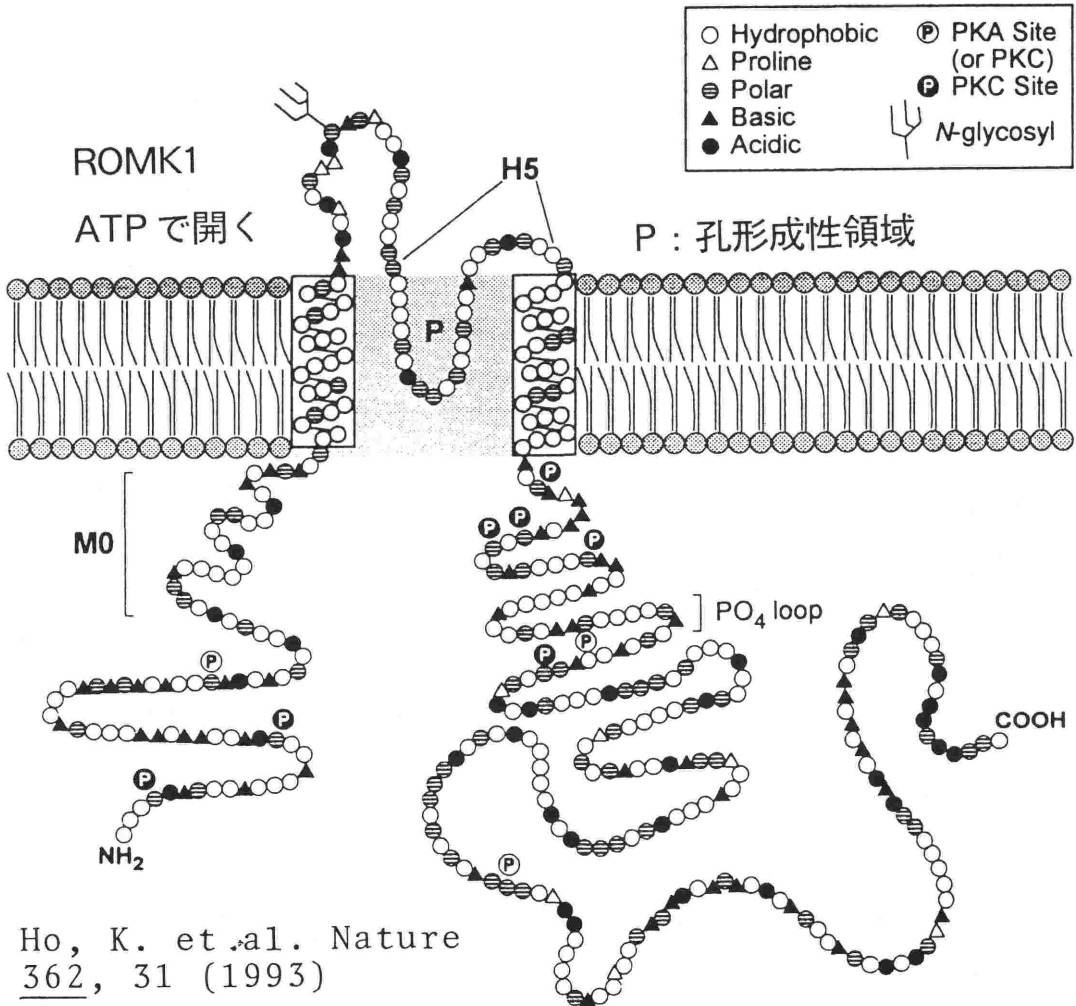
名称#	特徴	役割
遅延整流 (外向き整流) Kチャンネル [K _{vs1}]#	脱分極によって活性化する	興奮不応期の短縮 細胞内向きのNa ⁺ 流を節約する
異常整流 (内向き整流) Kチャンネル* [Kir 1.1~3.1]#	過分極によって活性化する (脱分極によって不活性化する)	細胞内向きのイオン流を制限する [I _{K1} イオン流]
Aチャンネル (過渡型Kチャンネル)	過分極→脱分極刺激によって一時的に活性化する	反復して起こる興奮の頻度を調節する
Cチャンネル [K _{Ca}] (Ca活性型Kチャンネル) (BKチャンネル)**	細胞内Ca ²⁺ によって活性化する大きなコンダクタンスをもつ	長い周期のリズムを形成する

*構造は Ishii, K., Yamaguchi, T., Taira, N. : FEBS Lett. 338 : 107, 1994

(香川 : 岩波講座分子生物学, 5, 135, 1990)

**構造は Adelman, J. P. et al : Newron 9 : 209, 1992

#分類は Chandy, K. G., Gutman, G. A. : Trends in Pharmacol. Sci 14 : 434, 1993



Ho, K. et al. Nature 362, 31 (1993)

図9 ATP制御性Kチャンネルの構造

の放出でインスリンを分泌する²²⁾。したがってこのチャンネルの blocker は経口糖尿薬として使われる。心臓では乏血でATPが低下するとKATPチャンネルが開き、過分極と活動電位変化の短縮を起こしてエネルギーを節約する(図1*印)。従ってKATP opener の nicorandil や cromakalim は心筋梗塞の壊死と細動を防止するために使われ、さらに冠動脈や気管枝を拡大する²²⁾。しかし、心筋梗塞に伴う乏血や低酸素血による悪性の心室性不整脈に対してはKATPチャンネル blocker の glibenclamide が特異的に有効である²³⁾。ここに今後解決しなければならない治療の矛盾がある。

文 献

1) 香川靖雄：イラストでみる生体膜と疾患の分子生物学。

南山堂，東京，1-560頁，1993

2) Sakmann B : Nobel Lecture. Elementary steps in synaptic transmission revealed by currents through single ion channels. EMBO J 11 : 2002~2016, 1992
 3) Ten Eick RE, Whalley DW, Rasmussen HH : Connections : heart disease, cellular electrophysiology, and ion channels. FASEB J 6 : 2568~2580, 1992
 4) Cohen D, Chumakov I, Wissenbach J : A first-generation physical map of the human genome. Nature 366 : 698~701, 1993 [岡田善雄, 香川靖雄 : 文部省ヒト・ゲノム解析研究報告書]
 5) Nakao S, Hamamoto T, Kagawa Y, et al : Incorporation of partially purified cation channels from cardiac sarcolemmal membrane into planar lipid bilayers. Biochem Biophys Res Commun 152 : 1255~1262, 1988
 6) Nakao S, Ebata H, Hamamoto T, et al : Solubilization and reconstitution of voltage dependent calcium channel from bovine cardiac muscle. Ca²⁺ influx assay using the fluorescent dye Quin2. Biochim Biophys. Acta 944 : 337~343, 1988

- 7) Muneyuki E, Hirata H, Kagawa Y : Steady state kinetics of proton translocation catalyzed by thermophilic FoF1 ATPase reconstituted in planar bilayer membranes J Biol Chem 264 : 6092~6096, 1989
- 8) Numa S, Tanabe T, Takeshima H, et al : Molecular insights into excitation-contraction coupling. Cold Spring Harbor Symposium 55 : 1~7, 1990
- 9) Nakai J, Adams B A, Imoto K, et al : Critical roles of the S3 segment and S3-S4 linker of repeat I in activation of L-type calcium channels. Proc Natl Acad Sci USA 89 : 1014~1018, 1992
- 10) Endo H, Matsuda C, Kagawa Y : Exclusion of an alternatively spliced exon in human ATP synthase γ -subunit pre-mRNA requires *de novo* protein synthesis. J Biol. Chem 269 : 12488~12493, 1994
- 11) Saishu T, Nojima H, Kagawa Y : Stability of structures of the epsilon subunit and terminator of thermophilic ATPase. Biochim Biophys Acta 867 : 97~106, 1986
- 12) Kagawa Y, Saishu T, Nakao S : Stable structure of the thermophilic proton ATPase beta subunit. J. Biochem 100 : 923~934, 1986
- 13) Linnane AW, Zhang C, Baumer A, et al : Mitochondrial DNA mutation and the ageing process : Bioenergy and pharmacological intervention. Mutation Research 275 : 195~208, 1992
- 14) Kagawa Y, Ohta S, Harada M, et al : The $\alpha 3 \beta 3$ and $\alpha 1 \beta 1$ complexes of ATP synthase. Ann New York Acad. Sci 671 : 366~376, 1992
- 15) Saishu T, Kagawa Y, Shimizu R : Resistance of thermophilic ATPase (TF1) to specific F1-ATPase inhibitors including local anesthetics. Biochem Biophys Res Commun 112 : 822~826, 1983
- 16) Wallace DC : Diseases of the mitochondrial DNA. Annual Review Biochem 61 : 1175~1212, 1992
- 17) 香川靖雄 : 特集「ミトコンドリア遺伝子」細胞工学 11(1), 秀潤社, 東京, 1992
- 18) Hayashi JI, Ohta S, Kagawa Y, et al : Nuclear but not mitochondrial genome involvement in human age-related mitochondrial dysfunction. J Biol Chem 269 : 6878~6883, 1994
- 19) Elst LV, Chatelain P, Manning AS, et al : ^{31}P nuclear magnetic resonance study of the effects of the calcium ion channel antagonist fantofarone on the rat heart. : Europ J Pharmacol 251 : 163~172, 1994
- 20) Kagawa Y, Takaoka T, Hamamoto T, et al : Cytosol type electrolyte medium suitable for long term growth of human cell with very low membrane potential. Biochem Biophys Res Commun 169 : 1217~1221, 1990
- 21) Noma A : ATP regulated K channels in cardiac muscle. Nature 305 : 147~148, 1983
- 22) Gopalakrishnan M, Janis RA, Triggle DJ : ATP-sensitive K^+ channels : Pharmacologic properties, regulation, and therapeutic potential Drug Develop. Res 28 : 95~127, 1993
- 23) Siegle P : Blockers of ATP sensitive potassium current are of potential benefit in ischaemic heart disease. Cardiovasc Res 20 : 31~32, 1994