

ギャップ結合：コネキシン分子の多様な発現：『田原結節』の分子解剖学

柴田, 洋三郎
九州大学大学院医学研究院形態機能形成学分野

<https://doi.org/10.15017/16985>

出版情報：福岡醫學雜誌. 101 (1), pp.1-9, 2010-01-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：



総 説

ギャップ結合：コネキシン分子の多様な発現 —『田原結節』の分子解剖学—

九州大学大学院医学研究院 形態機能形成学分野

柴 田 洋 三 郎

1. 『田原の心臓刺激伝導系』

個体発生の最も早い時期に出現する動的な活動が心臓の拍動であり、神経系の発達に並ぶ。しかし、その機構については、筋原説と神經原説とが併立していた。これに決着をつけた立役者の一人が、心臓の刺激伝導系を発見した田原淳である。我が国では、残念なことに田原結節ともよばれる房室結節の発見者としてのみもっぱら知られるが、それは博士の業績全体のごく一部をなすにすぎず、本来は『田原の心臓刺激伝導系』の発見者と呼ぶべきであろう（脚注1）。博士は当時、ヒス束（房室束）とよばれる、心臓の心房と心室を唯一つなぐ特殊線維束を、上流の心房側と下流的心室側の両方向に逆って組織切片で観察し、ヒス束をふくむ一連の網状の特殊な線維系が心臓内に展開することを発見、その基本構築と生理的な意義を明らかにし、これに「心臓の刺激伝導系」と命名した。すなわち、①ヒス束の上流は網状構造の房室結節つまり田原結節を経て②通常の心房筋に移行すること、下流側では③ヒス束は心室中隔で左右両脚に枝分かれした後、④当時はおそらく腱索であろうとも言われ、その機能や性状が長年不明であったプルキンエ線維束に移行すること、⑤プルキンエ線維はさらに細かく分岐して心室筋に移行すること、この刺激伝導系は、有蹄類のウシやヒツジに典型的だが、ヒト、ウマ、ウサギ、ラット、モルモット、さらにはハトなど調べたすべての動物に認める共通の組織構造であることを1906年の論文で報告している¹⁾。田原の発見に触発されて、翌年にはKeithとFlachがすでに心臓の収縮起始部と判明していた上大静脈流入部に、田原結節と類似構造の洞房結節があることを報告した。つまり博士の研究を契機として、現在の心臓刺激伝導系の全貌が一挙に解明されたわけである。

心臓の収縮については、先述の如く、心筋も骨格筋と同様に神經興奮により収縮すると考える神經原説と、心筋自体に自動収縮能があるとする筋原説との間で長い論争があった。田原論文にも紹介されているEngelmannは、筋原説の代表で、カエルの心筋を二分断しても、その間に細い筋束が残って一部でも繋がっている限り、それが橋渡しとなって両者が同調して収縮することを1875年に報告している。田原の提唱した刺激伝導系は、①特別な心筋線維が興奮を伝えること、②その玄妙な配置によって協調的な拍動調節を展開する機能構造系があり、③心筋の興奮収縮自体で心臓全体が血液ポンプとしての役割を果すことを明らかにし、心拍動筋原説の決定的な証明となった。注目すべきは、それまで考えられていた心房と心室の作業筋がヒス束で直接連結しているのではなく、間に田原結節とプルキンエ線維が介在する点で、これは心臓のポンプ機能の流体力学的な特性や心電図学の基盤となり、その後の心臓病学発展の先駆けとなる大発見である。

(脚注1) この理由として博士が、1914年第4回学士院賞を「哺乳動物の心臓における刺激伝導系の研究」により受賞した際、その審査要旨がもっぱら「田原氏結節」の発見のみを強調した評価内容だったことが挙げられている（須磨幸蔵：ペースメーカーの父・田原淳 梢書院、2005年）。

2. 心筋細胞間の連絡²⁾

心臓の収縮刺激の伝導経路が筋線維自体だとしたところで、次にそれでは一体何がどのようにして伝わるのだろうか？ 心筋は、骨格筋のような細胞が融合して沢山の核がある太い長い線維ではなく、網目状に分岐した複雑な線維構成である。このため心筋全体が一つの融合した巨大な細胞なのか、一つ一つの細胞が接着して複雑な網目を作っているのかで解釈が分かれた。田原も、細胞境界様の構造を認めたが、常にあるものでもないと記している。光学顕微鏡で心筋線維にしばしばみられる光輝線とか介在板とか呼ぶ輝くような線が、複雑に分化した細胞境界構造であると確認されたのは、電子顕微鏡で観察できるようになってからだ。光学顕微鏡の分解能 $0.2\mu\text{m}$ に対し、電子顕微鏡は $0.001\mu\text{m}$ 程で、脂質二重層からなる厚さ $0.01\mu\text{m}$ の細胞膜を見分けることができる。この介在板には、①細胞内線維が挿入するデスマゾームとよぶ接着斑と、②Z帯から連続したアドヘレンス結合、それに③細胞膜が密接した膜構造の三種類が電顕でみとめられる（図1）。興奮刺激は、特殊心筋をふくめた沢山の細胞からなる心筋線維網で、いかにして適切な経路を選択して伝わるのか。一つの心筋細胞内の興奮は、表面の細胞膜を挟んだイオンの流れで活動電位を発生し、これが神経細胞と同じように伝播して伝わる。しかし、細胞の境界をどのようにして飛び越えていくのか？ 神経や骨格筋では、電気的な興奮が隣の細胞に伝搬するには、シナプスのような特殊な仕組みが必要だ。

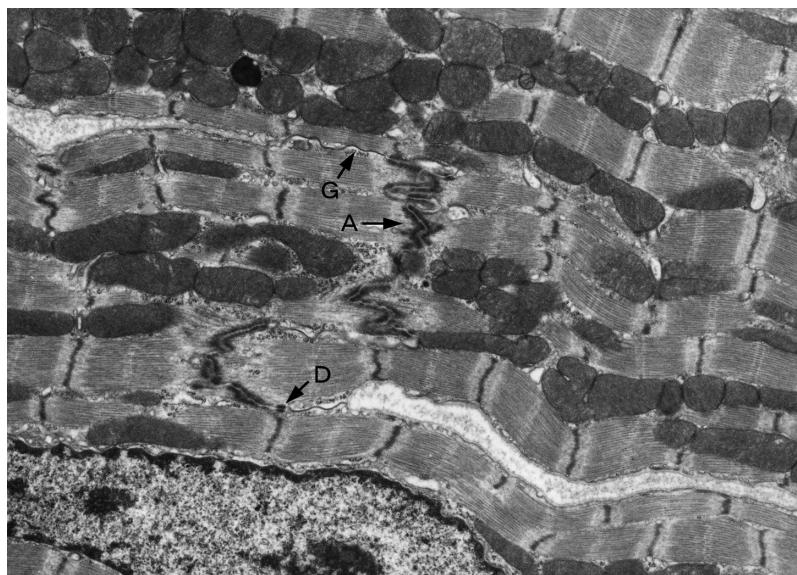


図1 ラット心室筋の介在板領域：二つの心筋細胞が分岐しながら接着し、デスマゾーム (D)、アドヘレンス結合 (A)、ギャップ結合 (G) などが認められる。

3. ギャップ結合

19世紀はじめに Schwann と Schleiden により樹立された細胞学説では、細胞は個々独立した閉じた小部屋と主張するが、しかしそうとばかりは言えないような現象が、その後観察されていた。1925年 Schmidtmann は胃粘膜の細胞内に色素を注入して pH 測定する実験の際に、しばしば周囲の隣接した細胞内に色素が広がっていく拡散現象を報告している。また 1964 年、菅野義信たちは興奮性のない唾液腺で、一つの細胞の細胞内電位を変えると周囲の細胞も一緒に変化し、どうやら細胞の仕切りをこえて電気的な交通があるらしいと考えた。一方、電子顕微鏡でミミズの神経幹細胞にこの通路に相当する構造を最初に見つけたのは、1958 年濱清（九大昭和 22 年卒）である。1967 年その基本的な構造特性を電顕で見事に示したのが、Revel と Karnovsky で、彼らは組織細胞の外腔をコロイド状の水酸化ランタンで充満すると、細胞膜同士が近接する場所に蜂の巣状の斑状模様が出現し、二つの細胞膜間を横切って連絡通路があるこ

とを示した。確かに、心筋の密着する介在板部にも同様の構造が認められ（図2），これが心筋細胞間の興奮伝導通路と確定した。この接着構造は、細胞膜が2 nmほどの隙間に接近し、そこに小管状粒子が両側から沢山飛び出して連結接着したものである。ネクサスとも呼んだが、現在では隙間のある結合というわけで、ギャップ結合と呼ばれる。この小粒子一個の中心に内径1 nmほどの小トンネルが通じ、分子量1200以下のものなら通り抜ける。心筋の興奮を伝えるイオンも自由に透過できる。しかも、このトンネルには開閉機能があり、細胞の一方が障害されると回りの細胞に影響が及ばないようにギャップ結合は閉じてしまう。丁度潜水艦などで壊れたキャビンをハッチドアで閉鎖して艦全体への浸水を食止めるように、心筋梗塞などの際に一部の障害がこの通路から心臓全体に広がるのをギャップ結合が閉じることによって防いでいる。

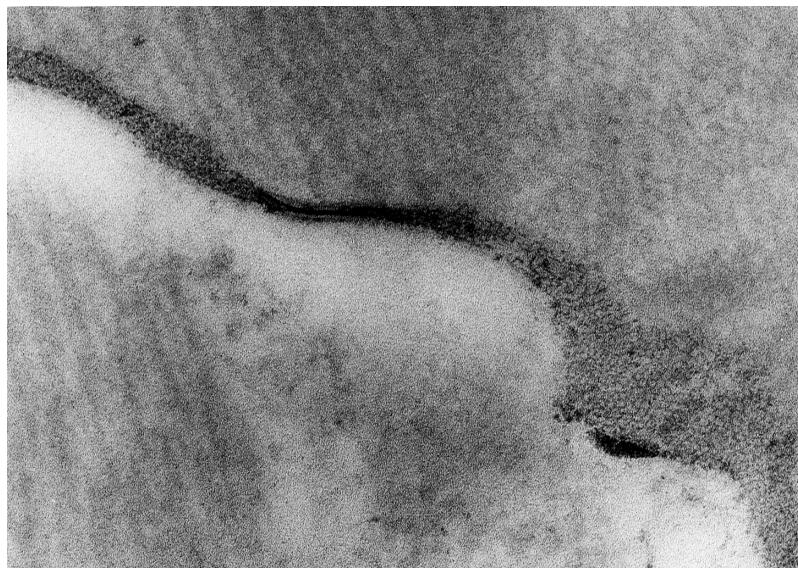


図2 水酸化ランタントレーザーにより、ギャップ結合部の細胞間隙に六角格子状の模様が認められ、両側の細胞膜間にギャップを架橋する粒子構造が密集する。

4. ギャップ結合斑の分布

このギャップ結合は、ほ乳類心臓では典型的で明瞭に観察される。しかしカエルなど下等動物では電顕の切片像だけでは良く識別できず、筆者の大学院時代には下等動物では存在を疑問視する意見さえあった。ちょうどその頃に、細胞膜の内部構造が二次元平面像で観察できる凍結割断レプリカ法が開発された。これは、細胞主成分の水を極低温に凍らせると、脂質二重層の細胞膜では中央疎水部の凍結が弱く、外からナイフなどで割ると、外力による割面は結合の弱い二重膜内面に沿って開裂しやすい。この割面をプラチナなど重金属でレプリカ膜にとって電子顕微鏡で調べることにより、膜内部のタンパク質など構成構造が観察できる。この方法によって、下等動物の心臓を観察してみると、ギャップ結合チャネルは存在するが、非常に粒子の数が少なく、また小斑状集合だけでなく線状、円状や、象形文字のような複雑な形をとることがわかった（図3）³⁾。さらに心筋だけでなく、多核細胞である骨格筋以外の神経系を含めたほぼすべての組織細胞間には大小の差はあれ、ギャップ結合の連絡網で細胞同士が交通していることも明らかになった。

5. ギャップ結合の構成

今日のゲノム時代では、ギャップ結合の機能構造は、分子生物学のレベルで詳細に分析され、遺伝子クローニング普及の前と後とでは、全ての生命科学分野と同様に研究の様相が一変してしまった。このため、クローニング以前の研究は、BC (Before Cloning) 時代と呼ぶこともある。

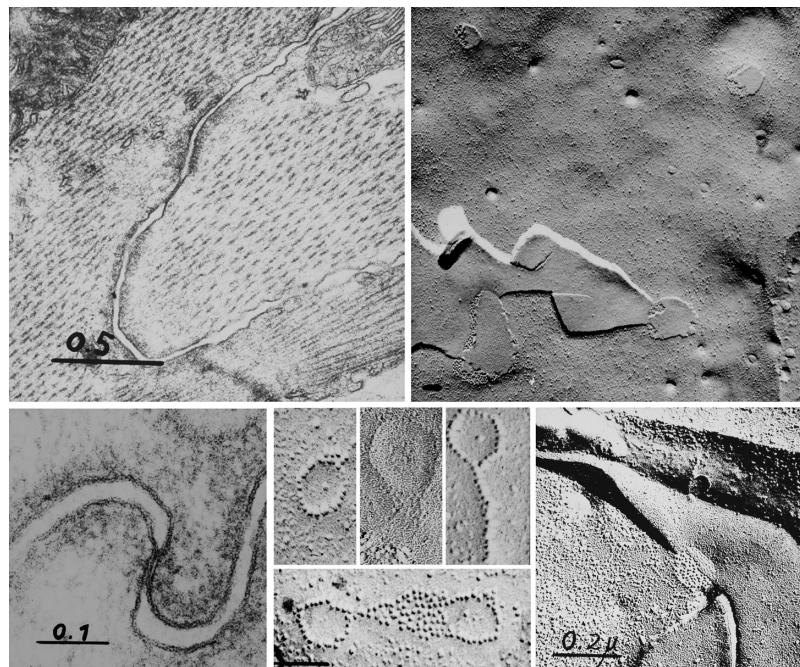


図3 下等脊椎動物の心筋ギャップ結合斑：ほ乳類に比べると著しく小さく、粒子の配列も特徴的なものが多い（論文3より一部引用）。上列2枚 ヤモリ心臓、下列6枚 ニジマス心臓。

しばらくBC時代の話を続ける。電子顕微鏡の切片像では、隣接細胞間に約2 nmの間隙をもって2枚の平行する形質膜が密接し細帯状の接合膜像を示す。凍結割断レプリカ像ではPF面に径8 nm程の粒子、EF面にはそれと相補的な小陥凹がほぼ六角格子配列に集合した円盤状の膜分化構造として認められる。このような典型的なものほかに、同様の基本構築をもった膜構造が、細胞接合部以外の場所に出現したり、斑状以外にいろいろな粒子集合形態を示す例が広く知られている（表紙写真参照）。

ギャップ結合の基本構造は細胞膜チャネルの集合である。通常のチャネルと異なり、隣接細胞間で一本の共通通路を形成し、膜チャネルであると同時に細胞間結合としての機能を合せもつ。基本チャネル粒子のコネクソン（Connexon）は、膜蛋白質コネキシン（Connexin）の六量体が膜内で輪状に取り囲み、このヘミチャネル hemichannel が突出して双方の細胞膜表面で接着結合し、細胞外環境から隔絶した管状貫通路を形成する。中央の内径1 nm程度の親水性通路により、分子量約1,200以下の分子が双方向性に交通する。通常は、このコネクソン粒子が多数集合して、斑状のギャップ結合を形成する。

コネキシン蛋白の機能として細胞間通路を構成する以外に、ヘミチャネルのまま、細胞表面で単独の膜チャネルとして機能することが、*in vitro* 低カルシウム濃度中の培養発現システムなどで観察される。電導度は細胞対での直列配列のほぼ2倍であり、機械的な刺激や膜電位変動に対しヘミチャネルが開口し、ATP, NADP, PGE₂などの放出がみられる。細胞の増殖・分化・遊走やアポトーシスの制御に関与することが推測されている。しかし通常の組織中では、細胞外のカルシウム濃度が高くチャネルは閉鎖しており、このヘミチャネルがどのように機能するのか、完全な理解にいたるまでにはまだギャップがある。

無脊椎動物のギャップ結合構成蛋白はInnixin (Invertebrate Connexin)と呼び、connexin familyとは異なる遺伝子ファミリーのタンパク質から構成され、コネキシンに類似した膜蛋白構造をしめす25種以上の遺伝子グループが知られている。さらに近年の遺伝子解析からコネキシンに類似したPannexinとよばれる膜蛋白ファミリーがほ乳類から節足動物まで広く同定されている。なお、植物にはPlasmodesmataと呼ぶ細胞質の連絡があり、ギャップ結合は存在しない。

6. コネキシン蛋白の発現様式

ギャップ結合膜は、界面活性剤処理と密度勾配遠心により比較的純粋に分離精製できる。肝臓と心筋で

は分子量が異なり、組織特異性がある。さらにcDNAのクローニングおよびゲノム解析によって、20種以上のコネキシン蛋白ファミリーが判明している⁴⁾。肝臓にはアミノ酸283個と226個が配列した分子量32KDと26KDのCx32, Cx26があり、コネキシン32, 26と呼ぶ。心臓では、Cx43・Cx45・Cx40など分子量の大きなものがある。分離ペレットの電顕観察では、心筋では敷石状の真表面を呈し、蛋白分解酵素処理によりこの表面粒子は消失し平坦像となるとともに分子量が43kDから29kDに変わる。一方肝臓では、蛋白分解酵素処理の有無に無関係に常に平坦である。すなわち心筋などと肝臓などでは細胞質内表面構造に明らかな相違があり、前者 α グループと、後者 β グループと間では、特に細胞質内ループの長さが大きく異なる(図4)。

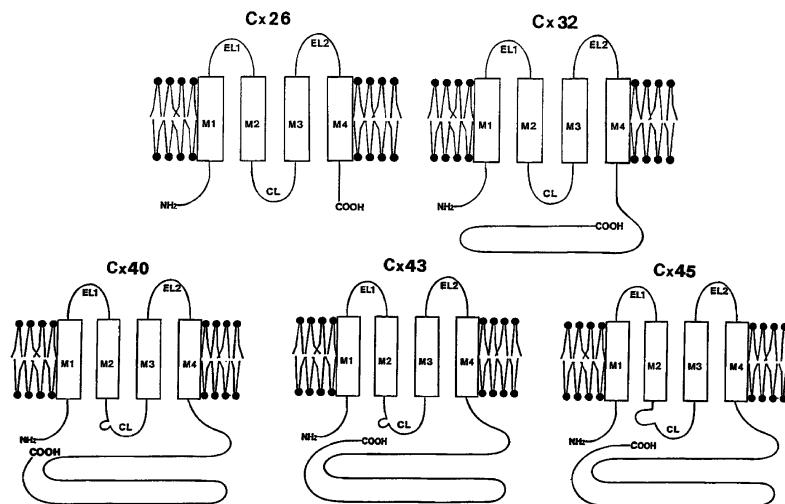


図4 コネキシン蛋白の模式図：N末端、C末端ともに細胞質内にあり、膜を2回往復する膜蛋白で、細胞外領域、膜貫通領域には相同性が高い。細胞内ループの長さにより、Cx40やCx43など α グループとCx26やCx32などの β グループがあり、さらに同一グループ内でCOOH末端の長さが異なっている。Cx45は α 、 β のいずれにも属さない。

各種Cx特異的な抗体の多重標識、とくに藤本の開発した免疫標識レプリカ電顕法では、混在したコネキシンが同一ギャップ結合斑に分布する。混在の様式と特性を、二種に区別する(図5)。すなわち、(I)別種のコネキシン構成からなる二つのhemichannel、つまり異種コネクソソンが対合するheterotypicチャネルの場合は、組み合わせにより一方向の整流作用などの新たな特異的な導電特性を示す場合がある。(II)次に異なるコネキシン分子種の混在するheteromericなhemichannelでは、コネキシンの組み合わせによって、1)形成されるもの(Cx32/26)と、2)形成されない場合(Cx43/26)とがある。3)形成される場合には、組み合わせと混在比率とにより、様々な伝導特性を示し、一般に伝導性能の悪いコネキシンに支配される。

各種コネキシンは、分子種により発現する組織が相違し、組織・細胞特異性が高い。とくに複雑な細胞構築をもつ網膜や中枢神経系などを解析する際、電顕レベルの高い分解能をもつ免疫標識レプリカ法でなければ、究極的なコネキシン発現細胞の決定は理論的に不可能である。解析によると、神経細胞にはCx36によるニューロン同士間の同種ギャップ結合のみであり、astrocyteなど他の神経膠要素との異種ギャップ結合は形成しない。同様に、膵臓内分泌腺のインシュリン分泌細胞で従来発見するとされたCx43は β 細胞ではなく周囲の豊富な血管壁に局在すること、 β 細胞にはCx36が局在し、antisenseDNAによりCx36をブロックするとインシュリン分泌機能が低下する。

このように一つの組織には複数のコネキシンが発現することが通例である(表1)。①肝臓ではCx32が主体であるが、Cx26もラットでは特に門脈領域周辺に多く分布する。②乳腺、汗腺、唾液腺などの分泌腺細胞間は上皮型のCx32やCx26であるのに対し、周囲を囲む筋上皮平滑筋はCx43である。③卵胞上皮細

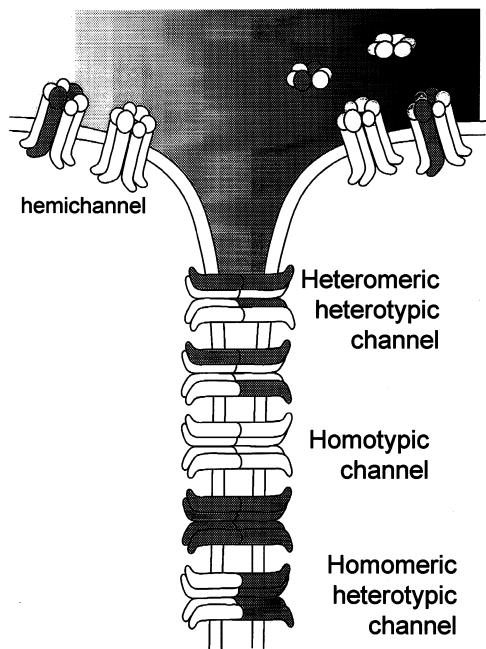


図5 コネキシン蛋白の混在様式によるギャップ結合粒子コネクソンの存在型式、またヘミチャネルのみでの機能発現も推測されている。

表1 各組織におけるコネキシンの分布例

組織名	コネキシンの種類
血管	
内皮	Cx40, Cx37
平滑筋	Cx43
肝臓	Cx32, Cx26
乳腺・汗腺・唾液腺	
腺房細胞	Cx32, Cx26
筋上皮細胞	Cx43
脾臓	
β 細胞	Cx36
外分泌腺	Cx32
卵胞	
上皮細胞	Cx43, Cx45
卵母細胞	Cx37
水晶体	
上皮	Cx43
線維	Cx46, Cx50
内耳	
コルチ器	Cx26, Cx30, Cx31
神経系	
星状膠細胞	Cx43, Cx30, Cx26
稀突起膠細胞	Cx32, Cx29, Cx47
ミエリン鞘	Cx32
上衣細胞	Cx43
ニューロン	Cx36
心臓	
洞房結節	Cx45
心房筋	Cx43, Cx45, Cx40
房室結節	Cx45
ヒス束	Cx40
ブルキンエ線維	Cx40, Cx43
心室筋	Cx43, Cx45

各種組織における、コネキシン蛋白の多様な分布。

胞間は Cx43 や Cx45 であるが、卵母細胞と卵胞上皮の間は Cx37 が特異的に分布する。④水晶体では前面を覆う上皮は Cx43 だが、中核になる水晶体線維では分子量の大きな Cx46 や Cx50 が分布する。⑤血管の内皮には Cx37 や Cx40 が分布し、周囲の血管平滑筋は Cx43 が多い。

7. コネキシン欠損疾患

ヒトでコネキシン遺伝子異常が特定された疾患として① Cx32 の欠損による末梢神経疾患の X 型 Charcot-Marie-Tooth 病、② Cx50 による先天性白内障、③ Cx26, Cx30 の欠損による難聴と皮膚病、などが知られている。①は末梢有髓神経のミエリン鞘を形成するシュワン細胞に Cx32 が特異的に分布しており、髓鞘の栄養障害が生じて神経萎縮から筋肉萎縮が引き起こされる。③は内耳のコルチ器感覚細胞を栄養する K⁺濃度の高い内リンパ液の分泌・回収経路に Cx26 や Cx30 が特異的に分布し、カリウムの循環障害を生じる。これらの例は特異的なコネキシン分子が単独で分布するためその欠損により発病するもので、一般的には混在する別種のコネキシンが代償すると考えられている。ところが、内耳の遺伝性難聴のうち優性遺伝を示す、つまりもう一方の正常遺伝子が機能するにもかかわらず異常を生じるものがあり、代償不全のみではなく変異コネキシン分子の混在によって先述の heteromeric heterotypic connexon による dominant negative な機能低下の可能性が示唆されている。

ちなみに、遺伝子操作マウスによるコネキシン单一欠損の場合、Cx32 や Cx30 などでは、必ずしも直ちに明確な形態的な障害が生じない場合が多い。Cx26 と Cx32 の二重ノックアウトでも表現型には異常はみとめられない。

8. 心臓のコネキシン分布

機能とコネキシン分布の相関が明瞭な例として、心臓の刺激伝導系がある（図6）。心臓の拍動収縮のペースメーカー洞房結節には、電位依存性が高く導電度が20–30pSと低いCx45が分布する。次的心房筋では安定した40–50pSのCx43が主体である。心房筋を伝わった刺激が再集合する房室結節（田原）には再び伝導度の低いCx45が分布する。ここで、一旦歩調を合わせて伝導度が160–200pSと高いCx40からなる一本のHis束（房室束）を伝わって一気に心室へと入り、Cx40が主体のPurkinje線維を介して心室全体に広がり、安定したCx43を持つ作業心室筋に伝わる。また、心内膜の内皮や心臓弁の下流側には内皮細胞共通のCx37やCx40が分布するが、激しい心血流に曝される上流側の弁膜内皮細胞には、動脈分岐部の内皮と同様にCx43が特異的に発現する⁵⁾。以上からは一見極めて合目的的にみえる、しかし後述のごとく、遺伝子操作マウスの解析結果からは、この様な発現が必ずしも不可欠とも言い切れない。①Cx40欠損マウスは出生に至るが、伝導障害から不整脈を生じる。また血管内皮細胞の障害もみられ、ともに血管内皮に発現するCx40とCx37との二重欠損マウスは、血管拡張、うっ血、臓器出血などにより、出生直後に死亡する。②Cx43欠損マウスは出生に至るが、心臓の右室流出路奇形のため、肺呼吸不全により新生児死をおこす。心流出路の形成に関与する神経堤細胞の分化機能にCx43発現が必須と推測されている。心筋のみに特異的にCx43除去をおこす部分欠損マウスでは、心臓の組織形態は正常だが、電顕で典型的なギャップ結合を認めず、心室頻拍性不整脈により60日以内に突然死する。

9. 心臓発生におけるギャップ結合の関与

Cx45は α , β のいずれのグループでもない特異なCxであり、ホモ欠損マウスは出生に至らず胎児死する⁶⁾。胚7.5日～8.5日までの心拍に異常は認めないが、8.5日～9.5日に心房・心室間伝導異常が生じ、循環不全により死亡する。房室管と心流出路の心内膜上皮に強く発現し、ここから分化発生すべき心内膜床細胞が殆ど生じない（図7）。心臓の発生は筒状の心筒が屈曲して心房・心室に分かれ、その間に心内膜床の細胞が分化し、弁や伝導路を作成する。この誘導シグナルの一つNF-ATc1欠損は弁の発生異常を生じる。Cx45のホモ欠損個体では、NF-ATc1の作用部位である核内への移行が認められず、活性型へ転換できない。この活性化に必要なIP₃やカルシウムなど細胞間信号伝達がCx45欠損のために伝わらず、心内膜床細胞の分化誘導が生じない⁷⁾。これは発生過程におけるギャップ結合の関与を分子レベルで具体的に示した最初のケースである。

他方、Cx45欠損マウスの胎児死の原因を、胎盤の血流障害に求めるグループもいた。すなわち内皮Cx45障害による血流不全で胎盤機能が侵され、胎児発達が阻害されて、死亡するというものである。最初の原因が、心臓拍動異常か血管異常による血流障害が先か、ある意味で「鶏が先か卵が先か」の論争のようにも思えるが、この決着のために二つのアプローチで解決を試みた。①ひとつは、血管でCx45を特異的に欠損したマウスと、心筋のみにCx45を欠損したものとの比較である。血管内皮や血管平滑筋で特異的に欠損したマウスでは、心拍動を含めて異常は認められず、正常に発育した。これに対し、心筋特異的なアクチシンのプロモーターでCx45を欠損させたマウスでは、心筋以外にCx45の欠損は生じないので、完全欠損マウスと同様に胎生10日目には死亡してしまう⁸⁾。完全欠損マウスと異なるのは、内皮細胞からの心内膜床の発達がある程度まで進む点で、以後の上皮間葉相関誘導が進行しない。②もう一つのアプローチ

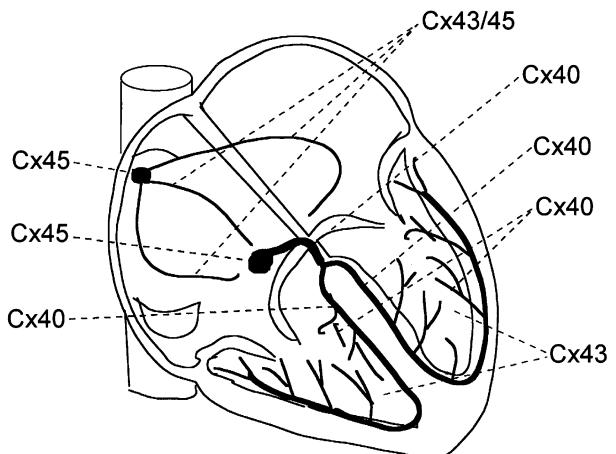


図6 心臓の心房・心室および刺激伝導系における、コネキシンの分布。

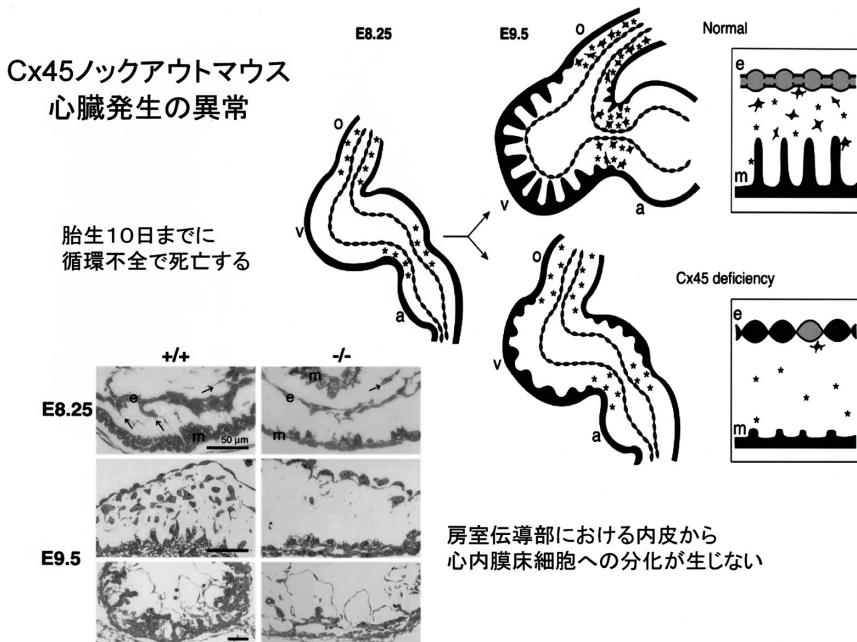


図7 Cx45欠損マウス、心内膜床の発達不全で、胎齢10目までに死亡する（論文6より引用改編）。

として、血流障害の影響をうけない培養細胞系におけるCx45欠損心筋細胞の性状を見た。Cx45欠損のES細胞から分化誘導された心筋細胞では、培養心筋全体の協調的な拍動収縮が認められず、局所的な痙攣様筋収縮が多発し自発収縮に引き続く周囲への興奮刺激伝達が阻害される⁹⁾。したがって、心筋細胞の機能障害ないしは心筋細胞間の伝導障害が、胎児死の一義的な原因と推測される。結論として、胎児の正常発育に心筋の協調的な収縮伝達機能の発達が必要なこと、つまり房室伝導すなわち刺激伝導系の機能発達が、心臓発生ひいては個体発生において必須であることが改めて確認される。

10. 残されたギャップ

一方で、これらの遺伝子変異マウスの解析から、新たに不可思議な事象も判明した。すなわち、心臓に分布する主要なコネキシンの変異マウスでも、ギャップ結合の発達は悪いものの心拍動自体は認められる¹⁰⁾。他のコネキシン分子種が代償するととも思われるが、同時期少し遅れて発現するCx43とCx45の二重欠損マウスでもやはり、初期には同様に心拍が開始される。この細胞間連絡がいかなる機構によるものなのか、今後の課題である。この点で、Cx45欠損ES細胞由来的心筋培養において、拍動数は低下せずむしろ亢進することなどから、ギャップ結合連絡の機能として、興奮刺激伝達のみに着目するだけでなく、興奮の回復過程への関与も合せて考慮すべきであろう。また、下等脊椎動物では、ギャップ結合斑の発達がほ乳類に比べて悪いにもかかわらず、興奮伝達過程において心拍数がきわめて高いこと、などを考え合わせると、他の機能要素あるいはギャップ結合通路以外の興奮伝達機構の関与も示唆される。他方で、ギャップ結合斑の発達した哺乳類の心筋については、興奮伝導以外の別の役割を果たす可能性も考慮する必要があろう。

このように個体生命活動の象徴ともいえる心拍動を担う刺激伝導についても、真の理解に至るまでには、まだまだギャップが残っている。

参考文献

- 1) Tawara S: Das Reizleitungssystem des Saeugertierherzens. Eine Anatomisch-Histologische Studie ueber das Atrioventrikularbuendel und die Purkinjeschen Faeden. Gustav Fischer Jena, 1906.
- 2) Page E and Shibata Y: Permeable junctions between cardiac cells. Ann Rev Physiol 43 : 431-441, 1981.

- 3) Shibata Y and Yamamoto T : Freeze-fracture studies of gap junctions in vertebrate cardiac muscle cells. *J Ultrastruct Res* 67 : 79–88, 1979.
- 4) Shibata Y, Kumai M, Nishii K and Nakamura K : Diversity and molecular anatomy of gap junctions. *Med Electron Microsc* 34 : 153–159, 2001.
- 5) Inai T, Mancuso MR, McDonald DM, Kobayashi J, Nakamura K and Shibata Y : Shear-stress induced up-regulation of connexin43 expression in endothelial cells on upstream surfaces of rat cardiac valves. *Histochem Cell Biol* 122 : 477–483, 2004.
- 6) Kumai M, Nishii K, Nakamura K, Takeda N, Suzuki M and Shibata Y : Loss of connexin45 causes a cushion defect in early cardiogenesis. *Development* 127 : 3501–3512, 2000.
- 7) Nishii K, Kumai M and Shibata Y : Regulation of the epithelial-mesenchymal transformation through gap junction channels in heart development. *Trends Cardiovasc Med* 11 : 213–218, 2001.
- 8) Nishii K, Kumai M, Egashira K, Hashizume K, Miyano Y and Shibata Y : Mice lacking connexin45 conditionally in cardiac myocytes display embryonic lethality similar to that of germline knockout mice without endocardial cushion defect. *Cell Commun Adhesion* 10 : 365–369, 2003.
- 9) Egashira K, Nishii K, Nakamura K, Kumai M, Morimoto S and Shibata Y : Conditional abnormality in gap junction protein connexin45-deficient embryonic stem cell-derived cardiac myocytes. *Anat Rec* 280A : 973–979, 2004.
- 10) Nishii K and Shibata Y : Mode and determination of the initial contraction stage in the mouse embryonic heart. *Anat Embryol* 211 : 95–100, 2006.

文献の詳細なリストは次の総説を参照されたい

柴田洋三郎：ギャップ結合，電子顕微鏡 22 : 139–146, 1988.

柴田洋三郎：ギャップ結合の微細構造と分子生物学，電子顕微鏡 36 : 156–162, 2001.