

| | |
|----------|---|
| 氏名 | たきもとよしひと 滝本善仁 |
| 学位(専攻分野) | 博士(医学) |
| 学位記番号 | 論医博第1799号 |
| 学位授与の日付 | 平成15年1月23日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 |
| 学位論文題目 | Augmented expression of neuronal nitric oxide synthase in the atria parasympathetically decreases heart rate during acute myocardial infarction in rats (ラット急性心筋梗塞モデルにおいて心房で増加した神経型一酸化窒素合成酵素は副交感神経を介して心拍数を減少させる) (主査) |
| 論文調査委員 | 教授野間昭典 教授米田正始 教授北徹 |

論文内容の要旨

神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) は小脳で初めて同定され、さらに心臓の神経節や神経線維においてもその存在が報告されている。nNOS により合成される一酸化窒素 (NO) が、自律神経を介し心拍数を減少させることが報告されているが、病態への関与については未だ明らかではない。我々はラット心筋梗塞モデルの心室で梗塞後 nNOS の発現が増加していることを報告したが、心房でも nNOS の発現が増加し、心拍数調節に関与しているのではないかと考え、nNOS の発現と心拍数の変動との関連を検討した。梗塞モデルを作製後 1~14 日目において心臓を摘出した。心房から得られたサンプルを用いて定量的競合的 RT-PCR 法にて nNOS の mRNA を、ウエスタンブロッティング法により蛋白量を、ラジオアイソトープを用いて NOS の活性を測定した。また免疫組織化学法により nNOS の局在を調べた。心拍数に対する NOS の効果を検討するため、薬剤投与前後で心拍数を測定した。nNOS の mRNA、蛋白レベルは心房において梗塞群では対照群に比し急性期に有意に増加したが、慢性期では差を認めなかった。また、nNOS の活性は急性期に梗塞群では対照群に比べ、有意に上昇したが、iNOS (誘導型)、eNOS (内皮型) の活性は両群間で差を認めなかった。免疫染色により、洞房結節、肺動脈近傍及び房室結節周辺の神経線維に NOS の存在を認め、対照群と比較して梗塞群でより多くの神経線維が nNOS 陽性であった。梗塞群では対照群よりも心拍数は急性期において有意に増加し、慢性期では差がなかった。nNOS および iNOS の競合的阻害薬である 1-(2-trifluoromethylphenyl) imidazole (TRIM) を投与したところ、急性期に梗塞群で心拍数は著明に増加したが対照群では変化を認めなかった。また、nNOS の蛋白レベルと TRIM 投与後の心拍数の変化の間に有意な正の相関を認めた。NO の前駆物質である L-アルギニンの前投与により、この TRIM の効果は消失した。また、梗塞群に iNOS に特異的な阻害薬である 1400W を投与しても心拍数には変化を認めなかった。さらに、nNOS が交感神経あるいは副交感神経のどちらに作用して心拍数を調節しているのかを検討した。アトロピンにより副交感神経を遮断後、心拍数は増加したが、TRIM を追加投与しても梗塞群でさらなる心拍数の増加は認めなかった。一方、交感神経遮断薬であるプロプラノロールにより減少した心拍数は TRIM の投与により、梗塞群で有意に増加し、その心拍数変化は TRIM を単独投与した場合と同程度であった。TRIM を投与後、心拍数は nNOS の蛋白レベルに依存して増加し、L-アルギニンの前投与によりその効果が消失したことから、心拍数調節作用に対する nNOS 及び NO の関与が推測された。また、nNOS の効果はプロプラノロールではなく、アトロピンの前投与により消失したため、その作用は副交感神経を介していると考えられた。一方、脳内の NO が交感神経を抑制し、心拍数を減少させる作用を有することが報告されているが、心房における nNOS の蛋白レベルと TRIM 投与後の心拍数変化との間に強い正の相関を認め、さらに TRIM の効果がアトロピンにより消失したことから、脳ではなく心房の nNOS が心拍数調節に関与していると思われる。以上の結果から心筋梗塞急性期に心房の神経線維において nNOS の発現および活性が亢進し、それにより産生の増加した NO が副交感神経を介して心拍数を減少させる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

心臓において、神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) により合成される一酸化窒素 (NO) は、自律神経を介し心拍数を減少させることが知られているが、病態への関与及びその機序については明らかではない。ラット心筋梗塞モデルにおける nNOS の発現とその心拍数への影響を検討した。心房より得られた検体を用いて、nNOS の発現、活性、局在を検討した。nNOS の mRNA、蛋白レベル及び活性は梗塞群では対照群に比し急性期において有意に増加し、免疫染色により心房内の神経線維に nNOS の存在を認めた。梗塞群では、nNOS 及び iNOS の競合的阻害薬である TRIM を投与後、心房の nNOS の蛋白レベルに依存して心拍数は増加したが、iNOS に特異的な阻害薬である 1400W を投与しても変化しなかった。また NO の前駆物質である L-アルギニンの前投与によって TRIM の効果が消失した。さらに、nNOS の効果はプロプラノロールではなく、アトロピンの前投与により消失したため、その作用は副交感神経を介していると考えられた。以上の結果から心筋梗塞急性期に心房の神経線維において nNOS の発現及び活性が亢進し、それにより産生の増加した NO が副交感神経を介して心拍数を減少させる可能性が示唆された。以上の研究は心筋梗塞急性期における nNOS の心拍数調節の作用機序の解明に貢献し、梗塞後の新たな治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年12月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。