

氏名	や さか あ す か 八 坂 明 日 香
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2450 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Alterations of Load-Induced p38 MAP Kinase Activation in Failing Rat Hearts (ラット不全心における血行動態的負荷による p38MAP キナーゼ活性化の変化)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 間 昭 典    教 授 北            徹    教 授 千 葉    勉

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【背景と目的】

p38MAP キナーゼは様々な細胞へのストレスや成長因子によって活性化され、心筋における細胞肥大、アポトーシス、虚血に関与していることが指摘されている。しかし、臨床的病態に近い動物モデルでの慢性期肥大心や不全心においてこの酵素がいかなる調節を受けているかについては未だ明らかにされていない。特に、長期に渡る血行動態的負荷は最終的に非代償性心不全を来すことが知られているが、こうした病態における p38MAP キナーゼの活性制御がどのように変化しているかは不明である。

そこで本研究では、高血圧とそれに伴う心不全を来すダール食塩感受性ラットを用いて慢性期不全心における p38MAP キナーゼの血行動態的負荷による活性化について検討した。

#### 【方法】

ダール食塩感受性ラットに第6週齢より高食塩食を投与することにより高血圧症を生じさせ、第11週齢での代償性左室肥大の時期を経て、第17週齢で心不全と左室機能不全を呈する心不全群を作成した。また、高食塩食においても正常血圧を維持するダール食塩抵抗性ラットを対照群とした。

さらに、近年、不全心における左室リモデリングの進行に対して、アンジオテンシンⅡAT1受容体阻害薬の有効性が指摘されていることをふまえ、高血圧ダール食塩感受性ラットを2群に分け、第1群にはプラセボ、第2群にはAT1受容体阻害薬を第11週齢(代償性左室肥大期)から第17週齢(非代償性心不全期)まで投与し、p38MAP キナーゼの活性化に対する効果について検討を重ねた。

各ラットに対して血圧測定と心エコーによる心機能評価を施行したのち、心臓を摘出しランゲンドルフ装置上で灌流した。正常心と不全心に等しい血行動態的伸展負荷を与えるために本研究においては、拡張末期左室壁応力が30kdyne/cm<sup>2</sup>になるようにあらかじめ設定した拡張末期圧のレベルまで左室内バルーンを拡張させた。こうした伸展負荷を最大30分までかけた後、左室心筋を凍結採取し、そのホモジネートを用いて p38MAP キナーゼの蛋白発現(ウエスタンブロット法)とその活性化(免疫沈降法による *in vitro* アッセイ)を評価した。

#### 【結果】

まず、左室心筋における p38MAP キナーゼの蛋白発現には、心不全群と対照群間で有意差を認めなかった。しかしながら、伸展負荷による p38MAP キナーゼの活性化の程度は、対照群と比べ、心不全群において有意に低下していることが示された。さらに、心不全群の p38MAP キナーゼの活性化の程度には個体差があり、各個体の左室拡張期径との間に有意な負の相関を認めた。

AT1受容体阻害薬の投与により心不全群では、収縮期血圧の低下、左室重量と左室拡張期径の減少、および駆出率の改善が認められた。これらの所見により示される左室リモデリングと心機能の改善に伴い、伸展負荷による p38MAP キナー

ゼ活性化の反応性にも有意な改善が認められ、AT1 受容体阻害薬が心筋細胞における情報伝達経路の機能の正常化に寄与している可能性が示唆された。

#### 【結論】

以上より、本研究では

(1)血行動態負荷による p38MAP キナーゼの活性化は不全心で障害されていること、(2)p38MAP キナーゼの活性化の程度は左室リモデリングの進行に密接な関連性を有すること、そして(3)アンジオテンシン II AT1 受容体阻害薬の長期投与により、心機能と左室リモデリングの改善と同時に p38MAP キナーゼ活性化の反応性も回復することが示された。

#### 論文審査の結果の要旨

p38MAP キナーゼは細胞へのストレスや成長因子によって活性化され、心筋における細胞肥大、アポトーシス、虚血に関与していることが指摘されている。しかしながら、臨床的病態に近い動物モデルでの心不全において、心筋の p38MAP キナーゼの活性制御がどのように変化しているかは、未だ十分に解明されていない。

本研究で申請者らは、ダール心不全ラットモデルの摘出心を用いて左室心筋 p38MAP キナーゼの蛋白発現と血行動態的伸展負荷による活性化を評価した。次に、アンジオテンシン II AT1 受容体阻害薬の心不全治療における有効性が指摘されていることをふまえ、同薬剤の長期投与が p38MAP キナーゼの活性化に及ぼす効果について検討した。まず、ウエスタンブロット法により、左室心筋における p38MAP キナーゼ蛋白発現は不全心と正常心の間で有意差を認めないことが確認された。しかし、免疫沈降法によるアッセイにより、伸展負荷による p38MAP キナーゼの活性化を測定したところ、同キナーゼの活性化は不全心で有意に低下しており、その程度は各個体の左室リモデリングの進行と密接な関連性を有することが示された。さらに、アンジオテンシン II AT1 受容体阻害薬の長期投与により、心機能・左室リモデリングの改善とともに p38MAP キナーゼ活性化の反応性も回復することが明らかとなった。

以上の研究は、心不全の分子生物学的病態の解明に貢献し、循環病態学の進展に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年1月23日実施の論文内容とそれに関する試問を受け、合格と認められたものである。