

氏名	いわさきあつし 岩崎篤志
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2120号
学位授与の日付	平成11年3月23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	Pimobendan inhibits the Production of Proinflammatory Cytokines and Gene Expression of inducible Nitric Oxide Synthase in a Murine Model of Viral Myocarditis (マウスウイルス性心筋炎モデルにおけるピモベンダンの炎症性サイトカイン産生および誘導型一酸化窒素合成酵素遺伝子発現の抑制効果) (主査)
論文調査委員	教授 中西重忠 教授 井出千束 教授 橋本信夫

論 文 内 容 の 要 旨

ピモベンダン (UD-CG 115 BS) はカルシウム感受性増強作用を併わせもつホスホジエステラーゼⅢ阻害薬であり、急性心不全において心筋収縮力を増強し末梢血管抵抗を減少させることにより血行動態を改善することが知られている。また、慢性心不全においても運動耐容能やQuality of Lifeを改善することが報告されている。一方、心筋炎や急性心筋梗塞、さらに慢性心不全において炎症性サイトカインおよび一酸化窒素 (NO) の産生が亢進していることが報告されている。一部の炎症性サイトカインはNOを介して心筋収縮力抑制作用や心筋障害作用を有し、また心筋細胞肥大作用など心臓リモデリングにも関与することが知られており、心不全の病態形成に炎症性サイトカインおよびNOが関与することが示唆されている。マウスのウイルス性心筋炎による心不全モデルにおいても、急性期に心筋内の炎症性サイトカインの遺伝子発現が著明に亢進しており、病態の重症度と相関することが知られている。我々はin vitroにおいてピモベンダンが炎症性サイトカインおよびNO産生を抑制することを見出した。本論文ではマウスのウイルス性心筋炎による心不全モデルを用いてピモベンダンのin vivoにおける炎症性サイトカインおよびNO産生に対する影響を検討した。

4週齢DBA/2マウスにencephalomyocarditisウイルスを腹腔内に接種し、同日よりピモベンダン0.1mg/kg連日投与群、同1mg/kg投与群および対照群(非投薬群)に分け、14日間の生存率を観察した。14日後の生存率は対照群36.6%、ピモベンダン0.1mg/kg群53.3%、ピモベンダン1mg/kg群66.7%で用量依存性に改善し、ピモベンダン1mg/kg群では対照群に対し有意に($p < 0.02$)生存率が改善した。次に、急性期における心筋の病理組織像、炎症性サイトカインおよびNOの産生に対する効果を調べた。ピモベンダン1mg/kg投与群と対照群を7日後に屠殺し心臓を摘出した。HE染色にて心筋病理組織を観察し、心筋細胞壊死および細胞浸潤を各々5段階にスコア化して検討した。ピモベンダン群(1.1±0.1)では対照群(2.0±0.0)に対し細胞浸潤は有意に減少しており($p < 0.001$)、心筋細胞壊死も減少傾向を認めた。サイトカインやNOは局所において産生されオートクライン・パラクライン的に作用するため、心筋内のサイトカインおよびNOを測定することが重要であると考えられる。摘出した心臓を生理食塩水にて均質化し遠心分離し、その上清中のTNF- α 、IL-1 β 、IL-6濃度をELISA法により定量することにより心筋中の濃度を測定した。TNF- α およびIL-1 β はピモベンダン群では対照群に比べそれぞれ49% ($p < 0.001$) および65% ($p < 0.01$) 抑制されていた。IL-6も抑制傾向がみられた。同様にして心筋中のNOの濃度をGriess法を用いて定量した。心筋内のNOはピモベンダン群では対照群に比べ43% ($p < 0.001$) 抑制されていた。炎症性サイトカインはマクロファージ、心筋細胞および内皮細胞においてiNOSを誘導しNOの合成を亢進させることが知られている。ピモベンダンのNOの産生抑制作用はサイトカインの産生抑制による誘導型NO合成酵素(iNOS)の誘導の抑制による可能性がある。そこで心筋内におけるiNOS遺伝子の発現を競合的RT-PCR法を用いて定量した。心筋内のiNOSのmRNA量は

ピモベンダン群は対照群に対して74%減少 ($p < 0.01$) しており、ピモベンダンが炎症性サイトカインを抑制することによりiNOSの誘導を抑制し、さらにはNO産生を抑制したことが示唆された。

以上の結果から、ピモベンダンはマウスのウイルス性心筋炎・心不全モデルにおいて心筋の炎症を抑制し生存率を有意に改善したが、その効果には心筋内における炎症性サイトカイン産生およびiNOSによるNO合成の抑制作用が関与することが示唆された。炎症性サイトカインおよびNOの産生過剰が関与が考えられる心不全においてもピモベンダンが有用である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文ではマウスのウイルス性心筋炎による心不全モデルに対するCa²⁺感受性増強作用を併わせ持つPDEⅢ阻害薬であるピモベンダンの効果を検討した。

4週齢DBA/2マウスにencephalomyocarditisウイルスを腹腔内に接種し、同日よりピモベンダン0.1mg/kg連日投与群、同1mg/kg投与群および対照（非投薬）群に分け検討した。ピモベンダンは14日後の生存率を用量依存的に改善した。次にウイルス投与7日後の心筋病理組織を検討したが、ピモベンダン群では対照群に対し細胞浸潤と心筋細胞壊死の減少を認めた。続いて、7日後の心筋組織内のサイトカイン濃度をELISA法にて測定した。TNF- α およびIL-1 β はピモベンダン群では対照群に比べ有意に抑制されていた。また、7日後の心筋内のiNOSのmRNA量及びNOの濃度はピモベンダン群で有意に減少していた。

以上の結果から、ピモベンダンはマウスのウイルス性心筋炎による心不全モデルにおいて心筋の炎症を抑制し生存率を有意に改善したが、その効果には一部心筋内における炎症性サイトカイン産生およびiNOSによるNO合成の抑制作用が関与することが示唆された。炎症性サイトカインおよびNOの産生過剰が関与が考えられる心不全疾患においてもピモベンダンが有用である可能性が示唆された。

以上の研究は心筋炎・心不全の病態の解明に貢献し、今後の心筋炎・心不全治療に寄与することが多い。

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11年2月12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。