

氏 名	稲 田 司
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2144 号
学位授与の日付	平 成 11 年 5 月 24 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	Upregulated Expression of Cardiac Endothelin-1 Participates in Myocardial Cell Growth in Bio 14.6 Syrian Cadiomyopathic Hamster (心臓におけるエンドセリン-1の発現亢進がBio 14.6心筋症シリアンハムスターの心筋細胞成長に与える影響に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 米 田 正 始 教 授 中 尾 一 和 教 授 篠 山 重 威

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】この研究の目的は、心筋症ハムスター Bio 14.6 strain の生下後の心筋細胞の成長に於ける、内因性のエンドセリン-1 (ET-1) の役割を明らかにすることにある。

【背景】ET-1 は当初は血管内皮細胞由来の主力な血管収縮物質として同定されたが、その受容体 (ET_A 及び ET_B) は様々な心血管系組織に分布している。ET-1 の血中濃度は心不全をはじめ柱々の病態で上昇を見せる。ET-1 は新生児マウス培養心筋細胞の肥大にオートクリンファクターとして働く。また、動物モデルでは ET-1 は圧負荷や心筋梗塞後に発現が亢進し、ET-1 拮抗薬は心筋細胞肥大を但害する。これらの所見は ET-1 が血行動態上の負荷による心筋細胞肥大に関与していることを示している。しかしながら、本態性の心筋疾患に於ける ET-1 の役割は未だ明らかではない。肺高血圧のない肥大型心筋症患者において血中 ET-1 が心筋細胞径と強い関連を示すとの報告は、本態性心筋疾患・心筋症において ET-1 が何らかの役割を担っている可能性を示している。

【方法】雄の心筋症ハムスター Bio 14.6 と三宮対照として Bio F 1 B を使用した。5 週齢の Bio 14.6 及び Bio F 1 B を無作為に ET_A 受容体特異的拮抗薬である T 0201 を投与する群 (Bio 14.6; n= 22, Bio F 1 B; n= 17) と担体のみの群 (Bio 14.6; n= 22, Bio F 1 B; n= 17) に分ける。これらは 20 週齢, 35 週齢にて岳殺される。屠殺時に体重・各臓器重量を計測、各組織は 4 区分され、mRNA 抽出、ホルマリン固定、蛋白拍出及び凍結切片作成に供された。

臓器抽出液中の ET-1 は N 端に対するモノクローナル抗体と、C 端に対するポリクローナル抗体を使用する sandwich EIA にて測定された。凍結切片上で ET-1 に対し間接イムノペロキシダーゼ法にて免疫組織学的考察を加えた。ヘマトキシリン・エオジン染色切片にて心筋細胞径を計測した。マッソントリクローム染色切片にて繊維化領域の面積を計測し、全心筋組織面積との比として表された。

【結果】5 週齢においては Bio 14.6 と Bio F 1 B との間に、心筋組織中の ET-1 濃度は差がなかった。20 週齢においては、Bio F 1 B に比して Bio 14.6 は心 / 体重量比の 25.5% の増加を見せたが、左室内腔面積は変化がなかった (Bio 14.6: Bio F 1 B= 12.6 ± 0.20 : 13.8 ± 0.21 mm²) が、心筋組織面積は有意に大きかった (Bio 14.6: Bio F 1 B= 48.3 ± 0.70 : 38.9 ± 0.69 mm², $p < 0.01$)。心筋組織中の ET-1 濃度は Bio 14.6 は Bio F 1 B に比して 1.8 倍 (Bio 14.6: Bio F 1 B= 75.10 ± 11.57 : 43.15 ± 4.91 pg/g, $p < 0.0001$) の上昇を示した。35 週齢においては左室内腔面積は Bio 14.6 において著明に拡大していたが (Bio 14.6: Bio F 1 B= 30.4 ± 0.33 : 16.3 ± 0.29 mm², $p < 0.0001$)、心筋組織面積には差を認めなかった (Bio 14.6: Bio F 1 B= 42.1 ± 0.47 : 44.5 ± 0.58 mm²)。心 / 体重量比は Bio 14.6 において Bio F 1 B に比し 22.9% の増加を認めたが、これは 20 週齢に於ける増加率と同等であった。この週齢に於ける心筋組織中 ET-1 濃度は Bio 14.6 において Bio F 1 B に比し 6.4 倍と著明に上昇していた (Bio 14.6: Bio F 1 B= 220.33 ± 52.91 : 42.31 ± 6.81 pg/g, $p < 0.0001$)。従って、心

筋組織中 ET-1 濃度は病期対応的に上昇していた。肺組織の ET-1 濃度は 5 週齢・20 週齢においては差がなかったが、35 週齢においては Bio F1B に比し Bio 14.6 では 1.3 倍の上昇を認めた (Bio 14.6: Bio F1B = 929.75 ± 168.97 : 708.67 ± 93.74 pg/g, $p = 0.0023$)。従って、Bio 14.6 における ET-1 濃度の上昇は肺におけるよりも心において優位を示し、臓器特異性を認めた。

更に、Bio 14.6 の心臓組織中の ET-1 濃度上昇にどの細胞が寄与しているかを検討するために、免疫組織学的染色を行った。ET-1 染色は左室全体に見られた。心筋細胞の染色は Bio F1B よりも Bio 14.6 において強く、心筋組織全体に認められた。間質の細胞、心筋組織中の冠動脈平滑筋細胞・内皮細胞での発現は中等度で Bio F1B と Bio 14.6 の間に差がなかった。従って、心臓組織中の ET-1 濃度の上昇は主に心筋細胞の ET-1 生成に帰されると考えられた。

次に、ET-1 発現亢進が心筋症形成に果たす役割を明らかにするために、5 週齢の Bio F1B 及び Bio 14.6 を無作為に分け、ET_A 受容体特異的拮抗薬 T 0201 投与群と担体のみの投与群とに分け、20 週または 35 週齢で屠殺した。心/体重量比は、Bio F1B では T 0201 投与群と非投与群との間に差を認めなかったが、Bio 14.6 では投与群は非投与群に比し有意に低下していた (T 0201: vehicle = 3.24 ± 0.18 : 3.54 ± 0.23 ($p = 0.0035$) (20 週), = 3.96 ± 0.28 : 4.24 ± 0.30 ($p = 0.0032$) (35 週) (mg/g の))。T 0201 は肺/体重量比・腎/体重量比には影響を与えなかった。組織学的には、T 0201 は Bio F1B の心筋組織には影響を与えなかった。Bio 14.6 では繊維化領域面積には差がなかったが、心筋細胞径は T 0201 投与により有意に縮小し (T 0201: vehicle = 14.24 ± 1.34 : 16.79 ± 1.80 ($p = 0.0021$) (20 週), = 16.52 ± 1.68 : 19.07 ± 4.09 ($p = 0.0035$) (35 週) (μm)), Bio F1B と同等の径 (T 0201: vehicle = 14.14 : 14.45 , (20 週), = 14.68 : 15.39 (35 週)) に維持された。

【結論】本態性心筋疾患に於ける生下後の心成長に対する内因性の ET-1 の役割を明らかにするために、心筋症シリアンハムスター Bio 14.6 を取り上げた。この動物モデルでは心臓組織の ET-1 は病期対応的・臓器特異的に増加する。ET-1 の上昇は主に心筋細胞での産成亢進に帰する。更に、Bio 14.6 においては ET_A 受容体拮抗薬 T 0201 の慢性投与は心筋細胞成長を阻害しほぼ正常径を維持するが、Bio F1B に対しては何の影響も与えない。従って、心筋細胞に於ける ET-1 の産成亢進はこの動物モデルの心筋細胞の病的成長に寄与している。

論文審査の結果の要旨

本研究では、本態性心筋疾患におけるエンドセリン (ET)-1 の役割を検討するため、心筋症ハムスター Bio 14.6 と正常対照 Bio F1B を使用した。5 週齢の心筋症群及び正常群を ET_A 受容体拮抗薬 (T 0201) の投与群と非投与群に分けた。これらは 20 週・35 週齢に屠殺された。各臓器重量・臓器抽出液中の ET-1 を測定し、組織学的検討を加えた。

心臓組織中 ET-1 濃度は心筋症群では心肥大・心不全の進展に伴い著明に上昇したが、主に心筋細胞での産成亢進による。肺 ET-1 濃度は心筋症群の 35 週でのみ軽度上昇を認めた。つまり、心筋症ハムスターでは心臓組織の ET-1 は病期、対応的・臓器特異的に増加した。心重量・心筋細胞径は心筋症群では投与群は非投与群に比し有意に低下した。心筋症群では肥大型前からの ET_A 受容体拮抗薬慢性投与は心筋肥大を抑制し、内因性 ET-1 は心筋症心筋細胞の成長に関与している可能性が示唆された。

以上の研究は心不全・心筋症の進展機転に関するエンドセリン-1 の関与の解明に貢献し、慢性心不全・心筋症の病態の理解・治療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 11 年 4 月 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問をうけ、合格と認められたものである。