



## Augmentation of $\beta$ adrenergic receptors in cardiomyopathic hamsters (BIO14.6) with heart failure

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 俵原, 敬 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1435">http://hdl.handle.net/10271/1435</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 158号	学位授与年月日	平成 5年11月 5日
氏 名	俵 原 敬		
論文題目	Augmentation of $\beta$ adrenergic receptors in cardiomyopathic hamsters (BIO 14.6) with heart failure (心不全期の心筋症ハムスター(BIO 14.6)における心筋 $\beta$ アドレナリン受容体の増加)		

医学博士 俵 原 敬  
論文題目

Augmentation of  $\beta$  adrenergic receptors in cardiomyopathic hamsters (BIO 14, 6) with heart failure

(心不全期の心筋症ハムスター (BIO 14, 6) における心筋 $\beta$ アドレナリン受容体の増加)

論文の内容の要旨

心筋症において交感神経系の異常が存在することが知られており、心筋症の進展に関わっているとされている。しかし、これまでの研究において、心筋症における心筋内のアドレナリン受容体分布についての研究はほとんどなされていない。そこで、定量的オートラジオグラフィ (ARG) 法を用いて、心不全期の心筋症ハムスター (BIO 14, 6) の心筋 $\beta$ アドレナリン受容体数および心筋内分布について検討した。

【方法】 (A) 定量的 ARG 法の基礎的検討: 90日令のゴールデンハムスターを用い、結合動態実験、置換実験および飽和実験を行い検討した。また定量的フィルム ARG 法より求めた  $B_{max}$  および  $K_d$  とガンマーカウンターより求めた  $B_{max}$  および  $K_d$  と比較検討した。(B) 心筋 $\beta$ アドレナリン受容体数および分布の検討: 心筋症ハムスター (BIO14, 6,  $n=8$ 、平均309日齢) および正常ハムスター (BIO14, 6 HAM,  $n=6$ 、平均295日齢) を対象とした。凍結した摘出心筋より作成した20 $\mu$ m厚の心筋切片を15–500pM ICYP $\pm 10^{-5}$ ML-プロプラノロール溶液内で37°Cにて2時間インキュベート、次に15分間2回リンスした。その後、Videodensitometric system を用いた定量的フィルム ARG 法により、心筋 $\beta$ 受容体数と親和性の定量的解析を行った。また、心臓横断面を右室、中隔右室側、中隔左室側左室自由壁内膜側、左室自由壁外膜側の5領域に分け心筋内 $\beta$ アドレナリン受容体分布を病理所見と比較検討した。

【結果】 (A) 1) 特異的結合は30–60分でほぼピークに達しその後一定に保たれた。2) 置換実験においてL-プロプラノロールとD-プロプラノロールの $IC_{50}$ はそれぞれ $1.26 \times 10^{-8}$ M、 $2.51 \times 10^{-8}$ Mであり、 $K_i$ はそれぞれ $6 \times 10^{-9}$ M、 $1.26 \times 10^{-8}$ Mであった。3) 飽和実験の成績はScatchard解析可能でありリガンドの結合が飽和性を有することが示された。4) 定量的フィルム ARG 法とガンマーカウンターによる定量法の比較にて、 $K_d$ 、 $B_{max}$ ともにほぼ同等の値が得られた( $K_d$ :  $106.0 \pm 8.3$  vs  $112.8 \pm 12.0$  pM,  $B_{max}$ :  $15.4 \pm 2.2$  vs  $19.9 \pm 1.7$  fmol/mg protein)。

(B) 1) 心筋 $\beta$ アドレナリン受容体の  $B_{max}$  は、正常ハムスターに比し BIO14, 6で有意に高値であった ( $9.4 \pm 1.2$  vs  $15.3 \pm 1.6$  fmol/mg protein,  $P < 0.05$ )。  $K_d$  には差がなかった ( $97.1 \pm 15.0$  vs  $83.2 \pm 14.0$  pM,  $P = NS$ )。2) 心筋内 $\beta$ アドレナリン受容体分布は正常ハムスターでは5領域間に分布差を認めなかったが、BIO14, 6においては不均一な分布を示し、特に中隔および左室心内膜側で増加を示した。3) 心筋内 $\beta$ アドレナリン受容体増加領域と間質の線維化の増加領域は一致していた。

【考察及び結論】 (A) ハムスターの心筋切片へのリガンドの結合は、迅速で、飽和性、stereoselectivityのあることが示された。このことより定量的 ARG 法による心筋内 $\beta$ アドレナリン受容体の定量解析の妥当性が示され、本法は心筋内 $\beta$ アドレナリン受容体分布の検討にきわめて有用な方法と考えられた。

(B) 心不全期の心筋症ハムスターの心筋 $\beta$ アドレナリン受容体数は、正常ハムスターに比し有意に増加したが、親和性には差を認めなかった。この結果は、radioligand binding assay を用い検討した

Karliner らの結果と一致した。心不全期の心筋症ハムスターの心筋内  $\beta$  アドレナリン受容体の分布は不均一であり、 $\beta$  アドレナリン受容体の増加領域と間質の線維化の増加領域が一致していたことより、 $\beta$  アドレナリン受容体の増加による交感神経の感受性増大が calcium overload をひきおこし、それが心筋症の進展に関連している可能性が示唆された。また、心筋内  $\beta$  アドレナリン受容体分布の不均一性は不整脈の出現にも関連していることも予想され、心筋症における不整脈による突然死とも関連している可能性が考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、心筋症の病因あるいは発症に交感神経系の異常が関与することを、心筋症ハムスター (BIO 14, 6) の心臓を用いて、 $\beta$  アドレナリン受容体数を指標に証明しようとしたものである。

方法論的にも条件設定の検討がよくなされ、対象動物として BIO14, 6 に最も近い BIO 14, 6HAM を使用している。摘出心筋切片の  $\beta$  アドレナリン受容体を定量的オートラジオグラフィ法を用いて測定し同時に心筋内分布をみている。

約300日齢の心不全期の心筋では、親和性は変わらないが、 $\beta$  アドレナリン受容体数は増加している。しかし、その分布は一様でなく、中隔と左心室内膜側に多い。それは病理学的に間質の線維化のみられる領域であるという興味ある結果を得ている。

これら知見より  $\beta$  アドレナリン受容体の増加による交感神経の感受性増加が  $\text{Ca}^{2+}$  overload をひきおこし、それが心筋症の進展に関連しているという可能性、および心筋内  $\beta$  アドレナリン受容体分布の不均一性が不整脈の出現に関与しており、心筋症と突然死との関連を裏づけるという可能性を考察している。

この論文内容について申請者に対し、次のような質問が審査員より出された。

- 1) オートラジオグラフィの現像の再現性
- 2) 定量的オートラジオグラフィ法と、細胞表面受容体および internalization した受容体について
- 3) BIO14, 6HAM の引用文献について
- 4) cAMP を細胞内メッセンジャーとする  $\beta$  アドレナリン受容体増加が  $\text{Ca}^{2+}$  overload を引き起こす機構について
- 5)  $\text{Ca}^{2+}$  induced  $\text{Ca}^{2+}$  release の機構
- 6)  $\text{Ca}^{2+}$  antagonist receptors について
- 7) 日齢による  $\beta$  アドレナリン受容体の変化過程
- 8) ヒト心不全では  $\beta$  アドレナリン受容体は減少していると報告されているが、ハムスター実験との結果の違い
- 9) 受容体数変化と血中カテコラミン量との関連
- 10) ギダタリスによる細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  増加との違い
- 11) 心筋症での不整脈発生メカニズム
- 12) MRI を用いた心筋症像測定の試み

これら質問に対する解答は概ね適切であり、方法にも十分検討が加えられ、結果も興味深く、心筋症の成因予後を考えるにあたって色々示唆を与えるすぐれた論文であり、博士(医学)の学位授与にふさ

わしいと審査員全員が判定した。

論文審査担当者	主査	教授	中	島	光	好						
	副査	教授	市	山		新	副査	教授	金	子	昌	生
	副査	教授	原	田	幸	雄	副査	助教授	林		秀	晴