



Creatine kinase kinetics in diabetic cardiomyopathy

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松本, 有司 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1067

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	医博第 214号	学位授与年月日	平成 8年 3月26日
氏名	松本有司		
論文題目	Creatine kinase kinetics in diabetic cardiomyopathy (糖尿病性心筋症におけるクレアチンキナーゼ動態)		

博士(医学) 松本有司

論文題目

Creatine kinase kinetics in diabetic cardiomyopathy

(糖尿病性心筋症におけるクレアチンキナーゼ動態)

論文の内容の要旨

Creatine kinase (CK) /phosphocreatine (PCr) system は心筋エネルギー代謝において重要な役割を担い、その障害により、心負荷増大時に心機能障害が生じる。糖尿病性心筋症においては、通常の心負荷状態では心機能は正常に保たれているが、心負荷の増大に伴い心機能は低下することが知られている。そこで我々は、低負荷および高負荷条件下における糖尿病心の CK 動態をリン核磁気共鳴 (^{31}P -NMR) 飽和移動法を用い評価し、糖尿病性心筋症における CK/PCr system の役割について検討した。

【方法】

1. 糖尿病心に関する実験

雄性 Sprague-Dawley ラット (350g) にストレプトゾトシン45mg/kgを静注し糖尿病を作成し、8週後に心臓を摘出後、ランゲンドルフ法にて定圧灌流した(糖尿病群)。心臓の大きさを一致させた正常ラットを対照群とし、低負荷-対照群、低負荷-糖尿病群、高負荷-対照群、高負荷-糖尿病群の4群に分けた。

1) 心機能測定

左室内ラテックスバルーンを介し、左室発生圧 (LVDP) および収縮弛緩速度 ($\pm dP/dt$) を測定した。Rate-pressure product (RPP) は LVDP と心拍数の積とした。

2) ATP 産生速度 (V_{ATP}) の測定

V_{ATP} は心筋酸素消費量 ($M\dot{V}O_2$) より ADP/O 比を3として計算した。 $M\dot{V}O_2$ は、大動脈および肺動脈カニューレでの灌流液酸素分圧 (P_{aO_2} および P_{vO_2}) および冠灌流量 (\dot{Q}) を測定し、次式により算出した： $M\dot{V}O_2 = (P_{aO_2} - P_{vO_2}) \cdot \dot{Q} \cdot K / HW$ 。K は37°Cでの酸素溶解定数 (1.436×10^{-3})、HW は心湿重量を示す。

3) ^{31}P -NMR 測定

リン酸化合物濃度 [PCr、ATP、無機リン (Pi)] および細胞内 pH を測定した。飽和移動法により順反応 (PCr \rightarrow ATP) の CK 反応速度 (CK flux) を求めた。

2. 正常心における CK 阻害実験

CK 阻害作用を持つ iodoacetamide (IAAm) を以下の方法で高負荷-対照群に投与した：低用量群 (0.05mM、5 min)、高用量群 (0.1mM、10min)。投与前後で ^{31}P -NMR および心機能測定を行った。

【結果】

1. 糖尿病が心機能、リン酸化合物濃度、pH に及ぼす影響

低負荷条件下において $-dP/dt$ は糖尿病群で有意に低下したが、LVDP、 $+dP/dt$ は両群間で差を認めなかった。高負荷条件下において LVDP、 $\pm dP/dt$ はいずれも糖尿病群で有意に低下した。ATP、PCr、Pi 濃度および pH は両群間で差を認めなかった。

2. 糖尿病が ATP 産生、CK 動態、心仕事に及ぼす影響

低負荷条件下において V_{ATP} は両群間で差を認めなかった。CK flux は糖尿病群で22.8%有意に低下したが、RPP には差を認めなかった。高負荷条件下において CK flux は糖尿病群で30.8%低下し、RPP も39.2%有意に低下した。この際も V_{ATP} には差を認めなかった。対照群では V_{ATP} と CK flux との間に正の相関 ($r=0.68$, $P<0.05$) が認められたのに対し、糖尿病群では有意な相関は認められなかった ($r=0.04$)。

3. IAAm の効果

CK flux は低用量群の投与前後で27.4%、高用量群で58.2%低下した。RPP は低用量群の投与前後で7.0%、高用量群で13.9%ともに有意に低下した。CK flux の低下率と RPP の低下率との間に有意な正の相関が認められた ($r=0.73$, $P<0.05$)。

【考察】

糖尿病心は、高負荷条件下でのみ明らかな心機能障害を生じた。正常心では ATP 産生と CK flux との間に正の相関があり高負荷条件下で CK flux は有意に増加したが、糖尿病心では両者の相関はなく高負荷条件下でも CK flux は変化しなかった。エネルギー供給は ATP 産生と CK flux により規定されるが、ATP 産生は正常心と糖尿病心との間で差がなく、糖尿病心における高負荷条件下での心機能低下は CK/PCr system の予備能低下が原因と考えられた。

正常心における CK 阻害実験より、糖尿病心で観察された30.8%の CK flux の低下は単独で有意な心機能低下を来たしうることが示唆された。しかしながら、糖尿病心で観察された心機能障害は CK flux 低下の程度に比べより重度であり、CK/PCr system の障害以外にもいくつかの因子 (myosin isoenzyme の変化、 Ca^{2+} homeostasis の異常など) が関与しているものと考えられた。

【結論】

心筋内クレアチンキナーゼ動態の異常が、糖尿病性心筋症における心機能障害の一因であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

糖尿病患者では、心負荷の増大時に、収縮、弛緩速度の減少、心拍出量の減退などの心機能の低下が起きる。その際の心筋病理学的所見では心筋変性が認められ、一方、生化学的には creatine kinase (CK) 活性の低下が報告されている。しかし、この心負荷増大時に起きる心機能の低下と CK 活性の低下との関連性を直接的に証明した論文はない。それには、in situ で実験を行う必要がある。申請者は、ラットの心臓をランゲンドルフ法にて灌流し、リン核磁気共鳴 (^{31}P NMR) 飽和移動法を用い、CK 反応速度 (CK flux) と心機能とを同じ心臓で同時に測定することにより、この問題を明らかにせんとしたものである。

方法：実験動物として雄性 Sprague-Dawley ラットを用い、糖尿病はストレプトゾトシン45mg/kg を静注して作成した。8週間後の心臓を用いたが、コントロール群としては同じ程度の大きさの正常ラットの心臓を用いた。灌流は、低負荷条件 (ペースング頻度：300/分、左室拡張末期圧：0-4 mmHg) および高負荷条件 (ペースング頻度：390/分、左室拡張末期圧：8-12mmHg) で行った。測定項目としては、(1)左室内にラテックスバルーンを挿入することにより、左室発生圧 (LVDP)、収縮弛緩速度 ($\pm dP/dt$) および rate pressure product (RPP) を測定し、心機能の指標とした。(2)大動脈と肺動脈での灌流液酸素分圧および冠灌流量より心筋酸素消費量を求めた。これより ADP/O 比を3として ATP 産生速度 (V_{ATP}) を計算した。(3) ^{31}P NMR 法により、リン酸化合物濃度、細胞内

pH を測定した。飽和移動法により、順反応 (PCr→ATP) の CK flux を求めた。(4)CK 阻害作用を持つ iodoacetamide (IAAm) の投与前後での心機能および ^{31}P NMR 測定を、高負荷条件で灌流した正常ラットの心臓で行った。

結果：正常群と比較しての糖尿病群の変化を以下に示した。

	心機能			リン酸化合物濃度			心筋エネルギー代謝			
	-dp/dt	+dp/dt	LVPD	[ATP]	[PCr]	[Pi]	pHi	VATP	CK flux	RPP
低負荷	↓	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	↓	n. s.
高負荷	↓	↓	↓	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	↓	↓

正常群においては VATP と CK flux との間に有意の正の相関が認められたが、糖尿病群においては相関は認められなかった。

正常心に対する IAAm の投与では、CK flux、RPP はともに有意な低下を示し、この両者の低下率の間には有意の正の相関が認められた。また、糖尿病心で認められた CK flux の低下は実際に心機能障害を来しうることが示された。

以上の結果より、糖尿病心では高負荷条件下で明らかな心機能低下を生ずるが、これは、ATP 産生は両群間で変わらないが CK flux が糖尿病群では増加しないことより、CK/PCr system の予備能の低下が原因の一つであると結論した。

この研究に対し、主として次のような質疑がなされた。

- 1) ATP 産生速度の算出に際し ADP/O=3 とした根拠
- 2) IAAm を投与しても明らかな解糖系阻害が生じなかった理由
- 3) 本実験における心筋の主なエネルギー基質は何か?
- 4) ピルビン酸を灌流液に加えた理由
- 5) IAAm 投与後の ATP 減少に全 adenine nucleotide 量の減少が関与している可能性 (異化経路の活性化の可能性)
- 6) 糖尿病心において ATP 濃度が低下しなかった理由
- 7) 低負荷条件下において -dP/dt が低下した理由
- 8) 糖尿病心で肥大は認められたか?
- 9) 虚血性心不全で CK 活性は変化するか?
- 10) 虚血心筋と糖尿病心筋との違いについて
- 11) 糖尿病性心筋症における microangiopathy の存在について
- 12) 対照群として age-matched ではなく size-matched heart を用いた理由
- 13) ジギタリスやカテコラミンなどの強心薬に対する反応性の違いについて
- 14) CK 活性の低下は糖尿病性心筋症に特異的か? 心筋症ハムスターではどうか?

これらの質問に対して、申請者は概ね適切に解答し、本論文は糖尿病性心筋症に対する治療上寄与するところがあり、本論文が博士 (医学) の学位を授与するに十分な内容を有するものと全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 中島 光 好
副査 教授 藤田 道也 副査 教授 吉見 輝也
副査 助教授 林 秀 晴 副査 講師 田 港 朝彦