

Effect of L-Carnitine on Phospholipids in the Ischemic Myocardium.

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 長尾, 文之助 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/888

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 35号	学位授与年月日	昭和61年 3月26日
氏名	長尾文之助		
論文題目	Effect of L-Carnitine on Phospholipids in the Ischemic Myocardium. (L-カルニチンの虚血心筋リン脂質代謝に及ぼす影響)		

医学博士 長尾文之助

論文題目

Effect of L-Carnitine on Phospholipids in the Ischemic Myocardium.

(L-カルニチンの虚血心筋リン脂質代謝に及ぼす影響)

論文の内容の要旨

リン脂質は生体膜の構成因子であり、その組成の変化は膜の物理的、生理的性状を変化させ、細胞機能にも影響を与えるものと考えられる。近年、虚血心筋のリン脂質代謝における phospholipase の役割が不整脈や reperfusion injury の病態と関連して関心がもたれている。また一方、遊離脂肪酸(以下 FFA)は、正常心筋においては重要なエネルギー源であるが、臨床上心筋虚血時に高 FFA 血症が不整脈誘発作用を有することが報告されている。また虚血心筋において FFA の酸化過程における中間代謝産物である アシル CoA や アシルカルニチンの蓄積が有害作用を有することが報告されており、FFA のミトコンドリア内への輸送に必須の物質である L-カルニチンの虚血心筋に対する保護作用が注目されている。

そこで今回我々は、虚血心筋のミトコンドリアにおけるリン脂質代謝の病態を検討し、それに対する L-カルニチンの影響について検討した。

<方法> 体重 8~15 kg の雑種成犬 15 頭をベントバルビタール静注麻酔後、人工呼吸下に開胸、左冠動脈前下行枝を結紮した。カルニチン群は、L-カルニチン 300 mg/kg を、対照群は 5.9% NaCl を、いずれも冠動脈結紮 10 分前より 5 分間かけて静注し、40 分間冠動脈結紮後に心臓を摘出、虚血部及び非虚血部心筋のミトコンドリア総リン脂質及びリン脂質分画並びに心筋内 ATP を測定した。ミトコンドリアの分離は、Hatefi の方法の変法にて行い、総リン脂質の定量は、Folch の変法にて脂質分画を抽出後、無機リンの定量を Allen の方法にて行った。リン脂質の分画は、濃縮層付の薄層クロマトグラフィー (HPTLC) を用い、吸光度をデンストメトリー法にて測定した。ATP の測定は、酵素法にて行った。

<結果> (1)対照群の心筋ミトコンドリアの総リン脂質は、冠動脈結紮 40 分後、虚血部は $0.21 \pm 0.03 \mu\text{mol}/\text{mg} \cdot \text{prot.}$ と非虚血部の 0.34 ± 0.03 に比し有意の低下を認めた。これに対しカルニチン群の虚血部では、 $0.26 \pm 0.02 \mu\text{mol}/\text{mg} \cdot \text{prot.}$ と、対照群の虚血部に比し有意の高値を認めた。(2)対照群のミトコンドリアのリン脂質分画は、虚血部でフォスファチジルコリン、フォスファチジリンイノシトール及びフォスファチジリエタノールアミンに有意の減少が、カルジオリピンには減少傾向を認めた。スフィンゴミエリン、リゾフォスファチジリエタノールアミンには有意な変化は認めなかった。これに対しカルニチン投与群では虚血部におけるこれら分画の有意な減少が抑制されるのが認められた。(3)対照群の心筋内 ATP は、虚血部で $2.7 \pm 0.7 \mu\text{mol}/\text{g}$ と非虚血部の 5.8 ± 0.3 に比し有意の低下を認めた。これに対しカルニチン投与群の虚血部 ATP は、 $4.0 \pm 1.4 \mu\text{mol}/\text{g}$ と対照群の虚血部に比し高値の傾向を示した。

<考案> 虚血心筋では、組織内酸素濃度の低下により、酸化的リン酸化によって生成される ATP は急激に減少すると同時にアシル CoA 及びアシルカルニチンが蓄積することが知られている。これらの脂質中間代謝産物は、アデニンヌクレオチド転位酵素や Na, K-ATPase など、膜に存在する酵素を障害し、その結果心筋収縮の障害、イオンホメオスターシスの異常などを引き起こすものと考えられている。またそれらは界面活性作用を有し、直接膜を障害すると考えられている。カルニチンの投与により、虚血心筋における ATP の減少の軽減や脂質中間代謝産物の蓄積の抑制が報告されている。今回、虚血心筋に対するカルニチンの効果于心筋ミトコンドリアにおけるリン脂質代謝の面から検討した結果、カルニチンの前投与により虚血による心筋ミトコンドリアリン脂質の減少が抑制されたことはカルニチンが虚血による心筋ミトコンドリアの膜障害に対し保護的効果を有するものと考えられ、虚血性心疾患の治療薬としての有用性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

心筋のエネルギー源の約60%は遊離脂肪酸と算定されており、その脂肪酸のミトコンドリア膜間輸送にあずかるカルニチン含量も心筋では高い。虚血心筋中ではATP量が減少するが、遊離カルニチン含量も減少し、遊離脂肪酸、長鎖アシルカルニチン及び長鎖アシルCoAは増量する。これらの傾向が虚血前のL-カルニチン投与によって抑止され、ATP量と遊離カルニチン量には正、ATP量と長鎖アシルCoA及び長鎖アシルカルニチン量との間には負の相関があることが鈴木らによって明らかにされている。

一方、虚血心筋ではミトコンドリア等の細胞内膜構造の顕著な変化がおり、組織及びミトコンドリアでのリン脂質含量の減少が報告されている。これには、虚血によるエネルギー産生の障害のみならず、増量した遊離脂肪酸及びアシルCoAの持つ界面活性作用による細胞内膜構造の損傷も考慮されるべきであろう。この虚血時の心筋ミトコンドリア膜の傷害がL-カルニチン投与により防止することができるかというのが申請者の研究である。

審査委員会において、申請者からスライドによる口頭発表がなされ、随時各審査委員より質問と問題点の指摘がなされた。それに対し、申請者から逐一回答を得た。

審査委員会でまとめられた本論文の特徴及び評価すべき点は次の通り。

- 1) 冠動脈結紮40分後、心筋組織虚血部のATP含量低下を確認した上で、心筋ミトコンドリアを調整、その総リン脂質量を測定し、非虚血部に比し虚血部での低下を認めた。あらかじめL-カルニチン300 mg/kgを冠動脈結紮10分前より5分間かけて静注した実験群においては上記のATP含量及び総リン脂質量の低下が抑制された。
- 2) リン脂質の分画では、フォスファチジルコリン、フォスファチジルイノシトール及びフォスファチジルエタノールアミンは有意に低下したが、ミトコンドリア内膜に局在するカルジオリピンはわずかに減少の傾向を示し、またスフィンゴミエリンとリゾフォスファチジルエタノールアミンには減少が認められなかった。L-カルニチン投与群ではこれら減少が抑制された。
- 3) 以上の結果からL-カルニチンの前投与は心筋ミトコンドリア膜障害に対し保護的効果を有することがこの実験系において結論された。

これらの成果は審査員全員が高く評価したところであるが、更に次のような問題点が審査員より指摘された。

- 1) L-カルニチンの投与時期、投与量、投与方法等に関し、今後更に保護的効果を改善するためにどのように検討を加えるか。
- 2) 心筋保護液に加えた場合効果が期待されるか。
- 3) 結紮解除、再灌流時にL-カルニチンの投与が有効か。
- 4) フォスファチジルコリン及びフォスファチジルエタノールアミンの有意な減少にもかかわらず、リゾリン脂質の増量が認められないのはリン脂質の分解に関しフォスホリパーゼA₂よりもフォスホリパーゼCの活性が高いためと解釈されるか。

申請者はそれらの指摘に対し適切に回答し、また指摘のあった事項に関し一部は既に実験を遂行中であるとのことであった。

このような審査経過ののち、審査委員会は、本論文が学位授与に値する内容をもつものであると、全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	西村	顯治		
	副査	教授	五十嵐	良雄	副査	教授
	副査	助教授	太田	英彦	副査	助教授
						中島
						光好
						原田
						幸雄