



## ROLE OF $\alpha$ 1-ADRENERGIC RECEPTORS AND THE EFFECT OF BUNAZOSIN ON THE HISTOPATHOLOGY OF CARDIOMYOPATHIC SYRIAN HAMSTERS OF STRAIN BIO 14.6

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 池ヶ谷, 貴愛 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/944">http://hdl.handle.net/10271/944</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	医博第 91号	学位授与年月日	平成 2年 3月26日
氏名	池ヶ谷 貴 愛		
論文題目	<p>ROLE OF <math>\alpha_1</math> -ADRENERGIC RECEPTORS AND THE EFFECT OF BUNAZOSIN ON THE HISTOPATHOLOGY OF CARDIOMYOPATHIC SYRIAN HAMSTERS OF STRAIN BIO 14.6                      (心筋症ハムスター-BIO 14.6の<math>\alpha_1</math>アドレナリン受容体の役割と心筋症ハムスター-BIO 14.6の病理組織におけるブナゾシンの効果)</p>		

医学博士 池ヶ谷 貴 愛

論文題目

ROLE OF  $\alpha_1$ -ADRENERGIC RECEPTORS AND THE EFFECT OF BUNAZOSIN ON THE HISTOPATHOLOGY OF CARDIOMYOPATHIC SYRIAN HAMSTERS OF STRAIN BIO 14.6

(心筋症ハムスター-BIO 14.6の $\alpha_1$ アドレナリン受容体の役割と心筋症ハムスター-BIO 14.6の病理組織におけるブナゾシンの効果)

論文の内容の要旨

心筋症ハムスター-BIO 14.6(以下BIO)はヒト特発性心筋症の動物モデルであり、遺伝的に生後30~40日より発症し、その後心肥大期をへて、うっ血性心不全にて死亡する。6カ月齢、12~14カ月齢の心筋症ハムスターの心臓において $\alpha$ 受容体刺激に対する反応性の増加及び $\alpha_1$ 受容体数の増加が報告されており、心筋症の進展における交感神経系の関与が考えられている。しかし、発症早期より交感神経系が関与するかどうかは不明である。BIOの心筋症発症早期における交感神経受容体の病態を検討し、さらに塩酸ブナゾシンの心筋病理組織におよぼす効果を検討した。

【方法】

- (1) 21日齢(発症前期)、35~42日齢(発症期)、70~84日齢(心肥大初期)のBIOと同日齢のゴールデンハムスター(コントロール群)の心臓を摘出し、遠心分離により粗細胞膜分画をとりだし受容体結合実験をおこなった。
- (2)  $\alpha_1$ 受容体の測定は12~400 pMの[d1-2-[ $\beta$ -(3-[ $^{125}$ I]iodo-4-hydroxyphenyl)-ethyl-aminoethyl]tetralone]([ $^{125}$ I]HEAT)を用いて、30℃90分間のインキュベーションをおこない、ガラス線維濾紙で吸引濾過した。濾紙を洗浄後、濾紙の放射活性をガンマカウンターにて測定した。10  $\mu$ M prazosin存在下の結合を非特異的結合とした。結合曲線のScatchard解析より解離定数(Kd)と総受容体数(Bmax)を求めた。
- (3)  $\beta$ 受容体の測定は3~250 pMの[(-)-3-[ $^{125}$ I]iodocyano pindolol]([ $^{125}$ I]CYP)を用いて、30℃90分間のインキュベーションをおこない、 $\alpha_1$ 受容体と同様に濾紙の放射活性を測定した。10  $\mu$ M propranolol存在下の結合を非特異的結合とした。結合曲線のScatchard解析よりKdとBmaxを求めた。
- (4) 21日齢のBIOを3群にわけ、ブナゾシン0.1mg/kg投与群には塩酸ブナゾシン0.1mg/kgを1日2回、ブナゾシン10mg/kg投与群には塩酸ブナゾシン10mg/kgを1日2回、21日齢より70日間腹腔内投与し、非投与群には蒸留水を投与した。最終投与後32時間にて心臓を摘出した。心臓を長軸方向の中央で切断し、厚さ5mmの横断切片を切り取り、10%ホルマリン溶液で固定、パラフィンに包埋した後、3 $\mu$ mの厚さの横断切片標本作製した。ヘマトキシリン-エオジン染色、アザン染色及びフォンコッサ染色にて染色し、心標本の(i)壊死心筋巣、(ii)線維化巣、(iii)石灰化巣の面積ならびに断面の心筋総面積を計測した。壊死巣、線維化巣、石灰化巣の面積の総心筋面積に対する比率をブナゾシン0.1mg/kg投与群、ブナゾシン10mg/kg投与群及び非投与群の各群間で比較検討した。

【結果】

- (1) BIO 14.6群の $\alpha_1$ 受容体の総受容体数は35~42日齢、70~84日齢においては有意に高値を示したが、21日齢においてはコントロール群に比べ変化を示さなかった。 $\alpha_1$ 受容体の親和性は各時期とも両群間で変化を認めなかった。
- (2) BIO 14.6群の $\beta$ 受容体の総受容体数は35~42日齢、70~84日齢においては有意に高値を示したが、21日齢においてはコントロール群に比べ変化を示さなかった。 $\beta$ 受容体の親和性は各時期とも両群間で変化を認めなかった。
- (3) 病理組織学的検討ではブナゾシン10mg/kg投与群で非投与群に比し障害心筋面積(壊死巣、石灰化巣)

及び総心筋面積における全障害心筋面積の比率が有意に減少した。

(4) プナゾシン 0.1 mg/kg 投与群の障害心筋面積及び面積比は非投与群に比し変化を示さなかった。

## 論文審査の結果の要旨

心筋症ハムスター BIO 14.6 (以下 BIO 14.6) は、遺伝的に生後 30-40 日頃より心筋症を発症し、心肥大期(生後 70-200 日)を経てうっ血性心不全を起こすので、特発性心筋症研究のモデル動物として用いられている。BIO 14.6 の心筋細胞では、発症前期に既に  $Ca^{2+}$  含量が上昇しており、このことが心筋症発症の一つの原因とされているが、 $Ca^{2+}$  過負荷の原因は未だ明らかにされていない。

BIO 14.6 ではカテコールアミン系にも異常があり、生後 6 ヶ月あるいは 12-14 ヶ月(心不全期)の心臓で  $\alpha$  受容体刺激に対する反応性の亢進及び 10-12 ヶ月において  $\alpha_1$  受容体、 $\beta$  受容体の増加が認められている。そこで、申請者は BIO 14.6 の心筋症の発症にカテコールアミン系の異常が関与するの否かを明らかにするため、主として心筋症発症早期の BIO 14.6 を用いて本研究を行った。実験は、心臓より調製した粗細胞膜標品中の  $\alpha_1$  受容体、 $\beta$  受容体の解析と、塩酸プナゾシン ( $\alpha_1$  拮抗薬) の心筋病理所見に及ぼす効果の検討の二部からなる。

それぞれの受容体に対する拮抗薬を用いて行われた受容体結合解析実験では、BIO 14.6 の  $\alpha_1$  受容体、 $\beta$  受容体は共に、発症前期(21 日齢)には増加していないが、発症期(35-42 日齢)、心肥大初期(70-84 日齢)では同日齢の対照群より有意に多いという結果が得られた。両受容体の拮抗薬に対する親和性には、全時期を通じて、BIO 14.6 と対照群間に差が認められなかった。

BIO 14.6 に 21 日齢(発症前期)より 70 日間塩酸プナゾシンを投与し、心標本の病理組織学的所見を検討した実験では、10 mg/kg 連日投与群の障害心筋面積(特に壊死巣と石灰化巣)及び総心筋面積に対する全障害心筋面積の比率が蒸溜水を同様に投与した対照群よりも有意に小さいという結果が得られた。

一方、他の研究者により、ノルアドレナリンの大量投与が心筋症類似の心病変を起こすことや、18-20 日齢、45-65 日齢の BIO 14.6 における心筋ノルアドレナリン含量の増加が報告されている。BIO 14.6 の心筋病変の進展に  $\alpha_1$  受容体系が関与すると考えられるが、申請者の今回の実験結果も総合するとこの考えを支持するものであるとされた。

申請者から以上の内容の口頭発表を受け、次の諸点についての質疑応答が行われた。

- 1) BIO 14.6 の由来、及び対照としてゴールデンハムスターを用いたことの是非。
- 2) 対照ハムスター及び BIO 14.6 の寿命、発育に伴う体重、心臓重量等の推移、心肥大に伴う心湿重量あたりの蛋白量の変化等について。
- 3) 今回、特に  $\alpha_1$  受容体に着眼した理由。
- 4) 使用した  $\alpha_1$  拮抗薬、 $\beta$  拮抗薬の特異性やその他の特性、他の拮抗薬との比較。
- 5) 心標本の組織学的検査で壊死巣、線維化巣、石灰化巣を判別した方法とその原理、及びヒトの心筋症でも同様の病理組織学的所見が観察されるか否かについて。
- 6) 心筋壊死と線維化と石灰化の相互関係及びこれらと心肥大との因果関係。
- 7) BIO 14.6 及び対照ゴールデンハムスターにおける塩酸プナゾシンの血圧降下作用について。
- 8) 心臓の後負荷の上昇により  $\alpha_1$  受容体が増加し、次いで心肥大が始まり心不全に至ることが知られている。この現象と塩酸プナゾシンの心筋病変改善効果との関連について。

審査委員会では、以上の口頭発表、質疑応答及び提出された主論文について審議した。研究については、臨床を視野に入れながら基礎的事項について地道になされた研究であり、心筋症ハムスター BIO 14.6 の病態の理解に寄与するものと評価された。質疑応答でも学位授与に値する知識、思考力を備えていることが示された。よって、本研究は学位授与に値すると審査委員全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	市山	新			
	副査	教授	池田	和之	副査	教授	原田幸雄
	副査	助教授	植松	俊彦	副査	助教授	西村正彦