



POSSIBLE INVOLVEMENT OF FREE RADICALS IN THE EARLY STAGES OF THE DEVELOPMENT OF CARDIOMYOPATHY IN BIO 14.6 SYRIAN HAMSTER

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: 福地, 照元 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/949

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 96号	学位授与年月日	平成 2年 3月26日
氏名	福地照元		
論文題目	POSSIBLE INVOLVEMENT OF FREE RADICALS IN THE EARLY STAGES OF THE DEVELOPMENT OF CARDIOMYOPATHY IN BIO 14.6 SYRIAN HAMSTER (心筋症ハムスターBIO 14.6 の心筋症初期におけるフリーラジカルの関与)		

POSSIBLE INVOLVEMENT OF FREE RADICALS IN THE
EARLY STAGES OF THE DEVELOPMENT OF CARDIOMYO-
PATHY IN BIO 14.6 SYRIAN HAMSTER

(心筋症ハムスター BIO 14.6 の心筋症初期におけるフリーラジカルの関与)

論文の内容の要旨

特発性心筋症とは、原因不明の予後不良な心筋疾患であり、早期にその病因の解明が望まれている。近年、各種の心筋症モデルにおいて、心筋症の発症要因の一つとしてフリーラジカルの関与が示唆されている。われわれは、既に遺伝的に心筋症を自然発症する心筋症ハムスター BIO 14.6 (以下 BIO) を用い、心筋ミトコンドリア内フリーラジカルが 40 日齢および 90 日齢で有意な高値を示すことを認め報告した。そこで今回、BIO の心筋症発症に対するフリーラジカルの関与の可能性をさらに明らかにするため、BIO の心筋病変の進展に対する α -トコフェロール (以下 Vit. E) の効果を病理組織学的に検討した。また、BIO の心筋ミトコンドリア内フリーラジカルに対する α -トコフェロールの効果も検討した。さらに、BIO の心筋内 Glutathione peroxidase (以下 GSH-Px) と Superoxide dismutase (以下 SOD) の酵素活性を測定し対照群のそれと比較検討した。〔方法〕(1) 生後 21 日齢の BIO を 2 群に分け、Vit. E 群には Vit. E (70 mg/kg) を生後 21 日齢より 70 日間連日腹腔内に投与し、対照群にはその溶解液のみを投与した。両群とも 90 日齢で心臓を摘出し、組織学的に線維化病巣・石灰化病巣・変性心筋面積/総心筋面積を比較検討した。(2) Vit. E を投与し、心筋ミトコンドリアを Chanace & Hagihara の方法に準じて調製後、電子スピン共鳴 (ESR) 法により心筋ミトコンドリア内のフリーラジカルを測定した。(3) GSH-Px 活性の測定は、Guarnieri 等の方法に準じて行い、SOD 活性の測定には大柳の亜硝酸法を用いた。〔結果〕(1) Vit. E 投与群の線維化病巣/総心筋面積は非投与群に比し有意な変化を認めなかったが、変性心筋面積/総心筋面積は、Vit. E 投与群で $1.82 \pm 0.77\%$ と対照群の $2.96 \pm 0.99\%$ に比し有意な縮小を認めた ($P < 0.05$)。Vit. E 投与群における心筋ミトコンドリア内フリーラジカルの ESR Relative Intensity は、 0.13 ± 0.01 と非投与群の 0.11 ± 0.02 に比し有意な差を認めなかった。(3) BIO の心筋内 GSH-Px 活性は、30 日、90 日、160 日齢でそれぞれ 0.066 ± 0.016 、 0.031 ± 0.002 、 0.043 ± 0.003 (U/mg prot.) であり、30 日で正常対照群の 0.032 ± 0.004 に比し有意に高値を示した ($P < 0.01$)。一方、BIO の心筋内 SOD 活性は 30 日、90 日、160 日齢でそれぞれ 571 ± 109 、 549 ± 90 、 444 ± 58 (U/mg prot.) と、正常対照群に比しいずれの時期においても有意な差を認めなかった。〔考察〕各種心筋症や筋ジストロフィーのモデル動物において、その成因にフリーラジカルの関与が考えられている。その解明のためフリーラジカル消去系の検討も行われ、BIO の骨格筋においても最近、脂質の過酸化が亢進していることが報告されているが、BIO の心筋におけるフリーラジカル消去系についての詳細な報告はなされていない。Vit. E の投与により BIO の心筋組織病変進展に対する抑制効果が認められ、BIO の心筋における組織過酸化障害の存在が示唆された。GSH-Px などの抗酸化酵素は組織が酸化ストレスにさらされた時に酵素活性が増加すると考えられている。今回の我々の成績で、30 日齢の BIO の心筋内で GSH-Px 活性が有意な増加を示したことは、光頭上、組織病変の認められる以前の段階で既に組織の過酸化障害が発現し、それに対して代償的に酵素活性の増加が生じた可能性が示唆された。なお、フリーラジカル消去系酵素である GSH-Px と SOD 両者の活性に有意な低下は認められず、BIO の心筋症の発症に見られるフリーラジカルの増加の機序としては、消去系酵素の活性低下によるのではなく、フリーラジカル産生系の亢進による可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

原因不明の心筋疾患である特発性心筋症は予後不良な疾患で、重症なものは心臓移植の適応とされている。近年その発症要因としてフリーラジカルの関与が示唆されている。

申請者は心筋症自然発症ハムスター BIO 14.6 (BIO 14.6) を用いて、その心筋症の発症にフリーラジカルがどのように関与しているかを解明しようと試みた。

この論文では、生後 21 日齢から BIO 14.6 の腹腔内に抗酸化剤の一つである α -トコフェロール (Vit.E) を投与して 90 日齢で屠殺し、心筋病変への進展抑制効果と心筋ミトコンドリア内のフリーラジカルの量の変化を検討している。また、BIO 14.6 への戻し交配により作成した心筋症を発症しないコントロールハムスター BIO 14.6 HAM との間の抗酸化酵素の Glutathione peroxidase (GSH peroxidase) と Superoxide dismutase (SOD) の心筋内での活性を 30 日、90 日、160 日齢で測定し比較検討している。

その結果、(1)変性心筋面積/総心筋面積は、Vit. E 投与群では対照群よりも有意な縮小を認めた。(2)電子スピン共鳴法で測定した心筋ミトコンドリア内フリーラジカルには両群に差を認めていない。(3)心筋内 GSH peroxidase 活性は 30 日齢でのみ対照の BIO 14.6 HAM よりも BIO 14.6 群で有意な高値を認めた。(4)心筋内 SOD 活性は両群間で有意な差を認めていない。

以上の結果から考察を加えて得られた結論は次の通りである。

- 1) Vit. E の投与は BIO 14.6 の心筋組織の初期の病変進展に対する抑制効果がある。
- 2) 顕微鏡上で組織病変が認められる以前からすでに組織の過酸化障害が始まっており、それに対して代償的に GSH peroxidase 活性が増加した可能性がある。
- 3) BIO 14.6 の心筋内フリーラジカルの増加は、消去系酵素の活性低下によるものではなく、フリーラジカル産生系の亢進による可能性がある。

本論文の発表に対し関連事項として審査委員から次の質問が行われた。

- 1) BIO 14.6 とヒトに見られる心筋症の違い。
- 2) 心筋変性の経時的变化、特に心筋壊死の開始時期と Vit. E 投与の時期。
- 3) 心筋変性の局在性とフリーラジカルの局在性。
- 4) 測定されたフリーラジカルの種類。
- 5) BIO 14.6 で考えられたフリーラジカルの異常高値の原因。
- 6) 心臓の採取手技、特に摘出後の臓器の灌流の有無と血球成分の除去法。
- 7) BIO 14.6 のカルシウム、脂質、カテコールアミン代謝の障害と心筋障害との関係。
- 8) 消去系酵素の代償作用機序と測定時期の関係。
- 9) 今回用いた消去系酵素測定法の選択理由とその特徴。

これらに対して、申請者から概ね適切な回答がなされた。

本論文は原因不明で治療が極めて困難な特発性心筋症の原因の解明に寄与するもので、本症の予防方法および病態の進行を抑制する治療法への今後の進展の基になる意義ある研究と認められる。

以上の結果から審査委員会は本論文が医学博士の学位を授与するに十分な内容を有する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	原	田	幸	雄						
	副査	教授	白	澤	春	之	副査	教授	高	田	明	和
	副査	教授	藤	瀬	裕		副査	助教授	平	光	忠	久