

学 位 論 文 題 名

Recovery of cardiac norepinephrine concentration and tyrosine hydroxylase activity by the central α -2-adrenoceptor agonist guanabenz in rats with aortic constriction

(大動脈狭窄ラットにおける中枢性 α 2 刺激薬グアナベンツによる心臓ノルエピネフリン濃度及びチロジンハイドロキシラーゼ活性の回復に関する研究)

学位論文内容の要旨

【背景】心不全が生じている際に神経液性因子が賦活され、それらによって病態の悪化をもたらすことが知られている。賦活化されたレニン-アンジオテンシン系もその一つであり、ACE拮抗剤が日常心不全の治療に用いられている。また心不全患者では交感神経系が賦活され、血中ノルエピネフリン (NE) 濃度が上昇し、心臓NE濃度が低下して予後が悪いことが報告されており、このような病態では有効な心拍出が維持できない。更に心不全時には中枢神経系の賦活も指摘されている。従って心不全患者にとって交感神経系活動の調節を介しての治療は、有効な手段の一つと考えられる。 α 2 刺激薬は中枢神経系に作用して交感神経系活動を抑制する。本研究は、心肥大ラットにおいて α 2 刺激薬であるグアナベンツ (Gb) を用いて、低下している心臓NE濃度及びカテコールアミン合成酵素であるチロジンハイドロキシラーゼ (TH) 活性が回復する事を検討した。

【方法】10週齢のWistar雄性ラットを麻酔下に開胸して、その上行大動脈に約75%の狭窄を有するようにチタンクリップを掛け、閉胸して心肥大モデルを作成した (C)。同時にシャム手術を施行したラット (S) も作成した。

①Study 1: 術後4週目にラットを断頭し心臓、副腎、腎臓、脾臓、肝臓、精索の重量を測定して、各臓器のNE濃度を測定した。

②Study 2: 術後4週目より (C) 群に対してGbの至適用量の決定のために、4週間に渡り腹腔内に生食、Gb (1、5、10 mg/kg) を投与し、18週齢に達した時点で体重 (BW) を測定後断頭して心臓を取り出し、左室 (LV) 重量を測定した。(S) 群は生食の投与を受けた。

③Study 3: 術後4週間経過した (C) 群及び (S) 群に対して、それぞれ1 mg/kgのGb及び生食を4週間にわたって腹腔内投与した。18週齢時に断頭して心臓を取り出して左室重量を測定し、NE及び代謝産物であるデヒドロキシフェニルグリコール (DHPG) 濃度を測定した。

④Study 4: study 3と同様の薬物投与をしたラットを断頭し、心臓を取り出してLV重量を測定し、TH活性を測定した。

【結果】術後生存したラットは実験期間を通じて生存しており、断頭時腹水はみられなかった。また大動脈狭窄率は約75%を確認した。

①Study 1: LV重量は有意に (C) 群が (S) 群より重かった (2.23 ± 0.04 vs 1.57 ± 0.05 mg/g BW)。左室NE濃度は (C) 群は有意に (S) 群より低下していた

(273 ± 13 vs $445 \pm 33 \text{ ng/g LV weight}$)。右室 (RV) NE 濃度も (C) 群は (S) 群に比して有意に低下していた (333 ± 16 vs $490 \pm 31 \text{ ng/g RV weight}$)。しかし他の副腎、腎臓、脾臓、肝臓、精索において (C) 群及び (S) 群間では組織 NE 濃度に差は認められなかった。

② Study 2 : 生食及び異なる濃度の Gb を投与した (C) 群と生食投与した (S) 群のラットの BW と LV 重量を比較すると、(C) 群において Gb 5 及び 10 mg/kg では LV 重量及び BW の著明な減少がみられた。しかし 1 mg/kg では LV 重量は減少し BW は変化しなかった。よって Gb の至適用量を 1 mg/kg BW とした。

③ Study 3 : (S) 群 + 生食 (SS)、(S) 群 + Gb (SG)、(C) 群 + 生食 (CS)、(C) 群 + Gb (CG) を投与した各群の B-W は変化無かった (359 ± 13 : 319 ± 6 : 332 ± 19 : $319 \pm 10 \text{ g}$)。LV 重量は (SS:SG:CS:CG = 628 ± 21 : 532 ± 12 : 796 ± 40 : $657 \pm 35 \text{ mg}$) で、大動脈狭窄により有意に増加し、Gb の投与によって有意に減少した。各群の LV 重量/BW 比は (SS:SG:CS:CG = 1.75 ± 0.04 : 1.67 ± 0.04 : 2.41 ± 0.09 : $2.06 \pm 0.09 \text{ mg/g}$) であり、大動脈狭窄により有意の増加を示し、Gb の投与によって有意に低下した。LV 内 NE 濃度はそれぞれ (SS:SG:CS:CG = 593 ± 34 : 589 ± 25 : 325 ± 28 : $469 \pm 37 \text{ ng/g}$) で大動脈狭窄により減少しており、Gb の投与によって有意に回復した。LV 内 DHPG 濃度はそれぞれ (SS:SG:CS:CG = 132 ± 11 : 122 ± 12 : 81 ± 8 : $104 \pm 10 \text{ ng/g}$) と、大動脈狭窄により有意に減少したが、Gb の投与によっても有意な回復を認めなかった。LV 内 DHPG/NE 濃度比では、4 群間で差を認めなかった (SS:SG:CS:CG = 0.23 ± 0.03 : 0.21 ± 0.02 : 0.25 ± 0.01 : 0.23 ± 0.03)。

④ Study 4 : 4 群間の LV 内 TH 活性は (SS:SG:CS:CG = 119 ± 9 : 165 ± 24 : 60 ± 8 : $91 \pm 5 \text{ nmol DOPA formed/hr./g. tissue}$) であり、大動脈狭窄により有意に低下していたが、Gb を投与する事で有意に回復した。

【考案】心臓 NE 濃度は、心臓交感神経活動、神経分布、NE の再吸収、NE の代謝等多くの因子によって影響を受けている。今回の研究の実験モデルでは、大動脈を狭窄する事で心臓肥大を作成した結果、心臓交感神経系が賦活されて他臓器にはみられなかった NE 濃度の枯渇が肥大心で認められ、また同様に TH 活性の低下も生じていた。これらのことは、神経活動が大きく関与していることを示唆し、又心不全時では全身の交感神経賦活が生じる前に、まず心臓交感神経系が作動することによってもたらされたものと考えられた。本研究で用いた Gb の薬理学的作用機序は、中枢神経系における $\alpha 2$ 受容体を刺激する事で交感神経活動を抑制し、神経末端からの NE 放出を抑制する。更に交感神経末端での $\alpha 2$ 受容体刺激により、NE の放出を抑制することが知られていることから、(C) 群に Gb を投与することで NE 濃度の回復が得られたものと推測される。又 NE 合成律速酵素である TH 活性の回復も心臓 NE 濃度回復にとって重要要素であり、(S) 群で Gb を投与した群が生食投与群に比して TH 活性が高いことから、Gb による TH 活性の回復は、中枢性のみならず末梢性の効果にもよるものも考えられた。DHPG は神経末端に NE を取り込み後に MAO によって形成される代謝物である。本研究では (C) 及び (S) 群の生食、Gb 投与群間での心臓 DHPG/NE 濃度比は差を認めなかった。これは (C) 群及び (S) 群で神経内において利用できる NE の濃度に差があることから、代謝物である DHPG の生成濃度も同様の動態をする事を示唆している。 $\alpha 2$ 受容体刺激薬は、交感神経系が賦活されている状態での虚血改善、エネルギー需要の減少、心室細動の閾値の上昇等が指摘されている。以上より $\alpha 2$ 刺激薬である Gb を用いることによってもたらされた今回の結果は、今後心不全患者の治療のための新しいアプローチを示唆するものと思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 岡 充 弘
副 査 教 授 本 間 研 一
副 査 教 授 北 畠 顕

学 位 論 文 題 名

Recovery of cardiac norepinephrine concentration and tyrosine hydroxylase activity by the central α -2-adrenoceptor agonist guanabenz in rats with aortic constriction

(大動脈狭窄ラットにおける中枢性 α 2 刺激薬グアナベンツによる心臓ノルエピネフリン濃度及びチロシンハイドロキシラーゼ活性の回復に関する研究)

心不全時には交感神経系活動が賦活され、血中ノルエピネフリン (NE) 濃度の上昇及び心臓 NE 濃度の低下が指摘されており、心不全患者にとって交感神経活動の調節を介しての治療は、有効な手段の一つと考えられる。 α 2 刺激薬は中枢神経系に作用して交感神経活動を抑制する。本研究は、心肥大ラットに α 2 刺激薬のグアナベンツ (Gb) を用いて、低下している心臓 NE 濃度及びチロシンハイドロキシラーゼ (TH) 活性が回復する事を検討した。10 週齢の Wistar 雄性ラットの上行大動脈に約 75 % の狭窄を有するようにクリップをかけ、閉胸して心肥大モデルを作成した (C)。シャム手術を施行したラット (S) も作成した。術後 4 週目にラットを断頭し心臓、副腎、腎臓、脾臓、肝臓、精索の重量を測定し、臓器別 NE 濃度を測定した結果、心臓のみが他臓器と比して有意に NE 濃度の低下をみた。次に術後 4 週目より C 群に対して 4 週間に渡り腹腔内に生食、Gb (1、5、10 mg/kg) を投与し、S 群には生食を投与した。18 週齢時に体重 (BW) を測定後心臓を取り出し、左室 (LV) 重量を測定した。この結果肥大心に Gb を 5、10 mg/kg 投与した群では体重及び左室重量の減少を認めたため、1 mg/kg を投与至適用量と設定した。術後 4 週間経過した C 及び S 群に対して、それぞれ 1 mg/kg の Gb 及び生食を 4 週間にわたって腹腔内投与し、18 週齢時に心臓を取り出して左室重量を測定し、NE 及び代謝産物であるディハイドロキシフェニルグリコール (DHPG) 濃度を測定した。C 及び S 群においても体重減少はなかったが、C 群での明らかな左室重量の増加と Gb 投与による心肥大の退縮を認めた。この時の左室内 NE 及び DHPG 濃度は肥大心では明らかに減少がみられたが Gb 投与でそれぞれ回復し、DHPG/NE 比は肥大の形成及び Gb の投与前後では不変であった。左室内 TH 活性は肥大心の形成に伴って有意な低下が認められたが、Gb 投与によって有意に回復した。また S 群に Gb を投与した群でも軽度の活性上昇傾向をみた。これらの結果から慢性心不全時に交感神経活動が賦活されている状況では、心臓内 NE 濃度及び TH 活性が低下しているが、Gb の投与によって主に中枢性 α 2 レセプターに作用して交感神経活動を抑制する事で心臓内 NE 濃度及び TH 活性を有意に回復させることを、動物実験モデルを用いて明らかにした。以上の発表に対して副査の本間

教授からG bは中枢性 $\alpha 2$ レセプターに作用するとのことだが、末梢性にはどの様に
関与しているかという質問に対し、プレシナプスでNEの放出を抑制すること、又肥大
心モデルの血行動態についての質問には、心拍出量の低下に対し血管収縮による代償機
構がみられること、肥大心で心臓内NE濃度の低下があるが血中レベルはどうかという
質問に対しては、文献的報告より上昇していることが予想されること、肥大形成時個々
の臓器の交感神経支配が変わるかという質問に対しては、病態の重症度によって変わら
うことを答えた。副査の北畠教授からは心不全治療の際の β ブロッカーと比してG b
を用いた際の作用機序の差についての質問があり、G bは中枢からの交感神経活動を抑
制することでNEの過剰放出状態を改善して正常な心臓NEレベルを回復することで心
不全に有効である事に対して、 β ブロッカーはダウンレギュレーションされたレセプター
の機能回復をもたらすという末梢レベルでの効果が得られると説明し、またG bの過
剰投与による体重減少の機序はリポライシスが原因と答えた。主査の吉岡教授の、今ま
での報告ではTH活性の調節では一般的に $\alpha 2$ 刺激薬の投与でその活性が低下すると
言われているが、本研究ではなぜ回復したのかと言う質問に対して、言われていること
は急性期にみられることであり、今回の結果は慢性期にみられたことであり、G bの投
与で回復がみられたことが新しい発見であると説明した。作用点のレセプターサブタイ
プについての質問では $\alpha 2 B$ タイプと解答し、今後の治療に関し $\alpha 2$ レセプターによ
り選択性のある薬剤開発が必要と思うがどうかという問に対して、G bは種々の中枢効
果があるのでそのような薬剤の方がより望ましいと解答した。

本研究では、慢性心不全時における心臓内NE濃度及びTH活性の低下が、 $\alpha 2$ 刺
激薬を用いることで交感神経活動の調節を介して回復し、また肥大心の退縮をもたらす
事を明らかにした。この事は今後の心不全治療に $\alpha 2$ 刺激薬が新しい選択肢として可
能性があることを明らかにした。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が
博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。