



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | Norepinephrine-stimulated proto-oncogene expression in the idiopathic cardiomyopathic hamster hearts  |
| Author(s)    | 栗本, 哲哉  |
| Citation     | 大阪大学, 1991, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/37160">https://hdl.handle.net/11094/37160</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【31】

|         |  |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 栗 本 哲 哉  |
| 学位の種類   | 医学博士   |
| 学位記番号   | 第 9682 号   |
| 学位授与の日付 | 平成3年3月26日  |
| 学位授与の要件 | 医学研究科 社会系専攻<br>学位規則第5条第1項該当  |
| 学位論文題目  | Norepinephrine-stimulated proto-oncogene expression in the idiopathic cardiomyopathic hamster hearts<br>(ノルエピネフリン刺激による特発性心筋症ハムスターの心筋癌遺伝子の発現) |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 大河内寿一<br>(副査)<br>教授 岸本 忠三 教授 垂井清一郎  |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

近年、遺伝子工学的技術の発展により、正常細胞内にウイルスの癌遺伝子と相同な宿主細胞内癌遺伝子(proto-oncogene)がきわめて広い範囲に分布・保存されており、細胞の増殖・分化に関わる重要な遺伝子であると考えられるようになった。最近、培養心筋において、カテコールアミンの $\alpha_1$ 受容体刺激による心筋細胞肥大に伴い核内癌遺伝子が誘導されることが示され、心筋細胞肥大に $\alpha_1$ 受容体を介する細胞内伝達機構が重要な役割を担っていることが示唆されている。特発性心筋症ハムスター(BIO14.6)は常染色体劣性遺伝形式を示し、その病像はヒト肥大型心筋症に類似している。その病因として心筋交感神経 $\alpha_1$ 受容体数の増加などが指摘されているが詳細は未だ明らかではない。さらに、臨床的にも肥大型心筋症の治療法や日常生活の管理に関し確立されたものはない。本研究では、肥大型心筋症の病因・病態を明らかにする目的で、正常ハムスターおよび心筋症ハムスターを対象として、心筋 $\alpha_1$ 受容体発現量の比較、およびin vivoでのnorepinephrine(NE)投与による交感神経刺激ならびに運動負荷が心筋の癌遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

#### (方 法)

In vitroでの癌遺伝子発現の検討には、新生児ラットの培養心筋細胞を用いた。2 $\mu$ M NEで15, 30, または120分間心筋細胞を処理し実験に供した。心筋 $\alpha_1$ 受容体発現の検討には30日齢の、またin vivoでの癌遺伝子発現の検討には30~40日齢の正常ハムスターおよび心筋ハムスターを用いた。NE 0.1, 0.75, 1.5, または3.0mg/kgを腹腔内投与し、0.5時間後に心臓を摘出した。最大量のNE(3.0mg/kg)投与群においては、さらに1, 2, 4, 8, 24時間後にも心臓を摘出し癌遺伝子発現の経時的変化を検

討した。対照群にはNEの代わりに、生理食塩水を投与した。また、運動負荷による癌遺伝子発現の推移を観察するために、以下に示す3群を設定し、5レーン式トレッドミルを用いて最大速度1.5km/hの走行による1時間の運動負荷を行った。

1. NE0.1mg/kg腹腔内投与群
2. 無処置走行負荷群
3. NE0.1mg/kg腹腔内投与（負荷0.5時間前）+走行負荷群

以上の計3群について、1群は投与0.5時間後に、2および3群はそれぞれ負荷終了直後に心臓を摘出した。培養心筋細胞および心臓からの全RNA抽出はAcid-guanidinium-phenol-chloroform法で行い、ノーザンブロットング法により癌遺伝子(c-fos)および $\alpha_1$ 受容体発現の解析を行った。発現した各バンドをデンストメーターにより解析し、比較検討した。

#### (成 積)

培養心筋細胞では、NE刺激15分後からc-fos発現が認められ、30分後にピークに達し120分後にはコントロールレベルにまで低下する時間経過が観察された。心筋症ハムスターおよび正常ハムスターともに、NE0.75mg/kg以上でc-fosの発現増強が認められた。NE3.0mg/kg投与後の時間経過では、正常ハムスターでは投与約1時間後に発現がピークに達し4時間後にはもとのレベルにまで低下した。しかし、心筋症ハムスターではc-fos発現のピークは0.5時間後に観察され、正常ハムスターに比べ早い傾向が認められた。NE0.1mg/kg投与ではいずれのハムスターでもc-fosの発現は観察されなかった。運動負荷実験において、正常ハムスターでは走行負荷を行っても有意なc-fosの発現は認められなかった。一方、心筋症ハムスターでは、NE0.1mg/kg投与のみでは観察されなかったc-fosの発現が、NE0.1mg/kg投与後走行負荷により認められた。しかし、心筋 $\alpha_1$ 受容体のmRNAレベルは心筋症ハムスターおよび正常ハムスターとも差が求められなかった。

#### (総 括)

- 1) 培養心筋細胞において、NE刺激によりc-fosの一過性発現が認められた。in vivoにおいても、NE刺激により心臓におけるc-fos発現の一過性増強が観察された。
- 2) 心筋症ハムスター心筋では、正常ハムスターに比べてNEに対するc-fosの早期発現の傾向が見られ、さらに運動負荷による相乗効果が認められた。
- 3) 心筋 $\alpha_1$ 受容体のmRNA発現量は両ハムスター間で有意な差を認めなかった。
- 4) ヒト肥大型心筋症と病像の類似している心筋症ハムスターを用いて行った以上の実験結果は、肥大型心筋症の病因・病態を解明する上で、また臨床的に心筋症患者の運動負荷および薬物治療を検討する上で興味ある知見である。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、肥大型心筋症の病因を明らかにする目的で、心筋症ハムスターを用いてnorepinephrine

(NE) 投与による交感神経刺激ならびに運動負荷が、心筋の癌遺伝子発現に及ぼす影響を検討したものである。NE刺激による心筋症ハムスター心筋における c-fos の発現は、正常ハムスターに比べて早期に見られる傾向のあること、さらに心筋症ハムスター心筋では、c-fos の発現がみられない少量の NE 投与量でも運動負荷を加えることにより c-fos の発現がみられ、運動負荷による相乗効果が示された。なお両ハムスターの心筋  $\alpha_1$  受容体の mRNA 発現量には有意な差を認めなかった。以上の結果から心筋症ハムスター心筋では  $\alpha_1$  受容体を介する反応系の亢進のあることが示唆され、病因の解析および  $\alpha_1$  遮断薬による薬物治療の可能性を示した点で学位に値するものとする。