

Title	Protective effect of the protease inhibitor leupeptin against myocardial stunning
Author(s)	松村, 泰志
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38538
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名 松 村 泰 志

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 1 0 6 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 6 年 2 月 1 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 名 Protective effect of the protease inhibitor leupeptin
against myocardial stunning

(プロテアーゼ阻害剤ロイペプチンによる心筋スタニングの発生防止)

(主査)

論 文 審 査 委 員 教 授 井 上 通 敏

(副査)

教 授 荻 原 俊 男 教 授 西 村 恒 彦

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

心筋は短時間の虚血後最灌流により壊死には至らないが、一過性の収縮不全を示す(スタン心筋)。近年、急性心筋梗塞に対し、積極的に再疎通療法が施行されるようになり、臨床的にもスタン心筋が重用視されているが、その発生機序は明らかでない。最近、虚血再灌流時に細胞内Ca濃度が一過性に上昇すること、このCaオーバロードが再灌流後の収縮不全の発生と密接に関係していることが明らかとなったが、一過性のCaオーバロードが収縮不全を起こす機序は未だ明かとなっていない。Ca依存性に活性化されるCalpainがスタニングにおける収縮不全の原因と考え、本研究では、その阻害剤の投与によるスタニングの防止について検討した。

【方 法】

モルモット摘出心を用い、Langendorff式に逆行性にTyrode溶液にて定流量灌流し、左室圧、灌流圧をモニターした。心臓は実験中37℃に保ち、灌流ポンプを停止させ15分間全虚血の状態とし、その後、等流量で20分再灌流した。

再灌流後の血行動態計測後、灌流液にryanodine 1 μ Mを添加し、細胞外Ca濃度を5 mM, 10mM, 15mM, 20 mMと段階的に上げ、それぞれの濃度で頻回刺激にてテタニーを誘発し、発生圧を計測した。Caに対する発生圧の飽和より筋線維の最大発生張力に相当する最大カルシウム活性化圧(MCAP)を求めた。

プロテアーゼ阻害剤ロイペプチンをDimethyl sulfoxide (DMSO)に溶解(10%)し、灌流液に加え50 μ M液とした。ロイペプチン投与群では、虚血前10分再灌流20分間ロイペプチンを投与した。DMSOがラジカルスカベンジャーの効果を有することから、同量のDMSOの単独投与の効果も調べた。

【結 果】

非虚血対照群(n=11)では、45分間の灌流中も血行動態に有意な変化はなく、発生圧は初期値に対し93.5 \pm 1.6% (mean \pm SEM)であり、MCAPは198.4 \pm 5.5mmHgであった。虚血群(n=8)では、再灌流後、収縮期圧の低下、拡張期圧の上昇を認め、発生圧は低下した(78.1 \pm 3.2%, p<0.05 vs control)。さらに、MCAPは、144.5 \pm 5.7mmHgと非虚血対象群に比し低値であった(p<0.05)。DMSOのスタニングに対する効果をみるためDMSOを

単独投与した群 (n = 6) では、再灌流後の血行動態は虚血群と差がなく、再灌流後の発生圧の低下、MCAP の低下に対し、DMSO は抑制効果を認めなかった。非虚血時のロイペプチンの投与 (10分間) により血行動態に変化はなく、強心薬としての効果は認めなかった。ロイペプチン投与群 (n = 11) では、虚血・再灌流後の血行動態は虚血前値とほぼ等しく、発生圧の低下を認めなかった ($94.3 \pm 3.2\%$)。MCAP は、 $168.0 \pm 4.6 \text{ mmHg}$ と、虚血心より高値であったが ($p < 0.05$)、非虚血コントロール心に比し低値であった ($p < 0.05$)。

【総括】

ロイペプチンの前投与により、15分虚血後再灌流した時の発生圧の低下、最大 Ca 活性化圧の低下が抑制された。このロイペプチンの効果は、血行動態の変化を介したのではなく、また、溶媒である DMSO の効果によるものでもなかった。心筋スタニングにおける発生圧の低下は、細胞内 Ca transients の低下によるのではなく、最大発生張力の低下が主たる機序と考えられている。このことより、収縮蛋白自体に障害があるものと考えられる。本実験の結果は、スタニングの収縮機構の障害に、細胞内プロテアーゼによる収縮蛋白の加水分解が関与している可能性を示唆した。ロイペプチンが Calpain の特異的阻害剤でないことから、本実験結果から、虚血再灌流時に活性化するプロテアーゼが Calpain であると特定することはできない。しかし、再灌流障害が細胞内 Ca オーバロードと密接に関係していること、再灌流時に細胞内 pH を下げるにより再灌流障害はむしろ抑制されることが報告されており、再灌流障害に関する細胞内プロテアーゼとしては、Ca 依存性で、かつ酸性プロテアーゼでない Calpain が最も妥当と考えられる。

以上より 虚血再灌流時の細胞内 Ca 濃度の一過性上昇により、Calpain が活性化され、収縮蛋白を一部加水分解することが、スタン心筋における収縮性低下の原因である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

短時間の虚血後再灌流された心筋に認められる収縮性低下 (スタニング) の発生機序については、再灌流時の細胞内カルシウムオーバーロードが重要な役割を担うことが明らかにされている。しかし、細胞内カルシウム濃度の一過性の上昇が収縮機構に障害を及ぼす機序については未だ不明である。本研究は、スタニングにおける細胞内プロテアーゼの役割に注目し、その阻害剤であるロイペプチンの投与により再灌流後の収縮性低下を軽減し得るか否かを検討したものである。モルモット摘出灌流心の15分虚血・再灌流モデルにおいて、左室等容性発生圧と、収縮機構のカルシウムに対する反応性の一指標である最大カルシウム活性化張力を用い評価を行っている。虚血前、及び再灌流時にロイペプチンを投与することにより、再灌流後の発生圧の低下が防止され、最大カルシウム活性化張力の低下が軽減されることを見だし、スタニングの発生に細胞内プロテアーゼ、特にカルパインの活性の上昇が関与する可能性を示した。虚血再灌流後の収縮性低下に細胞内プロテアーゼが介在する可能性を示した研究は他になく、究めて独創的であり、また、プロテアーゼ阻害剤が、再灌流障害の防止法として臨床的に役立つ可能性を示した点でも意義深い。以上より、本研究は学位に値するものとする。