

Title	Involvement of Calpain in Myonephropathic Metabolic Syndrome (MNMS)
Author(s)	辻, 嘉文
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38566
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	辻 嘉 文
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 11172 号
学位授与年月日	平成6年3月15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	Involvement of Calpain in Myonephropathic Metabolic Syndrome (MNMS) (Myonephropathic Metabolic Syndrome (MNMS) 発症におけるカルパイン (カルシウム依存性中性プロテアーゼ) の関与)
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞 (副査) 教授 松田 暉 教授 多田 道彦

論文内容の要旨

【目的】

急性動脈閉塞血行再灌流に伴う重篤な合併として myonephropathic metabolic syndrome (MNMS) が知られているがその原因や治療法については未だ十分解明されていない。一方 ischemia reperfusion injury (IRI) の原因として虚血器官において細胞レベルでは細胞内遊離カルシウム ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の上昇が注目されており Ca^{2+} によって活性化されるカルシウム依存性中性プロテアーゼである calpain の活性化が、IRI については MNMS に関与している可能性を考えた。そこで、臨床病態に即した MNMS モデルを家兎を用い作製し、本病態発症における calpain の関与に関する検討を試みた。

【方法】

2.2-2.7kg 雄性日本白色家兎の下腸間膜動脈 (IMA) より抹消側の lumbar artery 及び側枝を結紮切離の後 aorta を IMA 直下で一時遮断, 300分後再灌流し180分間にわたり経時的に血圧測定・IVCの採血・採尿を行い血小板・血中 NAG (N-acetyl- β -D-glucosaminidase) (p-NAG) ・ミオグロビン尿を観察し, 組織学的 (透過型電顕および光顕) 検討も行なった。さらに骨格筋内 calpain の存在・IRI に伴う活性化と筋蛋白の融解を SDS-蛋白電気泳動および免疫電気泳動にて検討した。細胞膜透過型で calpain に特異的な阻害剤である calpeptin は, IMA より虚血直前に投与し (calpeptin 投与群: n=6), その効果を MNMS 群 (n=7) と比較検討した。

【成績】

- (1) 血圧: MNMS 群では再灌流と共に低下し再灌流180分後 (R-180) には前値の $62 \pm 4.4\%$ (mean \pm SEM) となったが, calpeptin 投与群では有意に改善された (R-180: $88 \pm 5.1\%$) ($p < 0.01$)。
- (2) 血小板: 両群共再灌流後低下した。
- (3) p-NAG 値: 傷害された骨格筋由来と考えられるライソゾーム酵素である p-NAG は虚血により上昇し, MNMS 群ではさらに再灌流後急激に上昇し R-30 では $100 \pm 9.6 \text{ u/l}$ となったが, calpeptin 投与群では再灌流後の上昇は軽度で R-30 が $53 \pm 5.7 \text{ u/l}$ と有意に抑制された ($p < 0.01$)。
- (4) ミオグロビン尿: MNMS 群では再灌流後に尿の潜血反応陽性が観察され, 65%飽和硫酸塩析法にてミオグロビン尿と確認したが, calpeptin 投与群ではミオグロビン尿は認められなかった。
- (5) 形態学的検討: MNMS 群では筋形質の融解および筋構成繊維の断裂, さらにミトコンドリアの膨化・空胞化が

認められたが、calpeptin 投与によりそれらは改善された。

(6) 蛋白電気泳動 (SDS-PAGE) : MNMS 群では、80kDa と 100kDa の筋構成蛋白分解産物が出現したが、calpeptin 投与群では抑制された。

(7) 免疫電気泳動 : 家兎骨格筋には 84kDa の calpain II が主に存在し、MNMS 群ではこれが 80kDa に自己融解した。calpeptin 投与群ではこの calpain II の活性化を示す自己融和は抑制された。

【総括】

(1) 家兎後肢骨格筋を用いた MNMS モデルを確立した。

(2) Ca^{2+} 依存性中性プロテアーゼであるカルパインの特異的阻害剤であるカルペプチン投与により血漿中 NAG・ミオグロビン尿・形態学的所見が改善された。

(3) 虚血一再灌流にて骨格筋に存在する calpain が自己融解すなわち活性化するのが確認された。

(4) 以上より、MNMS 発症におけるカルパインの関与が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、虚血再灌流傷害の一種である myoneuropathic metabolic syndrome (MNMS) の動物モデルを確立するとともに、本病態発症におけるカルパイン (カルシウム依存性中性プロテアーゼ) の関与、ひいてはその治療の可能性を検討したものである。

家兎を用いて作製した MNMS モデルは、血圧の低下・ミオグロビン尿の検出・plasma-NAG 値の上昇などが再現性高く出現し、実際の臨床病態に即したものである。また、その発症にカルパインが関与していることを、骨格筋を用いた SDS-蛋白電気泳動及びカルパイン抗体を用いた免疫電気泳動により明らかにするとともに、カルパインに特異的な膜透過性阻害剤であるカルペプチンを投与することにより、上記症状が消失することを示した。

これらの知見は、現在なおその成因ならびに治療法が明らかでない MNMS 発症の解明に寄与するものであり、学位に値すると考える。