

Title	In Vivo Transfer of a $\beta$ 2-Adrenergic Receptor Gene Into the Pressure-Overloaded Rat Heart Enhances Cardiac Response to $\beta$ -Adrenergic Agonist
Author(s)	川平, 洋一
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42782">https://hdl.handle.net/11094/42782</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">&lt;a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;</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">&lt;/a&gt;</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	川 平 洋 一
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15758 号
学位授与年月日	平成12年10月31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	In Vivo Transfer of a $\beta$ 2-Adrenergic Receptor Gene Into the Pressure-Overloaded Rat Heart Enhances Cardiac Response to $\beta$ -Adrenergic Agonist ( $\beta$ 2-Adrenergic Receptor 遺伝子導入による圧負荷ラット心の心機能の増強効果についての検討)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉  (副査) 教授 堀 正二 教授 荻原 俊男

### 論文内容の要旨

【目的】重症心不全は、循環器領域における外科的内科的疾患の終末像であり、心移植や心室補助装置の装着以外に救命することは難しい。しかしながら、これらの治療は未だ問題が多く、重症心不全に対する治療は未だ充分とはいえない。心不全の病態把握、及び、機序解明の基礎的研究をもとにした新しい治療法の開発が臨まれる。

心筋の収縮において重要な役割を果たしている  $\beta$ -adrenergic receptor ( $\beta$ AR) system は、 $\beta$ AR 作動薬が  $\beta$ AR に結合することにより、細胞内 Ca 濃度が上昇し、興奮-収縮連関が生じる。不全心では、 $\beta$ AR 密度が低下し、心機能低下が助長される。この  $\beta$ AR を心筋に in-vivo 遺伝子導入し、 $\beta$ AR 密度を増加させることにより心機能が増強するならば、不全心に対する遺伝子導入法を用いた新しい治療法の可能性が示唆されると思われる。そこで、 $\beta$ 2-adrenergic receptor ( $\beta$ 2AR) 遺伝子を圧負荷ラット心に導入し、心機能を検討した。

【方法ならびに成績】150g の SD ラットの腹部大動脈を絞扼し、圧負荷ラット心を作成した。絞扼5週間後、収縮期血圧、および、心重量、左室重量を測定した。また、iodo-cyanopindolol を用いて  $\beta$ AR 密度を定量し、control と比較した。次に、絞扼5週間後の圧負荷ラット心に human  $\beta$ 2AR 遺伝子を含有した、または、有しない vector を、HVJ リポゾーム法を用いて、導入した ( $\beta$ AR 群および Control 群)。導入後、心を同種同系ラットの腹部に移植し、再灌流した。4日後に移植心を摘出し、特異抗体を用いた免疫染色による蛋白の同定、 $\beta$ AR 密度の定量、および、Langendorff 灌流回路 (non-working model) を用いた心機能評価を行った。

【結果】A. 圧負荷ラット心と time-matched control の比較 1. ラットの体重は両群に有意差を認めなかったが、圧負荷ラット心の収縮期血圧、心重量、左室重量は time-matched control に比し、有意に高値であり、圧負荷ラット心の  $\beta$ AR 密度は有意に低値であった ( $p=0.01$ ,  $22 \pm 5$  vs  $134 \pm 5$  pg/mg protein)。B.  $\beta$ 2AR 遺伝子導入ラット心と非導入ラット心の比較 1. human  $\beta$ 2AR の免疫染色では、Control 群の心筋細胞は染色されなかったが、 $\beta$ AR 群の心筋細胞は細胞膜を中心に、赤色に染色された。2.  $\beta$ AR 群の  $\beta$ AR 密度は、Control 群に比し、有意に高値であった ( $p<0.01$ ,  $140 \pm 35$  vs  $24 \pm 3$  pg/mg protein)。3. Langendorf 回路を用いた心機能の評価では、isoproterenol (ISP) の投与前の心拍数、左室圧 (DP)、単位時間当たりの左室圧の変化の最高値と最低値 (max dP/dt, min dP/dt) は両群で有意差を認めなかった。しかし、ISP 投与後には  $\beta$ AR 群の DP、maxdP/dt および min dP/dt は Control 群のそれらより、有意に高値を示し (DP;  $p<0.05$ ,  $260 \pm 20$  vs  $230 \pm 10$  mmHg, max dP/dt ;  $p<0.05$ ,  $5500 \pm 300$  vs  $4500 \pm 300$  mmHg/sec)、 $\beta$ AR 群の min dP/dt は Control 群より、有意に低値を示した ( $p$

<0.05、 $-4500 \pm 300$  vs  $-3300 \pm 200$  mmHg/sec)。

【総括】 1. 不全心に対する遺伝子導入法を用いた新しい治療法を確立する目的で、 $\beta 2AR$  を遺伝子導入した圧負荷ラットの心機能を検討した。2.  $\beta 2AR$  遺伝子を導入した圧負荷ラット心では導入しなかった心に比し、心筋細胞膜は免疫染色で染色され、かつ、有意に $\beta AR$  密度が上昇した。3.  $\beta ARcDNA$  を遺伝子導入したラット心では、isoproterenol に対する左室の反応性が向上した。4. 以上より、本研究は不全心への $\beta 2AR$  遺伝子導入の効果を示唆するものであり、今後、重症心不全に対する新しい治療手段と成りうると考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

心筋収縮において重要な役割を果たしている $\beta$ -adrenergic receptor ( $\beta AR$ ) system は、 $\beta AR$  作動薬が $\beta AR$  に結合することにより、細胞内 Ca 濃度が上昇し、興奮-収縮連関が生じる。不全心では、血中カテコラミンの増加やレニン-アンギオテンシン系の活性化など神経体液性因子の変化や、心筋細胞での酸素需要の増大および心肥大などと同様に、 $\beta AR$  system の変化が生じており、 $\beta AR$  密度の低下 (down regulation)、抑制的 G 蛋白の活性上昇、 $\beta AR$  kinase の活性上昇などが認められ、より心不全を悪化させる原因となっている。心不全に対する治療法として、 $\beta AR$  の down regulation を改善させることが考えられるが、具体的にはほとんど試みられていなかった。

本論文では、この $\beta AR$  の down regulation を正常化する方法として遺伝子導入に着目して実験を行った。 $\beta$ -adrenergic receptor の down regulation を伴った圧負荷ラット心に、 $\beta 2$ -adrenergic receptor 遺伝子を in-vivo 導入し (導入群)、遺伝子を導入しなかった圧負荷ラット心 (非導入群) と、蛋白発現の有無と心機能の変化について比較検討している。

その結果、導入群では $\beta 2$ -adrenergic receptor 蛋白が心筋細胞膜を中心に強く染色され、蛋白密度は非導入群に比し約 6 倍の高値となっていた。更に、adrenergic receptor agonist である isoproterenol に対し、心筋の反応性が有意に向上していた。

本研究は $\beta$ -adrenergic receptor 密度の低下した不全心に対して、遺伝子導入法を用いた新しい治療法の可能性を示唆するものであり、学位に値するものとする。