

生気候学部門

Department of Bioclimatology and Medicine

当部門は循環器系の難治患者を対象として、環境因子、遺伝因子の両面から研究を行っている。そのために高血圧、心筋梗塞、不整脈、心筋症、突然死などの心血管系異常について、臨床、基礎の両面から病因、診断、治療、予後について検討を続けている。臨床循環器的研究では、ホルターを用いた生体リズムからみた循環器疾患の解明を主として行い、基礎循環器的研究では、心臓発生のメカニズム、心筋梗塞における心臓のリモデリング、心肥大のメカニズム、動脈硬化の成因および予防に関する研究を行っている。人事面では平成9年7月には当部門の教授に九州大学医学部循環器内科の竹下彰教授が併任された。平成9年6月には野崎雅彦助手が九大第一内科に配置転換となった。平成10年3月には衛藤弘寿が退職した。一方、平成9年10月より九大循環器内科より安藤洋志が助手として、大村浩之医師が臨床研修医として入局した。現在8名の医局員と1名の研究生が日夜診療と研究に励んでいる。

基礎的研究

A. 心房および筋小胞体の分子生物学的研究（松井寛輔，矢野健一）

a. 心房における nebulin mRNA の発現

nebulin は actin 分子を thin filament 上に配列させるための分子定規として働く蛋白である。骨格筋にのみ存在が認められているが、mRNA differential display 法を用いて心房特異的に発現する遺伝子を抽出していたところ、nebulin RNA は心房に発現しているが心室には殆ど発現していないことが判った。胎児期には少なかった nebulin RNA は、生後の心房で強く発現していた。また、圧負荷肥大心の左房でもその発現量は増加した。以上より、nebulin は心房特有の機能に関与していると考えられた。

b. Translation initiation factor-4A 類似蛋白質の解析

rat を用いて心房特異的な遺伝子を抽出するために mRNA differential display を実施していたところ translation initiation factor-4A (eIF-4A) と核酸配列が類似した遺伝子 V188 を抽出した。この遺伝子の RNA 発現を RT-PCR で観察すると、すべての臓器に認められ、心臓においても胎生期から adult まで同様に発現していた。5'RACE 法により cDNA の5'側を抽出したところ、この遺伝子の5'側は eIF-4A と異なる未知の遺伝子であった。現在、3'RACE により cDNA full length の抽出を行っている。

c. Rat cardiac triadin cDNA の cloning

triadin は筋小胞体蛋白質であり、Ca 結合蛋白質 calsequestrin と Ca release channel である ryanodine receptor に結合する。rabbit triadin cDNA を probe として rat heart cDNA library を screening した。核酸配列より rabbit cardiac triadin と高い相同性を有した cDNA を 2 つ得た。Northern blot でも triadin は 2 つの band が認められた。圧負荷肥大心を用いた観察で、圧負荷により ryanodine receptor の mRNA は減少したが calsequestrin と triadin の mRNA は変化しなかった。calsequestrin と同様に cardiac triadin は圧負荷に対し安定した発現が保たれており、肥大心における心機能の低下には関与していないと考えられた。

d. 心筋小胞体 calsequestrin 遺伝子の構造

calsequestrin は心筋小胞体と骨格筋小胞体の終末槽に局在する主要な Ca 結合蛋白である。心筋と白筋の isoform は 2 個の異なる遺伝子の産物である。白筋 calsequestrin 遺伝子は白筋のみに発現するが、心筋 calsequestrin 遺伝子は主に心筋で、一部赤筋で発現する。ウサギ心筋 calsequestrin 遺伝子の構造を明らかにした。現在この遺伝子のプロモーター領域と 5' 調節領域を詳細に分析している。更には心筋において特異的に発現を支配する遺伝子をクローニングし詳細に分析する計画である。

B. 心筋障害の発生機構に関する研究（矢野健一，畑 知二，牧野直樹）

a. 心筋梗塞急性期の Matrix Metalloproteinase (MMP) の役割

心筋梗塞の心筋再構築における細胞間質の変化を急性期と慢性期に分けて検討した。梗塞後 48 時間以内では、心筋内コラーゲン量は減少しこのときコラーゲン分解酵素の活性がみられるが、特に好中球から分泌される MMP 2 や MMP 9 の関与を明らかにした。この変化は臨床での梗塞後の心拡大や心破裂に関与していると推測される。一方、慢性期には間質の心筋内コラーゲン量は増加し心筋は再構築される。この際、コラーゲン分解酵素の抑制する作用やコラーゲンの合成能の亢進などが考えられている。また、フィブロネクチンは梗塞後は強く発現するが、心筋線維化の進行に従い低下する。さらには、アンジオテンシンの受容体拮抗薬は上記の MMP 活性を低下する作用が見られた。

b. 高血圧の発症とレニン-アンジオテンシン系

高血圧の発症におけるレニン-アンジオテンシン系の役割についてのおおきの研究がされているが、我々は自然発症高血圧ラット (SHR) の降圧効果と心筋の肥大退縮効果についてアンジオテンシンの受容体拮抗薬のロサルタンを用いて行った。その結果、降圧に伴って間質の心筋内コラーゲン量は低下するが心筋細胞肥大の退縮は一部のみであり、完全には正常化しないことを報告した。更に、肝で主に合成されるアンジオテンシノーゲンについてそのアンチセ

ンスを (asialoglycoprotein-poly(L)lysine ODNs complex として) 尾静脈より投与した。投与後翌日より降圧効果が見られ、血中アンジオテンシンⅡの濃度も低下し、さらにはアンジオテンシノーゲンの mRNA の低下も見られた。この現象は投与後 5 日まで認めた。従って、高血圧の発症にはアンジオテンシノーゲンが重要な役割を担っていると考えられた。現在、SHR の降圧に及ぼす慢性効果を検討しアンジオテンシノーゲンの心肥大や血管の再構築に及ぼす役割について研究を行っている。

C. 動脈硬化の成因・治療に関する研究 (菅野公浩, 澤田正二郎, 牧野直樹)

a. 血管リモデリングとレニン-アンジオテンシン系

SHR において、ACE 阻害剤及び AT1, AT2拮抗剤の血管リモデリングに及ぼす効果について検討した。AT1拮抗剤は動脈のコラゲン含量を完全に抑制するが、中膜平滑筋の肥厚は抑制しなかった。一方、AT2拮抗剤は動脈のコラゲン含量を抑制しないが、中膜平滑筋の肥厚は抑制した。その他では、SHR において、アンジオテンシノーゲンのアンチセンス投与の血管リモデリングに及ぼす効果について検討している。

b. コレステロールエステル転送蛋白(CETP)に対するアンチセンスの効果

CETP は主として肝で合成されるため、CETP のアンチセンスを asialoglycoprotein-poly(L)lysine ODNs complex として、耳静脈より投与した。asialoglycoprotein-poly(L)lysine ODNs complex は血清の CETP 活性及び LDL コレステロールを低下させ、HDL コレステロールを上昇させる事を報告した。これらの CETP のアンチセンスを asialoglycoprotein-poly(L)lysine ODNs complex として、慢性的に投与すると、動脈硬化が抑制されることが明らかになった。また、培養肝細胞において、CETP のアンチセンスを asialoglycoprotein-poly(L)lysine ODNs complex として投与し、nascent HDL 産生に及ぼす影響を検討している。

D. 心微小血管内皮細胞の病態生理 (安藤洋志)

心微小環境の血管異常が心臓の様々な病態において重要な役割を演じている事が知られてきている。我々は、豚の心臓微小血管内皮細胞の単離培養系を確立した。この課程で、心臓微小血管内皮細胞はいくつかの点で、大血管由来内皮細胞と性質を異にすることが明らかとなった。即ち、心臓微小血管内皮細胞のストレスファイバーには、 α -smooth muscle actin が存在する。心臓微小血管内皮細胞に存在する eNOS の性質は大血管由来内皮細胞から得られた eNOS の基本的性質といくつかの点で異なっていた (酵素活性におけるカルシウム依存性の有無、eNOS 発現と細胞周期との関係等)。現在、これらの点を詳細に検討している。また、心筋虚血耐性獲得に重要な副側血行路の発達のメカニズムをこの細胞を用いて検討していく予定である。

臨床的研究（平山祐義，矢野健一，畑 知二，牧野直樹）

A. ホルター心電図による自律神経機能の評価

この方法は心拍変動により時系列解析と周波数分析を行う方法であり，心不全患者は自律神経機能が障害され，特に，副交感および交感神経活動の低下が示唆された．この現象はアンギオテンシン変換酵素阻害剤の投与で上記の変化が改善する傾向を認めた．また，心室頻拍などの重症不整脈の出現時期と自律神経機能の関係を心拍変動分析で行った．

1997年度気候内科業績

原著論文

1. Sugano, M., Makino, N. and Yanaga, T. (1997).
Effects of hepatic HDL-related mRNAs on plasma prebeta HDL in cholesterol-fed rabbits. *Artery*. 22, 182-205.
2. Sugano, M., Makino, N. and Yanaga, T. (1997).
Effect of dietary omega-3 eicosapentaenoic acid supplements on cholesteryl ester transfer from HDL in cholesterol-fed rabbits.
Biochimica et Biophysica Acta. 1346, 17-24.
3. Makino, N., Sugano, M., Otsuka, S. and Hata, T. (1997).
Molecular mechanism of angiotensin II type I and type II receptors in cardiac hypertrophy of spontaneously hypertensive rats.
Hypertension. 30, 796-802.
4. Sugano, M., Makino, N., Sawada, S., Otsuka, S., Watanabe, M., Okamoto, H., Kamada, M. and Mizushima, A. (1998).
Effect of antisense oligodeoxynucleotides against cholesteryl ester transfer protein on the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits.
J. Biol. Chem. 273, 5033-5036.
5. Makino, N., Sugano, M., Otsuka, S. and Sawada, S. (1998).
Intravenous injection with antisense oligodeoxynucleotides against angiotensinogen decreases blood pressure in spontaneously hypertensive rats.
Hypertension. 31, 1166-1170.
6. Otsuka, S., Sugano, M., Makino, N., Sawada, S., Hata, T. and Niho, Y.
Interaction of mRNAs for angiotensin II type 1 and type 2 receptors to vascular remodelling in spontaneously hypertensive rats.
Hypertension. 32, 467-472.

7. 阿部信行, 矢野健一, 牧野直樹 (1997).

内科医院における糖尿病の死亡例に関する臨床的検討－突然死例と非突然死例の比較－.
糖尿病 40, 575-581.

8. Schaper, J., Scholz, D., Devaux, B., Schonburg, M., Kostin, S., Winkler, B. and Ando, H. (1997).

The morphology and structure of the coronary microvasculature.

In "Coronary microcirculation during ischemia and reperfusion." Haunso, S., Aldershvile, J. and Svendsen, JH. Munksgaard, Copenhagen, pages 17-29.

9. Vogt, A, M., Ando, H., Arras, M. and Elsaesser, A. (1998).

Lack of adenosine causes myocardial refractoriness.

J Am Coll Cardiol. 31, 1134-1141.

10. Yano, K., Makino, N., Hirayama, H., Hatakenaka, M., Matsui, H., Soeda, T., Hadama, T.

Penetrating atherosclerotic ulcer at the proximal aorta complicated with cardiac tamponade and aortic valve regurgitation.

Jap. Circulation J. (in press)

著 書

1. Makino, N., Masutomo, K., Otsuka, S., Nozaki, M., Matsui, H. and Hata, T.

Losartan pretreatment inhibits an early activation of matrix metalloproteinase in acute myocardial infarction.

Angiotensin II receptor blockade: Physiological and clinical implications. (Edited by Dhalla, Zahradka and Beamish, Kluwer) Academic Publishers (in press).

総 説

1. 牧野直樹 (分担執筆).

コラーゲンの Isoform と mRNA の発現.

続心筋代謝実験法, 六法出版社 (出版予定).

学会発表

国際学会

1. Otsuka, S., Makino, N. and Sugano, M. (1997, 7/23-27).
Intravenous injection with antisense oligodeoxynucleotides against angiotensinogen inhibits angiotensin II level and decreases blood pressure in SHR.
International society for heart research (American Section), Vancouver B.C. Canada.
2. Sugano, M., Sawada, S., Makino, N., Otsuka, S., Watanabe, M., Okamoto, H., Kamada, M. and Mizushima, A. (1997).
The effect of antisense oligodeoxynucleotides against cholesteryl ester transfer protein on the development of atherosclerosis.
The 70th Scientific Sessions of American Heart Association, Orlando, USA.

国内学会

1. 菅野公浩, 澤田正二郎, 牧野直樹, 大塚祥司, 畑 知二 (1997).
動脈硬化の進展に及ぼすコレステロールエステル転換酵素の antisense oligodeoxynucleotide 投与の効果.
第61回日本循環器学会学術集会, 東京.
2. 澤田正二郎, 菅野公浩, 牧野直樹, 大塚祥司, 畑 知二 (1997).
血清 HDL の形態に及ぼすコレステロールエステル転換酵素の antisense oligodeoxynucleotide 投与の影響.
第61回日本循環器学会学術集会, 東京.
3. 牧野直樹, 大塚祥司, 菅野公浩, 澤田正二郎 (1997).
Intravenous injection with antisense oligodeoxynucleotides against angiotensinogen inhibits ang II level and decreases blood pressure in SHR.
第61回日本循環器学会学術集会 (International session), 東京.
4. 大塚祥司, 菅野公浩, 澤田正二郎, 渡辺美葉, 牧野直樹 (1997).
高血圧自然発症ラットにおける動脈内コラーゲン増加に対するレニン-アンギオテンシン拮抗剤の効果.
第29回日本動脈硬化学会総会, 東京.
5. 澤田正二郎, 菅野公浩, 渡辺美葉, 大塚祥司, 牧野直樹 (1997).
肝細胞培養における Apo A-I 産生に与えるコレステロールエステル転換酵素アンチセンス投与の影響.
第29回日本動脈硬化学会総会, 東京.

6. 牧野直樹, 畑 知二, 大塚祥司, 舩友一洋, 菅野公浩 (1997).
心筋梗塞急性期の Collgen の合成-分解におけるアンギオテンシン II 受容体拮抗薬の効果.
第一回心不全学会, 10月, 京都.
7. 大塚祥司, 菅野公浩, 澤田正二郎, 渡辺美葉, 牧野直樹 (1997).
高血圧自然発症ラットにおける血管リモデリングに対するレニン-アンギオテンシン拮抗剤の効果.
平成9年度日本動脈硬化学会冬季大会, 広島.
8. 澤田正二郎, 菅野公浩, 渡辺美葉, 大塚祥司, 牧野直樹 (1997).
血清コレステロール及び動脈硬化進展に対するコレステロールエステル転送酵素の antisense oligodeoxynucleotide 投与の効果.
平成9年度日本動脈硬化学会冬季大会, 広島.
9. 大塚祥司, 菅野公浩, 牧野直樹, 澤田正二郎, 畑 知二 (1998).
高血圧自然発症ラットにおける血管リモデリングに対するアンギオテンシン II Type 1 及び Type 2拮抗剤の効果.
第62回日本循環器学会学術集会, 東京.
10. 菅野公浩, 牧野直樹, 澤田正二郎, 大塚祥司, 畑 知二 (1998).
血管リモデリングに及ぼすアンギオテンシノーゲンの antisense oligodeoxynucleotide 投与の効果.
第62回日本循環器学会学術集会, 東京.
11. 松井寛輔, 牧野直樹 (1998).
心臓における Translation の部位特異性.
第62回日本循環器学会学術集会, 東京.

地方会

1. 衛藤弘寿, 菅野公浩, 野崎雅彦, 平山祐義, 松井寛輔, 畑 知二, 牧野直樹 (1997/6).
右室二腔症を伴った Ebstein 奇形の一症例.
日本循環器学会九州地方会, 久留米市.
2. 平山祐義, 菅野公浩, 野崎雅彦, 衛藤弘寿, 松井寛輔, 畑 知二, 牧野直樹 (1997/12).
褐色細胞種の二例-高血圧の有無による心拍変動解析-.
日本循環器学会九州地方会, 福岡市.

研究会・その他

1. 畑 知二, 牧野直樹, 大塚祥司, 舩友一洋, 菅野公浩 (1998).
心筋梗塞急性期の Collagen の合成－分解におけるアンギオテンシン II 受容体拮抗薬の効果.
第20回心筋代謝研究会, 東京.
2. 菅野公浩, 澤田正二郎, 牧野直樹 (1998).
血清コレステロール及び動脈硬化に対する CETP antisense の効果 (追加発言).
Kyushu Lipid Club '98, 沖縄.