

の変化について検討した。

結果として、塩酸トラゾリン負荷において負荷前と負荷後5分、10分のd/a値に有意差を認めた ( $p = 0.0469$ ,  $p = 0.0190$ )。酸素負荷においては、負荷後のd/a値の方が低値ではあったが、有意差は認められなかった。

d/aは血管の壁緊張、硬化の指標であると考えられており、トラゾリン負荷による、末梢血管拡張作用を示していると考えられる。d/aの解析は、血管拡張薬の効果判定に有用であると思われる。症例数が少なく、今後継続的調査が必要と考える。

### 3 健常ラットと心不全モデルラットにおける b-遮断薬の作用とノルエピネフリンの血圧 調節の寄与について

阿部 佑一・渡辺 賢一・馬 梅蓄

Mir. I.I. Wahed・G. Narasimman

白井 健・齊藤 由紀・平林 賢一

文 娟・佐藤 眞治\*

新潟薬科大学薬学部臨床薬理学

同 薬剤学\*

【目的】過剰のノルエピネフリン (NE) は心筋細胞の肥大や障害を誘発することが知られており、心不全病態の憎悪に深く関与すると考えられている。我々は本研究会でb-遮断薬のカルベジロールが心不全モデルラットの心機能を改善することを報告した。今回、交感神経系の活性化によって遊離されたNEの血圧調節の寄与を、心不全ラットと健常ラットで比較検討を行なった。

【方法】9週齢雄 Lewis rat にミオシンで感作し、自己免疫性心筋炎発症6週間後の心不全ラットと健常ラットを用いた。NE投与後の血圧とNE血中濃度の測定、カルベジロール投与後の血圧、NE血中濃度の測定 (HPLC法) を行った。NEは24.8ng/分/300g rat ~ 500ng/分/300g rat を、カンベジロールは2.1 $\mu$ g/分/300g rat ~ 42.3 $\mu$ g/分/300g rat を頸静脈から段階的に投与速度を上げ、5段階投与で行なった (1段階: 20分, 計100分)。血圧と血中濃度のデータは、それぞれ変動率 (%) に換算して、心不全群と健常群で比較検討

した。

【結果】健常群では、NE投与にて最高40%血圧上昇がおき、それに伴い心拍数は、-30%低下した。しかし、心不全群では約20%の血圧上昇、-10%の心拍数低下にとどまった。カルベジロール投与では、血圧低下は両群で、ほとんど差はなく-20%から-30%の低下、心拍数は心不全群で-25%の低下、健常群で-15%低下した。

NE血中濃度は心不全群で高値であったが、両群共にNE投与速度依存的に上昇して投与終了とともに急激に減少した。

【総括】健常群ではNE投与で血圧の上昇と心拍数の低下が見られたが、心不全群では反応が低下していた。

## III. テーマ演題

### 1 ラット自己免疫性心筋炎における心筋/非心筋細胞の遺伝子発現

吉田 剛・塙 晴雄・鳥羽 健\*

渡辺 律雄・小村 悟・阿部 暁

林 学 保坂 幸男・渡辺 裕

柏村 健・太刀川 仁・大倉 裕二

加藤 公則・小玉 誠・相澤 義房

新潟大学大学院医歯学総合研究科

循環器分野

同 血液分野\*

心筋炎の後、心臓リモデリングが進行すると拡張型心筋症様慢性心不全状態となる。心筋炎における心臓リモデリングでは物理的負荷のほかに、炎症性浸潤細胞やサイトカインなども成因にかかわっていると考えられるがその詳細は明らかになっていない。そこで我々は心臓から心筋細胞、浸潤細胞 (T細胞, マクロファージ), 非心筋非炎症性細胞を分離する方法を確立し、ラット実験的自己免疫性心筋炎における各細胞群の遺伝子発現の特徴について検討を行った。正常ラット, 急性期および慢性期 EAM ラットの各心臓に Langendorff 還流装置でコラゲナーゼを還流し細胞の単離を行い、次いでステンレススチール製の篩を使い心筋

細胞を分離した。残りの非心筋細胞群をビーズ抗体・マグネット細胞分離装置を用いてさらにT細胞、マクロファージ、非心筋非炎症性細胞へ分離した。各検体よりRNAを抽出した後、定量的RT-PCRを行い心筋炎の病態形成に関わると思われる蛋白の発現を遺伝子レベルで検討した。急性期EAMでは心筋細胞の収縮、弛緩をつかさどるカルシウムハンドリング関連蛋白リアノジン受容体、球状筋小胞体Ca-ATPase、カルセクエストリンの減少がみられた。心臓リモデリングに参与しているアンジオテンシン-アルドステロン系については心筋細胞にアルドステロン受容体が強く発現していた。一方、アンジオテンシン変換酵素、アンジオテンシンII type 1受容体は非心筋非炎症性細胞に主に発現が認められ、心筋炎急性期にアルドステロン合成酵素の発現が軽度認められた。またサイトカイン、ケモカインの発現においてはIL-10やMCP-1が非炎症性非心筋細胞より発現しており、おそらく線維芽細胞からの発現によるものと考えた。またEAMの初期にみられるオステオポンチンの発現はマクロファージ、非心筋非炎症性細胞から分泌され、その受容体の1つCD44を持つT細胞及びマクロファージ自身に対し細胞の活性化を促進させていると考えられた。また接着因子としての作用を併せ持つケモカイン、フラクタルカインも心筋細胞から強い発現が認められた。これは、外界からの異物に対する免疫機構を心筋細胞自身が備えている可能性が推測された。これらのことから、心筋細胞と非心筋非炎症性細胞は、互いに密接に関わりながら病変を形成するだけでなく、免疫担当細胞とも密接にクロストークしながら、心筋炎の病態形成に関与するものと考えられた。

## 2 アンデルセン症候群で同定されたKCNJ2-C末端における遺伝子変異の分子生物学的検討

保坂 幸男・塙 晴雄・鷲塚 隆  
池主 雅臣・古嶋 博司・田辺 靖  
山下 文男・吉田 剛・渡部 裕  
小村 悟・杉浦 広隆・廣野 崇  
相澤 義房

新潟大学大学院医歯学総合研究科  
循環器分野

【背景】周期性四肢麻痺・心室性不整脈・形態異常を3徴とするアンデルセン症候群は遺伝性疾患であり、最近、内向き整流カリウムチャンネル(Kir 2.1)をコードするKCNJ2の遺伝子変異が報告された。

【方法と結果】我々はアンデルセン症候群の1症例について臨床的・分子生物学的解析を試み、KCNJ2-C末端に新しい遺伝子変異(G215D)を認めた。心電図ではQT間隔の延長、突出したU波、頻発する心室性期外収縮を認め、心臓電気生理検査にて多形性心室頻拍が誘発された。COS7細胞を用いた全細胞型パッチクランプ法にて変異型単独では電流発現を認めず、野生型との共発現ではDominant negative効果を認めた。野生型と変異型を蛍光蛋白(YFP, CFP)で標識した共焦点蛍光顕微鏡の解析では、野生型と変異型の細胞内輸送、局在に差を認めず、細胞膜領域への発現を認めた。また、野生型と変異型を共発現した細胞膜領域でのFluorescence Resonance Energy Transfer (FRET)の解析では、野生型と変異型が複合体を形成することが示唆された。

【結語】変異型単独では電流発現を認めなかった。変異型は細胞内輸送、局在で野生型と差を認めず、野生型と複合体を形成し、Dominant negative効果を発揮すると考えられた。本症例の遺伝子変異(G215D)はアンデルセン症候群の原因と考えられた。