

氏名 いほり ひろゆき
庵 弘幸

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富医薬博甲第 121 号

学位授与年月日 平成 26 年 3 月 21 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教育部名 富山大学大学院医学薬学教育部 医学領域 博士課程
生命・臨床医学専攻

学位論文題目 **Waon therapy attenuates cardiac hypertrophy and fibrosis
and promotes myocardial capillary growth in hypertensive rats.
(高血圧性肥大心の拡張不全に対する和温療法の効果について)**

論文審査委員

(主査)	教授	芳村	直樹
(副査)	教授	笹原	正清
(副査)	教授	白木	公康
(副査)	教授	足立	雄一
(指導教員)	教授	井上	博

論文内容の要旨

【背景と目的】

左室駆出率が保たれているにもかかわらず心不全病態を呈する拡張不全は、左室駆出率が低下した心不全と同程度に予後は不良である。高齢化社会の到来とともに拡張不全を有する患者数は増加の一途をたどっているが、未だ有効な治療法は確立していない。心筋細胞肥大や間質の線維化などの構造的変化、それに伴う左室の拡張と弛緩の障害が拡張不全を生じる。最近の研究から、拡張不全では心臓を含む全身の炎症と冠微小循環障害の存在が示唆されている。酸化ストレス増大による NO の細胞内シグナル伝達の障害は、冠循環のみならず全身の血管拡張反応を低下し、左室の拡張不全を助長する。また、NO のシグナル伝達の障害は心肥大を促進し、肥大心で生じる毛細血管密度の減少も心機能の低下をもたらすと報告されている。それゆえ NO シグナルの活性化や冠微小循環障害の改善が拡張不全に有効であると考えられる。

高コレステロール血症の治療薬であるスタチンは冠動脈疾患の一次および二次予防に有効であることが多くの大規模臨床試験から明らかになった。スタチンはコレステロールを低下する作用以外に、eNOS 発現を増大し、酸化ストレスや炎症を抑制し、心肥大や血管内皮機能障害を改善することが報告されている。一方、低温ドライサウナを用いた和温療法は、慢性心不全の非薬物療法として日本循環器学会のガイドラインでも推奨されている。和温療法は慢性心不全患者の血管内皮機能や運動耐容能を改善し、eNOS 発現を増大し、心筋肥大や酸化ストレスを抑制することが動物研究において報告されている。そこで、本研究では、食塩感受性ダールラットの拡張不全に対する和温療法の効果およびその機序を明らかにし、これをスタチンによる効果と比較した。

【対象と方法】

7 週齢の食塩感受性ダールラットを正常食塩食群(LS)、8%高食塩食群(HS)、および 8%高食塩食投与下での和温療法 (WT)またはフルバスタチン投与(FL)の 4 群に分類した。和温療法は 1 日 1 回、室温を 39°C に設定した特注の遠赤外線ドライサウナ装置に 15 分間入浴後、34°C で 20 分の保温を行った。9 週齢から WT 群では和温療法を、FL 群ではフルバスタチン(10mg/kg/day)の経口投与を 4 週間行った。それぞれの治療終了後、心臓の形態評価、心臓超音波検査、PCR 法とウェスタンブロット法を用いて遺伝子および蛋白発現を検討した。

【結果】

LS 群以外の 3 群では血圧が著しく上昇したが、3 群間で差はなかった。左室重量は HS 群で増加し、WT はその増加を抑制した ($p < 0.01$)。心エコー法および組織学的検討でも WT は心肥大を抑制し、肥大に関連する心筋の ANP、BNP mRNA 発現を抑制した。WT により心筋の eNOS mRNA 発現は増加傾向を示し、リン酸化 eNOS 蛋白の発現は増加した ($p < 0.01$)。LS 群に比べ HS 群では左室の線維化が進行したが、WT はこの線維化を抑制し ($p < 0.01$)、線維化を促進する心筋 TGF- β 1 および酸化ストレスの指標である p22-phox と GP91-phox の mRNA 発現を有意に抑制した。また、左室の毛細血管密度は LS 群に比べ HS 群で減少したが、WT はその減少を抑制し ($p < 0.01$)、血管新生を促進する心筋の VEGF mRNA 発現を亢進した。

FL の心肥大抑制効果、eNOS 発現、抗酸化ストレスおよび毛細血管密度に及ぼすいずれの効果も WT と同等であり、線維化抑制作用は FL 群が WT 群より大であった。

【考察】

ダールラットに 7 週齢から高食塩食を投与すると、左室の収縮性は保持されるが肥大や線維化を伴った左室拡張不全を呈する。スタチンは NO やエンドセリン、アンジオテンシン系を介し、また Rho 蛋白を介した GTP 活性の抑制など様々な経路から心肥大を抑制し、フリーラジカルの産生抑制などにより線維化も抑制することが知られている。本研究におけるフルバスタチンによる心肥大抑制や線維化抑制は、これまでに報告されているスタチンの効果と一致する。

一方、和温療法は心筋の eNOS を活性化し、ANP や BNP の発現を抑制し、心肥大を抑制した。また、和温療法は酸化ストレスを軽減し、左室の線維化も抑制した。スタチンは血管の新生を促進することが知られているが、和温療法も VEGF 発現を亢進し、左室の血管密度を高めたことから、和温療法にも血管新生を促進する作用があることが示唆された。本研究結果は、フルバスタチンのみならず和温療法も拡張不全に有用であることを示唆しており、臨床においても拡張不全の新たな治療法になり得ると考えられた。しかし、本研究における和温療法は拡張不全の比較的早期からの導入であり、より進行した拡張不全での効果については更なる検討が必要である。

【結論】

和温療法はフルバスタチンと同程度に高血圧性肥大心における心肥大と線維化を改善した。拡張不全の治療法は未だ確立していないが、和温療法はスタチンと同様に拡張不全患者に対する新たな治療法として期待される。

学位論文審査の要旨

〔目的〕

左室駆出率が保たれているにもかかわらず心不全病態を呈する拡張不全は、左室駆出率が低下した心不全と同程度に予後が不良であり、未だ有効な治療法は確立していない。心筋細胞肥大や間質の線維化などの構造的変化、それに伴う左室の拡張と弛緩の障害が拡張不全を生じる。また、NOのシグナル伝達の障害は心肥大を促進し、肥大心で生じる毛細血管密度の減少も心機能の低下をもたらすと報告されている。

近年我が国において、低温ドライサウナを用いた和温療法が、慢性心不全のあらたな非薬物療法として用いられるようになった。和温療法は慢性心不全患者の血管内皮機能や運動耐容能を改善し、eNOS発現を増大し、心筋肥大や酸化ストレスを抑制することが最近の研究において明らかにされつつある。そこで庵弘幸君は、食塩感受性ダールラットの拡張不全に対する和温療法の効果およびその機序を明らかにするため実験的検討を行った。

〔方法〕

7週齢の食塩感受性ダールラットを正常食塩食群(LS)、8%高食塩食群(HS)、および8%高食塩食投与下での和温療法(WT)またはフルバスタチン投与(FL)の4群に分類した。和温療法は1日1回、室温を39°Cに設定した特注の遠赤外線ドライサウナ装置に15分間入浴後、34°Cで20分の保温を行った。9週齢からWT群では和温療法を、FL群ではフルバスタチン(10mg/kg/day)の経口投与を4週間行った。それぞれの治療終了後、心臓の形態評価、心臓超音波検査、定量PCR法とウェスタンブロット法を用いて遺伝子および蛋白発現を検討した。

〔結果〕

LS 群以外の 3 群では血圧が著しく上昇したが、3 群間で差はなかった。左室重量は HS 群で増加し、WT はその増加を抑制した($p<0.01$)。心エコー法および組織学的検討でも WT は心肥大を抑制し、肥大に関連する心筋の ANP、BNP mRNA 発現を抑制した。WT により心筋の eNOS mRNA 発現は増加傾向を示し、リン酸化 eNOS 蛋白の発現は増加した($p<0.01$)。LS 群に比べ HS 群では左室の線維化が進行したが、WT はこの線維化を抑制し($p<0.01$)、線維化を促進する心筋 TGF- β 1 および酸化ストレスの指標である p22-phox と GP91-phox の mRNA 発現を有意に抑制した。また、左室の毛細血管密度は LS 群に比べ HS 群で減少したが、WT はその減少を抑制し($p<0.01$)、血管新生を促進する心筋の VEGF mRNA 発現を亢進した。

FL の心肥大抑制効果、eNOS 発現、抗酸化ストレスおよび毛細血管密度に及ぼすいずれの効果も WT と同等であり、線維化抑制作用は FL 群が WT 群より大であった。

〔総括〕

今回、庵弘幸君は、ダールラットの左室拡張不全モデルに対する和温療法とスタチンの効果を比較検討し、和温療法は心筋 eNOS の活性化と ANP や BNP の発現抑制により心肥大を抑制し、また酸化ストレスの軽減により左室の線維化も抑制すること、その効果がスタチンと同等であること、という 2 つの新知見を見出した。今回得られたこれらの検討結果より、心肥大抑制効果や線維化抑制効果が確認されているスタチンのみならず、和温療法も拡張不全に有用であることが示唆された。

本研究では、和温療法がスタチンと同程度に高血圧性肥大型心における心肥大と線維化を改善させるという事実が明らかになった。本研究成果は、有効な治療法が確立していない拡張不全患者に対して、和温療法が有効な治療手段になりうるという重要な知見を得た点

から高く評価できる。よって本審査委員会は本研究を博士（医学）の学位に十分値するものと結論した。