

心筋症ハムスター心におけるジラゼプの効果

—心機能と病理組織学的変化の経時的, 定量的検討—

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

源 雅 弘

肥大型心筋症 (hypertrophic cardiomyopathy, HCM) は原因不明の疾患であるが, 近年局所の冠血流を調節するアデノシンの欠乏あるいはその受容体の障害ではないかとする Watt の仮説が注目されている. そこでこの仮説の是非について, アデノシン増強作用を有するジラゼプが HCM に有効か否かを検討した. 対象として心筋症ハムスター (Bio 14.6) を用い, 5 週齢の雄の Bio 14.6 を 2 群に分け, 1 群は 5 週齢よりジラゼプ 10mg/kg を連日腹腔内投与を行い, もう 1 群は無処置群とした. また, 対照としてゴールデンハムスター (F1b) を用いた. 3 群とも 10 週齢より 5 週齢毎に 25 週齢まで, 単離乳頭筋収縮試験による心機能と光顕的観察による心筋細胞横径, 間質線維化率を求めた. その結果, ハムスターの体重と心重量は対照ハムスター群に比して, 無処置心筋症ハムスター群とジラゼプ投与心筋症ハムスター群で 10 週齢以後小さく, 体重は無処置群とジラゼプ投与群では差がなかった. 心重量はジラゼプ投与群が無処置群に比し 25 週齢で小さかった. 静止張力は 3 群で差がなかった. 最大発生張力は無処置群, ジラゼプ投与両群とも対照群に比し 20 週齢より小となったが, 25 週齢ではジラゼプ投与群が無処置群より大であった. 収縮機能では最大張力までの到達時間は無処置群とジラゼプ投与群は 20 週齢から延長し, その延長の程度はジラゼプ投与群が小であった. 最大張力発生速度はジラゼプ投与群が無処置群に比し 20 週齢以降でその低下が小であった. 拡張機能では最大張力から 1/2 まで弛緩する時間は 20 週齢からジラゼプ投与群が無処置群より小であった. 最大弛緩速度に到る時間は無処置群は 15 週齢より, ジラゼプ投与群は 20 週齢より延長し, その程度はジラゼプ投与群が小であった. 最大弛緩速度は 15 週齢以降でジラゼプ投与群が無処置群よりその低下度が小であった. 病理組織学的検討では心筋細胞横径と心筋間質線維化率は週齢とともに 3 群とも増大するが, その増加度は無処置群が 1 番大きく, 対照群が 1 番小さく, ジラゼプ投与群がその中間の値をとり, 無処置群より小であった. 以上の結果, 心筋症ハムスターは週齢とともに心機能の悪化, 組織所見の憎悪を認めたが, ジラゼプ投与によりそれらの抑制がみられ, 心筋症ハムスターにおける心筋障害の一因としてアデノシンの障害が関係している可能性が示唆された.

Key words cardiomyopathic syrian hamster, hypertrophic cardiomyopathy, dilazep, adenosine, isolated papillary muscle contraction

ヒト肥大型心筋症 (hypertrophic cardiomyopathy, HCM) の特徴は, 病的には, 心室中隔に代表される左室心筋の異常な肥大と拡張機能障害 (弛緩障害および充満障害) を示し, 組織学的には, 心筋細胞の肥大, 間質の線維化, 心筋の錯綜配列である. この形態および機能に関しては, 以前より数多くの報告があり, 最近では遺伝子工学的な研究^{1)~4)}も行われているが, その成因については現在なお不明である. Ca 拮抗薬であるベラパミルは 1970 年代から HCM に対して使用され, 左室拡張期弛緩および充満障害の改善が認められている⁵⁾. 同じ Ca 拮抗薬であるニフェジピン⁶⁾ やジルチアゼム⁷⁾ でも左室弛緩性と充満障害を改善するという報告があるが, いずれも対症療法にすぎず, 確立された治療法はいまだない.

Watt¹⁰⁾ は, 肥大型心筋症の原因は, 局所の冠血流の調節に関与するアデノシン自身またはその受容体の障害に起因するので

はないかとする仮説を発表した. その根拠として Watt は次の 5 点をあげている. 1) 過剰のカテコラミンは心肥大を形成するが, アデノシンは抗アドレナリン作用によりこれと拮抗する. 2) アデノシン拮抗薬のカフェインによる左室拡張機能障害は HCM の病態と類似する. カフェインは心筋細胞内での Ca に対する収縮蛋白の感受性を増すと考えられ, Ca 拮抗薬のベラパミルは HCM の左室拡張障害を改善する. 3) HCM の不整脈はアデノシンで改善され, アデノシンの拮抗薬であるテオフィリンで増悪する. 4) HCM 患者の狭心症様症状は冠血流の相対的不足によると考えられているが, 著明な冠血流増加作用のあるアデノシンはそれを改善する. 5) HCM の心筋間質の線維化は, アデノシン拮抗薬のカフェインの長期投与でも形成される.

そこで今回著者は, アデノシン増強作用を有するジラゼプを

平成 5 年 11 月 22 日受付, 平成 5 年 12 月 21 日受理

Abbreviations: DT, developed tension; HCM, hypertrophic cardiomyopathy; Lmax, muscle length associated with a maximum developed force; RT, resting tension; +T', peak rate of tension rise; -T', peak rate of tension fall; TPN, time from peak tension to peak rate of tension fall; TPT, time to peak tension; T1/2R, time to 1/2 relaxation

用いて、この仮説の是非について検討した。

対象および方法

I. 対象

対象として心筋症ハムスター (Bio 14.6) (オリエンタル酵母, 愛知) を用いた。5週齢の雄の Bio 14.6 を2群にわけ、1群は無処置とし、もう1群には5週齢よりジラゼブ 10mg/kg を日曜を除く連日1日1回腹腔内注射を行った。また、心筋症でない対照ハムスターとして、ゴールデンハムスター (F1b) を用い、5週齢より飼育した。3群とも飼料は標準固形飼料 (CRF1) (日本チャールスリバー, 神奈川) を用い、水は自由に与えた。

3群とも10週齢より、5週齢毎に25週齢まで、以下の実験のごとく心機能および組織学的検討をおこなった。

II. 単離乳頭筋摘出標本実験

各群、各週齢のハムスターを体重測定後、50mg/kg のペントバルビタールの腹腔内投与により麻酔し、できるだけ速やかに胸骨正中切開により開胸した。心臓摘出後、温めた灌流液を満たしたシャーレ内に移し、ピンで固定した。左室前面を心基部より心尖部に向け切開し、乳頭筋を十分分離し、前、後乳頭筋のうち大きい方を実験に用いた。乳頭筋はまず心基部側で5号絹糸により結紮した後、僧帽弁より切離し、続いて心尖部末端を左室より切離した。切離した単離乳頭筋は速やかに、混合ガスを十分通気した灌流槽内につり下げ、下端はマイクロセルピンで固定した。灌流槽は常時36℃になるように調節した。灌流液は Klebs 液 (NaCl 120mM, KCl 5.9mM, NaH₂PO₄ 1.26

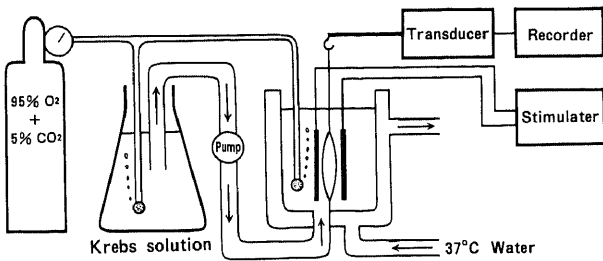


Fig. 1. Schema of instruments for measurement of isometric contraction. Isolated papillary muscle was suspended in the bath maintained with 95% O₂ and 5% CO₂ at 36°C. Contraction of the muscle stimulated by stimulator was recorded.

mM, CaCl₂ 2.5mM, MgCl₂ 1.2mM, グルコース 5.55mM) を用い、混合ガス (O₂ 95%, CO₂ 5%) で十分通気した。

灌流槽内につり下げられた単離乳頭筋を等尺性張力トランスデューサー TB-651T (日本光電, 東京) に接続し、固定された微動マニピレーターで、乳頭筋の静止張力が 1g になるように調節した。乳頭筋の両側には白金電極 (平行板) を置き、電極の先端を電気刺激装置 SEN-3301 (日本光電) に接続した (図1)。電気刺激装置からは幅 5m 秒の矩形波を出力し、徐々に電圧を下げ、乳頭筋が収縮しなくなる直前の最大出力 (閾値) を求めた。その刺激閾値の120%の電圧で乳頭筋を 10m 秒 (0.1Hz) の刺激頻度で約1時間収縮させ、安定するのを待って以下の実験を行った。

まず微動マニピレーターを上下させ、乳頭筋の発生張力が最大になる部位を決定し、レコーダーに記録した。記録用紙は

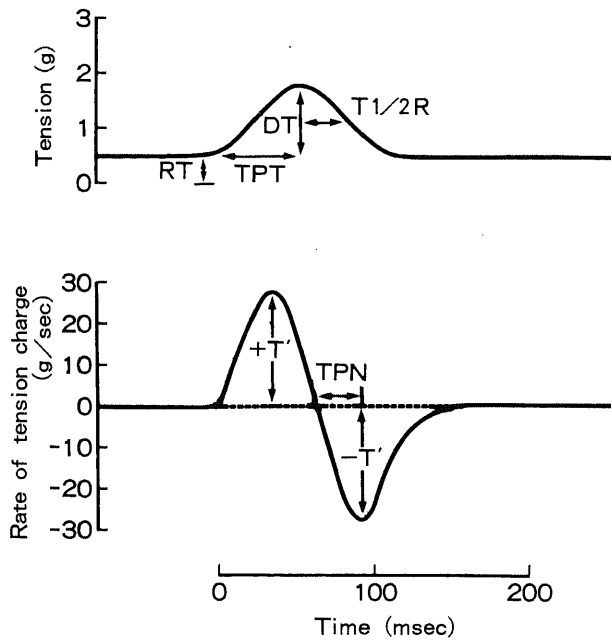


Fig. 2. Typical isometric contraction patterns from isolated hamster papillary muscle. Tensions and rates of tension change are plotted against time. RT, resting tension; DT, developed tension; TPT, time to peak tension; T1/2R, time to 1/2 relaxation (50%DT); +T', peak rate of tension rise; -T', peak rate of tension fall; TPN, time from peak tension to peak rate of tension fall.

Table 1. General features of golden, syrian and dilazep-treated syrian hamsters

Age (weeks)	BW (g)			HW (g)			HW/BW (%)		
	C	B	D	C	B	D	C	B	D
10	105 ± 7	93 ± 8	90 ± 5	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.04	0.34 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.38 ± 0.04
15	140 ± 19	99 ± 13	95 ± 7	0.44 ± 0.05	0.37 ± 0.04	0.36 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.37 ± 0.03	0.39 ± 0.04
20	153 ± 20	120 ± 8	121 ± 6	0.46 ± 0.06	0.49 ± 0.07	0.46 ± 0.05	0.30 ± 0.04	0.40 ± 0.05	0.38 ± 0.05
25	149 ± 17	118 ± 10	123 ± 9	0.05 ± 0.06	0.55 ± 0.04	0.49** ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.47 ± 0.02	0.40*** ± 0.01

C, golden hamster; B, syrian hamster (Bio 14.6); D, dilazep-treated syrian hamster; BW, body weight; HW, heart weight; p values refer to comparisons between group B and group D. *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001. Values are expressed as the mean±S.D.

200mm/秒の速さで、収縮曲線は少なくとも5収縮以上を記録した。収縮曲線には同時に、その1次微分曲線も記録した。次に、収縮実験を終えた乳頭筋を灌流槽内より取り出し、最大張力を発生する張力と同じ重さの分銅を、乳頭筋につり下げ、乳頭筋筋長 (muscle length associated with a maximum developed force, Lmax) を測定した。最後に乳頭筋および心臓全体の重量を測定し、実験を終了した。

記録された収縮曲線およびその1次微分曲線の連続5収縮について次の項目を計測し、その平均値を求めた (図2)。収縮曲線からは、最大発生張力 (developed tension, DT) とその最大発生張力が得られる静止張力 (resting tension, RT), 最大張力に達するまでの時間 (time to peak tension, TPT), 最大張力からその1/2の張力にまで弛緩するまでの時間 (time to 1/2 relaxation, T1/2R) を計測した。1次微分曲線からは、最大張力発生速度 (peak rate of tension rise, +T'), 最大弛緩速度 (peak rate of tension fall, -T'), 最大収縮から最大弛緩速度に至るまでの時間 (time from peak tension to peak rate of tension fall, TPN) を計測した。

III. 組織学的検討

乳頭筋を切離した心臓は速やかに10%ホルマリン液で固定した。固定した心臓はパラフィンで包埋した後、左室の長軸方向に4μm間隔で薄切し、染色した。染色はヘマトキシリン-エオジン染色およびマロニー-アザン染色を行った。ヘマトキシリン-エオジン染色標本からは細胞横径を、マロニー-アザン染色標本からは心筋間質線維化率を求めた。細胞横径は400倍の視野の光学顕微鏡下で、100個以上の心筋線維の横径を測定し、その平均値を求めた。間質線維化率はポイントカウンティング法¹⁴⁾で計測した。すなわち400倍の視野で10μm角のグリッドを用い、各グリッドの交点于心筋細胞か、心筋間質線維かを1000ポイント以上判読し、間質線維の全視野に対する割合 (%) で示した。

IV. 統計処理

データの比較検討には二元配置分散分析を行い、検定は Student t を用い、危険率 P < 0.05 を有意な変化とした。成績はすべて平均値 ± 1 標準偏差で示した。

成 績

1. 体重および心重量の変化 (図1)

ハムスターの体重は3群とも週齢とともに増加したが、対照ハムスター群 (C群) に比して、無処置心筋症ハムスター群 (B群) とジラゼブ投与心筋症ハムスター群 (D群) の心筋症ハムスター2群で10週齢より25週齢までのすべての週齢で小さかった。無処置群とジラゼブ投与群では10週齢より差がなく、両群とも週齢を重ねる毎に大きくなったが、両群間で差はなかった。心重量は3群とも10週齢では差がなかったが、3群とも週齢とともに増加する中で、無処置群が25週令では一番大であった。それに対し、ジラゼブ投与群の心重量は無処置群に比し小さく、25週齢では有意に小であった。これを体重当たりの心重量比で見ても無処置群が20週齢より増大しているのに対し、ジラゼブ投与群は対照群と同様に週齢を重ねても変化せず、25週齢では無処置群との間で有意な差が認められた。

II. 心機能の変化 (表2)

1. RT・DT の変化

RT は各週齢とも3群間で差がなかった。DT は無処置群、ジ

Table 2. Isometric contraction data

Age (weeks)	RT (g/mm ²)				DT (g/mm ²)				TPT (msec)				+T' (g/mmsec)				T1/2R (msec)				TPN (msec)				-T' (g/mmsec)							
	C	B	D		C	B	D		C	B	D		C	B	D		C	B	D		C	B	D		C	B	D					
10	0.38	0.36	0.35	0.66	0.85	0.66	0.66	53	0.17	0.12	0.12	0.12	28	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	0.17	0.17	0.12	0.12	±0.05	±0.05	±0.02	±0.02
	±0.12	±0.12	±0.08	±0.24	±0.23	±0.24	±0.15	±4	±0.04	±0.05	±0.02	±0.02	±2	±3	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±0.05	±0.05	±0.05	±0.02	±0.05	±0.05	±0.05	±0.02
	0.40	0.41	0.40	0.54	0.80	0.54	0.60	55	0.14	0.09	0.11	0.11	27	31	29	28	26	30	28	28	26	30	28	28	0.15	0.09	0.09	0.11*	0.15	0.09	0.09	0.11*
	±0.10	±0.10	±0.06	±0.13	±0.25	±0.13	±0.13	±3	±0.06	±0.02	±0.02	±0.02	±1	±2	±1	±2	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±0.06	±0.06	±0.02	±0.02	±0.06	±0.06	±0.02	±0.02
20	0.41	0.42	0.41	0.40	0.65	0.40	0.47	54	0.13	0.06	0.80*	0.80*	28	33	31***	28	28	33	30**	30**	28	33	30**	30**	0.13	0.13	0.06	0.08**	0.13	0.13	0.06	0.08**
	±0.13	±0.05	±0.10	±0.18	±0.18	±0.09	±0.08	±3	±0.04	±0.02	±0.03	±0.03	±1	±2	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±1	±0.05	±0.05	±0.02	±0.02	±0.05	±0.05	±0.02	±0.02
	0.42	0.44	0.43	0.32	0.63	0.32	0.44*	57	0.12	0.06	0.07*	0.07*	28	34	31	28	28	34	31*	31*	28	34	31*	31*	0.13	0.13	0.06	0.07*	0.13	0.13	0.06	0.07*
	±0.12	±0.10	±0.1	±0.29	±0.29	±0.09	±0.11	±2	±0.05	±0.02	±0.02	±0.02	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±0.04	±0.04	±0.01	±0.02	±0.04	±0.04	±0.01	±0.02
25	0.42	0.44	0.43	0.32	0.63	0.32	0.44*	57	0.12	0.06	0.07*	0.07*	28	34	31	28	28	34	31*	31*	28	34	31*	31*	0.13	0.13	0.06	0.07*	0.13	0.13	0.06	0.07*
	±0.12	±0.10	±0.1	±0.29	±0.29	±0.09	±0.11	±2	±0.05	±0.02	±0.02	±0.02	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±2	±0.04	±0.04	±0.01	±0.02	±0.04	±0.04	±0.01	±0.02

C, golden hamster; B, syrian hamster (Bio 14.6); D, dilazep-treated syrian hamster; RT, resting tension; DT, developed tension; TPT, time to peak tension; +T', peak rate of tension rise; T1/2R, time to 1/2 relaxation; TPN, time from peak tension to peak rate of tension fall; p values refer to comparisons between group B and group D. *, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001. Values are expressed as the mean ± S. D.

ラゼブ投与群が対照群に比し20週齢から小となったが、25週齢ではジラゼブ投与群が無処置群より有意に大であった。

2. 収縮機能の変化

TPT は3群とも10週齢では差がなかったが、週齢を経るにつれ、対照群では変化がないのに対し、無処置群とジラゼブ投与群は20週齢から延長した。しかし、その延長の程度はジラゼブ投与群が有意に小であった。+T'は10週齢より無処置群、ジラゼブ投与群が対照群より低値で、3群とも週齢とともにさらに低値を示した(図3上)。しかし、その低下は無処置群で一番

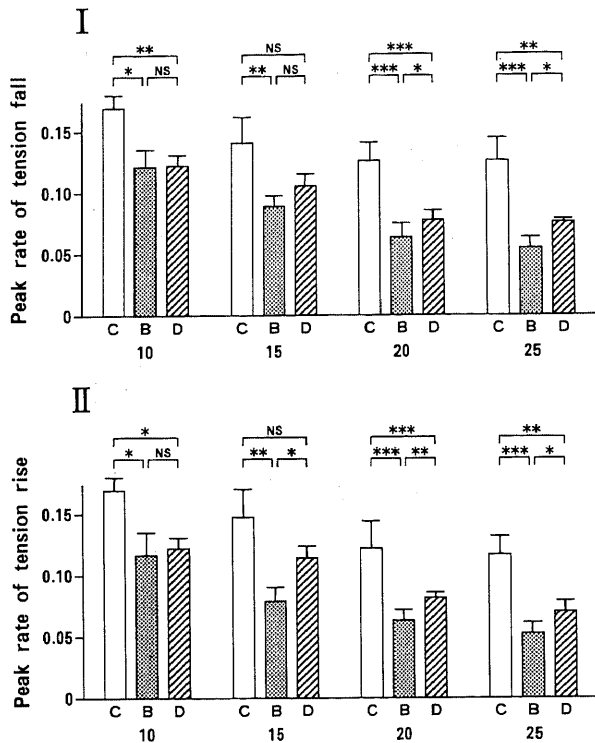


Fig. 3. Systolic (peak rate of tension rise) (I) and diastolic (peak rate of tension fall) (II) functions. C, golden hamster; B, syrian hamster (Bio 14.6); D, dilazep-treated syrian hamster; 10, 10 weeks of age; 15, 15weeks of age; 20, 20 weeks of age; 25, 25 weeks of age, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001. NS, not significant.

大きく、20週齢以降ではジラゼブ投与群との間で有意差を認め、ジラゼブ投与群では収縮機能の悪化が抑制されている事が示唆された。

3. 拡張機能の変化

T1/2R は3群とも10週齢では差がなく、対照群は25週齢まで変化しなかったのに対し、無処置群、ジラゼブ投与群とも週齢とともに延長した。しかし、その延長の程度は20週齢からはジラゼブ投与群で有意に小であった。TPNも3群とも10週齢では差がなく、対照群は25週齢まで変化しなかったのに対し、無処置群は15週齢より、ジラゼブ投与群は20週齢より延長した。しかし、その延長の程度は20週齢からはジラゼブ投与群で無処

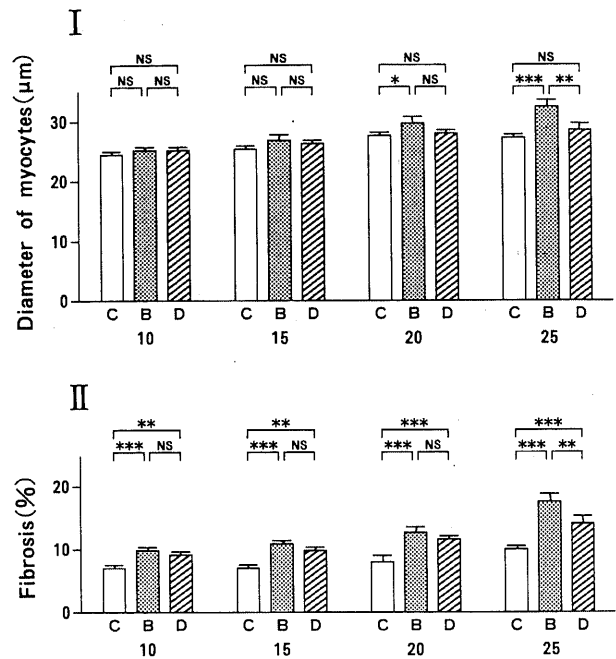


Fig. 4. Pathological changes. I, diameter of myocytes; II, fibrosis. C, golden hamster; B, syrian hamster (Bio 14.6); D, dilazep-treated syrian hamster; 10, 10 weeks of age; 15, 15weeks of age; 20, 20 weeks of age; 25, 25 weeks of age, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001. NS, not significant.

Table 3. Pathological findings with golden, syrian and dilazep- treated syrian hamsters

Age (weeks)	DM (um)			%F (%)		
	C	B	D	C	B	D
10	24.2 ±1.6	24.0 ±1.2	24.1 ±0.7	7.08 ±1.57	9.91 ±0.93	9.17 ±1.22
15	24.3 ±1.1	25.7 ±2.0	25.3 ±1.4	6.95 ±1.67	10.7 ±1.14	9.70 ±1.20
20	26.3 ±1.3	28.2 ±2.2	26.9 ±1.8	7.99 ±1.19	12.6 ±2.27	11.5 ±1.28
25	25.9 ±1.2	30.9 ±2.0	14.1 ±2.4**	10.1 ±1.76	17.7 ±2.68	14.2 ±2.31**

C, golden hamster; B, syrian hamster (Bio 14.6); D, dilazep-treated syrian hamster; DM, diameter of myocyte; % F, % fibrosis of interstitium; p values refer to comparisons between group B and group D. *, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001. Values are expressed as the mean±S. D..

置群に比し有意に小であった。-T' は10週齢より無処置群、ジラゼブ投与群が対照群より低値で、3群とも週齢とともにさらに低値を示した。しかし、その低下度は無処置群が一番大きく、15週齢以降ではジラゼブ投与群との間で有意差を認め(図3下)、ジラゼブ投与群では拡張機能の悪化が抑制されている事が示唆された。

Ⅲ. 病理組織の変化(表3)

心筋細胞横径は10週齢から25週齢にかけて、対照群では、平均23 μ mから26 μ mとわずかに増大するのに対し、無処置群では平均23 μ mから31 μ mへと大きく増大した。ジラゼブ投与群では平均24 μ mから27 μ mへと増大し、その増大度は無処置群より有意に小であった(図4上)。心筋間質線維化率は10週齢から25週齢にかけて、対照群が、平均7%から10%と軽度の増加に対し、無処置群では平均9%から18%へと著明に増加した(図4下)。ジラゼブ投与群は平均9%から14%とその増加は他の2群の間値を示し、ジラゼブ投与群で心筋線維化の抑制が示唆された。

考 察

シリア系ハムスター(Bio 14.6)は、1956年Whitneyにより、筋ジストロフィー症状を呈する系(Bio 1.50)から分離され、主として心筋病変をきたす事が知られている¹²⁾。Bajusz¹³⁾やGertz¹⁴⁾によれば、Bio 14.6の組織学的な心筋病変は生後30-40日齢から出現し、90-120日齢には心筋細胞が肥大し、ヒト肥大型心筋症に類似の形態をとる。200日齢前後になると左室心筋はもとより右室心筋にも血行動態上、量的にも負荷が加わり、心筋実質組織の萎縮、間質の線維化が進行し、心不全となりやがて死亡する。従って、この動物モデルは生後約200日齢を越えると、ヒト拡張型心筋症に類似してくる。そこで本実験は、Bio 14.6がヒト肥大型心筋症に類似している生後10週齢から25週齢までの期間で行った。

アデノシンは、心臓¹⁵⁾あるいは他の組織でAMPから5'ヌクレオチダーゼを介してつくられ、細胞膜表面に固有の受容体がある¹⁶⁾¹⁷⁾。このアデノシンは抗アドレナリン作用¹⁸⁾、すなわち陰性変時作用を有している¹⁷⁾¹⁹⁾。上記の他に特に注目されるのは、アデノシンが著明な冠拡張作用を有し、心筋内血管床で血流を微妙に調節している²⁰⁾という点である。ジラゼブはこのアデノシンの取り込みを抑制し、アデノシン増強作用を有する²¹⁾。

アデノシン増強作用を有する薬剤にはジラゼブの他にジピリダモールが知られている²²⁾が、ジラゼブの方がアデノシン増強作用が持続すると報告されている²³⁾。一般的に冠拡張薬のアデノシン増強作用の機序として、1)赤血球のアデノシン取り込みの抑制、2)アデノシンデアミナーゼの阻害、3)筋細胞のアデノシン取り込みの抑制、が提唱されているが、ジラゼブは1)と2)の可能性が示唆されている²⁴⁾。

今回の実験で用いたジラゼブの投与量に関しては、ラットの線状体に対して、1mg, 10mg, 20mg/kg/日を連日腹腔内投与した結果、10mg/kg/日より効果が認められたと報告されている²⁵⁾ことから、本実験での腹腔内投与量を10mg/kg/日とした。

本実験でのハムスターの体重、心重量は、対照ハムスター群、無処置心筋症ハムスター群とも諸家の報告と一致している¹⁹⁾¹⁴⁾。心筋症ハムスターにジラゼブを投与することにより、その体重には変化がなかったが、その心重量は対照ハムスターに近くなった。従って、ジラゼブ投与により心筋の肥大が抑制さ

れたと推定される。

文献的には、心筋症ハムスターにおける単離乳頭筋を用いての心機能評価に関する報告はこれまでにほとんどない。これは実験動物そのものが小さく、従ってその左室乳頭筋が非常に小さいために、わずかの標本の挫滅があっても乳頭筋は正常に収縮しなくなり、実験が困難であるためと思われる。実際、5週齢のハムスターの体重は100gに満たず、その左室乳頭筋は短く、正常な収縮ができないため、本実験では10週齢より開始した。心筋症ハムスターで経時的に組織学的変化をみた報告はこれまでもいくつか散見される¹³⁾¹⁴⁾。しかしながらそれらの報告では、所見は定性的に述べられているに過ぎず、組織変化を定量化したものは見あたらない。そこで本実験では組織所見についても心機能同様、定量的評価を試みた。

その結果、心機能に関する検討では、ジラゼブ投与群が無処置群より、拡張障害、収縮障害とも20週齢より改善した。組織学的検討でも心筋の肥大、間質の線維化とも25週齢よりジラゼブ投与により改善している。心筋細胞内へのグルコースの取り込みは、低酸素状態で増加する²⁶⁾が、心筋症ハムスターでもこの速度が増加している²⁷⁾ことは、本症心筋細胞が酸素欠乏状態にある事を示している。アデノシンはこの虚血心筋に対して、冠血流を増加させることによって心機能および組織所見を改善させるものと考えられる。また心筋症ハムスターの異常として、Ca代謝の異常も報告されており²⁸⁾²⁹⁾、生化学的にもCa拮抗薬受容体が増加しているという報告がある³⁰⁾。ジラゼブは冠血流増加作用の他に、Ca拮抗作用も有しており²⁴⁾、ベラパミル³¹⁾と同様に心機能及び組織所見の改善に関与している可能性もある。

心筋症ハムスターの成因には複数の要因が関係しているものと考えられるが、今回の結果よりアデノシン障害もその一因ではないかと推察された。しかしながら心機能および組織所見の改善は完全に元に復したわけではなく、アデノシン障害のみでは心筋症ハムスターの病因を説明しきれない。あるいは心筋症ハムスターでは、ミトコンドリアの形態・機能に異常の認められない時期に、すでにCa含有量が増加しているとする報告があり³²⁾、本実験でジラゼブ投与を開始した5週齢以前にすでに組織障害をきたし始めていた可能性も考えられる。

実験動物として用いた心筋症ハムスターはヒト肥大型心筋症の病態と類似している。ヒト肥大型心筋症では心筋内微小冠動脈の狭小化などによる冠予備能の低下、心筋虚血を生じ、心筋の機能低下、心筋細胞壊死、心筋間質線維化を生じて病変が進行するが、ヒトにおいてもジラゼブがアデノシン増強作用による冠血流増加の結果、心筋虚血の改善をもたらす、心機能の改善、心筋組織の改善をもたらす可能性が期待される。

以上の事から、心筋症ハムスター心においては、週齢とともに心重量が増加し、収縮機能・拡張機能が悪化し、心筋の肥大・間質の線維化が進行するが、これにジラゼブを投与することにより、心重量の増加が抑制され、心機能の悪化および組織所見の憎悪が抑制されるという結果が得られた。

結 論

週齢10週から20週齢までの心筋症ハムスター(Bio 14.6)の単離乳頭筋収縮試験における心機能の評価、および心筋の組織学的所見の定量的評価を行い、アデノシン増強作用を有するジラゼブの効果について検討を行い、以下の結果を得た。

1. 心筋症ハムスターは週齢を重ねる毎に体重, 心重量および心重量比は増大していくが, ジラゼブ投与により, 心重量, 心重量比の増加は抑制され, 対照ハムスターに近づいた。

2. 収縮機能では, 対照ハムスターおよび心筋症ハムスターは週齢とともに低下してきたが, 心筋症ハムスターの低下の度合いが強かった。シラゼブは心筋症ハムスターの収縮機能低下を抑制する効果があった。

3. 拡張機能では, 対照ハムスターおよび心筋症ハムスターは週齢とともに低下してきたが, 心筋症ハムスターの低下の度合いが強かった。シラゼブは心筋症ハムスターの拡張機能低下を抑制する効果があった。

4. 定量的組織学的所見では, 対照ハムスターおよび心筋症ハムスターは週齢とともに悪化してきたが, 心筋症ハムスターの悪化の度合いが強かった。シラゼブは心筋症ハムスターの組織学的悪化を抑制する効果があった。

謝 辞

稿を終えるにあたって, 御指導, 御校閲を賜りました恩師竹田亮祐教授に深謝致します。また, 本研究の機会を与えていただき, 終始御指導, 御教示いただいた金沢大学第二内科清水賢巳講師に敬意と謝意を表します。さらに, 御協力と御援助をいただいた当教室第四研究室の諸先生方に深く感謝致します。

本論文の要旨は, 第56回日本循環器学会総会において発表した。

文 献

- 1) Jarcho, J. A.: Mapping a gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 14q1. *New Engl. J. Med.*, 321, 1372-1378 (1989).
- 2) Nishi, H.: Localization of the gene for hypertrophic cardiomyopathy on chromosome 18q (Abstract). *Circulation*, 80 (Suppl. II), 457 (1989).
- 3) Ambrosini, M., Ferrano, M. & Reale, A.: Cytogenic study in familial hypertrophic cardiomyopathy: Identification of a new fragile site on human chromosome 16 (Abstract). *Circulation*, 80 (Suppl. II), 458 (1989).
- 4) Watkins, H.: Progress in familial hypertrophic cardiomyopathy: Molecular genetic analysis in the original family studied by teare. *Brit. Heart J.*, 63, 34-39 (1992).
- 5) Hanrath, P., Mathey, D. G., Kremer, P., Sonntag, F. & Bleifeld, W.: Effect of verapamil on left ventricular isovolumic relaxation time and regional left ventricular filling in hypertrophic cardiomyopathy. *Am. J. Cardiol.*, 45, 1258-1264 (1980).
- 6) Bonow, R. O., Rosing, D. R., Bacharach, S. L., Green, M. V., Kent, K. M., Lipson, L. C., Maron, B. J., Leon, M. B. & Epstein, S. E.: Effect of verapamil on left ventricular systolic function and diastolic filling in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 64, 787-796 (1981).
- 7) Lorrel, B. H., Paulus, W. J., Grossman, W., Wynne, J. & Cohn, P. F.: Modification of abnormal ventricular diastolic properties by nifedipine in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 65, 499-507 (1982).
- 8) Suwa, M., Hirota, Y. & Kawamura, K.: Improvement in left ventricular diastolic function during intravenous and oral diltiazem therapy in patients with hypertrophic cardiomyopathy; An echocardiographic study. *Am. J. Cardiol.*, 54, 1047-1053 (1984).
- 9) Nagao, M., Omote, S., Takizawa, A. & Yasue, H.: Effect of diltiazem on left ventricular isovolumic relaxation time in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Jpn. Circ. J.*, 47, 54-58 (1983).
- 10) Watt, A. H.: Hypertrophic cardiomyopathy: A disease of impaired adenosine-mediated autoregulation of the heart. *Lancet*, 1, 1271-1273 (1984).
- 11) Nunoda, S., Genda, A., Sugihara, N., Nakayama, A., Mizuno, S. & Takeda, R.: Quantitative approach to the histopathology of the biopsied right ventricular myocardium in patients with diabetes mellitus. *Heart Vessels*, 1, 43-47 (1985).
- 12) Homburger, F., Baker, J. R., Nixon, C. W. & Whitney, R.: Primary generalized polymyopathy and cardiac necrosis in an bred line of syrian hamsters. *M. Exper.*, 6, 339-345 (1962).
- 13) Bajusz, E.: Hereditary cardiomyopathy: A new disease model. *Amer. Heart J.*, 77, 686-696 (1969).
- 14) Gertz, E. W.: Cardiomyopathic syrian hamster: A possible model of human disease. *Progr. exp. Tumor Res.*, 16, 242-260 (1972).
- 15) Schrader, J. & Gerlach, E.: Compartmentation of cardiac adenine nucleotides and formation of adenosine. *Pfluegers Arch.*, 367, 129-135 (1976).
- 16) Schrader, J., Nees, S. & Gerlach, E.: Evidence for a cell surface adenosine receptor on coronary myocytes and atrial muscle cells. *Pfluegers Arch.*, 369, 251-257 (1977).
- 17) Belardinelli, L., West, A., Crampton, R. & Berne, R. M.: Extracellular action of adenosine and the antagonism by aminophylline on the atrioventricular conduction of isolated perfused guinea pig and rat hearts. *Circ. Res.*, 51, 569-579 (1972).
- 18) Fredholm, B. B. & Dunwiddie, T. W.: How does adenosine inhibit transmitter release? *Trends Pharmacol. Sci.*, 9, 130-134 (1988).
- 19) Schrader, J.: A homeostatic metabolite in cardiac energy metabolism. *Circulation*, 81, 389-391 (1990).
- 20) Berne, R. M.: The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. *Circ. Res.*, 47, 807-813 (1980).
- 21) Sano, N., Katsuki, S. & Kawada, M.: Enhancement of coronary vasodilator action of adenosine by 1,4-Bis [3-(3,4,5-trimethoxybenzoyloxy)-propyl] -prehydro-1,4-diazepine (Dilazep, I. N. N.). *Arzeim. Forsch.*, 22, 1655-1658 (1972).
- 22) Kubler, W., Spiekermann, P. G. & Bretschneider, H. J.: Influence of dipyrindamol (persantin) on myocardial adenosine metabolism. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1, 23-38 (1970).
- 23) 市江良康, 橘 俊世, 二村良博, 竹内省三, 安井昭二: Dilazep, Dipyrindamole の心行行動態に及ぼす効果。基礎と臨床, 9, 107-117 (1975).
- 24) 田村秀明, 白沢義障, 堀 平二, 近藤章市: 1,4-Bis-[3-(3,4,5-trimethoxy benzoyloxy)-propyl] perhydro-1,4-diaz-

epine (Dilazep) の摘出平滑筋に対する作用について. 日薬理誌, 71, 757-768 (1975).

25) 大塚長康, 遠藤貴子, 石村 均, 奥野計典, 藤井龍平, 黒川秀夫, 山崎 直, 高木哲弘, 荻田成人: Dilazep に関する形態学的研究. 基礎と臨床, 15, 42-44 (1981).

26) Morgan, H. E.: Regulation of glucose uptake in muscle. I. The effect of insulin and anoxia on glucose transport and phosphorylation in the isolated perfused heart of normal rats. J. Biol. Chem., 236, 253-260 (1961).

27) Shibata, N., Wada, A., Onishi, S., Okamoto, K. & Nosaka, S.: A cardiac Ca^{2+} -activated neutral protease and its role in the hereditary cardiomyopathy in Syrian hamsters (Abstract). J. Mol. Cell. Cardiol., 11 (Suppl. III), 41 (1979).

28) Lossnitzer, K., Janke, J., Hein, B., Stauch, M. & Fleckenstein, A.: Disturbed myocardial calcium metabolism: A possible pathogenetic factor in the hereditary cardiomyo-

pathy of the Syrian hamster, Recent Adv. Stud. Card. Struct. Metab., 6, 207-212 (1975).

29) 堀 正二, 鎌谷俊文, 井上通敏: 心筋症ハムスターにおけるレセプター異常と Ca チャンネル異常. 最新医学, 42, 977-981 (1987).

30) Finkel, M. S., Marks, E. S., Patterson, R. E., Speir, E. H., Steadman, K. & Keiser, H. R.: Increased cardiac calcium channels in hamster cardiomyopathy. Am. J. Cardiol., 57, 1205-1206 (1986).

31) 武田淳史, 大久保忠業, 中村 出, 武田信彬, 永野 充: Cardiomyopathic syrian hamster 心筋障害に対する Ca antagonist の有効性. 心筋の構造と代謝, 10, 427-441 (1987).

32) Wrongemann, K.: On the role of mitochondria in the hereditary cardiomyopathy of the Syrian hamster. Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism, 6, 231-241 (1975).

Effect of Dilazep on the Heart of Cardiomyopathic Syrian Hamsters Masahiro Minamoto, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., 102, 969—975 (1993)

Key words cardiomyopathic syrian hamster, hypertrophic cardiomyopathy, dilazep, adenosine, isolated papillary muscle contraction

Abstract

Pathogenesis of hypertrophic cardiomyopathy is still not well known. However, Watt has recently suggested the hypothesis that impairment of adenosine-mediated autoregulation of the heart might be the fundamental abnormality leading to hypertrophic cardiomyopathy. In this study, the effect of dilazep was investigated on the heart of cardiomyopathic syrian hamsters (Bio 14.6). Male cardiomyopathic hamsters at 5 weeks of age were separated into two groups; one group was prescribed with 10 mg/kg dilazep per day with a single intra-abdominal injection, the other group was non-disposition. The Golden hamsters (Flb) were studied along with age-matched control. At intervals of five weeks, isolated papillary muscle contraction studies, and histological studies to determine the diameter of myocytes and percentage of interstitial fibrosis were performed. Body weights and heart weights were lower in the cardiomyopathic hamsters than in the controls. Although the body weights of dilazep-treated hamsters were similar to those of non-treated hamsters, the heart weights of dilazep-treated animals were lower than those of the non-treated ones. Resting tensions were similar among the 3 groups. Developed tensions were lower in the cardiomyopathic hamsters than in the controls at 20 and 25 weeks of age. At 25 weeks of age they were higher in the dilazep-treated hamsters than in the non-treated hamsters. Time to peak tension was prolonged in the cardiomyopathic hamsters after 20 weeks of age, while the extents of prolongation were lower in the dilazep-treated hamsters than in the non-treated hamsters. The peak rate of tension rise was lower in the dilazep-treated hamsters than in the non-treated hamsters after 20 weeks of age. Time to 1/2 relaxation was lower in the dilazep-treated hamsters than in the non-treated hamsters after 20 weeks of age. Time from peak tension to peak rate of tension fall was more prolonged in the non-treated hamsters after 15 weeks of age than in the dilazep-treated hamsters after 20 weeks of age, while the extents of prolongation were lower in the dilazep-treated hamsters. Peak rate of tension fall was lower in the dilazep-treated hamsters than in the non-treated hamsters after 15 weeks of age. On histological examination, the diameters of myocytes and the percentage of interstitial fibrosis were increased in all groups, but the increased rate was highest in the non-treated hamsters and lowest in the controls. These data suggest that the cardiac functions and histological findings in the cardiomyopathic hamsters grow worse with age but that they are suppressed by dilazep.