

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。平成8年3月には当部門の矢永尚士教授が退官され、現在8名の医局員と2名の研究生が日夜診療と研究に励んでいる。人事面では平成8年3月舩友一洋助手が退職し、衛藤弘寿が研修医として、また、澤田正二郎が防衛医大より研究生として入局した。また、九大第1内科より大塚祥司が5月より心筋の分子生物学の研究のため在籍している。

基礎的研究

A. 心臓発生における分子生物学的研究（野崎雅彦，松井寛輔，矢野健一）

a. 増殖制御遺伝子の発達段階特異的な発現の解析

胎児期，成熟期に心臓で発現する増殖制御を行う遺伝子ファミリーの比較をすることで，tyrosine kinase, tyrosine phosphatase, G protein coupled receptor 等についての時期特異的に発現する遺伝子の同定，クローニングを行ってきた。現在，胎児期にのみ発現する dual specificity kinase を単離し，その遺伝子，蛋白としての解析を進めている。

b. 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。

c. 心筋小胞体 (SR) カルセクエストリン (CS) 遺伝子の構造

CS は心筋 SR と骨格筋 SR の終末槽に局在する主要なカルシウム結合蛋白である。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 CS 遺伝子は白筋のみに発現するが、心筋 CS 遺伝子は主に心筋で一部赤筋で発現する。ウサギ心筋 CS 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基礎的に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。(大塚祥司, 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 MMP2 や MMP9 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く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 日まで認められた。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. コレステロール負荷動脈硬化におけるレニン-アンジオテンシン系

日本白色家兎をコレステロール色で飼育し、ACE 阻害剤及び AT1 拮抗剤の動脈硬化の進展に及ぼす効果を発表した。動脈のコレステロールの含量の抑制には、動脈内 ACE 活性及び ACE mRNA は関与せず、動脈内 AT1 mRNA の抑制が重要なことが示唆された。また、SHR に

おけるACE阻害剤及びAT1拮抗剤の効果を検討し、動脈のコラゲン含量を完全に抑制するが、中膜平滑筋は軽度の抑制しか見られなかった。

b. コレステロールエステル転換酵素 (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、各リポタンパクに及ぼす影響を検討している。

臨床的研究 (平山祐義, 松井寛輔, 畑 知二, 牧野直樹)

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。

平成8年度気候内科業績

原著論文

1. Sugano,M., Makkino,N. 1996.
Changes in plasma lipoprotein cholesterol levels by antisense oligonucleotides against cholesterol ester transfer protein in cholesterol-fed rabbits.
J. Biol. Chem. 271 : 19080-19083.
2. Sugano,M., Makino,N., Yanaga,T. 1996.
The effects of renin-angiotensin system inhibition on aortic cholesterol content in cholesterol-fed rabbits. Atherosclerosis 127 : 123-129.
3. Makino,N., Sugano,M., Hata,T., Taguchi,S., Yanaga,T. 1996.
Chronic low-dose treatment with enalapril induced cardiac regression of left ventricular hypertrophy.
Mol. Cell. Biochem. 163/164 : 239-245.
4. Takeda,N., Dixon, I.M.C., Hata,T., Elimban,V., Shah,K.R., Dhalla N.S. 1996.

Sequence of alterations in subcellular organelles during the development of heart dysfunction in diabetes.

Diabetes Research and Clinical Practice 30(Suppl.) : S113-S122.

5. Makino, N., Hata, T., Sugano, M., Dixon, I.M.C., Yanaga, T. 1996.
Regression of hypertrophy after myocardial infarction is produced by the chronic blockade of angiotensin type 1 receptor in rats. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 28 ; 507-517.
6. Sugano M., Makino, N., Yanaga, T.
Effects of hepatic HDL-related mRNAs on plasma prebeta HDL in Cholesterol-fed rabbits.
Artery (in press).
7. Sugano, M., Makino, N., Yanaga, T.
Effect of dietary omega-3 eicosapentaenoic acid supplements on cholesterol ester transfer from HDL in cholesterol-fed rabbits.
Biochim. Biophys. Acta 1346 : 17-24, 1997.
8. Makino, N., Sugano, M., Otsuka, S., Hata, T.
Molecular mechanism of angiotensin II type 1 and type 2 receptors in cardiac hypertrophy of spontaneously hypertensive rats.
Hypertension 30 : 796-802, 1997.
9. 矢野健一, 牧野直樹, 矢永尚士 薬物投与下におけるホルター心電図による虚血の診断
大分県医学会雑誌 15巻 : 23-27, 1996.
10. 阿部信行, 矢野健一, 牧野直樹
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, 1997.
11. Makino, N., Sugano, M., Otsuka, S., et al.
Intravenous injection with antisense oligodeoxynucleotides against angiotensinogen decreases blood pressure in spontaneously hypertensive rats.
Hypertension (in press).
12. Sugano, M., Makino, N., Sawada, S. et al.
Effects of antisense oligodeoxynucleotides against cholesterol ester transfer protein on the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits.
J. Biol. Chem. (in press).

著 書

1. 牧野直樹, 菅野公浩, 畑 知二, 田口幸代, 渡辺美葉, 矢永尚士. 1996.

梗塞後心筋 remodeling における心筋 ACEA および T1受容体の対応. 心筋の構造と代謝
18巻 : pp.225-pp.236, 1996.

2. 舩友一洋, 牧野直樹, 田口幸代, 渡辺美葉, 矢永尚士. 1996.

心筋内マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)活性の加齢に伴う変化.
心筋の構造と代謝 18巻 : 225-236.

3. Makino,N.

Aortic cholesterol content in cholesterol fed rabbits was decreased by ACE inhibitor
and angiotensin receptor antagonist.

In Adaptation Biology and Medicine, Narosa Publishing House (in press).

4. Makino, N.

Losartan pretreatment inhibits an early activation of the matrixmetalloproteinase in
acute myocardial infarction.

In Angiotensin II Receptor Blockade: Physiological and Clinical Implications, Raven
Press (in press).

5. 大塚祥司, 牧野直樹, 菅野公浩, 畑 知二, 田口幸代.

自然発症高血圧ラットの心肥大におよぼすアンジオテンシンII受容体拮抗薬の効果.
心筋の構造と代謝 19巻 : 287-291, 1996.

学 会 発 表

シンポジウム

1. Makino,N., Masutomo,K., Hata,T. (Aug. 23-25, 1996).

Early activation of collagenase and gelatinase derived from neutrophils after
myocardial infarction.

The Cellular Basis of Cardiovascular Disease, Kenora, Ont., Canada.

2. Hata,T., Makino,N., Sugano,M. (Aug. 23-25, 1996).

Load-independent mechanism in regression of left ventricular mass with low dose
enalapril therapy.

The Cellular Basis of Cardiovascular Disease, Kenora, Ont., Canada.

3. Makino,N. (Oct., 1996).

Role of angiotensin II blockade in myocardial infarction.

Angiotensin II receptor Blockade: Physiological and Clinical Implications, Winnipeg,
MB, Canada.

4. Makino,N., Masutomo,K., Ohtsuka,S. (Nov. 27-30, 1996).

The role of collagenase and gelatinase activities derived from neutrophils after myocardial infarction.

XIII Meeting of the Japanese Section of the International Society for Heart Research, Urayasu, Japan.

国際学会

1. Sugano, M., Makino, N., Watanabe, M. (Nov. 10-13, 1996).
Effects of antisense oligodeoxynucleotides against cholesteryl ester transfer protein on plasma lipoprotein cholesterol levels in cholesterol-fed rabbits.
The 69th Scientific Sessions of American Heart Association, New Orleans.
2. Matsui, H., Ueda, Y., Makino, N. (Nov. 10-13, 1996).
Expression of nebulin mRNA in atrium.
The 69th Scientific Sessions of American Heart Association, New Orleans.
3. Hata, T., Makino, N., etc. (Nov. 27-30, 1996).
Role of angiotensin II receptor subtypes in cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats.
XIII Meeting of the Japanese Section of the International Society for Heart Research, Urayasu, Japan.
4. Sugano, M., Makino, N., etc. (Nov. 27-30, 1996).
Suppression of aortic cholesterol content by renin-angiotensin system blockades in cholesterol-fed rabbits.
XIII Meeting of the Japanese Section of the International Society for Heart Research, Urayasu, Japan.
5. Nozaki, M., Matsui, H., etc. (Nov. 27-30, 1996).
Detection and isolation of protein tyrosine kinases developmentally regulated in the heart of chicken.
XIII Meeting of the Japanese Section of the International Society for Heart Research, Urayasu, Japan.
6. Matsui, H., Makino, N., etc. (Nov. 27-30, 1996).
Nebulin mRNA expression in atrium.
XIII Meeting of the Japanese Section of the International Society for Heart Research, Urayasu, Japan.

国内学会総会

1. 菅野公浩, 牧野直樹, 矢野健一, 松井實輔, 矢永尚士. (March 19-21, 1996).
コレステロールエステル転換酵素の antisense oligonucleotide conjugate 投与における血
清リポタンパクへの効果.
第60回日本循環器学会々術総会, 大阪.
2. 菅野公浩, 牧野直樹, 畑知二, 平山祐義, 矢永尚士. (March 19-21, 1996).
動脈硬化の進展に及ぼすレニン-アンギオテンシン拮抗剤の効果.
第60回日本循環器学会々術総会, 大阪.
3. 舩友一洋, 野崎雅彦, 牧野直樹, 矢永尚士. (March 19-21, 1996).
心筋梗塞急性期の collagen 変性に関する Matrix Metalloprotease (MMP).
第60回日本循環器学会々術総会, 大阪.
4. 矢野健一, 牧野直樹, 矢永尚士. (March 19-21, 1996).
ウサギ心筋小胞体 (SR) カルセクエストリン (CS) 遺伝子の構造.
第60回日本循環器学会々術総会, 大阪.
5. 平山祐義, 牧野直樹, 田中彰子, 矢野健一, 畑 知二, 矢永尚士. (Oct. 3-4, 1996).
心不全患者の心拍変動スペクトル解析一日中と夜間の比較一.
第13回日本心電学会学術集会, 別府.
6. 菅野公浩, 渡辺美葉, 牧野直樹. (Nov. 28-29, 1996).
コレステロールエステル転換酵素の antisense oligodeoxynucleotide conjugate 投与におけ
る血清HDLの変化.
平成8年度日本動脈硬化学会冬季大会, 金沢.
7. Makino, N., Otsuka, S., Sugano, M., Sawada, S. (March 31-Apr. 2, 1997).
Intravenous injection with antisense oligodeoxynucleotides against angiotensinogen
inhibits ANG II level and decreases blood pressure in SHR.
第61回日本循環器学会総会: 国際セッション, 東京.
8. 菅野公浩, 澤田正二郎, 牧野直樹, 大塚祥司, 畑 知二. (March 31-Apr. 2, 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 oligodeoxynucleo-
tide 投与の効果.
第61回日本循環器学会々術総会, 東京.
9. 澤田正二郎, 菅野公浩, 牧野直樹, 大塚祥司, 畑知二. (March 31-Apr. 2, 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 oligodeoxy-
nucleotide 投与の影響.
第61回日本循環器学会々術総会, 東京.
10. 松井實輔, 牧野直樹. (March 31-Apr. 2, 1997).

心房における nebulin RNA の発現量変化.

第61回日本循環器学会々術総会, 東京.

11. 矢野健一, 牧野直樹. (Oct. 3-4, 1996).

糖尿病患者の急死例の検討—急死以外の死因による症例との比較検討.

第13回日本心電学会学術集会, 別府.

国内学会地方会

1. 平山祐義, 田中彰子, 菅野公浩, 矢野健一, 野崎雅彦, 松井寛輔, 畑 知二, 牧野直樹, 矢永尚士. (June 8, 1996).

心拍変動スペクトル解析による陳旧性心筋梗塞患者の自律神経機能評価.

第80回日本循環器学会九州地方会, 鹿児島.

2. 松井寛輔, 牧野直樹. (June 8, 1996).

心房における nebulin mRNA の発現.

第80回日本循環器学会九州地方会, 鹿児島.

3. 矢野健一, 平山祐義, 野崎雅彦, 菅野公浩, 松井寛輔, 畑 知二, 牧野直樹. (June 8, 1996).

心タンポナーデで発症し入院時診断が困難であった大動脈解離の一例.

第80回日本循環器学会九州地方会, 鹿児島.

研究会その他

1. 平山祐義. (March 8, 1996).

心不全患者の心拍変動.

第7回別府循環器研究会, 別府.

2. 平山祐義, 衛藤弘寿, 田中彰子, 矢野健一, 畑 知二, 牧野直樹. (February 22, 1997).

軽症心不全患者の心拍変動スペクトル解析を用いた自律神経活動の評価.

別府医師会会員による学術講演会, 別府.

3. 畑 知二. (June 10, 1996).

ホルター心電図入門Ⅰ: 虚血性心疾患.

第275回別府ハート会講演会, 別府.

4. 畑 知二. (July 22, 1996).

ホルター心電図の臨床と将来. 大分循環器診療懇話会講演会, 大分.

5. 畑 知二. (Aug. 29, 1996).

ホルター心電図入門Ⅱ: 不整脈.

第277回別府ハート会講演会, 別府.

6. 大塚祥司, 牧野直樹, 菅野公浩, 畑 知二, 田口幸代. (1996年9月).
自然発症高血圧ラットの心肥大におよぼすアンジオテンシンII受容体拮抗薬の効果.
第19回心筋代謝研究会, 東京.
7. 平山祐義, 衛藤弘寿, 田中彰子, 矢野健一, 畑 知二, 牧野直樹. (December 14, 1996).
軽症心不全患者の心拍変動スペクトル解析を用いた自律神経活動の評価.
第3回心不全と不整脈フォーラム, 東京.