

# 糖尿病患者とストレプトゾトシン 糖尿病ラットにおける心筋細胞の 萎縮とFアクチンの変化

# Changes in Diameter Size and F-Actin Expression in the Myocytes of Patients With Diabetes and Streptozotocin-Induced Diabetes Model Rats

川口美智子  
浅倉 司  
斎藤富慈子  
根本 修  
前原 和平  
三宅 克也\*  
菅井 尚則\*  
丸山 幸夫

Michiko KAWAGUCHI, MD  
Tsukasa ASAKURA, MD  
Fujiko SAITO, MD  
Osamu NEMOTO, MD  
Kazuhira MAEHARA, MD  
Katsuya MIYAKE, MD\*  
Naonori SUGAI, MD\*  
Yukio MARUYAMA, MD, FJCC

## Abstract

Diabetes mellitus may be an independent risk factor for disturbance of cardiac function, but the detailed mechanism remains unclear. In the present study, histological examinations were carried out on 25 hearts from diabetes model rats as well as myocardial biopsy materials from patients with diabetes ( $n = 25$ ).

The mean diameter of the cardiac myocytes in humans was  $12.2 \pm 0.5 \mu\text{m}$  in the control group of patients without diabetes mellitus or hypertension ( $n = 6$ ),  $13.7 \pm 0.8 \mu\text{m}$  in the hypertension group ( $n = 3$ ),  $9.0 \pm 1.7 \mu\text{m}$  in the diabetes group ( $n = 8$ ), and  $11.9 \pm 2.0 \mu\text{m}$  in the diabetes with hypertension group ( $n = 8$ ). The cardiac myocytes of diabetic patients appeared to be atrophic. Comparison of the size of myocytes in the control rats vs streptozotocin-induced diabetes model rats ( $n = 7$ , each) was  $5.4 \pm 0.2$  vs  $5.2 \pm 0.3 \mu\text{m}$  at 2 weeks;  $5.9 \pm 0.1$  vs  $4.9 \pm 0.9 \mu\text{m}$  at 12 weeks, and  $5.7 \pm 0.1$  vs  $4.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$  at 24 weeks, respectively, and gradually decreased in streptozotocin rats with aging. Immuno-histochemistry with phalloidin was used to assess F-actin in the cardiac myocytes. The relative cross-sectional area of F-actin in the cardiac myocytes of streptozotocin rats was compared to that in non-streptozotocin rat myocytes. F-actin fluorescence in streptozotocin rats was  $89.9 \pm 3.9\%$  at 2 weeks,  $77.9 \pm 6.4\%$  at 12 weeks, and  $56.8 \pm 5.7\%$  at 24 weeks, indicating a decrease in F-actin.

These results suggest that the smaller myocytes observed in patients with diabetes and streptozotocin rats are related to the decrease in F-actin in myocytes.

J Cardiol 1999; 34(6): 333-339

## Key Words

■Diabetes mellitus

■Myocardium (myocyte, F-actin)

■Pathology

## はじめに

糖尿病心筋障害の成因については大きく分けて、血管の病変と心筋細胞の病変が考えられる。前者につい

ては、最近グリケーションを中心とした微小血管障害が注目され、血管基底膜の肥厚や血管瘤の存在が報告されている<sup>1-6)</sup>。しかし、Factorら<sup>6-8)</sup>は糖尿病のみでは明瞭な病変は引き起こされず、高血圧の合併例での

福島県立医科大学 第一内科, \*第二解剖学: 〒960-1295 福島県福島市光が丘1

The First Department of Internal Medicine, \*The Second Department of Anatomy, Fukushima Medical University, Fukushima

Address for reprints: MARUYAMA Y, MD, FJCC, The First Department of Internal Medicine, Fukushima Medical University, Hikarigaoka 1, Fukushima, Fukushima 960-1295

Manuscript received February 15, 1999; revised July 15 and September 3, 1999; accepted September 6, 1999

み病変がみられると報告している。一方、心筋細胞の障害については、1974年にReganら<sup>9)</sup>が、虚血に無関係に糖尿病患者の心筋の組成や機能に変化が生じるという代謝障害説を唱えた。その後、心筋内高エネルギー含有量の減少<sup>10)</sup>、筋小胞体のCa取り込みの低下およびアクトミオシン<sup>11)</sup>、ミオシン・アデノシントリホスファターゼ (adenosinetriphosphatase: ATPase) 活性の低下<sup>12)</sup>などが報告されており、これらが心筋の収縮弛緩障害の原因として挙げられてきた。また、心筋細胞内ミトコンドリアでの脂肪酸代謝異常、すなわちアセチルCoAの $\beta$ 酸化の障害はアデノシン5'-三リン酸 (adenosine 5'-triphosphate: ATP) 転写を障害し、エネルギー産生障害による心機能障害を引き起こすと考えられている<sup>13-15)</sup>。さらに心筋筋質膜のNa<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>-ATPase活性の低下<sup>16,17)</sup>も報告されている。しかし、糖尿病の心筋細胞障害に対する明確な病理形態学的報告は乏しい。そこで我々は糖尿病患者の生検心および糖尿病ラット心光学顕微鏡、電子顕微鏡で詳細に検索し、糖尿病における心筋細胞障害を形態面より検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象

対象患者は1988年-1991年の間に心疾患が疑われて心臓カテーテル検査を施行され、承諾を得て、右心室より心筋生検が行われた症例の中より、既往歴に糖尿病がある患者を対象とした。しかしこれらの患者には高血圧の合併が半数みられたため、高血圧の既往歴も検索対象とした。糖尿病、高血圧の既往がなく、さらに冠動脈造影上、狭窄所見を有さず、心筋生検上も結果的には病的所見を示さなかった症例を対照群(6例)とした。つぎに高血圧は認められるものの、心カテーテル所見が正常で、かつ心肥大、高血圧性心疾患を疑わせる所見が認められなかった症例を高血圧群(3例)、糖尿病の既往があり、入院時検査で空腹時血糖値120mg/dl以上、かつ、75g経口ブドウ糖負荷試験で2時間値が140mg/dl以上の血糖値を示した症例を糖尿病群(16例)とした。さらにこの糖尿病群には高血圧を示す症例が含まれていたため、糖尿病単独群と高血圧合併糖尿病群に分け、全体として以下のごとく4群に分類した。

1) 対照群 6例: 糖尿病(-), 高血圧(-)

2) 高血圧群 3例: 糖尿病(-), 高血圧(+)  
3) 糖尿病単独群 8例: 糖尿病(+), 高血圧(-)  
4) 高血圧合併糖尿病群

8例: 糖尿病(+), 高血圧(+)

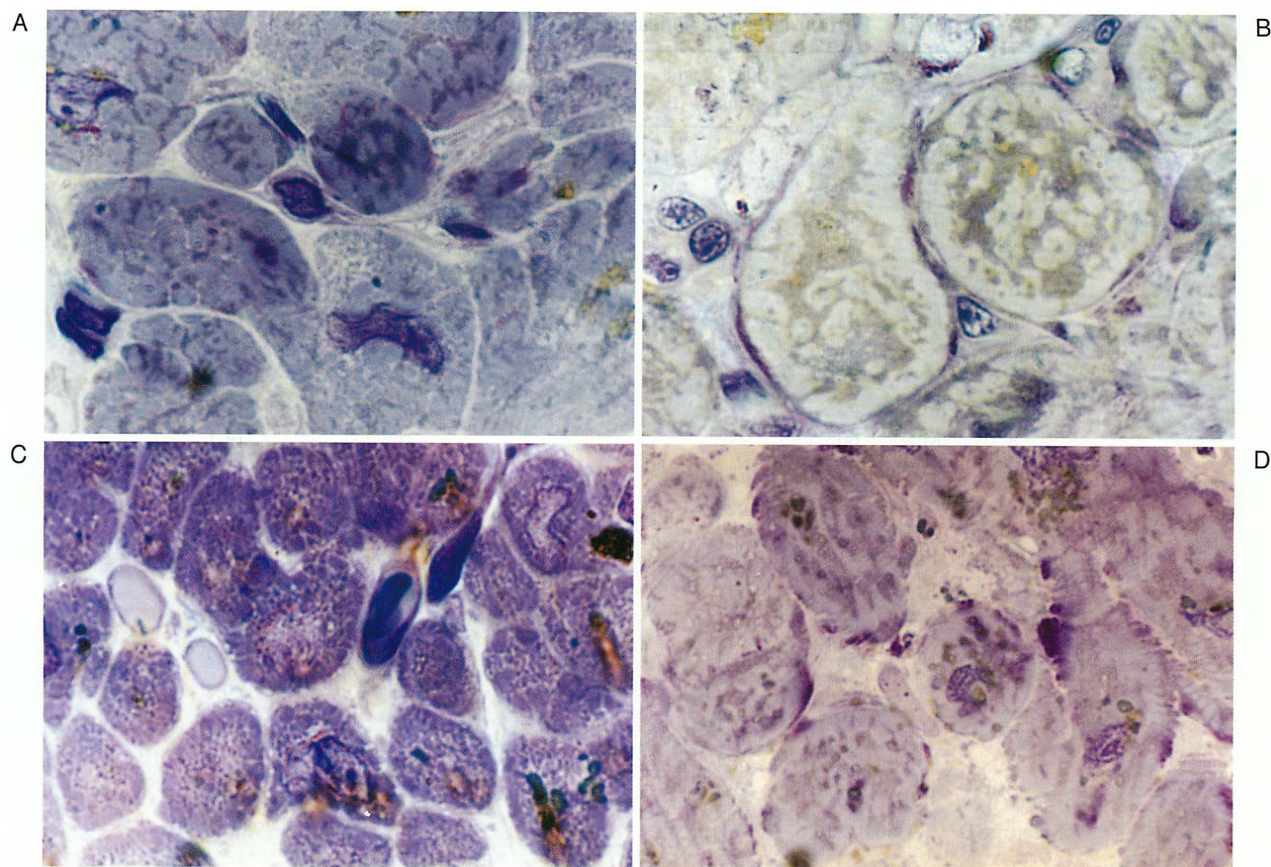
なお、高血圧は、ここでは収縮期血圧160mmHg以上、または拡張期血圧95mmHg以上とした。糖尿病の罹病期間については、糖尿病単独群と高血圧合併糖尿病群は、それぞれの平均が12.7年(1-25年)、7.6年(1-21年)とやや糖尿病単独群が高血圧合併糖尿病群に比べ長かった。心筋生検で得られた材料はグルタルアルデヒド固定したのち、エポキシ包埋し、semithin切片を作成し、トルイジンブルー染色をした。またパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオシン染色を行い、光学顕微鏡で心筋細胞の大きさを測定した。計測には核がみられる心筋細胞の短径をマイクロメーターで1症例に対してそれぞれ30個ずつ計測し、その平均値を算出してから統計的処理を行った。

### 2. 動物実験

Wister rats(週齢7週)の尾静脈よりストレプトゾトシン50mg/kgを注射後、2週、12週、24週後(各7例)に8%パラホルムアルデヒド液/リン酸緩衝化生理食塩水で灌流固定した。

また同週齢のWister ratsで、2週(生後9週)、12週(生後19週)、24週後(生後31週)の各7例を対照とした。それぞれより摘出された心組織を凍結し、クリオスタットで7 $\mu$ mごとに薄切tetramethylrhodamine B isothiocyanate (TRITC)-phalloidin(Sigma製)を用いて、Fアクチン蛍光染色を施行した。さらに心筋細胞横断像を蛍光顕微鏡撮影した写真を画像解析装置(Dedigrama Mode G, Mutoh製)でアクチン蛍光陽性部分の計測を行い、細胞全体の大きさに対する割合を表した。また一部の心組織材料はパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオシン染色およびアザン染色し、核の存在する心筋細胞の短径をマイクロメーターで各週齢の1個体について30個計測し、その平均値を算出してから、統計処理を行った。

なお数値はすべて平均 $\pm$ 標準偏差で表し、有意差検定には一元配置分散分析法、Bartlett検定を用い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありと判定した。



**Fig. 1** Photo micrographs depicting toluidine blue staining of the cardiac muscle tissue

- A: a control patient (Case 6)  
 B: a patient with hypertension (Case 9)  
 C: a patient with diabetes mellitus (Case 13)  
 D: a patient with hypertensive diabetes (Case 24)  
 Original magnification  $\times 40$ .

## 結 果

### 1. 対 象

それぞれの症例の生検標本よりパラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオシン染色した。またエボン包埋より作成された semithin 切片をトルイジンブルー染色した。Fig. 1 はトルイジンブルー染色による組織像で、それぞれの群の代表的な標本からの光顕写真である。A は対照群、B は高血圧群、C は糖尿病単独群、D は高血圧合併糖尿病群である。染色されたプレパラート標本を光学顕微鏡で観察し、核がみられる心筋細胞の短径をマイクロメーターで30個ずつ測定し平均値を算出した (Table 1) 各群の平均値が、対照群では  $12.2 \pm 0.5 \mu\text{m}$ 、高血圧群では  $13.7 \pm 0.8 \mu\text{m}$ 、糖尿病単独群では  $9.0 \pm 1.7 \mu\text{m}$ 、高血圧合併糖尿病群

では  $11.9 \pm 2.0 \mu\text{m}$  であった。それぞれの群の間には有意差はなかったが、糖尿病単独群が最も小さかった。また年齢、性差、罹病期間および治療方法の違いによる相関関係はなかった。

### 2. 動物実験

Table 2 に示したように、ストレプトゾトシン糖尿病ラットは体重、心重量とも著明に減少していた。またパラフィン切片をヘマトキシリン・エオシンおよびアザン染色し、核の存在する心筋細胞の短径を計測し、Table 2 に示した。ストレプトゾトシン糖尿病ラットの心筋細胞の短径は、対照群対糖尿病群は、2週後で  $5.4 \pm 0.2$  vs  $5.2 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 、12週後で  $5.9 \pm 0.1$  vs  $4.9 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 、24週後で  $5.7 \pm 0.1$  vs  $4.0 \pm 0.2 \mu\text{m}^*$  ( $*p < 0.05$  vs 同週齢対照群) と週齢が進むに従って糖

Table 1 Patient characteristics and diameter size of myocytes

Group	Case	Sex	Age (yr)	DM (years onset)	After therapy	HT	Diameter size (mean) of myocytes ( $\mu\text{m}$ )
Control	1	M	40	—	—	—	13.2
	2	F	54	—	—	—	10.6
	3	F	56	—	—	—	13.0
	4	M	60	—	—	—	10.1
	5	F	63	—	—	—	13.3
	6	M	83	—	—	—	13.0
Mean $\pm$ SD		59.3 $\pm$ 3.6					12.2 $\pm$ 0.5
HT	7	M	52	—	—	+	12.4
	8	M	60	—	—	+	14.1
	9	F	75	—	—	+	14.5
Mean $\pm$ SD		62.3 $\pm$ 9.9					13.7 $\pm$ 0.8
DM	10	F	41	+( 1)	Diet	—	8.0
	11	F	71	+( 3)	Sulfonylurea	—	12.3
	12	F	66	+( 9)	Sulfonylurea	—	6.5
	13	M	56	+(12)	Insulin	—	7.2
	14	F	65	+(14)	Insulin	—	9.7
	15	M	77	+(24)	Insulin	—	9.7
	16	M	74	+(25)	Diet	—	7.8
17	F	74	+(25)	Insulin	—	9.0	
Mean $\pm$ SD		66.0 $\pm$ 16.6		(14.1 $\pm$ 9.4)			9.0 $\pm$ 1.7
DM+HT	18	F	66	+( 1)	Diet	+	12.6
	19	M	66	+( 2)	Diet	+	12.8
	20	M	58	+( 3)	Diet	+	14.5
	21	M	71	+( 3)	Sulfonylurea	+	12.9
	22	M	50	+( 7)	Insulin	+	10.7
	23	F	69	+(11)	Sulfonylurea	+	9.7
	24	F	51	+(13)	Diet	+	12.7
	25	F	54	+(21)	Diet	+	11.5
Mean $\pm$ SD		60.6 $\pm$ 7.4		(7.6 $\pm$ 6.8)			11.9 $\pm$ 2.0

HT=hypertension; DM=diabetes mellitus; M=male; F=female.

尿病群で減少した(Fig. 2).

心筋組織内の線維化はとくにみられなかった。

### 3. アクチン蛍光抗体染色所見

クリオスタットで薄切した凍結切片をTRITC-phalloidinでアクチン染色した。2週, 12週, 24週と週齢の経過とともに, 心筋細胞の大きさにやや縮小傾向がみられるようになった。さらに心筋細胞横断面内のアクチン線維の配列の乱れがみられ, 蛍光陽性部分が減少していた。Fig. 3は24週齢ストレプトゾトシン糖尿病ラット(Fig. 3-下)と同週齢の対照ラット(Fig. 3-上)

の横断面の心筋細胞内Fアクチン蛍光抗体染色像である。心筋細胞内のFアクチンの蛍光陽性部分の占める面積の割合は減少していた。Table 2には心筋細胞横断面のアクチンの蛍光陽性部分の割合を示したが, 上述したアクチン蛍光陽性部分の減少が糖尿病経過期間に応じ顕著となった。

## 考 察

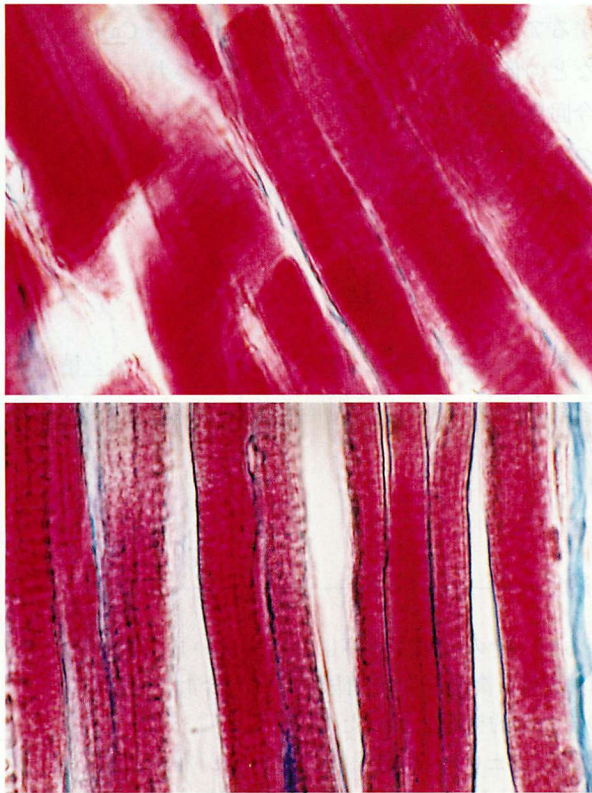
我々<sup>18)</sup>は1997年, 生検心を用いて, 光学顕微鏡, 電子顕微鏡的検索を行い, 血管の基底膜の肥厚, 心筋組織内の線維化, 心筋細胞内のメタクロマジーを示す

**Table 2** Characteristics of rats and histological findings of rat cardiac fibers

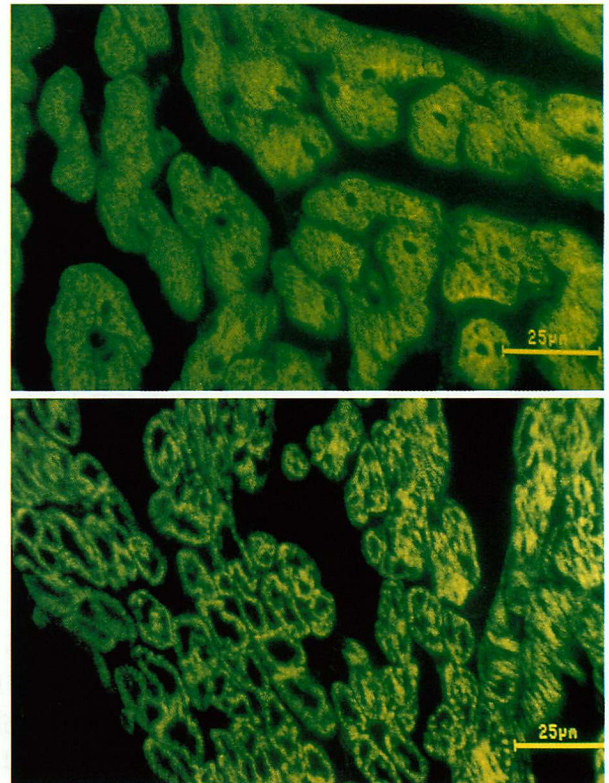
	2W		12W		24W	
	C (n=7)	DM (n=7)	C (n=7)	DM (n=7)	C (n=7)	DM (n=7)
Body weight (g)	232±28	166±32*	322±3	122±2*	372±9	120±6*
Heart weight (g)	0.72±0.04	0.55±0.04*	0.97±0.1	0.64±0.08*	1.20±0.04	0.65±0.03*
Blood sugar (mg/dl)	107±10.3	384±73.4*	99.9±11.7	465±41.9*	116±12.3	529±54.7*
Size of myocytes ( $\mu\text{m}$ )	5.4±0.2	5.2±0.3	5.9±0.1	4.9±0.2	5.7±0.1	4.0±0.2*†
Actin immunofluorescence (%)	92.8±2.8	89.9±3.9	93.6±4.2	77.9±6.4	94.2±3.6	56.8±5.7*†

Values are mean  $\pm$  SD. \* $p < 0.05$  vs control. † $p < 0.05$  vs 2W DM rats.

2W=rats at 2 weeks, 12W=rats at 12 weeks, 24W=rats at 24 weeks; C=control. Other abbreviation as in Table 1.



**Fig. 2** Photo micrographs showing cardiac muscles by azan staining in a control rat at 24 weeks(upper) and a diabetes rat at 24 weeks(lower)  
Original magnification  $\times 40$ .



**Fig. 3** Photo micrographs showing actin fibers in cardiac muscle (transverse section) by immunofluorescence in a control rat at 24 weeks(upper) and a diabetes rat at 24 weeks(lower)  
Original magnification  $\times 40$ .

トルイジンブルー陽性物質が糖尿病症例においては増加し、高血圧合併例ではさらに増強することを報告した。それと同時に心筋細胞の短径は対照群、高血圧群、糖尿病単独群、高血圧合併糖尿病群の間で有意差は認められないが、糖尿病単独群の心筋細胞が最も小さい

ことを報告した。

そこで今回ストレプトゾトシン糖尿病ラットを使って心筋細胞について検索を行い、同様の所見を得たので併せて報告した。右心室生検組織より得られた心筋細胞の短径は正常では、10–15  $\mu\text{m}$ とされている<sup>19,20</sup>。

この基準からすると、対照群、高血圧群、高血圧合併糖尿病群は正常範囲内にある。高血圧による心臓の変化については求心性心肥大が報告されており、均一性心筋細胞の肥大と組織の線維化が知られている<sup>21,22)</sup>。しかし今回の結果では、高血圧例で最も心筋径が大きかったが、心筋径の異常増大は認められなかった。その理由の一つとして、右心室からの生検組織であるため高血圧という圧負荷を直接には受けていない可能性がある。ただし、アンジオテンシンⅡ、カテコールアミンを含め液性因子を介した影響はありうるので、今後症例を重ねてさらなる検討が必要と思われる。

糖尿病症例では心筋細胞径が正常値より小さい傾向にあることが見出されたが、これは心筋細胞の代謝系に何らかの異常が生じて、細胞の萎縮が引き起こされているものと推測される。そこで我々は、ストレプトゾトシン糖尿病ラットを作製し、心筋細胞の大きさを計測した。その結果、経時的に心筋細胞は小さくなるが見出され、糖尿病状態の持続が細胞形態に著しい影響を与えることが証明された。さらに心筋細胞内のアクチン線維をファロイジン蛍光染色で検索したところ、心筋細胞内のアクチン線維が経時的に減少していることが観察された。これは心筋細胞萎縮の一つの要因ではないかと思われる。しかし、組織重量当たりのアクチン定量などの生化学的解析を行っていないので、今後さらに検討を加えなければならないと考え

る。

ストレプトゾトシンの心筋細胞に対する毒性も問題となる。しかしこれに関してはFeinら<sup>23,24)</sup>やGarberら<sup>25)</sup>によると、ストレプトゾトシン糖尿病ラットにインスリンを投与し、減少していた体重や心重量が正常化し、心筋細胞内の生化学物質も正常化したことにより、ストレプトゾトシンが心筋細胞に対して可逆性を持ち、毒性が少ないのではないかと現在考えられている。今回我々の結果においても、心筋内のアクチン線維や心筋細胞のサイズの減少は心重量の減少と連動していると考えられた。

今回我々はミオシン線維については観察していないが、糖尿病心において現在までに筋原線維の運動に関するアクトミオシン、ミオシンATPase、Ca取り込みなどの低下について多くの報告がなされている<sup>10-17)</sup>。今回見出されたこのアクチン線維の障害の持つ意義については不明であるが、アクチン線維の減少を介して、心機能の低下も起こりうるのではないかと考えられた。

## 結 語

糖尿病患者症例およびストレプトゾトシン糖尿病ラットにおいても心筋細胞径が小さいことが認められた。

## 要 約

糖尿病は心機能障害の重要な一因子と考えられているが、その詳細な機序についてはいまだ明らかではない。そこで対照6例、高血圧3例、糖尿病単独8例、高血圧合併糖尿病8例の合計25症例の心筋生検標本と糖尿病ラット心を用いて心筋細胞の組織学的検討を行った。

症例の心筋細胞の短径(心筋細胞の大きさ)は、対照群 $12.2 \pm 0.5$ 、高血圧群 $13.7 \pm 0.8$ 、糖尿病単独群 $9.0 \pm 1.7$ 、高血圧合併糖尿病群 $11.9 \pm 2.0 \mu\text{m}$ と有意差はなかったが、糖尿病単独群が最も小さかった。併せて病理形態学的検討を行うためにストレプトゾトシン糖尿病ラットを作製し心筋細胞の大きさを計測したところ、対照群対糖尿病群(各群7例)では、2週後で $5.4 \pm 0.2$  vs  $5.2 \pm 0.3$ 、12週後で $5.9 \pm 0.1$  vs  $4.9 \pm 0.9$ 、24週後で $5.7 \pm 0.1$  vs  $4.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$ と、週齢が進むに従って糖尿病群で減少した。心筋細胞内のFアクチン蛍光陽性部分を定量化すると、2週後の糖尿病群 $89.9 \pm 3.9\%$ 、12週後の糖尿病群 $77.9 \pm 6.4\%$ 、24週後の糖尿病群 $56.8 \pm 5.7\%$ と週齢に伴って減少していた。

このように糖尿病患者症例で心筋細胞径が小さいことが観察され、同様にストレプトゾトシン糖尿病ラットの心筋細胞径においても小さいことが認められたが、その機序として、細胞基本骨格であるFアクチンの減少が一因である可能性が考えられた。

## 文 献

- 1) Blumenthal HT, Alex M, Goldenberg S: A study of lesions intramural coronary by branches in diabetes mellitus. *Arch Pathol* 1960; **70**: 27-42
- 2) Rubler S, Dlugash J, Yuceoglu YZ, Kumral T, Branwood AW, Grishman A: New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis. *Am J Cardiol* 1972; **30**: 595-602
- 3) Hamby RI, Zonerach S, Sherman L: Diabetic cardiomyopathy. *JAMA* 1974; **299**: 1749-1754
- 4) Silver MD, Huckell VF, Lorber M: Basement membranes of small cardiac vessels in patients with diabetes and myxoedema: Preliminary observations. *Pathology* 1977; **9**: 213-220
- 5) Fisher VW, Hendrick BB, Leskiw ML: Capillary basal lamina thickness in human myocardium. *Diabetes* 1979; **28**: 718-719
- 6) Factor SM, Minase T, Sonnenblick EH: Clinical and morphological features of human hypertensive-diabetic cardiomyopathy. *Am Heart J* 1980; **99**: 446-458
- 7) Factor SM, Bhan R, Minase T, Wolinsky H, Sonnenblick EH: Hypertensive-diabetic cardiomyopathy in the rat: An experimental model of human disease. *Am J Pathol* 1981; **102**: 219-228
- 8) van Hoeven KH, Factor SM: A comparison of the pathological spectrum of hypertensive, diabetic, and hypertensive-diabetic heart disease. *Circulation* 1990; **82**: 848-855
- 9) Regan TJ, Ettinger PO, Khan MI, Jesrani MU, Oldewurtel HA, Weber M: Altered myocardial function without ischemia in dogs. *Circ Res* 1974; **35**: 222-237
- 10) 飯村民郎: 糖尿病における心機能異常の成因に関する研究: アロキササン糖尿病ラット心筋細胞膜, 筋小胞体のCa<sup>2+</sup>輸送異常及びインシュリン治療の効果について. *慈恵医大誌* 1986; **101**: 603-614
- 11) Pierce GN, Dhalla NS: Cardiac myofibrillar ATPase activity in diabetic rats. *J Mol Cell Cardiol* 1981; **13**: 1063-1069
- 12) Dillmann WH: Diabetes mellitus induces changes in cardiac myosin of the rat. *Diabetes* 1980; **29**: 579-582
- 13) Mokhtar N, Rousseau-Mignerot S, Tancrede G, Nadeau A: Physical training attenuates phosphocreatine and log-chain acyl-CoA alterations in diabetic rat heart. *J Appl Physiol* 1993; **74**: 1785-1790
- 14) Pieper GM, Salhany JM, Murray WJ, Wu ST, Eliot RS: Lipid-mediated impairment of normal energy metabolism in the isolated perfused diabetic rat heart studied by phosphorus-31 NMR and chemical extraction. *Biochim Biophys Acta* 1984; **803**: 229-240
- 15) Rodrigues B, Cam MC, McNeill JH: Metabolic disturbances in diabetic cardiomyopathy. *Mol Cell Biochem* 1998; **180**: 53-57
- 16) Dhalla NS, Liu X, Panagia V, Takeda N: Subcellular remodeling and heart dysfunction in chronic diabetes. *Cardiovasc Res* 1998; **40**: 239-247
- 17) Barbey O, Gerbi A, Robert K, Mayol V, Pierre S, Paganelli F, Maixent JM: Immunological identification of Na, K-ATPase isoforms in nonfailing and failing myocardium. *Ann N Y Acad Sci* 1997; **834**: 656-657
- 18) Kawaguchi M, Techigawara M, Ishihata T, Asakura T, Saito F, Maehara K, Maruyama Y: A comparison of ultrastructural changes on endomyocardial biopsy specimens obtained from patients with diabetes mellitus with and without hypertension. *Heart Vessels* 1997; **12**: 267-274
- 19) Gerdes AM, Kriseman J, Bishop SP: Morphometric study of cardiac muscle: The problem of tissue shrinkage. *Lab Invest* 1982; **46**: 271-274
- 20) 廣江道昭: 特発性心筋症における心内膜心筋生検の病理組織学的所見と心機能・予後との定量的評価. *東女医大誌* 1977; **52**: 292-306
- 21) Anversa P, Loud AV, Giacomelli F, Wiener J: Absolute morphometric study of myocardial hypertrophy in experimental hypertension: II. Ultrastructure of myocytes and interstitium. *Lab Invest* 1978; **38**: 597-609
- 22) van Hoeven KH, Factor SM: A comparison of the pathological spectrum of hypertensive, diabetic, and hypertensive-diabetic heart disease. *Circulation* 1990; **82**: 848-855
- 23) Fein FS, Strobeck JE, Malhotra A, Scheuer J, Sonnenblick EH: Reversibility of diabetic cardiomyopathy with insulin in rats. *Circ Res* 1981; **49**: 1251-1261
- 24) Fein FS, Malhotra A, Miller-Green B, Scheuer J, Sonnenblick EH: Diabetic cardiomyopathy in rats: Mechanical and biochemical response to different insulin doses. *Am J Physiol* 1984; **247**(Suppl V): H817-H823
- 25) Garber DW, Everett AW, Neely JR: Cardiac function and myosin ATPase in diabetic rats treated with insulin T3, and T4. *Am J Physiol* 1983; **244**: H592-H598