

氏名（本（国）籍）	Ma Danfu（中華人民共和国）
主 指 導 教 員 氏 名	東京農工大学 教授 田 中 綾
学 位 の 種 類	博士（獣医学）
学 位 記 番 号	獣医博甲第596号
学 位 授 与 年 月 日	令和3年9月17日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	東京農工大学
学 位 論 文 題 目	Studies on Non-invasive Left Ventricle Function Evaluation in Hypertensive and Uremic Cardiomyopathy Rat Model (高血圧性心筋症および尿毒症性心筋症のラットモデル における左心室機能の非侵襲的評価に関する研究)
審 査 委 員	主査 東京農工大学 教授 打出 毅 副査 帯広畜産大学 教授 南 保 泰 雄 副査 岩 手 大 学 教 授 宇 塚 雄 次 副査 東京農工大学 教 授 田 中 綾 副査 岐 阜 大 学 准教授 柴 田 早 苗

学位論文の内容の要旨

近年、WHO の報告によると人の死因の上位を心臓病疾患が占めており、心臓病における正確な心機能評価の確立は大きな課題の一つとなっている。特に心臓超音波検査は心疾患を検出するための重要な非侵襲的検査であるが、従来の超音波検査項目では心機能を正確に評価・把握できていない。特に拡張機能の評価は心不全の正確な病態評価に重要であり、心不全患者の30～50%では左室収縮能が保持されている状態であっても既に左室拡張能が低下しているとする報告からもその重要性は理解される。従来の超音波検査項目では、拡張機能を正確に評価できない事が課題となっていたが、近年、心室内圧勾配（IVPG）による新しい拡張機能評価法が注目されており、心不全の病態解明に有用であると期待されている。IVPGは左心室内の相対的な圧力差推定法であり、左室内の二つの圧カテーテルを用いて計測することができる。IVPGは左房圧を上げずに左房から左室へと血液を輸送する“suction”と言われる機能の一部を担っており、拡張能の指標とされているが、観血的検査が必要となるため一般的臨床検査として利用されることはほとんどない。しかしながら、近年IVPGを超音波カラーMモード画像から解析できるようになったことで、臨床検査項目としての拡張能指標として注目されるようになった。そこで、本研究では心疾患を誘発させ、拡張機能を低下させたモデルラットを使用し、IVPGを基にした心機能評価を行うことにより、心疾患の病態解明を行なった。

第1章では、心拍数の変化がIVPGに与える影響について検証した。本来ラットの心拍は非常に速く、従来の指標では拡張機能を正確に評価することは困難であった。従来の指標と同様に、IVPGが心拍数に影響される事が懸念されたため、ラットの心拍数とIVPGの関連性について基礎的な検討を実施した。腹部大動脈を3-0シルク糸で縮窄させることにより後負荷を上昇させ、左室心筋肥大(左室拡張機能を低下)モデルラットを作製した。心拍数は麻酔深度を調節することにより変化させIVPGを測定した。その結果、心拍数のIVPGへの影響は有意ではなく、IVPG測定の際に意図的に心拍数を制御する必要はないことが明

らかとなった。

第2章では、薬剤治療効果判定へのIVPGの応用性について検討を行った。第1章と同様の方法で腹部大動脈を3-0シルク糸で縮窄させることにより左室心筋肥大(左室拡張機能を低下)モデルラットを作製した。心機能の改善に汎用されている漢方薬のSalvianolic Acid B (Sal B; 5 mg/kg/day, 腹腔内投与, Danshen DuofensuanYan 100mg, GreenValley Inc, 上海, 中国)を投与し, その前後でIVPGの変化を検討した。心臓に対する圧力過負荷はextracellular signal-regulated kinase (ERK; 細胞外シグナル調節キナーゼ)の変化を活性化し, GATA4(心筋の細胞分裂やアポトーシスや分化に関与している転写コアクチベーター)の発現を促進して心不全を引き起こすことが知られており, Sal-Bは, ERKおよびGATA4のレベルを下げることにより, *in vivo*および*in vitro*で心筋線維化および肥大を減少させることが証明されている。Sal-B治療群のIVPGは, 左室心筋肥大モデルラットのIVPGと比較し有意に低下しており (P=0.029), これらの変化は比較的治療初期から認められた。これらの結果から, IVPGは早期に拡張機能の変化を捉えることが可能であり, さらにSal Bの拡張機能に対しての治療効果を評価することが可能であった。

第3章では, ラットの腎臓を部分的に切除することにより尿毒症性心筋症モデルを作製し, 心筋症の病態をIVPGによって評価した。さらにSal Bを投与することにより, Sal Bの心筋症に対する効果を評価した。その結果, 心筋症へと移行する過程で心筋の機能的異常(心臓の拡張機能の低下)は形態学的異常(心筋肥大や心筋拡大)に先行して出現する事が明らかとなり, IVPGは, その初期過程で生じる機能的異常を検出する可能性が示された。また, Sal Bには心筋機能の悪化を防ぐ効果があることも明らかとなった。

現在, 人の死因となっている心疾患は, 心筋の拡張機能障害を誘発し心不全を引き起こす。心拡張機能の正確な評価はこれまで難しいとされてきたが, 多くの心疾患において心臓に形態学的異常に先行して拡張能の低下が報告され, 心不全の早期診断のためには正確な拡張機能の評価法が重要となる。本研究では, ラットモデルにおいても心臓の形態学的変化に先行して拡張能低下がおこることを証明し, IVPGによりその拡張機能低下を早期に検出することが可能であり, また治療効果判定法としても有用であると考えられた。今後, 獣医および人の臨床領域における拡張能評価の指標としても, その応用性が期待される。

審 査 結 果 の 要 旨

心不全患者の30~50%では, 心収縮能低下に先行して心拡張能の低下がみられ, 心不全の詳細な病態解明のためには心拡張能の正確な評価が求められる。心拡張能の評価法については, これまでに臨床応用性を考慮し非侵襲的な超音波検査による方法が検討されてきたが, 心拡張能を適切に評価することは難しかった。近年, 心室内圧勾配 (IVPG) に着目した新規評価法は, 心拡張能を正確に把握できる検査技術として注目されており, 心不全の病態解明にも有用と期待されている。そこで本研究では, 心疾患を誘発させ, 心拡張能を低下させたモデルラットを作製し, IVPGによる心機能評価法の特徴や臨床的有用性を検証するとともに, この評価法による心筋症の病態解明を行なった。

本研究は3つの章から構成されており, 第1章では, 心拍数の変化がIVPGに与える影響について検証した。ラットの心拍は非常に速く, このことが従来の評価指標に大きな影響を与え, 拡張機能を正確に把握することは困難であった。IVPGについても同様のことが懸念されたため, モデルラットにおいて心拍数とIVPGの関連性について検討を行った。腹部大動脈を縮窄し圧負荷をかけることにより左室肥大(左室拡張能低下)モデルラットを作製し, 心拍数を麻酔深度により人為的に変化させながらIVPGの測定を行った。その結果, 心拍数の変動に対しIVPGの有意な変化は認められず, IVPGは心拍数に影響されないことが明らかになった。

第2章では、薬剤治療効果判定へのIVPGの応用性について検討を行った。第1章と同様の方法で腹部大動脈を縮窄させることにより左室心筋肥大(左室拡張能を低下)モデルラットを作製した。心機能の改善に汎用されている漢方薬のSalvianolic Acid B (Sal B)を投与し、無治療群とIVPGについて比較検討した。その結果、IVPGによって早期に拡張能の変化を捉えることが可能であり、さらにSal Bの拡張能に対しての治療効果を評価することが可能であった。

第3章では、心筋症の病態評価と心筋症に対する薬剤治療評価へのIVPGの応用性について検討を行った。ラットの腎臓を部分的に切除することにより尿毒症性心筋症モデルを作製し、Sal B投与前後でのIVPGの変化を評価した。その結果、心筋症へと移行する過程で、拡張能の低下は心室肥大や心室拡大などの形態学的変化に先行して出現する事が明らかとなり、IVPGによって初期に生じる拡張能の異常を検出できることが示された。また、Sal Bには心筋症における心機能の悪化を防ぐ効果があることが明らかになった。

以上の結果から本論文では、超音波検査を用いたIVPG評価は、心拍数に影響されず心拡張障害を早期に、鋭敏に検出できる検査法であると結論付けている。

本研究の結果は、臨床領域においても外挿して応用できる可能性を示しており、心不全の早期発見に加え、正確な病態評価や治療効果の評価に道を開くものである。今後、獣医および人医療において、拡張能評価指標としての応用性が期待される。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Intraventricular pressure gradients change during the development of left ventricular hypertrophy: Effect of salvianolic acid B and beta-blocker
著 者 名 : Ma, D., Mandour, A.S., Yoshida, T., Matsuura, K., Shimada, K., Kitpipatkun, P., Uemura, A., Ifuku, M., Takahashi, K. and Tanaka, R.
学術雑誌名 : Ultrasound
巻・号・頁・発行年 : In Press

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Balloon valvuloplasty in two dogs with aortic valve stenosis showing congestive heart failure
著 者 名 : Yoshida, T., Matsuura, K., Goya, S., Ma, D., Shimada, K., Kitpipatkun, P., Takeuchi, A., Uemura, A. and Tanaka, R.
学術雑誌名 : Veterinarni Medicina
巻・号・頁・発行年 : 65(2):89-94, 2020
- 2) 題 目 : Effect of supra-nutritional selenium-enriched probiotics on hematobiochemical, hormonal, and Doppler hemodynamic changes in male goats
著 者 名 : Mandour, A.S., Samir, H., El-Beltagy, M.A., Abdel-Daim, M.M., Watanabe, I., Ma, D., Matsuura, K., Tanaka, R. and Watanabe, G.
学術雑誌名 : Environmental Science and Pollution Research
巻・号・頁・発行年 : 27(16):19447-19460, 2020
- 3) 題 目 : Basic study on improvement of plastic drape adhesion for surgery:

effect of adhesive layer thickness on drape detachment from wound edge

著者名 : Namiki, R., Uemura, A., Shimada, K., Yoshida, T., Ma, D., Kitpipatkun, P., Ogawa, S. and Tanaka, R.

学術雑誌名 : ANZ Journal of Surgery

巻・号・頁・発行年 : 90(6):1025-1029, 2020

- 4) 題 目 : Key factors of diastolic dysfunction and abnormal left ventricular relaxation in diabetic rats

著者名 : Kitpipatkun, P., Matsuura, K., Shimada, K., Uemura, A., Goya, S., Yoshida, T., Ma, D., Takahashi, K. and Tanaka, R.

学術雑誌名 : Journal of Medical Ultrasonics

巻・号・頁・発行年 : 47(3):347-356, 2020

- 5) 題 目 : Metformin prevents the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension by decreasing serum levels of big endothelin-1

著者名 : Yoshida, T., Matsuura, K., Goya, S., Ma, D., Shimada, K., Kitpipatkun, P., Namiki, R., Uemura, A., Suzuki, K. and Tanaka, R.

学術雑誌名 : Experimental and Therapeutic Medicine

巻・号・頁・発行年 : 20(69):149-157, 2020

- 6) 題 目 : Effects of individual and coexisting diabetes and cardiomyopathy on diastolic function in rats (*Rattus norvegicus domestica*)

著者名 : Kitpipatkun, P., Yairo, A., Kato, K., Matsuura, K., Ma, D., Goya, S., Uemura, A., Takahashi, K. and Tanaka, R.

学術雑誌名 : Comparative Medicine

巻・号・頁・発行年 : 70(6):499-509, 2020

- 7) 題 目 : Assessment of the cardiac functions using full conventional echocardiography with tissue doppler imaging before and after xylazine sedation in male shiba goats

著者名 : Mandour, A.S., Samir, H., Yoshida, T., Matsuura, K., Abdelmageed, H.A., Elbadawy, M., Al-Rejaie, S., El-Husseiny, H.M., Elfadadny, A., Ma, D., Takahashi, K., Watanabe, G. and Tanaka, R.

学術雑誌名 : Animals

巻・号・頁・発行年 : 10(12):2320, 2020

- 8) 題 目 : Tissue harvesting site effect on the canine adipose stromal vascular fraction quantity and quality

著者名 : Hendawy, H., Uemura, A., Ma, D., Namiki, R., Samir, H., Ahmed, M.F., Elfadadny, A., El-Husseiny, H.M., Chieh-J, C. and Tanaka, R.

学術雑誌名 : Animals

巻・号・頁・発行年 : 11(2):460, 2021