






氏名	桑木 恒
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
Redefining Diastolic Dysfunction Grading	
Combination of $E/A \leq 0.75$ and Deceleration Time $> 140$ ms and $E/\epsilon' \geq 10$	
(拡張能分類の再定義 $E/A \leq 0.75$ 、拡張早期波の減衰時間 $> 140$ ms、 $E/\epsilon' \geq 10$ )	
論文要旨	
(目的)	
<p>経胸壁心エコー図検査は左房機能や左室拡張能を評価することで予後の推定ができるため重要である。左室拡張能は僧帽弁通過血流の拡張早期波 (E 波) と心房収縮波 (A 波) の比である <math>E/A</math>、E 波減衰時間 (Dct: deceleration time)、僧帽弁輪運動速波である <math>\epsilon'</math> 波と拡張早期波 (E 波) との比である <math>E/\epsilon'</math> などによって正常型・弛緩障害型・偽正常型・拘束型の 4 群に分類される。しかし、全ての患者をこの 4 群に分類することはできず、分類不能群が生じる。この分類不能群の 7 割程度は <math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math> という条件を満たしているが、この群における左房機能、予後については明らかではない。我々は「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math> は新しい左室拡張能分類の一群になる」という仮説を考えた。二次元スペックルトラッキング法は非侵襲的かつ容易に左房機能評価を行える有用な手段である。本研究の目的は左房機能と予後の観点から「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」を満たす患者群が新しい拡張能分類の一群となりえるかどうかを検討することである。</p>	
(方法)	
<p>2009 年 1 月から 2009 年 5 月まで産業医科大学病院にて経胸壁心エコー図検査を受けた連続 2015 人を対象とし、心エコー図検査で得られた指標からそれぞれ左室拡張能分類を行った。また、左房に対し二次元スペックルトラッキング法を用いて収縮期・拡張期における最大左房容量、最小左房容量、左房収縮前左房容量、ストレイン、ストレインレート (SR<sub>e</sub>, SR<sub>a</sub>, SR<sub>s</sub>) を計測した。重複症例、不整脈症例、頻拍症例、E 波と A 波の癒合が見られる症例、僧帽弁疾患症例、心室ペーシング症例、画質不良例は除外した。一次エンドポイントを心臓死、二次エンドポイントを心血管イベント (心臓死・非致死的心筋梗塞・心不全や心血管病変による入院) とし、2012 年 10 月を予後調査終了日とした。</p>	
(結果)	
<p>2015 人のうち条件を満たした 1362 人を平均 <math>3.0 \pm 1.1</math> 年追跡した。従来の拡張機能分類では 318 人 (23%) が分類不能とされ、「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」群は 227 人 (17%) であり分類不能群の約 7 割を占めていた。最大左房容量、最小左房容量、左房収縮前左房容量は左室拡張能が低下するにつれて増加しており、「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」群は弛緩障害型と偽正常型の中間の値をとっていた。左房ストレイン・SR<sub>s</sub>・SR<sub>e</sub> は左室拡張能が低下するにつれて減少していくが、「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」群の左房ストレイン・SR<sub>s</sub>・SR<sub>e</sub> は弛緩障害型より有意に低く、偽正常型と同程度であった。また、左房収縮の指標である左房ブースター機能・SR<sub>s</sub> は弛緩障害型と同程度に保たれていた。予後調査の結果、1362 人のうち心臓死は 25 名、心血管イベントは 61 名で生じた。拘束型の予後は他の 4 群と比較して明らかに悪かった。「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」群の心臓死は偽正常型とほぼ等しく、心血管イベントは偽正常型と同程度であるが正常型・弛緩障害型よりは明らかに悪かった。また、従来の拡張能分類に「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」群を含めた新たな拡張能分類は心臓死/心血管イベントの強力な予後予測因子となり得ることが示された。</p>	
(考察)	
<p>左房容量、左房機能を拡張能分類の各群で比較検討すると「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」群は弛緩障害型と偽正常型の中間に位置すると考えられた。また、「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」群は <math>E/A \leq 0.75</math> を呈しているため弛緩障害型と同様の分類にされやすいが、予後は明らかに異なり偽正常型に近いため積極的な治療が必要であると考えられる。</p>	
(結果)	
<p>「<math>E/A \leq 0.75</math>、<math>Dct &gt; 140</math>ms、<math>E/\epsilon' \geq 10</math>」群は左房機能の観点、予後の観点からも新たな拡張能分類の一群となり得る。</p>	

## 学位論文審査結果要旨

氏 名	桑木 恒					
論文審査委員	主査 所属	生体情報 系	病態情報 部門	近藤 寛之		
	副査 所属	障害機構 系	病態機構 部門	田中 良哉		
	副査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	興梠 征典		
			系		部門	
			系		部門	

論文題目

Redefining Diastolic Dysfunction Grading

Combination of  $E/A \leq 0.75$  and Deceleration Time  $>140$  ms and  $E/e' \geq 10$

(拡張能分類の再定義  $E/A \leq 0.75$ 、拡張早期波の減衰時間  $>140$  ms、 $E/e' \geq 10$ )

学位論文審査結果要旨

経胸壁心エコー図は非侵襲的に心機能を評価し心臓疾患を診断するために有用であり、特に左心室の拡張不全では、その進行度を分類するための標準的な検査手段となっている。これまで左室拡張不全は、(1) 僧帽弁通過血流の拡張早期 (E) 波及び心房収縮 (A) 波の高さの比 (E/A)、(2) E 波の減衰時間 (DcT)、(3) 僧帽弁輪運動速度 ( $e'$ ) と拡張早期波速度 (E) との比 ( $E/e'$ )、の 3 つの指標を用いて、正常型 (Grade 0)、弛緩障害型 (Grade 1)、偽正常型 (Grade 2)、拘束型 (Grade 3) の 4 群に分類されている。しかし、これらの指標の組み合わせからは分類できない左室拡張不全が存在する。本研究では、特に分類不能群の中で「 $E/A \leq 0.75$ 、 $DcT > 140$  ms、 $E/e' \geq 10$ 」の基準を満たす症例を新分類群とし、既知の 4 群とは異なる左室拡張不全であることを明らかにした。

方法は、2009 年 1 月から 5 月までに産業医科大学病院で経胸壁心エコー図検査を受けた連続 1362 人を対象に心エコー図検査で得られた指標から左室拡張不全の分類を行った。2 次元スペクトルトラッキング法を用いて左房の容量、ストレイン、ストレインレートを計測した。心臓死と心血管イベント (心臓死・非致死的心筋梗塞・心不全や心血管病変による入院) の有無を調査した。

対象のうち新分類群は 227 人 (17%) であった。この群では、左房容量が弛緩障害型と偽正常型の間であり、左房ストレインは偽正常型と同等、左房のプースター機能は弛緩障害型と同等であった。3.0+1.1 年の追跡調査をおこなったところ、この群の 25 人に心臓死、61 人に心血管イベントがみられ、その予後は弛緩障害型より悪く、偽正常型と同程度であった。

本研究により、新分類群は左室拡張不全の症例のうち高い頻度で見られることが明らかとなった。また、新分類群はその左房機能からは拡張不全の新たな一群であるだけでなく、予後の観点より、より積極的な治療介入が必要である症例群であることが明らかとなった。得られた結果は左室拡張不全の臨床診断に画期的な成果を示し、将来の心臓疾患の治療に有益な成果をもたらす可能性が高いものと思われ、本学の学位論文として適格であると判断した。

平成 27 年 2 月 9 日

氏名	原山 信也
論文題目 (欧文の場合、和訳を付すこと)	
Analysis of G-protein-activated inward rectifying K <sup>+</sup> (GIRK) channel currents upon GABA <sub>B</sub> receptor activation in rat supraoptic neurons (ラット視床下部神経における、GABA <sub>B</sub> 受容体活性化による G タンパク活性化内向き整流性カリウム (GIRK) チャネル電流の解析)	
論文要旨	
【目的】	
GABA <sub>B</sub> 受容体は中枢神経系に広く分布し、シナプス伝達調節に重要な役割を果たしている。GABA <sub>B</sub> 受容体は7回膜貫通型のG蛋白共役型受容体であり、細胞内情報伝達機構としてはGi/oを介して、アデニル酸シクラーゼ抑制、電位依存性カルシウムチャネル抑制、G蛋白活性化内向き整流性カリウム (GIRK) チャネル活性化の3種が存在することが知られている。これまでに、ラット視床下部視索上核 (SON) ニューロンにおいて、GABA <sub>B</sub> 受容体の選択的アゴニストであるバクロフェンが電位依存性カルシウム (VDC) チャネルを抑制することを見いだした (Harayama <i>et al</i> , Journal of Physiology, 1998)。しかしラット SON ニューロンにおいては、未だ GIRK チャネル電流活性化に関する報告はない。そこで今回、SON ニューロンにおいて GIRK チャネルが機能的に存在しているかを検討するため、パッチクランプ法を用い GABA <sub>B</sub> 受容体活性化における GIRK チャネル電流の測定を電気生理学的に行った。	
【方法】	
ラット SON ニューロンを急性単離し、パッチクランプ法を用いて、ボルテジクランプモードでのバクロフェンにより活性化される電流の測定を行った。また、SON 領域における GIRK チャネル及び GABA <sub>B</sub> 受容体の mRNA の RT-PCR を行った。さらに、パッチクランプ法のカレントクランプモードを用い、シナプス後膜の GABA <sub>B</sub> 受容体活性化が SON ニューロン興奮に与える影響について検討した。	
【結果】	
パッチクランプ法のボルテジクランプモードでの測定では、50 mM の細胞外高カリウム環境において、バクロフェンは内向き電流を惹起した。このバクロフェンにより惹起された電流は内向き整流性を示し、GABA <sub>B</sub> 受容体の選択的アンタゴニストである CGP55845A によりブロックされた。また、内向き整流性カリウムチャネルブロッカーであるバリウム、及び選択的 GIRK チャネルブロッカーであるテルチアピンによりブロックされたことから、バクロフェンは GABA <sub>B</sub> 受容体活性化を介して GIRK チャネルを活性化していると考えられた。この GIRK チャネル電流は、N-エチルマレイミドの前処置により消失し、またピペット内に GTPγS を混入することで持続することから、Gi/o を介した反応であると考えられた。ラット SON 領域の RT-PCR では、GIRK1-4 の GIRK4 種全ての、また GABA <sub>B</sub> R1、GABA <sub>B</sub> R2 両方の mRNA を検出した。しかしながら、バクロフェンによる GIRK チャネル活性化の EC <sub>50</sub> は 110 μM と、VDC チャネル抑制の EC <sub>50</sub> より約 100 倍高かった。さらに、パッチクランプ法のカレントクランプモードでは、バクロフェンは膜電位や興奮頻度に明らかな影響を与えなかった。	
【考察】	
以上の結果から、ラット SON ニューロンにおいて GIRK チャネルが存在し、GABA <sub>B</sub> 受容体活性化により Gi/o を介し GIRK チャネルを活性化する細胞内機構が存在しているにも関わらず、高濃度の GABA <sub>B</sub> 受容体アゴニストを要することから、生体内における SON ニューロンの機能制御には、GIRK チャネルの生理学的関与は低いものと考えられた。GABA <sub>B</sub> 受容体活性化により、VDC チャネルは著明に抑制されるにも関わらず、GIRK チャネルは活性化されにくいというラット SON ニューロンの特徴は、Gi/o 共役型受容体を豊富に持つ他の中枢神経とは性質が異なっている。細胞外の浸透圧変化によりバソプレッシン及びオキシトシンの神経分泌制御機構を持つ SON ニューロンでは、GIRK チャネルによる遅延過分極電流が流れにくいことが、生体内で浸透圧感知に有利に作用している可能性も考えられた。	
【結論】	
ラット SON ニューロンに GIRK チャネルが存在し、GABA <sub>B</sub> 受容体活性化により GIRK チャネルは活性化するが、VDC チャネル抑制と比して著明にその効率は低く、ラット SON ニューロンに特有のものと考えられた。	

## 学位論文審査結果要旨

氏 名	原山 信也				
論文審査委員	主査 所属	生体情報 系	生理情報 部門	藤木 通弘	
	副査 所属	生態適応 系	機能調節 部門	井上 真澄	
		生態適応 系	機能調節 部門	柳原 延章	
		系	部門	◎	
		系	部門	◎	
<p>論文題目                  Analysis of G-protein-activated inward rectifying K<sup>+</sup> (GIRK) channel currents upon GABA<sub>B</sub> receptor activation in rat supraoptic neurons.                  (ラット視床下部神経における、GABA<sub>B</sub>受容体活性化による G 蛋白質活性化内向き整流性カリウム (GIRK) チャンネル電流の解析)</p> <p>学位論文審査結果要旨</p> <p>【背景】抑制性神経伝達物質である GABA の受容体のうち GABA<sub>B</sub> 受容体は G 蛋白質共役型受容体で、細胞内情報伝達機構として Gi/o を介し、アデニル酸シクラーゼの抑制、電位依存性カルシウム (VDC) チャンネルの抑制、G 蛋白質活性化内向き整流性カリウム (GIRK) チャンネル活性化の 3 つの働きを通じて細胞機能を調節していると考えられている。Gi/o のうち βγ サブユニットを介する VDC チャンネルの抑制と GIRK チャンネルの活性化は、多くの神経細胞において両方とも存在していることが報告されている。申請者らの以前の報告で、視床下部の視索上核 (SON) ニューロンでも GABA<sub>B</sub> 受容体が存在し、VDC チャンネルを βγ サブユニット介して抑制することが示されたが、GIRK チャンネルの存在および GABA<sub>B</sub> 受容体を介した活性化は SON ニューロンではこれまで明らかではなかった。本研究はラット SON ニューロンにおいて GIRK チャンネルが機能的に存在しているのか、パッチクランプ法 (Whole cell 記録) を用いて電気生理学的検討を行ったものである。</p> <p>【方法】Wistar ラットを用い、以下の 3 つの実験を行った。1) 急性単離した SON ニューロンを用い、電圧固定法によって GABA<sub>B</sub> 受容体選択的アゴニストであるバクロフェン投与により活性化される電流変化を観察する際に、細胞外を 50mM の高カリウム環境下とすることで GIRK チャンネルを介する電流を主として観察できるよう工夫し、GIRK チャンネルの性質を調べる実験。2) SON 領域の GIRK チャンネル及び GABA<sub>B</sub> 受容体の mRNA の RT-PCR による検出。3) 急性単離した SON ニューロンを用い、電流固定法によって SON ニューロンの膜電位とその興奮性に、GABA<sub>B</sub> 受容体刺激が与える影響についての検討。</p> <p>【結果と考察】1) バクロフェンによって惹起された内向き整流性電流は GABA<sub>B</sub> 受容体の選択的拮抗薬 (CGP55845A) および GIRK チャンネルのブロッカーによって消失した。さらに Gi/o を阻害する N-エチルマレイミドの前処置により消失し、GTPγS のピペット内への投与で持続した。2) SON 領域の RT-PCR で、GIRK1、GIRK2、GIRK3、GIRK4 と 4 種すべての GIRK チャンネル mRNA を、また GABA<sub>B</sub>R1、GABA<sub>B</sub>R2 両方の GABA<sub>B</sub> 受容体 mRNA を検出した。3) GABA<sub>B</sub> 受容体刺激は GABA<sub>A</sub> 受容体刺激と比べると、ラット SON ニューロンの膜電位や興奮性への影響は非常に少なかった。以上の結果から、ラット SON ニューロンにも GABA<sub>B</sub> 受容体が存在し、Gi/o (βγ) を介する VDC チャンネルの抑制だけでなく、GIRK チャンネルの活性化経路が存在することが明らかとなった。ただし、この経路が膜電位変化に及ぼす効率が著明に低いという SON ニューロンに特異的な性質については今後もさらなる検討が必要である。</p> <p>【審査結果】本研究は SON ニューロンにおける GIRK チャンネルの存在および GABA<sub>B</sub> 受容体を介した活性化を明らかにした点において新規性があり、さらにこの知見は SON ニューロンの生理学的役割のさらなる研究においてもたいへん重要であると考えられ、本学の学位論文として適格であると判断した。</p>					
平成 27 年 1 月 30 日					