

論文要旨

Prediction of Prognosis in the UM-X7.1 Hamster Model of Congestive Heart Failure Using the Tei Index

〔 Tei index による心不全自然発症ハムスターUM-X7.1 の生命予後予測 〕

余 波

【序論および目的】

うっ血性心不全自然発症小動物モデルにおいて心機能評価は困難である。しかしながら、Tei index は、僧帽弁流入血流と大動脈駆出血流速の時相解析より簡便に得られ、等容収縮期 (isovolumic contraction time: ICT) と等容拡張期 (isovolumic relaxation time: IRT) の和を駆出時間 (ejection time: ET) で除したもの $(ICT+IRT)/ET$ であり、心室の収縮能も拡張能も両方反映する総合的な心機能の指標である。そのために Tei index は心不全発症小動物モデルにおける心機能評価に対しても極めて有用である。心不全症例においては Tei index が生命予後の予測に有用であることが報告されている。しかし、心不全を発症する小動物モデルにおける Tei index の有用性については、未だ十分に検討されていない。本研究の目的は Tei index により心不全自然発症小動物モデルの生命予後の予測が可能かどうかを検討することである。

【対象および方法】

UM-X 7.1 ハムスターにおいては、15 週齢時の心機能は正常範囲内であるが、20 週齢時には心不全を伴わない心機能低下が出現し、およそ 27 週齢時に心不全を発症し、44 週齢時までには心不全により死亡する。19.7±0.4 週齢の雄性心不全モデルハムスター (UM-X 7.1) 48 匹において、腹腔内麻酔下で断層およびドプラ心エコー法を施行した。左室 Tei index および左室内径短縮率 (% fractional shortening: %FS) を計測した後、その生存期間を観察した。Tei index および %FS の中央値 (それぞれ 0.5 および 21%) により、UM-X 7.1 ハムスターを 2 群に分け、その生存期間と Tei index および %FS のそれぞれの相関を Kaplan-Meier 法を用いて比較検討した。

【結果】

- 1) すべてのハムスターは 21 週齢から 44 週齢の間に心不全を伴い死亡した。
- 2) %FS > 21% のハムスターは、%FS ≤ 21% 群より有意に生存期間が長く (8.1±6.0 vs. 5.1±3.0 週, $p < 0.01$)、Kaplan-Meier 法により 20 週齢時の %FS > 21% であるかどうかにより予後良好群と不良群の選別が可能であった ($p < 0.01$)。
- 3) Tei index ≤ 0.5 のハムスターは、Tei index > 0.5 群より有意に生存期間が長く

(8.7 ± 5.6 vs. 3.3 ± 2.4 週, $p < 0.01$)、Kaplan-Meier 法により 20 週齢時の Tei index ≤ 0.5 であるかどうかにより予後良好群と不良群の選別が可能であった ($p < 0.005$)。

- 4) 多変量ステップワイズ回帰 (Multivariate stepwise regression) 分析にて、%FS の減少および Tei index の増大は、それぞれが UM-X 7.1 ハムスターの心不全死の独立した予後予測因子であった ($p < 0.01$)。

【考察】

本研究では %FS の減少および Tei index の増大がともに心不全モデル UM-X 7.1 ハムスターの予後予測に有用であることを判明した。

Tei index によって分けた心不全モデルハムスターの予後不良群と良好群の生存曲線は、%FS によって分けたそれぞれの群の生存曲線と比較し、群間の生存曲線の重なりが少なく、また p 値もより小さかった。%FS は収縮期心機能のみを評価しているに対し、Tei index は収縮期および拡張期を含めた総合的心機能を評価している。心不全の予後は収縮期心機能にも拡張期心機能にも規定されているので、Tei index による心不全モデルハムスターの予後不良群と良好群の予後予測がより良好であったと考えられる。

左室収縮能低下や Tei index の増大が心不全症例の予後悪化の因子であることは知られている。本研究によって、%FS および Tei index は共に心不全発症小動物モデルの予後予測においても有用であることが判明した。

【結語】

Tei index により心不全自然発症小動物モデルの予後予測が可能である。

(Circulation Journal. 2005 Augst;69(8):991-3. 掲載)

論文審査の要旨

報告番号	医研第630号	氏名	余波
審査委員	主査	上村 裕一	
	副査	川平 和美	坂田 隆造

Prediction of Prognosis in the UM-X7.1 Hamster Model of Congestive Heart Failure Using the Tei Index

(Tei indexによる心不全自然発症ハムスターUM-X7.1の生命予後予測)

うっ血性心不全自然発症小動物モデルにおいて心機能評価はしばしば困難である。しかしながら、Tei indexは、僧帽弁流入血流と大動脈駆出血流速の時相解析より簡便に得られ、等容収縮期 (isovolumic contraction time: ICT) と等容拡張期 (isovolumic relaxation time: IRT) の和を駆出時間 (ejection time: ET) で除したもの (ICT+IRT) / ETであり、心室の収縮能も拡張能も両方反映する総合的な心機能の指標である。そのためにTei indexは心不全発症小動物モデルにおける心機能評価に対しても極めて有用である。心不全症例においてはTei indexが生命予後の予測に有用であることが報告されている。しかし、心不全を発症する小動物モデルにおけるTei indexの有用性については、未だ十分に検討されていない。本研究ではTei indexにより心不全自然発症小動物モデルの生命予後の予測が可能かどうかを検討している。

19.7±0.4週齢の雄性心不全自然発症ハムスター (UM-X 7.1) 48匹に対し、腹腔内麻酔下で断層およびドプラ心エコー法を施行している。左室Tei indexおよび左室内径短縮率 (% fractional shortening: %FS) を計測後、生存期間を追跡している。Tei indexおよび%FSの中間値 (それぞれ0.5および21%) により、UM-X 7.1ハムスターを2群に分け、その予後とTei indexおよび%FSの相関をKaplan-Meier法を用いて比較検討している。

本研究で得られた知見は以下の通りである。

- 1) すべてのハムスターは22週齢から44週齢の間に心不全により死亡した。
- 2) %FS > 21%のハムスターは、%FS ≤ 21%群より有意に生存期間が長く (8.1±6.0 vs. 5.1±3.0週, p < 0.01)、20週齢時の%FS > 21%であるかどうかにより予後良好群と不良群の選別が可能であった (p < 0.01)。
- 3) Tei index ≤ 0.5のハムスターは、Tei index > 0.5群より有意に生存期間が長く (8.7±5.6 vs. 3.3±2.4週, p < 0.01)、20週齢時のTei index ≤ 0.5であるかどうかにより予後良好群と不良群の選別が可能であった (p < 0.005)。
- 4) 多変量回帰分析にて、Tei indexの増大および%FSの減少は、それぞれがUM-X 7.1ハムスターの心不全死の独立した予後予測因子であった (p < 0.01)。

本研究によりTei indexの増大および%FSの減少がともに心不全自然発症UM-X 7.1ハムスターの予後予測に有用であることが判明した。

Tei indexによって分けた心不全自然発症ハムスターの予後不良群と良好群の生存曲線は、%FSによって分けたそれぞれの群の生存曲線と比較し、群間の生存曲線の重なりが少なく、またp値もより小さかった。%FSは収縮期心機能のみを評価しているのに対し、Tei indexは収縮期および拡張期を含めた総合的な心機能を評価している。心不全の予後は収縮期心機能にも拡張期心機能にも規定されているので、Tei indexによる心不全自然発症ハムスターの予後予測がより良好であったと考えられる。

本研究は、Tei indexおよび%FSが心不全発症小動物モデルの予後予測にも有用で、今後の小動物を用いた基礎研究におけるTei indexの有用性を明らかにした。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	医研第630号	氏名	余波
審査委員	主査	上村 裕一	
	副査	川平 和美	坂田 隆造

主査および副査の3名は、平成18年6月28日、学位請求者 余波 君に対して論文の内容について質疑応答を行うと共に、関連事項について試問を行った。具体的には以下のような質疑応答がされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

- 【質問1】 小動物の心エコーを用いた Tei index 測定における誤差は問題にならないですか？
 【回答】 Tei index の測定誤差に関しては、intra-observer および inter-observer variability は約 5% および 7% でした。
- 【質問2】 この研究では心機能低下を認めるが心不全症状を認めない 19~20 週齢のハムスターを用いていますが、もっと早い段階で同様の検討が可能でしょうか？
 【回答】 予備実験では 10・15・17~18・19・22 週齢のハムスターの Tei index を計測しました。15 週までは、Tei index もほぼ正常で、17~18 週では多少の異常はあっても個体間のばらつきが少なく、19 週で異常値を示す個体も多く個体間のばらつきも大きいことが解りました。心機能に個体間のばらつきがないとこの研究は困難と思われるので、19 週より早い時期のハムスターを用いて Tei index による予後予測するのは難しいと思われました。以上の理由で 19~20 週齢のハムスターを用いました。
- 【質問3】 Tei index は ICT・ET・IRT から構成されますが、ICT・ET・IRT のどれが最初に異常になりますか、この実験では Tei index と予後に相関がありました。Tei index の構成因子のどれが予後と一番関係していますか？
 【回答】 今回実験では、ECG の記録が困難であったため、ICT、IRT の正確な計測はできていません。従って、実験結果がどの Tei index の構成因子と一番関係するかは今回は不明でした。これは今後研究の課題であると思います。
- 【質問4】 Tei index と予後との関連については臨床研究で既になされていますが、なぜ臨床研究の後に動物実験を行ったのですか？
 【回答】 温熱療法の介入により、心不全ハムスターの予後は改善されるかなど、温熱療法に関する一連の実験の前段階の実験としています。また、心不全小動物モデルにおいても Tei index が有用であるかどうかを検討することも目的としています。
- 【質問5】 断層心エコー図の時間分解能について、特にフレームレート数に関心があります。カラー Doppler 心エコー図の時間分解能はこのハムスターのもつ高心拍数下での測定に耐えられますか？
 【回答】 カラー Doppler 心エコー図は断層心エコー図より、更に時間分解能が低下しますので、カラー Doppler 心エコー図がハムスターの高心拍数下での測定に耐えるということではありません。しかし、カラー Doppler 心エコー図はパルス Doppler 心エコー図のサンプルボリュームの位置確定に用いるのみです。パルス Doppler 心エコー図の時間分解能は極めてよく、ハムスターの高心拍数にも十分耐えられます。
- 【質問6】 いくつかの Tei index に関する発表を見ると、発表毎にあるいは対象毎に良い群と悪い群の境界値が違いますが、対象毎に境界値が異なるのですか？
 【回答】 この心不全自然発症ハムスターについての実験ですが、対象となった全ハムスターの中間値を用いて 2 群に分けています。これは標準的な方法です。これまで異なる Tei index の診断基準値が発表されてきたのは、対象の中間値や最も良好な診断が得られる値が発表されてきたからです。異なる疾患における予後不良群・有心不全群などを予測するためには、それぞれの疾患で異なる基準値を用いる方が良いと思います。
- 【質問7】 このハムスターが心不全を発症する機序は何ですか？病的にはどのような変化がありますか？
 【回答】 このハムスター (UM-X7.1) は元来筋ジストロフィを有するハムスターで、それが心筋も障害し、心機能低下をきたすことより心不全自然発症ハムスターとして用いられるようになりました。ハムスターの週齢が増加するとともに、病理学的には、心拡大・左室壁菲薄化が出現し、心筋細胞の肥大や萎縮・間質の繊維化などを認められます。

最終試験の結果の要旨

- 【質問 8】 ハムスターの心不全症状として、どんな症状がありますか？
【回答】 摂食の減少、活動性低下、体重増加、失神発作、腹水の増加、下大静脈拡大、心房内血栓などの症状が認められ、心不全症状と思われます。
- 【質問 9】 正常ハムスターの寿命はどのくらいですか？この心不全モデルハムスターは飼育しているものか、それとも購入したものでしょうか？
【回答】 正常心機能を有する Golden hamster の寿命は約 2 年であり、この心不全モデルハムスターの寿命は一年弱です。このハムスターは本大学の動物研究施設で飼育しているものです。
- 【質問 10】 この実験では %FS を使っているのはなぜですか？左室駆出率の測定は小動物では困難ですか？
【回答】 %FS は駆出率よりも計測が簡便です。%FS は局所的な心機能異常を有する心筋梗塞症などの場合には問題がありますが、この心筋症モデルハムスターにおける全体的な心機能低下の評価には大きな問題はないと考えています。左室駆出率の計測はやはり困難です。小動物の心エコー図画像がしばしば良好でないことと心拍数が非常に高いために拡張末期と収縮末期を断層心エコー図で捉えることが困難のことがその理由です。
- 【質問 11】 実験で用いた心エコー機器は人間用ですか？それとも動物用ですか？
【回答】 人間用の通常のエコー機器で、小児用の高周波数プローブを使用しました。
- 【質問 12】 本研究の今後の展開における有用性は何ですか？
【回答】 本研究では、心機能の異なる動物の予後に有意差が判明しました。このことは、心不全に対するインターベンション、薬物の効果などをこの動物モデルで評価するときには有用と思われます。
- 【質問 13】 この UMX7.1 ハムスター以外に、ほかの心不全動物モデルはありますか？
【回答】 心不全小動物モデルとしては、左前下行枝結紮による急性心筋梗塞マウスがあります。また、小動物ではありませんが、頻拍ペーシングを続けたり β -ブロッカー投与による心不全動物モデルがあります。
- 【質問 14】 死亡したハムスターはすべて心不全によるものですか？
【回答】 このハムスターは浮腫、腹部腫脹（腹水による）など、心不全の症状が出てから死亡しましたので、心不全死と考えられます。
- 【質問 15】 この実験では、実際にどのように心エコー検査を行っているのですか？
【回答】 ペントバルビタール 50mg/kg を腹腔内に注射して、約 1～2 分で麻酔の効果が出現し、約 20 分前後維持できます。足をテープで軽く固定し伸展させたうえで心エコーを行いました。
- 【質問 16】 胸部の毛を剃っていますか？
【回答】 より短い時間で、より少ないストレスの状態で行うため、また、ハムスターの胸部の毛が短く検査にほとんど影響を与えていませんので、この実験では、ハムスターの胸部の毛はそらずに、ゼリーを用いて検査を行っています。

以上の結果から、3名の審査委員は本人が大学院博士課程修了者としての学力と識見を十分に具備しているものと判断し、博士（医学）の学位を与えるに足る資格をもつものと認めた。