

審査の結果の要旨

氏名 大津 裕

本研究は心臓の生理学的機能調節および心疾患治療に重要な役割を果たしていると考えられる β 1 アドレナリン受容体の機能についてより詳細に解析を行うために、新規に作成された心筋細胞特異的 β 1 受容体ノックアウトマウスの生理学的特性の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. β 1 受容体の全身ノックアウトマウスは8~9割が胎生致死となることが既知であるが、本研究で用いられた心筋細胞特異的 β 1 受容体ノックアウトマウスは β 1 受容体の遺伝子である *Adrb1* に loxP 配列が挿入されたマウスに対して、心筋細胞のみにおいて機能する α MHC プロモーターを利用して Cre を発現させることにより、条件的ノックアウトとしており、作製されたマウスの収率や、体重・心重量に大きな低下がないことが示された。
2. 新規に作成されたノックアウトマウスであるため、心臓を検体として RT-PCR を行い、 β 受容体の1~3のサブタイプについて mRNA の発現量を測定したところ、 β 1 受容体の mRNA においてのみ著明な発現の低下が認められた。腎臓および脳を検体として同様に RT-PCR をおこなったが有意な発現の差は認められず、心筋細胞特異的なノックアウトが機能していることが示された。
3. β 1 受容体のシグナルの影響を受けることが既知である遺伝子について、同様に心臓を検体として RT-PCR を行い mRNA の発現を検討したところ、*SerCA2A* および *RyR* についてはノックアウトマウスにおいて有意に発現が低下していることが示された。
4. 作成されたノックアウトマウスにおいて圧・容積曲線を測定し、baseline の生理学的循環パラメーターを算出したところ、収縮能の指標となる EF (駆出率)、dP/dt max/IP (左室内圧時間変化率の最大値を血圧補正した値) においてノックアウトマウスで低いことが示された。
5. 作成されたノックアウトマウスに対して isoproterenol および milrinone を用量を変えながら持続静注し、循環パラメーターの変化を比較した。Isoproterenol 投与においては対照のマウスでは用量に応じて収縮能のパラメーターが上昇する傾向にあっ

たが、ノックアウトマウスでは反応が見られなかった。Milrinone 投与においては大きな反応の差は認められなかった。

6. ノックアウトマウスと対照のマウスに対して、循環パラメーターを測定しながら腹部大動脈牽引を行い、後負荷増大による心不全モデルを適用したところ、対照のマウスでは一時的な循環抑制からの復帰が見られたのに対して、ノックアウトマウスでは循環抑制の著明な遷延が認められた。
7. 同様に慢性の後負荷増大による心不全モデルとして横行大動脈結紮（TAC）を適応した。TAC から7日後の時点での心臓の状態を心エコーにて観察したところ、ノックアウトマウスにおいて拡張期左室内径と左心重量で上昇が見られ、内径短縮率と左室壁厚において低下が見られ、より心臓の機能が低下していた。

以上、本論文は新規に作成された心筋細胞特異的 β 1受容体ノックアウトマウスの解析から、比較的急性の後負荷増大の心不全モデルを適用した際に循環の維持に、心臓における β 1受容体が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。循環器領域における β 1受容体のより詳細な機能解析に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。