







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 653 号	氏 名	Z h a n Y i n g e
審 査 委 員 会 委 員		主査氏名	重 光 修 
		副査氏名	宮 本 伸 二 
		副査氏名	阿 部 航 
<p>論文題目 A traditional herbal medicine rikkunshito prevents angiotensin II-Induced atrial fibrosis and fibrillation (六君子湯はアンギオテンシン II 負荷により惹起される心房線維化と心房細動受攻性亢進を抑制する)</p> <p>論文掲載雑誌名 Journal of cardiology</p> <p>論文要旨 背景：心房細動 Af は罹患率および死亡率に関連する頻度の高い不整脈である。炎症促進性およびアポトーシス誘導シグナルは Af の病原となる心房間質の線維化を促進する。レニン-アンギオテンシン系の活性化は心房線維化をきたす炎症促進性のシグナル増強となる。漢方薬である六君子湯(RKT)は、いくつかの臓器にて抗炎症、抗アポトーシス性、抗線維化効果があることが示されている。本研究では、RKT がアンギオテンシン II による炎症性の線維化を抑制し心房細動を抑制するという仮説を検証した。</p> <p>方法：生後 8 週の雄 C57BL/6 マウスに溶媒あるいはアンギオテンシン II (2.0mg/kg/day) のいずれかを 2 週間皮下注投与した。水あるいは RKT(1000mg/kg/day) を 2 週間毎日経口投与した。形態、組織、生化学的分析を実施した。心房細動は生体において経食道的にバースト刺激ペーシングで、またランゲンドルフ装置で摘出した心臓を灌流し外部からバースト刺激をして誘発した。</p> <p>結果：RKT(2 週間、1000mg/kg/day) はアンギオテンシン II 持続的投与による心房間質の線維化と線維化促進と炎症促進シグナルを抑制した。RKT は生体および摘出灌流心においてアンギオテンシン II 誘発性の心房細動の発症を抑制した。RKT の活性成分である atractylodin は、RKT と同等の抗線維化活性がある。RKT はアンギオテンシン II による核への sirtuin 1 の移動を抑制する。RKT はアンギオテンシン II 誘発性の IκB のリン酸化、p53 の過剰発現、細胞のアポトーシスシグナルとアポトーシスを抑制する。アンギオテンシン II に対する RKT のすべての拮抗する効果は成長ホルモン分泌促進物質受容体拮抗薬 GHSR inhibitor により抑制される。</p> <p>結論：六君子湯はアンギオテンシン II 負荷により惹起される心房線維化と Af 受攻性亢進を抑制することを示した。また、これらの経路は GHSR-Sirt1 経路によることが示唆された。</p> <p>本研究は、六君子湯が心房筋の線維化とそれによる心房細動受攻性亢進を抑制しうることを初めて示した意義のある研究である。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 ① 課・論	第 653 号	氏名	Zhan Ying e
審査委員会委員	主査氏名	重光 修 	
	副査氏名	宮本 伸二 	
	副査氏名	阿部 航 	
<p>学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. アンギオテンシン2の量(2.0mg/kg/day)はどのように決めたか。 2. RKTはどのように投与したのか。その時水はどのくらい必要としたのか。 3. それぞれの実験で使用したマウスの数が異なるがその理由は何か。 4. 超音波の器械は小動物用の特別なものを使ったのか。 5. Fig3bにおいて、In situとisolated perfused heartと2回行った目的は何か。 6. アンギオテンシン2投与で血圧は上昇するが、体重の変化は見られていない。Agt2によるアルドステロンによる循環血液量の増加傾向はないのか？ 7. Table1のwaterはTable2のCNTと同じ意味であるのか。 8. 表中及び表の説明の中に++が抜けているがこれは編集の段階で欠けてしまったのか。 9. 引用文献19の論文で述べられているRKT摂取で血漿中のattractylodinがupregulationするという意味を説明せよ。 10. 六君子湯が心房細動を予防できると考えた理由（臨床経験・先行研究）は何か。 11. Attractylodinは他の漢方薬にも含まれているが、あえて六君子湯を選択した理由は何か。 12. 六君子湯の投与量1000mg/kg/dayはどのようにして決定したか。 13. 六君子湯の効果は真に濃度依存性なのか、細胞毒性でない根拠は何か。 14. 今回の実験を行うにあたり、Covid-19の影響はあったか。 <p style="margin-top: 20px;">これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 Zhan Yinge

論 文 題 目

A traditional herbal medicine rikkunshito prevents angiotensin II-Induced atrial fibrosis and fibrillation.

(六君子湯はアンギオテンシン II 負荷により惹起される心房線維化と心房細動受攻撃性亢進を抑制する)

要 旨

Background: Atrial fibrillation (AF) is a frequent arrhythmia that is associated with morbidity and mortality. Proinflammatory and apoptotic signals promote atrial interstitial fibrosis that is involved in the pathogenesis of AF. Activation of the renin-angiotensin system has been established to promote proinflammatory signals, leading to atrial fibrosis. Rikkunshito (RKT), a traditional herbal medicine, has been demonstrated to exert anti-inflammatory, anti-apoptotic, and anti-fibrotic effects in several organs. This study tested the hypothesis that RKT can suppress angiotensin II (AngII)-induced inflammatory atrial fibrosis and ameliorate enhanced vulnerability to atrial fibrillation (AF).

Methods: Eight-week-old male C57BL/6 mice were subcutaneously infused with either vehicle or AngII (2.0 mg/kg/day) for 2 weeks. Water or RKT at a dose of 1,000 mg/kg/day were orally administered once daily for 2 weeks. In the preliminary experiments, RKT at a dose of 500 mg/kg/day failed to ameliorate AngII-induced atrial fibrosis. Similarly, this RKT dose did not reduce the AngII-induced increase in AF inducibility and its duration. Increasing the dose of RKT to 1,000 mg/kg/day

effectively exerted anti-fibrotic and anti-AF effects against the AngII infusion. Therefore, RKT was administered at a dose of 1,000 mg/kg/day in these experiments. Morphological, histological, and biochemical analyses were performed. AF was induced either by transesophageal burst pacing in vivo or by burst/extrastimuli in isolated perfused hearts using a Langendorff apparatus.

Results: RKT at a dose of 1,000 mg/kg/day for 2 weeks attenuated atrial interstitial fibrosis and profibrotic and proinflammatory signals induced by continuous infusion of AngII. RKT attenuated AngII-induced enhanced vulnerability to AF in in vivo experiments and in isolated perfused hearts. Atractylodin, an active component of RKT, exhibited antifibrotic activity comparable to that of RKT. RKT reversed AngII-induced suppression of sirtuin 1 (Sirt1) translocation to the nuclei. RKT suppressed AngII-induced phosphorylation of I κ B, overexpression of p53, and cellular apoptotic signals and apoptosis. All of the antagonizing effects of RKT against AngII were attenuated by a concomitant treatment with a growth hormone secretagogue receptor (GHSR)-inhibitor. In addition, GHSR protein expression was examined in human LA tissue with (n=3) or without AF (n=3). Areas positive for GHSR were commonly observed in human atrial samples and were more abundant in samples with AF compared to samples without AF (p<0.01).

Conclusion: Our results demonstrated that RKT prevented atrial fibrosis and attenuated enhanced vulnerability to AF induced by AngII. The results also suggested that potentiating the GHSR-Sirt1 pathway is involved in these processes. It has been demonstrated that the upstream effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin receptor blocker for preventing AF was controversial, and the catheter ablation as symptomatic treatment for AF is the focus of much attention. However, it is an interesting avenue for future studies to investigate whether RKT treatment could prevent AF, which lead to worse symptoms in patients with heart failure, according to its multiple effects including anti-inflammatory and anti-fibrotic effects and protective effects on cachexia with few adverse effects.