

- Echocardiographic abnormalities and disease severity in Fabry's disease. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 1157-61.
11. Yanagawa Y, Sakuraba H. Cardiovascular manifestations in Fabry's disease: age-related changes in hemizygotes and heterozygotes. *Acta Paediatr Jpn* 1988; 30: 38-48.
 12. Cziner DG, Levin RI. The cardiomyopathy of Duchenne's muscular dystrophy and the function of dystrophin. *Med Hypotheses* 1993; 40: 169-
 13. Ferrans VJ, Hibbs RG, Burda CD. The heart in Fabry's disease: a histochemical and electron microscopic study. *Am J Cardiol* 1969; 24: 95-110.
 14. Becker AE, Schoorl R, Balk AG, van der Heide RM. Cardiac manifestations of Fabry's disease: report of a case with mitral insufficiency and electrocardiographic evidence of myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1975; 36: 829-35.
 15. Desnick RJ, Blieden LC, Sharp HL, Hofschire PJ, Moller JH. Cardiac valvular anomalies in Fabry disease: clinical, morphologic, and biochemical studies. *Circulation* 1976; 54: 818-25.
 16. Matsui S, Murakami E, Takekoshi N, Hiramaru Y, Kin T, Maeda N, et al. Cardiac manifestations of Fabry's disease: report of a case with pulmonary regurgitation diagnosed on the basis of endomyocardial biopsy findings. *Jpn Circ J* 1977; 41: 1023-36.
 17. Fisher EA, Desnick RJ, Gordon RE, Eng CM, Griep R, Goldman ME. Fabry disease: an unusual cause of severe coronary disease in a young man. *Ann Intern Med* 1992; 117: 221-3.

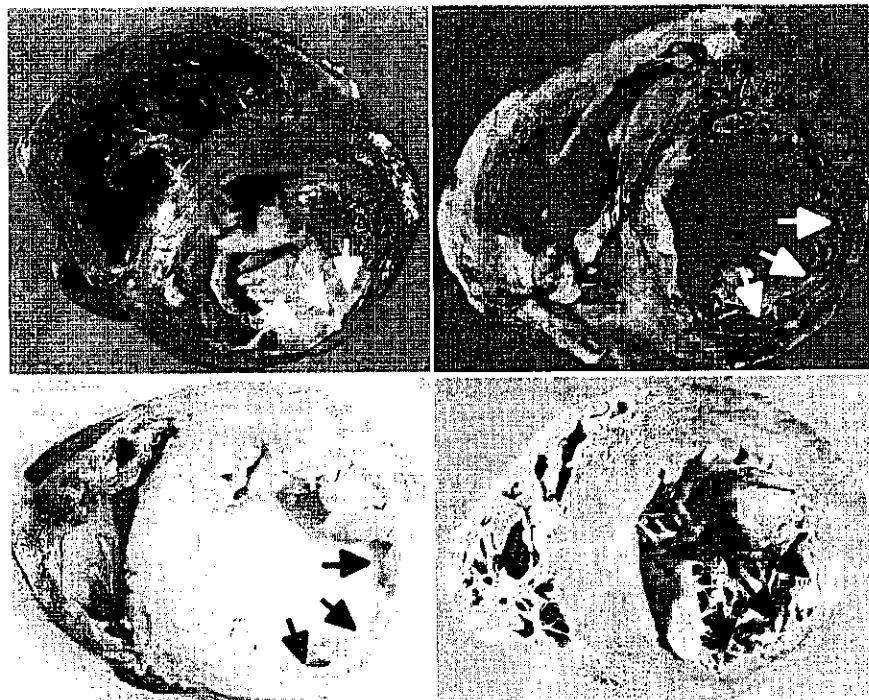
表 1. 心 Fabry 病 5 例の臨床像

症例	1	2	3	4	5
死亡時年齢 (歳)	66	68	63	66	64
死因	心室細動	心不全	心不全	心不全	心不全
血漿 α -gal A 活性 (nmol/hr/ml)	1.2	1.2	1.3	1.0	0.4
心室中隔壁厚 (mm)	20	17	16	17	16
左室後壁厚 (mm)	20	14	16	16	16
冠動脈造影	正常	正常	正常	正常	正常
蛋白尿	—	—	—	—	—
血清クレアチニン (mg/dl)	1.2	0.9	0.9	1.1	1.1
被角血管腫	—	—	—	—	—
四肢末端痛	—	—	—	—	—
低汗症	—	—	—	—	—
角膜混濁	—	—	—	—	—

—; 所見なし

症例 2

症例 3



症例 4

症例 5

図 1

図 1. 症例 2、3、4、5 の心臓の肉眼病理所見を示す。4 例ともに両心室の肥大、特に左室の著明な肥大を認めた。さらに矢印で示す如く、4 例ともに左室後壁心基部に局限した菲薄化を認めた。

症例 2

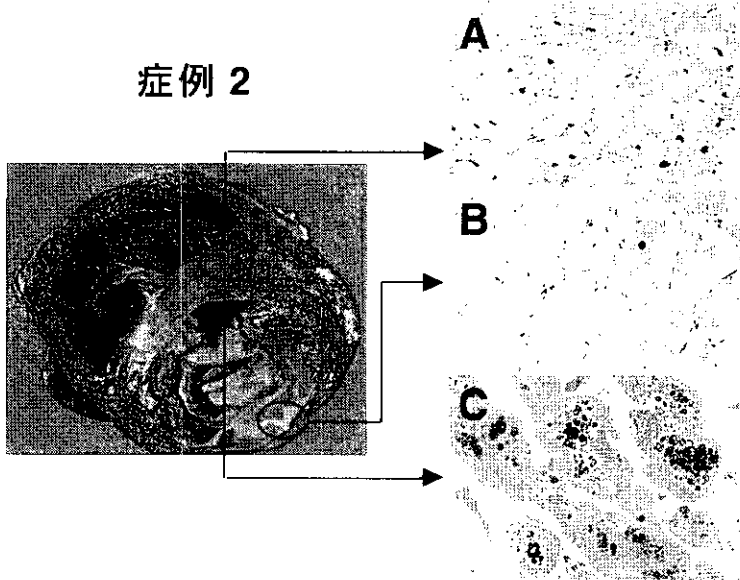


図 2

図 2. 症例 2 の心筋病理組織所見を示す。左室の肥大した領域では、H.E. 染色で心筋細胞内の空胞化像、心筋細胞の脱落、脂肪浸潤および間質のびまん性の線維化を認めた (A)。左室後壁心基部の菲薄化した領域では、線維化が著明で心筋細胞はほとんど欠落しており、わずかな残存心筋には高度の空胞化を認めた (B)。T.B. 染色では、H.E. 染色で認めた空胞化部分に Fabry 病で蓄積するスフィンゴ脂質の染色性と一致するオスミウム親和性強陽性物質の蓄積を認めた (C)。

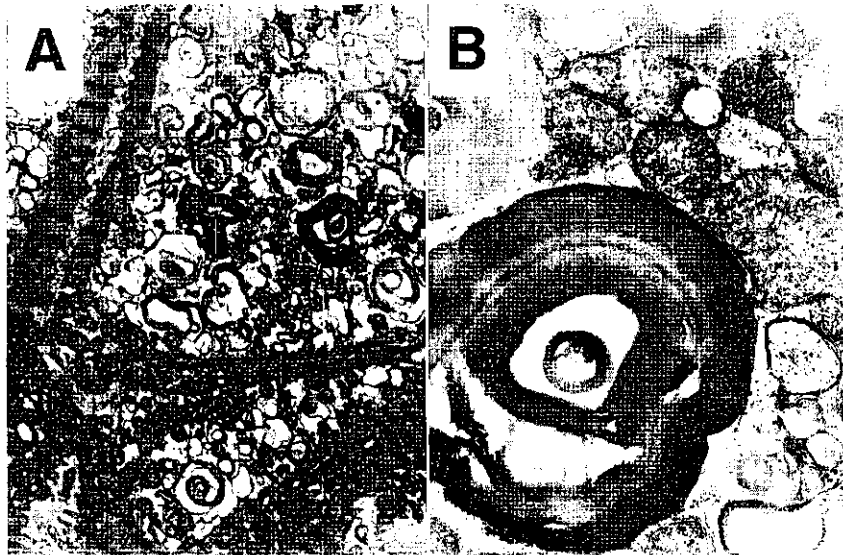


図 3

図 3. 症例 2 の心筋電顕の弱拡大 (A) および強拡大 (B) 所見を示す。心筋細胞の細胞質に Fabry 病に特徴的な年輪状封入体の蓄積を認めた。

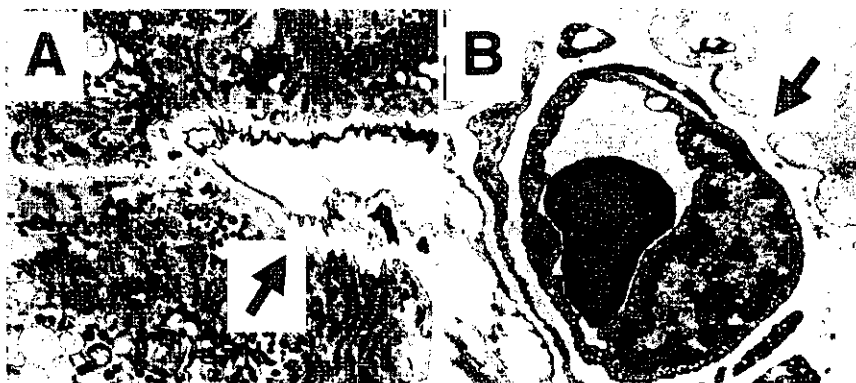


図 4

図 4. 症例 1 (A) および症例 2 (B) の心筋内毛細血管内皮細胞の電顕像を示す。矢印で示す如く、血管内皮細胞には年輪状封入体の蓄積は認めなかった。

心筋リモデリングにおけるIL-6ファミリーサイトカインの役割に関する研究

分担研究者：瀧原 圭子、 藤尾 慈

大阪大学大学院 医学系研究科 分子病態内科学講座

【研究要旨】

心筋リモデリング過程において血管形成の重要性が示唆されている。gp130を介する情報伝達系の血管形成への関与につき検討を加えた。LIFおよびCT-1は心筋細胞においてSTAT3を介してVEGFの発現を増強した。心筋特異的ドミナントネガティブ型STAT3トランスジェニックマウスでは、もとより心臓におけるVEGFの発現低下を認め、LIF刺激による発現増強は観察されなかった。一方、持続活性型STAT3トランスジェニックマウス心臓においては、コントロールマウスに比して血管密度の増加とVE-cadherinの発現が増強していた。gp130の活性化はSTAT3を介してVEGFの発現を誘導し、心臓における血管新生を介して心筋リモデリングに関わっていると考えられた。

【研究目的】

心筋症の病態形成において、低下した収縮力の代償機構としての心筋肥大が及ぼす影響は大きいと考えられる。心筋肥大は相対的心筋虚血をもたらし、心筋線維化の原因となり心不全の発症要因となると考えられている。さまざまな液性因子が心筋肥大に関与していることが知られているが、なかでもレニン/アンジオテンシン系が心肥大形成に重要な役割を果たしていることは、これまでのさまざまなin vitroおよびin vivoの実験結果より明らかである。しかしながら、近年の発生工学的手法を用いた遺伝子改変マウスを用いた結果により、アンジオテンシンII type 1受容体を介するレニン/アンジオテンシン系以外の要素も、心筋リモデリングの過程に関与している可能性が考えられている。

一方、血管内皮増殖因子(VEGF)は血管の発生分化に必須であることはかねてより知られているが、アイソフォーム164と188の欠損マウスでは虚血性心筋症が観察され、心筋特異的VEGF欠損マウスにおいては心筋のひ薄化および収縮力の低下が報告されており、心筋リモデリング過程における血管形成の重要性が示唆されている。

我々は本研究班におけるこれまでの研究により、IL-6ファミリーサイトカインがgp130を介して心筋細胞肥大および細胞死抑制作用を示すことを明らかにした。また、拡張型心筋症による心不全において可溶性gp130の血中レベルが高いことを報告してきた。本研究では、gp130を介する情報伝達系の血管形成への関与につき、VEGFの発現を中心に検討を加え、その際のSTAT3の役割について明らかにする。

【研究方法】

in vitro実験は、新生児ラット培養心筋細胞を使用した。心筋細胞におけるgp130の活性化には、leukemia inhibitory factor (LIF) およびcardiotrophin-1 (CT-1) を用いた。Vascular endothelial growth factor (VEGF) の発現を、Northern blot法およびWestern blot法により検討した。変異STAT3遺伝子導入にはアデノウイルスベクター系を用いた。

in vivoの実験に関しては、 α -ミオシン重鎖遺伝子プロモーターを用いた心筋特異的トランスジェニックマウス (TG) を作成し、解析に供した。

血管新生の評価は、KURABO社製のAngiogenesis Kitを用いて行った。

【研究結果】

培養心筋細胞においてVEGF mRNAの発現がLIF刺激 3 時間後をピークとして濃度依存性に増強された。また培養上清中のVEGF濃度の増加も、LIFの濃度依存性に観察された。心筋細胞におけるVEGFの発現増強は、IL-6サイトカインファミリーの一つであるCT-1によっても観察され、gp130の活性化に共通して観察された。ドミナントネガティブ型STAT3 (dnSTAT3) を培養心筋細胞に強制発現させると、LIFによるVEGFの発現誘導は遺伝子・蛋白レベルで抑制された

(図1)。さらに、このLIFによるVEGFの発現増強はPI-3キナーゼ阻害薬 (wortmannin) およびMEK-1阻害薬 (PD98059) では抑制されず (図1、上段)、JAK/STAT系を介する転写調節が重要と考えられた。

心臓由来の線維芽細胞ではLIF刺激によりVEGFの発現増強は認められず、心筋細胞特異的と考えられた。

マウスに経静脈的にLIF (1×10^3 unit/0.1 ml) を投与し、心臓におけるVEGFの発現をin vivoにおいて検討した。コントロールマウス心臓ではLIF投与 1 時間後よりVEGFの発現増強を認め、3 時間でその効果は最大となった。

dnSTAT3TGでは、もとより心臓におけるVEGFの発現低下を認め、LIF刺激による発現増強は観察されなかった (図2)。一方、wild-type STAT3 TG心臓においてVEGFの発現は増強しており、LIF刺激によりさらに増加がみられた。

次に、持続活性型 (constitutive active) STAT3 (caSTAT3) を作製した。培養心筋細胞にcaSTAT3を導入すると、導入したアデノウイルス依存性にLIF刺激がなくてもVEGF mRNAの発現増強が観察された。caSTAT3を導入した培養心筋細胞の上清を用い、血管内皮細胞による管腔形成を検討した。caSTAT3遺伝子を導入した細胞上清により管腔形成は促進され、抗VEGF抗体の前投与により管腔形成は抑制された。

caSTAT3 TGを作成しマウス心臓における血管形成につき検討を加えた。まずcaSTAT3 TG心臓においてSTAT3による転写活性が亢進していることを、electrophoretic mobility shift assay により確認した。STAT3結合配列 (TTCCCGTAA) を含む17塩基を ^{32}P でラベルし、プローブとして用いた。コントロールマウスと比べcaSTAT3 TG心臓の抽出物においてより強い結合能が観察され、この結合は抗STAT3抗体により抑制された。

マウス心筋内の血管密度を計測したところ、caSTAT3 TG心臓においてコント

ロールマウスに比して明らかに血管密度が増加すること、併せて、血管内皮特異的蛋白質であるVE-cadherinの発現が増強していることが明らかとなった（図3）。これらの結果は、STAT3の活性化が心筋内の血管構築を促進することを示すものである。

【考察】

IL-6ファミリーサイトカインが、gp130/JAK/STAT系、特にSTAT3を介してVEGFを誘導することにより、心筋内の血管形成を促進することが明らかとなった。これまでも、STAT3は腫瘍形成、炎症、組織再生に重要な役割を演じていることが知られている。これらの過程は血管新生を伴っており、本研究の結果は、STAT3の広範な機能の一端を説明するものと考えられ、特に虚血時の心筋リモデリングに重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

心筋特異的VEGF欠損マウスにおいて観察された結果は、心臓におけるVEGFを介した血管形成が心筋の構築および心筋収縮力の維持に極めて重要であることを示している。このマウスの心臓において、低酸素時に誘導されるさまざまな遺伝子の発現が増強されている。心筋肥大が相対的虚血をもたらす心不全の誘因となることはよく知られた事象である。代償機転として形成される心筋肥大にサイトカインが関与していることが近年報告されているが、この時に同時に血管形成を誘導することにより、心筋細胞に対してリモデリングを軽減する方向に働いていると考えられる。

心筋特異的に過剰に産生された炎症性サイトカインは、局所の病変の進展のみならず心不全を誘導し、さらには全身にも悪影響を及ぼすことが報告されている。しかしながら、心筋細胞の機能維持、機能調節にサイトカインがきわめて重要な役割を果たしていることも事実である。これまでにIL-6ファミリーサイトカインであるCT-1やLIFが、gp130を介して心筋細胞においてbcl-xLやMnSODを誘導し、Aktキナーゼの活性化を増強することを報告してきた。本研究において、これらのサイトカインが抗アポトーシスなどの保護作用を示すだけでなく、血管形成を介して心筋傷害を防御し心筋の機能維持に働いていることが明らかとなった。

拡張型心筋症や肥大型心筋症において、心筋に加わるストレスに対する適応現象として心筋リモデリングが進展すると考えられるが、この適応過程においてサイトカインによるtrophicなシグナルの活性化により、心筋細胞自身が自己防衛していることが示唆される。この生存シグナルを増強することは、心筋症の病態進展予防に新たな視点を生み出すとともに、新たな治療薬の開発にも繋がるものと考えられる。

【結論】

gp130の活性化はSTAT3を介してVEGFの発現を誘導し、心臓における血管新生を介して心筋リモデリングに関わっている可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Funamoto M, Fujio Y, Kunisada K, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 is required for glycoprotein 130-mediated induction of vascular endothelial growth factor in cardiac myocytes. *J Biol Chem* **275**:10561-10566, 2000.
- 2) Negoro S, Kunisada K, Fujio Y, et al. Activation of signal transducer and activator of transcription 3 protects cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation-induced oxidative stress through the upregulation of manganese superoxide dismutase. *Circulation* **104**: 979-981, 2001.
- 3) Osugi T, Oshima Y, Fujio Y, et al. Cardiac-specific activation of signal transducer and activator of transcription 3 promotes vascular formation in the heart. *J Biol Chem* **277**:6676-6681, 2002.

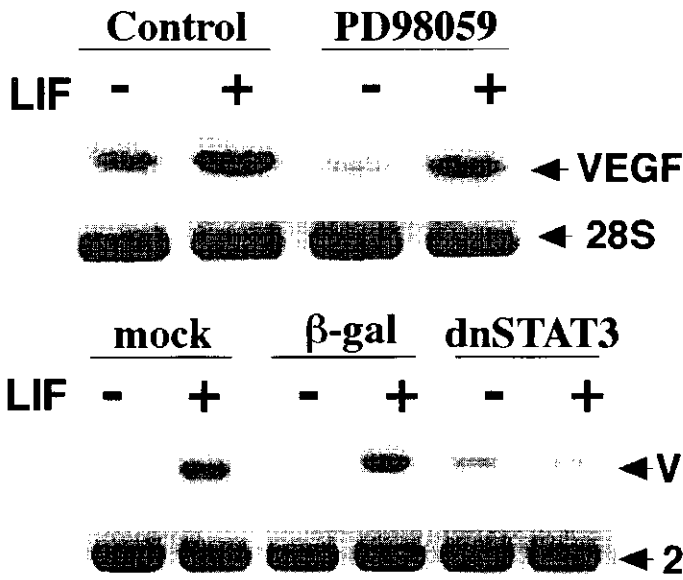


図1 心筋細胞におけるVEGF mRNAの発現
 (上段) LIF刺激により培養心筋細胞においてVEGF mRNAの発現が増強する。MEK阻害薬(PD98059)の前処置は、LIFによるVEGF mRNAの発現増強を抑制しない。
 (下段) ドミナントネガティブ型STAT3 (dnSTAT3)を心筋細胞に強制発現させると、LIFによりVEGF mRNAの発現が増強されない。

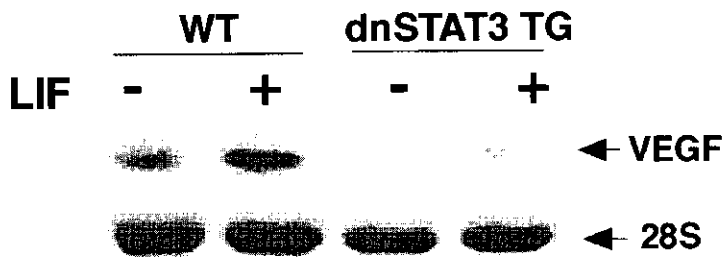
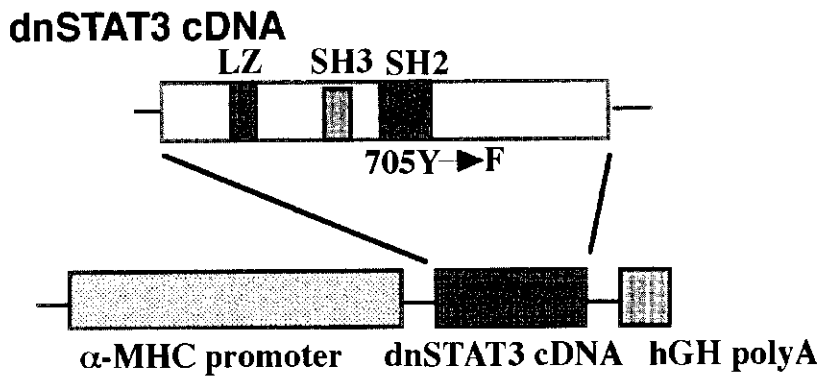


図2 ドミナントネガティブ型STAT3トランスジェニックマウス (dnSTAT3 TG) 心臓におけるVEGFの発現
 コントロールマウス (WT) に経静脈的にLIFを投与すると、心臓におけるVEGF mRNAの発現が増強する。dnSTAT3 TG心臓においてVEGF mRNAの発現レベルは低く、LIF刺激によっても発現が誘導されない。

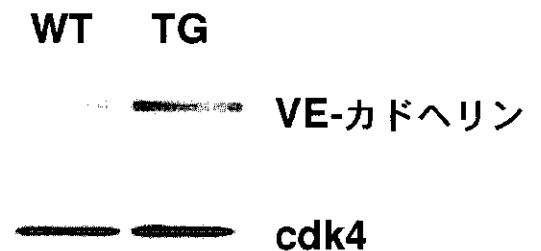
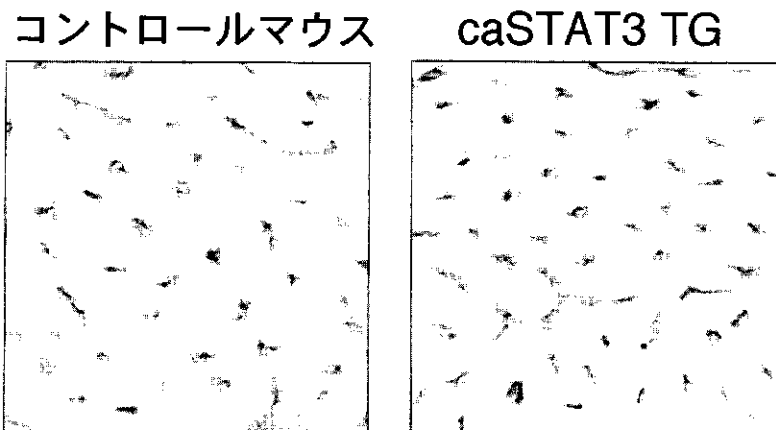


図3 持続活性型STAT3トランスジェニックマウス (caSTAT3 TG)心臓における血管形成
 caSTAT3TGの心臓において、血管密度が増加し、血管内皮特異的なカドヘリン (VE-カドヘリン)の発現も増加している。コントロールマウス (WT)

S. Negoro, K. Kunisada, Y. Fujio, M. Funamoto, MI. Darville, DL. Eizirik, T. Osugi, M. Izumi, Y. Oshima, Y. Nakaoka, H. Hirota, T. Kishimoto, K. Yamauchi-Takahara. Activation of signal transducer and activator of transcription 3 protects cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation-induced oxidative stress through the upregulation of manganese superoxide dismutase. *Circulation* **104**: 979-981, 2001.

M. Sano, K. Fukuda, T. Sato, H. Kawaguchi, M. Suematsu, S. Matsuda, S. Koyasu, H. Matsui, K. Yamauchi-Takahara, M. Harada, Y. Saito, S. Ogawa.

ERK and p38 MAPK, but not NF- κ B, are critically involved in reactive oxygen species-mediated induction of IL-6 by angiotensin II in cardiac fibroblasts. *Circ Res* **89**:661-669, 2001.

T. Osugi, Y. Oshima, Y. Fujio, M. Funamoto, A. Yamashita, S. Negoro, K. Kunisada, M. Izumi, Y. Nakaoka, H. Hirota, M. Okabe, K. Yamauchi-Takahara, I. Kawase, T. Kishimoto. Cardiac-specific activation of signal transducer and activator of transcription 3 promotes vascular formation in the heart. *J Biol Chem* **277**:6676-6681, 2002.

K. Kunisada, E. Tone, S. Negoro, Y. Nakaoka, Y. Oshima, T. Osugi, M. Funamoto, M. Izumi, Y. Fujio, H. Hirota, K. Yamauchi-Takahara. Bcl-xl reduces doxorubicin-induced myocardial damage but fails to control cardiac gene downregulation. *Cardiovasc Res* **53**:936-943, 2002.

家族性心筋症におけるN-カドヘリンの分布異常について

国立循環器病センター臨床検査部病理
池田善彦 由谷親夫

【要旨】

特発性心筋症の中で遺伝子異常が関与するもののうち、拡張型心筋症（DCM）はミトコンドリア遺伝子異常と細胞骨格蛋白の異常に大別され、一方、肥大型心筋症（HCM）は収縮蛋白の異常と考えられてきた。しかし、近年、心筋アクチンのミスセンス変異がHCMの家系に¹⁾、また、心筋ミオシン重鎖のミスセンス変異および心筋トロポニンTの欠失がDCMの家系にみつき²⁾、個々の遺伝子がコードする蛋白の存在部位ならびにその機能解析が進む一方、臨床上認識される表現形を成すには複数の遺伝子が関与する可能性が示唆されている。Z帯や介在板に関わる細胞骨格蛋白はDCMの病因遺伝子として注目されており、近年、Naxos病（不整脈源性右室心筋症、掌蹠角皮症、羊様毛髪）の臨床像をもつ家系で、プラコグロビン（ γ -カテニン）遺伝子の欠失が³⁾、また、拡張型心筋症、角皮症、羊様毛髪の家系ではデスモプラキンの変異が報告され⁴⁾、これら介在板に関わる細胞骨格蛋白の異常が相次いで見つかっている。介在板の接着野は心筋細胞間の機械的結合にあずかり、同部位にはカルシウム依存性細胞接着分子であるN-カドヘリンが存在することが、これまでに明らかにされており、今回、我々はDCMおよびHCMを対象にN-カドヘリンの分布を免疫組織学的に検討した。結果は、虚血性もしくは弁膜症性心不全群および非心疾患群においては全例心筋細胞の介在板に一致してN-カドヘリンの集積が認められたのに対し、DCM群においては1例、HCM群においては2例に心筋細胞膜全周への分布異常が認められた。3例はいずれも若年かつ家族性であり、HCMの2例は拡張相に転じていたことより、家族性心筋症の中に、N-カドヘリン分布異常を呈する一群が存在すること、また、心収縮力の低下が接着分子の介在板集積低下に起因することが示唆された。

【目的】

N-カドヘリンはカルシウム依存性細胞接着分子で、心筋細胞の介在板における接着野に存在し、心筋細胞の機械的結合に重要な役割を果たしていると考えられている。今回我々は、心筋症例を対象に心筋細胞におけるN-カドヘリンの分布を検討することを目的とした。

【対象】

1978年～2000年までの連続2750剖検例中無作為に抽出した、DCM群（8例、家族性4例、非家族性4例）、HCM群（8例、家族性4例、非家族性4例）を対象とした。また、対照群として虚血性もしくは弁膜症性心不全群（CHF群、8例）、非心疾患群（N群、8例）も、同期間中の剖検例から無作為に抽出した。

【方法】

剖検心を10%中性緩衝ホルマリンにて固定後、左心室自由壁よりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、マッソン・トリクローム染色、および抗ヒトN-カドヘリン・ウサギポリクローナル抗体を用いて免疫組織染色を施行し、病理組織学的に検討した。

【結果と考察】

CHF群およびN群においては全例心筋細胞の介在板に一致してN-カドヘリンの集積が認められたのに対し、DCM群においては1例、HCM群においては2例に心筋細胞膜全周への分布異常が認められた（図1）（表1）。また、HCM群の2例のうち1例には広範な心筋錯綜配

列が認められたが、もう1例にはみられなかった。

N-カドヘリンは、心筋細胞の介在板に存在し、心筋細胞の機械的結合に重要な役割を果たしていると考えられている。ニワトリの胎生期の心筋細胞培養の検討では、発生過程に伴って、細胞膜全周性に分布するN-カドヘリンが、介在板に集積し、収縮を開始するが、抗ヒトN-カドヘリン抗体で処理すると、それぞれの心筋細胞間の接着性が失われ、心筋細胞は個々に球形を呈し、 α -アクチニンやミオシンといった心筋細胞構成成分が形成されない⁵⁾。in vivoでも、胎生期の段階で抗ヒトN-カドヘリン抗体による処理を加えると、心筋はほとんど収縮性を示さず、心破裂で胎生致死することが報告されている⁶⁾。また、カドヘリンは細胞内領域においてカテニン分子と結合しており、E-カドヘリンの分布異常が認められた肺低分化腺癌培養株では α -カテニンの遺伝子変異が同定されていることから⁷⁾、これら細胞骨格蛋白の異常により、カドヘリン分布異常が生じることが想定される。ノックアウトマウスの検討では、 γ -カテニンの欠損で心破裂により胎生致死に至ることや⁸⁾、 α -アクチニン結合LIM蛋白の欠損で右室心筋症様の病態に至ることが報告されており⁹⁾、カドヘリンに直接的あるいは間接的に結合する細胞骨格蛋白の異常は、心臓の発生過程や出生後の心機能に大きな影響を及ぼす。また、E-あるいはN-カドヘリンのトランスジェニックマウスにおいても、拡張型心筋症にいたることが証明され、カドヘリンとカテニンとの接合性が重要視されている¹⁰⁾。最近、ヒトの症例でもNaxos病（不整脈源性右室心筋症、掌蹼角皮症、羊様毛髪）の臨床像をもつ家系で、プラコグロビン遺伝子の欠失が、また、拡張型心筋症、角皮症、羊様毛髪の家系ではデスモプラキンの変異が報告され、介在板に関わるこれら細胞骨格蛋白の異常が心筋症例で相次いで見つかった。今回、虚血性もしくは弁膜症性心不全群における左心室自由壁心筋細胞には、形態学的に心筋細胞の接合異常がなく、N-カドヘリンは介在板に濃縮しており、一方、DCM群の1例およびHCM群の2例における同部位心筋細胞には、心筋細胞膜全周への分布異常が認められた。3例はいずれも若年かつ家族性であったことから、心筋症の中にカドヘリン分布異常を呈する一群が存在することが示唆された。また、HCM群で分布異常を呈した2例は、いずれも臨床的に拡張相へ転じていたことより、介在板におけるN-カドヘリンの集積低下が、心収縮能低下の一因である可能性が考えられた。さらに、3例は心臓の拡張と肥大、心筋錯綜配列の有無という観点から異なる表現形を呈しており、心筋症の病因を論じる上で示唆に富むと思われた。

最後に、N-カドヘリンは接着野に存在する細胞接着分子であり、隣接する心筋細胞とはhomophilicに結合し、細胞内では γ -カテニンもしくは β -カテニンと結合している。 γ -カテニンおよび β -カテニンは α -カテニンと結合し、 α -カテニンは α -アクチニンを介して、あるいは直接アクチンと結合している。したがって、これまでヒトの心筋症例で報告されている接着斑に関わる細胞骨格蛋白異常と同様に、接着野に関わるこれらの細胞骨格蛋白の遺伝子異常についても今後検討する必要があると考えられた。

【結論】

家族性心筋症の中に、N-カドヘリン分布異常を呈する一群が存在した。臨床病理学的に異なる表現形を呈したが、全例とも、若年発症で収縮能が低下していた。

【参考文献】

- 1) Olson TN, Doan TP, Kishimoto NY, et al: Inherited and de novo mutation in the cardiac actin gene cause hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2000; 32: 1687-1694.
- 2) Kamisago M, Sapha SD, DePalma SR, et al: Mutations in sarcomere protein genes as a cause of dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2000; 343: 1688-1696.
- 3) Mckoy G, Protonotarios N, Crosby A, et al: Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with

- palmoplantar keratoderma and wooly hair (Naxos disease). *Lancet* 2000; 355: 2119-2124.
- 4) Norgett EE, Hatsell SJ, Carvajal-Huerta L, et al: Recessive mutation in desmoplakin disrupts desmoplakin-intermediate filament interactions and causes dilated cardiomyopathy, wooly hair and keratoderma. *Hum Mol Genet.* 2000; 9: 2761-2766.
 - 5) Imanaka-Yoshida K, Knudsen KA, Linask KK: N-cadherin is required for the differentiation and initial myofibrillogenesis of chick cardiomyocytes. *Cell Motility and the Cytoskeleton* 1998; 39: 52-62.
 - 6) Nakagawa S, Takeichi M: N-cadherin is crucial for heart formation in the chick embryo. *Develop Growth Differ.* 1997; 39: 451-455.
 - 7) Shimoyama Y, Nagafuchi A, Fujita S, et al: Cadherin dysfunction in a human cancer cell line; possible involvement of loss of α -catenin expression in reduced cell-cell adhesiveness. *Cancer Res.* 1992; 52: 5770-5774.
 - 8) Ruiz P, Brinkmann V, Ledermann B, et al: Targeted mutation of plakoglobin in mice reveals essential functions of desmosomes in the embryonic heart. *J Cell Biol.* 1996; 135: 215-225.
 - 9) Pashmforoush M, Pomies P, Peterson KL, et al: Adult mice deficient in actinin-associated LIM-domain protein reveal a developmental pathway for right ventricular cardiomyopathy. *Nature Med.* 2001; 7: 591-597.
 - 10) Ferreira-Cornwell MC, Luo Y, Narula N, et al: Remodeling the intercalated disc leads to cardiomyopathy in mice misexpressing cadherins in the heart. *J Cell Sci.* 2002; 115: 1623-1634.

表1: 心筋症群、心不全群および非心疾患群の一覧

DCM群	年齢(歳)	性別	家族歴	N-カドヘリン分布異常	CHF群	年齢(歳)	性別	N-カドヘリン分布異常
1	33	男	兄DCM	+	1	81	男	-
2	40	女	姉24歳時突然死	-	2	82	男	-
3	25	男	祖母35歳時突然死	-	3	74	男	-
4	31	女	母35歳時心臓死	-	4	80	女	-
5	81	男		-	5	72	男	-
6	58	男		-	6	71	女	-
7	73	男		-	7	68	女	-
8	61	男		-	8	67	男	-
HCM群					N群			
1	53	男	長女HCM	-	1	78	男	-
2	31	男	母心筋症、姉心拡大	+	2	75	女	-
3	27	男	父弟心筋症	+	3	49	女	-
4	10	男	母DCM	-	4	50	男	-
5	83	男		-	5	47	女	-
6	46	男		-	6	83	女	-
7	64	男		-	7	76	女	-
8	71	男		-	8	60	女	-

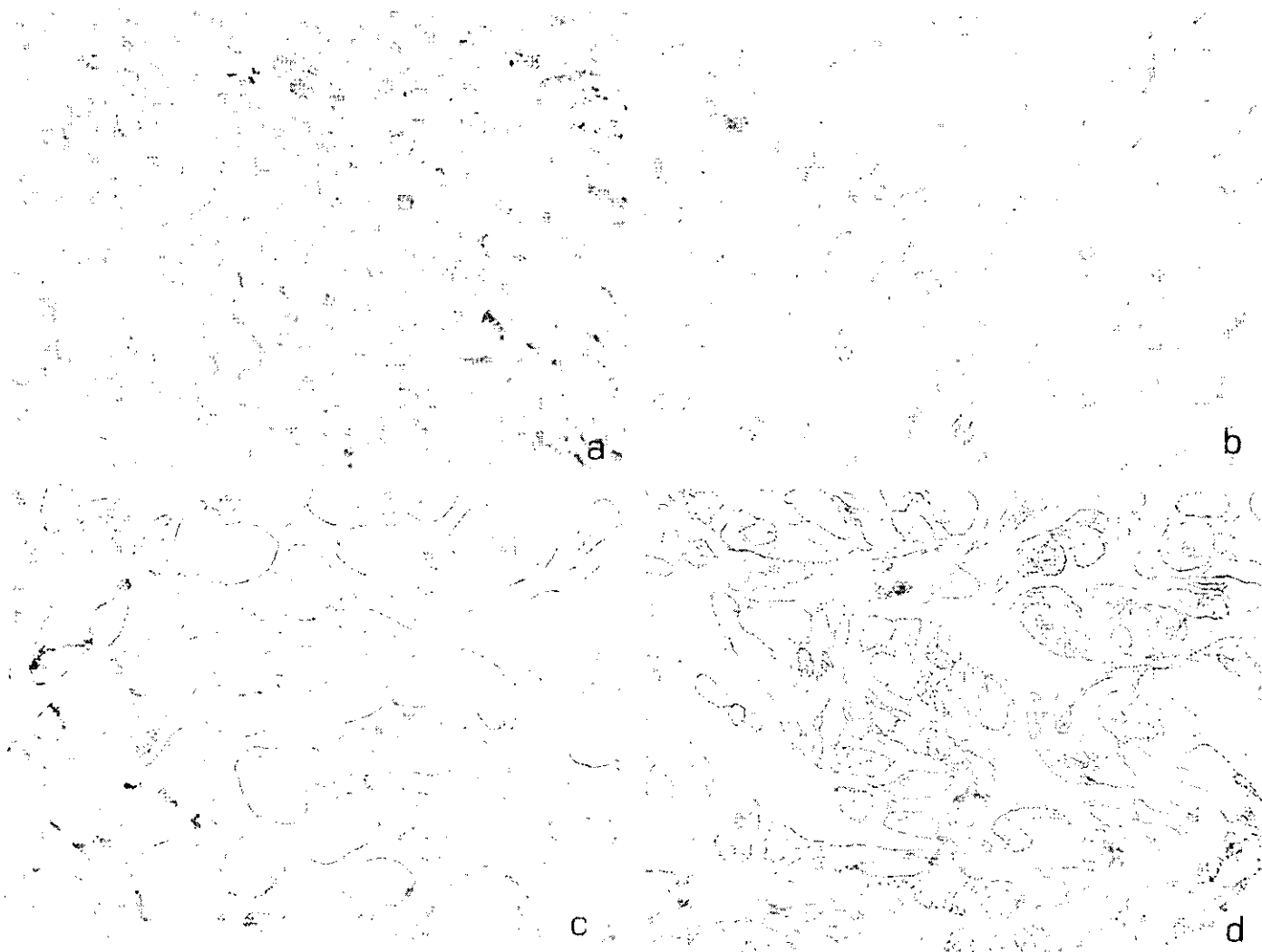


図1: (a) N群、(b) CHF群、左室自由壁。心筋細胞の介在板に一致して陽性像が認められる。(c) DCM-症例1、(d) HCM-症例3、左室自由壁。心筋細胞の介在板と思われる部位だけでなく、細胞膜全周への異常分布が認められる。(抗ヒトN-カドヘリン・ウサギポリクローナル抗体、X400)

厚生科学研究費補助金（特発性心筋症調査研究事業）
研究報告書

拡張型心筋症に対する心臓移植実施例の検討に関する研究

研究者 北村惣一郎 国立循環器病センター 総長

（研究要旨）

従来の治療法の限界を越えた末期的心不全を呈した拡張型心筋症（DCM）に対する心臓移植について検討を行なった。今回は心臓移植待機中に心不全が増悪し、内科的治療にてコントロール困難となり、補助人工心臓による循環維持を1年10ヵ月後、心臓移植を受け社会復帰しえた症例を報告する。

A.研究目的

我が国において、平成9年10月の臓器移植法施行後これまでに心臓移植は14例が実施され、このうち7例は国立循環器病センターにおいて施行された。本稿では、長期に補助人工心臓による循環補助を行った症例の経過を報告する。

B.研究方法

症例は、30歳男性で主訴は呼吸困難であった。1989年、検診にて胸部X線上心拡大を指摘されたが、自覚症状を認めなかった。1993年10月頃より、全身倦怠感、労作時呼吸困難を自覚し始めたため、近医を受診したところ、心不全と診断され入院となった。心エコー（LVDd 76mm、FS 5%、LV diffuse hypokinesis）、心筋生検等にて、拡張型心筋症と診断され、利尿剤、β遮断剤（metoprolol 40mg）の投与にて、自覚症状並びに胸部X線上のCTR拡大は改善した。以後外来通院をしていたが、1996年9月に結婚し、その後心不全が増悪したため近医へ再入院となった。水分制限、利尿剤の増量にて心不全は改善し、退院となったが、その後もNYHA II~III度の状態が持続するため、本人よりGrowth hormone（GH）治療の希望があり、12月当院へ入院となった。入院時、NYHA III~IV度、心エコー上、LVDd/Ds 90/81mm、FS 10%、BNP 1370pg/mlであったため、ミルリノン、hANPを開始した。しかし、自覚症状、並びに心エコー上改善を認めず、GH療法の適応と考え、1997年3月より、ジェットピノン4U隔日投与を3ヶ月間施行した。GH治療後、胸部X線上CTRの縮小、LVDd/Dの縮

小（90/81→77/67mm）、CIの増大、BNPの減少（1370→20pg/ml）を認めた。投与中止後3ヶ月の検査でも変化を認めず、以後約1年半、NYHA I~II度にて経過していた。しかし、1999年4月下旬より全身倦怠感、夜間呼吸困難を自覚し始め、5月上旬より労作時呼吸困難が増悪し、起坐呼吸となったため入院となった。

家族歴および既往例に特記すべき事項はなかった。入院時のANPは120pg/ml、BNPは227pg/mlであった。また、胸部X線では、CTR 63%で両肺野にうっ血像を認めた。心電図では、洞調律で心拍数は86/minであった。また、心エコー図にてLVDd 76mm、LVDs 68mm、FS 11%であった。

C.研究結果

入院時血行動態評価にて、PA 65/23(43)mmHg、PCW 28mmHg、CI 3.1 l/min/m²と前回退院時に比較して、著明に悪化していた。直ちにミルリノン 0.5 μg/kg/minの投与を開始し、一時は、PA、PCWも低下し、心不全症状も軽快傾向であった。しかし、呼吸器感染症を契機に尿量が低下し、心不全の増悪を認めたため、hANP、ドブタミンを追加した。しかし、尿量増加せず、フィロセマイドの持続点滴を追加した。しかし、再度尿量が低下し、利尿剤に対する反応も不良となったため、内科的治療の限界と判断し、5月20日左心補助人工心臓（LVAS）装着術及び、僧帽弁形成術、三尖弁輪縫縮術を施行した。

術後経過は良好であり、LVAS装着下では血行動態は安定していた。6月末より本格的にリ

ハビリテーションを開始し、9月には500m歩行が可能になった。また、同時期より β 遮断薬、ACE阻害薬の再投与を行い、自己心機能の評価を行いつつ、LVASの補助量を低下させていった。しかし、LVASの補助量を低下させるに従い、徐々に心拡大が進行し、BNPも上昇したため、LVASによる十分な自己心機能の改善が得られず、LVASからの離脱困難と判断し、1999年12月末より補助量を増量した。

2000年10月頃からは、心拡大の進行、BNPの上昇を認めため、LVAS補助量を増加させ、全身管理を行いつつ、心臓移植を待機していた。

2001年3月19日、当院にドナー情報が入り、条件を満たしたため、LVAS装着後669日目に心臓移植が施行された。手術は、modified Bicaval法にて行われ、虚血時間は3時間8分であった。術後心機能は良好であり、循環動態も安定した。また、術前より、軽度腎機能低下傾向にあったため、術後1日目に免疫抑制剤による一過性の急性腎不全を合併したが、短期間の透析にて軽快した。その後の経過は良好であり、心筋生検でも拒絶反応を認めず、術後65日目に退院し、現在社会復帰を果たしている。

D. 考察

本症例は、拡張型心筋症による重症心不全に対して、LVASを装着し、約1年10ヶ月の待機後、心臓移植を受け、社会復帰し得た症例である。

まず、重症心不全に対する治療についてであるが、心不全に対するACE阻害薬や β 遮断薬治療の有効性は、すでに大規模臨床試験にて明らかにされている。最近では、これらに加えて、外科的治療（僧帽弁形成または置換術、左室心筋部分切除術）、両心室ペーシングや成長ホルモン療法などが可能となり、症例によっては非常に有効な場合がある。本例も、成長ホルモン療法を受け、一時はNYHA IIまで改善していた。しかし、これら内科的治療を行っても心不全の改善しない症例に対して、カテコラミンやPDE III阻害薬の投与が行われる。しかし、これら最大限の内科的治療を行ってもNYHA III～IV度より改善しない重症心不全に対しては、心臓移植が唯一有効な治療法である。本例の場合も、心不全の増悪に対して、カテコラミン、PDE III阻害薬、hANPの投与を行ったが、血行動態が維持できず、LVASを装着し、心臓移

植を待機することとなった。

次にLVAS装着のタイミングであるが、重症心不全例に対してLVASを使用する目的は、血行動態の改善及び循環不全による臓器障害の改善である。従って、どのタイミングでLVASの装着を行うかは、非常に重要である。日本循環器学会より慢性重症心不全患者に対する補助人工心臓の適応基準が示されているが、その前提として、最大限の薬物治療を行うことがあげられている。これに関して、明確な基準は記載されていないが、当センターでは、ドパミン及びドブタミンを合計8～10 μ g/kg/min以上使用し、さらに、PDE-III阻害薬、hANPを可能な限り併用することを原則としている。また、臓器障害が不可逆的となる前に装着する必要があるため、総ビリルビンが3.0 mg/dlを越える前に装着するようにしている。また、BNP (brain natriuretic peptide) は、心負荷を示す重要なマーカーであり、補助人工心臓装着に当たっても有用な指標となりうる。最大限の薬物療法を行ってもBNPが600 pg/ml以下に低下しない症例は、カテコラミンからの離脱が困難と判断し、積極的に補助人工心臓装着を考慮する。また、LVASの管理及び合併症についてであるが、LVAS装着にて全身状態は著明に改善する。一部の症例では、自己心機能が改善し、LVASより離脱できる場合もある。しかし、多くは離脱可能なまでの心機能の改善が得られず、LVAS装着下での心臓移植待機となる。特に我が国では深刻なドナー不足状態にあるため、移植待機期間は長期間となる。当院にて心臓移植を受けた7例中、6例はLVAS装着下にて移植待機し、その平均補助日数は、395日であった。このような長期間、LVAS装着患者を管理する場合、問題となるのは、血栓塞栓症や感染症といった合併症を、どのようにコントロールするかである。本例の場合、血栓塞栓症に関しては明らかなのは認めなかったが、LVAS刺入部からの感染症を繰り返し、二度急性腎不全を併発した。しかし、いずれの場合も治療に対する反応は良好であり、LVAS装着後669日目に無事心臓移植を受けることができ、術後もLVAS装着による合併症も認めず、経過は非常に良好であった。

E. 結論

今回、我々は長期間LVAS装着下にて移植待機を行い、無事心臓移植を受けることができ

た症例を経験した。しかし、LVAS 装着下での待機にも限界があるため、今後、より短時間で移植を受けることのできる環境づくりや、再生医療等新たな治療にも期待がもたれる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 今日の移植 14:418-424, 国立循環器病センターでの経験 特集:わが国の心臓移植の現状, 2001年7月. 中谷武嗣、笹子佳門、花谷彰久、小林順二郎、坂東 興、小野安生、庭屋和夫、田鎖 治、佐藤長人、駒村和雄、公文啓二、由谷親夫、八木原俊克、宮武邦夫、北村惣一郎
2. Ann Thorac Surg 72:1405-1406, Modification of bicaval anastomosis technique for orthotopic heart transplantation, 2001年5月. Kitamura S, Nakatani T, Bando K, Sasako Y, Kobayashi J and Yagihara T.
3. 心臓 34:54-57, HANP フォーラム 2001 心不全治療の cardioprotection 一慢性期から急性期へ— 末期的心不全に対する外科的治療法としての左心補助人工心臓と心臓移植, 2002年1月15日. 中谷武嗣、笹子佳門、花谷彰久、小林順二郎、坂東 興、小野安生、庭屋和夫、田鎖 治、駒村和雄、公文啓二、八木原俊克、宮武邦夫、北村惣一郎
4. Journal of Cardiology 39:39-46, 心臓移植術を施行しえた劇症型急性心筋炎後拡張型心筋症の1例, 2002年1月. 大草知子、原田雅彦、廣 高史、村田高茂、美甘章仁、濱野公一、江里健輔、山田倫生、小川 宏、中谷武嗣、笹子佳門、由谷親夫、北村惣一郎、松崎益徳

2. 学会発表

1. 中谷武嗣、笹子佳門、小林順二郎、坂東 興、庭屋和夫、田鎖 治、花谷彰久、駒村和雄、佐藤長人、小野安生、越後茂之、宮武邦夫、八木原俊克、北村惣一郎: 末期重症心不全に対する治療選択としての左室リモデリング手術、補助人工心臓および心臓移植, シンポジウム, 第54回日本胸部外科学会総会, 大阪,

2001.10.3-5

2. 中谷武嗣、笹子佳門、花谷彰久、小林順二郎、坂東 興、庭屋和夫、田鎖 治、小野安生、八木原俊克、宮武邦夫、北村惣一郎: 心臓移植の現況と21世紀の展望, 特別シンポジウム, 第63回日本臨床外科学会総会, 横浜, 2001.10.10-12
3. 中谷武嗣、笹子佳門、花谷彰久、小林順二郎、坂東興、庭屋和夫、田鎖治、小野安生、佐藤長人、駒村和雄、八木原俊克、宮武邦夫、北村惣一郎: 我が国における人工心臓の臨床応用における問題点と今後の展望, シンポジウム, 第39回日本人工臓器学会大会, 大阪, 2001.11.4-2001.11.6
4. 北村惣一郎、中谷武嗣: 心臓移植, 特別シンポジウム, 第37回日本移植学会総会, 東京, 2001.12.15-16
5. 中谷武嗣、笹子佳門、花谷彰久、小林順二郎、坂東 興、庭屋和夫、田鎖 治、公文啓二、小野安生、佐藤長人、駒村和雄、光武耕太郎、宮田茂樹、植田初江、由谷親夫、八木原俊克、宮武邦夫、北村惣一郎: 国立循環器病センターにおける心臓移植症例の検討, シンポジウム, 第37回日本移植学会総会, 東京, 2001.12.15-16
6. Nakatani T, Sasako Y, Hanatani A, Kobayashi J, Bando K, Niwaya K, Tagusari O, Ono Y, Sato N, Komamura K, Miyatake K, Yagihara T, Kitamura S: Difference of drainage site of left ventricular assist system: left atrium vs left ventricle, Symposium, 13th World Congress of the International Society for Artificial Organs, Osaka Japan, 2001.11.5-8
Artificial Organs (Meeting Issue: 13th World Congress of the International Society for Artificial Organs) 25(10):804, 2001年10月
7. Hanatani A, Nakatani T, Sasako Y, Miyatake K, Kitamura S: Comparison of cardiac unloading effect of left ventricular assist system between left atrial and left ventricular drainage, 13th World Congress of the International Society for Artificial

Organs, Osaka, Japan, 2001.11.5-8
Artificial Organs (Meeting Issue: 13th
World Congress of the International
Society for Artificial Organs) 25(10):794,
2001年10月

H.研究協力者

中谷武嗣 1)、花谷彰久 1)、小林順二郎 2)、坂
東 興 2)、小野安生 3)、庭屋和夫 2)、田鎖 治
1)、駒村和雄 4)、由谷親夫 5)、八木原俊克
1)、宮武邦夫 4)

国立循環器病センター

臓器移植部 1)、心臓血管外科 2)、小児科
3)、心臓内科 4)、病理 5)

IV 研究成果の刊行に関する 一覧表

(単行本)
(雑 誌)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shindo T, Manabe I, Fukushima Y, Tobe K, Aizawa K, Miyamoto S, Kawai-Kowase K, Moriyama N, Imai Y, Kawakami H, Nishimatsu H, Ishikawa T, Suzuki T, Morita H, Maemura K, Sata M, Hirata Y, Komukai M, Kagechika H, Kadowaki T, Kurabayashi M, Nagai R.	Kruppel-like zinc-finger transcription factor KLF5/BTEB2 is a target for angiotensin II signaling and an essential regulator of cardiovascular remodeling.	Nat Med	8(8)	856-63	2002
Mitani H, Ishizaka N, Aizawa T, Ohno M, Usui S, Suzuki T, Amaki T, Mori I, Nakamura Y, Sato M, Nangaku M, Hirata Y, Nagai R.	In vivo klotho gene transfer ameliorates angiotensin II-induced renal damage.	Hypertension	39(4)	838-43	2002
Fukino K, Suzuki T, Saito Y, Shindo T, Amaki T, Kurabayashi M, Nagai R.	Regulation of angiogenesis by the aging suppressor gene klotho.	Biochem Biophys Res Commun	293(1)	332-7	2002
Sata M, Saiura A, Kunisato A, Tojo A, Okada S, Tokuhisa T, Hirai H, Makuuchi M, Hirata Y, Nagai R.	Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis.	Nat Med	8(4)	403-9	2002
Oyama Y, Akuzawa N, Nagai R, Kurabayashi M.	PPARgamma ligand inhibits osteopontin gene expression through interference with binding of nuclear factors to A/T-rich sequence in THP-1 cells.	Circ Res	90(3)	348-55	2002
Maeno T, Tanaka T, Sando Y, Suga T, Maeno Y, Nakagawa J, Hosono T, Sato M, Akiyama H, Kishi S, Nagai R, Kurabayashi M.	Stimulation of vascular endothelial growth factor gene transcription by all-transretinoic acid through Sp1 and Sp3 sites in human bronchioloalveolar carcinoma cells.	Am J Respir Cell Mol Biol	26(2)	246-53	2002
Aizawa T, Ishizaka N, Usui S, Ohashi N, Ohno M, Nagai R.	Angiotensin II and catecholamines increase plasma levels of 8-epi-prostaglandin F(2alpha) with different pressor dependencies in rats.	Hypertension	39(1)	149-54	2002
Ishizaka N, Aizawa T, Ohno M, Usui S, Mori I, Tang SS, Ingelfinger JR, Kimura S, Nagai R.	Regulation and localization of HSP70 and HSP25 in the kidney of rats undergoing long-term administration of angiotensin II.	Hypertension	39(1)	122-8	2002
Ishizaka N, Aizawa T, Yamazaki I, Usui S, Mori I, Kurokawa K, Tang SS, Ingelfinger JR, Ohno M, Nagai R.	Abnormal iron deposition in renal cells in the rat with chronic angiotensin II administration.	Lab Invest	82(1)	87-96	2002
Sato M, Tanaka T, Maeno T, Sando Y, Suga T, Maeno Y, Sato H, Nagai R, Kurabayashi M.	Inducible expression of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia in human lung adenocarcinoma A549 cells. Role of Src family kinases-dependent pathway.	Am J Respir Cell Mol Biol	26(1)	127-34	2002

Iwasaki T, Iwasaki T, Aihara Y, Kanda T, Oriuchi N, Endo K, Katoh H, Suzuki T, Nagai R.	Immunoscintigraphy of aortic dissection with ^{99m} Tc-labeled murine anti-smooth muscle myosin monoclonal antibody in rats.	J Nucl Med	42(1)	130-7	2001
Saiura A, Sata M, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M.	Circulating smooth muscle progenitor cells contribute to atherosclerosis.	Nat Med	7(4)	382-3	2001
Ogata T, Nagai R, Kurabayashi M, Hoshino Y, Sekiguchi K, Kowase K, Akuzawa A, Ishikawa S, Takeyoshi I, Morishita Y.	Inducible expression of basic transcription factor binding protein 2 plays a potential role in the development of the allograft vascular disease.	J Heart Lung Transplant	20(2)	228	2001
Morita H, Kurihara H, Imai Y, Sugiyama T, Hamada C, Sakai E, Mori M, Nagai R.	Lack of association between the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism and myocardial infarction in Japanese. An approach entailing melting curve analysis with specific fluorescent hybridization probes.	Thromb Haemost	85(2)	226-30	2001
Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Saubermann LJ, Kadowaki T, Blumberg RS, Nagai R, Matsuhashi N.	Endogenous PPAR gamma mediates anti-inflammatory activity in murine ischemia-reperfusion injury.	Gastroenterology	120(2)	460-9	2001
Sekiguchi K, Kurabayashi M, Oyama Y, Aihara Y, Tanaka T, Sakamoto H, Hoshino Y, Kanda T, Yokoyama T, Shimomura Y, Iijima H, Ohyama Y, Nagai R.	Homeobox protein Hex induces SMemb/nonmuscle myosin heavy chain-B gene expression through the cAMP-responsive element.	Circ Res	88(1)	52--8	2001
Kanai H, Tanaka T, Aihara Y, Takeda S, Kawabata M, Miyazono K, Nagai R, Kurabayashi M.	Transforming growth factor-beta/Smads signaling induces transcription of the cell type-restricted ankyrin repeat protein CARP gene through CAGA motif in vascular smooth muscle cells.	Circ Res	88(1)	30--6	2001
Morita H, Kurihara H, Yoshida S, Saito Y, Shindo T, Oh-Hashi Y, Kurihara Y, Yazaki Y, Nagai R.	Diet-induced hyperhomocysteinemia exacerbates neointima formation in rat carotid arteries after balloon injury.	Circulation	103(1)	133-9	2001
Nagai R, Suzuki T, Aizawa K, Miyamoto S, Amaki T, Kawai-Kowase K, Sekiguchi KI, Kurabayashi M.	Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells: dissection of transcriptional regulatory mechanisms.	Ann N Y Acad Sci	947	56-66; discussion 66-7	2001
Yamagishi T, Saito Y, Nakamura T, Takeda S, Kanai H, Sumino H, Kuro-o M, Nabeshima Y, Kurabayashi M, Nagai R.	Troglitazone improves endothelial function and augments renal klotho mRNA expression in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats with multiple atherogenic risk factors.	Hypertens Res	24(6)	705-9	2001
Manabe N, Kawaguchi H, Chikuda H, Miyaura C, Inada M, Nagai R, Nabeshima Y, Nakamura K, Sinclair AM, Scheuermann RH, Kuro-o M.	Connection between B lymphocyte and osteoclast differentiation pathways.	J Immunol	167(5)	2625-31	2001