

温熱療法は心不全に合併する不整脈を改善する

木原 貴士, 福留 剛, 新里 拓郎
増田 彰則, 枇榔 貞利, 鄭 忠和

鹿児島大学医学部内科学第一講座

研究要旨

心不全診療において、従来禁忌とされていた血管拡張薬は、現在最も有用な治療法の一つとして確立されている。我々は、血管拡張作用を有する温浴に着目し、心不全患者に対する新しい治療法としてサウナ浴による温熱療法を応用し、様々な角度から検討してきた。

サウナ浴の温度設定に関する検討では、深部体温を1°C上昇させる中低温（60°C）・15分間のサウナ浴では、血圧はほとんど低下せず、脈拍の増加も10%に止まり、かつ心拍出量は著明に増加することを証明した(1)。サウナ浴の慢性効果に関する検討として、2週間のサウナ浴（60°C, 15分間）を心不全患者に施行したところ、症状の改善(2)とともに、心拡大の縮小、神経体液性因子である血中BNP（脳性利尿ペプチド）濃度の低下ならびに末梢血管内皮機能の改善を認めた(3)。さらに実験動物を用いた検討により、温熱療法の心不全に対する効果発現機序として、血管内皮における一酸化窒素（NO）合成酵素の増加を証明した他(4)、生命予後の改善効果に関しても証明した(5)。

一方、心不全治療において心室性不整脈の管理は突然死の観点からも重要である。そこで、我々は慢性心不全で多発する不整脈に対するサウナ浴による温熱療法の効果を、30名の心不全患者において、Randomized studyにて検討した。温熱療法は、60°C・15分間の乾式サウナ浴を施行し、出浴後30分間の安静保温を追加する従来の方法で施行し、2週間前後で両群間の比較検討を行った。その結果、臨床背景は両群間で有意差を認めなかったが、2週間後、両群間で心室性期外収縮総数の有意な減少・心拍変動の有意な増大・BNPの有意な減少を認め、温熱療法の心不全に合併する不整脈に対する改善効果が認められた。

研究目的

心不全に合併する不整脈に対する温熱療法の効果を明らかにし、その機序についても検討する。

研究方法（倫理面への配慮）

NYHA心機能分類でIIからIII度の慢性心不全患者30名（平均年齢59±3歳、男性21名、女性9名、拡張型心筋症24名、虚血性心筋症6名）を対象とし、温熱療法施行群20名と非施行群10名とでrandomized studyを施行した。全例24時間心電図上200回以上の心室性期外収縮を認め、ACE阻害剤・βブロッカー・抗不整脈薬等の内服加療はすでに施行されており、かつ4週間以上内服変更のない臨床症状の安定した症例である。温熱療法施行群は、遠赤外線乾式サウナを用い、1日1回60°C15分間で施行し、出浴後30分間の安静保温を追加する方法を用いた。非施行群は25°Cの室内で45分間の安静保持を1日1回施行し、2週間後に両群間の比較検討を行った。不整脈は24時間心電図から計

測される心室性期外収縮総数により評価し、同時に心拍変動（heart rate variability）を正常心拍間（R-R interval）のばらつき（SDNN）により評価した。すべての患者に、鹿児島大学医学部倫理委員会の承認の下、本法の承諾を得て研究は施行された。検査値は平均値±SEで表記した。統計学的検定には、un-paired t検定を用い、危険率0.05未満を有意とした。

研究結果

患者臨床背景は、心不全の重症度ならびに不整脈の頻度ともに、両群間で有意差を認めなかった（Table 1）。2週間後、両群間で心室性期外収縮総数の有意な減少・心拍変動の有意な増大・BNPの有意な減少を認めた（Table 2）。

考察

心不全治療において、重篤な心室性不整脈の出現ならびに突然死は極めて重要な問題である。そのため、様々な治療法による不整脈の管理が検討されて

いるが、決定的な治療法の確立には至っていない。特に、I群の抗不整脈薬による加療は、逆に心機能を悪化させるなどの理由で心不全患者の生命予後を悪化させることが報告され、不整脈管理は難しい局面を迎えている。

今回、我々は慢性心不全患者に対して、2週間の低温サウナを用いた治療を行い、特に心室性期外収縮の減少を証明した。これまで、不整脈に関する温浴の影響に関しては十分な研究がなされてこなかったが、温浴の方法を工夫することで、不整脈に対する高い改善効果が発揮されることが明らかとなった。

心不全における致死的不整脈の発生には、自律神経系のバランスが乱れることに起因する交感神経の活性化異常、心筋電位の不均一ならびに心筋の慢性的ストレッチ等の関与が報告されている(6)。一方、心拍変動の低下は、心不全における不整脈の発生ならびに突然死と正相関することが報告されている(7,8)。血中BNPは主に心室筋のストレッチにより分泌が制御されており、心不全で心室内圧が上昇すると過剰な分泌が生ずることが報告されており、心不全重症度のマーカーとして有用であることが知られている(9-11)。

今回の検討では、2週間の温熱療法により心拍変動は有意に増大し、自律神経系のアンバランスは改善されることが明らかとなった。また、血中BNP値は有意に低下し、全身血管抵抗の低下による心室心筋でのストレッチの軽減が示唆された。以上より、温熱療法の不整脈改善機序の一つとして、自律神経系のバランス改善ならびに心筋ストレッチの軽減が示唆された。

しかしながら、サウナ浴による温熱療法は他の治療法と異なり、気分の良い発汗を促進し、かつリラックスした環境を心不全患者に提供できる治療である。このメンタル面での効果も心不全治療における忘れてはならない重要な点であると考えている。

結論

温熱療法は、BNPの減少で示唆される心不全の改善（特に心室筋ストレッチの軽減）ならびに心拍変動の増大で示唆される交感神経活性の是正等により、慢性心不全患者に合併する心室性期外収縮を減少させることが示唆された。

健康危険情報

これまで、多くの慢性心不全患者に対して、低温サウナ浴による温熱療法を施行してきたが、重大な合併症等を認めることなく施行し続けており、安全

性は確立されたものと考えている。

参考文献

1. Tei C, Horikiri Y, Park JC, Jeong JW, Chang KS, Toyama Y, Tanaka N. Acute hemodynamic improvement by thermal vasodilation in congestive heart failure. *Circulation* 1995; 91: 2582-90.
2. Tei C, Tanaka N. Thermal vasodilation as a treatment of congestive heart failure. A novel approach. *J Cardiol* 1996; 27: 29-30.
3. Kihara T, Biro S, Imamura M, Yoshifuku S, Takasaki K, Otsuji Y, Minagoe S, Toyama Y, Tei C. Repeated Sauna Treatment Improves Vascular Endothelial and Cardiac Function in Patients With Chronic Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 754-759.
4. Ikeda Y, Biro S, Kamogawa Y, Yoshifuku S, Eto H, Orihara K, Kihara T, Tei C. Repeated thermal therapy upregulates arterial endothelial nitric oxide synthase expression in Syrian golden hamsters. *Jpn Circ J* 2001; 65: 434-8.
5. Ikeda Y, Biro S, Kamogawa Y, Yoshifuku S, Eto H, Orihara K, Kihara T, Tei C. Effect of repeated sauna therapy on survival in TO-2 cardiomyopathic hamsters with heart failure. *The American Journal of cardiology* 2002; 90: 343-345.
6. Vermeulen JT. Mechanisms of arrhythmias in heart failure. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998; 9: 208-21.
7. Maekikallio TH, Huikuri HV, Hintze U, Videbaek J, Mitrani RD, Castellanos A, Myerburg RJ, Muller M. Fractal analysis and time- and frequency-domain measures of heart rate variability as predictors of mortality in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 2001; 87: 178-82.
8. Fauchier L, Babuty D, Cosnay P, Fauchier JP. Prognostic value of heart rate variability for sudden death and major arrhythmic events in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1203-7.
9. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000; 355: 1126-30.
10. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994; 90: 195-203.
11. Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, et al.

Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure : prognostic role of plasma brain

natriuretic peptide concentration in patients with chronic symptomatic left ventricular dysfunction. Circulation 1997 ; 96 : 509-16.

Table 1. Baseline Clinical Characteristics between two groups

	Sauna-treated group (n=20)	Non-treated group (n=10)	P value
Age	59 ± 3	59 ± 4	n.s
Gender (M/F)	14 / 6	7 / 3	n.s
DCM / ICM	16 / 4	8 / 2	n.s
NYHA (I / II / III)	0 / 5 / 15	0 / 2 / 8	n.s
Body Weight (kg)	57 ± 3	53 ± 3	n.s
SBP (mmHg)	107 ± 4	108 ± 5	n.s
DBP (mmHg)	65 ± 3	67 ± 3	n.s
CTR (%)	59 ± 1	58 ± 1	n.s
LVEDD (mm)	64 ± 2	64 ± 3	n.s
LAD (mm)	46 ± 2	47 ± 2	n.s
Ejection Fraction (%)	30 ± 3	30 ± 4	n.s
Norepinephrine (pg/ml)	431 ± 63	414 ± 33	n.s
Epinephrine (pg/ml)	25 ± 5	25 ± 4	n.s
Dopamine (pg/ml)	14 ± 3	14 ± 3	n.s
ANP (pg/ml)	121 ± 23	126 ± 32	n.s
BNP (pg/ml)	425 ± 102	415 ± 98	n.s
Mean Heart Rate (bpm)	74 ± 3	70 ± 4	n.s
PVCs / 24h	3161 ± 1104	3048 ± 914	n.s
Atrial fibrillation (n)	5	2	n.s
PACs / 24h	820 ± 405	770 ± 258	n.s
SDNN	113 ± 8.2	111 ± 6.8	n.s

DCM, idiopathic dilated cardiomyopathy; ICM, ischemic cardiomyopathy; NYHA, New York Heart Association functional class; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; CTR, cardiothoracic ratio; LVEDD, left ventricular end diastolic dimension; LAD, left atrial dimension; ANP, atrial natriuretic peptide; BNP, brain natriuretic peptide; PVCs, premature ventricular contractions; PACs, premature atrial contractions; SDNN standard deviation of R-R interval; All values are given as the mean ± SE.

Table 2. Changes in Several Parameters Between Two Groups at 2-week Interval

	Sauna-treated group (n=20)	Non-treated group (n=10)	P value
NYHA (I / II / III)	0 / 15 / 5	0 / 2 / 8	<0.01
Body Weight (kg)	56 ± 3	54 ± 3	n.s
SBP (mmHg)	100 ± 4	108 ± 4	n.s
DBP (mmHg)	65 ± 3	67 ± 3	n.s
CTR (%)	56 ± 2	58 ± 2	n.s
LVEDD (mm)	61 ± 2	64 ± 2	n.s
LAD (mm)	44 ± 3	46 ± 2	n.s
Ejection Fraction (%)	33 ± 2	31 ± 3	n.s
Norepinephrine (pg/ml)	415 ± 85	455 ± 67	n.s
Epinephrine (pg/ml)	25 ± 4	28 ± 5	n.s
Dopamine (pg/ml)	14 ± 4	14 ± 3	n.s
ANP (pg/ml)	81 ± 21	130 ± 29	n.s
BNP (pg/ml)	229 ± 60	419 ± 87	<0.05
Mean Heart Rate (bpm)	72 ± 4	69 ± 3	n.s
PVCs / 24h	848 ± 415	3097 ± 1033	<0.05
SDNN	142 ± 10	112 ± 8	<0.05
PACs / 24h	170 ± 100	617 ± 264	n.s

NYHA, New York Heart Association functional class; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; CTR, cardiothoracic ratio; LVEDD, left ventricular end diastolic dimension; LAD, left atrial dimension; ANP, atrial natriuretic peptide; BNP, brain natriuretic peptide. PVCs, premature ventricular contractions; PACs, premature atrial contractions; SDNN standard deviation of R-R interval; All values are given as the mean ± SE.

研究発表

論文発表

1. Takashi Kihara, Sadatoshi Biro, Masakazu Imamura, Shiro Yoshifuku, Kunitsugu Takasaki, Yutaka Otuji, Shinichi Minagoe, Yoshifumi Toyama, Chuwa Tei. Repeated Sauna Treatment Improves Vascular Endothelial and Cardiac Function in Patients With Chronic Heart Failure. J Am Coll Cardiol, 39 : 754-759, 2002.
2. Yoshiyuki Ikeda, Sadatoshi Biro, Yasuyuki Kamogawa, Shiro Yoshifuku, Hideyuki Eto, Koji Orihara, Takashi Kihara, Chuwa Tei. Effect of repeated sauna therapy on survival in TO-2 cardiomyopathic hamsters with heart failure. The American Journal of cardiology 90 : 343-345, 2002.

学会発表

1. The 51th Annual Scientific Session of American College of Cardiology March 2002, Atlanta. Takashi Kihara, Sadatoshi Biro, Masakazu Imamura, Shiro Yoshifuku, Kunitsugu Takasaki, Yutaka Otuji, Yoshifumi Toyama, Shinichi Minagoe, Chuwa Tei. Effects of Sauna Therapy on Cardiac Arrhythmia in Patients with Chronic Heart Failure
2. International Congress of Internal Medicine May 2002, Kyoto. Takashi Kihara, Sadatoshi Biro, Masakazu Imamura, Shiro Yoshifuku, Kunitsugu Takasaki, Yutaka Otuji, Yoshifumi Toyama*, Shinichi Minagoe, Chuwa Tei. Effects of Sauna Therapy on Cardiac Arrhythmia in Patients with Chronic Heart Failure
3. The 75th Scientific Sessions of American Heart Association November 2002, Chicago. Takashi Kihara, Sadatoshi Biro, Tuyoshi Fukudome, Takuro Shinzato, Yoshiyuki Ikeda, Masakazu Imamura, Shinichi Minagoe, Chuwa Tei. Thermal Therapy Improves Cardiac Arrhythmia in Patients with Chronic Heart Failure
4. 日本心臓病学会 9月 2002, 名古屋. 木原貴士・鄭 忠和. 心不全に対する温熱療法

雑誌

1. 鄭 忠和「注目される心不全の温熱療法」臨床のあゆみ 2002 ; 52 ; 40-41.
2. 木原貴士・枇榔貞利・鄭 忠和。「慢性心不全の温熱療法」循環器科 2002 ; 51 (5) : 408-13.
3. 木原貴士・鄭 忠和「心不全治療への挑戦—温熱療法の実際とその効果」循環器 New Trends
4. 木原貴士・鄭 忠和「慢性心不全の診断と治療—慢性心不全の温熱療法」科学評論社
5. 鄭 忠和「リハビリテーションと生活指導—温熱療法」
6. 鄭 忠和「重症心不全の代替治療—温熱療法—」

拡張型心筋症における β ブロッカー療法の 局所左室機能への効果： strain rate imaging techniqueを用いた検討

吉川 純一

大阪市立大学大学院循環器病態内科学

研究要旨

新規 β ブロッカー療法導入した拡張型心筋症例における左室全体および左室局所心機能の経時的評価を試みた。 β ブロッカー維持量に達したばかりの治療早期の時点では、左室全体および左室局所の心機能評価には有意な変化はみられなかった。しかしながら、現時点では少数例での治療早期の時点での検討であるため、さらに多数例・長期の検討継続が必要と考えられる。

研究目的

本研究では、拡張型心筋症例における β ブロッカー療法導入後の局所心機能評価を経時的に行うことで、治療効果を早期に判断できると仮定し、 β ブロッカー療法を新規導入した拡張型心筋症例に対し、心エコー図でstrain rate imagingを用い局所左室機能の経時的検討を試みた。

研究方法（倫理面への配慮）

新規 β ブロッカー療法導入した拡張型心筋症例に対し、 β ブロッカー導入前・維持量に達した時点で、strain rate imaging その他心エコー図の手法にて、左室全体および左室局所の心機能評価を行った。すでに確立した治療法および検査法であるため、倫理面の問題はないと考えられる。

研究結果

今年度での少数例での、治療早期（維持量に達し

た時点）評価では、左室全体の収縮・拡張能は、治療前に比べて有意な変化を認めなかった。また、strain rate imagingによる左室局所拡張能評価でも、維持量に達した時点では治療前と有意な変化を認めなかった。

考察

今年度開始した少数例での中間検討であるため、さらに症例数を増やす必要がある。また、今年度は治療早期までしか経時的評価ができていないため、経時的評価を継続し、さらに長期治療後での結果が必要と考えられる。

結論

新規 β ブロッカー療法導入した拡張型心筋症では、少数例での検討ではあるが、維持量に達したばかりの治療早期の時点では、左室全体および局所の心機能評価には有意な変化がみられず、さらに多数例・長期の検討継続が必要と考えられた。

心臓におけるエンドセリン遺伝子の発現調節の研究

山口 巖, 宮内 卓, 酒井 俊, 入鹿山容子, 小形 岳寛
高梨 正勝, 河野 了, 飯田 啓治, 後藤 勝年

筑波大学臨床医学系循環器内科

研究要旨

心筋エンドセリン-1 (ET-1) 遺伝子の発現増大のメカニズムの詳細は、不明な点が多い。一方、PPAR- α は核内レセプターの一つであり、血管の炎症過程においてNF κ BやAP-1によって制御を受ける遺伝子の発現を抑制することが知られている。AP-1は心肥大における重要な分子でもあるが、心肥大過程におけるPPAR- α の活性化との関連についての詳細は不明である。本研究にてPPAR- α 活性化と心筋ET-1遺伝子発現増大のメカニズムについて検討した。その結果、PPAR- α の活性化は、AP-1の活性化を抑制することによりET-1による心肥大を抑制するが、それは、JNK pathwayの抑制を一部介していることが示唆された。また、PPAR- α の活性化は圧負荷による初期の心肥大を抑制することも示唆された。

研究目的

心不全期の心筋症患者の血中エンドセリン-1 (ET-1)は、上昇する。また、心筋症ハムスターの不全心筋にて、心筋ET-1組織濃度は上昇し、エンドセリン受容体遮断薬の投与は、心筋症ハムスターの生存率を著明に上昇させることが報告されている。このように、心筋症の病態生理に、ET-1が関与していることが示唆される。一方、心筋エンドセリン-1 (ET-1) 遺伝子の発現増大のメカニズムの詳細は、不明な点が多い。また、peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- α は核内レセプターの一つであり、血管の炎症過程においてNF κ BやAP-1によって制御を受ける遺伝子の発現を抑制することが知られている。AP-1は心肥大における重要な分子でもあるが、心肥大過程におけるPPAR- α の活性化との関連についての詳細は不明である。本研究にてPPAR- α 活性化と心筋ET-1遺伝子発現増大のメカニズムについて検討した。

研究方法 (倫理面への配慮)

ラットを用いて、実験を行った。ラットをsacrificeする際には、ペントバルビタールで麻酔をした。(in vitroの実験) 培養心筋細胞においてET-1刺激による細胞径の増大・蛋白合成・c-Jun mRNAの発現増大に対する、PPAR- α 活性化薬であるフェノフィブレート (10 μ M)の効果を検討した。c-JunおよびJNKのリン酸化レベルおよびERKのリン酸化レベルに対する効果も検討した。また、ET-1遺伝子5'上流領域をレポーター遺伝子とした

ルシフェラーゼアッセイも行った。ゲルシフトアッセイを用いて、フェノフィブレートがET-1またはPMA刺激によるAP-1のDNA結合活性の増加を抑制するか否かを検討した。(in vivoの実験) ラット圧負荷心肥大に対するフェノフィブレートの効果を検討した。腹部大動脈狭窄 (AB) 手術 24 時間後、フェノフィブレート投与が左室重量の増加に及ぼす影響を検討した。ABラット左室におけるET-1 mRNAの発現増加に対するフェノフィブレート投与の影響を検討した。また、心肥大の分子マーカーであるBNP mRNAおよび β -MHC mRNAの発現に対する影響も検討した。

研究結果

(in vitroの実験結果) PPAR- α 活性化薬であるフェノフィブレート (10 μ M)は、培養心筋細胞においてET-1刺激による細胞径の増大・蛋白合成・c-Jun mRNAの発現増大を、有意に抑制した。フェノフィブレートは、c-JunおよびJNKのリン酸化レベルを抑制したが、ERKのリン酸化は抑制しなかった。フェノフィブレートは、ET-1刺激によるET-1遺伝子の発現を抑制し、また、ET-1遺伝子5'上流領域をレポーター遺伝子としたルシフェラーゼアッセイにおいても、ET-1刺激によるルシフェラーゼ活性の増加をFENは有意に抑制した。ET-1またはPMA刺激によるAP-1プロモーター活性の増加もフェノフィブレートは有意に抑制した。ゲルシフトアッセイにおいて、フェノフィブレートはET-1またはPMA刺激によるAP-1のDNA結合活性の増加を抑制した。(in vivoの実験結果) ラット

圧負荷心肥大に対するフェノフィブレードの効果を検討した結果を以下に記す。腹部大動脈狭窄（AB）手術 24 時間後、フェノフィブレード投与群の左室重量の増加は非投与群に比べ有意に抑制されていた。AB ラット左室における ET-1 mRNA の発現増加は、フェノフィブレード投与群では非投与群に比べ有意に抑制されていた。また、心肥大のマーカである BNP mRNA および β -MHC mRNA の発現も同様の傾向を示した。

考察

不全心筋における ET-1 遺伝子の著明な発現増大には、いくつかのメカニズムが関与すると考えられる。すなわち、不全心筋における ET-1 の著明な発現増加のメカニズムとして、神経体液性因子や機械的因子のほかに、心筋エネルギー代謝の異常も関与することが考えられる。本研究にて、脂肪酸代謝と関係が深い PPAR- α と ET-1 との関連を検討した。

PPAR- α は核内レセプターの一つであり、NF κ B や AP-1 によって制御を受ける遺伝子の発現を抑制することが知られている。P-1 は心肥大における重要な分子でもある。本研究により、フェノフィブレードによる PPAR- α の活性化は、AP-1 の活性化を抑制することにより ET-1 による心肥大を抑制するが、それは、JNK pathway の抑制を一部介していることが示唆された。また PPAR- α の活性化は、腹部大動脈狭窄による圧負荷による初期の心肥大を抑制することも示唆された。

結論

PPAR- α の活性化は、AP-1 の活性化を抑制することにより ET-1 による心肥大を抑制するが、それは、JNK pathway の抑制を一部介していることが示唆された。また、PPAR- α の活性化は圧負荷による初期の心肥大を抑制することが示唆された。

研究発表

論文発表

1. Murakoshi N, Miyauchi T, Kakinuma Y, Ohuchi T, Goto K, Yanagisawa M, Yamaguchi I. Vascular endothelin-B receptor system in vivo plays a favorable inhibitory role in vascular remodeling after injury revealed by endothelin-B receptor-knockout mice. *Circulation* 106 : 1991-1998, 2002
2. Maeda S, Miyauchi T, Iemitsu M, Tanabe T, Irukayama-Tomobe Y, Goto K, Yamaguchi I, Matsuda M. Involvement of endogenous endothelin-1 in exercise-induced redistribution of tissue blood flow : An endothelin receptor antagonist reduces the redistribution. *Circulation* 106 : 2188-2193, 2002
3. Ueno M, Miyauchi T, Sakai S, Yamauchi-Kohno R, Goto K, Yamaguchi I. A combination of oral endothelin-A receptor antagonist and oral prostacyclin analogue is superior to each drug alone in ameliorating pulmonary hypertension in rats. *Journal of the American College of Cardiology* 40 : 175-181, 2002
4. Sakai S, Miyauchi T, Irukayama-Tomobe Y, Ogata T, Goto K, Yamaguchi I. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ activators inhibit endothelin-1-related cardiac hypertrophy in rats. *Clinical Science* 103 : 16S-20S, 2002
5. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, Tanabe T, Irukayama-Tomobe Y, Goto K, Matsuda M, Yamaguchi I. Effects of aging and subsequent exercise training on gene expression of endothelin-1 in rat heart. *Clinical Science* 103 : 152S-157S, 2002
6. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, Tanabe T, Takanashi M, Irukayama-Tomobe Y, Sakai S, Ohmori H, Matsuda M, Yamaguchi I. Aging-induced decrease in the PPAR- α level in hearts is improved by exercise training. *American Journal of Physiology* 283 : H1750-H1760, 2002
7. Kakinuma Y, Miyauchi T, Suzuki T, Yuki K, Murakoshi N, Goto K, Yamaguchi I. Enhancement of glycolysis in cardiomyocytes elevates endothelin-1 expression through the transcriptional factor hypoxia-inducible factor-1 α . *Clinical Science* 103 : 210S-214S, 2002

8. Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Irukayama-Tomobe Y, Goto K, Yamaguchi I. Stimulation of peroxisome-proliferator-activated receptor α (PPAR α) attenuates cardiac fibrosis and endothelin-1 production in pressure-overloaded rat hearts. *Clinical Science* 103 : 284S-288S, 2002
9. Miyauchi T, Maeda S, Iemitsu M, Kobayashi T, Kumagai Y, Yamaguchi I, Matsuda M. Exercise causes a tissue-specific change of NO production in the kidney and lung. *Journal of Applied Physiology* 94 : 60-68, 2003

学会発表

1. Maeda S, Tanabe T, Miyauchi T, Sugawara J, Otsuki T, Iemitsu M, Kuno S, Ajisaka R, Yamaguchi I, Matsuda M. Regular exercise attenuates age-related elevation in plasma endothelin-1 concentration in humans : SAT Project 68.
第 66 回日本循環器学会 2002
2. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, Yamaguchi I. Acute exercise induces cardiac gene expression of c-fos and c-jun, which may contribute to increase in cardiac function.
第 66 回日本循環器学会 2002
3. Maeda S, Miyauchi T, Iemitsu M, Tanabe T, Goto K, Yamaguchi I, Matsuda M. Endogenous endothelin (ET) -1 depresses both NOS activity and NO production in the kidney during exercise.
第 66 回日本循環器学会 2002
4. Tanabe T, Maeda S, Miyauchi T, Iemitsu M, Takanashi M, Irukayama-Tomobe Y, Yamaguchi I, Matsuda M. Exercise training causes an increase of eNOS expression in the aorta of aged rats.
第 66 回日本循環器学会 2002
5. Murakoshi N, Miyauchi T, Kakinuma Y, Yuki K, Yamaguchi I. Cardiac hypertrophic response by acute pressure-overload is reduced in cardiomyocyte-specific endothelin-1-knockout mice.
第 66 回日本循環器学会 2002
6. Ogata T, Miyauchi T, Irukayama-Tomobe Y, Sakai S, Yamaguchi I. Fenofibrate, one of peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR- α) activators, inhibits cardiac fibrosis by depression of both fibroblast proliferation and collagenesis.
第 66 回日本循環器学会 2002
7. Sakai S, Miyauchi T, Ueno M, Goto K, Yamaguchi I. Combination of endothelin-A (ETA) receptor inhibitor and prostacyclin (PGI₂) analogue is preferable to each drug alone for pulmonary hypertension (PH) .
第 66 回日本循環器学会 2002
8. Murakoshi N, Miyauchi T, Kakinuma Y, Goto K, Yanagisawa M, Yamaguchi I. Neointimal formation and vascular remodeling after cessation of the carotid artery is enhanced in endothelin-B receptor-knockout mice.
XIIth International Vascular Biology Meeting 2002
9. 柿沼由彦, 宮内 卓, 村越伸行, 結城幸一, 鈴木崇彦, 後藤勝年, 山口 巖. 心筋細胞におけるエネルギー代謝変換機構が心筋由来心血管作動物質の発 現におよぼす, 分子的連関機構についての研究.
第 10 回分子循環器研究会講演会 2002
10. Yamada S, Tsukada K, Miyashita T, Kanemoto M, Miyauchi T, Yamaguchi I. Magnetocardiograms superimposed on magnetic resonance images : Arrhythmias with or without anatomical abnormalities.

13th International Conference on Biomagnetism 2002

11. 高梨正勝, 入鹿山容子, 酒井 俊, 小形岳寛, 宮内 卓. エンドセリン-1 による心肥大に対する, PPAR α 刺激薬フェノフィブレートによる抑制には, c-Jun NH2 末端キナーゼ経路の遮断が関与する.

Cardiovascular Medicine 21 第2回フォーラム 2002

12. 家光素行, 宮内 卓, 前田清司, 松田光生, 山口 巖. 一過性運動は心臓の機能および形態に影響を与える AP-1 を介するシグナルを活性化させる.

第57回日本体力医学会 2002

13. Sakai S, Miyauchi T, Irukayama-Tomobe Y, Ogata T, Yamaguchi I. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α inhibits endothelin-1-induced cardiac hypertrophy partly via blockade of c-Jun NH2-terminal kinase pathway.

第6回日本心不全学会学術集会 2002

14. Sakai S, Miyauchi T, Irukayama-Tomobe Y, Ogata T, Yamaguchi I. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR- α) inhibits endothelin-1 (ET-1) - induced cardiac hypertrophy partly via blockade of jun NH2-terminal kinase (JNK) pathway.

The 75th Scientific Sessions of American Heart Association 2002.

15. 高梨正勝, 宮内 卓, 入鹿山容子, 酒井 俊, 小形岳寛, 後藤勝年, 山口 巖. Fenofibrate による Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) - α 活性化は JNK シグナルを阻止し, エンドセリン-1 による心肥大を抑制する.

第12回日本循環薬理学会 2002

高血圧性心不全における ACE 阻害薬と抗アルドステロン薬の併用効果の検討

山口 巖, 西 功, 河野 了, 美崎 昌子, 増見 智子, 飯田 啓治, 渡辺 重行

筑波大学臨床医学系循環器内科

研究要旨

近年、多様な原因による心不全の集団に対して、従来の標準的治療に抗アルドステロン薬を追加することにより、死亡リスクが減少することが明らかになってきた。心不全の発症・進展に関与する因子のうちでは高血圧の合併は頻度が高いので特に重要と思われる。本研究では、Dahl 食塩感受性ラットを用いて高血圧性心不全モデルを作成し、ACE 阻害薬に抗アルドステロン薬を併用することによる効果について検討した。7 週齢の雄 Dahl 食塩感受性ラットのうち 9 匹に 0.3% の NaCl を含有する食餌を継続して与え Control 群とし、他の 70 匹には高食塩食を投与して高血圧を発症させ、Vehicle 群 (Water ; 23 匹)、Imidapril 群 (imidapril 1mg/kg/日 ; 16 匹)、Spironolactone 群 (spironolactone 2mg/kg/日 ; 15 匹) と Combination 群 (imidapril 1mg/kg/日および spironolactone 2mg/kg/日 ; 16 匹) に分けた。9 週間各治療を行った後、心臓および肺を摘出し、左室重量、肺重量を計測した。また、左室乳頭筋レベルにおける切片をマッソントリクローム染色し、心筋線維化率を測定した。高食塩食を投与した Vehicle 群は Control 群に比較して収縮期血圧が有意に上昇した。しかし、治療による降圧作用は明らかではなく、併用による降圧作用の増強もみられなかった。Vehicle 群の 3 匹と Imidapril 群の 1 匹が各治療中にうっ血性心不全のため死亡した。左室重量/体重比は Vehicle 群 ($3.71 \pm 0.46 \text{mg/g}$) と比較して Imidapril 群 ($3.28 \pm 0.30 \text{mg/g}$) と Combination 群 ($3.34 \pm 0.38 \text{mg/g}$) において有意に小であった。一方、肺重量/体重比は Vehicle 群 ($6.32 \pm 3.62 \text{mg/g}$) と比較して Combination 群 ($4.38 \pm 0.50 \text{mg/g}$) では有意に少なかったが、Imidapril ($4.61 \pm 0.90 \text{mg/g}$) または Spironolactone ($5.40 \pm 2.50 \text{mg/g}$) の単独投与では有意な差はなかった。心筋線維化率は Vehicle 群と比較して治療を行ったいずれの群においても有意に少なかった。Dahl 食塩感受性高血圧ラットにおいて、ACE 阻害薬に抗アルドステロン薬を併用することにより肺うっ血が改善した。

研究目的

ACE 阻害薬等の標準的治療を受けている重症心不全症例に抗アルドステロン薬である spironolactone を追加投与することにより、心不全の改善が見られた Randomized ALdactone Evaluation Study (RALES) が報告され、注目されている。この RALES は、平均左室駆出率が 25% にまで低下した重症心不全の集団に対しての検討であり、基礎心疾患を統一した臨床研究ではない。RALES では対象とした心不全症例を虚血性もしくは非虚血性に大別しているのみであり、高血圧症の有無やその既往歴に関しては明らかではない。

一方、高血圧は心不全の発症・進展に大きく関与する重要な因子であり、日常の診療において頻度の高い疾患である。したがって、高血圧が原因となる心不全における spironolactone の効果の有無は重

要である。

本研究では、Dahl 食塩感受性ラットを用いて高血圧性心不全モデルを作成し、ACE 阻害薬に抗アルドステロン薬を併用することによる効果について検討した。

研究方法

7 週齢の雄 Dahl 食塩感受性ラットのうち 9 匹に 0.3% の NaCl を含有する食餌を継続して与え、これを Control 群とした。他の 70 匹には 8% の NaCl を含有する高食塩食を与えて高血圧を発症させ、Vehicle 群 (Water ; 23 匹)、Imidapril 群 (imidapril 1mg/kg/日 ; 16 匹)、Spironolactone 群 (spironolactone 2mg/kg/日 ; 15 匹) と Combination 群 (imidapril 1mg/kg/日および spironolactone 2mg/kg/日 ; 16 匹) に分けた。

7, 11, 13, 15 週齢に tail-cuff 法で非観血的に

血圧を測定した。各治療をそれぞれ9週間行った後に、腹腔内にペントバルビタール投与による十分な麻酔を行い、心臓および肺を摘出した。左室重量、肺重量を計測し、各個体の体重で補正した。また、左室乳頭筋レベルにおける切片をマッソントリクローム染色し、心筋線維化率を測定した。

統計学的検定には、Dunnett法を用い、Vehicle群とControl群、Imidapril群、Spironolactone群およびCombination群をそれぞれ比較した。危険率0.05未満を有意とした。

（倫理面への配慮）

本研究は「筑波大学動物実験委員会」の審査を経て行った。

研究結果

高食塩食を投与したVehicle群はControl群と比較して収縮期血圧が有意に上昇した。Imidapril、spironolactoneを投与した3群でもVehicle群と同等の血圧の上昇を認めた。特に、併用による降圧作用の増強も明らかではなかった（図1）。各治療中にVehicle群の3匹とImidapril群の1匹がうっ血性心不全に関連した要因のため、Combination群の1匹が頭蓋内出血のため死亡した。

左室重量/体重比はVehicle群と比較してImidapril群とCombination群において有意に小であった（図2）。一方、肺重量/体重比はVehicle群と比較してCombination群では有意に少なかったが、ImidaprilまたはSpironolactoneの単独投与では有意な差はなかった（図3）。心筋線維化率はVehicle群と比較して治療を行ったいずれの群においても有意に少なかった（図4）。特にCombination群では心筋線維化率がControl群とほぼ同程度であった。

考察

高食塩食を投与したVehicle群ではControl群に比べ収縮期血圧は有意に上昇した。しかし、このモデルにおいて各治療による降圧はほとんどなく、さらに併用による降圧作用の増強もみられなかった。このように本研究で使用したimidaprilとspironolactoneの投与量では降圧作用はないにも

かかわらず、Vehicle群と比較してImidapril群とCombination群では左室肥大の指標である左室重量/体重比が有意に小であった。これらの2群では共通してACE阻害薬が投与されており、左室肥大の退縮にはACE阻害薬によるアンジオテンシンII産生抑制効果の影響が大きいと考えられる。この結果はDahl食塩感受性ラットを用いた高血圧性心不全モデルにおいてもACE阻害薬が左室肥大を退縮させるという従来の報告と一致している。一方、Spironolactone群では左室肥大の退縮効果は有意ではなかった。Subdepressor doseではspironolactoneによる左室肥大退縮効果が強く現れない可能性も推測される。

心筋線維化率はVehicle群と比較していずれの群においても小であった。Spironolactone単独でもACE阻害薬と同等以上の心筋線維化の抑制が認められた。これはACE阻害薬によるアンジオテンシンII産生抑制とそれに引き続くアルドステロン産生抑制の効果またはspironolactoneによるレセプターレベルでのアルドステロン作用の遮断の効果あるいはその相乗効果によると考えられる。

Vehicle群と比較し、治療を行った3群のうちCombination群でのみ降圧効果に関連なく肺うっ血の指標である肺重量/体重比が改善していた。Spironolactone単独治療は心筋線維化率は少なかったが、肺うっ血の改善は明らかでなく、本研究で採用した投与量では強い利尿作用が現れたとは考え難い。Imidaprilとspironolactoneの併用療法だけが肺うっ血を改善したことは、当然、spironolactoneの利尿薬としての相乗作用効果によるとも考えられる。しかし、Combination群では心筋線維化率がControl群とほぼ同程度まで抑制されていたことより、Combination群における左室拡張機能の回復に伴う肺うっ血の改善がその主要因として推測される。

結論

Dahl食塩感受性高血圧ラットにおいて、ACE阻害薬に抗アルドステロン薬を併用することにより肺うっ血が改善した。

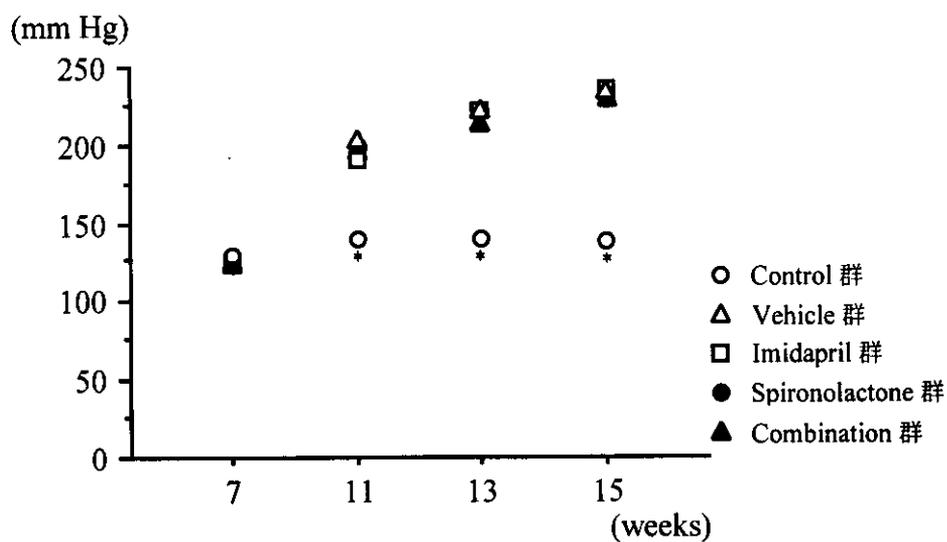


図1 各群における収縮血圧の変化

*p < 0.01 vs Vehicle 群

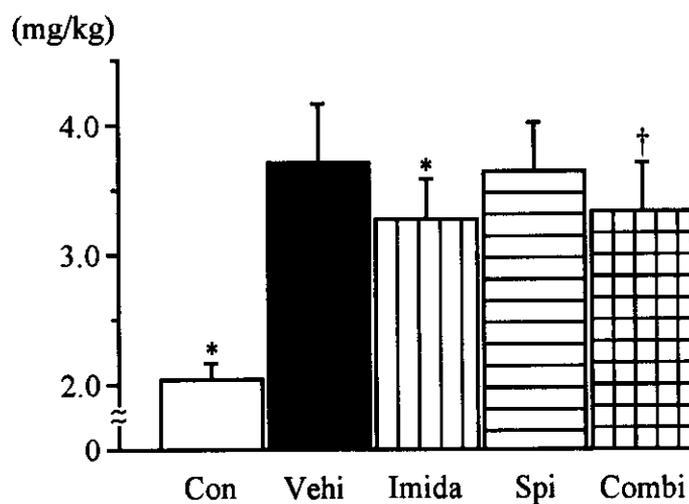


図2 各治療9週間後の左室重量/体重比の比較

Con, Control 群; Vehi, Vehicle 群; Imida, Imidapril 群; Spi, Spironolactone 群; Combi, Combination 群.

*p < 0.01, † p < 0.05 vs Vehicle 群.

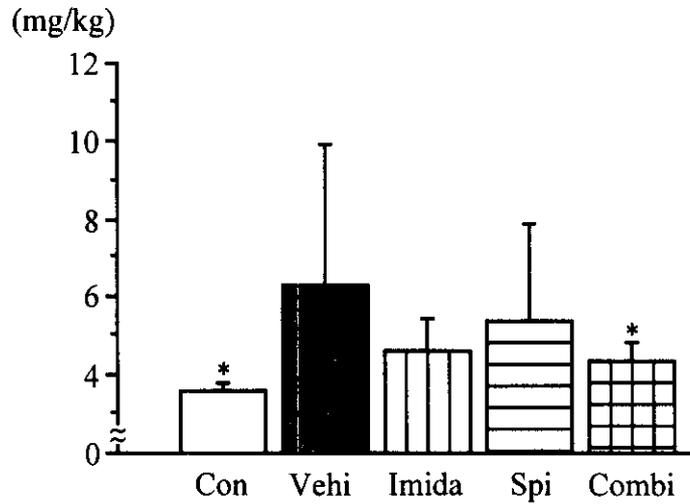


図3 各治療9週間後の肺重量/体重比の比較

Con, Control 群; Vehi, Vehicle 群; Imida, Imidapril 群; Spi, Spironolactone 群; Combi, Combination 群.

* $p < 0.05$ vs Vehicle 群.

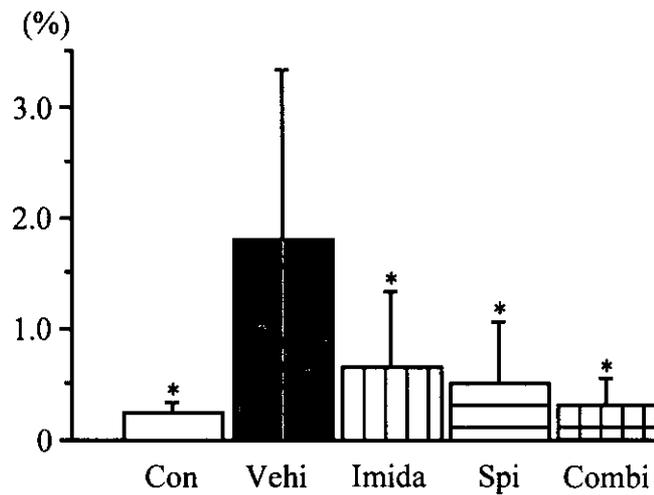


図4 各治療9週間後の心筋線維化率の比較

Con, Control 群; Vehi, Vehicle 群; Imida, Imidapril 群; Spi, Spironolactone 群; Combi, Combination 群.

* $p < 0.01$ vs Vehicle 群.

研究発表

論文発表

1. Isao Nishi, Satoru Kawano, Masako Misaki, Tomoko Masumi, Keiji Iida, Shigeyuki Watanabe, Iwao Yamaguchi. Combined treatment with imidapril and low-dose spironolactone improves left ventricular hypertrophy in Dahl hypertensive rats. 第6回日本心不全学会学術集会（東京）,10月,2002,J Card Fail.2002 ; 8 (Suppl) : S237.

心臓サルコイドーシスの診断・治療・予後に関する現状と問題点

北浦 泰

大阪医科大学第三内科

研究要旨

心臓サルコイドーシス（心サ症）はサルコイドーシスの死因として極めて重要である。心サ症の予後と治療においてはとくに早期診断が重要であるが、心臓以外の他臓器病変の明らかでない場合その早期診断は容易ではない。本研究は心サ症患者の診断・治療・予後に関する現状と問題点を明かにすることを目的として行われた。その結果、1) 今回対象とした心サ症患者において心臓以外の他臓器病変が臨床的に明らかでない症例が殆どであった。2) 患者の病状や既往歴として、① 中高年発症で非虚血性心筋症の病態を呈する、② 高度房室ブロックや局所的心室壁運動異常（心室瘤）が先行する、などの特徴が認められた。3) 経過は慢性進行性のものが多いが、中に若年発症、急性激症型で予後不良の症例がみられた。結論として、心サ症の確定診断は容易ではなく、拡張型心筋症または原因不明の心筋症と誤診される症例がある。心サ症の疫学、病因、病態（活動性）、治療、予後などに関して未だ不明な点が多く、病因・病態の解明や特異的な診断法、活動性の評価法の確立が待たれる。

研究目的

サルコイドーシス（サ症）は原因不明の全身性多臓器疾患で非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を特徴とする。とりわけ、心臓サルコイドーシス（心サ症）は死因として極めて重要である。心サ症の予後と治療においてはとくに早期診断が重要であるが、心臓以外の他臓器病変の明らかでない場合その早期診断は容易ではない。また、心サ症の活動性や治療効果の判定も確立しているとは言えない。本研究の目的は心サ症患者の診断・治療・予後に関する現状と問題点を明かにすることである。また、心サ症の診断や活動性の評価、治療効果の判定に役立つ新たな指標の有無を検討する。

研究方法

拡張型心筋症様病態を呈した心サ症患者 10 例（左室縮小形成術時切除心筋 7 例、生検心筋 2 例、剖検心筋 1 例）および年齢を一致させた特発性拡張型心筋症（DCM）患者 10 例（左室縮小形成術時切除心筋）を対象とした。患者の背景として、術前診断、既往歴、初発症状、病悩期間、術前 NYHA、心臓外他臓器病変の有無、心臓部ガリウムシンチグラフィ所見、心筋生検所見、術後経過（治療と予後）等の因子を検討した。左室縮小形成術時切除心筋の一部をホルマリン固定後、パラフィン包埋し HE 染色および諸種サイトカインに対する抗体を用いた免

疫組織化学染色を行いサイトカイン蛋白の局在を検討した。また、下記の定量的 PCR 法を用いて心筋における諸種サイトカイン mRNA の発現解析を行った。さらに、患者血清中の炎症性サイトカイン濃度を測定した。

本研究施行に際して、研究対象患者に研究目的と方法につき説明を行い承諾（インフォームドコンセント）を得た。

【定量的 PCR 法のプロトコール】

左室縮小形成術時切除心筋の一部は直ちに凍結し、 -80°C に保存、グアネジウムチオサイアネート法による mRNA の抽出を行った。Random hexamers をプライマーとして逆転写反応を行い、ABI 社提供のコントロール用 Human total RNA と切除心筋の RNA から cDNA を作成した。作成した cDNA を用いて ABI 社 PRISM7700 により 12 種のサイトカイン（interleukin- 1α (IL- 1α), IL- 1β , IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, IL-12p35, IL-12p40, IL-15, interferon- γ (IFN- γ) および TNF- α) の mRNA について定量的解析を行った。すなわち各々の cDNA に対して、Ribosomal RNA とターゲット遺伝子に対するプライマー、プローブの組を用い、ABI 社 PRISM7700 にて同一チューブでリアルタイムの定量的 PCR を行った。切除心筋におけるターゲット遺伝子の発現量はコントロール RNA 内のターゲット遺伝子の量に対する相対的な値として求めた。

[血清中サイトカインの測定]

心筋のサルコイド肉芽腫病変が極めて高度な3症例についてステロイド治療前に検討を行った。患者からの採血を直ちに低温状態で遠心分離し血清を-80°Cで凍結保存した。炎症性サイトカインおよび関連因子としてIL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, TNF- α , IFN- γ , 可溶性IL-2受容体(sIL-2R)を測定した。また、ACE, リゾチーム, CK, CK-MB, トロポニンT, 心筋トロポニンIの測定も併せて施行した。

研究結果

[患者背景]

- 1) 今回対象とした心サ症患者10例において心臓以外の他臓器病変が臨床的に明かでない症例が9例であった。
- 2) 患者の病状や既往歴としては、① 中高年発症で非虚血性心筋症の病態を呈する、② 高度房室ブロックや局所的心室壁運動異常(心室瘤)が先行する、などの特徴が認められた。
- 3) 慢性進行性のものが多いが、中に若年発症、急性激症型で予後不良の症例(10例中2例)がみられた。

[サイトカイン mRNA の定量的 PCR]

検索した諸種炎症性サイトカイン中、IL-1 α , IL-2, IL-12p40, IFN- γ mRNA が心サ症患者心筋において発現が著明に亢進していた。IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-15, TNF- α の mRNA の発現は心サ症およびDCM両者の心筋に認められた。IL-4およびIL-5の発現は両疾患ともに認められなかった。

[サイトカイン蛋白の局在]

免疫組織学的検索ではIL-12およびIFN- γ が心サ症患者心筋において特異的に陽性でIL-12はサルコイド肉芽腫内の大型単核球および多核巨細胞に、IFN- γ の染色性が一部のリンパ球や血管壁に強く認められた。DCM患者心筋でも軽度の炎症性細胞浸潤が存在するが、これらにおいてはIL-12およびIFN- γ の発現はみられなかった。

[血清中サイトカインの測定]

心筋のサルコイド肉芽腫病変が極めて高度な3症例についてステロイド治療前に検討を行った。測定した血清サイトカイン中、IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α は全例正常範囲であった。IL-4, IL-8, IL-10, IL-18は一部の症例で有意に増加していた。sIL-2RおよびIL-6は全例で有意に増加していた。

考察

心サ症の確定診断は心筋生検で非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を証明することにより行われるが、巨細胞を含む典型的な肉芽腫が認められる機会は少ない。心サ症の予後と治療においてはとくに早期診断が重要であり、心臓以外の他臓器病変の明らかでない場合でも、① 中高年発症で非虚血性心筋症の病態を呈する、② 高度房室ブロックや局所的心室壁運動異常(心室瘤)が先行する、などの患者背景が認められた場合には心サ症を強く疑い検査を進める必要がある。

諸種のサイトカインがサ症の病因・病態に関与することが報告されているが、心サ症におけるサイトカインの実態は明らかにされていなかった。本研究により心サ症患者の心筋組織内における炎症性サイトカインの発現とその特徴が明らかになった。すなわち、特異的な炎症性サイトカインの発現亢進が認められ、その多くが1型ヘルパーT細胞(Th1)関連サイトカインであった。これらは、他の臓器(主として肺)における過去の報告に類似するものである。

しかし、本研究の研究対象患者においてはTh1サイトカインの末梢血レベルは必ずしも上昇しておらず、むしろ、一部の症例でTh2サイトカインの上昇が認められた。末梢血のサイトカインレベルは心筋組織内におけるTh1優位のサイトカイン発現を必ずしも反映しないと考えられる。すなわち、Th1サイトカインは心筋局所においてautocrineおよびparacrine的に働くことが示唆される。また、全身レベルでTh1/Th2バランスを保つために末梢血のTh2サイトカインが上昇している可能性もある。さらに、sIL-2RおよびIL-6は測定した全例で有意に上昇しており、とくにsIL-2Rは心筋組織内でのサルコイド肉芽腫の活動性を反映している可能性が高いと考えられる。IL-6はうっ血性心不全の病態を反映している可能性がある。

結論

心サ症の確定診断は容易ではなく、拡張型心筋症または原因不明の心筋症と誤診される症例がある。心サ症の疫学、病因、病態(活動性)、治療、予後などに関して未だ不明な点が多く、今後、病因・病態の解明や特異的な診断法、活動性の評価法の確立が待たれる。

心サ症患者の心筋において特異的な炎症性サイトカインの発現亢進が認められ、その多くがTh1サ

イトカインであった。しかし末梢血のサイトカインレベルは心筋局所の状態を反映しない。心サ症の活動性評価の末梢血におけるマーカーの一つとしてsIL-2Rが期待される。

研究発表

論文発表

1. Soluble interleukin-2 receptor and Th2 cytokines are sensitive markers of disease activity in cardiac sarcoidosis.
第 67 回日本循環器学会学術集会 2003 年 3 月
2. 心臓サルコイドーシスの診断・治療・予後に関する現状と問題点
第 156 回東京サルコイドーシス懇話会（日本サルコイドーシス学会関東支部会）
2002 年 12 月，東京都（特別講演）

拡張型心筋症患者心筋からのエンテロウイルスゲノム全長の検索

浮村 聡, 藤岡 重和, 寺崎 文生, 出口 寛文, 北浦 泰, 磯村 正*,
須磨 久善*, Kyung-Soo Kim**, Steve Tracy**

大阪医科大学第三内科, 葉山ハートセンター*,
Department of Pathology and Microbiology,
University of Nebraska Medical Center**

研究要旨

【目的】我々は、拡張型心筋症 (DCM) 患者の左室部分切除術切除心筋の約 30% から心筋エンテロウイルスゲノムが検出し、その遺伝子配列がコクサッキー B 群にほぼ一致することを報告してきた。しかし、我々が決定した遺伝子配列は非翻訳領域のごく一部であるため、DCM 患者心筋内エンテロウイルスゲノムの病因的意義やエンテロウイルスゲノムの変異や特異性などにかんしては不明な点が多い。そこで、これらの問題を解明する目的 DCM 患者心筋に検出しているエンテロウイルスゲノムについてその全長の検索を試みた。

【方法】DCM 患者で既に心筋エンテロウイルスゲノム陽性が判明している患者で、左室部分切除心筋が凍結保存されている 4 例について検索した。4 症例のうち 3 症例では 5' 付近の 154bp の遺伝子配列が決定され、コクサッキー B 群とほぼ一致している。左室部分切除心筋から Total RNA を抽出し oligo dT で逆転写し、cDNA を作成した。5' 非翻訳領域の PCR を行い、陽性症例においては 5' 付近からの約 3.2kb 及び 3' 末端からの約 4kb の長鎖 PCR を行い電気泳動にて確認した。Negative Control としてはウイルス非感染マウス心筋に加え、各ステップで DW を用いた。

【結果】1. 4 症例すべてで 5' 非翻訳領域の PCR は陽性を示した。従ってこれら 4 症例において、ほぼ 7kb の cDNA が作成されたと考えられた。
2. 4 症例において上記の長鎖 PCR を行い、1 症例において 3' 末端からの約 4kb の PCR 産物が得られた。

【結論】DCM 患者の左室部分切除術切除心筋から 1 例においてのみ 3' 末端から約 4kb の PCR に成功した。今後は遺伝子配列の決定による変異の検索、ウイルス蛋白の発現実験等応用が期待される。

研究目的

我々は拡張型心筋症 (DCM) 患者の左室部分切除術切除心筋に約 30% の頻度でエンテロウイルスゲノムを認め、その 5' 非翻訳領域の 154bp の遺伝子配列がコクサッキー B 群にほぼ一致することを報告してきた。しかし、ゲノムの検索部位は非翻訳領域のごく一部であるため当該ウイルスの性状や変異がどの程度おこっているかなど病因に対する意義については不明な点が多い。今回我々は Nebraska Medical Center の Steve Tracy 教授との共同研究で DCM 患者心筋から検出されるエンテロウイルスゲノム全長の検索を試みた。

研究方法

DCM 患者で既にエンテロウイルスゲノムを検出

しており、かつ凍結心筋がなお残っている 4 例の凍結左室部分切除心筋を用いた。これらの症例はすべて術後死亡した予後不良例である。これらの症例に対してはプライバシーに配慮の上、切除心筋を組織学的、あるいは心筋内で発現している遺伝子の検索等研究発表に用いる事にかんしてのインフォームドコンセントを手術時に得た。

これら 4 例中 3 例では 5' 非翻訳領域の 154bp の遺伝子配列が決定され、その配列はコクサッキー B 群とほぼ一致している。これら 4 例中 3 例は組織所見で細胞浸潤が強い症例であった (表 1)。またこれらの症例では心筋内サイトカイン mRNA 発現の定量を PCR を用いて行った。左室部分切除心筋から total RNA を抽出、random hexamers をプライマーとして逆転写を行い、A.B.I.社提供のコントロール RNA と切除心筋の RNA から cDNA を作成