

心筋細胞肥大とアポトーシスにおける myocardin の役割の検討

横山 光宏

神戸大学大学院医学系研究科循環呼吸器病態学

研究要旨

myocardin は心筋細胞と平滑筋細胞に選択的に発現する SRF 関連転写因子である。心不全のメカニズムを考える上で重要な心筋細胞肥大とアポトーシスにおいて、myocardin の関与を検討した。myocardin は心筋細胞において肥大の初期に促進的に働き、また抗アポトーシス作用をもつことも明らかになった。心筋肥大から心不全にいたるメカニズムに重要であると考えられた。

研究目的

心臓は外部からのストレスに対して代償的に肥大し、破綻すると心不全へ移行すると考えられているが、アポトーシスとの関連は解明されていない。myocardin は心筋細胞と平滑筋細胞に選択的に発現しており、SRF と結合し SRE を活性化する転写因子である。我々は胎生期の心筋細胞分化において myocardin の機能が重要であることを報告しているが、生後の心筋細胞における myocardin の役割は未だ明らかではない。今回我々は心筋細胞肥大とアポトーシスにおける myocardin の関与を検討した。

研究方法

myocardin の wild-type と dominant negative (DN) 変異体を発現する組み換えアデノウイルスを作成し、新生仔ラットの培養心筋細胞を用い実験を行なった。

(倫理面への配慮)

ラットに対する実験は当大学の「動物実験における

倫理の原則」に則って行った。

研究結果

myocardin は心筋細胞において転写レベルで ANF mRNA の発現を制御し、過剰発現により心筋細胞を肥大させた。また、心筋細胞に対して抗アポトーシス作用をもつことも明らかになった。

考察

myocardin は SRE 依存性の転写因子であるが、肥大関連遺伝子のほかに抗アポトーシス作用を持つ遺伝子の転写を制御していると考えられる。

結論

myocardin は生後の心筋細胞において肥大に関与しているが、一方でアポトーシスに対して抑制的に働いており、心筋肥大から心不全にいたるメカニズムに重要であると考えられた。

研究発表

学会発表

1. 第8回日本心不全学会 (H16/9/30 ~ H16/10/2) 長良川国際会議場

慢性心不全に対する顆粒球コロニー刺激因子の慢性期投与による治療効果に関する研究

藤原 久義

岐阜大学医学研究科循環病態学

研究要旨

マウス慢性期心筋梗塞モデルを用いて、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）後投与の慢性心不全に対する有効性を検討したところ、G-CSF 投与には有意な心機能改善効果がみられた。その有効性の機序として、心筋細胞再生よりむしろ心筋細胞肥大や心筋線維化の軽減効果が示唆された。

研究目的

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）後投与の慢性心不全に対する有効性を検討すること。

研究方法

12 週令雄 C57BL/6 マウスの左冠動脈を結紮し心筋梗塞を作製し、梗塞後 12 週目より G-CSF 10 $\mu\text{g/kg/day}$ を 5 日間連続皮下注射 2 日間休薬し、4 週間続けた。コントロール群には同量の vehicle を同様に投与した。梗塞 16 週後に心機能ならびに左室リモデリングについて、生理学的、病理学的、分子生物学的検討を行った。

（倫理面への配慮）

動物は過剰の麻酔により屠殺し苦痛を最小限にした。

研究結果

梗塞 16 週後の心機能ならびに左室リモデリングは G-CSF 群で有意に改善がみとめられた。また G-CSF 群において残存心筋細胞の有意な肥大が認められた。両群間で梗塞サイズに差はみられなかったが、G-CSF 群で残存心筋における線維化の軽減、matrix metalloproteinase-2 の発現亢進がみとめ

られた。ウェスタンブロットならびに免疫組織化学にて、梗塞心で G-CSF 受容体（G-CSFR）の発現亢進が残存心筋細胞にみられたが、その程度はコントロール群に比し G-CSF 群でより高度であった。さらに Akt ならびに phospho-Akt の発現亢進が G-CSF 群でみとめられた。次に GFP マウスの骨髓細胞を移植したキメラモデルで心筋梗塞を作製したところ、梗塞 16 週後においてコントロール群、G-CSF 群ともに骨髓細胞由来心筋細胞は認められなかった。

考察

G-CSF 投与はすでに心不全を発症したマウス心筋梗塞慢性期においてもその心不全軽減に有効であった。不全心筋における心筋細胞では G-CSF 受容体の過発現がみられ、かつこの発現は G-CSF 投与によりさらに増大した。G-CSF の有効性の機序として、心筋細胞再生よりむしろ心筋細胞肥大や心筋線維化の軽減が示唆された。

結論

G-CSF 治療はすでに心不全を発症した心筋梗塞慢性期においても心不全軽減に有効である。

研究発表

学会発表

1. 第 8 回日本心不全学会学術集会（平成 14 年 9 月 30 日・岐阜市）

心筋梗塞後リモデリングにおける TNF- α および NF- κ B の役割

竹下 彰, 久保田 徹

九州大学大学院医学研究院循環器内科学

研究要旨

心筋梗塞後リモデリングにおける TNF- α および NF- κ B の役割を検討した。心筋梗塞急性期に可溶性 TNF 受容体を投与したところ、心室破裂が増加し、亜急性期の投与では左室リモデリングの促進と心機能の低下が認められた。一方、NF- κ B (p50) ノックアウトマウスにおいて心筋梗塞を作成したところ、左室リモデリングの有意な抑制と生存率の改善がもたらされた。よって、TNF- α は、心筋梗塞急性期および亜急性期において、心保護的に作用している可能性が示唆された。また、NF- κ B は、炎症反応だけでなく、心筋の肥大やリモデリングにおいても重要な役割を果たしており、心不全治療の新たな標的分子となりうることが示唆された。

研究目的

心筋梗塞後リモデリングにおける TNF- α および NF- κ B の役割を明らかにし、心筋症・心不全治療の新たな標的分子を明らかにすること。

研究方法

1.8 週齢のオスのマウスの左冠動脈を結紮し、心筋梗塞を作成した。TNF- α を中和する手段として可溶性 I 型 TNF 受容体を組み込んだアデノウイルス (AdTNFRI) を用い、LacZ を組み込んだもの (AdLacZ) を対照とした。＜急性期治療＞アデノウイルスを静注し、1 週間後に、マウスの左冠動脈を結紮した。＜亜急性期治療＞マウスの左冠動脈を結紮し、1 週間後に、アデノウイルスを静注した。
2. 生体内で長期的・選択的に NF- κ B の活性化を抑制する手段として、NF- κ B (p50) ノックアウトマウスを用いた。8-14 週齢の雄マウスの左冠動脈を結紮し、死亡率、心機能、組織像、JNK のリン酸化、TNF- α の発現について、野生型マウスと比較検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、九州大学総長および医学部動物実験委員会の承認を経て、関連法案ならびに「九州大学医学部における動物実験に関する指針」に準拠して行った。

研究結果

1. ＜急性期治療＞梗塞サイズは、AdLacZ 群で 58.6 ± 2.2 (SD) %, AdTNFRI 群で 57.5 ± 1.6 % と両群間に有意差を認めなかった。冠動脈を結紮して 2 週間後までに、AdLacZ 群で 43 匹中 19 匹が、

AdTNFRI 群で 43 匹中 29 匹が死亡し、AdTNFRI 群の予後が有意に不良であった ($p < 0.05$)。特に、左室自由壁破裂が、AdLacZ 群では 7 匹であったのに対し、AdTNFRI 群では 18 匹と有意に増加していた ($p < 0.01$)。＜亜急性期治療＞冠動脈結紮後 4 週間までに、AdLacZ 群で 33 匹中 4 匹が、AdTNFRI 群で 35 匹中 9 匹が、うっ血性心不全のために死亡した ($p = 0.16$)。AdLacZ 群に比べて AdTNFRI 群では、左室拡張末期径の有意な拡大 (5.58 ± 0.05 mm, 6.03 ± 0.06 mm, $p < 0.01$)、短縮率の有意な低下 (14.2 ± 0.2 %, 11.4 ± 0.3 %, $p < 0.01$)、左室拡張末期圧の有意な上昇 (9.6 ± 1.8 mmHg, 14.2 ± 2.2 mmHg, $p < 0.05$)、左室重量の有意な増加 (122.6 ± 1.6 mg, 135.5 ± 2.2 mg, $p < 0.01$) を認めた。

2. 心筋梗塞後 24 時間の梗塞部および 7 日後の非梗塞部心筋において EMSA を施行し、野生型マウスで認められた NF- κ B の活性化が、NF- κ B ノックアウトマウスでは完全に抑制されていることを確認した。両群間で心筋梗塞サイズに有意差はなく、急性期の死亡率についても同程度であった。しかし、心筋梗塞後 7 日以降も観察を継続したところ、野生型マウスでは心不全を発症し徐々に死亡していくのに対し、NF- κ B ノックアウトマウスでは死亡率の有意な改善を認めた。心筋梗塞後 28 日の時点で心エコーと左室内圧測定を行った。野生型マウスでは、左室内径の拡大と短縮率の低下、左室拡張末期圧の上昇と収縮期圧の低下を認めたが、NF- κ B ノックアウトマウスでは、それらが有意に抑制されていた。また、組織像では、野生型マウスでは心筋細胞の肥大と間質の線維化を認めたが、NF- κ B ノックアウトマウスではそれらが有意に抑制されて

いた。さらに、JNK のリン酸化についても、野生型マウスでは亢進していたものが、NF- κ B ノックアウトマウスではほぼ完全に抑制されていた。一方、梗塞部および非梗塞部における TNF- α の発現は、野生型マウスに比べ、NF- κ B ノックアウトマウスではさらに亢進していた。

考察

不全心では TNF- α を始めとする炎症性サイトカインの発現が亢進しており、心不全の病態において重要な働きを担っていることが示唆されてきた。しかし、近年施行された慢性心不全患者を対象とした抗 TNF 療法の大規模臨床試験では、可溶性 TNF 受容体 (RENEWAL) と抗 TNF 抗体 (ATTACH) の何れも無効であった。むしろ、高用量の抗 TNF 抗体は、慢性心不全患者の死亡と心不全増悪による入院を有意に増加させ、有害であることが示唆された。本研究では、心筋梗塞の急性期および亜急性期に可溶性 TNF 受容体を投与し、その効果を検討したが、心筋梗塞急性期に可溶性 TNF 受容体を投与したところ、心室破裂が増加し、亜急性期の投与では左室リモデリングの促進と心機能の低下が認められた。このことは、TNF- α が、心筋梗塞急性期および亜急性期において、心保護的に作用している可能性を示唆している。

TNF- α の受容体には、55kDa の I 型と 75kDa の II 型の 2 種類がある。心筋細胞を含めた多くの細胞・組織において両者の発現が認められるが、TNF- α の生理作用の多くは I 型受容体を介したものとされており、II 型受容体の役割についてはほとんど明らかになっていない。我々は、心筋特異的に TNF- α を過剰発現させたトランスジェニックマウスを作成し、心筋における炎症性サイトカインの発現が心不全の発症と進展において重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。TNF I 型および II 型受容体の差異を検討するため、TNF- α 過剰発現マウスと I 型または II 型受容体欠損マウスを掛け合わせたところ、I 型受容体を欠損させた場合には心筋の炎症性変化と心不全の発症がほぼ完全に抑制されたのに対し、II 型受容体を欠損させたマウスではむしろ心機能の低下が著しく心不全死が有意に増加した (Circulation 109:1892, 2004.)。このことは、TNF- α の作用のうち、I 型受容体を介するものは心筋傷害的、II 型受容体を介するものは心筋保護的であることを示唆している。可溶性 TNF 受容体や抗 TNF 抗体は TNF- α そのものを中和するため、心筋傷害的な I 型受容体だけでなく心筋保護

的な II 型受容体の作用も阻止することとなり、結果として無効または有害であったものと考えられる。よって、I 型受容体のみを選択的に阻害することで、心不全治療の新たな展開が期待されるものと思われる。

NF- κ B は、炎症反応の中心的な転写因子であり、ヒトの不全心において活性化されている。NF- κ B のサブユニットには p50, p52, RelA (p65), c-Rel, RelB の 5 つがあるが、最も一般的なのは p50 と p65 からなるヘテロ二量体である。通常は不活化因子 I κ B と結合して細胞質内に存在し、炎症性サイトカインや活性酸素種、リポ多糖類などの刺激によって I κ B がリン酸化・分解されると核内へ移行して活性型となる。NF- κ B によって誘導される遺伝子には、種々のサイトカインやケモカイン、接着分子、誘導型 NO 合成酵素など免疫応答や炎症反応に深く関わっているものが多い。我々は、これまで、心筋特異的 TNF- α 過剰発現マウスやアンジオテンシン持続注入マウスを用いて、NF- κ B の活性化が心筋の肥大や線維化において促進的に作用していることを明らかにしてきた。本研究では、NF- κ B (p50) ノックアウトマウスに心筋梗塞を作成し、NF- κ B の活性化を阻害することで、左室リモデリングの有意な抑制と生存率の改善がもたらされることを明らかにした。よって、NF- κ B は、炎症反応だけでなく、心筋の肥大やリモデリングにおいても重要な役割を果たしており、心不全治療の新たな標的分子となりうることを示唆される。

NF- κ B の活性化が心筋の肥大やリモデリングを促進する機序については不明の点が少なくない。NF- κ B ノックアウトマウスでは JNK のリン酸化がほぼ完全に抑制されていたが、このことが心筋の肥大やリモデリングに及ぼす影響について、今後解析を進めて行く予定である。一方、梗塞部および非梗塞部における TNF- α の発現は、野生型マウスに比べ、NF- κ B ノックアウトマウスではむしろ亢進していた。このことは、TNF- α の発現が亢進していても、NF- κ B の活性化を抑制することで心筋梗塞後リモデリングが軽減されることを意味しており、TNF- α の心筋傷害作用は、主に TNF I 型受容体を介した NF- κ B の活性化を介したものであることが示唆される。心筋の肥大とリモデリングにおける炎症性サイトカインと NF- κ B の相互作用について、さらなる検討が必要と思われる。

結論

心筋梗塞急性期に可溶性 TNF 受容体を投与した

ところ、心室破裂が増加し、亜急性期の投与では左室リモデリングの促進と心機能の低下が認められた。よって、TNF- α は、心筋梗塞急性期および亜急性期において、心保護的に作用している可能性が示唆された。一方、NF- κ B (p50) ノックアウトマウスにおいて心筋梗塞を作成したところ、左室リ

モデリングの有意な抑制と生存率の改善がもたらされた。NF- κ Bは、炎症反応だけでなく、心筋の肥大やリモデリングにおいても重要な役割を果たしており、心不全治療の新たな標的分子となりうることが示唆された。

研究発表

論文発表

1. Shiomi T, Tsutsui H, Matsusaka H, Murakami K, Hayashidani S, Ikeuchi M, Wen J, Kubota T, Utsumi H, Takeshita A. Overexpression of glutathione peroxidase prevents left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction in mice. *Circulation*. 2004;109:544-9.
2. Ikeuchi M, Tsutsui H, Shiomi T, Matsusaka H, Matsushima S, Wen J, Kubota T, Takeshita A. Inhibition of TGF-beta signaling exacerbates early cardiac dysfunction but prevents late remodeling after infarction. *Cardiovasc Res*. 2004;64:526-35.
3. Kawamura N, Kubota T, Kawano S, Monden Y, Feldman AM, Tsutsui H, Takeshita A, Sunagawa K. Blockade of NF- κ B improves cardiac function and survival without affecting inflammation in TNF- α -induced cardiomyopathy. *Cardiovasc Res* (in press)

学会発表

第68回日本循環器学会総会（平成16年3月27-29日、東京）

- Kawano S, Kubota T, Kawamura N, Monden Y, Tsutsui H, Takeshita A. Blockade of NF- κ B rather up-regulates TNF- α but attenuates myocardial hypertrophy in response to chronic infusion of angiotensin II. *Circ J*. 68 (Suppl I) : 95, 2004.
- Kawamura N, Kubota T, Kawano S, Monden Y, Tsutsui H, Takeshita A. Blockade of NF- κ B in TNF- α transgenic mice improves cardiac function and survival with reduction of MMP-9 activity. *Circ J*. 68 (Suppl I) : 137, 2004.
- Ikeuchi M, Tsutsui H, Matsusaka H, Matsushima S, Wen J, Kubota T, Takeshita A. Inhibition of transforming growth factor (TGF)- β signaling prevents left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction. *Circ J*. 68 (Suppl I) : 168, 2004.
- Kawamura N, Kubota T, Kawano S, Monden Y, Tsutsui H, Takeshita A. Targeted disruption of the p50 subunit of NF- κ B paradoxically increase myocardial expression of proinflammatory cytokines in response to lipopolysaccharide. *Circ J*. 68 (Suppl I) : 407, 2004.

第8回日本心不全学会（平成16年9月30日-10月2日、岐阜）

- Monden Y, Kubota T, Kawano S, Kawamura N, Tsutsui H, Sunagawa K. Tumor necrosis factor- α prevents ventricular rupture and remodeling after myocardial infarction.
- Kawano S, Kubota T, Kawamura N, Monden Y, Tsutsui H, Sunagawa K. Targeted disruption of the p50 subunit of NF- κ B ameliorates cardiac dysfunction after myocardial infarction.
- Ikeuchi M, Tsutsui H, Matsusaka H, Matsushima S, Wen J, Kubota T, Sunagawa K. Overexpression of mitochondrial transcription factor A prevents mitochondrial deficiencies and cardiac failure after myocardial infarction.
- Matsusaka H, Tsutsui H, Ikeuchi M, Matsushima S, Wen J, Kubota T, Sunagawa K.

Blockade of matrix metalloproteinase (MMP)-2 exacerbates myocardial inflammation and dysfunction in tumor necrosis factor (TNF)- α -induced cardiomyopathy.

- Matsushima S, Tsutsui H, Shiomi T, Matsusaka H, Ikeuchi M, Kurakazu K, Jing W, Kubota T, Sunagawa K. Angiotensin-converting enzyme inhibitor attenuates myocardial fibrosis in diabetes mellitus by inhibiting connective tissue growth factor.

The 77th Annual Scientific Meeting of the American Heart Association
(November 7-10, 2004, New Orleans, USA)

- Monden Y, Kubota T, Kawano S, Kawamura N, Tsutsumi T, Tsutsui H, Sunagawa K. Tumor necrosis factor- α prevents ventricular rupture and remodeling after myocardial infarction. *Circulation*. 110 (Suppl III) : 26, 2004.
- Kawano S, Kubota T, Monden Y, Kawamura N, Tsutsumi T, Tsutsui H. Targeted disruption of the p50 subunit of NF- κ B ameliorates cardiac dysfunction after myocardial infarction. *Circulation*. 110 (Suppl III) : 66, 2004.
- Ikeuchi M, Tsutsui H, Matsusaka H, Matsushima S, Wen J, Kurakazu K, Katsuyama A, Kubota T, Takeshita A, Sunagawa K. Overexpression of mitochondrial transcription factor A prevents mitochondrial deficiencies and cardiac failure after myocardial infarction. *Circulation*. 110 (Suppl III) : 134, 2004.
- Matsushima S, Tsutsui H, Matsusaka H, Ikeuchi M, Kurakazu K, Wen J, Kubota T, Takeshita A. Overexpression of glutathione peroxidase attenuates myocardial remodeling and preserves diastolic function in diabetic heart. *Circulation*. 110 (Suppl III) : 188, 2004.
- Tsuchihashi M, Tsutsui H, Kubota T, Chishaki A. Anxiety and low perception of social support are independent predictors of readmission in patients hospitalized with heart failure. *Circulation*. 110 (Suppl III) : 477, 2004.
- Matsusaka H, Tsutsui H, Ikeuchi M, Matsushima S, Wen J, Kubota T, Takeshita A, Sunagawa K. Blockade of matrix metalloproteinase (MMP)-2 exacerbates myocardial inflammation and dysfunction in tumor necrosis factor (TNF)- α -induced cardiomyopathy. *Circulation*. 110 (Suppl III) : 634, 2004.

アンジオテンシン II による心筋障害に対する鉄の関与

永井 良三, 石坂 信和

東京大学大学院医学系研究科循環器内科

研究要旨

ラットへのアンジオテンシン II (Ang II) の持続投与は、心筋の脱落とそれに続く心線維化を誘導した。Ang II 投与ラットへ鉄キレーター投与を行うと、血行動態に影響することなく、Ang II による心線維化を抑制することを見出した。Ang II 投与ラットの心臓ではマクロファージ、myofibroblast 様細胞において、鉄沈着を認めるが、これらの細胞で TGF- β 1 の発現が亢進していることも明らかになった。鉄キレーターは Ang II による心 TGF- β 1 の発現亢進を抑制したが、血中のアルドステロン濃度には影響を与えなかった。

研究目的

Ang II による心線維化促進への、鉄動態異常の関与に関して検討する。

研究方法

1. 動物モデルの作成

Ang II は浸透圧ポンプの皮下への埋め込みにより 7 日間連続で、0.7 mg/kg/ 日の容量で投与した。鉄キレーターはデフェロキサミンを連日皮下中にて 200 mg/kg/ 日の容量で投与した。

2. 心線維化領域の検討

ホルマリン固定された標本に Masson trichrome 染色を行い、線維化領域をコンピュータースキャニングシステムを用いて定量した。

3. TGF- β 1 の発現に関する検討

TGF- β 1 mRNA の発現局在について、In situ hybridization で検討した。また、細胞種の同定のため、連続切片を ED-1 (マクロファージのマーカー)、 α SM- アクチンの免疫染色を行った。また、心全体から mRNA を抽出し、TGF- β 1 mRNA の発現を Northern blot にて検討した。

4. 鉄の沈着の検討

鉄の沈着の有無は、プルシアン青染色にて行った。また、フェリチンの発現に関しては、抗ラットフェリチン抗体を用いた免疫染色にて検討した。

(倫理面への配慮)

実験動物を用いた検討であり、本項目には該当せず

研究結果

1. Ang II による TGF- β の発現亢進

Ang II 投与は、右心室優位に心筋の脱落、肉芽腫

様病変を形成した。この心筋障害部において鉄の沈着を認め、これらの細胞ではフェリチン陽性であった。また、連続切片の染色から、これらの細胞では TGF- β 1 を高発現していることが明らかになった。さらにこれらの細胞の一部は、ED-1 陽性のため、単球/マクロファージ系の細胞であると判断された。心臓全体では TGF- β 1 mRNA の発現は Ang II により約 1.7 倍に増加していた。

2. 鉄キレーターの効果

デフェロキサミンの投与により、Ang II 投与による心への鉄沈着やフェリチンの発現亢進は抑制された。デフェロキサミン投与は、Ang II による昇圧反応には影響を与えなかった。デフェロキサミン投与により、ラット心の線維化領域は、右室 7.6% $\rightarrow$ 1.3% へ、左室 2.0 $\rightarrow$ 0.2% へそれぞれ減少した。デフェロキサミンは、Ang II による TGF- β 1 mRNA の発現亢進を抑制したが、Ang II 投与による、血中アルドステロン値上昇 (= コントロールの約 10 倍) を抑制しなかった。また、デフェロキサミン投与は Ang II による、生体酸化ストレスマーカー、血中 8-epi-prostaglandine F2 α の濃度上昇を抑制した。さらに、デフェロキサミン投与は心臓における酸化ストレス反応性遺伝子、ヘムオキシゲナーゼ -1 (HO-1) の発現亢進を抑制した。

3. 鉄負荷モデルにおける所見

デキストラン鉄投与による鉄負荷モデルでは、血中の鉄濃度がコントロールの約 90 倍と著増したが、心における線維化増生はわずかであった。Ang II 投与モデルへ鉄負荷をおこなうと、心線維化領域は僅かだが優位に増大した (右室 10.1%, 左室 4.3%)。冠動脈への鉄の沈着は Ang II のみ、あるいは、デキストラン鉄のみの投与では明らかではなかったが、Ang II とデキストラン鉄の共投与では著明な

鉄の沈着を認め、また新生内膜の増生を認めた。

考察

Ang II のラットへの持続投与が心への鉄の沈着およびフェリチンの発現亢進を生じた。Ang II 投与モデルへの鉄のキレーター投与が Ang II による心線維化、8-epi-prostaglandine F2 α や HO-1 などの酸化ストレスマーカーの上昇を抑制することから、Ang II による心筋障害、心線維化の増悪因子

として心における鉄動態異常および、それに伴う酸化ストレスレベルの亢進が関与している可能性があると考えられる。

結論

Ang II による心筋障害の発症機序に、心臓における鉄動態の異常とそれに引き続く酸化ストレスの亢進が関与している可能性が示唆された。

研究発表

論文発表

1. Nobukazu Ishizaka, Kan Saito, Haruo Mitani, Ieharu Yamazaki, Masataka Sata, Shin-ichi Usui, Ichiro Mori, Minoru Ohno, Ryoza Nagai.
Iron overload augments Angiotensin II-induced cardiac fibrosis and promotes neointima formation.
Circulation 106 (14) :1840-1846, 2002.

学会発表

1. Nobukazu Ishizaka, Kan Saito, Haruo Mitani, Ryoza Nagai, Satoshi Kimura
Abnormal iron metabolism may play a role in the angiotensin II-induced oxidative stress in rat aorta
American Heart Association- Scientific Sessions November 2003 (Orlando, Florida)

心エコー図による心 Fabry 病の予後予測因子の検討

鄭 忠和

鹿児島大学大学院循環器・呼吸器・代謝内科学

研究要旨

心 Fabry 病において、心エコー図上の (1) 左室後壁基部の肥大の消失, (2) 左室壁運動低下, (3) 有意な機能性僧帽弁逆流, (4) 拘束型僧帽弁流入血流, の各所見の出現が、心不全・心臓死の予測因子となりうるか否かを、心 Fabry 病患者 13 例を対象に検討した。その結果、心 Fabry 病では、左室後壁基部の肥大の消失が、末期心不全・心臓死に有意に先行して出現することが明らかとなった。

研究目的

心 Fabry 病では、当初左室肥大を認め、肥大型心筋症様の病態を示す。その後、病期の進行とともに、心エコー図にて左室後壁基部の肥大の消失、左室壁運動低下、機能性僧帽弁逆流、拘束型僧帽弁流入血流などの所見が出現し、心不全や致死性不整脈により死亡する。しかし、これら心エコー図所見の、心不全・心臓死の予測因子としての有用性は不明である。本研究の目的は、心 Fabry 病において、心エコー図上の (1) 左室後壁基部の肥大の消失, (2) 左室壁運動低下, (3) 有意な機能性僧帽弁逆流, (4) 拘束型僧帽弁流入血流, の各所見の出現が心不全・心臓死の予測因子となりうるか否かを検討することである。

研究方法

心 Fabry 病患者連続 13 例 (43-79 歳, 全例男性) を対象とした。NYHA 心機能分類 III 度を末期心不全、心不全死・不整脈死を心臓死と定義し、心エコー図上の (1) 左室後壁基部の肥大の消失 (<13 mm), (2) 左室壁運動低下 (左室駆出率 $<50\%$), (3) 有意な機能性僧帽弁逆流 (逆流率 $>30\%$), (4) 拘束型僧帽弁流入血流 (E 波減速時間 <150 msec) の出現と、臨床上のイベントである (1) 末期心不全, (2) 心臓死, との時間的な関連を検討するために、Kaplan-Meier 法による解析を行った。(倫理面への配慮)

研究対象者に対する人権擁護上の配慮, 研究方法による研究対象者に対する不利益, 危険性の排除や説明と理解 (インフォームドコンセント) に関して問題が無いように充分配慮の上で研究を施行している。

研究結果

左室後壁基部の肥大の消失は 68.6 ± 2.2 歳, 左室壁運動低下は 69.0 ± 2.1 歳, 有意な機能性僧帽弁逆流は 70.7 ± 1.7 歳, 拘束型僧帽弁流入血流は 71.1 ± 2.2 歳で出現した。また、末期心不全は 71.2 ± 2.1 歳で出現し、心臓死は 71.9 ± 1.7 歳で出現した。左室後壁基部の肥大の消失は、末期心不全・心臓死に有意に先行して出現していた ($p<0.05$)。

考察

本研究により、心 Fabry 病では、末期心不全・心臓死に先行して左室後壁基部の肥大の消失が生じることが明らかとなった。この結果は、心 Fabry 病の心病変の自然経過を理解する上で有用であると考えられる。また、心 Fabry 病を含む Fabry 病に対する原因療法のひとつである酵素補充療法が 2004 年より本邦でも可能となっているが、その適応や開始時期を検討する上でも有用と考えられる。

心 Fabry 病における左室後壁基部の肥大の消失に関し、我々は本研究班班会議において、心 Fabry 病の剖検例 5 例のうち心不全死の 4 例全例で左室後壁基部に局限した菲薄化を認め、その部位には線維化が著名であったことを報告した。また、Moon らは、古典的 Fabry 病の心病変に対する MRI を用いた検討により、Fabry 病の心臓では、左室肥大のみならず左室後壁基部の線維化を高率に認めたことを報告している (Eur Heart J 2003; 24: 2151-2155)。左室後壁基部の線維化の機序は現時点では明らかではなく、今後の検討が必要と考えられる。

結論

心 Fabry 病における左室後壁基部の肥大の消失

は、末期心不全・心臓死に先行してみられる特徴的な所見である。

研究発表

学会発表

1. Kawano M, Takenaka T, Otsuji Y, Teraguchi H, Yuasa T, Yoshifuku S, Kanmura Y. Echocardiographic natural history of cardiac Fabry disease: Disappearance of basal posterior wall hypertrophy precedes end-stage congestive heart failure. American Heart Association Scientific Sessions 2004 (2004年11月, New Orleans, USA)

Wolff-Parkinson-White 症候群に伴う 肥大型心筋症の分子遺伝学的解析

鄭 忠和

鹿児島大学大学院循環器・呼吸器・代謝内科学

研究要旨

Wolff-Parkinson-White 症候群と診断され心臓電気生理学的検査が施行された 65 名において左室肥大が見られる頻度に関して検討を行ないその分子遺伝学的検討を行った。心エコー上最大左室壁厚が 13mm 以上の左室肥大を呈しその原因が明らかでない症例が 65 名中 9 名 (14%) 見られた。それら 9 名の PRKAG2 遺伝子の解析を行ったところ病因となるような遺伝子異常は見い出せなかった。今回の検討では肥大型心筋症を伴う Wolff-Parkinson-White 症候群の孤発例においては PRKAG2 遺伝子異常は見られず、病因の多様性が示唆された。

研究目的

AMP-activated protein kinase γ 2 subunit (PRKAG2) 遺伝子の変異によって Wolff-Parkinson-White 症候群を伴う家族性肥大型心筋症が起こることが報告された。最近の研究では PRKAG2 遺伝子の変異により心筋内に糖蓄積が起こり、心筋肥厚、早期興奮症候群および伝導障害が起こることが明らかになってきている。本研究の目的は Wolff-Parkinson-White 症候群の孤発例における肥大型心筋症の頻度やその病因を明らかにすることである。

研究方法

Wolff-Parkinson-White 症候群と診断され、当科において心臓電気生理学的検査が施行された 65 名 (男性 37 名, 女性 28 名, 平均年齢 49 ± 16 歳) において血圧、心エコー上の左心室壁厚、副伝導路の位置について検討を行った。心エコー上最大左室壁厚が 13mm 以上のものを更に詳細に検討した。またこれらの原因不明の心筋肥厚を呈した症例の PRKAG2 遺伝子の解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は鹿児島大学医学部倫理委員会の承認を得た上で行っている。研究に際しては文書を用いた説明の上でインフォームドコンセントを得た上で同意書を得ている。研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と理解 (インフォームドコンセント) に関して問題が無いように充分配慮の上で研究を施行している。

研究結果

65 名中 18 名 (男性 16 名, 女性 2 名, 平均年齢 60 ± 10 歳) で左心室壁の肥厚が見られた。このうち、8 名には高血圧が 1 名には大動脈弁狭窄症 (二尖弁) が見られたが、残りの 9 名には高血圧やその他の心肥大を来すような弁膜症等の異常が認められず、肥大型心筋症と診断した。副伝導路の位置は左前壁中隔 1 名, 左前側壁 2 名, 左側壁 1 名, 左後側壁 2 名, 右前壁 1 名, 右後中隔 2 名であり、副伝導路の位置と肥大の有無とは相関を認めなかった。肥大型心筋症と診断されなかったもののうち 1 名に心房中隔欠損症, 1 名に Ebstein 奇形, 1 名に大動脈弁の二尖弁が認められた。遺伝子解析の結果 9 名において PRKAG2 遺伝子には病因となるような遺伝子異常は見いだせなかった。

考察

Maron らによると肥大型心筋症の有病率は 0.2% 前後とされている。岩らの 1993 年の報告によると 458 例の Wolff-Parkinson-White 症候群の患者中、7 例に cardiomyopathy の合併を認め、頻度としては 1.5% である。Klein らの 1989 年の報告では 29 例の Wolff-Parkinson-White 症候群の症例中、1 例に肥大型心筋症の合併を認め、頻度としては 3.4% である。これに対し、我々が検討を加えた Wolff-Parkinson-White 症候群の患者では 13.8% (65 名中 9 名) に肥大型心筋症の合併が認められこれまでの報告に比べ高率であった。

遺伝子解析では肥大型心筋症を伴う Wolff-Parkinson-White 症候群の孤発例において PRKAG2 遺伝子異常は見られなかった。Vaughan

ら (J Cardiovasc Electrophysiol. 2003; 14: 263-268.) の 26 例の Wolff-Parkinson-White 症候群の孤発例の検討では左室肥大を呈した例はなく、我々の検討と同様に PRKAG2 遺伝子の変異は見つからなかった。家族性 WPW 症候群とは異なり、WPW 症候群孤発例においては PRKAG2 遺伝子変異の関与は多くなく、通常の WPW 症候群孤発例の分子機序を明らかにする必要があると結論している。

さらに最近の Arad ら (N Engl J Med 2005 Jan 27;352:362-372.) の連続 75 例の肥大型心筋症の検討によると、40 例にはサルコメア蛋白遺伝子の変異が見られ、他の 35 例において PRKAG2 遺伝子、LAMP2 (lysosome-associated membrane protein 2) 遺伝子、 α -galactosidase 遺伝子、GAA (α -1,4-glucosidase) 遺伝子の解析を行ったところ LAMP2 遺伝子変異を 2 名、PRKAG2 遺伝子変異

を 1 名に見い出している。さらに心肥大と早期興奮様の心電図異常を呈する他の 24 例の解析では LAMP2 遺伝子変異を 4 名、PRKAG2 遺伝子変異を 7 名に見い出している。LAMP2 遺伝子異常は通常は Danon 病という X linked lysosomal disease を呈するが、心筋症を呈することもあり我々の症例においても LAMP2 遺伝子の解析が必要と考えられた。

結論

心臓電気生理学的検査により副伝導路が確認された Wolff-Parkinson-White 症候群 65 名中 9 人 (14%) に肥大型心筋症がみられた。今回の検討では肥大型心筋症を伴う Wolff-Parkinson-White 症候群の孤発例においては PRKAG2 遺伝子異常は見られず、病因の多様性が示唆された。

研究発表

学会発表

1. Anan R, Niimura H, Oketani N, Ishida S, Hamasaki S, Otsuji Y, Minagoe S, Tei C. Analysis of hypertrophic cardiomyopathy associated with Wolff-Parkinson-White syndrome. European Society of Cardiology Congress 2004 (2004 年 8 月, Munich, Germany)

重症心不全に対する補助人工心臓および心臓移植

友池 仁暢, 中谷 武嗣

国立循環器病センター

研究要旨

当センターにおいて心臓移植対象例に対する補助人工心臓症例数は66例。平均補助期間は405日(最長1245日)。17例が移植, 8例が離脱, 30例が死亡, 11例が施行中である。体外設置型においても長期補助が可能となったが, QOLの点から小型植え込み型補助人工心臓が望まれる。ネットワーク登録例83例中11例に対し心臓移植を行い, 全例が独歩退院した。11例中1例は4年2ヵ月後になくなれたが, 他の方々は社会復帰され, 最初の2人は移植後5年6ヵ月以上経過している。

研究目的

内科的治療の限界となった重症心不全に対して, 状況に応じてIABP, 経皮的心肺補助(PCPS)あるいは補助人工心臓(VAS)が適応となる。また心臓移植適応症例は, 日本臓器移植ネットワークに登録され待機となる。本報告では我々が経験したVAS症例および当施設における11例の移植例の経過を報告する。

研究方法

(1) VAS症例: 1994年以降重症心不全のためVAS装着を必要とした66例で, 心臓移植の適応が考慮された拡張型心筋症(DCM)56例を含む慢性心不全急性増悪例である。(2) 移植症例: 原病は, 拡張型心筋症10例(1例劇症型心筋炎後), 拡張相肥大型心筋症1例。年齢は14-55(平均36)歳。男性9例, 女性2例であった。(倫理面への配慮)

VASおよび心臓移植施行にあたっては, 十分なICを行なった。

研究結果

(1) LVASは, 体外設置東洋紡LVAS56例(左房脱血11例, 左室脱血45例), 体内設置携帯型5例(HeartMate VE 3例, Novacor 2例), 両心補助5例である。装着期間は施行中を含め7~1245(平均405)日で, 内17例(国内9例, 渡航8例)が39~993(451)日後に移植され, 渡航1例以外は生存(最長5年8ヵ月)している。30例は, 7~1245(395)日後に死亡したが, 主な死因は感染・脳血管障害であった。8例で心機能改善を認め90~310(149)日後に離脱し, 計画的に離脱した7例は長期生存(最長離脱後10年6ヵ月)している。

11例は99~1168(549)日間補助継続中で, 重症心不全・移植病棟にて管理中にて入院治療を行なっている。

(2) 移植登録患者の移植前における重症度は全例status 1で, 内9例がLVAS装着, 2例がカテコラミン持続投与中であった。LVAS補助期間は39-993(525)日で, 待機期間も29-995(440)日に及んだ。脳死下臓器提供施設は, 近畿地区2例, 遠隔地9例であった。なお, 第9例目および第10例目の症例においてはドナー情報が同時に到着し, 2例同時に移植手術を行った。心筋保護液は, 当初St. Thomas液で, 7例目からCelsior液を用いた。術式は, 3例目以降右房後壁の一部を温存するmodified Bicaval法を用いた。免疫抑制療法は, ネオオーラル, セルセプト, ステロイドによる三者併用療法を第一選択とし, 4例においては腎機能障害などによりオルソクロンOKT3を用いた。また, 経過中4例においてネオオーラルからプログラフへ変更した。3例でISHLT grade3Aの拒絶反応を認めたが, ステロイドパルス療法により軽快した。術後心機能は良好で, 全例退院した。1例を4年2ヵ月後に失ったが, 第1例目およびその1ヵ月後に施行した第2例目はともに5年を経過した。また, 10例が社会復帰している。

考察

(1) LVASにより良好な循環補助が長期間得られた。心機能改善がみられない症例では心臓移植を考慮せざるを得ず, 我が国においても心臓移植後の成績は良好であるが, ドナーの数は限られている。このため, 心臓移植待機例においてはLVAS長期管理が避けられない状況である。体外設置型でも左室脱血により3年以上の補助も行えるが, QOL改善が望まれる。体内設置型のQOLは良好で, 積極

的な導入が期待される。しかし、現在使用されるものは大型であり、体格の制限がある。現在、日本人の体格に適した LVAS の治験が計画されており、早期の臨床への導入が望まれる。（２）同時施行２例はともに 800 日以上に及ぶ LVAS 補助例であったが、両例とも移植後 50 病日で退院した。このように心臓移植待機期間が長期化し、LVAS による補助も 2 年を越えるようになってきているが、心臓移植術後の臨床症状は安定している。今後、移植心冠動

脈病変などの慢性期管理への配慮が課題になると思われる。

結論

心臓移植対象例に対し、長期の補助が可能となり、また心臓移植症例の成績は良好であった。今後、QOL の高い補助人工心臓の臨床導入と共に、心臓移植への社会的理解の促進が望まれる。

研究発表

論文発表

1. Liao Y, Asakura M, Takashima S, Ogai A, Asano Y, Asanuma H, Minamino T, Tomoike H, Hori M, Kitakaze M. Benidipine, a long-acting calcium channel blocker, inhibits cardiac remodeling in pressure-overloaded mice. *Cardiovasc Res.* 2005;65(4):879-88.
2. Chiu CZ, Nakatani S, Zhang G, Tachibana T, Ohmori F, Yamagishi M, Kitakaze M, Tomoike H, Miyatake K. Prevention of left ventricular remodeling by long-term corticosteroid therapy in patients with cardiac sarcoidosis. *Am J Cardiol.* 2005;95(1):143-6.
3. Fujita M, Minamino T, Sanada S, Asanuma H, Hirata A, Ogita H, Okada K, Tsukamoto O, Takashima S, Tomoike H, Node K, Hori M, Kitakaze M. Selective blockade of serotonin 5-HT_{2A} receptor increases coronary blood flow via augmented cardiac nitric oxide release through 5-HT_{1B} receptor in hypoperfused canine hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2004;37(6):1219-23
4. Shintani Y, Node K, Asanuma H, Sanada S, Takashima S, Asano Y, Liao Y, Fujita M, Hirata A, Shinozaki Y, Fukushima T, Nagamachi Y, Okuda H, Kim J, Tomoike H, Hori M, Kitakaze M. Opening of Ca²⁺-activated K⁺ channels is involved in ischemic preconditioning in canine hearts. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;37(6):1213-8
5. Komamura K, Tatsumi R, Miyazaki J, Matsumoto K, Yamato E, Nakamura T, Shimizu Y, Nakatani T, Kitamura S, Tomoike H, Kitakaze M, Kangawa K, Miyatake K. Treatment of dilated cardiomyopathy with electroporation of hepatocyte growth factor gene into skeletal muscle. *Hypertension.* 2004;44(3):365-71.
6. Okada K, Minamino T, Tsukamoto Y, Liao Y, Tsukamoto O, Takashima S, Hirata A, Fujita M, Nagamachi Y, Nakatani T, Yutani C, Ozawa K, Ogawa S, Tomoike H, Hori M, Kitakaze M. Prolonged endoplasmic reticulum stress in hypertrophic and failing heart after aortic constriction: possible contribution of endoplasmic reticulum stress to cardiac myocyte apoptosis. *Circulation.* 2004;110(6):705-12.
7. Liao Y, Asakura M, Takashima S, Ogai A, Asano Y, Shintani Y, Minamino T, Asanuma H, Sanada S, Kim J, Kitamura S, Tomoike H, Hori M, Kitakaze M. Celiprolol, a vasodilatory beta-blocker, inhibits pressure overload-induced cardiac hypertrophy and prevents the transition to heart failure via nitric oxide-dependent mechanisms in mice. *Circulation.* 2004;110(6):692-9
8. Asanuma H, Minamino T, Sanada S, Takashima S, Ogita H, Ogai A, Asakura M, Liao Y, Asano Y, Shintani Y, Kim J, Shinozaki Y, Mori H, Node K, Kitamura S, Tomoike H, Hori M, Kitakaze M. Beta-adrenoceptor blocker carvedilol provides cardioprotection via an adenosine-dependent mechanism in ischemic canine hearts.

Circulation. 2004;109(22):2773-9.

9. Komamura K, Iwai N, Kokame K, Yasumura Y, Kim J, Yamagishi M, Morisaki T, Kimura A, Tomoike H, Kitakaze M, Miyatake K. The role of a common TNNT2 polymorphism in cardiac hypertrophy. J Hum Genet. 2004;49(3):129-33.
10. 中谷武嗣：補助循環と心臓移植 CURRENT THERAPY 22:175-180, 2004
11. 中谷武嗣, 花谷彰久：心臓移植療法のパラダイムシフト 治療 86:2147-2155, 2004
12. Fujii H, Tomita S, Nakatani T, Fukuhara S, Hanatani A, Ohtsu Y, Ishida M, Yutani C, Miyatake K, Kitamura S. A novel application of myocardial contrast echocardiography to evaluate angiogenesis by autologous bone marrow cell transplantation in chronic ischemic pig model. J Am Coll Cardiol 43:1299-1305, 2004

学会発表

1. 中谷武嗣, 花谷彰久, 庭屋和夫, 小林順二郎, 坂東 興, 田鎖 治, 中嶋博之, 塚野真也, 駒村和雄, 八木原俊克, 宮武邦夫, 北村惣一郎：左心補助人工心臓を用いた重症心不全治療-Bridge to Recovery- シンポジウム, 第 52 回日本心臓病学会学術集会, 京都, 2004.9.13-15
2. 中谷武嗣, 庭屋和夫, 小林順二郎, 坂東 興, 田鎖 治, 中嶋博之, 花谷彰久, 塚野真也, 宮武邦夫, 八木原俊克, 北村惣一郎：心臓移植待機および移植後患者管理の現状と今後の課題. シンポジウム, 第 57 回日本胸部外科学会定期学術集会, 2004.10.20-22, 札幌
3. Nakatani T: Clinical experience of mechanical support in Japan. KSC/JCS Joint Symposium, Jeju, Korea, 2004.4.15-17

拡張型心筋症に対する carvedilol 投与の局所心筋収縮同期性の改善効果：心エコー・ストレイン法による検討

吉川 純一

大阪市立大学大学院医学研究科循環器病態内科学

研究要旨

両心室ペーシング法により、拡張型心筋症（DCM）例の局所心筋収縮同期性が改善することが報告されている。一方、carvedilol 含めた β 遮断薬による本症例の予後改善が報告されているが、局所心筋収縮改善については、十分な検討はされていない。近年、局所心筋収縮の評価に、心エコー・ストレイン法が用いられるようになった。そこで今回、我々は心エコー・ストレイン法を用いて、carvedilol 投与による DCM 例の局所心筋収縮改善を検討した。

研究目的

心エコー・ストレイン法が用いられるようになった。そこで今回、我々は心エコー・ストレイン法を用いて、carvedilol 投与による DCM 例の局所心筋収縮改善を検討すること。

研究方法

新規に carvedilol 内服投与開始予定の DCM 患者 10 例に対し、carvedilol 投与前、投与 1 ヶ月後、6 ヶ月後のそれぞれの時点で、心エコー・ストレイン法を用いて心エコー・ストレイン法にて局所心筋収縮を経時的に評価した。具体的には、心尖部二腔・四腔・長軸像から、左室前壁・下壁・中隔下部・側壁・中隔前部・後壁の各壁の乳頭筋レベル・心基部レベルの計 12 分画で、収縮期ストレイン (SS) を評価した。各分画にて、R 波から SS がピークに達するまでの時間 (T peak) を計測した。左室心筋の収縮不均一性を評価するため、T peak の各分画間のばらつきを示す変動係数 (coefficient of variation; CV) を算出した。

(倫理面への配慮)

Carvedilol を投与しない場合の DCM 患者への不利益を考え、コントロール群は設定していない。

研究結果

Carvedilol の維持投与量は 13 ± 6 mg/日であっ

た。Carvedilol 投与により、左室駆出率は 1 ヶ月後には不変であったが (28 ± 7 vs $30 \pm 7\%$)、6 ヶ月後には投与前と比べて改善を認めた ($38 \pm 11\%$, $p < 0.05$)。T peak の CV は、投与前には $18 \pm 5\%$ であったが、1 ヶ月後に $15 \pm 6\%$ ($p=0.02$ vs 投与前)、6M に $14 \pm 7\%$ ($p=0.03$ vs Pre, $p=0.59$ vs 1 ヶ月後) であり、1 ヶ月以降に有意な改善を認めた。一方、T peak の CV は、1 ヶ月後では投与前と比べて有意差を認めなかったが、6 ヶ月後には有意に改善を認めた。

考察

Carvedilol 投与により、局所心筋収縮の時相同期性は 1 ヶ月で改善がみられた。ただし、その改善の程度は局所間で不均一であった。そのために、局所間の収縮協調性は改善しておらず、左室全体の収縮率改善に反映されなかったものと思われた。そして、6 ヶ月後に局所心筋収縮がほぼ均一になった時点で、左室全体の収縮率改善が得られたと考えられた。

結論

心エコー・ストレイン法を用いた検討によれば、DCM 例に対するベータ遮断薬投与により、まず治療 1 ヶ月後より心筋収縮同期性の改善がみられ、ついで局所間の収縮ストレインが改善することによって、最終的に左室駆出率の改善につながる。

研究発表

学会発表

(一部内容のみ発表)

1. 竹本恭彦, 穂積健之, 杉岡憲一, 氏野経士, 松村嘉起, 葭山 稔, 竹内一秀, 吉川純一. 拡張型心筋症におけるベータ遮断薬による局所心筋収縮同期性の改善効果：心エコー・ストレイン法による検討. 第52回日本心臓病学会. 2004年9月, 京都
2. Yasuhiko Takemoto, Takeshi Hozumi, Kenichi Sugioka, Keiji Ujino, Minoru Yoshiyama, Junichi Yoshikawa. Short-term Administration of Carvedilol Improves Coronary Flow Reserve in Patients With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy American College of Cardiology, Orlando, USA, March, 2005.

in vivo 高血圧肥大心における PPAR α 刺激薬 (fenofibrate) の心筋線維化と左室拡張能に対する検討

山口 巖, 小形岳寛, 下條信威, 増澤浩一, 河野 了, 宮内 卓

筑波大学大学院人間総合科学研究科

研究要旨

肥大型心筋症はその経過中に心筋の線維化をきたし、これが左室拡張能低下の一因となっていると考えられる。また、PPAR α 欠損は線維化を亢進させることが *in vivo* で報告されている。本研究にて、高血圧肥大心において PPAR α 刺激薬の長期経口投与が心筋線維化を抑制し、さらに線維化抑制が起こるならば左室拡張能が保たれるかを検討した。高血圧肥大心ラットモデルにおいて、PPAR α 刺激薬である fenofibrate は心筋線維化を抑制し左室拡張機能障害の増悪を抑制した。この効果の一部は、炎症に関与する NF κ B の抑制と ET-1 産生に関与する AP-1 の抑制の 2 つの作用から相乗的に引き起こされている可能性が示唆された。

研究目的

肥大型心筋症はその経過中に心筋の線維化をきたし、これが左室拡張能低下の一因となっていると考えられる。また、PPAR α 欠損は線維化を亢進させることが *in vivo* で報告されている。本研究にて、高血圧肥大心において PPAR α 刺激薬の長期経口投与が心筋線維化を抑制し、さらに線維化抑制が起こるならば左室拡張能が保たれるかを検討した。

研究方法

高血圧肥大心線維化のモデルである DOCA-salt ラットに PPAR α 刺激薬の一つである fenofibrate (80 mg/kg/day) を 5 週間投与を行った群と、vehicle 投与を行った群で、拡張能・線維化の評価として血行動態、Masson torichrome 染色、hydroxyproline 定量、PT-PCR による procollagen mRNA 発現を比較した。その後、NF κ B と AP-1 の 2 つの経路について RT-PCR、Western blot、EMSA を行い、それらの作用機序を検討した。

(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。

研究結果

fenofibrate 投与の有無で血圧、左室重量、収縮機能に差は認められなかった。しかし、拡張能の指標である LVEDP、 $-dP/dt/P$ は fenofibrate 投与により有意に改善した。左室コラーゲン染

色、hydroxyproline 定量、procollagen I & III mRNA 発現という線維化の指標の比較においても fenofibrate 投与によって有意な抑制が認められた。NF κ B は炎症性サイトカインの産生増加に関与しており、NF κ B の binding activity、NF κ B の抑制蛋白である I κ B α の蛋白発現の他に、炎症性サイトカインの mRNA 発現を検討した。その結果、fenofibrate は IL-6、COX-2、VCAM-1、MCP-1 mRNA 発現、NF κ B 活性のいずれも有意に抑制し、同時に I κ B α 蛋白量を増加させた。AP-1 は endothelin (ET)-1 や ET-B 受容体の mRNA 発現を亢進するという報告があり、これらの発現の増加は線維化の亢進に関与すると報告されている。対照投与群では ET-1、ET-B 受容体の mRNA 発現は有意に増加していたが、fenofibrate 投与により有意に抑制された。

考察

PPAR α 欠損は線維化を亢進させることが *in vivo* で報告されている。また、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、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。AP-1 は心肥大における重要な分子でもある。本研究により、フェノフィブレート

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ことが示唆された。AP-1 は endothelin (ET) -1 や ET-B 受容体の mRNA 発現を亢進するという報告があり、これらの発現の増加は線維化の亢進に関与すると報告されている。対照投与群では ET-1, ET-B 受容体の mRNA 発現は有意に増加していたが、fenofibrate 投与により有意に抑制された。また PPAR- α の活性化は、高血圧肥大心線維化のモデルである DOCA-salt ラットの心肥大を抑制し、

心筋線維化も抑制することが示唆された。

結論

高血圧肥大心ラットモデルにおいて、PPAR α 刺激薬である fenofibrate は心筋線維化を抑制し左室拡張機能障害の増悪を抑制した。この効果の一部は、炎症に関与する NF κ B の抑制と ET-1 産生に関与する AP-1 の抑制の 2 つの作用から相乗的に引き起こされている可能性が示唆された。

研究発表

論文発表

1. Irukayama-Tomobe Y, Miyauchi T, Sakai S, Kasuya Y, Ogata T, Takanashi M, Iemitsu M, Sudo T, Goto K, Yamaguchi I: Endothelin-1-induced cardiac hypertrophy is inhibited by activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α partly via blockade of c-Jun NH2-terminal kinase pathway. *Circulation* 109, 904-910, 2004.
2. Ogata T, Miyauchi T, Sakai S, Takanashi M, Irukayama-Tomobe Y, Yamaguchi I: Myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats is ameliorated by the peroxisome proliferator-activated receptor- α activator fenofibrate, partly by suppressing inflammatory responses associated with the nuclear factor- κ B pathway. *Journal of the American College of Cardiology* 43, 1481-1488, 2004.
3. Miyauchi T, Fujimori A, Maeda S, Iemitsu M, Sakai S, Shikama H, Tanabe T, Matsuda M, Goto K, Yamaguchi I: Chronic administration of an endothelin-A receptor antagonist improves exercise capacity in rats with myocardial infarction-induced congestive heart failure. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 44, S64-S67, 2004.
4. Iemitsu M, Miyauchi T, Maeda S, Tanabe T, Takanashi M, Matsuda M, Yamaguchi I: Exercise training improves cardiac function-related gene levels through thyroid hormone receptor signaling in aged rats. *American Journal of Physiology* 286, H1696-H1705, 2004.

学会発表

1. 小形岳寛, 宮内卓, 下條信威, 高梨正勝, 増澤浩一, 山口巖: DOCA-salt 高血圧性ラット心臓における, PPAR α 刺激薬による心筋線維化抑制効果と拡張機能増悪抑制効果—NF κ B 抑制による抗炎症作用からの検討—. 第 38 回日本成人病学会 (生活習慣病) 学会, 2004.
2. Ogata T, Miyauchi T, Takanashi M, Shimojo N, Sakai S, Yamaguchi I: The PPAR- α activator fenofibrate inhibits myocardial fibrosis with improving diastolic function in DOCA-salt hypertensive rats, partly via suppressing endothelin-1 expression. 第 68 回日本循環器学会, 2004.
3. Takanashi M, Miyauchi T, Yamaguchi I. Hypoxia inducible factor (HIF) -1 α overexpression greatly induces endothelin (ET) -1 mRNA and endothelin converting enzyme mRNA in cultured cardiomyocytes. 第 68 回日本循環器学会, 2004.
4. Iemitsu M, Miyauchi T, Shimojo N, Irukayama-Tomobe Y, Maeda S, Ohkubo T, Tanaka Y, Yamaguchi I: Effects of medium-chain triglyceride (MCT) application

to SHR on myocardial energy metabolic capacity, cardiac function, and cardiac hypertrophy. 第 68 回日本循環器学会, 2004.