

- Cardiovascular Med-Surg. 6号3巻, 327-334, 2004年.
19. 福田恵一. 骨髄幹細胞を用いた筋組織再生: 心筋細胞の再生. *Molecular Medicine* 41巻3号, 344-349, 2004年.
 20. 福田恵一. 骨髄幹細胞由来の再生心筋細胞の特徴と機能解析. *Jap J Electrocardiology supplement* 3 24, S3-3-14, 2004年.
 21. 福田恵一. 心筋再生と細胞移植の現状. *循環器科*. 56巻4号, 385-392, 2005年.
 22. 福田恵一. Melvin L. Marcus Young Investigator Awards in Cardiovascular Disease. AHA ハイライト 2004. 2005年 (in press).
 23. 福田恵一. G-CSFによる骨髄筋前駆細胞の動員. *Medical Science Digest* 31巻2号, 38-40, 2005年.
 24. 下地顕一郎, 福田恵一. 心筋の再生. *分子リウマチ*. 1巻4号, 313-317, 2004年.
 25. 板橋裕史, 福田恵一. 間葉系幹細胞を用いた心筋再生. *血液フロンティア*. 15巻2号, 237-242, 2005年.

学会発表

1. Keiichi Fukuda. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. Myocardial Ischemia Symposium. "Cardiac Regeneration" Korea University, Seoul, Korea. 2004. 10. 29 (招聘講演)
2. Keiichi Fukuda. Non-hematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. The 4th International Mesenchymal Stem Cell Meeting. New Orleans, USA. 2004. 10. 15 (招聘講演)
3. Keiichi Fukuda. Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes: What is the origin for regenerated cardiomyocytes. The 9th International Congress of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. 2004.9.9 Hotel Nikko Tokyo. Japan. (招聘講演)
4. Keiichi Fukuda. Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes: What is the origin for regenerated cardiomyocytes. The 18th World Congress for International Society for Heart Research. 2004.8.8 Brisbane, Australia. (招聘講演)
5. Keiichi Fukuda. Lesson from GFP-transgenic mouse: What is the origin for regenerated cardiomyocytes. International Symposium for Heart Research in Europe. 2004.6.7 Dresden, Germany. (招聘講演)
6. Hisayo Fujita, Sayu Omori, Mariko Hida, Keiichi Fukuda, Michio Nagata, Midaori Awazu. Cyclic Stretch Induces Apoptosis via ERK and p38 in a Ureteric Bud Cell Line. American Society of Nephrology 37th Annual Meeting. 2004. 10. 27-11.1, Missouri, USA
7. Masaki Ieda, Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Keiichi Fukuda. Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression. Keystone symposia. 2004. 3. 8-12, Colorado, USA
8. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Mitsuyo Tsuma, Kiyoshi Ando, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Yuji Itabashi, Takashi Yagi, Kentaro Hayashida, Johbu Itoh, Tomomitsu Hotta, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. G-CSF improves post-infarction heart failure by mobilizing bone marrow stem cells, but GM-CSF increases the mortality by deteriorating heart function in mice. Keystone conference molecular cardiovascular disease 2004. 3. 8-12, Colorado, USA
9. Kensuke Kimura, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda, Haruko Kawaguchi, Kazuto

- Yamazaki, Satoshi Ogawa. Chamber specific augmentation of endothelin-1 by pulmonary hypertension induces overexpression of NGF and right ventricular hyperinnervation in vivo American Heart Association. 76th Scientific Meeting. 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
10. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Kentaro Kinjo, Yumi Matsuzaki, Yuji Itabashi, Masatoyo Yoshioka, Shinsuke Yuasa, Kentaro Hayashida, Tomohiro Manabe, Keisuke Matsumura, Haruko Kawaguchi, Jin Endo, Masaki Ieda, Yasuyo Hisaka, Takashi Yagi, Hideaki Kanazawa, Mitsugu Yata, Kenichiro Shimoji, Mitsuyo Tsuma, Hiroko Miyatake, Yukari Muguruma, Hideyuki Okano, Tomomitsu Hotta, Kiyoshi Ando, Keiichi Fukuda. The origin of bone marrow-derived cardiomyocytes is nonhematopoietic: Possible contribution of mesenchymal stem cells. American Heart Association. 76th Scientific Meeting. 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
 11. Yuji Itabashi, Shunichiro Miyoshi, Haruko Kawaguchi, Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Satoru Miyatake, Takashi Yagi, Kentaro Hayashida, Keisuke Matsumura, Yuko Togane, Hideaki Kanki, Masaki Ieda, Mitsushige Murata, Tomohiro Manabe, Akira Furuta, Kojiro Tanimoto, Keiichi Fukuda. A novel and simple method for manufacturing a myocardial cell sheet using polymerized fibrin-coated dishes. American Heart Association. 76th Scientific Meeting. 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
 12. Kentaro Hayashida, Jun Fujita, Yoshiko Miyake, Hiroshi Kawada, Shinsuke Yuasa, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yuji Itabashi, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda. Bone marrow-derived cell contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension. American Heart Association. 76th Scientific Meeting. 2004.11.7-10, New Orleans, LA, USA
 13. 吉岡正豊, 福田恵一, 岡田保典, 潮見隆之, 開祐司, 宿南知沙, 家田真樹, 田原聡子, 服部文幸, 藤田淳, 真鍋智弘, 板橋祐司, 八木崇, 湯浅慎介, 木下正嘉, 林田健太郎, 松村圭祐, 川口治子, 久下康代, 小川聡: 血管新生抑制因子 chondromodulin-1 の胎仔・成獣心臓における発現. 第 68 回日本循環器学会学術集会, 2004 年 3 月, 東京フォーラム
 14. Masaki Ieda, Keiichi Fukuda, Kensuke Kimura, Yasuyo Hisaka, Haruko Kawaguchi, Yukiko Kurihara, Hiroki Kurihara, Satoshi Ogawa. Endothelin-1 disruption decreases cardiac sympathetic innervation by downregulation of NGF. The 67th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Hakata, Japan 第 68 回日本循環器学会学術集会, 2004 年 3 月 27-29 日, 東京フォーラム
 15. Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Yumi Matsuzaki, Yuji Itabashi, Shinsuke Yuasa, Tomohiro Manabe, Takashi Yagi, Masaki Ieda, Kentaro Hayashida, Masatoyo Yoshioka, Keisuke Matsumura, Yasuyo Hisaka, Mitsuyo Tsuma, Tomomitsu Hotta, Hideyuki Okano, Kiyoshi Ando, Satoshi Ogawa, Keiichi Fukuda Bone marrow-derived regenerated cardiomyocytes after myocardial infarction were not originated from hematopoietic stem cells 第 68 回日本循環器学会学術集会, 2004 年 3 月 27-29 日, 東京フォーラム
 16. Yuji Itabashi, Shunichirou Miyoshi, Haruko Kawaguchi, Shinsuke Yuasa, Jun Fujita, Kojiro Tanimoto, Tatsuya Shimizu, Teruo Okano, Keiichi Fukuda, Satoshi Ogawa. Novel technique for fabricating myocardial cell sheet using polymerized fibrin-coated dishes. 第 68 回日本循環器学会学術集会, 2004 年 3 月 29 日, 東京フォーラム
 17. Miyatake Satoru, Kawaguchi Haruko, Watanabe Kikuko, Ohmiya Yoshihiro, Hori Shingo, Ieda Masaki, Fujita Jun, Manabe Tomohiro, Yuasa Shinsuke, Hisaka Yasuyo, Fukuda Keiichi A Novel Prostaglandin E Synthase, mPGES-2, is Involved in

Pressure Overload-induced Cardiac Hypertrophy in Rats. 第68回日本循環器学会学術集会, 2004年3月29日, 東京フォーラム

18. Yuji Itabashi, S Miyoshi, T Shimizu, S Yuasa, J Fujita, K Tanimoto, A Furuta, T Okano, H Mitamura, K Fukuda, S Ogawa. Direct demonstration of the electrical uncoupling of cardiac- and skeletal- myocyte cell sheets by optical mapping 第68回日本循環器学会学術集会, 2004年3月, 東京フォーラム
19. Yasuyo Hisaka, Jun Fujita, Hiroshi Kawada, Masaki Ieda, Takashi Yagi, Haruko Kawaguchi, Kiyoshi Ando, Keiichi Fukuda. G-CSF and HGF: Combination of vasculogenesis and angiogenesis synergistically improves murine hind limb ischemia 第68回日本循環器学会学術集会, 2004年3月, 東京フォーラム

知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

特許取得

1. 「細胞シートを作製するための支持体をコーティングするための組成物, 細胞シート作製用支持体及び細胞シートの製造方法」国内 出願中（特願 2003-328340, 平成 15 年 9 月 19 日）（PCT国際出願, 平成 16 年 3 月 25 日, PCT・JP 2004 / 004161）
2. 「多能性幹細胞の増殖方法」国内出願中（特願 2004-1043428）平成 16 年 3 月 23 日
3. 「心筋細胞濃縮方法」国内出願中 平成 16 年 9 月 15 日

心筋 side population 細胞による心筋再生へ向けた基礎的検討および、顆粒球コロニー刺激因子の梗塞後心臓リモデリング抑制効果の機序の検討

小室 一成

千葉大学循環病態医科学

研究要旨

心筋症、特に心不全合併例の予後は内科的薬物療法、補助循環を含めた外科治療の発達にもかかわらず不良である。心筋再生医療には細胞移植治療の他に、サイトカインによる幹細胞の遊走分化誘導、成体の内在性心筋幹細胞の分化誘導が考えられている。本研究において、我々は成体マウスの心臓から単離した side population (SP) 細胞が oxytocin により自律拍動する心筋細胞に分化することを明らかにした。SP 細胞は我々が前回報告した Sca-1 陽性細胞と同様の心臓組織幹細胞と考えられ、oxytocin は心筋幹細胞を自律拍動する心筋細胞に分化させるために重要な役割を有していることが示唆された。次に、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) による心筋梗塞後のリモデリング改善の機序について検討した。その結果、G-CSF は Jak/STAT シグナルを介する抗アポトーシス効果と血管新生効果により、梗塞後心臓リモデリングを抑制することが明らかとなり、今後、虚血性、非虚血性慢性心不全に対する効果も検討課題である。

研究目的

心筋症、特に心不全合併例の予後は内科的薬物療法、補助循環を含めた外科治療の発達にもかかわらず不良である。心筋再生療法は心不全に対する新しい治療概念であり、細胞移植治療の他に、サイトカインによる幹細胞の遊走、分化誘導、成体の内在性心筋幹細胞の分化誘導が考えられるが、心機能を改善するために十分な心筋細胞を安全に補充する技術の確立、治療効果の分子機序の解明はなされていない。本研究において我々は、成体の内在性心筋幹細胞として心臓 SP 細胞の単離培養および分化誘導、G-CSF による心筋再生、保護効果の機序の解明を目的とした。

研究方法

1. 心臓 SP 細胞：新生仔ラット心筋を酵素消化法により単離した後に、Hoechst33342 による染色性の低い分画を SP 分画として FACS により分取した。心筋 SP 細胞および非 SP 細胞を通常の培養液および oxytocin 100nM を添加した条件で培養し、自律拍動の有無、RT-PCR 法および免疫染色法による心筋転写因子および収縮蛋白の遺伝子 (Csx/Nkx2.5, GATA4, MEF2C)、蛋白 (β -MHC, MLC2-v) の発現の有無を検討した。また、多分化能を検討するために骨および脂肪細胞への分化誘導を行った。
2. G-CSF による心筋保護効果：新生仔ラット心

筋細胞の G-CSF 受容体 mRNA および蛋白の発現は、それぞれ RT-PCR 法および免疫染色法により確認した。培養心筋細胞および心筋における G-CSF シグナルはリン酸化 Jak, リン酸化 Stat 特異的抗体を用いた Western blotting 法により解析した。培養心筋における G-CSF の抗 apoptosis 作用は G-CSF10ng/ml で 4 時間刺激後に 0.1Mm の H_2O_2 を添加し、Annexin 陽性細胞数を定量的に評価した。心筋における apoptosis 細胞数は Tunel 染色により評価した。心筋細胞および心筋における apoptosis および抗 apoptosis 蛋白の発現は特異抗体による Western blotting 法により評価した。急性心筋梗塞モデルにおける G-CSF の効果は以下の方法で検討した。Dominant negative Stat3 発現 (dnStat3-Tg) および野生型マウスの左前下行枝を結紮後、G-CSF を 100mg/kg5 日間皮下注射を行い、2 週間後に心臓超音波、心臓カテーテルによる心機能、病理組織による梗塞範囲、免疫染色による血管数を評価した。

(倫理面への配慮)

実験動物を用いる研究については、千葉大学動物実験指針に準拠して研究を実施する。特に実験は動物愛護と動物福祉の観点から、動物使用は目的に合致した最小限にとどめる。またその際の手技は、麻酔等手段により苦痛を与えない配慮をおこなう。実験者は、管理者と相互協力のもと適切な環境のもと飼育管理を行う。

研究結果

1. 心臓 SP 細胞：新生仔ラット心筋細胞には SP 分画が約 2% 存在し, verapamil 50 μ M 処理により消失した。また, SP 分画の細胞には Bcrp-1 mRNA および蛋白が発現していたが, MP 分画では発現が認められなかったことから, 分取された細胞は SP 細胞であることが確認された。また, 新生仔ラット心筋を抗 Bcrp-1 抗体で染色したところ Bcrp-1 陽性細胞は心筋間質, 血管周囲に認められた。心臓 SP 細胞を oxytocin 100nM により 2 日間刺激した後に培養したところ, 約 2 週間後に自律拍動する心筋細胞に分化した。RT-PCR 法により遺伝子発現を解析したところ, Csx/Nkx2.5, GATA4, MEF2C, β -MHC, MLC2-v 遺伝子の発現が oxytocin 処理した SP 細胞に認められたが, 同条件下で培養した MP 細胞では認められなかった。また, oxytocin および oxytocin 拮抗薬で処理した SP 細胞でも心筋遺伝子の発現は認められなかった。また, 心筋に分化した SP 細胞は免疫蛍光染色法により, 心筋特異的 troponinT, MLC2v, α -actinin 陽性のサルコメア構造を有し, 心房性 Na 利尿因子, GATA4 の発現が認められた。心臓 SP 細胞を骨細胞または脂肪細胞特異的な条件で分化誘導すると, それぞれ ALP 陽性の骨細胞, Oil red O 陽性の脂肪細胞に分化した。

2. G-CSF による心筋保護効果：RT-PCR 法により, G-CSF 受容体は新生仔ラット培養心筋細胞で発現していた。また, G-CSF 蛋白は心筋細胞の細胞質, 細胞膜表面に発現していた。G-CSF は培養心筋細胞の Jak2, Stat3 および Stat1 を容量依存性に活性化したが, JAK1, Tyk2, STAT5 は活性化されなかった。培養心筋細胞を G-CSF 10ng/ml で 4 時間処理した後に 0.1mM H₂O₂ を作用させると, annexin 陽性 apoptosis 細胞数は未処理群に比較して減少した。この G-CSF による心筋 apoptosis 抑制効果は dominant negative Stat3 遺伝子を Adenovirus により導入した心筋細胞では消失した。また, G-CSF は H₂O₂ による Bcl-1 蛋白の発現低下を軽減したが, この効果は JAK2 抑制薬である AG490 により消失した。心筋梗塞組織では G-CSF 受容体の発現増加と Stat3 のリン酸化が認められたが, G-CSF 投与群では非投与群に比較して梗塞後早期から Stat3 のリン酸化が認められた。野生型マウスでは, G-CSF 投与群は非投与群に比較して梗塞面積, 左室拡張末期径, 短縮率, 左室拡張末期圧の改善が認められたが, dnStat3-Tg マウスではこれら

の改善効果が消失した。野生型マウスでは, G-CSF 投与群は非投与群に比較して心筋梗塞後の Tunel 陽性細胞数が有意に減少したが, dnStat3-Tg マウスでは G-CSF による Tunel 陽性細胞数減少効果は消失した。野生型マウスでは G-CSF 投与により心筋の Bcl-2 の発現が増加したが, dnStat3-Tg マウスではこの効果は消失した。野生型マウスでは, G-CSF 投与群は非投与群に比較して心筋梗塞後の毛細血管数が有意に増加したが, dnStat3-Tg マウスでは G-CSF による毛細血管数増加効果は消失した。造血組織を GFP 陽性骨髄細胞に置換したマウスに心筋梗塞を作成し, G-CSF 投与, 非投与群及び野生型, dnStat3-Tg マウスの間で心筋組織の骨髄由来細胞の数に差異はなかった。また, 野生型および dnStat3-Tg マウスにおいて心筋幹細胞である Sca-1 陽性細胞数は G-CSF 投与により影響を受けなかった。

考察

SP 細胞は造血組織, 骨格筋, 乳腺, 皮膚など様々な臓器に分布し, 臓器特異的な長期にわたる再生を担っていると考えられている。今回我々は終末分化を遂げたとされる新生仔ラット心筋の SP 細胞が自律拍動する成熟した心筋細胞に分化することを初めて明らかにした。oxytocin は下垂体後葉ホルモンであり, 子宮収縮, 乳汁分泌作用が広く知られているが, 近年, oxytocin 受容体は心血管系を含む多くの臓器に発現していることが明らかになっている。我々は心臓 Sca-1 陽性細胞が oxytocin により自律拍動する心筋細胞に分化することを報告している (Matsuura K, et al. J Biol Chem 2004)。今後, oxytocin が心臓幹細胞の分化を促進する機序を解明することは重要な課題である。

G-CSF が急性心筋梗塞後のリモデリングを抑制することは Orlic らが報告しているが (Orlic et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002), その機序として骨髄中の未分化な幹細胞が心筋に遊走して心筋細胞へ分化すると考えられてきた。しかし, 骨髄造血幹細胞や間葉系細胞が心筋細胞に高率に分化する能力があるかは未だ議論的である。本研究で我々は G-CSF が心筋細胞に直接作用し, その抗アポトーシス作用, 血管新生作用を介して心筋保護に働くことを初めて報告した。また, G-CSF による抗アポトーシス作用, 血管新生作用は Jak2-Stat3 を介することを dnStat3-Tg マウス, 抑制薬を用いた実験から明らかにした。骨髄を GFP 陽性細胞に置換したマウスの心筋梗塞モデルにおいて, G-CSF は骨

髄細胞の心筋細胞への遊走を増加させなかった。また、G-CSF は心筋幹細胞の梗塞部への遊走にも関与してなかった。したがって、G-CSF による心筋保護効果において Jak-Stat シグナルは重要な機序であると考えられた。G-CSF によるこのような多彩な効果は、G-CSF が急性虚血性疾患のみならず、虚血性または非虚血性慢性心不全に対しても心機能改善効果を有する可能性を示唆する。

結論

心臓幹細胞には Sca-1 陽性細胞に加えて、SP 細

胞が存在し、oxytocin は心臓 SP 細胞の双方を自律拍動する成熟した心筋細胞へ分化させる。今後、このような心筋前駆または幹細胞の分化過程における oxytocin の作用機序を解明することにより、内因性の心筋細胞再生を促進することが可能と考えられる。

G-CSF は抗 apoptosis 作用により、急性心筋梗塞後の心筋リモデリングを抑制した。今後、慢性心不全に対する G-CSF をはじめとするサイトカインの効果は重要な検討課題であると考えられる。

研究発表

論文発表

1. G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating Jak/Stat in cardiomyocytes. Harada M, Qin Y, Takano H, Minamino T, Zou Y, Toko H, Ohtuka M, Matsuura K, Sano M, Nishi J, Iwanaga K, Akazawa H, Kunieda T, Zhu W, Hasegawa H, Kunisada K, Nagai T, Nakaya H, Yamauchi-Takahara K, Komuro I. Nature Medicine In press.

学会発表

1. G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating Jak/Stat in cardiomyocytes
Harada M. AHA Scientific Session 2004.
2. Cardiac SP cells differentiate into beating cardiac myocytes in vivo
Oyama T. AHA Scientific Session 2004

心筋症ハムスター J2N-k における心筋細胞内微小器官の変化

武田 信彬

東京慈恵会医科大学青戸病院総合診療部

研究要旨

我々の施設で開発した心筋症ハムスター J2N-k を用いてその新機能障害を検討した。J2N-k は経過中に左室内腔の拡張、心筋細胞の壊死、線維化などを生じ心不全に陥るため、拡張型心筋症の動物モデルとして有用である。35 - 37 週齢の雄の J2N-k と、正常ハムスター J2N-n について、心機能は超音波法で測定、また、左室心筋から筋小胞体 (SR) を分離、生化学的検討をおこなった。左室駆出率、% FS は J2N-n に比べて J2N-k で有意に低かった。左室内腔は J2N-k で有意に大であった。SR の Ca^{2+} uptake などは J2N-k で低下していた。心筋症ハムスター J2N-k の心機能障害に SR の Ca^{2+} 輸送に関わる機能の変化が関与しているものと思われる。

研究目的

特発性心筋症が心不全に陥るメカニズムは多くの研究があるが、心筋細胞内微小器官の変化に関しては不明の点が多い。本研究では、ヒトの心臓では詳細な検討が困難な心筋細胞微小器官の変化を、我々が開発した心筋症ハムスター J2N-k を用いて検討する。

研究方法

35 - 37 週齢の雄の心筋症ハムスター J2N-k を使用した。また、正常ハムスターとして開発した J2N-n (同週齢) をコントロールとして用いた。心機能はペントバルビタール麻酔後超音波法にて測定した。左室心筋から SR を分離、 Ca^{2+} uptake, Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ (CaMK) 活性、プロテインキナーゼ A (PKA) 活性を測定した。
(倫理面への配慮)

心筋症ハムスターに関しては清潔な動物飼育室で飼育し、実験時には深麻酔を行い、動物愛護上の配慮を十分行っている。

研究結果

心エコー法による心機能評価は、左室駆出率が心

筋症ハムスター J2N-k で約 69%、正常ハムスターで約 82%、%FS も J2N-k で低かった。左室内腔は J2N-k で有意に大であった。SR の Ca^{2+} uptake, Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ (CaMK) 活性、プロテインキナーゼ A (PKA) 活性もすべて心筋症ハムスターで低下していた。

考察

心臓の機能に影響する心筋細胞の変化として、サルコレンマ、筋小胞体 (SR)、収縮蛋白など、興奮収縮連関 (E-C coupling) に関与するすべての細胞内微小器官の変化が影響する。本研究の中心は SR の Ca^{2+} uptake であるが、これは主として心臓の拡張機能に影響を及ぼす。その他今回観察した SR の変化は総合的に心機能の変化につながるものと考えられる。これらの変化を今後治療にも feed back していくことが必要と思われる。

結論

心筋症ハムスター J2N-k では正常ハムスター J2N-n と比べて左室収縮力の低下が見られた。この心機能障害に SR の Ca^{2+} 輸送に関わる機能的変化が関与しているものと思われる。

研究発表

論文発表

1. Babick AP, Cantor EJ, Takeda N, et al: Cardiac contractile dysfunction in J2N-k cardiomyopathic hamsters is associated with impaired SR function and regulation. Am J Physiol Cell Physiol 287:C1202-C1208, 2004

心筋組織中のテネイシン C の発現による疾患活動性の診断

今中 恭子

三重大学医学部病理

細胞外マトリックスのひとつテネイシン C は、正常では発現しないが、組織障害、炎症に伴って特異的に発現する。この性質を利用して、ヒト心筋の炎症活動性の診断に応用できるか検討した。現在、心筋炎の診断は心筋生検標本による組織診断で確定されるが、抗テネイシン C 抗体による免疫組織染色をおこなうと、心筋炎症の組織診断精度を著しく改善することができた。

研究目的

拡張型心筋症と診断される病態は多様であり、一部では、急性炎症の遷延化や潜在的に慢性炎症が持続するなど、心筋炎から移行するものがあると考えられている。特にそのような症例では、治療方針の決定や予後予測のために、炎症の活動性を正確に評価することが極めて重要となる。細胞外マトリックスのひとつテネイシン C は、正常な大人の心臓では発現しないが、組織障害、炎症に伴って特異的に発現する。この性質を利用して、抗テネイシン C による免疫組織染色が心筋生検標本を組織診断に有用であるか検討した。

研究方法

剖検心および、臨床的に急性心筋炎と診断された 36 例から得られた心筋生検組織計 109 片の切片を作成して H・E 染色し、それぞれの切片を Dallas criteria に基づいて炎症の程度を active, borderline, no myocarditis の 3 段階に分類した。それぞれの隣接切片を抗テネイシン C 抗体による免疫染色を行い、発現の程度を、陽性面積率により grade0 (発現なし), grade1 (25%以下), grade2 (25～50%), grade3 (50～75%), grade4 (75%以上) の 5 段階にわけてスコア化し、組織診断と対比した。(倫理面への配慮)

各施設の倫理委員会で承認されたプロコールに従い、インフォームドコンセントに基づき了解を得られた心筋炎患者生検組織、剖検組織の免疫組織染色を三重大学で行った。

研究結果

心筋炎急性期には間質に免疫組織学的にテネイシン C の強い沈着が見られた。剖検例の大きな心筋組織切片で検討すると、組織学的炎症所見の分布よりテネイシン C の分布がやや広がった。心筋炎

患者から得られた心筋生検組織でも、テネイシン C 発現の程度は炎症の程度と相関して発現が見られ、active myocarditis では 3.5 ± 0.7 , borderline myocarditis では 2.0 ± 0.9 , no myocarditis では 0.9 ± 1.0 で、臨床的に明らかに心筋炎でない患者から得られた組織の 0.9 ± 1.0 に比べ有意に高かった。テネイシン C の発現は炎症治癒に伴って漸減し、発症 30 日後の組織では、まだ発現がみられるものの、そのレベルは発症後 1 週間以内のそれに比較して明らかに減少していた。抗テネイシン C 染色の診断マーカーとしての有用性を検討すると、通常の HE 染色上本による心筋炎の組織診断の sensitivity が 45.1%, specificity 100% であるのに比較し、抗テネイシン C 染色でスコアが 2 以上のものを陽性とする、sensitivity は 73.0%, specificity 100% と著しく改善した。

考察

現在、ヒト心筋炎の確定診断は、Dallas criteria に基づく心内膜下心筋生検の組織診断で行われる。国際的な基準として唯一認められている Dallas criteria では、HE 染色標本を炎症細胞浸潤の程度により、active myocarditis, borderline myocarditis, no myocarditis の 3 段階に分けている。しかしながら、no myocarditis という組織診断は、たまたま採取された組織に炎症所見が明らかではないということを示すだけであり、心筋炎の臨床診断を否定するものではない。一般に、心筋炎の病変は局所的に多発していることが多く、小さい生検組織切片では、複数片採取しても、偽陰性率が高いことが指摘されている。また、心筋炎、拡張型心筋症の移行を考える際、最も問題になる borderline myocarditis は、'inflammatory cell infiltration without myocytolysis' とだけ規定されているため多様な病像を含み、HE 染色による borderline myocarditis, no myocarditis の診断は現実には

困難で、診断者の主観に基づくといっても過言ではない。従って、高い偽陰性率、診断者によるばらつきなどの点から、心筋生検の診断的意義を疑問視する意見も多い。我々は、以前報告したようにマウス心筋炎モデルで、組織学的炎症所見が明らかになる前にテネシンの沈着が明らかに認められること（J Pathol 2002;197:388-394）、また、今回の研究で明らかにしたように、ヒト剖検例の大きな心筋組織切片で検討すると、組織学的炎症所見の分布よりテネシンCの分布がやや広いことから、抗テネシンC抗体による免疫染色を併用することにより、心筋生検組織診断の精度を上げることができると予想した。実際に、臨床的に明らかな心筋炎患者から得られた心筋生検組織を用いて検討すると、抗テネシンC染色をもちいると、HE染色のみの通常の組織診断より著明に診断率を改善することが明らかになった。特に、実際の組織診断上、最も問題になる borderline myocarditis の診断に極めて有効であることは注目に値する。しかしながら、サンプリングエラーに基づく偽陰性の問題を完全に解決する

ことはできない。そこで我々は、免疫組織染色の発展型として、抗テネシンC抗体を用いた免疫シンチグラフィーが有効であると考え、実際、ラットモデルで極期の心筋炎病巣や急性期心筋梗塞の病巣を明瞭に描出することに成功した。現在、臨床応用のための技術開発を行っている。

さらに、より非侵襲的、経済的診断法として血中のテネシンC測定を試みている。テネシンCは、一般に、細胞と細胞の間に沈着しているが、明らかに、可溶性分画が存在し、血清中のテネシンCレベルは、局所でのテネシンCの発現レベルを反映しうる。ヒト心筋炎のうち炎症が遷延化するもの、あるいは潜在的に慢性炎症が持続し拡張型心筋症に移行する症例の診断に有用であると思われる。

結論

テネシンCは、炎症のマーカーとして有用であり、抗テネシンC抗体を用いた免疫染色は心筋生検組織の診断精度を著しく改善する。

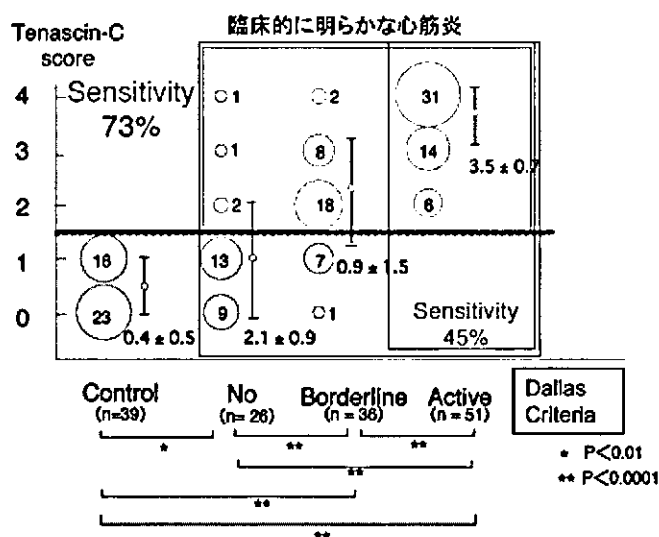


図 抗テネシン抗体染色による心筋生検組織診断の有用性
文献 1) より改変

研究発表

論文発表

1. Morimoto S, Imanaka-Yoshida K, Hiramitsu S, Kato S, Ohtsuki M, Uemura A, Kato Y, Nishikawa T, Toyozaki T, Hishida H, Yoshida T, Hiroe M: The diagnostic utility of tenascin-C for evaluation of activity of human acute myocarditis. *J Pathol* 2005, 205:460-467
2. Imanaka-Yoshida K, Hiroe M, Yoshida T: Interaction between cell and extracellular matrix in heart disease: Multiple roles of tenascin-C in tissue remodeling. *Histol Hisopathol* 2004, 19:517-525
3. Yamamoto K, Onoda K, Sawada Y, Fujinaga K, Imanaka-Yoshida K, Shimpo H, Yoshida T, Yada I: Tenascin-C is an essential factor for neointimal hyperplasia after aortotomy in mice. *Cardiovasc Res* 2005, 65:737-742
4. Ilunga K, Nishiura R, Inada H, El-Karef A, Imanaka-Yoshida K, Sakakura T, Yoshida T: Co-stimulation of human breast cancer cells with transforming growth factor-beta and tenascin-C enhances matrix metalloproteinase-9 expression and cancer cell invasion. *Int J Exp Pathol* 2004, 85:373-379
5. Funabiki K, Onishi K, Dohi K, Koji T, Imanaka-Yoshida K, Ito M, Wada H, Isaka N, Nobori T, Nakano T: Combined angiotensin receptor blocker and ACE inhibitor on myocardial fibrosis and left ventricular stiffness in dogs with heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, 287:H2487-2492
6. Fujinaga K, Onoda K, Yamamoto K, Imanaka-Yoshida K, Takao M, Shimono T, Shimpo H, Yoshida T, Yada I: Locally applied cilostazol suppresses neointimal hyperplasia by inhibiting tenascin-C synthesis and smooth muscle cell proliferation in free artery grafts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004, 128:357-363
7. Onishi K, Dohi K, Koji T, Funabiki K, Kitamura T, Imanaka-Yoshida K, Ito M, Nobori T, Nakano T: Candesartan prevents myocardial fibrosis during progression of congestive heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004, 43:860-

学会発表

1. 第 50 回日本病理学会秋季特別総会 A 演説 2004 年 12 月 2 日, 名古屋
‘心筋組織修復におけるテネイシン C の分子機能と臨床応用の可能性’
2. 第 93 回日本病理学会総会 2004 年 6 月 10 日, 札幌
ワークショップ 細胞接着分子とシグナリング
‘組織修復における細胞外マトリックスによる細胞動態の制御’

心筋リモデリング進展におけるオステオポンチンの意義

北畠 颯, 岡本 洋

北海道大学医学研究科循環病態内科学

研究要旨

平成 16 年度, 心筋リモデリング過程を検討する生化学マーカーに乏しいため, その開発を主目的として, 接着分子であるオステオポンチン (OPN) に着目し, 基礎的・臨床的検討を行った. 基礎的には OPN 欠損マウス (OP^{-/-}) を用い, 実験的に作成した心筋リモデリングにおける線維化の過程を修飾する重要な分子であることが認識された. 臨床的には, 血中濃度測定法の開発に着手した. モノクローナル抗体を用いた ELISA 法による測定法を開発したが, 採血後経時的に血中濃度が低下し, その機序には分解酵素の存在が示唆され, 分解酵素阻害による安定化が求められることが認識された. 以上より, 心筋リモデリング過程のマーカーとしてオステオポンチン (OPN) の重要性が明らかにされ, 今後の心筋症診断に有用であると考えられた.

研究目的

オステオポンチン (OPN) は接着分子であるとともに Th1 サイトカインとして知られ, インテグリン受容体と結合し細胞外マトリックスの制御と安定性に寄与する. 本研究は, 心筋リモデリング進展におけるオステオポンチンの意義を明らかにすることを目的として, 1) OPN 欠損マウス (OP^{-/-}) を用い, アンジオテンシン II (AII) 負荷心肥大モデルにおける OPN の意義, 合わせてアルドステロン拮抗薬エプレレノン (Ep) の作用が OPN 制御を介するかどうかを検討した. 2) モノクローナル抗体を用いた ELISA 法による測定法を開発し, 臨床的各指標の変動と比較対比した.

研究方法

1) 野生型 (C57BL/6) および OP^{-/-} マウスにおいて背部に埋め込んだ浸透圧ポンプを用い AII (2 μ g/kg/分) を 4 週間投与, さらに, それぞれの群でエプレレノンを経口投与した. 各群で血圧, 心重量・体重比, 心筋細胞横径, 血管周囲および間質線維化率, 心エコーにより左室拡張末期系, %FS, c-IRT を測定, また, OPN 発現を, RT-PCR 法, 免疫染色法を用いて検討した.

2) モノクローナル抗体を用いた ELISA 法を開発し, 健常者および患者血漿を採取し, さまざまな条件下での濃度測定を行った.

(倫理面への配慮)

健常者および患者の採血にあたっては, 十分な IC を行なった.

研究結果

1) 野生型マウスで, AII 投与は血圧上昇, 心肥大, 血管周囲および間質の線維化を誘導した. OPN^{-/-} マウスでは, 血管周囲および間質の線維化が完全に抑制され拡張機能が保持された. Ep 投与は, 野生型において ANF, Col-I 発現抑制とともに OPN を抑制し, AII による血圧上昇, 線維化, 心筋細胞肥大を抑制した.

2) 血中 OPN 濃度は, 採血条件, すなわち, 血漿分離までの時間依存性に濃度が低下した. 同一条件で採取した OPN 濃度は患者の NYHA 心機能分類に相関して増加することが明らかにされた.

考察

OPN は AII による線維化に中心的な役割を担うこと, アルドステロンによる線維化促進作用は OPN 発現制御を介することから, 心筋線維化の指標としての意義, OPN を介するリモデリング抑制のための治療戦略が示唆された. 同時に, 心筋リモデリング過程における重症度を評価する上で有用な指標であることが明らかにされた.

結論

心筋症の心筋リモデリング過程, ことに, 心筋線維化を生化学的指標により観察することは, 診断・治療上有意義と考えられるが, OPN は有用な指標の一つであると考えられた.

研究発表

論文発表

1. Tsukamoto T, Ito Y, Noriyasu K, Morita K, Katoh C, Okamoto H, Tamaki N. Quantitative assessment of regional myocardial flow reserve using Tc-99m-sestamibi imaging comparison with results of O-15 water PET- Circulation J. 69(2): 188-193, 2005
2. T. Watanabe, T. Miyatake, H. Kumamoto, N. Mafune, S. Kubota, H. Okamoto, T. Murashita, T. Uede, and K. Yasuda Adenovirus-mediated CTLA4 immunoglobulin G gene therapy in cardiac xenotransplantation. Transplantation Proceedings 36 (8), 2004, 2478-2479
3. Matsui Y, Okamoto H, Jia N, Akino M, Uede T, Kitabatake A, Nishihira J. Blockade of macrophage migration inhibitory factor ameliorates experimental autoimmune myocarditis. J Mol Cell Cardiol. 2004 37(2):557-66.
4. Yasumura Y, Miyatake K, Okamoto H, Miyauchi T, Kawana M, Tsutamoto T, Kitakaze M, Matsubara H, Takaoka H, Anzai T, Himeno H, Yokoyama H, Yokoya K, Shintani U, Hashimoto K, Koretsune Y, Nakamura Y, Imai K, Maruyama S, Masaoka Y, Sekiya M, Shiraki T, Shinohara H, Ozono K, Matsuoka T, Miyao Y, Nomura F. Rationale for the use of combination angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin II receptor blocker therapy in heart failure. Circ J. 2004 68(4):361-6.
5. Matsui Y, Jia N, Okamoto H, Kon S, Onozuka H, Akino M, Liu L, Morimoto J, Rittling SR, Denhardt D, Kitabatake A, Uede T. Role of osteopontin in cardiac fibrosis and remodeling in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. Hypertension. 2004 43(6):1195-201.
6. 河合祥雄ら たこつぼ心筋傷害（たこつぼ心筋症）診断の手引き（第2案）作成過程心臓 36(6):466-468 2004
7. 岡本 洋, 北畠 顕 心筋症の診療の変遷と現況. 内科 95 巻 4 号, 597-601, 2005
8. 岡本 洋 遺伝子多型と心不全診療. 循環器科 57 (3) : 251-258, 2005
9. 岡本 洋 質疑応答 Q&A わが国における心筋症の予後. 日本醫事新報 4200 : 86-87, 2004
10. 北畠 顕, 岡本 洋 : 拡張型心筋症 心臓病の外来診療 生涯教育シリーズ -65 (日本医師会雑誌特別号) 132(8):S179-S183 2004
11. 磯部 光章, 岡本 洋, 廣江 道昭, 和泉 徹 : 座談会 心筋症一成因から診断・治療まで. 内科 95 巻 4 号, 727-739, 2005

IV 研究成果の刊行に関する一覧表

分担研究者氏名：今泉 勉

所属機関名：久留米大学医学部第三内科 教授

書籍

1. 今泉 勉, 岡 直樹：肥大型心筋症. 矢崎義雄, 大林完二, 小川聡, 堀正二, 松崎益徳, 永井良三監修・編集, 心臓病の外來診療, 日本医師会, 東京, S175-S178, 2004
2. 大内田昌直, 竹内智宏, 今泉 勉：急性心不全とは(①～④). 松崎益徳編, 心不全診療ガイドンス, メジカルビュー社, 東京, 32-39, 2004
3. 甲斐久史, 今泉 勉：心不全. 臨床分子内分秘学 2 - 心血管内分秘代謝系 (下), 日本臨床社, 印刷中, 東京

雑誌

1. Tokuda K et al.: Pressure-independent effects of angiotensin II on hypertensive myocardial fibrosis. *Hypertension* 43:499-503, 2004
2. Kuwahara F et al.: Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction—Another model of inflammation?-. *Hypertension* 43:739-745, 2004
3. Hayashi T et al.: Identification and functional analysis of a caveolin-3 mutation associated with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 313:178-184, 2004
4. Shimada T et al.: Angiogenesis and vasculogenesis are impaired in precocious-aging klotho mouse. *Circulation* 110:1148-1155, 2004
5. Niiyama H et al.: Roles of endogenous monocyte chemoattractant protein-1 in ischemia-induced neovascularization. *J Am Coll Cardiol* 44:661-666, 2004
6. Tahara N et al.: Disappearance of cardiac gallium uptake after corticosteroid therapy for sarcoidosis. *Clin Cardiol* 27:552, 2004
7. Hayashi T et al.: Tcap gene mutations in Hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 44:2192-2201, 2004
8. Yamagishi S et al.: Minodronate, a newly developed nitrogen-containing bisphosphonate, suppresses melanoma growth and improves survival in nude mice by blocking Vascular Endothelial Growth Factor signaling. *Am J Pathol* 165:1865-1874, 2004
9. Tahara N et al.: Repeated gene transfer of naked prostacyclin synthase plasmid into skeletal muscle attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension and prolongs survival in rats. *Human Gene Ther* 15:1270-1278, 2004
10. Osada K et al.: Special report from heart transplant candidate registry committee in Japan. *J Heart Lung Transplant*, in press, 2005
11. Ueda T et al.: Pheochromocytoma presenting as recurrent hypotension and syncope. *Intern Med*, in press, 2005
12. Kikuchi T et al.: Behavior of Caveolae and Caveolin-3 During the Development of Myocyte Hypertrophy. *J Cardiovasc Pharmacol*, in press, 2005
13. Morita H et al.: Only two-week smoking cessation improves platelet aggregability and intraplatelet redox imbalance of long-term smokers. *J Am Coll Cardiol*, in press, 2005
14. Yokoyama S et al.: Platelet P-selectin plays an important role in arterial thrombogenesis by forming large stable platelet-leukocyte aggregates. *J Am Coll Cardiol*, in press, 2005
15. Yokoyama S et al.: HMG-CoA reductase inhibitor protects against in Vivo arterial

- thrombosis by augmenting platelet-derived nitric oxide releases in rats. J Cardiovasc Pharmacol, in press, 2005
16. Sugano R et al. : Polymorphonuclear leukocytes may impair endothelial function —Results of crossover randomized study of lipid lowering therapies. Arterioscler Thromb Vasc Biol, in press, 2005
 17. Yamagishi S et al. : Azelnidipine, a newly developed long-acting calcium antagonist, inhibits tumor necrosis factor- α -induced interleukin-8 expression in endothelial cells through its anti-oxidative properties. J Cardiovasc Pharmacol, in press, 2005
 18. Yamagishi S et al. : Pigment epithelium-derived factor inhibits Tumor Necrosis Factor- α -induced interleukin-6 expression in endothelial cells by suppressing NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species generation. J Mol Cell Cardiol, in press, 2005

分担研究者氏名：和泉 徹

所属機関名：北里大学医学部内科学Ⅱ 教授

雑誌

1. Mototsugu Nishii, Takayuki Inomata, Hitoshi Takehana, Ichiro Takeuchi, Hironari Nakano, Toshimi Koitabashi, Jun-chi Nakahata, Naoyoshi Aoyama, Tohru Izumi : Serum levels of Interleukin-10 on admission as a prognostic predictor of human fulminant myocarditis. Journal of the American College of Cardiology 44:1297～8, 2004
2. Takeshi Morimoto, Yasuaki Hayashino, Takuro Shimbo, Tohru Izumi, Tsuguya Fukui : Is B-type natriuretic peptide-guided heart failure management cost-effective?. International Journal of Cardiology 96 : 177～81, 2004
3. Yuko Wakisaka, Shinichi Niwano, Hiroe Niwano, Junko Saito, Tohru Yoshida, Shoji Hirasawa, Hideaki Kawada, Tohru Izumi : Structural and electrical ventricular remodeling in rat acute myocarditis and subsequent heart failure. Cardiovascular Research 63 : 689-99, 2004

分担研究者氏名：小川 聡

所属機関名：慶應義塾大学医学部循環器内科 教授

書籍

1. 河野隆志, 吉川 勉 : 心筋症. 松崎益徳, 本郷 実編, 新・心臓病診療プラクティス, 文光堂, 東京, 328-337, 2004

雑誌

1. Fukuda Y : Autoimmunity against the second extracellular loop of β -adrenergic receptors induces early afterdepolarization and decreases in K-channel density in rabbits. J Am Coll Cardiol 43 : 1090-1100, 2004
2. Baba A : Autoantibodies against M2-muscarinic acetylcholine receptors: new upstream targets in atrial fibrillation in patients with dilated cardiomyopathy. Eur Heart J 25 : 1108-1115, 2004

分担研究者氏名：豊岡 照彦

所属機関名：東京大学器官病態内科 教授

雑誌

1. Toyo-oka T, Kawada T, Nakata J et al.: Translocation and cleavage of myocardial dystrophin as a common pathway to advanced heart failure: a scheme for the progression of cardiac dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101: 7381-7385, 2004
2. Sago N, Omi K, Tamura Y, Kunugi H et al.: RNAi induction and activation in mammalian muscle cells where Dicer and eIF2C translation initiation factors are barely expressed. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 319: 50-57, 2004
3. Hori M, Sasayama S, Kitabatake A et al.: Low-dose carvedilol improves left ventricular function and reduces cardiovascular hospitalization in Japanese patients with chronic heart failure: the Multicenter Carvedilol Heart Failure Dose Assessment (MUCHA) trial. *Am. Heart J.* 147: 324-330, 2004
4. Ma J, Iida H, Jo T, Takano H, Oonuma H, Morita T, Toyo-oka T et al. Ursodeoxycholic acid inhibits endothelin-1 production in human vascular endothelial cells. *Eur. J. Pharmacol.* 505: 67-74, 2004
5. Takahashi M, Tanonaka K, Yoshida H, Oikawa R, Koshimizu M, Daicho T, Toyo-oka T et al.: Effects of ACE inhibitor and AT(1) blocker on dystrophin-related proteins and calpain in failing heart. *Cardiovasc. Res.* 65: 356-365, 2005

分担研究者氏名：堀 正二

所属機関名：大阪大学大学院医学系研究科 教授

雑誌

1. 山口修ほか：Cardiac-specific Disruption of c-raf-1 Gene Induces Cardiac Dysfunction and Apoptosis. *J. Clin. Invest.* 114: 937-943, 2004
2. 西田和彦ほか：p38 α mitogen-activated protein kinase plays a critical role in cardiomyocyte survival but not in cardiac hypertrophic growth in response to pressure overload. *Mol. Cell. Biol.* 24: 10611-10620, 2004

分担研究者氏名：松崎 益徳

所属機関名：山口大学医学部器官制御医科学循環病態内科学講座 教授

書籍

1. 中村浩士, 松崎益徳:鑑別のポイント／心筋炎. 鄭忠和編, *Heart View.*, メジカルビュー社, 東京, Vol.8, No.6. 533-537, 2004
2. 中村浩士, 松崎益徳:ウイルス性心筋炎を識る. 和泉徹編, *Heart View.*, メジカルビュー社, 東京, Vol.8, No.11. 44-50, 2004
3. 中村浩士, 松崎益徳:Ⅶ. 心筋疾患 3. 拘束型心筋症. 吉川純一, 松崎益徳編, *臨床心臓病学*, 文光堂, 東京, (in press), 2005

雑誌

1. Satoko Takata, Hiroshi Nakamura, Seiji Umemoto, Kazuhito Yamaguchi, Taichi Sekine, Tomohiro Kato, Kusuki Nishioka, Masunori Matsuzaki: Identification of

- autoantibodies with the corresponding antigen for repetitive coxsackievirus infection-induced cardiomyopathy. *Circulation Journal*, Vol.68. 677-682, 2004
2. Takeharu Hayashi, Takuro Arimura, Manatsu Itoh-Satoh, Kazuo Ueda, Shigeru Hohda, Natsuko Inagaki, Megumi Takahashi, Hisae Hori, Michio Yasunami, Hirofumi Nishi, Yoshinori Koga, Hiroshi Nakamura, Masunori Matsuzaki, Bo Yoon Choi, Sung Won Bae, Cheol Woon You, Kyung Hoon Han, Jeong Euy Park, Ralph Knoll, Masahiko Hoshijima, Kenneth R. Chien, Akinori Kimura : TCAP mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* 44 : 2192-2201, 2004.
 3. 班員：松崎益徳，協力者：中村浩士：循環器病の診断と治療に関するガイドライン（2002-2003 年度合同研究班報告）急性および慢性心筋炎の診断・治療に関するガイドライン. *Circulation Journal* 68 Suppl. IV. : 1231-1272, 2004.

分担研究者氏名：松森 昭

所属機関名：京都大学大学院医学研究科循環器内科学 助教授

雑誌

1. 松森 昭他：Suppression of cytokines and nitric oxide production against lethal endotoxemia and viral myocarditis by a new NF- κ B inhibitor. *European Journal of Heart Failure* 6 : 137-144, 2004
2. 松森 昭：Anti-inflammatory therapy for heart failure. *Current Opinion in Pharmacology* 4 : 171-176, 2004
3. 加藤晴美他：Reduced high serum hepatocyte growth factor levels after successful cardioversion in patients with atrial fibrillation. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 31 : 145-151, 2004
4. 畑 典武他：Hepatocyte growth factor and cardiovascular thrombosis in patients admitted to the intensive care unit. *Circulation Journal* 68 : 645-649, 2004
5. 増田大輔他：Improvement of oxygen metabolism in ischemic myocardium as a result of enhanced external counterpulsation with heparin pretreatment for patients with stable angina. *Heart Vessels* 19 : 59-62, 2004
6. 松森 昭：Roles of hepatocyte growth factor and mast cells in thrombosis and angiogenesis. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 18 : 321-326, 2004
7. 松森 昭：The role of NF- κ B in the pathogenesis of heart failure and endotoxemia. *Drugs of the Future* 29 : 733-739, 2004
8. 谷口良司他：Combined measurements of cardiac troponin T and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with heart failure. *Circulation Journal* 68 : 1160-1164, 2004
9. 松森 昭：Role of hepatitis C virus in myocarditis and cardiomyopathies. *Journal of Geriatric Cardiology* 1 : 83-89, 2004
10. 松森 昭：Hepatitis C virus induces cardiomyopathy. *Circulation Research* 96 : 144-147, 2005
11. 松森 昭：肝外病変発生の分子メカニズムウイルス性肝炎（上）. *日本臨床* 62 : 544-549, 2004
12. 松森 昭：肝外病変の主要病態とその対処法心筋炎・心筋症ウイルス性肝炎（上）. *日本臨床* 62 : 554-559, 2004
13. 松森 昭：肝外病変に対する IFN 療法の効果ウイルス性肝炎（上）. *日本臨床* 62 :

569-573, 2004

分担研究者氏名：横山 光宏

所属機関名：神戸大学大学院医学系研究科循環呼吸器病態学 教授

書籍

1. 河合美樹, 横山光宏他 2 名：骨髄由来細胞による心筋細胞補充の可能性. 伊藤正男編, 生体の科学, (財)金原一郎記念医学医療振興財団/医学書院, 日本, Vol.55 No.4 338-342, 2004
2. 上山知己, 横山光宏：薬剤性心筋症. 吉田富生編, Heart View, メジカルビュー社, 日本, Vol.8 No.6 576-583, 2004

雑誌

1. 小林成美, 横山光宏他 7 名：Glycogen Synthase Kinase-3 β is Involved in the Process of Myocardial Hypertrophy Stimulated by Insulin-Like Growth Factor-1. Circulation Journal 68 : 247-253, 2004
2. 杜 隆嗣, 横山光宏他 6 名：Transplantation of Cardiotrophin-1-Expressing Myoblasts to the Left Ventricular Wall Alleviates the Transition From Compensatory Hypertrophy to Congestive Heart Failure in Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats. Journal of American College of Cardiology Vol.43 No.12 : 2337-2347, 2004

分担研究者氏名：藤原 久義

所属機関名：岐阜大学大学院医学研究科循環病態学 教授

書籍

1. 竹村元三, 藤原久義：幹細胞移植. 北畠 顕編, 循環器 New Trends シリーズ 8 : 新世代の循環器系薬物療法, メディカルビュー社, 東京, 181-188, 2004
2. 竹村元三, 藤原久義：アポトーシス. 浅田祐士郎他編, 心臓ナビゲーター, メディカルビュー社, 東京, 110-111, 2004
3. 小島好修, 西垣和彦, 大野 康, 竹村元三, 湊口信也, 藤原久義：MGUS に続発した心アミロイドーシスの 1 例. 堀 正二編, 心不全 Cases & Lecture, 永井書店, 東京, 42-45, 2004

雑誌

1. Minatoguchi S, Takemura G, Chen XH, Wang N, Uno Y, Koda M, Arai M, Misao Y, Lu C, Suzuki K, Goto K, Komada A, Takahashi T, Kosai K, Fujiwara T, Fujiwara H.: Acceleration of the healing process and myocardial regeneration may be important as a mechanism of improvement of cardiac function and remodeling by postinfarction granulocyte colony-stimulating factor treatment. Circulation 109 : 2572-2580, 2004
2. Wang N, Minatoguchi S, Chen XH, Arai M, Uno Y, Lu C, Misao Y, Nagai H, Takemura G, Fujiwara H.: Benidipine reduces myocardial infarct size involving reduction of hydroxyl radicals and production of protein kinase C-dependent nitric oxide in rabbits. J Cardiovasc Pharmacol. 43 : 747-757, 2004
3. Wang N, Minatoguchi S, Chen X, Uno Y, Arai M, Lu C, Takemura G, Fujiwara T, Fujiwara H.: Antidiabetic drug miglitol inhibits myocardial apoptosis involving decreased hydroxyl radical production and Bax expression in an ischaemia/

- reperfusion rabbit heart. *Br J Pharmacol.* 142 : 983-990, 2004
4. Saijo M, Takemura G, Koda M, Okada H, Miyata S, Ohno Y, Kawasaki M, Tsuchiya K, Nishigaki K, Minatoguchi S, Goto K, Fujiwara H. : Cardiomyopathy with prominent autophagic degeneration, accompanied by an elevated plasma brain natriuretic peptide level despite the lack of overt heart failure. *Intern Med.* 43 : 700-703, 2004
 5. Ito Y, Kawasaki M, Yokoyama H, Okubo M, Sano K, Arai M, Nishigaki K, Uno Y, Takemura G, Minatoguchi S, Fujiwara H. : Different effects of pravastatin and cerivastatin on the media of the carotid arteries as assessed by integrated backscatter ultrasound. *Circ J.* 68 : 784-790, 2004
 6. Li Y, Takemura G, Kosai KI, Takahashi T, Okada H, Miyata S, Yuge K, Nagano S, Esaki M, Khai NC, Goto K, Mikami A, Maruyama R, Minatoguchi S, Fujiwara T, Fujiwara H. : Critical roles for the Fas/Fas ligand system in postinfarction ventricular remodeling and heart failure. *Circ Res.* 95 : 627-636, 2004
 7. Wang N, Minatoguchi S, Arai M, Uno Y, Hashimoto K, Chen X, Fukuda K, Akao S, Takemura G, Fujiwara H. : *Lindera strychnifolia* is protective against post-ischemic myocardial dysfunction through scavenging hydroxyl radicals and opening the mitochondrial KATP channels in isolated rat hearts. *Am J Chinese Med.* 32 : 587-598, 2004
 8. Takemura G, Fujiwara H. : Role of apoptosis in remodeling after myocardial infarction : *Pharmacol Ther* 104 : 1-16, 2004
 9. T. Ikoma, T. Takahashi, S. Nagano, Y. Li, Y. Ohno, K. Ando, T. Fujiwara, H. Fujiwara, K. Kosai : A definitive role of RhoC in metastasis of orthotopic lung cancer in mice. *Clin Cancer Res.* 10 : 1192-1200, 2004
 10. T. Kawai, T. Takahashi, M. Esaki, H. Ushikoshi, S. Nagano, H. Fujiwara, K. Kosai : Efficient Cardiomyogenic Differentiation of Embryonic Stem Cell by Fibroblast Growth Factor 2 and Bone Morphogenetic Protein 2. *Circ J.* 68 : 691-702, 2004
 11. E. Horibe, K. Nishigaki, S. Minatoguchi, H. Fujiwara : Sarpogrelate, a serotonin blocker, has a pharmacological preconditioning effect in patients with coronary artery disease. *Circ J.* 68 : 68-72, 2004
 12. K. Nishigaki, T. Yamazaki, H. Fujiwara : Assessment of Coronary Intervention in Japan from the Japanese Coronary Intervention Study (JCIS) Group -Comparison between 1997 and 2000-. *Circ J.* 68 : 181-185, 2004
 13. K. Nishigaki, T. Yamazaki, M. Fukunishi, S. Tanihata, H. Fujiwara : Assessment of Acute Myocardial Infarction in Japan from the Japanese Coronary Intervention Study (JCIS) Group. *Circ J.* 68 : 515-519, 2004
 14. Management of Elevated Cholesterol in the Primary Prevention Group of Adult Japanese (MEGA) Study Group : Design and Baseline Characteristics of a study of primary prevention of coronary events with pravastatin among Japanese with mildly elevated cholesterol levels. *Circ J.* 68 : 860-867, 2004
 15. 竹村元三, 湊口信也, 藤原久義 : 造血系サイトカインを用いた心筋再生. *循環器科* 56 : 400-408, 2004
 16. 田中俊樹, 荒井正純, 西垣和彦, 岡田英志, 藤原久義 : 拡張型心筋症を合併した左単冠動脈症の一例. *内科* 93 : 592-594, 2004
 17. 西垣和彦, 藤原久義 : 我が国における冠インターベンションの現状. *循環器科* 56 : 222-227, 2004

18. 山口和重, 土屋邦彦, 久保田知希, 平野智久, 川崎雅規, 西垣和彦, 湊口信也, 藤原久義, 富田政明, 渡辺佐知郎: 通常型房室結節回帰性頻拍に対する slow pathway ablation における順行 slow pathway 伝導に関する検討. 岐阜大学医学部紀要 52: 25-29, 2004
19. 西垣和彦, 藤原久義: PCI と薬物療法—現状と問題点 PCI か薬物療法か: ガイドラインの必要性について. Coronary Intervention 3: 26-31, 2004
20. 湊口信也, 藤原久義: 骨髄細胞動員による心筋梗塞治療. 先端医療シリーズ 28: 心臓病 1: 27-31, 2004
21. 西垣和彦, 藤原久義: JSAP 研究が教えるもの 低リスク安定労作性狭心症に対する薬物療法とインターベンション療法の“短期予後とコスト”および“長期予後”に関する無作為介入試験. 呼吸と循環 52: 1263-1271, 2004
22. 西垣和彦, 藤原久義: 冠動脈有意狭窄に対する治療法選択の現状とその予後—低リスク狭心症における薬物療法と PCI の予後—. 循環器科 55: 594-598, 2004

分担研究者氏名: 竹下 彰・久保田 徹

所属機関名: 九州大学大学院医学研究院循環器内科学 名誉教授: 助手

雑誌

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 109: 544, 2004
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 64: 526, 2004
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

分担研究者氏名: 永井 良三

所属機関名: 東京大学大学院医学系研究科循環器内科 教授

雑誌

1. Ishizaka N, Saito K, Nagai R et al.: Iron overload augments angiotensin II-induced cardiac fibrosis and promotes neointima formation. Circulation 106(14): 1840-6, 2002
2. Ishizaka N, Saito K, Nagai R et al.: Iron dextran causes renal iron deposition but not renal dysfunction in angiotensin II-treated and untreated rats. Nephron Physiol 98(4): 107-13, 2004
3. Ishizaka N, Saito K, Nagai R et al.: Administration of angiotensin II induces iron deposition and upregulation of TGF-beta1 mRNA in the rat liver. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, In press, 2005
4. Saito K, Ishizaka N, Nagai R et al.: Iron chelation and a free radical scavenger suppress angiotensin II-induced upregulation of TGF-beta1 in the heart. Am J Physiol Heart Circ Physiol, In press, 2005