

ロール血症への対策. 日本臨床スポーツ医学会誌 14 (3) : 352-62, 2006.

- ・吉村雅利, 新田順一, 丹羽明博, 瀧和 博, 鈴木宏昌, 河合祥雄, 磯部光章: 心筋炎所見を示す不整脈源性右室心筋症の1例. 心臓 38 : 1025-1030, 2006.
- ・富永恵子, 蔵野亘之, 松井瑠璃, 内山 晃, 熊田聡子, 倉田清子, 新井信隆, 林 雅晴, 河合祥雄: 熱と呼吸困難にて発症, 急性心不全で死亡し, 剖検にて克山病様心筋症と診断された1剖検例. 日本重症心身障害学雑誌 31(3) : 311-

315, 2006.

## 2)学会発表

- ・山田京志, 河合祥雄, 鈴木宏昌, 代田浩之: たこつぼ型心筋障害の病理組織学的検討. 第54回日本心臓病学会学術集会(鹿児島/2006年9月)
- ・河合祥雄: たこつぼ心筋症の病理. 第23回ベイエリアハートカンファレンス(大阪湾岸心臓会議)(2006年10月28日)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

## 特発性心筋症に関する調査研究

—特発性拡張型心筋症における収縮予備能破綻と治療戦略—

研究協力者： 室原 豊明(名古屋大学大学院循環器内科学教授)

＜研究要旨＞心筋症は難治性で予後不良であり5年生存率は重篤な“がん疾患”よりも低い。心筋症には特発性拡張型心筋症のほかに肥大型心筋症・拘束型心筋症・ミトコンドリア病(心筋症)・ファブリー病・家族性突然死症候群が生命を脅かす病態として難治性疾患に挙げられている。2次性心筋症も重篤な心不全をきたす疾患群であり、特発性心筋症研究班では心サルコイドーシスを課題として取り上げてきた。これら心筋症の予後については河合班が昭和年に発足以来の課題であり詳細な断面調査が繰り返して行われてきた。心筋症とその重篤な病態としての心不全の診断と治療は日進月歩の進歩がみられ、時代に即応した転帰の把握は重症で難治性の心疾患に欠かせぬ情報である。本研究では、詳細な臨床指標、検査指標のうち、いかなるパラメータが、拡張型心筋症・肥大型心筋症・拘束型心筋症・ミトコンドリア病(心筋症)・ファブリー病・家族性突然死症候群の予後規定因子になるのかを前向きに多施設で検討するとともに、心筋症の病態・治療・疫学に関し研究を行う。

## A. 研究目的

数多くの大規模臨床試験の結果からβ遮断薬やアンジオテンシン変換酵素阻害薬は非虚血性、虚血性に関わらず慢性心不全の予後を改善することが確立されている。また、近年、β遮断薬の心不全に対する効果も確立されつつある。しかし、これら薬物治療にても心不全が悪化する症例も数多く認められ、その様な症例は心臓移植の適応となるが、移植ドナー不足は我が国のみならず世界的にも深刻であり、心不全に対する新たな治療薬の開発が切望されている。特に我が国に多い特発性拡張型心筋症(DCM)に対して早急な対策が迫られている。

DCMにおける根治的治療法が未だ確立されていない現状では、予後不良の症例を軽症の段階から区別し、厳格な治療と管理を行うことが医療経済的にも重要であると考えられる。今回、我々は、心不全症状が軽症のDCMにおいて、収縮予備能を評価することにより心筋細胞傷害の進行度の評価、さらには予後予測が可能であるか検討した。また、抗アルドステロン薬が重症心不全患者の予後を改善することが最近報告された。動物モデルにおいて、アルドステロンが心筋線維化を促すことが報告されていることから、抗アルドステロン薬が不全心における心筋線維化を改善することが期待されるが、未だ、その効果は確立されていない。今回、我々は抗アルドステロン薬のspironolactoneの心筋線維化および左室拡張機能に及ぼす効果について検討した。

## B. 研究方法

1) DCMにおける頻拍に対する収縮予備能の評価と分子生物学的意義に関する検討

対象はNYHA I, IIの比較的軽症のDCM36例

(平均年齢49歳)で、左室内に挿入した圧センサー付きカテーテルにより、左室圧を測定しながら右房ペーシングを行った。また、左室自由壁より心内膜心筋生検を行い、心筋生検標本から定量的RT-PCR法により筋小胞体Ca<sup>2+</sup>関連蛋白のmRNAレベルを評価した。また、予後を追跡調査した。

2) DCMにおける交感神経刺激に対する収縮予備能の評価と分子生物学的意義に関する検討

対象はNYHA I, IIの比較的軽症のDCM47例(平均年齢48歳)で、左室内に挿入した圧センサー付きカテーテルにより、左室圧を測定しながらdobutamine負荷試験を行った。dobutamineは末梢静脈より5γ 10分間、10γ 10分間投与し、各濃度の最後1分間のデータの平均を用いて解析を行った。また、左室自由壁より心内膜心筋生検を行い、心筋生検標本から定量的RT-PCR法により筋小胞体Ca<sup>2+</sup>関連蛋白のmRNAレベルを評価した。

3) DCMにおける抗アルドステロン薬の効果に関する検討

DCM25例を対象として、抗アルドステロン薬のspironolactone 25mg/日投与前および約12ヶ月後に、血液中の線維化マーカーを計測した。また、組織ドップラー心エコー検査を行い、左室拡張機能(LV early diastolic strain rate)を評価した。さらに、圧センサー付きカテーテルを用いて左室内圧曲線を記録するとともに、左室造影を行った。左室心筋生検を行い、左室心筋線維化を定量評価(collagen volume fraction: CVF)するとともに、生検標本におけるI型およびIII型コラーゲンmRNAレベルを定量的RT-PCR法により評価した。

(倫理面への配慮)

すべての患者において検査内容を説明し本学倫理委員会にて承認された文書による同意を得て検査を行った。

## C. 研究結果

### 1) DCMにおける頻拍に対する収縮予備の評価と分子生物学的意義に関する検討

Baseline で機械的交互脈を認めたものは無く、右房ペーシングにより機械的交互脈が誘発されなかった22例(A群)と誘発された14例(B群)に分類し、両群間で比較検討した。対照群に比し、DCM群では、心筋におけるSERCA2、RyR-2 mRNAレベルは有意に低く、特にB群はA群に比し有意にSERCA2 mRNAレベルが低値であった。平均3.7年(0.8~7.5年)の観察により、A群2例、B群8例が心イベントを起こした。患者背景、血行動態データにおいて心イベントに影響を及ぼした因子を、stepwise法により多変量解析したところ、右房ペーシングによる頻拍誘発性機械的交互脈の出現が、唯一独立した予後予測因子であった( $p=0.021$ )。また、B群はA群に比し心イベントは有意に大であった( $p=0.021$ )。

### 2) DCMにおける交感神経刺激に対する収縮予備の評価と分子生物学的意義に関する検討

dobutamineによりLVdP/dtmaxが投与前の2倍以上に増加した19例(I群)と増加しなかった28例(II群)に分類した。I群と比較し、II群では末梢静脈血中ノルエピネフリン濃度は有意に低値であった。また、I群と比較し、II群では $\beta 1$ 交感神経受容体、SERCA2a、PLBそれぞれの心筋におけるmRNAレベルが有意に低下していた。

### 3) DCMにおける抗アルドステロン薬の効果に関する検討

左室心筋生検標本のCVFと心筋線維化の血液マーカー(PIP/CITP比)との間には強い正相関を認めた( $r=0.67$ )。心筋線維化の血液マーカー(PIP/CITP比)の値が低い12例(PIP/CITP $\leq 35$ )をGroup A、高い13例(PIP/CITP $> 35$ )をGroup Bとしspironolactoneの効果を検討した。spironolactoneの投与により、Group Bでは有意に血液中のPIP濃度が減少、CITP濃度が上昇した。また、I型およびIII型コラーゲンmRNAレベルもGroup Bでは有意に低下した。さらに、Group Bではspironolactone投与によりCVFが低下するとともに左室拡張末期stiffnessが有意に改善し、peak early diastolic strain-rateも有意に改善した。しかし、これらspironolactoneの効果はGroup Aでは認められなかった。

## D. 考察

本研究は、DCMにおける安静時の血行動態評価のみならず、右房ペーシングおよびdobutamine負荷による生理的ストレスに対する心筋収縮予備能を評価し病態生理学への洞察を行った。頻拍誘発性機械的交互脈という生理学的現象が、細胞内Ca<sup>2+</sup>動態および $\beta 1$ 受容体刺激伝達に関する分子生物学異常を示唆し、それが臨床的に予後予測因子として有用な指標となりうることを報告した。

また、本研究では、血液中のPIP/CITP濃度比は

左室心筋線維化の程度を示す臨床上有用な血液マーカーとなりうることを明らかにした。PIP/CITP $> 35$ のDCM症例において、spironolactoneが、心筋線維化を改善するとともに左室拡張機能をも改善することを報告した。

## E. 結論

DCMにおいて頻拍および交感神経刺激による心筋収縮予備能を評価することは、臨床的な心筋細胞傷害評価法として有用であり、軽症な段階での予後不良症例鑑別に応用可能であることが示唆された。また、抗アルドステロン薬はDCMにおける心筋線維化を改善し拡張機能障害を改善する可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

- Izawa H, Murohara T, Nagata K, Isobe S, Asano H, Amano T, Ichihara S, Kato T, Ohshima S, Murase Y, Iino S, Obata K, Noda A, Okumura K, Yokota M: Mineralocorticoid receptor antagonism ameliorates left ventricular diastolic dysfunction and myocardial fibrosis in mildly symptomatic patients with idiopathic dilated cardiomyopathy: a pilot study. *Circulation* 112:2940-2945, 2005.
- Isobe S, Izawa H, Iwase M, Nanasato M, Nonokawa M, Ando A, Ohshima S, Nagata K, Kato K, Nishizawa T, Murohara T, Yokota M: Cardiac 123I-MIBG reflects left ventricular functional reserve in patients with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J Nucl Med* 46:909-916, 2005.
- Ohshima S, Isobe S, Izawa H, Nanasato M, Ando A, Yamada A, Yamada K, Kato T, Obata K, Noda A, Nishizawa T, Kato K, Nagata K, Okumura K, Murohara T, Yokota M: Cardiac sympathetic dysfunction correlates with abnormal myocardial contractile reserve in dilated cardiomyopathy patients. *J Am Coll Cardiol* 46(11):2061-2068, 2005.
- Amano T, Matsubara T, Izawa H, Torigoe M, Yoshida T, Hamaguchi Y, Ishii H, Miura M, Hayashi Y, Ogawa Y, Murohara T: Impact of plasma aldosterone levels for prediction of in-stent restenosis. *Am J Cardiol* 97:785-788, 2006.
- Hirashiki A, Izawa H, Somura F, Obata K, Nishizawa T, Yamada A, Asano H, Ohshima S, Noda A, Iino S, Nagata K, Okumura K, Murohara T, Yokota M: Prognostic value of pacing-induced mechanical alternans in patients with mild to moderate idiopathic dilated cardiomyopathy in sinus rhythm. *J Am Coll Cardiol* 47:1382-1389,

2006.

2) 学会発表

- Izawa H, Nagata K, Obata K, Kato T, Asano H, Ohshima S, Yamada A, Murase Y, Isobe S, Ichihara S, Inden Y, Okumura K, Murohara T, Yokota M: Aldosterone blockade alters intracellular Ca<sup>2+</sup> handling and improves impaired contractile and relaxation reserve in patients with mild dilated cardiomyopathy. The American College of Cardiology, Annual Scientific Session 2005 (Orland, USA/March 6-9, 2005)
- Kobayashi M, Izawa H, Asano H, Obata K, Hirashiki A, Ohshima S, Kato T, Yamada T,

Murase Y, Noda A, Nishizawa T, Nagata K, Isobe S, Inden Y, Murohara T, Yokota M: Contractile reserve revealed by beta1-adrenergic stimulation as a predictor of altered myocardial expression of contractile regulatory proteins in mildly symptomatic patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. American Heart Association, Scientific Sessions 2006 (Chicago, USA/November 12-15, 2006)

H. 知的財産権出願・登録状況  
なし。

## 特発性心筋症に関する調査研究

—心筋線維化と心室リモデリングにおけるテネイシンCの役割と発現調節—

研究協力者： 今中 恭子(三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学准教授)

＜研究要旨＞心筋症は難治性で予後不良であり5年生存率は重篤な“がん疾患”よりも低い。心筋症には特発性拡張型心筋症のほかに肥大型心筋症・拘束型心筋症・ミトコンドリア病(心筋症)・ファブリー病・家族性突然死症候群が生命を脅かす病態として難治性疾患に挙げられている。2次性心筋症も重篤な心不全をきたす疾患群であり、特発性心筋症研究班では心サルコイドーシスを課題として取り上げてきた。これら心筋症の予後については河合班が昭和年に発足以来の課題であり詳細な断面調査が繰り返し行われてきた。心筋症とその重篤な病態としての心不全の診断と治療は日進月歩の進歩がみられ、時代に即応した転帰の把握は重症で難治性の心疾患に欠かせぬ情報である。本研究では、詳細な臨床指標、検査指標のうち、いかなるパラメータが、拡張型心筋症・肥大型心筋症・拘束型心筋症・ミトコンドリア病(心筋症)・ファブリー病・家族性突然死症候群の予後規定因子になるのかを前向きに多施設で検討するとともに、心筋症の病態・治療・疫学に関し研究を行う。

## A. 研究の目的

テネイシンCは、正常な心臓には発現しないが、病的な心臓で組織障害と活動性炎症に伴って、特異的に一過性に発現する。我々は、この性質を利用して、心筋生検組織診断、モノクローナル抗体を用いた心筋イメージングや、ELISA法によるテネイシンC測定系を開発し、心筋組織中の病変活動性のマーカーとする拡張型心筋症病態診断応用の可能性について検討してきた。特にELISA法により実際臨床の場で患者血中濃度を測定することが可能になり、拡張型心筋症患者の血中テネイシンCは正常より高く、そのレベルは心不全の重症度と相関することが明らかになった。その一方、これまでのin vitroの実験結果から病態診断の指標になるだけでなく、心筋組織リモデリングを制御することが理論的に予想される。実際、心筋梗塞後急性期に血中テネイシンC濃度の高い患者は、慢性期に心室リモデリングをおこすリスクが高い。さらに、最近我々は、拡張型心機能患者についても、同様な結果を得た。しかし、心不全が心筋でのテネイシンCの高発現状態を惹起しているのか、あるいは逆に何らかのメカニズムにより発現誘導されたテネイシンCが線維化など心筋組織構築を改変し心室リモデリングをひきおこすのか、もしそうなら、どのような分子メカニズムを介するのかは未だ明らかでない。

本研究では、野性型マウス、テネイシンC欠損マウスおよびテネイシンC過剰発現マウスを用い、アンジオテンシンII負荷心臓線維化モデル、心筋梗塞モデルを作成し、線維化および心室リモデリングにおけるテネイシンCの機能、およびその発現制御機構を解明することを目的とした。

## B. 研究方法

## 1) 反応型心臓線維化マウスモデルの作成

BALB/C系メス7週令の野性型およびテネイシンノックアウトマウスの背部皮下に浸透圧ポンプを用いてアンジオテンシンIIを持続的に投与し、軽症高血圧反応型線維化モデルを作製し、組織染色による画像解析、免疫組織化学、in situ hybridization、RT-PCRにより解析した。

## 2) 心筋梗塞モデルの作成

BALB/C系オス10週令の野性型およびテネイシンノックアウトマウスの冠動脈を永久結紮して心筋梗塞モデルを作製し、28日後の心エコー、血行動態、生存率、組織学的変化を比較した。

## 3) 心臓特異的テネイシンC過剰発現トランスジェニックマウスを用いた解析

CAGプロモーターとマウステネイシンC遺伝子の間にloxではさんだstopを挿入したトランスジェニックマウスを作成した。このマウスとNkx2.5 Cre-マウス、 $\alpha$ -smooth muscle actin プロモーターCrePRIマウス、 $\alpha$ -myosin heavy chain( $\alpha$ MHC)プロモーターCrePRIマウス(inducible  $\alpha$ MHC-Cre)とそれぞれ交配し、心臓でのテネイシンCを過剰発現させることを試み、発現状況を免疫組織化学、Western Blottingで確認した。

## (倫理面への配慮)

動物実験は、三重大学動物実験委員会で承認されたプロトコールに従って行った。

## C. 研究結果

## 1-1) 反応型線維化病変進展におけるテネイシンCの関与

野性型マウスを用いた我々のモデルでは、心筋細胞の脱落はみられないが、コラーゲンI, IIIのmRNAレベルの2倍程度の有意な上昇、心筋内血管

周囲に明らかな膠原線維の増加がみられる。テネイシンCのmRNAレベルはコントロールの10倍程度に著明に上昇し、免疫組織学的に、分子が血管周囲の線維化病巣部に沈着していることが明らかに認められた。in situ hybridizationにより、産生細胞は、血管の周囲に存在する線維芽細胞であることが明らかになった。また、血管周囲病変部にはMac3陽性マクロファージの集簇、PDGF-A、-Bの産生亢進が見られ、周囲間質細胞のPDGF受容体 $\alpha$ の発現が亢進していた。心筋中のIL-1 $\beta$ 遺伝子発現には変化が見られなかったが、TGF $\beta$ のmRNAの明らかな上昇が認められた。テネイシンCノックアウトマウスでは、アンジオテンシンIIに対する血圧反応性、心筋肥大の程度には野性型と有意差は見られなかったが、線維化病巣の形成が有意に抑制され、プロテオグリカンの沈着、マクロファージの集簇がすくなく、PDGF-A、-Bの産生も抑制されていた。

#### 1-2) 反応型線維化病変形成過程でのテネイシンC発現制御機構

選択的アルドステロン受容体拮抗薬エプレレノン<sup>®</sup>は、野性型マウスの血圧に影響を及ぼさない量で、アンジオテンシンII負荷によるテネイシンCの発現をおさえ、線維化病変形成を有意に抑制した。マクロファージの集簇、TGF $\beta$ 、PDGF-A、-Bの産生亢進も抑制された。培養系でアンジオテンシンII、TGF $\beta$ 、とくにPDGFは心臓線維芽細胞を刺激し、テネイシンCの発現を著しく促進したが、アルドステロンは心臓線維芽細胞のテネイシンC発現を誘導せず、また、エプレレノンはアンジオテンシンIIによるテネイシンC発現誘導にも影響しなかった。

#### 2) 心筋梗塞後の心室リモデリング、線維化におけるテネイシンCの役割

野性型マウスで心筋梗塞モデルを作成し、免疫組織化学的にテネイシンCの発現を検討すると、テネイシンCは急性期に梗塞巣と健常部の境界に沈着し、1日後には明らかに認められ、5-7日目にもっとも顕著となり14日には減少、28日後にはほぼ消失し、ラットモデルおよびヒト心筋梗塞とよく似た発現様式を示した。テネイシンCノックアウトマウスと野性型マウスでは28日後まで生存率に差は認められず、梗塞巣のサイズにも差を認めなかったが、野性型マウスのほうがテネイシンCノックアウトマウスに比べて、左室拡張終期径、左室収縮終期径、左室拡張終期圧は有意に大きく、左室駆出率も有意に低かった。

#### 3) 心臓特異的テネイシンC過剰発現トランスジェニックマウスの発現に関する検討

我々の作製したトランスジェニックマウスでは、いずれのCreマウスと交配したF1でも、組み替え発現効率に差は見られるが、ほぼ設計通りテネイシンCの発現をWestern Blotおよび免疫組織化学的に確認できた。

## D. 考察

今回の我々の結果により、心臓の反応型線維化病巣の形成にテネイシンCが関与し促進的に働いている明らかになった。その過程でアルドステロンを介して惹起される血管周囲の炎症、特にマクロファージの浸潤が重要であり、それによって産生されたPDGF-A、-Bが血管周囲の線維芽細胞のPDGF受容体 $\alpha$ を介してテネイシンCの産生を促進し、テネイシンCはさらにマクロファージ浸潤を促進することによりその炎症反応を増強すると考えられた。また、テネイシンCはコラーゲン線維形成の前段階である筋線維芽細胞の動員、プロテオグリカンPG-M/versicanの沈着を促進すると考えられる。

また、テネイシンCノックアウトマウスでは心室リモデリングをおこしにくく、血中テネイシンCレベルの高い患者で心室リモデリングをおこしやすいというヒト臨床データを実験的に裏付けるとともに、テネイシンCが心筋を構成する細胞に作用して結果的に心室リモデリングを増悪させていることを示唆した。さらに、Cre-Lox系を用いてマウスの心臓に発現時期および発現場所を変えてテネイシンCを過剰発現させることに成功し、現在のところ、テネイシンCを心臓過剰発現すると、心肥大と間質膠原線維の増加が見られるという予備的な結果を得ており、心臓の構築変化にテネイシンCが何らかの重要な役割を演じていることは明らかであり、今後の詳細な解析が待たれる。

## E. 結論

心臓の線維化、心室リモデリングの進展でテネイシンCが促進因子として重要な役割を演じることが明らかになり、これらの進展防止のための治療標的分子となると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1) 論文発表・学会発表)

- Nishioka T, Suzuki M, Onishi K, Takakura N, Inada H, Yoshida T, Hiroe M, and Imanaka-Yoshida K: Eplerenone attenuates myocardial fibrosis in the angiotensin II induced hypertensive mouse; involvement of tenascin-C induced by aldosterone-mediated inflammation. J Cardiovasc Pharmacol, 2007 (in press).
- Terasaki F, Okamoto H, Onishi K, Sato A, Shimomura H, Tsukada B, Imanaka-Yoshida K, Hiroe M, Yoshida T, Kitaura Y, Kitabatake A, Study Group for Intractable Diseases by a Grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan: Higher serum tenascin-C levels reflect the severity of heart failure, left ventricular dysfunction and remodeling in patients with dilated

cardiomyopathy. *Circ J*, 2007 (in press).

- Sato A, Aonuma K, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Isobe M, Kawase D, Kinoshita N, Yazaki Y, Hiroe M: Serum tenascin-C might be a novel predictor of left ventricular remodeling and prognosis after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 47:2319-2325, 2006.
- Hayashi M, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Wood M, Fearn C, Tataka RJ, Lee JD: A crucial role of mitochondrial Hsp40 in preventing dilated cardiomyopathy. *Nat Med* 12:128-132, 2006.
- Watanabe N, Nakagawa M, Hanato T, Takeuchi Y, Hara M, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K: In vitro model for mouse coronary vasculogenesis. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 288:714-722, 2006.
- Nakahara H, Gabazza EC, Fujimoto H, Nishii Y, D'Alessandro-Gabazza CN, Bruno NE, Takagi T, Hayashi T, Maruyama J, Maruyama K, Imanaka-Yoshida K, Suzuki K, Yoshida T, Adachi Y, Taguchi

O: Deficiency of tenascin C attenuates allergen-induced bronchial asthma in the mouse. *Eur J Immunol* 36:3334-3345, 2006.

## 2)学会発表

- Tsukada B, Terasaki F, Shimomura H, Otsuka K, Katashima T, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Hiroe M, Kitaura Y: Tenascin-C is a novel marker of ongoing inflammation in idiopathic dilated cardiomyopathy. The American Heart Association Scientific Session (Chicago, USA/November 12-15, 2006)
- Nishioka M, Suzuki M, Nagaharu K, Sekimoto A, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K: Tenascin-C promotes myocardial fibrosis by recruiting macrophages in mouse hypertensive heart. The American Society for Cell Biology 46th Annual Meeting (San Diego, USA/December 9-13, 2006)

H. 知的財産権出願・登録状況  
なし。

## 特発性心筋症に関する調査研究

—心臓サルコイドーシスにおける<sup>18</sup>F-FDG PETの有用性と問題点—

研究協力者： 北浦 泰(大阪医科大学内科学Ⅲ教授)

＜研究要旨＞心筋症は難治性で予後不良であり5年生存率は重篤な“がん疾患”よりも低い。心筋症には特発性拡張型心筋症のほか肥大型心筋症・拘束型心筋症・ミトコンドリア病(心筋症)・ファブリー病・家族性突然死症候群が生命を脅かす病態として難治性疾患に挙げられている。2次性心筋症も重篤な心不全をきたす疾患群であり、特発性心筋症研究班では心サルコイドーシスを課題として取り上げてきた。これら心筋症の予後については河合班が昭和年に発足以来の課題であり詳細な断面調査が繰り返して行われてきた。心筋症とその重篤な病態としての心不全の診断と治療は日進月歩の進歩がみられ、時代に即応した転帰の把握は重症で難治性の心疾患に欠かせぬ情報である。本研究では、詳細な臨床指標、検査指標のうち、いかなるパラメータが、拡張型心筋症・肥大型心筋症・拘束型心筋症・ミトコンドリア病(心筋症)・ファブリー病・家族性突然死症候群の予後規定因子になるのかを前向きに多施設で検討するとともに、心筋症の病態・治療・疫学に関し研究を行う。

### A. 研究目的

サルコイドーシス(サ症)は非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を特徴とする全身性疾患で、一般に予後は良好である。しかし、心病変を有する心臓サルコイドーシス(心サ症)は例外で、心不全や致死性不整脈による突然死をきたす予後不良例が多く、サ症の死因の3分の2以上を占めている。従って、心病変の存在の有無はサ症の予後を左右する重要な規定因子といえる。治療に関して、サ症同様心サ症もステロイド治療が有効であり、早期に心サ症を診断しステロイド治療を開始することが予後の改善につながると考えられる。

心サ症の診断は、心内膜心筋生検にて特徴的な病理組織所見を得ることにより確定するが、確定診断を得るのは全体の約20%と報告されている。臨床的には、「サルコイドーシスの診断基準と診断の手引き」<sup>1)</sup>に従い総合的に診断を行う。手引きのなかにも記載されているごとく、心サ症診断のための検査として心エコー検査やthallium-201 chloride、Tc-99m methoxyisobutylisonitrile、Tc-99m tetrofosmin、およびGallium-67 citrateシンチグラムなどの心臓核医学が有用であるが、いずれの検査も感度や特異度の点で診断に十分とは言えず、より良い非侵襲的検査が望まれる。

近年、新しい核医学検査として、<sup>18</sup>F-fluoro-2-deoxyglucose (FDG) positron emission tomography (PET)が、てんかん、虚血性心疾患、悪性腫瘍などに対して保険適応になったことから、臨床応用が増加し急速に普及している。<sup>18</sup>F-FDG-PETは悪性腫瘍のみならず活動性炎症にも高い異常集積を示すと考えられ、心サ症においてもその診断に役立つ可能性がある。本研究の目的は心サ症における同検査の有用性と現状での問題点を検討することである。

### B. 研究方法

被検者を5時間以上の絶食後、血糖値を測定し、施設内に設置されている小型サイクロトロンにて生成した<sup>18</sup>F-FDG 37MBq/kgを静注して、Siemens社製PET-CT装置Biograph2にて1時間後に90秒間で全身のCTを撮影し、3次元収集による14分間のPETスキャンを行った。CTにより吸収補正を行い2.5mm間隔の体軸横断像を得た。健常者の正常心における<sup>18</sup>F-FDG心筋長軸断層像を用いて、PET-CT融合画像を参照し心筋全体にROIを設定し、standardized uptake value (SUV)を算出した。正常のmean+2SD以上を示す部位を異常高集積とし、心サ症患者の心臓およびリンパ節のFDG集積を解析した。

### C. 研究結果

以下に症例の一部を呈示する。

#### 1) 症例 1

45歳 男性。1998年、完全房室ブロックに対し恒久ペースメーカー植え込み術をうけた。その後、とくに胸部症状なく経過していたが、2006年10月より労作時呼吸困難、全身倦怠感を自覚するようになり、胸部レントゲン検査で心拡大、肺うっ血、胸水貯留を認めた。心エコー検査では著明な左室拡大[左室拡張末期径(Dd)80mm/左室収縮末期径(Ds)72mm]、びまん性の壁運動低下[左室駆出率(EF)=21%]、高度の僧帽弁逆流を認めた。<sup>67</sup>Gaシンチグラム検査では心臓、縦隔、肺門部に異常集積を認めなかった。血中ACE濃度は15.8IU/Lと基準値内であった。冠動脈造影では冠動脈に有意狭窄は認めず。生検心筋組織像は非特異的炎症所見であり心サ症の確定に至らなかった。一方、<sup>18</sup>F-FDG PETでは左室および縦隔リンパ節に高度異常集積を認めた。心不全が内科的治療のみでは限界とな



り、左室縮小形成術(SAVE術)および僧帽弁輪縫縮術が施行された。手術時に摘出した心筋組織に非乾酪性類上皮細胞性肉芽腫を認め心サ症と確定診断され術後よりステロイド治療を開始した。6ヵ月後の<sup>18</sup>F-FDG PETでは左室の異常集積の減少と縦隔リンパ節の異常集積の消失を認め、心不全症状が改善し順調に経過している。

## 2) 症例 2

54歳 女性。生来健康であった。2003年に職場健診にて心電図異常(詳細不明)を指摘されたが無症状であったため放置していた。2006年7月に意識消失発作を2回きたし心電図で高度房室ブロックを認めた。心エコー検査では軽度左室拡大とびまん性壁運動低下(とくに前壁中隔が著明、Dd 53mm/Ds 39mm、EF 51%)、を認めた。冠動脈造影は正常冠動脈であり、心筋生検ではサ症に特異的な所見は認めなかった。血中ACE濃度は19.9 IU/Lと基準値内であった。本症例の<sup>18</sup>F-FDG PETでは、左室、右鎖骨上窩、右鎖骨下、縦隔リンパ節に異常集積を認めた。右鎖骨上窩リンパ節の生検により非乾酪性類上皮細胞性肉芽腫を認め、サ症と確定診断しステロイド治療を開始した。ステロイド治療により心機能が改善し順調に経過している。

## 3) 症例 3

67歳 女性。2000年、他院にて眼サルコイドーシス、両側肺門リンパ節腫脹を指摘されており、心臓精査のため2005年2月紹介受診した。心エコー検査で心室中隔の一部に壁の菲薄化が認められた。心筋Tc-MIBIシンチグラムでは異常所見はなかった。全身Gaシンチグラムでは右上縦隔、右下肺野、肺門部に異常集積を認めたが心臓には集積を認めなかった。外来で経過観察されていたが、2006年9月より心電図で右脚ブロックが出現した。<sup>18</sup>F-FDG PETを施行したところ、縦隔リンパ節、右室および左室に高度の異常集積像を認めた。2006年10月心臓カテーテル検査を施行し冠動脈に異常を認めなかった。<sup>18</sup>F-FDG PETで高度集積を認めた右室から心筋生検を施行した。組織所見では非乾酪性類上皮細胞性肉芽腫を認め心サ症と確定診断された。ステロイド治療を開始し順調に経過している。

## D. 考察

### 1) 心サ症における<sup>18</sup>F-FDG PETの有用性

近年、心サ症における<sup>18</sup>F-FDG PETの有用性を示唆する報告がある。感度、特異度についてIshimaruらは感度100%、特異度81.5%と報告し<sup>2)</sup>、またOkumuraらは感度100%、特異度95.5%と報告している<sup>3)</sup>。症例1および症例2は心筋にサルコイド病変が証明されず特発性拡張型心筋症との鑑別に苦慮した症例であるが、このような症例においても左室や縦隔リンパ節、鎖骨上窩リンパ節などに異常集積を認め、心サ症の診断過程に大きく貢献した。また、症例1ではステロイド治療後に縦隔リンパ

節の異常集積が消失し、左室の異常集積も減少傾向を認めたことから、治療効果の判定に役立つ可能性が示唆された。Yamagishiらも7人の心サ症患者にステロイド治療を行い、治療前と治療後1ヶ月の<sup>18</sup>F-FDG PETを比較したところ、5人の患者で異常集積部の大きさ、集積度ともに減少傾向を認め、残る2人は完全に異常集積が消失したと報告している<sup>4)</sup>。症例2および症例3では異常集積を認めた鎖骨上窩リンパ節や右室を生検することにより、サルコイド病変が証明された。このように<sup>18</sup>F-FDG PETは心サ症診断のための生検部位の決定や活動性の評価、治療効果の判定などに役立つと考えられる。

### 2) 心サ症における<sup>18</sup>F-FDG PETの問題点

健常人の心臓(特に側壁)にも<sup>18</sup>F-FDG集積を認めることが報告されており、心臓に<sup>18</sup>F-FDG集積を認めた場合、それが異常集積か否かの判定が最も重要で今後の大きな課題である。異常集積をどのように定義するかも議論が分かれており確立された方法がないのが現状である。集積度を表す指標の一つにstandardized uptake value(SUV)が広く用いられており、我々の症例でもSUVを用いて判定した。しかし、このSUVもPET撮像開始時間、血糖値、血中インスリン濃度などのさまざまな要因に左右されることが報告されており注意を要する。Ishimaruらは集積パターンをnone、diffuse、focal、focal on diffuseと分類し、focalおよびfocal on diffuseパターンを心サ症における異常集積としておりSUVを用いていない<sup>2)</sup>。また、同著者らは<sup>18</sup>F-FDG投与前に未分画ヘパリン(50 IU/kg)を投与することで、血中脂肪酸レベルを上昇させ、心筋の生理的<sup>18</sup>F-FDG取り込みを抑制させる工夫なども報告している。今後、このように<sup>18</sup>F-FDG PETの特異性を検討するのみならず感受性についての検討も必要と考えられる。

- 1) サルコイドーシスの診断基準と診断の手引き; 2006要約. サルコイドーシス/肉芽腫性疾患 26: 77-82, 2006.
- 2) Ishimaru S, Tsujino I, Takei T, et al: Focal uptake on <sup>18</sup>F-fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography images indicates cardiac involvement of sarcoidosis. *Eur Heart J* 26:1538-1543, 2005.
- 3) Okumura W, Iwasaki T, Toyama T, et al: Usefulness of fasting <sup>18</sup>F-FDG PET in identification of cardiac sarcoidosis. *J Nucl Med* 45:1989-1998, 2004.
- 4) Yamagishi H, Shirai N, Takagi M, et al: Identification of cardiac sarcoidosis with <sup>13</sup>N-NH<sub>3</sub>/<sup>18</sup>F-FDG PET. *J Nucl Med* 44:1030-1036, 2003.

## E. 結論

<sup>18</sup>F-FDG PETはサ症の検出に優れ、心サ症においても活動性病変の存在や広がりや診断、治療効果の判定に有用であると考えられる。ただし、心臓に関しては異常集積の判定基準の確立が今後の重要課題である。

F. 健康危機情報

なし。

G. 研究発表

1) 論文発表

なし。

2) 学会発表

・第28回心筋生検研究会(大阪/2006年11月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

<研究協力者>

寺崎文生, 大塚 薫(大阪医科大学内科学Ⅲ教室)

林田孝平(武田病院画像診断センター)

## 特発性心筋症に関する調査研究

—心不全における2次性アルドステロン症発症の新しい機序—

研究協力者： 齋藤 能彦(奈良県立医科大学第1内科教授)

＜研究要旨＞心筋症は難治性で予後不良であり5年生存率は重篤な“がん疾患”よりも低い。心筋症には特発性拡張型心筋症のほかに肥大型心筋症・拘束型心筋症・ミトコンドリア病(心筋症)・ファブリー病・家族性突然死症候群が生命を脅かす病態として難治性疾患に挙げられている。2次性心筋症も重篤な心不全をきたす疾患群であり、特発性心筋症研究班では心サルコイドーシスを課題として取り上げてきた。これら心筋症の予後については河合班が昭和年に発足以来の課題であり詳細な断面調査が繰り返し行われてきた。心筋症とその重篤な病態としての心不全の診断と治療は日進月歩の進歩がみられ、時代に即応した転帰の把握は重症で難治性の心疾患に欠かせぬ情報である。本研究では、詳細な臨床指標、検査指標のうち、いかなるパラメータが、拡張型心筋症・肥大型心筋症・拘束型心筋症・ミトコンドリア病(心筋症)・ファブリー病・家族性突然死症候群の予後規定因子になるのかを前向きに多施設で検討するとともに、心筋症の病態・治療・疫学に関し研究を行う。

### A. 研究目的

心不全は、あらゆる心疾患の終末像で、ポンプ失調と致死性不整脈による突然死による致死的重篤な症候群である。この10年間に心不全の発症・進展に交感神経系やレニン・アンジオテンシン・アルドステロン(RAAS)系の過度の賦活化が悪循環を惹起することが証明され、それらの抑制薬による治療法が確立し予後は飛躍的に改善してきている。しかしながら、アンジオテンシンIIの役割に比べるとアルドステロンに関する研究は、Rales研究以後多くの研究が遂行されるようになり、アルドステロンの心不全発症における意義やアルドステロン拮抗薬の治療効果の機序が注目されている。

我々は、以前よりANP系の心不全の意義を研究してきたが、BNP遺伝子が、あらゆるタイプの心不全で例外なくその重症度に比例して発現亢進することから、「BNP遺伝子再発現現象の分子機序の解明は、その基盤に存在する心不全の発症・進行に密接に関係する分子基盤の解明に繋がる」との仮説に基づいて、培養心筋細胞を用いてBNP遺伝子発現亢進の分子機序の解明してきた。その結果、最近極めてユニークなNRSF/NRSE(Neuron Restrictive Silencer Factort/Neuron Restrictive Silencer Element)系という転写調節機序を解明することができた。NRSF/NRSE系の機序を簡単に説明するとNRSFは強力な転写抑制因子でNRSEに結合しNRSE配列を有する遺伝子を強力に転写抑制する。ANPやBNP遺伝子の転写調節領域にはNRSE配列が存在し、正常状態ではNRSFが結合し、ANP, BNP遺伝子を低いレベルに維持しているが、肥大刺激時には詳細は不明であるが、NRSFとNRSEの結合が抑制されることにより、転写抑制が回避されてANP, BNP遺伝子発現が亢進する。さら

に、興味深いことには、NRSE配列はANPやBNPのみならず、多くの胎児型遺伝子と呼ばれている遺伝子の多くに存在していることが明らかになり、NRSF/NRSE系はこれら胎児型遺伝子を統合的に調節する全く新しい転写調節系であることが示唆された(Kuwahara K, et al: Mol Cell Biol, 2001, Ogawa E, et al: Cardiovasc Res, 2002)。

さらに、転写抑制因子であるNRSFのdominant negative変異体の心筋細胞特異的過剰発現マウス( $\alpha$ -MHC-dnNRSF-Tg)を作製すると、興味深いことには拡張型心筋症様の形質を呈し、顕性心不全を呈する前に心室細動で突然死をすることが明らかとなった(Kuwahara: EMBO J 22:6310, 2003)。この様に、NRSF/NRSE系は心不全の発症に深く関与している可能性が示唆された。このマウスによるNRSFの標的遺伝子を検索する目的で、6週齢のTgマウス左室のmRNAを用いてcDNAアレイを行い野生型マウスと比べ発現亢進している遺伝子を検討したところ、興味深いことに、ANPやBNP遺伝子の他に、ペースメーカー電位に関与しているHCN1、近年心不全での心筋細胞での発現が注目されているT型Caチャンネルの一種であるCav3.2の $\alpha$ サブユニットをコードしているCACNH1Hなどが観察された。このCav3.2は副腎細胞に高濃度に発現していることが知られており、アルドステロン産生・分泌にも関与していることが示唆されている。また、さらにNRSE配列を持つ遺伝子をデータバンクを用いて検索したところ、面白いことには、アルドステロン合成酵素であるCYP11B2のイントロン8からエクソン9にかけてNRSE配列と相同性の高い配列が観察された。

以上の結果から、副腎におけるアルドステロン産生にCaチャンネルと合成酵素遺伝子の双方にNRSE配列が観察されたことにより、本研究では、NRSF/NRSE系が副腎におけるアルドステロン産生への関与

を確認することである。

## B/C. 研究方法・研究結果

1) ヒト副腎腺腫由来細胞株295R細胞を用いた検討  
アルドステロンやコルチゾールの産生機序を検討する上で有用なヒト副腎腺腫由来細胞株295R細胞を用いて検討すると、295R細胞の核蛋白質抽出物中にNRSFの存在することがWestern blot法で確認された。一方細胞室内には検出できなかった。さらに295R細胞の核蛋白質とCYP11B2のNRSE配列よりなるオリゴプローブを用いてゲルシフトアッセイを行うと、フリーのプローブと比べて移動度の異なるシフトバンドを認め、このシフトバンドはNRSFに対する抗体でスーパーシフトすることを観察した。従って、これらの結果より、295R細胞にはNRSFが存在しておりCYP11B2遺伝子のNRSE配列に結合していることが示唆された。

次に、dominant negative NRSFを含有するアデノウイルスベクター(AD/dnNRSF)を295R細胞にトランスフェクションするとCYP11B2 mRNAは定量PCR法によりMOI依存性に発現亢進することが示され、RIAで測定したアルドステロンの分泌量もmRNAと並行して増加することが示され、NRSFがCYP11B2遺伝子の転写を抑制していることが示唆された。

NRSFがCYP11B2遺伝子の転写を抑制していることをさらに検討する目的でCYP11B2遺伝子の5'上流1.5Kbpをクローニングし、ルシフェラーゼ遺伝子の上流にサブクローニングしさらにルシフェラーゼ遺伝子の下流にはCYP11B2遺伝子のNRSE配列を結合させたレポーター遺伝子(CYP11B2/NRSE/Luc)を作製した。同時に対照用にNRSE配列に変異を加えた(CYP11B2/NRSEmt/Luc)とNRSE配列を3'側に結合させていない(CYP11B2/Luc)も作製した。これら3種類のレポーター遺伝子を295R細胞にトランスフェクションすると、予想通りCYP11B2/NRSE/Lucの活性は、CYP11B2/NRSEmt/LucとCYP11B2/Lucの活性の50%に抑制されており、NRSE配列がCYP11B2遺伝子の転写を抑制していることが示唆された。これらのレポーター遺伝子とdnNRSFを同時にトランスフェクションすると、CYP11B2/NRSE/Lucの活性は上昇した。さらに驚いたことには、CYP11B2/NRSEmt/LucやCYP11B2/Lucの活性もdnNRSFの共トランスフェクションによりdnNRSFの非存在下と比べ約2倍増加した。そしてその活性はCYP11B2/NRSE/LucがdnNRSFの存在下に増加した値と同等であった。これらのことから、dnNRSFは直接CYP11B2遺伝子を抑制するほか、CYP11B2遺伝子の転写に関与する別の遺伝子の発現を介して間接的にも転写抑制していることが示唆された。

そこで、NRSFが間接的にCYP11B2遺伝子を抑制する機序を検討する上で、NRSFがCACNA1H遺伝子発

現を抑制することに注目し、Cav3.2の関与の可能性を考えた。確かにAD/dnNRSFをトランスフェクションするとCACNA1H遺伝子は発現亢進することが295R細胞で確認された。さらに、AD/dnNRSFによって増加したCYP11B2遺伝子の発現亢進はCav3.2のブロックであるefonidipineで抑制された。

アルドステロンの刺激薬であるアンジオテンシンIIやカリウムによるCYP11B2遺伝子発現の亢進にNRSF/NRSE系が関与しているか否かを検討すると、AD/dnNRSF存在下ではアンジオテンシンIIやカリウムによるCYP11B2の遺伝子発現亢進が有意に抑制された。

## D. 考察

以上の結果より、心不全ではNRSF/NRSE系は心臓ではANPやBNPの胎児型遺伝子再発現現象に関与するだけでなく、副腎に置いてRASの活性に伴うアルドステロンの合成・分泌亢進にも関与していることが示唆された。

## E. 健康危機情報

なし。

## F. 研究発表

### 1) 論文発表

- Iwama H, Naya N, Imagawa K, Takemoto Y, Asai O, Onoue K, Okayama S, Somekawa S, Kida Y, Takeda Y, Takaoka H, Kawata M, Horii M, Nakajima T, Doi N and Saito Y: Cardiac expression of placental growth factor predicts the improvement of chronic phase left ventricular function in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 47:1559-1567, 2006.
- Takaoka M, Uemura S, Kawata H, Imagawa K, Takeda Y, Nakatani K, Naya N, Horii M, Yamano S, Miyamoto Y, Yoshimasa Y, and Saito Y: Inflammatory response to acute myocardial infarction augments neointimal hyperplasia after vascular injury in a remote artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26:2083-2089, 2006.
- Imagawa K, Okayama S, Takaoka M, Kawata H, Naya N, Nakajima T, Horii M, Uemura S and Saito Y: Inhibitory effect of efonidipine on aldosterone synthesis and secretion in human adrenocarcinoma (H295R) cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 47:133-138, 2006.
- Watanabe M, Uemura S, Iwama H, Okayama S, Takeda Y, Kawata H, Horii M, Nakajima T, Hirohashi S, Kichikawa K, Ookura A, Saito Y: Usefulness of 16-slice multislice spiral computed tomography for follow-up study of coronary stent implantation. *Circ J* 70:691-697, 2006.
- Okayama S, Imagawa K, Noriyuki N, Iwama H,

- Somekawa S, Kawata H, Horii M, Nakajima T, Uemura S, Saito Y: Blocking T-type Ca<sup>2+</sup> channels with efonidipine decreased plasma aldosterone concentration in healthy volunteers: *Hypertens Res* 29:493-497, 2006.
- Nakagawa Y, Kuwahara K, Harada M, Takahashi N, Yasuno S, Adachi Y, Kawakami R, Nakanishi M, Tanimoto K, Usami S, Kinoshita H, Saito Y, Nakao K: Class II HDACs mediate CaMK-dependent signaling to NRSF in ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 41:1010-1022, 2006.

## 2)学会発表

- Somekawa S, Imagawa K, Naya N, Uemura S, Saito Y: Novel mechanism of aldosterone synthesis: critical role of the transcriptional repressor NRSF System in Aldosterone Synthesis in Human Adrenocortical Cells (H295R). American Heart Association Scientific Session 2006 (Chicago, USA/ November 12-15, 2006).

G. 知的財産権出願・登録状況  
なし。

特発性心筋症に関する調査研究

—住民健康診断における新しいバイオマーカーによる心機能障害の早期発見に関する臨床研究—

＜奥出雲臨床研究第3報＞

研究協力者： 島田 俊夫(島根大学医学部附属病院循環器内科診療教授・科長)

＜研究要旨＞我が国はこれまで世界が経験したことがない高齢化社会をむかえている。その中でも島根県は過疎化と高齢化の嵐の中で高齢者に依存した労働力を確保せざるを得ない状況である。高齢者の健康を維持していくことが高齢化社会の中で課せられた重要なテーマと考えている。新しいバイオマーカーである血清NT-proBNPを用い1545名の基本健康診断受診者から180名の志願者を募り、心エコー図と比較検討することにより血清NT-proBNPと左室拡張不全の関連性につき検討した。血清NT-proBNPは血漿BNPと同様に左室拡張不全のスクリーニングに有用なマーカーであるのみならず血漿BNPよりも安定しているため多数の対象者を一機に扱う健康診断のようなマススクリーニングにはより適していると考えられた。

A. 研究目的

奥出雲地域の住民健康診断に循環器疾患のための早期発見プログラムを組み込み基本健康診断に血清NT-proBNP、高感度CRP、HCV抗体らのバイオマーカーを循環器疾患の早期発見、特に左室拡張障害のスクリーニングの目的に使用できるか否か検討した。血圧は全例同機種(オムロン)の自動血圧計により測定した。最近クローズアップされているメタボリック症候群評価の目的で腹囲測定も併せて行なった。

B. 研究方法

地域健康診断受診者1545名の一部をボランティアとして募り180名を心エコー図の評価の対象として選択した。今回の発表は前回血漿BNPでの検討に引き続いて行った新しいバイオマーカーであるNT-proBNPと心エコー図の比較から一般住民健康診断での左室拡張機能障害につき検討を新たに行ったので続報として報告する。心エコー図の左室拡張障害の診断基準、対象者の臨床の背景は図

1-3に示す。NT-proBNPは-30℃で保存しRocheのエクルーシスを用い化学発光法にて測定した。心エコーはGE社製のVivid Iにて左側臥位にて行なった。

(倫理面への配慮)

参加者全員に事前に循環器健康診断の意味を説明するためにパンフレットをお配りし、その趣旨に賛同していただける方から同意書をいただき個人情報管理には細心の配慮を行なった。

To evaluate the relationship between diastolic LV function and plasma NT-pro-BNP level

Mass Screening Participants undergoing Doppler UCG (n=180)

Normal (N) group  
E/A>1.0  
Deceleration time (Dct) of E wave 150~250ms  
Augmented Atrial contraction (A) group  
E/A<1.0, Dct 150~250ms  
Impaired Diastolic Dysfunction (D) group  
E/A<1.0, Dct >250ms

図2. Methods

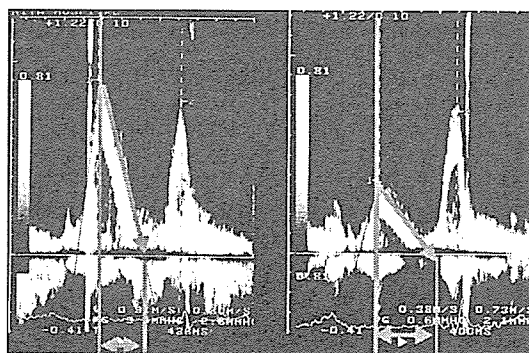
One hundred and eighty persons who attended to annual health screening were studied. Clinical profiles of these were shown below.

Clinical Characteristics

n	180	Subjects with Medical Treatment	
age	62	hypertension	14
BMI(kg/m2)	22	hyperlipidemia	9
SBP(mmHg)	132	diabetes(diet+medication)	5
GFR(ml/m)*	90	Old myocardial infarction	0
T Cholesterol(mg/dl)	209	Atrial fibrillation	0
Triglycelyde(mg/dl)	97		
HDL (mg/dl)	67		
Glycohemoglobin(%)	5		
plasma NT-pro-BNP (ng/ml)**	48		

\* Cockcroft-Gault formula Mean values are shown except NT-pro-BNP (median)

図1. Study Subjects



Mechanism of Altered Patterns of Left Ventricular Filling During the Development of Congestive Heart Failure (Ohno M, et al. Circulation 1994; 89: 2241)

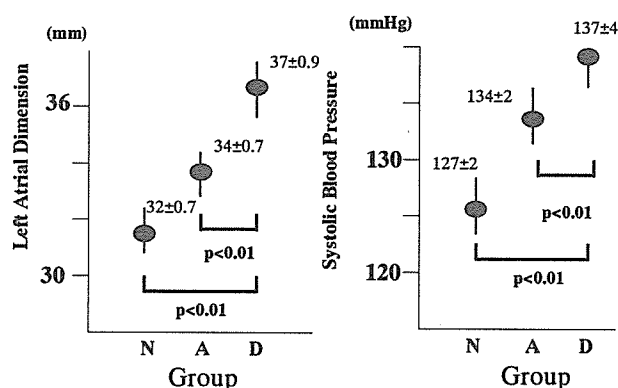
図3. Deceleration Time as a Parameter of Diastolic Ventricular Stiffness

### C. 結果

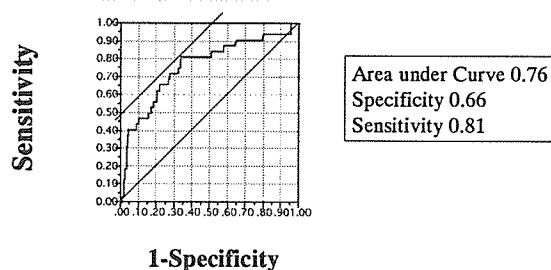
高血圧、糖尿病、高脂血症、肥満、腎不全、貧血、心疾患の家族歴を全て認めない、いわゆる健康症例は1545名中235名で約15%であった1543名の血漿BNPレベルと年齢の関係を検討してみると加齢により緩徐ではあるが40歳未満では10.2pg/mlであったレベルが80歳以上の年齢では44.2pg/mlと明らかな高値を示した。血圧と血漿BNPのレベルを同様に見てみると血圧120mmHg未満では17.5pg/mlであったが血圧160mmHg以上では27.3pg/mlと明らかな高値を示した。危険因子を全く持たない群(235名)での血漿BNP、血清NT-proBNPレベルはそれぞれ15, 45pg/mlで少なくとも一つの危険因子を有する群(1310名)のレベルはそれぞれ23, 66pg/mlであり、有意に危険因子を有する群で高値を示した。心筋傷害を有する者(cTnT $\geq$ 0.02ng/ml)は1545名中15名(1%)に認めた。HCV抗体陽性は1545名中38名(2.5%)に認められた。血漿BNPと血清NT-proBNPが同時に採血できた症例1367名で両者の単相関を解析してみるとR=0.9の非常に高い正の相関を認めた。ボランティア186名中血漿BNPが約20pg/mlを超える者が66名で超えない者が120名でそのうち僧帽弁血流波形から計測されたDCT $\leq$ 250msecかつE/A $<$ 1未満の左室拡張障害は40名に認められ、そのうち32名はBNPが20pg/ml(80%)以上で、拡張機能障害を持たなかった146名中34名がBNPが20pg/ml(23%)以上であった。血漿BNPに

よる左室拡張障害のカットオフ値、感度、特異度をROC曲線を用いて解析するとそれぞれ19.3pg/ml、0.800、0.767で統計上有意であった。全症例に対して血漿BNPのカットオフ値を用い多変量ロジスチック回帰分析を年齢、性別、収縮期血圧、BMI、HbA1c、高感度CRP、Hb、総コレステロール、血清クレアチニン、中性脂肪、cTnT、体温を組み込んだモデルで検討すると年齢、Hb、総コレステロールが有意な因子として残った。今回のNT-proBNPと心エコー図による検討例での血清NT-proBNPの値は対数変換により計算した値を通常の表記に戻し表記すると正常群(N)44.2 $\pm$ 1.12、境界群(A)51.9 $\pm$ 1.08、拡張機能障害群(D)80.6 $\pm$ 1.15pg/mlであった。正常に比し他の2群ではいずれも統計上有意に高値であった。また左房径、収縮期血圧は他の2群に比し左室拡張不全群でいずれも統計有意に高値を示した(N vs D:32 $\pm$ 0.7 vs 37 $\pm$ 0.9mm, A vs D:34 $\pm$ 0.7 vs 37 $\pm$ 0.9)、(N vs D:127 $\pm$ 2 vs 137 $\pm$ 4mm, A vs D:134 $\pm$ 2 vs 137 $\pm$ 4mmHg)。左室重量係数に関してはD群でN群に比しp $<$ 0.01で統計上有意に大きかった(N vs D:90 $\pm$ 3 vs 108 $\pm$ 6g)。左室拡張障害に関してNT-proBNPを用いてROC曲線を描いてみると57pg/mlがcutoff値となった。このcutoff値を用いて多変量ロジスチック回帰分析を行うとGFR, DCT, LA径が有意な因子として選択された。この検討の結果16%が左室拡張機能障害を持つと判断された(図4・5)。

(1) Systolic Blood Pressure, Left Atrial Dimension vs Diastolic Dysfunction

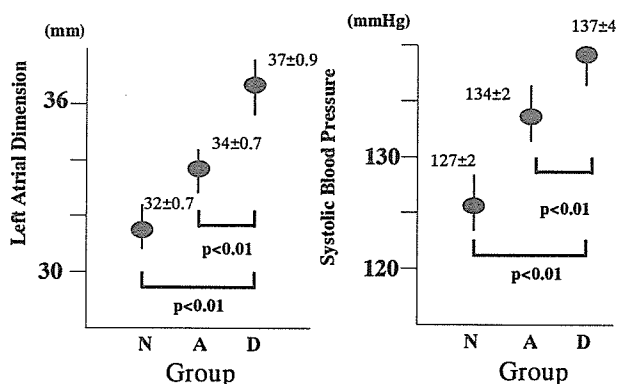


(3) ROC curve of NT-pro-BNP for Diastolic dysfunction



Discrimination Value of NT-pro-BNP is 57 pg/ml.

(2) Systolic Blood Pressure, Left Atrial Dimension vs Diastolic Dysfunction



(4) Diastolic Dysfunction and Clinical, Functional Parameters

Twenty eight(16%) Persons showed diastolic dysfunction		
Parameters	Diastolic dysfunction(+)	Diastolic dysfunction (-)
log NT-proBNP	4.49 $\pm$ 0.78**	3.84 $\pm$ 0.83
Age	66 $\pm$ 5**	62 $\pm$ 6
Hemoglobin	13.7 $\pm$ 1.2	13.1 $\pm$ 1.3
GFR	80 $\pm$ 26	81 $\pm$ 21
SBP	138 $\pm$ 20*	130 $\pm$ 18
LA dimension	37 $\pm$ 0.9**	33 $\pm$ 0.5
BMI	23 $\pm$ 3	22 $\pm$ 2
E/A	0.73 $\pm$ 0.18**	1.04 $\pm$ 0.36
%FS	0.37 $\pm$ 0.09	0.39 $\pm$ 0.08
Deceleration Time	284 $\pm$ 35**	202 $\pm$ 28
LVMI	108 $\pm$ 27**	93 $\pm$ 23

univariate Logistic Regression Analysis lnNT-pro-BNP  
p=0.0008

図4. Results

NT-pro-BNP is a sensitive biomarker of cardiac dysfunction.

Increasing level of NT-pro-BNP associated with Age and LV mass is partly reflecting Diastolic Ventricular Dysfunction in asymptomatic persons in the community.

## 図5. Conclusion

血漿BNPと血清NT-proBNPの約20,57pg/mlのカットオフ値を用いるとそれぞれ54%、51%での割合でカットオフ値を超える症例が認められた。

### D. 考察

高齢化社会の中でその医療費の増大は計り知れない状況である。高齢者の健康管理の質を高めることによりその増大を抑止するためには循環器疾患の早期発見が必要不可欠である。このためには労力の少ない形で質の高いマススクリーニングが必要である。この目的に新しいバイオマーカーである血清NT-proBNPを用いて心エコー図法と比較検討した結果測定の実用性と左室拡張障害の評価力の観点からも優れた循環器疾患のスクリーニングツールとして使用できると思われた。今後はこのバイオマーカーの導入による循環器疾患の早期スクリーニングに期待したい。

### E. 結論

血漿BNP同様に血清NT-proBNPは住民健康診断において簡易で有用な心臓の異常、特に拡張期障害スクリーニングのための有用なマーカーと考えられた。今後は経年的に血管イベントの追跡調査を併せ行なうことが重要と考えられる。さらに、今後は観察のみならず積極的薬物介入試験も必要と考えられる。

### F. 健康危険情報

なし。

### G. 研究発表

#### 1) 論文発表

- Takahashi N, Shimada T, Ishibashi Y, Sugamori T, Hirano Y, Sakane T, Sato H, Yoshitomi H, Oyake N, Murakami Y: Transient elevation of serum tumor markers in a patient with hypothyroidism. *Am J Med Sci*, 2006 (in press).
- Takahashi N, Shimada T, Ishibashi Y, Sato H, Sakane T, Yoshitomi H, Oyake N, Murakami Y: Cardiac involvement in Kugelberg-Welander Disease: a case report and review. *Am J Med Sci*. 332:354-356, 2006.
- Matsumori A, Shimada T, Chapman NM,

Tracy SM, Mason JW: Myocarditis and heart failure Associated with hepatitis C virus infection. *Journal of Cardiac Failure* 12:293-298, 2006.

- Fujiwaki T, Tasaka M, Takahashi N, Kobayashi H, Murakami Y, Shimada T, Yamaguchi S: Quantitative evaluation of sphingolipids using delayed extraction matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry with sphingosylphosphorylcholine as an internal standard. Practical application to cardiac valves from a patient with Fabry disease. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 17:832:97-102, 2006.

#### 2) 学会発表

- 島田俊夫(司会), 村上 陽(発表): Clinical significance of plasma brain natriuretic peptide as a biomarker for mass screening of asymptomatic left ventricular dysfunction. 第70回記念日本循環器学会総会・学術集会(バイオケミカルマーカーからみた循環器疾患の診断と新しい方向性)(名古屋/2006年3月24-26日)
- 小谷暢啓, 村上 陽, 吉富裕之, 落合康一, 佐藤秀俊, 坂根健志, 高橋伸幸, 菅森峰, 平野能文, 公受伸之, 石橋 豊, 島田俊夫: 循環器集団検診における血漿利尿ペプチド測定意義についての検討. 第54回日本心臓病学会学術集会(鹿児島/平成18年9月25-27日)
- 島田俊夫, 村上 陽, 吉富裕之, 小谷暢啓, 公受伸之, 佐藤秀俊, 坂根健志, 高橋伸幸, 平野能文, 菅森 峰, 徳丸 睦, 若林景子, 石橋豊: 10年にわたる追跡調査に基づく透析前血漿ANPと透析後血漿ANPによる生命予後評価. 第54回日本心臓病学会学術集会(鹿児島/平成18年9月25-27日)
- 島田俊夫, 村上 陽, 吉富裕之, 小谷暢啓, 公受伸之, 佐藤秀俊, 坂根健志, 高橋伸幸, 平野能文, 菅森 峰, 徳丸 睦, 若林景子, 石橋豊: 奥出雲コーホート研究における利尿ペプチドの心血管疾患スクリーニングにおける意義とそれに影響する因子に関する横断研究第54回日本心臓病学会学術集会(鹿児島/平成18年9月25-27日)
- Murakami Y, Shimada T, Ishibashi Y, Oyake N, Sato H, Yoshitomi H, Sakane T, Takahashi N, Hirano Y, Sugamori T: Clinical significance of patient evaluation with plasma brain natriuretic peptide and cardiac troponin T in elderly aortic valvular stenosis. 第10回日本心不全学会学術集会(東京/平成18年10月13-15日)
- Murakami Y, Shimada T, Ishibashi Y, Oyake N, Yoshitomi H, Kotani N, Takahashi N, Hirano Y, Sugamori T, Tokumaru A: Clinical usefulness of brain natriuretic peptide and T terminal proBNP in screening subclinical cardiac



abnormalities in asymptomatic subjects. 第10回日本心不全学会学術集会(東京/平成18年10月13-15日)

- ・島田俊夫：ナトリウム利尿ペプチド(BNPとNTproBNP)の新しい展開。第10回日本心不全学会学術集会(イブニングセミナー)(東京/平成18年10月13-15日)
- ・島田俊夫(教育セミナー)：心不全管理における心筋障害マーカーの活用法。第10回日本心不全学会学術集会(教育セミナー)(東京/平成18年10月13-15日)
- ・島田俊夫, 村上 陽, 吉富裕之, 小谷暢啓, 公受伸之, 佐藤秀俊, 坂根健志, 高橋伸幸, 平野能文, 菅森 峰, 徳丸 睦, 國澤良嗣, 若林景子, 安達和子, 石橋 豊：一般住民健康診断受診者を対象とした血漿脳性利尿ペプチド(BNP)と血清 NT-proBNP に影響を与える諸因子の検討(奥出雲臨床疫学研究)。第1回NT-proBNP研究会(シンポジウム)(東京/平成18年10月14日)
- ・Shimada T: Cross sectional data analysis by

natriuretic peptides, BNP and NT-proBNP for mass screening of cardiovascular diseases in general population. The 2nd China-Japan Cardiovascular Forum (CJCF)(Symposium)(Beijing, China/November 4, 2006)

- ・Oyake N, Shimada T, Murakami Y, Matsumori A: Hepatitis C virus infection, as a risk factor of increased aortic stiffness and cardiovascular event in dialysis patients. The 2nd China-Japan Cardiovascular Forum (CJCF)(Beijing, China/November 4, 2006)
- ・Murakami Y, Yoshitomi H, Kodani N, Takahashi N, Shimada T: Serum N-terminal pro-BNP concentration as a useful biomarker for mild cardiac diastolic dysfunction in asymptomatic persons. The 2nd China-Japan Cardiovascular Forum (CJCF)(Beijing, China/November 4, 2006)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 1) 書籍

	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
筒井裕之	筒井裕之	慢性心不全	山口 徹, 堀 正二	循環器疾患最新の治療2006-2007	南江堂	東京	2006	243-249
	筒井裕之	慢性心不全	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢	今日の治療指針2006年版	医学書院	東京	2006	282-285
	筒井裕之	慢性心不全の疫学と予後	(企画) 木 全心一 (編集) 堀 正二	新目でみる循環器シリーズ9:心不全ー診断・治療・管理ー	メジカルビュー	東京	2006	218-225
	絹川真太郎, 筒井裕之	心不全の分類	井上 博, 増山 理	エキスパートをめざす循環器診療シリーズ	南江堂	東京	2006	6-13
	眞茅みゆき, 筒井裕之	予防活動の評価法	(編著) 猪 又孝元, 東條美奈子, 眞茅みゆき (監修) 和 泉 徹, 筒井裕之	心不全を予防する発症させない再発させないための診療ストラテジー	株式会社 中山書店	東京	2006	214-219
	筒井裕之, 眞茅みゆき	慢性心不全におけるチーム医療	(編著) 猪 又孝元, 東條美奈子, 眞茅みゆき (監修) 和 泉 徹, 筒井裕之	心不全を予防する発症させない再発させないための診療ストラテジー	中山書店	東京	2006	352-358
久保田 功	久保田 功	VI.循環器疾患 5. 循環器疾患の検査法 5-3. 心電図 2. ベクトル心電図	金澤一郎, 北原光夫, 山口 徹, 小俣政男	内科学 I	医学書院	東京	2006	593-596
	今田恒夫	第3部症状・所見からみた膠原病・リウマチ《症状》 J. 浮腫 (edema)	住田孝之	EXPERT膠原病・リウマチ (改訂第2版)	診断と治療社	東京	2006	114-117
小川 聡	吉川 勉	心筋収縮における細胞内情報伝達とその異常	堀 正二	新目でみる循環器シリーズ9:心不全ー診断・治療・管理ー	メデイカルビュー社	東京	2006	33-42
	吉川 勉	慢性心不全治療2 (B遮断薬)	北風政史	心臓病患者さんの生活・退院指導	メデイカ出版	東京	2006	187-191
	吉川 勉	問診からわかる心不全	猪俣孝元, 東條美奈子, 眞茅みゆき	心不全を予防する	中山書店	東京	2006	32-39
堀 正二			堀 正二	循環器疾患最近の治療2006-2007	南江堂	東京	2006	
			堀 正二	抗血小板薬の新しい使い方	医薬ジャーナル社	東京	2006	
松森 昭	松森 昭	Human genetics of cardiovascular disease and therapy I	篠山重威	AHA Highlights 2005	協和企画	東京	2006	158-164

松森昭	西尾亮介, 松森 昭	心筋生検法	百村伸一	新目でみる循環器シリーズ4:心臓カテーテル	メジカルビュー社	東京	2006	56-70
	松森 昭	HCV感染の肝外症状	竹井謙之, 川崎誠治	医学のあゆみ:消化器疾患Ver.3	医歯薬出版	東京	2006	161-165
中谷武嗣	中谷武嗣	心移植	松崎益徳, 吉川純一	臨床心臓病学	文光堂	東京	2006	101-103
横山光宏	横山光宏	心筋疾患:心筋症	杉本 恒, 小俣政男, 水野美邦	内科学(第8版)	朝倉書店	東京	2005	676-688
	横山光宏	拡張型心筋症	金沢一郎, 北原光夫, 山口 徹, 小俣政男	内科学II	医学書院	東京	2006	853-856
松崎益徳			筒井裕之, 吉川純一, 松崎益徳	新・心臓病診療プラクティス(6)心不全に挑む・患者を救う	文光堂	東京	2005	
			松崎益徳, 吉川純一	臨床心臓病学	文光堂	東京	2006	
			栗林幸夫, 吉川純一, 笠貫 宏, 土師一夫, 別府慎太郎, 松崎益徳	新・心臓病診療プラクティス(8)画像で心臓を診るCT・MRI・核医学を中心に	文光堂	東京	2005	
砂川賢治	Ide T, Tsutsui T, Sunagawa K	Oxygen radicals, mitochondria and heart failure	Mizukami Y	Molecular Mechanisms of Heart Disease	Research Signpost	India	2005	167-176
	井手友美, 砂川賢二	周術期患者への対応	和泉 徹, 他	心不全を予防する:発症させない再発させないための診療ストラテジー	中山書店	日本	2006	318-323
	井手友美, 砂川賢二	レドックス制御によるTfamの役割	筒井裕之	医学のあゆみ 特集:酸化ストレス制御による予防・治療	医歯薬出版株式会社		2006	119-122
豊岡照彦	Toyo-oka T, Kumagai H	Cardiac troponin as a preferable biomarker of myocardial cell degradation		Adv Exp Med Biol	Springer	Heidelberg	2007	592: 241-249
廣江道昭	廣江道昭	臨床所見	古賀義則	肥大型心筋症ハンドブック	日本医事新報社	東京	2007	97-107
河合祥雄	河合祥雄	全身疾患による心筋疾患	松崎益徳, 吉川純一	臨床心臓病学	文光堂	東京	2006	382-384
	河合祥雄	運動療法・運動処方のための診断書・意見書	井上 一, 武藤芳照, 福田 潤	運動療法ガイド:正しい運動処方を求めて(改訂第4版)	日本医事新報社	東京	2006	164-172
	河合祥雄	急死・突然死:心臓性急死	金澤一郎, 北原光夫, 山口 徹, 小俣政男	内科学I	医学書院	東京	2006	673-675

北 浦 泰	北浦 泰, 寺崎 文生	拘束型心筋症	山口 徹, 他	循環器疾患最新の治 療2006-2007	南江堂	東京	2006	2006
-------------	----------------	--------	------------	-------------------------	-----	----	------	------