

に、本研究ではSmarce-1rをベイトにイーストのハイブリッドシステムによるスクリーニングを繰り返し、成果により柱1-3につき研究計画を作成検討している。

柱1：Smarce-1r、柱2：SMARP、柱3：トロポニンIrにつきそれぞれ機能解析、心筋症との因果関係の解析、ならびに分子間相互因子のクローニングを目的とし検討した。

(倫理面への配慮)

実験動物に関しては東京慈恵会医科大学実験動物取り扱い規約に従って実験を行った。

C. 研究結果

1) 柱1：Smarce-1rの機能解析

①Smarce-1r遺伝子の調節、発現についての検討：Smarce-1r-GFPならびにDsRed融合蛋白を作製し、HeLaならびにCOS-7培養細胞にトランスフェクトし、強制発現してConfocal Microscopyにて細胞内局在を調べたところSmarce-1r融合タンパクは核に局在して発現することが判明した。

②Smarce-1rの疾患との因果関係についての解明：Smarce-1rと心筋症の関連を明らかにする目的で、心筋症患者数名と心筋症ハムスターJ2Nk、J2Ncを用いてmRNAからcDNAを合成しシーケンスを行ないcoding lesionにおけるSNPsを見つける仕事を行った。

③先述のように、Smarce-1r転写因子の分子間相互因子見出すために、イーストのツーハイブリッドシステムを用いスクリーニングを施行した。心筋細胞由来のcDNAライブラリーから、coding lesionの全長1263bpの蛋白が得られ、ロイシンジッパー構造を有する新規蛋白であったためSMARP(Smarcelr-related protein)と命名した。

2) 柱2：SMARPの機能解析

①SMARP遺伝子の調節、発現についての検討：新規タンパクSMARPの組織発現を調べるために、SMARP mRNAの発現をノーザンブロットにて検討した。脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、精巣のTotal RNAを用いて、ブロットしたところ、心臓に強く発現し、また、精巣にも発現することが判明した。次に、SMARPの細胞内局在を調べたところ、SMARPは核内にはSpeckledに存在するが、核小体により強く発現がすることが判明した。さらに、SMARPのdeletion mutantを作製し、N末端の核小体移行シグナルの存在を見出した。

②SMARPの疾患との因果関係についての解明：Smarcelrと同様に、心筋症の関連を明らかにする目的で、心筋症患者数名と心筋症ハムスターJ2Nk、J2Ncを用いてSNPsを見つける仕事を行った。

③SMARPの分子間相互因子のクローニング：SMARPの分子間相互因子見出すために、同様にSMARP cDNAをベイトにイーストのツーハイブリッドシステムを用い心筋細胞由来のcDNAライブラリーのスクリーニングを施行したところ、129

個アミノ酸の蛋白が得られ、トロポニンI類似構造を認めていたため、Troponin I-related (Troponin-Ir) と命名した。

3) トロポニンIrの機能解析

①トロポニンIr遺伝子の調節、発現についての検討：SMARPの分子間相互因子見出すために、同様にイーストのツーハイブリッドシステムを用いスクリーニングを施行し、トロポニンI(cTnI)の新しいアイソフォームトロポニンIrをクローニングした。ノーザンブロットでは、mRNAは脳、肝、腎臓、精巣には発現せず、cTnIと同様に心臓に特異的に発現を示した。また、GFP融合蛋白の細胞内分布を共焦点顕微鏡にて調べたところ、COS7細胞では、トロポニンIrはcTnIとは異なる分布を示した。構造上は、119個のアミノ酸からなり、cTnIのエクソン5,6アミノ酸42-132の領域を欠損しており、トロポニンC、トロポニンTとの結合領域のC末端を欠損し、また、アクチン結合部位のN末端の一部を欠損することになっていた。そこで、本来トロポニンIの機能としての、トロポニンC、トロポニンT、アクチンとの結合する機能を有するかを検討した。ところ、GST-融合蛋白を用いた、Pull-down assay, In vitroの免疫沈降反応を施行し、アッセイにてIn cellでの分子間結合力を測定したところ、トロポニンTとの結合は認めず、アクチンの結合能も低下していた。現在では心筋細胞にて発現し、免疫沈降反応を施行する段階である。

②トロポニンIrの疾患との因果関係についての解明：Smarce-1r、SMARPと同様に、心筋症の関連を明らかにする目的で、心筋症患者数名と心筋症ハムスターJ2Nk、J2Ncを用いてSNPsを見つける仕事を合わせて行っている。

D. 考察

研究の成果の国内外での位置付けについては、

1) 本研究を進め、2種の新規蛋白 Smarce-1r、SMARPを見いだす成果を得た。いずれも国内外で報告はない。2) また、本研究事業によりクローニングしたトロポニンIのアイソフォームは国内外で報告がなく、本研究が初めてである。3) SMARPのN末端に核小体移行シグナルの存在を新たに見出したが、これは新たな核小体移行シグナルである。

E. 結論

分子間相互作用を用いて、心筋に特異的に発現する新規蛋白SMARPならびにTnTとの結合力を欠くトロポニンIの新しいアイソフォームをクローニングした。これらの蛋白の心筋症家系などにおける発現検索などが心筋症におけるラミニン増加ならびに病態解明の一助となりうることが示唆された。

<研究協力者>

鈴木英明(東京慈恵会医科大学総合診療部)
荒川泰弘(東京慈恵会医科大学DNA研究所)

研究要旨 拘束型心筋症は特発性心筋症の一病型であり、その病態には肥大型心筋症や拡張型心筋症との類似性があるが、心筋サルコメア・Z帯異常との関連が明らかになっていない。肥大型心筋症や拡張型心筋症と比較すると、その病因には不明な点が多い。本研究では、拘束型心筋症の病因を解明するために、心筋サルコメア・Z帯の構成要素であるミオパラジンに特に着目した変異検索を行った。その結果、いずれも心臓移植を受けた拘束型心筋症の同胞発症例に終止変異 (Gln529ter) を見出した。同胞発症の2名のいずれもが変異のヘテロ接合体であったが、当該変異は一般集団中には認められないため、これらの症例の病因であることを示唆する。ミオパラジン異常はこれまでに報告がないことから、正常あるいは変異ミオパラジンを作製しラット心筋細胞に導入したところ、変異ミオパラジンによって心筋サルコメアの整合性異常が生じることが判明した。また、この変異ミオパラジンの効果は正常ミオパラジンの機能を dominant-negative に抑制するものであった。さらに、心筋サルコメア整合性異常はこれらの拘束型心筋症症例の心筋組織にも観察された。これらのことから、ミオパラジン変異は家族性拘束型心筋症の病因であると考えられた。

A. 研究目的

これまでの研究で特発性心筋症、特に肥大型心筋症 (HCM) や拡張型心筋症 (DCM) では、心筋サルコメアないしZ帯構成要素の遺伝子異常が病因となることが明らかになっている。一方、拘束型心筋症 (RCM) においても一部の多発家系で遺伝子異常が報告されている。すなわち、RCM 様の病態を呈する DCM 多発家系におけるデスミン遺伝子異常、HCM 様の病態を呈する RCM 多発家系における心筋トロポニン1異常などである。しかしながら、我々はわが国における RCM 患者集団の遺伝子解析を行ったが、それらの原因遺伝子には変異が見出されず、病因が不明のままである。そこで本研究では、RCMにおける病因変異を同定することを目的として、家族性 RCM 症例を対象とした心筋サルコメアないしZ帯構成要素群の遺伝子変異検索を行った。ことに、新規の原因候補遺伝子として、最近サルコメアの整合性維持に関わる新規要素として報告されたミオパラジンに着目した研究を行った。また、HCM および DCM においてもミオパラジン変異を検索した。

B. 研究方法

1) RCM 症例6名を対象として既知の家族性心筋症原因遺伝子であるサルコメア構成要素遺伝子群について SSCP 法を用いて変異を検索した。異常 SSCP パターンが観察された場合にはダイレクトシーケンシングによって変異を確認した。また、ミオパラジン遺伝子については、ダイレクトシーケンシ

ングによって変異を検索した。さらに、既知の心筋症原因遺伝子群に変異が見出されない HCM 症例 96名、DCM 症例48名についてもミオパラジン変異を検索した。なお、ランダムに選択した健康者集団 320名を対照とした。

2) ミオパラジン変異が見出された RCM 症例の心臓組織におけるミオパラジンの遺伝子レベルおよびタンパクレベルでの発現を RT-PCR 法および免疫組織染色でそれぞれ検討した。

3) ミオパラジン変異による機能変化を検討するために、正常および変異ミオパラジンをラット心筋培養細胞に導入し、サルコメア形成を免疫組織染色法によって検討した。

【倫理面への配慮】

本研究に関連したヒト遺伝子解析研究は、ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守することとし、東京医科歯科大学難治疾患研究所倫理審査委員会の承認を受けている。[研究課題「肥大型心筋症の病因と病態形成機構の究明に関わる研究」、「拡張型心筋症の病因と病態形成機構の究明に関わる研究」(いずれも平成16年4月23日研究計画承認、および平成18年7月6日継続研究承認)]

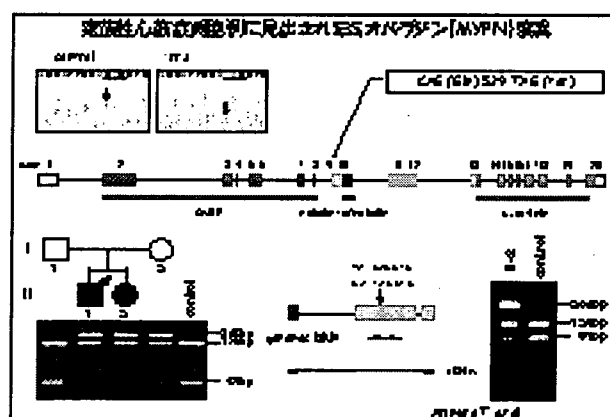
C. 研究結果

1) RCM 患者における既知の心筋症原因遺伝子群における変異の検索

RCM 発端患者6名について既知の心筋症原因遺伝子群の変異を検索した結果、1例にミオシン重鎖遺伝子(MYH7)のミスセンス変異(Asn444Ser)を見出した。この変異は一般降常者集団には認められないが、ミオシン重鎖の進化上よく保存されたアミノ酸残基の変異であり、また発端患者の子(HCM)に遺伝していた。このことから、MYH7 ミスセンス変異は HCM 様病態を呈する RCM の病因となることが強く示唆された。一方、他の5名の RCM 発端患者には変異が検出されなかった。

2) RCM 患者におけるミオバジン変異の検索

既知の心筋症原因遺伝子群に変異が検出されなかった RCM 患者5名、HCM 患者96名、DCM 患者48名を対象としてミオバジン遺伝子変異を検索した。その結果、RCM のため心臓移植を受けた発端患者1名に終止変異(Gln529ter)を見出した。この変異は発端患者の同胞で、やはり RCM のため心臓移植を受けている患者にも見出された。家系解析の結果、この変異は母親由来であることが判明したが、母親には大動脈閉鎖不全はあるが心筋症病態は認められなかった。一方、終止変異のあるアリルは同胞 RCM 患者の摘出心で発現していた。このことから、本終止変異は nonsense-mediated decay を起こすような変異ではないことが明らかとなった。



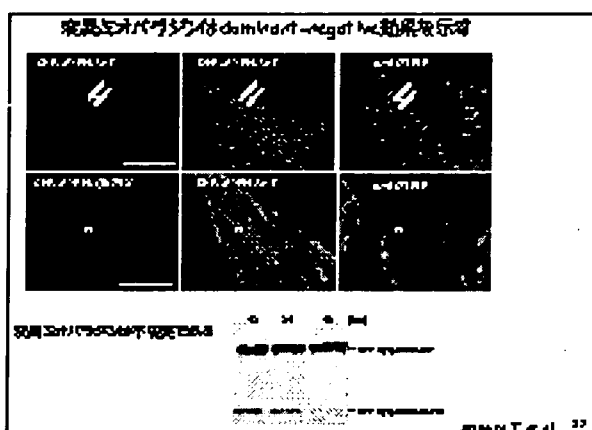
3) 変異ミオバジンによる機能異常の検討

ミオバジンは心筋におけるサルコメア整合性細胞重要な役割を果たすことが報告されている。

そこで、ミオバジン終止変異による心筋の構造あるいは機能異常を検討するために、正常ミオバジンおよび変異ミオバジンを作製し、ラット心筋初代培養細胞に遺伝子導入した。その結果、変異ミオバジン遺伝子を導入した心筋細胞ではサルコメア形成が著しく阻害されたが、正常ミオバジン遺伝子を導入した場合にはそのような変化は認められなかった。

さらに、RCM 患者がいずれもミオバジン変異のヘテロ接合であったことから、正常ミオバジン遺伝子と変異ミオバジン遺伝子を1:1の割合で混ぜてラット心筋細胞に導入したところ、サルコメア形成異

常が認められた。また、ウェスタンブロッティングにより、変異ミオバジンタンパクは正常ミオバジンと比較して不安定であることが判明した。このことから、本終止変異は dominant-negative にミオバジン機能を抑制することが強く示唆された。



D. 考察

本研究でわが国の RCM の発端患者6名中2名にミオシン重鎖変異あるいはミオバジン変異を検出した。いずれの変異とも家系内で疾患と共分離していることから RCM の病因変異であると考えられたが、特にミオバジン変異についてはラット心筋細胞への遺伝子導入実験によって、これがサルコメア整合性異常をもたらすことを明らかにした。なお、本変異は心筋症を発症していない母親に由来するものであったが、母親がなぜ発症していないのかについては不明である。RCM の発症にはミオバジン変異に加えて、さらになんらかの要因が必要である可能性が示唆される。

E. 結論

家族性 RCM 患者2名に見出されたミオバジン終止変異はサルコメアの整合維持を障害することによって RCM の病因となることが強く推定される。

A. 研究目的

わが国では循環器領域における疫学研究データが極めて乏しいため、慢性心不全の臨床像、治療、予後などの実態は不明である。欧米で行われた研究結果をそのままわが国にあてはめることができないのは言うまでもなく、わが国独自の研究が必要である。さらに、大規模臨床試験の患者は、年齢や基礎疾患など実際の患者(Real world)とは大きく異なっており、一部の患者しか反映していないことから、臨床試験と並行して観察研究が必要である。本研究の目的は、全国多施設共同のデータベースを用いて、わが国における拡張型心筋症を基礎疾患とした慢性心不全患者の臨床像を明らかにすることである。

B. 研究方法

心不全の増悪のために入院治療を行った患者を対象とした全国患者登録データベースを用いて拡張型心筋症を基礎疾患とした慢性心不全患者の臨床像を解析する。

(倫理面への配慮)

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」および「臨床研究に関する倫理指針」を遵守して研究を計画・実施しているが、特に倫理委員会の審査、対象患者からの同意取得、匿名性などに特段の倫理的配慮を行っている。

1)倫理委員会の審査：研究対象患者のプライバシー保護を確実にするために、倫理委員会において倫理面に対する配慮が十分に行なわれているか審査を受けたうえ承認を得て実施している。倫理委員会が設置されていない施設の参加を可能にするために、各々の地域の中核施設(大学病院など)の倫理委員会に審査を依頼する。

2)対象患者からの同意取得：研究に際しては、あらかじめ研究内容、意義と危険性およびプライバシー侵害の恐れがないこと、同意しなくても不利益は受けないこと、同意は随時撤回できることを患者に説明し、文書で同意を得ている。

3)匿名性：症例の登録は、各施設におけるIDで行い、データがどの症例のものは、診療を担当した主治医のみが把握している。研究担当者は、IDがどの患者のものか特定できないため患者のプライバシーは保護される。さらに、データベースには、別の症例コードを入力するため、データベースから患者個人を特定することは困難である。

C. 研究結果

全国の日本循環器学会研修施設から登録された慢性心不全2564例の患者基礎データベースを確立した。患者の男女比は6:4であった。平均年齢は71歳で、65歳以上の高齢者が70%を占めた。特に女性の高齢者の占める割合が高かった。心不全の原因となる主たる基礎心疾患は、虚血、弁膜症、高血圧、拡張型心筋症であった。左室駆出率40%以下の収縮不全が60%を占めるのに対し、50%以上と比較的保た

れた患者も23%であった。このような患者は、近年拡張不全による心不全として注目されているが、収縮不全に比し、高齢者、女性、高血圧、心房細動をより多くみとめた。院内死亡率は、収縮不全3.9%、拡張不全6.8%であった。わが国の慢性心不全患者を、米国における同様の登録研究であるADHEREの登録患者と比較すると、臨床像には共通点が多いことが明らかとなった。さらに、院内死亡(収縮不全)の規定因子を多変量解析により検討すると、貧血、心不全増悪による入院の既往、BNP高値が独立したリスクであった。特に、貧血は長期予後リスクとなることも知られており、慢性心不全治療における新たな治療ターゲットとなるかどうか今後さらなる研究が必要である。

慢性心不全患者の実態をさらに明らかにするために、地域住民の中で外来治療を受けている患者を対象とした調査も実施した。地域の循環器科病院と一般開業医で治療を受けている患者を登録し、追跡を行った。一般開業医に通院する慢性心不全患者は、さらに高齢であり、基礎疾患として虚血と高血圧がより多かった。特に高血圧性心疾患は、開業医に通院する慢性心不全患者の47%を占め、心不全の発症・進展を予防するためには、高血圧の治療・管理の重要性が示された。

D. 考察

我々は、7年前より福岡市において慢性心不全にて入院治療を受けた患者を対象とした登録観察研究を行ってきた。さらに、平成16年より全国レベルで慢性心不全の増悪のため入院治療を要する患者を対象とした調査研究を開始した。本研究は、わが国の慢性心不全患者の基礎疾患、合併症、重症度などの臨床像や治療、予後などの実態、さらに予後の規定因子を明らかにするものである。また、実際の患者で治療法の有効性を解析することによって、無作為コントロール試験では得られないわが国独自のエビデンスを創出していくことを目標としている。さらに、将来にわたって継続し、循環器領域における登録観察研究のモデル研究となることも目指している。今後、長期予後やその規定因子の解析もふくめ、さらに詳細な検討を進めていく予定である。

E. 結論

全国多施設データベースを用いて、わが国における慢性心不全患者の臨床像を明らかにした。

<研究協力者>

JCARE研究班

眞茅みゆき

(国立国際医療センター研究所医療情報解析研究部ゲノム疫学研究室・室長)

網川真太郎, 南部忠詞, 小浅真由美, 本間貴子, 會田晶子

(北海道大学大学院医学研究科循環病態内科学)

A. 研究目的

わが国の特発性心筋症患者の予後(5年生存率)および予後規定要因を明らかにするために、1999年実施の全国疫学調査2次調査対象症例の5年後の予後調査を実施した。

B. 研究方法

1999年に実施した全国疫学調査2次症例、拡張型心筋症1,932例、肥大型心筋症2,134例のうち医療機関から協力の得られた前者の1,554例、後者の1,605例について5年後の予後を追跡した。原則として医療機関からの予後情報の提供を受けたが、追跡中断例では市町村への住民票請求により生死の確認を行った。

C/D. 研究成果・考察

1) 拡張型心筋症

追跡を行った1,554例中に420例が死亡し、全体での5年生存率は73%であった。1998年中に初めて診断された390例での5年生存率は78%であった。予後関連要因に関する単変量解析においては、患者の加齢、低い肥満度、高いNYHA分類、左脚ブロック、高い心胸比、高い左室拡張期径、高い左室径指数、低い左室駆出率、長い診断後経過年数が、予後不良の要因であった。重要な要因をモデルに含むCox比例ハザードモデルによる多変量解析では、男性、患者の加齢、家族歴、高い左室径指数、低い左室駆出率が、互いに独立して有意に高いハザード比を示し、予後不良要因と考えられた。左室径係数の1標準偏差上昇あたりの多変量調整ハザード比は1.33(95%信頼区間1.07-1.65)、左室駆出率偏差低下あたりのハザード比は1.26(95%信頼区間1.02-1.55)であった。以前のわが国からの報告と比べると、本症の予後はかなり改善してきていると考えられた。また、医療機関による偏りのないわが国での本症患者

の予後が明らかになった。予後要因の中では、左室径と左室駆出率がそれぞれ独立して有用な予後予測要因であると考えられた。

2) 肥大型心筋症

追跡を行った1,605例中、追跡期間中に241例が死亡し、全体での5年生存率は84%であった。1998年中に初めて診断された342例での5年生存率は86%であった。予後関連要因に関する単変量解析においては、患者の加齢、低い肥満度、糖尿病既往、高いNYHA分類、心房細動、左脚ブロック、心尖部肥大がない、高い心胸比、低い左室駆出率、病床数が少ない病院が、予後不良の要因であった。重要な要因モデルに含むCox比例ハザードモデルによる多変量解析では、患者の加齢、高いNYHA分類、左脚ブロック、心尖部肥大がない、高い心胸比、低い左室駆出率、互いに独立して有意に高いハザード比を示し、予後不良要因と考えられた。中でも低い左室駆出率と高い心胸比との関連が最も強く、左室駆出率の1標準偏差低下あたりの多変量調整ハザード比は1.42(95%信頼区間1.20-1.69)、心胸比の1標準偏差上昇あたりのハザード比は1.61(95%信頼区間1.26-2.05)であった。医療機関による偏りのないわが国での本症患者の予後が明らかになった。わが国での本症予後は欧米からの報告とほぼ同様と考えられた。予後要因であると考えられた。

E. 結論

本調査により医療機関による偏りのないわが国での心筋症の予後が明らかとなった。

1983年に実施された心筋症研究班の調査による予後と比較すると、拡張型心筋症ではかなりの改善がみられた(76%対54%)が、肥大型心筋症ではむしろ悪化傾向を示した(86%対93%)。

ヒト拡張型心筋症のジストロフィン関連タンパク(DAP)の発現解析(I)

A. 背景

拡張型心筋症(DCM)の病態に関して、筆者らは心筋細胞のジストロフィン(Dys)の断裂後に脱落、変性・壊死に至る重症化機構を提言してきた(Toyo-oka, et al: PNAS, 2004; Kawada, et al: BBA, 2005; 豊岡ら, 本年度前期班会議抄録)。今回はDysに限定せず、Dysと複合体を形成して細胞膜を強化していると予想される α -, β -, γ -および δ -sarcoglycan(SG)の発現も含めて検討した。

B. 試料および方法

共同研究者が液体窒素下に保管していたヒト症例で心移植に至ったNYHA分類Ⅲ～Ⅳ度の最重症DCM(n=15)、虚血性心筋症(ICM, n=4)および

重症心筋炎(n=6)患者の心摘出後に液体窒素保存の心筋標本の中で倫理委員会の承認が得られた試料を供与頂いた。平均年齢50.5才、対照には何らかの理由で移植に至らなかったドナー(n=3)からの心筋標本を用い、また正常ラット心筋を内部標準として、各タンパクの発現量を補正した。解析には筆者らが各SGの遺伝子をクローニングして塩基配列を決定後(Sakamoto, et al: PNAS, 1997)、演繹したアミノ酸配列のユニーク配列部分から作製したsite-directed antibodyと市販抗体を用いた。

C. 結果および考察

privacyの保護もあり、個別データの公表を控えるが、平均年齢はDCM群、ICM群、myocarditis群

と対照群で、48.6, 60.0, 37.0, 61.7才と若年者に心筋炎後の移植患者が多く、比較的高齢者のdonorも多い点が注目された。移植直前のLVEFは各群平均、17.2, 16.5, 23.3, 61.7%とDCM群とICM群は低下が目立った。LVDdは各群平均、71.3, 68.3, 64.5, 45mmとDCM群とICM群は拡大が顕著であり、LVEDPは各群平均、30.7, 29.0, 30.0, 16.3 mmHgと予想通りだったが、donorも脳死状態からの蘇生術施行後のためか、やや高めな場合が散見された。

免疫組織染色の検討は1人から約20箇所について行ない、Dysの崩壊した心筋細胞では現在進行中であるが、前回の班会議報告と同様、Dysの崩壊像が

パッチ状に認められた。また、Western blottingによる発現量の検討結果、心不全症例の全例にDysの断裂と断片化が認められ、その像は必ずしも各SGの発現量とは相関しなかった。一部の症例はDysを全く発現せず、Duchenne、またはBecker型筋ジストロフィーとの合併を考えさせる興味深い所見を得た。班会議では共同研究者の了解が得られた結果を中心に報告する予定である。

<研究協力者>

増井藤子(東京大学器官病態内科)

Kostin S, Schaper J

(Max-Planck Inst., Exp. Pathol.)

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

斎藤 能彦(奈良県立医科大学)

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 Factor/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(α -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 α 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5'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のプロセッサーであるefenidipine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。

心筋虚血再灌流障害に対するG-CSFの心臓保護作用についての検討

小室 一成(千葉大学)

A. 研究目的

G-CSFは急性心筋梗塞後の心臓リモデリングや心機能低下に対する抑制効果をもつ。今回、我々は心筋虚血再灌流モデルにおいて再灌流開始時よりG-CSFを投与した際の心臓に対する急性効果とその機序を検討した。

B. 研究方法

ランゲンドルフ装置を用いてラット心を灌流し、35分間の虚血後120分間の再灌流を行った。左室内にバルーンを留置し左室収縮期圧と拡張期圧を測定した。梗塞サイズはtriphenyltetrazolium chloride(TTC)染色にて計測した。G-CSFによるシグナル伝達経路を検討するため、再灌流15分後の心臓を用いウェスタンブロット法にて解析した。また、G-CSFにより活性化されるシグナル経路の

役割を検討するため、PI3K(LY29002, 5 μ M)、Jak2(AG490, 5 μ M)、MEK(PD98059, 10 μ M)、NOS(L-NAME 30 μ M)の各阻害薬を再灌流前より投与してからG-CSFを投与し梗塞サイズを調べた。

(倫理面への配慮)

ラットは動物愛護の精神にのっとり、千葉大学の動物実験取り扱い規約にしたがって実験に用いた。

C. 研究結果

G-CSF(10, 50, 300ng/mL)の投与により濃度依存的に再灌流後のleft ventricular developed pressure(LVDP)は有意に改善し、TTC染色で計測した梗塞サイズは有意に縮小した。G-CSF投与群では、再灌流15分後の心臓におけるJak2、STAT3、ERK、Akt、eNOSのリン酸化とNOの産生量が有意に増加

した。G-CSFによる梗塞サイズの縮小効果はLY294002、AG490、L-NAMEにより抑制されたが、PD98059では抑制されなかった。G-CSFによりJak2>PI3K>Akt>eNOS、の順で活性化されるシグナルが心臓保護作用に関与していた。

D. 考察

我々はこれまでG-CSFを急性心筋梗塞後から投与することにより、その後の心臓リモデリングや心不全を抑制することを報告してきた。その機序の1つとして、心筋細胞に対する直接作用が特に重要であることを明らかにした。マウスの急性心筋梗塞モデルを用いた研究により、G-CSFは心筋細胞内のJak2-STAT3経路を活性化することによりアポトーシスを抑制した。今回の研究では灌流心を用いることにより、幹細胞の動員作用等が関与しない実験系で心臓に対する直接作用を調べること

ができた。今回の研究結果から、G-CSFは虚血再灌流後の心臓にも直接作用することや、再灌流後からの投与でも心臓保護作用(postconditioning-like effect)をおよぼすことが示された。また、虚血再灌流後の急性期におけるG-CSFの心臓保護作用にはAkt-eNOSの活性化を介したnon-genomicな作用も重要である可能性が示唆された。

E. 結論

虚血再灌流障害に対し、G-CSFは再灌流後からの投与でも直接的な心臓保護作用をおよぼすことが明らかになった。G-CSFによる急性の心臓保護作用はnon-genomicであり、特にAkt-eNOSシグナル伝達経路の活性化が重要であると考えられた。

<研究協力者>

高野博之, 上田和孝, 長谷川 洋, 新妻ゆり子
(千葉大学大学院医学研究院循環病態医科学)

肥大型心筋症の突然死に関する研究

川名 正敏(東京女子医科大学)

肥大型心筋症における突然死は临床上重要な問題である。今年度はこの問題について、2つのポイントから予後予測に関する研究を行ったので報告する。

研究1：肥大型心筋症の突然死評価におけるT-Wave Alternansの有用性について

A. 研究目的

肥大型心筋症(HCM)症例の突然死評価におけるT-Wave Alternans(TWA)と血清B-type natriuretic peptide(BNP)値の臨床的意義について検討した。

B. 研究方法

当施設でHCMと診断された連続36症例にTWA(Cambridge Heart社製CH2000)と血清BNP値を測定後、突然死(心肺蘇生例と植込み型除細動器(ICD)の正常作動症例も含む)の頻度について検討した(平均観察期間=22±7ヶ月)。図1にTWA陽性の代表例を示す。

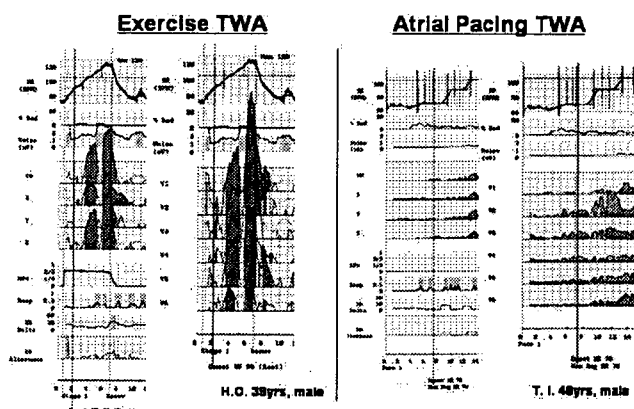


図1. Representative TWA Recordings in HCM Patients with Positive TWA

C. 研究結果

36症例のうち、TWA陽性は19症例、TWA非陽性は17例(陰性; 14例)であり、TWA陽性19症例中突然死は9例であった。一方、TWA非陽性17例では突然死は1例のみであった。図2にTWA陽性例、陰性例の突然死回避率の比較を示す。

TWA陽性19症例中突然死を認めた10例と認めなかった9例における血清BNP値では、突然死症例のBNPが有意に高値であった(515 vs. 130 pg/mL, $p=0.004$)。

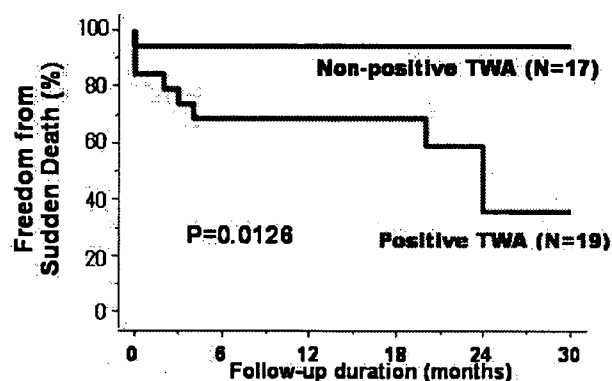


Figure: HCM patients with positive TWA-results (red line) had a significantly higher rate of sudden death than those with non-positive TWA-results (black line).

図2. Kaplan-Meier Survival Curves for Sudden Death in HCM Patients: A Comparison Between Positive TWA and Non-positive TWA

さらに、TWA陽性と血清BNP ≥ 50 pg/mLの2つを併用した評価法の突然死症例の予測率は、感度: 80%、特異度: 100%、陽性的中率: 100%、陰性的中率: 93%であった(図3)。

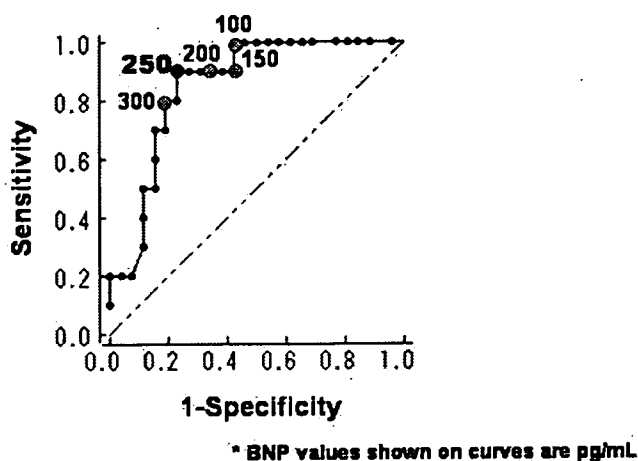


図3. ROC Curve of BN・for Discriminating HCM Patients with Sudden Death from Without Sudden Death

D. 考察

突然死に対する精度の高いリスク評価は、現在その適用が急速に広がっている植え込み型除細動器の適応基準を決める上でも極めて重要な事項である。これまでは侵襲的な電気生理学的検査と心機能が主な評価項目になっていたが、ごく最近虚血性心疾患におけるTWAの有用性もいくつか報告されており、今後他の病態についても検討していく必要がある。

E. 結論

HCM症例において、TWAと血清BNP値を併用した評価法はHCM突然死症例を鑑別するのに有用であると考えられた。

研究2：肥大型心筋症の突然死における心房細動の臨床的意義

A. 背景

肥大型閉塞性心筋症では心房細動AFの存在は心血管死のリスクが高まることが報告されているが、肥大型非閉塞性心筋症N-HCMにおける心房細動の臨床的意義については不明な点が多い。

B. 研究目的

N-HCMにおけるAFの長期予後に対する影響を明らかにすること。

C. 研究方法

当施設で観察した350例のN-HCM(診断時平均年齢49歳)について、平均13年の追跡期間中のHCM

関連イベント(脳卒中、失神、心不全)、HCM関連死亡(突然死、心不全死、脳卒中による死亡)を調査して、AFがN-HCMの長期予後、特に突然死関わる影響について解析した。

D. 研究結果

350例のN-HCMのうちAFが104例(30%)に認められた(発作性AF:87例、持続性・永続性AF:17例、平均年齢51歳)。残りの246例では追跡期間中にAFは見られなかった(平均年齢48歳)。AFが認められた例は認められなかった例に比べて、有意にHCM関連イベント・死亡が多かった(順に60.6% vs. 19.9%; $p<0.001$, 13.5% vs. 6.9%; $p=0.025$)。さらに、図4に示すように突然死を起こす確率はAF群で有意に高かった($p=0.027$)。

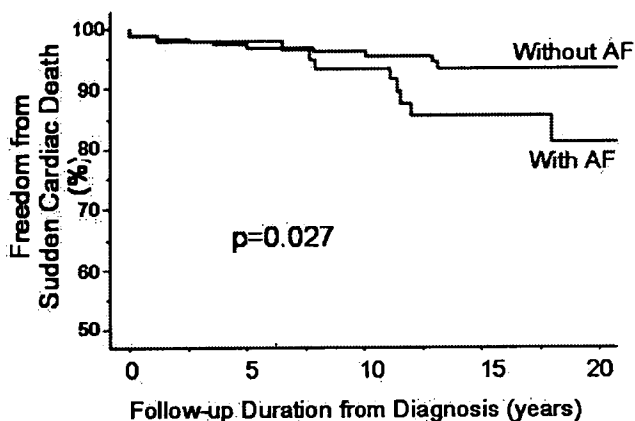


図4. Probability of Sudden Cardiac Death in HCM Patients with and Without AF

E. 考察

AFがHCM症例の予後、特に心不全・脳卒中発症に関わることはこれまでも報告されていたが、今回の検討でAFがN-HCMにおいても突然死発症に関わることを明らかになった。

F. 結論

N-HCMでは、AFの存在は突然死を含む長期予後の重要な予測因子である。

<研究協力者>

梶本克也

(東京女子医科大学附属成人医学センター)

河原井浩孝

(東京女子医科大学附属八千代医療センター)

八代 文, 寺島 豊, 石塚尚子, 萩原誠久, 笠貫 宏
(東京女子医科大学循環器内科)

心拒絶反応におけるPPAR γ の役割と治療への応用 磯部 光章(東京医科歯科大学)

A. 研究目的

治療に奏効しない重症心不全に対して心臓移植が施行され、良好な成績をもたらしているが、一方で拒絶反応は大きな問題として残っている。さらなる予後の改善には急性拒絶反応だけではなく、冠動脈硬化を特徴とする慢性拒絶反応の制御

が重要である。また、PPAR γ (ペルオキシゾーム増殖剤活性化型受容体のサブタイプ)が炎症反応制御に重要な役割を果たしており、PPAR γ アゴニストの投与により粥状硬化、自己免疫性心筋炎、血管傷害後内膜肥厚の進展を抑制することが報告されている。我々は、慢性および急性拒絶反応の病態

におけるPPARの働きを検討し、さらにその作用増強に治療、予防効果があるか否かについて、PPAR γ アゴニストを用いて検討した。

B. 研究方法

急性拒絶反応としてフルミスマッチ(B6とBalb/c)、慢性拒絶反応である冠動脈硬化を検討するためにクラスIIミスマッチ(B6とbm12)の組合せを用いてマウス異所性心移植モデルを行った。PPAR γ アゴニストとしてピオグリタゾンを用い、経口投与した。普通食群とピオグリタゾン投与群(3mg/kg/day)に分け、ピオグリタゾン投与群では、移植後1日前からピオグリタゾン投与を開始した。移植心を用いて免疫染色、RNA protection assayを行い、炎症細胞浸潤やサイトカイン産生について検討した。In vitroでのピオグリタゾンの効果を検討するため、リンパ球混合試験(MLR)、平滑筋増殖試験を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は動物実験である。実験は学内の動物実験に関する審査を受けており、動物愛護の観点からの倫理的問題はない。

C. 研究結果

急性拒絶モデルにおいて、ピオグリタゾン投与群(34.6 ± 7.8 日)は普通食群(8.4 ± 0.4 日)と比較し著明な移植心生着の延長を認めた。ピオグリタゾンは、移植後5日目の移植心におけるCD4, CD8, CD11b陽性細胞の浸潤を抑制した。また、ピオグリタゾン投与マウスでは、移植後5日目の移植心におけるIFN- γ 、MCP-1の発現を抑制した。心移植後のマウスの脾細胞を用いたMLRでは、濃度依存性にピオグリタゾン投与によりT細胞増殖は有意に抑制された。MLRの上清を用いてサイトカインを測定したところ、ピオグリタゾン添加によりIFN- γ 、MCP-1の産生は抑制された。慢性拒絶モデルにおいてピオグリタゾンは冠動脈の新生内膜肥厚を著明に抑制したが(血管閉塞率: $25.1 \pm 8.8\%$ versus $65.8 \pm 7.3\%$)、線維化領域は両群に差はみられなかった。ピオグリタゾンは移植心におけるCD4,

CD8, CD11b陽性細胞の浸潤を抑制し、IFN- γ 、IL-10、MCP-1の発現を抑制した。活性化脾細胞と平滑筋細胞の共培養により平滑筋の増殖が誘導されるが、ピオグリタゾンはこの平滑筋増殖反応を抑制した。また、培養上清を用いたサイトカイン測定では、ピオグリタゾン添加によりIFN- γ 、MCP-1の産生は抑制されていた。

D. 考察

炎症は、接着因子の発現やマクロファージやT細胞などの炎症細胞浸潤などで特徴づけられる。PPAR γ アゴニストが炎症制御に重要な役割を果たしていることが多く報告されている。In vitroにおいて接着因子の発現低下、サイトカイン産生低下がみられるのみならず、粥状硬化、自己免疫性心筋炎、血管傷害後内膜肥厚の進展を抑制する。今回の検討により心移植後の拒絶反応に対しても、PPAR γ アゴニストが効果的であることが示された。拒絶反応は炎症反応に伴い接着因子増強、サイトカイン産生増加により悪化がみられるが、ピオグリタゾンはIFN- γ 、MCP-1産生低下により炎症を抑制して拒絶反応を制御していると考えられた。しかし、慢性拒絶モデルではTh2サイトカインであるIL-10の産生低下もみられた。Th2サイトカインは移植臓器の生着延長や免疫寛容に重要な役割を果たすことが知られているが、IL-10活性の阻害が新生内膜肥厚を抑制しない報告もあり、今後の検証が必要である。

ピオグリタゾンは現在臨床において抗糖尿病薬として使用されている薬剤であるが、今回の検討での投与量では血糖への影響は見られなかった。今後移植医療への応用を進めるため、更なる検討が必要となる。

E. 結論

ピオグリタゾンは、免疫反応や平滑筋増殖反応抑制を通じて移植心生着延長、新生内膜肥厚抑制を誘導すると考えられた。移植後拒絶反応の制御にピオグリタゾンが有用である可能性が示唆された。

不整脈源性右室心筋症の分子遺伝学的研究

鄭 忠和(鹿児島大学)

A. 研究目的

不整脈源性右室心筋症(arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: ARVC)は突然死を来したかつ遺伝性を有する心筋疾患である。ARVCの分子遺伝学的検討により、現在までに10の遺伝子座が報告されており、6種類の病因遺伝子が明らかとなっている。すなわちcardiac ryanodine receptor-2遺伝子、plakoglobin遺伝子、desmoplakin遺伝子、plakophilin-2遺伝子、transforming growth factor β -3遺伝子あるいはdesmoglein-2遺伝子がARVCの病因であることが報告されている。これら

のうちdesmosomeに関連する遺伝子が4種類(plakoglobin遺伝子、desmoplakin遺伝子、plakophilin-2遺伝子、desmoglein-2遺伝子)であり、ARVCの病因には細胞接着因子の異常が深く関わっていると考えられる。これまでのARVCに関する遺伝子異常の報告は、欧米の家系、症例におけるものがほとんどである。

本研究の目的は鹿児島大学において診療したARVC症例の病因を明らかにすることである。

B. 研究方法

鹿児島大学病院で診断し、遺伝子解析研究に協

力が得られたARVC症例とその家族を対象とした。ARVCの診断はMcKennaの診断基準(Br Heart J 71:215, 1994)に従った。

臨床的に家族歴、病歴、現症、心電図、胸部レントゲン写真、心臓超音波検査、Holter心電図、心臓カテーテル検査、心筋生検などを評価し、McKennaの基準を満たすものをARVCと診断した。

ARVCの発端者と、家系の構成員の末梢血を採取した。血液よりDNAを抽出した。発端者に対しては、PCR法を用いて遺伝子をエクソン毎に増幅し直接塩基配列決定を行い、解析を行った。今回はdesmoplakin遺伝子とplakophilin-2遺伝子の解析を施行した。また構成員の血液が採取できた一家系においては、PCR法を用いて連鎖解析を施行した。

(倫理面への配慮)

本研究の遺伝子解析に関しては鹿児島大学医学部遺伝子解析研究に関する倫理委員会の承認を受けている(No. 33, 57, 76 遺伝性心疾患の遺伝子解析)。患者およびその家族には文書を用いて説明を行い、文書による同意を得たうえで遺伝子解析研究を行った。倫理面への配慮は十分されていると考えられた。

C. 研究結果

当院で診断したARVC症例は5名であり、男性3名、女性2名で平均年齢は59.4+13.7歳であった。47歳の女性を発端者とする家系においてはさらに2名のARVC症例が確認され、計7名の構成員の臨床評価と血液の採取を施行した。

desmoplakin遺伝子の解析においてはエクソン1からエクソン23までRampazzoら(Am J Hum Genet 71:1200, 2002)によるプライマーを用いてPCRを行い、直接塩基配列決定を行った。1名のARVC症例においてdesmoplakin遺伝子のexon 12におけるY494F変異を認めた。この変異は正常者50名において確認されなかった。またこのアミノ酸はヒト、マウス、ラットにおいて保存されているアミノ酸である。症例は49歳の男性であり、心室頻拍に対してICDの植え込みを行われている。

plakophilin-2遺伝子の解析においてはエクソン1からエクソン14までGerullら(Nat Genet 36:1162, 2004)によるプライマーを用いてPCRを行い、直接塩基配列決定を行った。エクソン12の前のイントロンに挿入変異を、後のイントロンに欠失変異を認める症例が存在したが、この変異は対照症例にも認められ遺伝子多型であると考えられた。

また47歳の女性を発端者とする一家系におい

て、7名の構成員(うち3名がARVC症例)の血液を用いて連鎖解析を施行した。ARVC1から7までの7箇所の遺伝子座について既報のマーカーを用いてPCR法により連鎖解析を施行した。ARVC1, 2, 4, 5, 6, 7においては連鎖は確認できなかった。ARVC3(14q12-22)に関しては連鎖を示唆する結果が得られさらに周辺のマーカーを用いて解析を施行し連鎖がさらに示唆された。

D. 考察

今回の研究でdesmoplakin遺伝子の新規の変異であるY494F変異を一例のARVC症例に確認した。desmoplakin遺伝子変異は拡張型心筋症、wooly hair、皮膚角化を呈し劣性遺伝をとる家系で報告され(Human Molecular Genetics 9:2761, 2000)、その後劣性遺伝のARVC家系(J Am Coll Cardiol 42:319, 2003)や、優性遺伝のARVC家系(Am J Hum Genet 71:1200, 2002)が報告された。優性遺伝のARVCの病因遺伝子変異はV30M、Q90R、W233X、S299R、R1775I、R1255K、R2834H、c.423-1G>Aの8種類が報告されている。今回新規の変異として報告するY494F変異はplakophilin やplakoglobinと結合する部位に存在し生理的に重要であると考えられる。

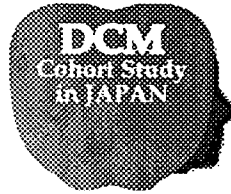
plakophilin-2遺伝子はARVCの11から27%に認められると報告されておりARVCの病因として頻度が高いものと考えられる。今回の検討ではplakophilin-2遺伝子変異が見られた症例はなかった。欧米と日本では病因遺伝子変異の特徴が異なる可能性がある。

ARVC3は14番染色体の14q12-q22にマップされているARVCの遺伝子座である。近傍の14q23-24にはARVC1がマップされ、その病因遺伝子はtransforming growth factor β -3遺伝子であることが明らかになっているが、ARVC3の病因遺伝子は未だに明らかではない。我々の一家系においてARVC3に連鎖が示唆されたことでARVC3の病因遺伝子を明らかにできる可能性がある。この付近に存在する候補遺伝子としてはMAP3K12-binding inhibitory protein遺伝子、kinectin遺伝子 β -spectrin遺伝子、 α -actinin遺伝子などがあり、解析を進める必要がある。

E. 結論

ARVCの一例においてdesmoplakin遺伝子のY494F変異を認めた。またARVCの一家系においてARVC3への連鎖が示唆された。

鹿児島県のARVCにおいてもdesmoplakin遺伝子変異が病因となる症例が存在すると考えられた。またARVCの病因は多様であることが確認された。



**厚生労働省難治性疾患克服研究事業
特発性心臓症に関する調査研究
＜友池班＞**

2007年度研究報告会

抄 録

2007年12月11日(火)／国立循環器病センター図書館講堂

■プログラム

概 論 主任研究者： 友池 仁暢（国立循環器病センター）

セッション1：因子・モデル

座長： 室原 豊明（名古屋大学）

10:10	松森 昭（京都大学）.....	4
	拡張型心筋症モデルマウスと心筋梗塞モデルマウスにおけるリンパ管新生因子の影響についての比較検討	
10:17	久保田 功（山形大学）.....	4
	新しい炎症マーカーPTX3の心不全患者における予後予測因子としての役割	
10:24	北風 政史（国立循環器病センター）.....	5
	不全心筋ゲノム研究から同定された新しい心不全関連遺伝子MLCK3の検討	
10:31	廣江 道昭章（国立国際医療センター）.....	5
	新しい霊長類拡張型心筋症モデルの解析	

セッション2：診断・治療

座長： 磯部 光章（東京医科歯科大学）

10:40	和泉 徹（北里大学）.....	6
	心筋炎による電氣的・構造的リモデリングと抗酸化剤による抑制作用の検討	
10:47	磯部 光章（東京医科歯科大学）.....	6
	ARVC患者35症例における予後の検討ー予後規定因子とICD/高周波アブレーションの効果についてー	
10:54	川名 正敏（東京女子医科大学付属青山病院）.....	7
	薬剤抵抗性の閉塞性肥大型心筋症に対する心房心室ペーシングとジソピラミド併用療法の急性期有効性の検討	
11:01	室原 豊明（名古屋大学）.....	7
	拡張型心筋症におけるドブタミン負荷誘発機械的交互脈の臨床的意義	

セッション3：治療・疫学

座長： 川名 正敏（東京女子医科大学付属青山病院）

11:10	堀 正二（大阪大学）.....	8
	IκB kinase β (IKKβ)/NF-κB経路はMnSOD発現の調節を介して血行動態的負荷に対して保護的に作用する	
11:07	松崎 益徳（山口大学）.....	8
	拡張型心筋症の発症と進展機序に関する検討	
11:14	小川 聡（慶應義塾大学）.....	9
	重症拡張型心筋症患者に対する免疫吸着療法	

セッション4：遺伝子（1）

座長： 今中 恭子（三重大大学）

11:32	豊岡 照彦（東北大学）.....	10
	ミトコンドリア遺伝子変異による心不全の多様性ー特に日本人と白人との差についてー	

11:39	永井 良三(東京大学).....	11
	原因不明心肥大の遺伝子変異検索ー遺伝疫学検討ー	
11:46	木村 彰方(東京医科歯科大学).....	11
	肥大型心筋症に見出されたオブスキュリン変異の機能解析	
11:53	鄭 忠和(鹿児島大学).....	12
	心Fabry病を含むFabry病4家系で検出された α -galactosidase A遺伝子変異	

セッション5：遺伝子(2)

座長： 筒井 裕之(北海道大学)

13:00	武田 信彬(東京慈恵会医科大学附属青戸病院総合診療部).....	12
	ラミニン γ 1鎖プロモーター遺伝子の転写発現調節における検討ー心筋症ハムスターJ-2-Nのマイクロアレイ解析ー	
13:07	今中 恭子(三重大大学).....	13
	心臓特異的過剰発現マウスを用いたテネイシンCの分子機能解析	
13:14	斎藤 能彦(奈良県立医科大学).....	13
	心筋線維化の検出能ー心筋生検と心臓MRIの比較ー	
13:21	砂川 賢二(九州大学).....	14
	ミトコンドリアDNAヘリカーゼTwinkleによる心筋梗塞後リモデリングの抑制	

セッション6：診断・治療・症例

座長： 砂川 賢二(九州大学)

13:30	筒井 裕之(北海道大学).....	14
	全国患者登録データから見たわが国における慢性心不全患者の特徴	
13:37	中谷 武嗣(国立循環器病センター).....	15
	特発性心筋症に対する機能代替法としての補助人工心臓・心臓移植に関する研究ー当院における国内心臓移植22例の検討ー	
13:44	岡野 光夫(東京女子医科大学).....	15
	細胞シート工学を用いて作製した3次元組織の物質透過性の解析	
13:51	北浦 泰(大阪医科大学).....	16
	組織ドブラ法を用いた新しい左室ディスシンクロニーの表示法	
13:58	河合 祥雄(順天堂大学).....	16
	たこつぼ心筋障害における死亡症例	

セッション7：メカニズム・治療

座長： 小室 一成(千葉大学)

14:05	今泉 勉(久留米大学).....	17
	サイトカインシグナルの制御と心不全の発症メカニズム	
14:12	島田 俊夫(島根大学).....	17
	拡張型心筋症における血清トロポニンT濃度と左室リモデリングの意義	
14:19	小室 一成(千葉大学).....	18
	心不全に対するG-CSF治療の臨床応用	
14:26	福田 恵一(慶應義塾大学).....	18
	心臓交感神経の幼若化ー神経機能と心肥大の関連ー	

拡張型心筋症モデルマウスと心筋梗塞モデルマウスにおけるリンパ管新生因子の影響についての比較検討

京都大学医学部附属病院救急部¹⁾／京都大学大学院医学研究科先端領域融合医学研究機構²⁾
／京都大学大学院医学研究科循環器内科学³⁾
西尾 亮介¹⁾／久保 肇²⁾／松森 昭³⁾

【目的】心筋梗塞モデルマウスにおける、心臓リンパ管の病態への関与を解明し、リンパ管新生作用を持つVEGF-C156Sおよび抗リンパ管新生作用を持つVEGFR-3-Fcの効果を検討し、拡張型心筋症モデルマウスと比較検討する。

【方法】8週齢のC57BL6マウスを開胸し、冠動脈を結紮した(第0日)。第1, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 14, 28, 56, 112, 140日に心臓を採取し、抗VEGFR-3抗体および抗podoplanin抗体にて免疫染色を行った。また、VEGF-C156SとVEGFR3-Fcの心筋傷害と心機能におよぼす効果を検討した。

【結果】免疫染色により、心筋梗塞モデルマウスにおいて、心臓におけるリンパ管の存在が明かとなった。ウイルス接種後第3日よりリンパ管が認められ、第140日には第3日に比し、リンパ管数は約16倍(94 ± 6.8 on day 140 vs. 5.8 ± 0.6 vessels/mm² on day3, $p < 0.05$)、リンパ管断面積は約18倍(7.3 ± 0.9 on day 140 vs. 0.4 ± 0.2 % on day3, $p < 0.05$)に増加した。また、リンパ管新生作用を持つVEGF-C156Sは同モデルにおいて心筋傷害を軽減し、血行動態を改善した。一方、拡張型心筋症モデルにおいては、VEGFR3-Fcが有効であった。

【結論】心筋梗塞の病態では、心臓におけるリンパ管の関与が予想された。また、拡張型心筋症の病態における心臓リンパ管の関与とは異なることが予想された。今後、リンパ管新生療法や抗リンパ管新生療法といった、新しい治療法に発展する可能性が示唆される。

新しい炎症マーカーPTX3の心不全患者における予後予測因子としての役割

山形大学医学部器官病態統御学講座循環・呼吸・腎臓内科学分野
竹石 恭知／久保田 功

Pentraxin 3(PTX3)は血管内皮細胞、血管平滑筋、マクロファージなどから産生される新しい炎症マーカーである。本研究の目的は心不全患者における血漿中 PTX3 濃度の臨床的意義を調べることである。

血漿中 PTX3 濃度を心不全患者 196 名及び正常対照者 60 名で測定した。心臓死または心不全増悪による再入院をエンドポイントとして追跡調査を行った(中央値663日)。

血漿中 PTX3 濃度は正常対照者に比べて心不全患者において有意に上昇していた($P < 0.0001$)。正常対照者の平均値+2 標準偏差から正常上限値を設定した(4.0 ng/ml)ところ、PTX3 異常高値の患者数はNYHA クラスが上がるごとに増加していった($P < 0.0001$)。追跡期間中合計 63 人の患者において心イベントが発生したが、心イベント発生率はPTX3 正常群に比べて異常高値群において有意に高かった($P < 0.0001$)。単変量 Cox 比例ハザード解析では、変数データの中で左室拡張末期径、左室収縮率、PTX3、BNP、クレアチニン、尿酸が心血管イベントの有意な予測因子であった。多変量解析では、PTX3 は心イベント発生の独立した予測因子であった(ハザード比1.21, 95%, 信頼区間1.04-1.40, $P = 0.0144$)。

血漿PTX3濃度は心不全患者において重要な予後予測因子となりうることが示唆された。

不全心筋ゲノム研究から同定された新しい心不全関連遺伝子MLCK3の検討

国立循環器病センター心臓血管内科

瀬口 理／金 智隆／朝倉 正紀／北風 政史／友池 仁暢

心不全の新たな治療対象となりうる遺伝子を同定するためにDorあるいはBatista手術の際に切除された心筋切片よりmRNAを抽出し、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行った。その結果、不全心筋においてその重症度と一致してその発現が上昇し、心臓のみに特異的に発現する新規遺伝子を同定した。現在この新規遺伝子MYLK3に対して基礎研究からのアプローチにより、その機能解析を行っている。

MYLK3から合成されるタンパクはリン酸化酵素であると考えられ、その基質として心室型ミオシン軽鎖(MLC2v)を同定した。さらにその分子構造はこれまでに報告されていた平滑筋型および骨格筋型のミオシン軽鎖キナーゼとの高い相同性を認め、cardiac-MLCK：心臓型ミオシン軽鎖キナーゼ(遺伝子名：MYLK3)と命名した。新生ラット培養心筋細胞やゼブラフィッシュにおける過剰発現実験や発現抑制実験により、cardiac-MLCKはミオシン軽鎖のリン酸化を介してサルコメア構造形成を促進されることが示めされた。今後はcardiac-MLCKと心不全とのかわりに注目し、解析を進めていく予定である。

新しい霊長類拡張型心筋症モデルの解析

国立国際医療センター循環器科¹⁾／医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター²⁾

／三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学³⁾

廣江 道昭¹⁾／揚山 直英²⁾／保富 康宏²⁾／今中 恭子³⁾／吉田 利通³⁾

【背景および目的】拡張型心筋症の病態解明、新規診断・治療法開発研究推進のためにはモデル動物が有用であることは言うまでもない。我々はヒトに最も近縁な霊長類の大規模繁殖コロニーより拡張型心筋症モデルを得たので紹介する。

【方法】20才以上の高齢群をふくむ1500頭規模のカニクイザル繁殖コロニーに心機能スクリーニングを行い、拡張型心筋症を疑う個体10頭を抽出し心エコー図、心電図、胸部レントゲン、血圧検査、MRI検査、ANPおよびBNP測定を行い、正常個体と比較した。剖検心筋組織の病理学的解析も行った。

【結果および考察】10頭に心陰影の拡大、心室のびまん性拡張、FS、EFの低下、ANP、BNPの優位な上昇が認められた。10頭中5頭は心不全症状を示し、血縁関係にあることが確認された。重症心不全で死亡した2頭および、犠牲剖検した一部個体の心筋組織には、種々の程度および病期の心筋細胞の変性、脱落、間質に広範な線維化、活動性病巣周囲のテネイシンCの沈着などヒトの拡張型心筋症にきわめて類似した所見が見られた。

【結論】ヒト病態を反映するカニクイザル拡張型心筋症家系の存在が明らかとなった。本モデルは心臓病態学ならびに拡張型心筋症の新規診断・治療法開発研究に多くの知見を与えるものと思われる。

【背景】我々は、ラット自己免疫性心筋炎モデル(EAM)において、急性心筋炎活動期に心室の催不整脈性が増加し、その背景として心筋肥大や間質浮腫などの構造的変化に加え、一過性外向きK⁺電流の減少を主因とする活動電位持続時間の延長が関与していることを報告してきた。炎症期にこれらの変化を来す要因として、組織酸化ストレスの過剰状態の関与が推定されるため、今回我々は抗酸化剤による心筋リモデリング抑制効果を検討した。

【方法】6週齢のLewisラットにブタ心筋ミオシンでEAMを惹起した。感作後10および11日の超急性期に、N-acetylcysteine(NAC, 1, 10, 100mg/kg/日)またはニカラベン(300, 900mg/kg/日)を腹腔内投与した。第14日に、電氣的計測値(有効不応期:ERP, 活動電位長:APD)と、炎症性サイトカインレベル(TNF- α , IFN- γ , IL-10)および心筋イオンチャネル関連分子(Kv4.2, Kv4.3, Kv1.5, erg, L-type Ca²⁺)のmRNA発現レベルを評価した。またHexanoyl-lysine(HEL)染色により、組織の酸化ストレス発現を評価した。

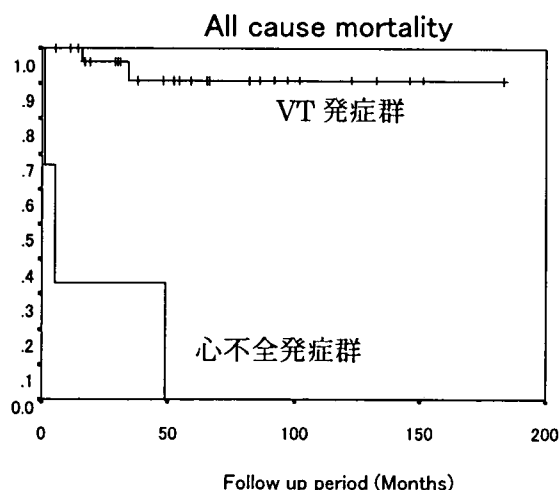
【結果】対象とした無治療EAMラットでは、急性心筋炎が誘導され、炎症性サイトカインの上昇、ERPとAPDの延長、Kv4.2発現の低下を認めた。NACとニカラベンはこれらの変化を用量依存的に抑制した。

ARVC患者35症例における予後の検討—予後規定因子とICD/高周波アブレーションの効果について—

【目的】不整脈源性右室心筋症(ARVC)は右室機能低下と致命的な心室性不整脈を主徴とする比較的にまれな心筋症である。ICDや高周波カテテル心筋焼灼術(RFCA)の普及など心室性不整脈の治療体系が大きく変わってきたが、最近のARVCの予後についての検討は少ない。今回ARVC患者35症例の比較的に長期にわたる経過を検討した。

【方法と結果】当教室関連病院で診療したMckennaらの診断基準を満たすARVC症例35例(男性26例、女性9例)で発症時の平均年齢は45.6 $\pm$ 15.6歳、平均観察期間は54.5ヶ月であった。初診時の臨床診断は心室頻拍(VT)30例、心不全3例、心室期外収縮2例であった。5例の死亡例があり、不整脈死は運動後のVTから死亡に至った1例のみで、4例は心不全による死亡であった。心不全死亡のうち3例は初発症状が心不全であり、発症時年齢は66.0 $\pm$ 4.0歳とVTで発症した群より高齢で、生存率にも有意差がみられた。RFCAを施行された19例のうち10例でVTが再発し、1例がVTにより死亡した。一方でICD治療を受けた19例中1例に心不全による死亡がみられた。

【結論】比較的高齢期に心不全で発症するARVCは生命予後が悪い。ICD治療群とRFCA治療群では生存率に有意差はみられなかったが、術後の入院回数はICD治療群が有意に低値であった。



薬剤抵抗性の閉塞性肥大型心筋症に対する心房心室ペーシングとジソピラミド併用療法の急性期有効性の検討

東京女子医科大学病院循環器内科¹⁾／東京女子医科大学附属青山病院循環器内科²⁾／Columbia³⁾
南 雄一郎¹⁾／梶本 克也²⁾／川名 正敏³⁾／笠貫 宏¹⁾／Mark V. Sherid³⁾

【背景・目的】閉塞性肥大型心筋症(HOCM)の左室流出路圧較差(LVOT-PG)に対する治療法として、ジソピラミドと心房心室ペーシング(DC-P)療法は現在確立されているが、これらの併用療法の効果については未だ十分検討されていない。今回我々は、ジソピラミドおよびDC-Pの単独療法にて有効性を認めなかった症例に対し、I-ADとDC-Pの併用療法が有効性を示すか否かを検討した。

【対象・方法】当施設でHOCM(安静時LVOT-PG >40 mmHg)と診断され、 β 遮断剤とジソピラミドにて自覚症状およびLVOT-PGの改善(<40 mmHg)を認めず、DC-Pの評価が可能であった連続24例(ジソピラミド非投薬時の平均LVOT-PG $=89$ mmHg)を対象とした。ジソピラミド投薬中止後、心臓カテーテル検査にて心房ペーシング・DC-P・ジソピラミド静脈投与・DC-P+ジソピラミドにおける各LV-PGを評価し、DC-P+ジソピラミド併用療法の効果を各単独療法と比較検討した。ただし、DC-P単独にてLVOT-PG <40 mmHgを認めた場合、併用療法は行わなかった。

【結果】DC-P単独療法により24例中7例でLVOT-PG <40 mmHgを認めたため、DC-P+I-AD併用療法の評価は17例に施行された。この17例のLVOT-PGは、DC-P単独療法により 102 ± 35 から 74 ± 25 mmHg、ジソピラミド単独療法では 64 ± 21 mmHgへの改善を認めるのみであったが、DC-P+ジソピラミド併用療法により 28 ± 23 mmHgへの改善を認めた。また、この併用療法によりLVOT-PG <40 mmHgを認めたのは、17例中15例(88%)であった。

【結語】HOCM症例においてジソピラミドおよびDC-Pの単独療法に有効性を示さなかった症例でもDC-P+ジソピラミド併用療法が有効性を示す可能性が高く、その長期有効性も含めて更なる検討が必要であることが示唆された。

拡張型心筋症におけるドブタミン負荷誘発機械的交互脈の臨床的意義

名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科学
平敷安希博／小林 正和／井澤 英夫／室原 豊明

【背景・目的】機械的交互脈は、重症不全心でしばしば認められる生理的現象であり、特に頸脈下で出現しやすいことが知られている。以前我々は、軽症拡張型心筋症(DCM)において、右房ペーシングにより機械的交互脈が誘発される症例は心イベント発生率が高いことを報告した。また、ドブタミン負荷試験に対する心筋収縮能の応答性が心筋収縮関連タンパク発現異常と関連していることを報告した。今回、我々はドブタミン負荷試験により誘発される機械的交互脈と予後との関連について検討した。

【方法】対象はNYHA I, II度の比較的症狀が軽いDCM90例で、マイクロマノメーター付きビッグテールカテーテルにより、左室圧を測定しながら右房ペーシング負荷試験およびドブタミン負荷試験を行った。右房ペーシングはWenckebach II度房室ブロックの出現まで、心拍数を10bpmずつ漸増した。ペーシング負荷試験終了後、ドブタミン静脈内投与を $5\mu\text{g/kg/min}$ から開始し、5分経過した後に $10\mu\text{g/kg/min}$ に増量し、増量5分後の安定した状態で血行動態データを収集した。心イベントは、心臓死、心不全入院およびCRTもしくはICDの移植術の施行と定義し、予後を検討した。

【結果】ペーシングにより機械的交互脈が誘発されなかった60例(N群)は全例がドブタミン負荷試験にても機械的交互脈は誘発されなかった。一方、ペーシングにより機械的交互脈が誘発された30例は、ドブタミン負荷試験にて機械的交互脈が誘発されなかった20例(P群)と機械的交互脈が誘発された10例(D群)に分類できた。3群間において血漿BNPおよびノルエピネフリン濃度、 $LVdP/dt_{\text{max}}$ 、 $T_{1/2}$ に差を認めなかった。N群は他群と比較しLVEFが有意に高値であったが、P、D群間では、EFに差を認めなかった。平均2.1年の追跡により、D群はN群およびP群に比し有意に心イベント発生率が高かった($p=0.002$)。

【結語】ドブタミン負荷誘発機械的交互脈の出現は、軽症DCMにおける有用な臨床的予後予測因子であることが示唆された。

IKK kinase β (IKK β)/NF- κ B経路はMnSOD発現の調節を介して血行動態的負荷に対して保護的に作用する

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学
彦惣 俊吾／武田 理宏／大津 欣也／堀 正二

【背景】我々はこれまでに、培養心筋細胞における心肥大にNF- κ Bを介したシグナルが関与していることを報告してきたが、*in vivo*の心筋リモデリング進展機序におけるこの経路の役割は依然不明である。今回我々は心筋特異的IKK β 欠損マウスを用いて、IKK β /NF- κ B経路の心筋リモデリングにおける役割について検討した。

【方法】floxed IKK β マウスとMyosin light chain 2Vプロモーター依存性にCre recombinaseを発現するノックインマウスを交配し、心筋特異的IKK β 欠損マウスを作成した。

【結果】IKK β 欠損マウスの定常状態における心形態、心機能はコントロールマウスと比較し有意な差を認めなかった。そこで横行大動脈縮窄(TAC)による圧負荷モデルを作成し、圧負荷に対する反応性を検討した。欠損マウスでは圧負荷によるIKK, NF- κ Bの活性化が抑制されていた。また、欠損マウスでは圧負荷作成1週間後に心内腔の拡大、心収縮力低下、肺うっ血を認め、心不全を発症していた。組織学的検討では心筋細胞のアポトーシスおよび線維化の増加を認めた。NF- κ B依存性遺伝子の発現を検討したところ、欠損マウスではMnSODの発現低下を認め、その結果酸化ストレスの増加が認められた。欠損マウスから単離した心筋細胞では、イソプロテレノール刺激による細胞死の増加が認められたが、その増加はMnSOD mimeticにより有意に減少した。

【結語】IKK/NF- κ B経路は、MnSODの過剰な発現低下を抑制することでストレスに対して保護的に働いている。

拡張型心筋症の発症と進展機序に関する検討

山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学¹⁾／聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター²⁾
中村 浩士¹⁾／松嶋 敦¹⁾／松崎 益徳¹⁾／加藤 智啓²⁾／西岡久寿樹²⁾

心筋炎マウスとヒトDCM患者のそれぞれの血清を用いて自己抗原のプロテオミクスを行い、ヒトDCMの進展機序を免疫学的に解明することを目的とした。

【方法】CVB3にて再感染させたマウス血清よりLC-MS/MS法にて質量解析を行い心筋抗原を同定した。更に、研究同意を得たDCM患者(4名：平均年齢55.3歳)の血清を二次元電気泳動法にて展開したヒト心筋蛋白(膜分画)と反応させた。二次抗体処理にて得られたドットをMALDI-TOF/MSにて蛋白同定を行った。

【結果】マウス再感染モデルの血清から、心筋細胞膜蛋白の自己抗原として hsp60、また細胞質蛋白よりThrombomyosin, ATPase β chain, α -cardiac actin が同定された。DCMの患者血清からは、aconitase、flavoprotein precursor, acyl-Coenzyme A dehydrogenase や voltage-dependent anion channel が同定された。

【考察】DCM患者血清からはミトコンドリア内蛋白が心筋抗原として同定された。これらの抗原蛋白とcoxsackievirus B3のシークエンスの解析から、高い相同性と抗原性を持つエピトープが種を超えて検出された。疾患マウスと患者双方より細胞膜分画に自己抗原が同定されたことより、自己免疫機序による心筋細胞障害の可能性が示唆された。マウスとヒトのDCMの発症には、これら複数のエピトープによる“B-cell epitope spreading”が関与している可能性が示唆された。

スポット番号	2D上のスポット位置 MW(Da)/pI	Accession#	タンパク名	配列データの 計算値 MW(Da)/pI	陽性率(%)	
					Pt	Healthy
Di.1 Di.2 Di.3 Di.4	83.6k/7.04 83.0k/7.14 83.3k/7.27 83.9k/7.41	gi 4501867	aconitase 2 precursor [Homo sapiens]	85372.7.36	75 75 75 50	0 0 0 0
D.103 D.104 D.105	70.4k/6.29 70.5k/6.37 70.1k/6.45	gi 4759080	succinate dehydrogenase complex, subunit A, flavoprotein precursor [Homo sapiens]	72643/7.06	75 75 75	25 25 25
Di.8	42.3k/6.80	gi 4557233-	acyl-Coenzyme A dehydrogenase, C-2 to C-3 short chain precursor [Homo sapiens]	44269/8.13	25	0
Di.9 Di.10 Di.11	32.4k/8.59 32.0k/8.87 31.9k/9.10	gi 4507879	voltage-dependent anion channel 1 [Homo sapiens]	30754/8.62	25 25 25	0 0 0

重症拡張型心筋症患者に対する免疫吸着療法

慶應義塾大学医学部循環器内科¹⁾／慶應義塾大学医学部腎臓内科²⁾
／北里研究所病院循環器科³⁾／平塚市民病院循環器科⁴⁾

吉川 勉¹⁾／馬場 彰泰³⁾／長友 祐司¹⁾／内藤広太郎¹⁾／栗田 康生⁴⁾／門川 俊明²⁾／小川

聡¹⁾

心筋症はわが国の心移植登録患者の約8割を占める予後不良の難病である。重症心不全に陥りやすい拡張型心筋症(DCM)の85%に何らかの抗心筋自己抗体が検出される。これらのうち、 β 1アドレナリン受容体、ムスカリンM2受容体、トロポニンI、Na-K-ATPaseに対する抗体などいくつかはDCMの進展・悪化に寄与することが最近の研究によって明らかにされた。薬物治療抵抗性の心不全に陥った場合の治療戦略の一つとして、免疫吸着によるこれらの自己抗体除去が期待される。ドイツを中心に本治療法が行われており、心機能の改善と共に β アドレナリン受容体に対する抗体価が低下することが報告されている。われわれは β 1アドレナリン受容体あるいはムスカリンM2受容体に対する自己抗体を有する場合、免疫グロブリンの吸着によって心機能が改善するとの基礎的データを得た。このような経緯を踏まえて、われわれはDCMによる重症心不全例への臨床応用に着手した。第1例目として、53歳女性の重症心不全例に対して本治療法を試みた。週1回計3回の吸着により、 β 1自己抗体価は300倍から20倍に低下し、ムスカリンM2受容体抗体は50倍から陰性となった。左室駆出率は4%から11%へ、血漿BNP濃度は1933pg/mlから1058pg/mlとなった。第3例目から週3回計5回の吸着を行うよう治療プロトコルを変更した。19歳男性のDCM例では、吸着療法後血漿BNP濃度は1044pg/mlから506pg/mlに低下し、心不全治療薬点滴静注からの離脱に成功した。現在まで計6例に本治療を施行し、経過観察中である。

【結論】免疫吸着療法による自己抗体除去はDCMによる重症心不全例に有効性が期待される治療戦略である。有効例の検出方法や吸着プロトコルの確立が今後の課題である。