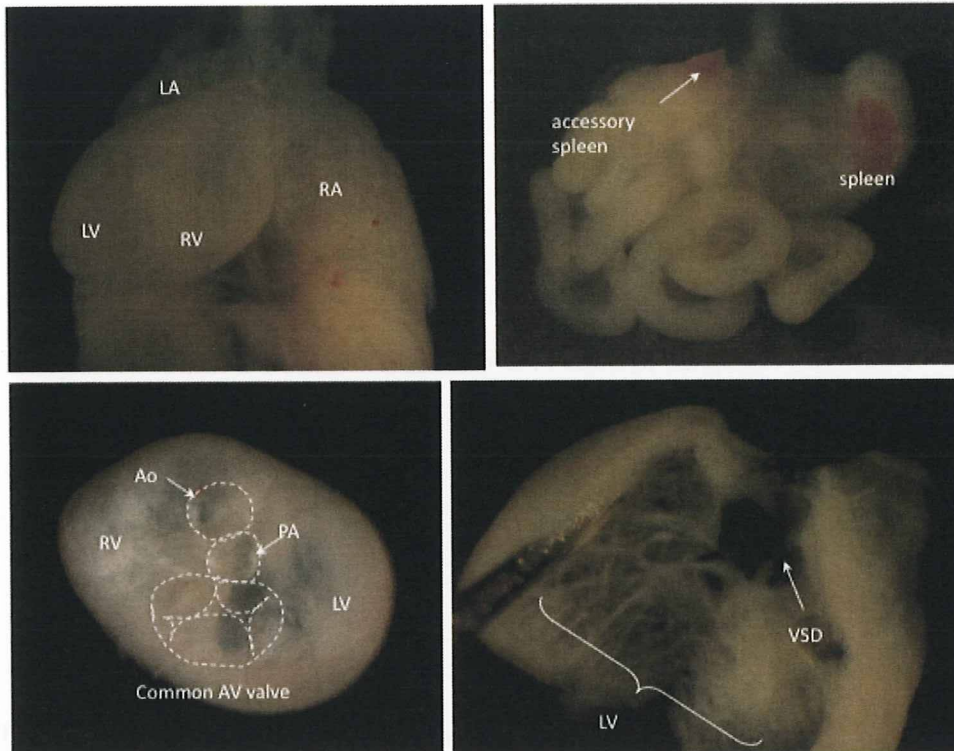
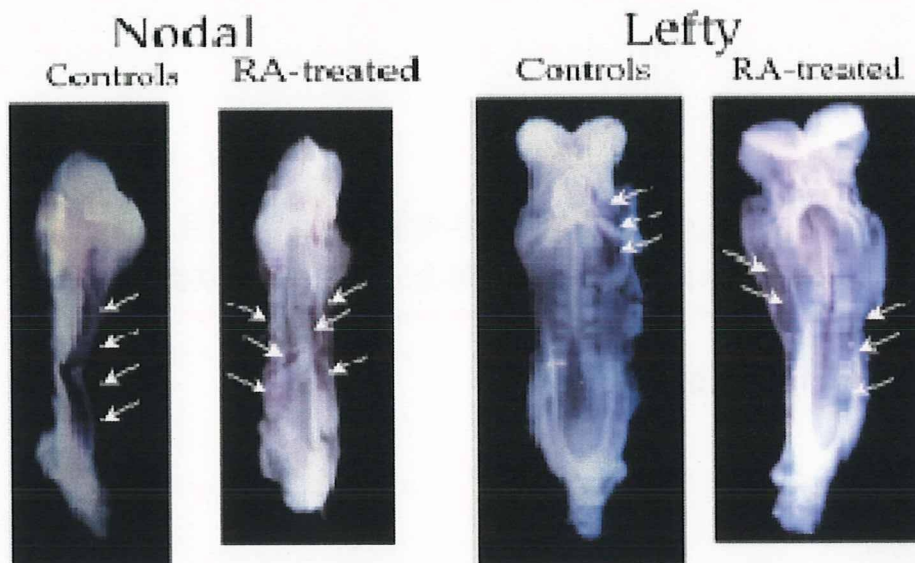


E6.5

**Left isomerism (A(I),L,L), dextrocardia, IVC interruption
common AV canal, TGA (l-transposition), VSD, ASD, right Ao arch**



Lefty and Nodal are randomized in RA-treated embryos



考察

左右軸決定の比較的初期の胎生 6.5 日の RA 投与で右側相同が発症する可能性として、i) 原始結節での nodal flow は正常であるが、左右軸決定因子 Nodal や Lefty の産生が障害されたために、左側側板中胚葉において左側を決定するだけの閾値に達しない、ii) Nodal や Lefty は正常に産生されるが、原始結節における monocilia の螺旋運動が障害されて nodal flow が十分に機能せず、nodal や Lefty がランダムに分布し、各々の部分で左を決定するだけの閾値に達しない、iii) これら両者のメカニズムが混在する、以上の可能性が考えられた。

また左右軸決定の比較的後期である胎生 7.0 日投与で左側相同が発症する可能性として、i) Nodal や Lefty は正常に十分量産生されるが、nodal flow に障害が生じ、左側決定因子が左右にランダムに分布し、それぞれの場所で左側を決定するだけの閾値に達し発症した可能性が考えられた。また胎生 7.0 日投与で完全内臓逆位が発症する可能性として、ii) Nodal や Lefty は正常に十分量産生され、何らかのメカニズムで逆向きの nodal flow が生じた可能性、が考えられた。

結論

妊娠マウスへの RA 投与により、内臓錯位症候群の発症メカニズムを部分的に明らかにすることが可能であった。今後はどの場所でどのような遺伝子発現が増減すると先天性心疾患が発症するのかに関する分子生物学的なメカニズムについて、DNA マイクロアレイなどの手法を用いて明らかにする予定である。

論文発表

該当なし

研究発表

- 1) 白石 公ほか. 第 44 回日本小児循環器学会学術集会 2009 年 7 月. 神戸.
- 2) 白石 公ほか. 第 74 回日本循環器学会学術集会. 2010 年 3 月. 京都.

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

「内臓錯位症候群の疫学と予後に関する研究」

研究分担者	賀藤 均	国立成育医療センター循環器科	医長
研究協力者	三崎泰志	国立成育医療センター循環器科	医員
研究協力者	金子正英	国立成育医療センター循環器科	医員
研究協力者	林 泰佑	国立成育医療センター循環器科	レジデント
研究協力者	朝海廣子	国立成育医療センター循環器科	レジデント
研究協力者	安藤和秀	国立成育医療センター循環器科	レジデント

研究要旨

無脾症候群が、多脾症候群、脾臓の正常な内臓錯位症候群、非内臓錯位症候群（両大血管右室起始症、単心室）と比較して、予後が不良かどうか後方視的にカルテ調査を行った。無脾症候群 21 例、多脾症候群 9 例、脾臓の正常な内臓錯位症候群 5 例、非内臓錯位症候群（両大血管右室起始症、単心室）24 の計 59 例が 3 年間に外来を受診していた。この 3 年間に死亡したのは、無脾症候群 2 人（敗血症性ショック 1 人、総肺静脈還流異常＋肺静脈狭窄の術後死亡 1 人）、多脾症候群 1 人（生後 2 日目の原因不明の突然死）であった。学校生活指導管理表、NYHA 分類では、相対的に多脾症候群、脾臓の正常な内臓錯位症候群、非内臓錯位症候群（両大血管右室起始症、単心室）の患者は無脾症候群患者に比し、若干 QOL が良好という程で統計学的な有意差はなかった。これは手術結果の影響が大きな影響を及ぼしていたと思われる。低酸素血症の有無も、同様に無脾症候群の他の群では差はなく、やはり手術結果の影響が大きいと思われる。無脾症候群に特徴的だった結果は、無脾症候群のみでフォンタン型手術後 2 人で肝硬変が見られたこと、菌血症が 5 人いたことである。心臓外科手術の向上により、無脾症候群の予後に関する問題は、フォンタン手術後の肝硬変、感染症のみが、今後も残る可能性が大きい。

研究目的

先天性心疾患の予後は、術前術後の内科的管理や心臓外科手術の進歩により、ほとんどの疾患で満足いくものとなっている。しかし、先天性脾臓欠損を合

併する先天性心疾患の一群である無脾症候群の予後が満足いくものかどうか、まだ意見の一致をみない。特に、無脾症候群では、総肺静脈還流異常(TAPVR)を合併しない群の1年生存率は80%といわれるが、TAPVRを合併すると35%に低下するとされる。また、無脾症候群、多脾症候群おのおのの生存曲線の報告はあるものの、同じ右室型単心室でも無脾症候群とそうでない群(多脾症候群、非内蔵錯位症候群)での予後の違いについて、まだ、国内での検討はなされていない。予後の内容についても、生死のみの検討ではなく、生活の質についての検討は少ない。

今回、我々は、無脾症候群の予後を、多脾症候群、非内蔵錯位症候群と比較検討し、特に単心室症の予後の違いについて検討することを目的とした。

研究方法

対象疾患は、3年間(2007年1月から2010年1月の3年間)に当院循環器外来を受診した患者に絞ってカルテを後方視的に検討したに受診した。患者の内、内蔵錯位のある群として、無脾症候群、多脾症候群、内蔵錯位はあるものの脾臓の異常のなかった群をピックアップし、対象群には内蔵錯位症候群を合併しなかった兩大血管右室起始症、単心室症とした。

調査項目は表1に示す。

患者と連結する別のID数字を暗号化して作成し、調査票にはその暗号化された数字を記入した。結果、患者と調査票は非連結匿名化されたことになる。患者を暗号化したID数字の表は、賀藤が鍵のかかる場所に保管することとした。

研究結果

- 1、患者数:無脾症候群は21例(男:女=11:10、年齢中央値14歳)、多脾症候群は9例(男:女=4:5、年齢中央値6歳)、脾臓が正常な内蔵錯位症候群は5例(男1例、女4例、年齢7歳、17歳、31歳、37歳、38歳)、コントロール群としての非内蔵錯位症候群(単心室、兩大血管右室起始)として、24例(男:女=11:13、年齢中央値14歳)が相当した。
- 2、死亡例は、無脾症候群では21例中2例、多脾症候群では9例中1例、脾臓正常の内蔵錯位症候群とコントロール群ではゼロであった。無脾症候群で死亡した2例の原因は、肺静脈狭窄を呈したTAPVRの修復と

Blalock-Taussig 短絡手術の心内修復術後、原因菌不明の敗血症性ショックであった。多脾症候群の死亡例は生後 2 日目の突然死で原因は不明であった。

- 3、 心疾患胎児診断の有無：心疾患胎児診断の有無に関して、以下に有り・無し・不明の順に、各々の群で結果を記す。無脾症候群では 7 名・10 名・4 名、多脾症候群では 5 名・2 名・2 名、内蔵錯位はあるものの脾臓異常がない群では 0 名・2 名・1 名、非内蔵錯位症候群では 6 名・15 名・4 名であった。
- 4、 区分診断は表 2 に示した。非内蔵錯位症候群は全員 situs solitus であった。心耳、気管支の situs については、未記載も多くみられた。心室の loop は未記載が多かった。肝臓については、無脾症候群では記載のあった 19 例中 17 例で対称肝であった。多脾症候群では記載のあった 8 例中、4 例で対称肝であった
- 5、 心奇形の診断は、表 3 に示した。無脾症候群では 21 例中 15 例が右室型単心室で、左室型単心室はゼロ、型不明の単心室は 2 例であった。非内蔵錯位症候群でも、24 例中、右室型単心室が 3 例、左室型単心室が 4 例、型不明単心室が 2 例の合計 9 例で単心室があり、15 例で両大血管右室起始（単心室に合併しないもの）があった。多脾症候群では 9 例中単心室が 4 例で全員右室型であり、心室中隔欠損 2 例、両大血管右室起始 3 例がみられた。
- 6、 総肺静脈還流異常(TAPVR)の合併は、無脾症候群で記載のあった 19 例中 6 例に合併し、Ia 型 1 例、Ib 型 1 例、III 型 3 例、混合型 1 例で、肺静脈合併例は 2 例であった。他の群には TAPVR の合併はみられなかった。
- 7、 入院時の房室弁逆流については、記入があった 15 人の無脾症候群の内、共通房室弁の mild の逆流が 10 人（無しが 4 人）、両側房室弁逆流が mild だったのが 1 人であった。多脾症候群で記載のあった 9 人中、共通房室弁逆流無しが 2 人、mild が 1 人、両側房室弁逆流無しが 6 人であった。脾臓の正常な内蔵錯位症候群では 2 人のみの記載があり、2 人とも両側房室弁逆流無しであった。非内蔵錯位症候群の記載のあった 24 人中、両側房室弁逆流無しが 18 人、mild が 2 人、共通房室弁逆流無しが 3 人、mild が 1 人であった。
- 8、 Howell-Jolly 小体が確認された無脾症候群は 6 人で、14 人は記載が

不明であった。無しと診断されたのはゼロであった。

- 9、最後の1年間の間で記入されていた就学児童・生徒の学校生活指導管理表の状況は、無脾症候群ではD：3人、E：2人、運動クラブ可1人、禁4人、多脾症候群ではE—禁：2人、脾臓の正常な内臓錯位症候群 E・禁2人、E・可1人、非内臓錯位症候群では E・禁：3人、D：2人であった。
- 10、在宅酸素を施行中の患者数は、無脾症候群で8人、多脾症候群0人、脾臓正常な内臓錯位症候群は1人、非内臓錯位症候群では5人であった。
- 11、就学年齢以外の患者で、NYHA をカルテからピックアップすると、表4のようになった。Ⅲ度は無脾症候群で1人のみであった。Ⅱ度は全ての群にみられた(表4)。
- 12、腎不全は無脾症候群と非内臓錯位症候群に1人ずつみられた。原因は双方ともにチアノーゼ性腎症であった。
- 13、肝障害は無脾症候群に3人おり、全てフォンタン術後肝硬変であり、GOT、GPT は正常範囲だったが、総ビリルビンは2.0mg/dl 以上であった。
- 14、現在抗心不全薬を服用中患者は、現在もフォローされていない患者をのぞいたところ、無脾症候群で12/17人、多脾症候群3/8人、脾臓の正常は内臓錯位症候群で4/5人、非内臓錯位症候群で15/24人であった(表5)。
- 15、ワーファリン投与中の患者は、無脾症候群、非内臓症候群で11人、多脾症候群では5/5人であった。
- 16、不整脈については、この1年間に不整脈発作を起こしたことがある患者は、無脾症候群で2人(発作性上室性頻拍2人)、多脾症候群で1人(SSS)、脾臓正常は内臓錯位症候群では1人(心房粗動)、非内臓錯位症候群で2人(2人とも心房細動)であった。最近1年以内のアブレーション既往は無脾症候群でフォンタン前のPSVT に1人であった。永久ペースメーカー植込みは、多脾症候群では1人(SSS)、症候群では非内臓錯位症候群で1人(心房細動)の計2人のみであった。
- 17、現在の職業について、カルテからピックアップできた範囲での結果を表7に示した。Full-time の職業が明らかだったのは、無脾症候群、多脾症候群、脾臓正常の内臓錯位症候群で1人、非内臓錯位症候群では6人であった。未就学、学生がまだ、多かった(表6)。
- 18、重症感染症(髄膜炎、心内膜炎、菌血症)の有無については、無脾症候

群で5人が菌血症になった以外、他の群ではゼロであった。無脾症候群の菌血症5人の内、2人で肺炎球菌が培養されたが、3人では不明であった。また、2人が敗血症で死亡したが、内1人は、敗血症というより、周術期の感染症であった。

19、無脾症候群では、抗生物質予防投与は6人で、全員、AMPCである。ニューモバックス注射は5人であった。

考察

心奇形の診断は、単心室だけに焦点を当てると、無脾症候群は17/21(81.0%)、多脾症候群では4/9(44.4%)、脾臓正常内臓錯位症候群は1/5(20%)、非内臓錯位症候群は9/24(37.5%)であった。単心室の合併率は、多脾症候群では10%前後、無脾症候群で約50%との報告が多い。ただ、我々の調査では、非内臓錯位症候群でも37.5%に単心室が存在したことになり、これらの群と無脾症候群の間で、単心室の予後を検討することは意義が大きいかもしれない。

後方視的に調査した範囲内で、この3年間に死亡した症例は、無脾症候群の2例、多脾症候群で1例であった。無脾症候群の1例は敗血症性ショックで、他の1例は肺静脈狭窄のある総肺静脈還流異常症を合併した単心室症の術後死亡、多脾症候群の死亡例は生後2日目の突然死で、原因不明であった。当科ではこの1歳以下で外来受診していたのは3人で、このうち1人死亡したことになる。多脾症候群で死亡した例は突然死で、詳細は不明である。他の脾臓の正常な内臓錯位症候群、非内臓錯位症候群では、この3年間に死亡例はない。症例数は少ないが、無脾症候群では注意深いフォロー、周術期管理の向上が必要と思われる。

肺静脈狭窄が存在した総肺静脈還流異常の合併は、無脾症候群の予後を大きく左右する。特に新生児期に手術せざるをえない肺静脈狭窄合併総肺静脈還流異常修復術は、無脾症候群の中でも非常に予後は悪いとされる。我々の患者で総肺静脈還流異常の合併をみたのは、カルテに記載のあった無脾症候群6/19(31.6%)のみで、他の群には合併していなかった。このうち、肺静脈狭窄例は2例で、その内1例が周術期に死亡した。救命例は他院での手術症例で、詳細は不明である。心臓外科の進歩のため、総肺静脈還流異常の存在自体で、無脾症候群と他の群の間に、手術の予後に大きな差はないようであるが、肺静脈狭窄の合併がこれからも大きな問題となる。

胎児心臓診断（エコー診断）は、ここ数年間に臨床の現場に定着しつつある技術である。今回、胎児心臓診断についても調査したが、我々の患者では15歳以上も多いため、胎児診断が行われていた患者数は、全ての群で合わせて、18/59名（30.6%）であった。特に3歳未満の患者が殆どであった。今後増加するものと想像されるが、この胎児心臓診断が全体の予後にどのように影響するかどうかは、今後の検討課題である。

区分診断法に関する調査では、気管支の situs の決定まで、当科フォロー患者ではきちんとなされていないことがわかった。また、他院からも紹介状にも気管支の situs の記載がないことも問題である。心耳ループの診断の記載も今後の残された課題となった。

房室弁逆流は、フォンタン型手術の適応を決める際に大きな問題となる。そのため、今回、初診時の房室弁逆流についても検討している。初診時所見の記入のあった無脾症候群15人中10人（66.7%）で mild な逆流があった。多脾症候群では記載のあった9人中6人では共通房室弁逆流は無かった。このことは、症例数は小さいものの、無脾症候群の単心室の共通房室弁で、多脾症候群よりも頻度が多く、mild な逆流が存在すると考えられる。非内臓錯位症候群24人中、共通房室弁は3人のみで、その内1人のみで mild な逆流を認めたが、症例数が少ないので、解釈は困難である。ただ、今回の調査では房室弁逆流がフォンタン型手術に関して悪影響を及ぼすか否かの検討はされていないが、印象では、ほとんど影響がなさそうであった。

Howell-Jolly 小体は、有無の記載のあった20人の無脾症候群中、6人で確認されていたが、14人は無記入で、後方視的検討の限界であった。

就学児童・生徒の学校生活指導管理表の区分は、全ての群を合わせて15人で記載があったが、無脾症候群、非内臓錯位症候群で3人ずつが D であった。全て、フォンタン型手術に至らなかった患者で、低酸素血症が存在していた。他の9人は E となっていたが、運動クラブ可能は無脾症候群1人、脾臓正常の内臓錯位症候群1人、非内臓錯位症候群2人であった。学校での運動制限などは、症候群の有無に関係なく、心臓手術の結果、又はフォンタン型手術へ辿りついたかどうかによって左右されるものと想像される。

在宅酸素吸入療法を行っているものの14/59人（23.7%）だったが、その適応は、重度の低酸素状態、低酸素改善ではなく肺血管拡張作用を期待しての2通りであり、必ずしも重症度とは関係していない。ただ、無脾症候群では8/1

4人(57.1%)と在宅酸素吸入療法施行患者の約6割弱を閉めており、その適応とは、肺高血圧や肺動脈低形成のためフォンタン型手術に至らず、低酸素状態になっていることが適応である例が多く、無脾症候群患者では生活制限となる例が多いことが示唆された。

就学児童・生徒以外では、NYHA分類の記載をピックアップした。やはり、無脾症候群患者でNYHA分類が悪化する傾向はあるものの、非内臓症候群でも7/23(30.4%)がNYHAⅡ度となっており、無脾症候群が悪化の要因になるかどうかは症例数を重ねる必要がある。

腎不全は無脾症候群と非内臓錯位症候群で各々1人にみられたが、原因はチアノーゼ性腎症であった。今回の調査では、チアノーゼ性腎症というカテゴリーでは調査されていない。チアノーゼ性腎症は、成人先天性心疾患患者では、長期に及ぶ低酸素血症による多血症によって、単位時間当たりの腎系球体を循環する血漿量も減少することが関与しているとされる。年齢を経るにつれて、また、単心室症患者でフォンタン型手術までいかなかった患者では、今後大きな問題となり、心腎連関によって、患者の予後を規定する因子になる可能性がある。

特筆すべきは、無脾症候群のフォンタン型手術施行患者2人に肝硬変がみられたことである。最近、フォンタン型手術後に肝硬変が出現することが話題となっている。この肝硬変の診断は、血中コリンエステラーゼ低下、肝臓エコー、造影CTによる。われわれの施設でもフォンタン型手術患者全てで肝硬変スクリーニングを行ってはいない。今後システム化した定期的フォローが必須であろう。たまたま、肝硬変2人は、無脾症候群患者で、他の群のフォンタン型手術後にはいなかった。しかし、症例数が少ないため、フォンタン型手術後の肝硬変の危険因子として無脾症候群があるか否かは、今後の検討課題である。

調査時点での抗心不全薬、抗凝固薬の使用状態は、各群で特に特徴はなかった。これは単心室患者では心筋保護作用、後負荷軽減を目的にACE阻害薬(エナラート)を使用することが多いためであった。利尿剤も汎用されていた。抗凝固薬としては抗血小板薬のみでなく、ワーファリンの併用も多かったが、これはフォンタン型、グレン術後患者に対する診療科としての方針である。

不整脈では、この1年間に不整脈発作を起こした例のみでいえば、無脾症候群で発作性上室性頻拍が2人、多脾症候群で洞機能不全症候群が1人、脾臓正常内臓錯位症候群で心房細動1人、非内臓錯位症候群で心房細動が2人であつ

た。無脾症候群のフォンタン型手術前の2歳女子を除けば、他は全例20歳以上であった。不整脈の種類は、無脾症候群の発作性上室性頻拍は特徴的である。洞機能不全症候群、心房細動、心房粗動は心内修復術後長期における心房筋の破綻が原因と思われる。これは脾臓の有無に関係なく、今後の大きな問題である。多脾症候群に特徴な房室ブロックは、この1年間ではみられなかった。

現在の社会的状況について調べたが、就学前の患者を除いて、記載のあった内、無脾症候群で full-time の仕事にあるのは 1/8 人 (12.5%)、多脾症候群では 1/4 人 (25%)、脾臓正常な内臓錯位症候群では 1/2 人、非内臓錯位症候群では 6/12 (50%) となる。これは、症例数は少ないものの、明らかに、非内臓錯位症候群で両大血管右室起始症が多かったことによるものであろう。単心室同士での比較は困難と思われる。

無脾症候群は免疫異常が存在している。即ち、脾臓機能異常のため、莢膜抗原に対する抗体産生が低下し、脾摘後と同様に莢膜抗原を有する細菌感染症にり患しやすいとされる。また、肺炎球菌と同じ莢膜抗原を有するインフルエンザ桿菌 b 型にも同様の危険性があるとされる。無脾症候群の5人で菌血症の既往があった。他の群では菌血症既往はゼロであった。無脾症候群菌血症5人で同定された原因菌は肺炎球菌が2例で、他の3例では培養陰性であった。無脾症候群が菌血症の危険因子であることは明らかであり、また、敗血症で1人を失ってから、当院感染症科と相談して、AMPC の予防投与を5歳まで行うこととした。23 価のワクチンであるニューモバックス接種自体の効果や副作用に問題もあることから、その接種人数は少ないが、希望者に2歳以降で接種している。ただ、日本で認可される予定のプレブナーが可能となれば、接種人数は増加するものと思われる。

今回、2007年1月から2010年1月の3年間に当院循環器外来を受診した患者に絞ってカルテを後方視的に検討したため、他院からの15歳以上の術後紹介患者、20歳以上の患者では初診時のデータに不備が多く、十分なデータ記入は出来ないこともあった。全ての症例で十分な情報がピックアップされなかった。症例数の少なさに加えて、この点が今回の調査の限界であった。

結論

学校生活指導管理表、NYHA 分類では、相対的に多脾症候群、脾臓の正常な内臓錯位症候群、非内臓錯位症候群（両大血管右室起始症、単心室）の患者は

無脾症候群患者に比し、若干QOLが良好という程で統計学的な有意差はなかった。これは手術結果の影響が大きな影響を及ぼしていたと思われる。低酸素血症の有無も、同様に無脾症候群の他の群では差はなく、やはり手術結果の影響が大きいと思われる。無脾症候群に特徴的だった結果は、無脾症候群のみでフォンタン型手術後 2 人で肝硬変が見られたこと、菌血症が 5 人いたことである。心臓外科手術の向上により、無脾症候群の予後に関する問題は、フォンタン手術後の肝硬変、感染症のみが、今後も残る可能性が大きい。

研究発表

該当なし

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

「無脾症候群における Fontan 型手術後の血流動態の変化に伴う 肺動脈血管内皮細胞応答」

研究分担者 小川俊一 日本医科大学小児科 教授

研究要旨

無脾症候群の心形態異常の最終手術形態は Fontan 型手術となることがほとんどである。Fontan 型手術の長期経過の中で、血栓形成や動脈硬化の問題がクローズアップされてきている。Fontan 型手術により、肺血流は大きく変化し、それに伴い shear stress も変化する。Shear stress の変化に伴う肺動脈内皮細胞の変化を形態学的、分子生物学的、免疫組織学的に解析し、Fontan 型手術が肺血行動態に及ぼす影響を検討することは、Fontan 型術後の長期経過の中で抱えている諸問題を解決し、さらに治療戦略を構築する上で大変重要である。現在得られているデータでは Fontan 術後の患者の肺動脈の shear stress は健常の約 1/4 程度と極めて低下した状態である。今後更なる検討を行う予定である。

研究目的

無脾症候群の主たる心臓形態は右心室性単心室にある。従って最終の手術形式は上大静脈および下大静脈を肺動脈に吻合するいわゆる Fontan 型の手術となる。一期的に Fontan 型手術が行われる場合と、上大静脈を肺動脈に吻合する Glenn 術を挟んで二期的に Fontan 型手術が行われる場合がある。Fontan 型手術後の長期経過観察の中で、血栓形成や動脈硬化などに伴う肺血管抵抗の上昇によると思われる肺灌流障害の症例を経験することがある。但しその機序についての確たる報告は今までの所無い。

肺動脈血流のプロファイルは約 1m/sec の拍動流であるが、Glenn 術および Fontan 術後は静脈血流が肺動脈に還流するためその血流プロファイルは大きく変化する。つまり、血流速度は約半分になり、かつ、拍動流ではなく定常流または乱流となる。一方、血管内皮細胞は多機能を有し、血行動態の恒常性維持に努める。その血管内皮細胞機能を制御しているのは biochemical factors および biomechanical factors である。特に biomechanical factors の中で影響が大なのがずり応力(shear stress)である。

われわれは今までに川崎病の合症として冠動脈瘤が形成される過程や冠動脈瘤内で血栓が形成される過程に shear stress の関与が大きいことを報告してきた (Kuramochi Y, Ogawa S, et al. *Pediatrics International* 42:470-475, 2000, Ohkubo T, Ogawa S, et al. *Pediatrics International* 49:1-7,2007)。血流速度、

血流パターンの変化に伴い shear stress は大いに影響され、その shear stress の影響が血管内皮細胞応答を変化させる。

本研究は Fontan 型手術後の肺血流動態の変化に伴い、shear stress が低下し、それが血管内皮細胞応答を異常な状態へと誘い、血栓形成や動脈硬化を惹起する要因になっているのではないかとの仮説の証明を行うことにある。

Shear stress の変化に伴う肺動脈内皮細胞の変化を形態学的、分子生物学的、免疫組織学的に解析し、Fontan 型手術が肺血行動態に及ぼす影響を検討する。

研究方法

我々は Fontan 型手術または両方向性 Glenn 術後の患児に flow wire を用いて血流プロファイルを検討し、shear stress が術前に比し有意に低下している結果を得ている。Shear stress の変化に伴う肺動脈血管内皮細胞応答について検討するために以下の実験系を組んだ。

1. 変化させた shear stress を血管内皮細胞に負荷させる装置の作製

還流速度および還流パターンを変えることにより自在に shear stress を変換できる装置を作製中である。採取した肺動脈内皮細胞をチャンバー内に固定し、種々の shear stress および負荷時間を変えて血管内皮細胞に負荷し、血管内皮細胞応答を検討する。

2. 肺動脈内皮細胞の採取

ラット成獣を用い、主肺動脈および肺動脈第3分枝を採取し、同部位の血管内皮細胞を剥離・単離し培養する。また、可能であれば肺静脈を採取し、肺静脈の血管内皮細胞を剥離・単離し培養する。培養した血管内皮細胞を用いて種々の条件下の shear stress を負荷する。

- 1) 生理的な動脈における shear stress と同じ 20dynes/cm^2 を拍動流にて1時間、6時間、12時間、24時間負荷する。
- 2) 1)と同様な条件で定常流による負荷を行う。負荷時間は同様とする。
- 3) 低 shear stress (5dynes/cm^2) を用いて、拍動流、定常流での負荷を行う。負荷時間は同様とする。

3. Shear stress の違いによる血管内皮細胞の形態学的変化の検討

それぞれで得られた血管内皮細胞の形態的变化を偏光顕微鏡を用いて観察する。

4. Shear stress の違いによる血管内皮細胞の DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析

Shear stress に反応して内皮細胞の機能が変化する際に、関連した遺伝子の発現も変化することが期待される。種々の条件下から採取した血管内皮細胞より mRNA を抽出し、DNA マイクロアレイを用いて解析する。遺伝子プロファイリング解析の

結果、発現の変動が確認された遺伝子についてはプローブを用いて TaqMan PCR により定量 PCR を行い、遺伝子発現を定量する。

5. Shear stress の違いによる血管内皮細胞の分子生物学的、免疫組織学的検討

同様に違った条件下にて負荷した血管内皮細胞に対し、血管内皮細胞における各培養条件下での循環制御、凝固軽制御、炎症・免疫制御、血管新生制御の各因子が遺伝子プロファイリング解析にて検出できなかった場合には、以下の変動予想因子の定量 PCR または、免疫組織染色を行う。PGI₂, NOS, AM, CNP, ET₁, Angiotensin II, ACE, AT₁R, PDGF, IL-1, IL-6, IL-8、CD14, TLR-2, TLR-4, MMP(1,3,9), ICAM-1, VCAM-1, TM, t-PA, VEGF, PDGF, RAGE の発現を検討する。さらにこれらの系を調節する可能性がある転写因子である NF-κB, Smad, Egr-1 の発現を検討する。特に NOS の血管内皮細胞内における分布は重要である。Shear stress の変動に伴い、NOS の発現分布が変わる可能性があるため、免疫組織染色を行い検討する。

研究結果

現在までに得られている結果は以下の通りである。

1. 主肺動脈における shear stress 値の算出

川崎病後の冠動脈障害を有する患者の心臓カテテル検査時に肺循環に異常が認められないと考えられる患者を対象(n=15)に以下の計算式を用いて shear stress の算出を行った。

$$\text{Shear stress} = (4 \times \mu \times \text{APV}) / R$$

$\mu=3 \text{ cp}$ ($\text{cp} = 0.003 \text{ Pa} \cdot \text{sec}$; $1 \text{ Pa} = 10 \text{ dyn/cm}^2$) (Dinner U. *Cardiovascular Fluid Dynamics*. Boca Raton, Fla: CRC Press, Inc; 1981:23-54) μ :血液粘度、APV:平均最大血流速度、R:血管半径

結果:shear stress は $23.5 \pm 4.3 \text{ dynes/cm}^2$ であり、生理的な動脈の shear stress 値とされる 20 dynes/cm^2 とほぼ同等であった。

2. Fontan 術後の患者における shear stress 値の算出

Fontan 術後 5 年、8 年の 2 症例の肺動脈第 1 分枝における shear stress 値を算出した。いずれも 3.4 dynes/cm^2 および 4.6 dynes/cm^2 と極めて低値であった。

考察

現在研究を進めている段階であり、十分な結果が得られたところで考案をする。

結論

無比症候群における心臓手術の最終点はFontan型の手術にある。Fontan型の手術に伴い、肺血流状態は大いに変化し、それに伴い shear stress も変化する。Shear stress の変化に伴う肺動脈内皮細胞の変化を形態学的、分子生物学的、免疫組織学的に解析し、Fontan型手術が肺血行動態に及ぼす影響を検討することは、Fontan型術後の長期経過の中で抱えている、血栓や動脈硬化の問題を解決し、さらに治療戦略を構築する上で大変重要な情報を提供する事が示唆される。

研究発表

1. 論文発表

1) 小児の胸痛の診断と対応

小川俊一 日本医事新報 NO 4432, 53 – 58, 2009 (2009/4/4 発行)

2) 小児における心不全マーカー

小川俊一 小児科 Vol 50, 490 – 494, 2009 (2009年4月1日発行)

3) レオゾーから見た冠動脈の血流動態特性

小川俊一 日本小児科学会雑誌 113:1769-1778, 2009 (2009年12月1日発行)

4) 小児科臨床ビクス 9 「川崎病のすべて」総編集 五十嵐隆、専門編集 石井正浩「巨大冠動脈瘤：トータルケア」小川俊一 139 – 141, 2009 中山書店 (2009年7月27日発刊)

5) Multicenter and retrospective case study of warfarin and aspirin combination therapy in patients with giant coronary aneurysms caused by Kawasaki disease. Suda K, Kudo Y, Higaki T, Nomura Y, Miura M, Matsumura M, Ayusawa M, Ogawa S, Matsuishi T. Circ J. 73:1319-1323, 2009

6) Risk stratification in the decision to include prednisolone with intravenous immunoglobulin in primary therapy of Kawasaki disease. Kobayashi T, Inoue Y, Otani T, Morikawa A, Kobayashi T, Takeuchi K, Saji T, Sonobe T, Ogawa S, Miura M, Arakawa H. Pediatr Infect Dis J 2009;28:498-502

7) Long-Term Prognosis of Patients with Kawasaki Disease at Risk for Future Atherosclerosis? Fukazawa R, Ogawa S. J Nippon Med Sch. 2009;76:124-133

8) Two cases of Restrictive Cardiomyopathy in Children. Mitsuhiro

Kamisago, Takashi Ohkubo, Makoto Watanabe, Ei Ikegami, Ryuji Fukazawa, Shunichi Ogawa. J Nippon Med Sch. 2009;76:313-318

2. 学会発表

1) Symposium: Pediatric Cardiology “Kawasaki disease”

Hemodynamic assessment of coronary artery lesions in patients with Kawasaki disease. Ogawa S. 17th Asian Pacific Congress of Cardiology, (2009.05.23, Kyoto)

2) Reduced shear stress induces senescence of vascular wall and thrombus formation in patients with giant coronary aneurysm after Kawasaki disease. Ogawa S, et al. European Society of Cardiology 2009 (2009. 9.1, Barcelona)

3) Results and indication of coronary artery bypass graft operation for coronary artery lesion after Kawasaki disease. Abe M, Ogawa S, et al. 5th World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery (2009.6.24, Cairns Australia)

4) Inositol 1,4,5-Triphosphatase 3-kinase C polymorphism associated with disease severity and coronary artery lesions in Kawasaki disease. Fukazawa R, Ogawa S, et al. The 73rd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (2009.3.22)

その他

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

「内臓錯位症候群の疫学と治療に関する研究」

研究分担者 山岸敬幸 慶應義塾大学病院小児科 専任講師

研究要旨

学童期以前の無脾症で重症感染症が多く、抗菌薬予防内服やワクチン接種による積極的感染予防が推奨される。また無脾症 1 例に転写因子 GATA6 の遺伝子変異が検出された。網羅的遺伝子解析により内臓錯位症候群の病因解明が期待される。

研究目的

内臓錯位症候群（無脾および多脾症）の遺伝学的背景を含む病因および重症感染症罹患リスクを明らかにする。さらに、従来の感染予防の有効性を検討し、最良の感染予防方法を確立するための知見を得る。

研究方法

国内多施設に無脾症、多脾症患者の表現型、治療経過および予後に関するアンケートを送付し、横断的および後方視的統計学的解析を行うことにより、無脾症、多脾症の表現型と治療経過、予後の間に存在する関連性および重症感染症罹患の傾向および予防策の有効性の相関を検討する。また、無脾症、多脾症患者の病因解明、および遺伝学的異常と表現型との関連につき、網羅的なゲノム解析と表現型分析を行い検討する。

（倫理面への配慮）

各施設と集計施設である東京女子医科大学間の患者情報のやりとりには、各施設で設定したランダム化 ID を用い、集計施設にはその情報は盲目的に伝達され、患者の特定ができないようにする。また、遺伝子変異は患者本人および家族のインフォームドコンセントを得た例についてのみ、東京女子医科大学倫理委員の承認の元に解析を行い、また解析者には検体情報は ID のみ与えられ、患者の特定ができないようにする。

研究結果

当分担施設において集積した無脾症、多脾症患者の累計は無脾症 41 例、多脾症 15 例であった。無脾症例は生存 10 例に対し死亡 27 例であり（追跡不能 4 例）、長期予後不良例が大半を占めた。多脾症例は生存 12 例、死亡 2 例と（追跡不能

1例)、無脾症に比して長期予後は良好であった。重症感染症に罹患した患者数は無脾症7例に対し、多脾症は1例のみであった。従来問題視されてきた肺炎球菌感染は3歳未満の無脾症2例で、内1例は救命し得なかった。救命可能であった1例はST合剤の予防内服が行なわれていた。より高年齢の無脾症例および多脾症例に見られた重症感染症の起因菌は、一般に心内膜炎で認められる弱毒性の連鎖球菌が主体であった。重症感染症罹患前に肺炎球菌ワクチンの接種を受けていた例は無かった。また遺伝子解析可能であった36例(無脾症16例、多脾症20例)中、無脾症1例に転写因子GATA6の遺伝子変異(247-250ins GGGGA)が検出された。変異遺伝子産物は心臓発生に関連する下流遺伝子群の発現制御領域に対する転写活性が障害されていた。発端者の家系内遺伝子解析では、同一のGATA6変異を有し、心疾患を有さない家族構成員が存在した。

考察

低年齢の無脾症では重症感染例の起因菌に占める肺炎球菌の割合は高く、救命困難な例も見られることから、肺炎球菌感染予防が重要と思われた。われわれの施設における対象中に肺炎球菌ワクチン接種例が存在しなかったため、ワクチンの有効性については解析不能であった。過去からの経験上、無脾症例において、乳幼児期の肺炎球菌感染が非常に急速な経過を取り、死に至る症例が存在することが示唆されているが、本施設の重症感染により死亡した無脾症例中2例が、起因菌が同定できないまま急激な経過で死に至っていた。死亡例はいずれも抗菌薬の予防内服は行われていなかった。一方、救命可能であった1例はST合剤の予防内服が行なわれており、抗菌薬の予防内服が発症を防ぐには不完全であっても、症状の進行を遅らせる点においては有効性が期待できる可能性が考えられた。一方、学童期以降の重症感染症例では、先天性心疾患の残存病変に対する弱毒性の連鎖球菌等による感染性心内膜炎が主であり、肺炎球菌に対する年長例の感染予防の重要性は、過去の脾摘例における研究で認められた有用性に比し、無脾症で有効性が低い可能性が考えられた。

遺伝子解析の結果、初期の心臓発生に重要な役割を果たす転写因子GATA6に変異を有する無脾症例が確認された。変異遺伝子産物は、下流の遺伝子発現を適切に制御するための転写活性化能が障害されていたため、同症例における心臓表現型にGATA6遺伝子変異が影響を与えた可能性が示唆された。一方で、発端者の両親は心疾患を有さないが、同一のGATA6遺伝子変異が認められたことから、表現型の程度に二次的な遺伝的背景や環境因子が関与する可能性が推測された。

結論

学童期以前（6歳未満）の無脾症例は抗菌薬の予防内服やワクチン接種を含めた積極的な肺炎球菌等の莢膜産生菌に対する感染予防を行うことが推奨される。具体的な予防方法や無脾症、多脾症の病因解明に関する更なる研究が求められる。

研究発表

1. 論文発表

Kodo K et al. GATA6 mutations cause human cardiac outflow tract defects by disrupting semaphorin-plexin signaling. PNAS 2009; 106: 13933-13938.

Yamagishi et al. Molecular embryology for an understanding of congenital heart diseases. Anat Sci Int 2009; 84: 88-94.

古道一樹ほか 小児疾患における臨床遺伝学の進歩・先天性心疾患 小児科 2009; 50: 1059-1067.

2. 学会発表

Kodo K et al. Identification Of Mutations In GATA6 As A Novel Genetic Cause Of Congenital Cardiac Outflow Tract Defects. AHA 2009, Orland.

古道一樹ほか, 先天性心疾患の新規原因遺伝子 GATA6 の同定と疾患発症分子機構の解明. 第 35 回日本小児循環器学会 2009 神戸.

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし