

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

東京慈恵会医科大学総合診療部¹⁾／東京慈恵会医科大学青戸病院内科²⁾

鈴木 英明¹⁾／武田 信彬²⁾

【目的】細胞外マトリックスの構成成分ラミニンは、拡張型心筋症において心筋細胞や血管平滑筋細胞に病的に増加し組織の硬化を招くとされる。我々は心筋症の病因解明の一つとして、(1)心筋に特異的に存在する新規タンパクならびに相互分子をクローニングし、心筋症との関連を検討した。(2)また、我々は心筋症モデル動物である心筋症ハムスターBio 14.6とGoldenハムスターの交配を繰り返すことにより新しい心筋症ハムスターJ-2-Nkを開発したが、J-2-Nkではdelta-sarcoglycan遺伝子異常が知られている。そこで、今回J-2-Nkの心臓の機能解析として生理学的、生化学的検討ならびに遺伝子解析を施行した。

【方法】(1)ラミニン γ 1鎖プロモーター遺伝子に存在するDNAモチーフ(以下bcn-1)を用い、酵母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施行した。(2)J-2-Nkにおいて心筋収縮力の測定、心室筋ミオシンアイソザイムの変化、サルコレンマ、筋小胞体(SR)の生化学的検討ならびにマイクロアレイによる遺伝子解析を施行した。

【結果】(1)bcn-1モチーフを用いて、スクリーニングを繰り返し、心筋に特異的に発現する新規タンパクSmace1r, SMARP, ならびにトロポニンI(cTnI)のアイソフォーム(STN)をクローニングした。特にSTNは、構造上トロポニンT(TnT)との結合部位を欠損し、In vivo, In vitro でTnTの結合力が著明に低下していた。(2)J-2-Nkの生化学的解析では、心筋のフォスフォランバンならびSARCA2の活性低下を認めた。マイクロアレイによる遺伝子解析では、343の遺伝子がup-regulate、258の遺伝子がdown-regulateされ、特にサルコメア構造遺伝子、サルコグリカン遺伝子等に興味深い発現を示した。

【結語】今回心臓に特異的に発現する新規タンパクをクローニングした。今後、J-2-Nkならびに、心筋症家系などにおける新規タンパク、Smace1r, SMARP, STNの発現検索などが心筋症におけるラミニン増加への関与を解明する一助となりうることが示唆された。

霊長類拡張型心筋症モデルを用いたテネイシンCの診断意義の検討

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⁾

これまで我々はヒトに最も近縁な霊長類の大規模繁殖コロニーにおいて、家系性の拡張型心筋症モデル構築を試みてきた。一方、テネイシンCは心筋炎や心不全に対する診断バイオマーカーとして有効であることが示唆されている。今回、霊長類の心筋症モデルを用いてテネイシンCの診断意義について検討した。まず、1500頭規模のカニクイザル繁殖コロニーより心エコー図、心電図、胸部レントゲン、MRI、血液検査などから拡張型心筋症と診断された個体を抽出した。その個体の一部において血中のテネイシンC濃度が上昇している事が確認され、心筋組織においても免疫染色により活動性病巣周辺にテネイシンCの発現が認められた。これらの事から、テネイシンCは霊長類の心筋症モデルにおいてもバイオマーカーとして有用である事が示唆された。現在、これら霊長類心筋症モデルの家系における血中テネイシンC濃度測定を行い、大規模スクリーニングを試みている。

テネイン C による心臓血管新生の制御

三重大学大学院修復再生病理学¹⁾ / 東京女子医科大学循環器小児科²⁾
今中 恭子¹⁾ / 原 万里¹⁾ / 浪方 美幸¹⁾ / ボンセ デ レオン バルディビア¹⁾
/ サライサベル¹⁾ / 堰本 晃代¹⁾ / 吉田 利通¹⁾ / 宮川-富田幸子²⁾

テネイン C は多くの生物活性をもつが、組織傷害後や癌浸潤に伴う血管新生でも重要な役割を演じると考えられている。心筋組織リモデリング時の血管新生制御におけるテネイン C の機能を明らかにするために、発生に伴う冠血管新生について検討した。心臓の血管は、胎生期に心臓外の横中隔組織由来の心外膜原基 (proepicardium:PE) から、血管前駆細胞血管前駆細胞が遊走し、分化して原始血管網を形成し、徐々に大動脈基部に向かってのび、大動脈に何本かの血管が開口、その後統合化され、左右1本ずつの冠動脈が完成し、その制御に神経堤細胞も関与するといわれる、複雑な多段階反応であり、今回は、テネイン C が血管形成過程のどの段階を制御しうるかを明らかにすること目的とした。

【方法】①PE ウズラ-ニワトリキメラ胚、心臓神経堤ウズラ-ニワトリキメラ胚、心臓神経堤焼灼ニワトリ胚を用いて、冠血管細胞の由来および動態について検討し、テネイン C の発現を詳細に比較した。②テネイン C ノックアウトおよび Cre-lox 系を用いて生体心臓でテネイン C の発現を操作した遺伝子改変マウス、経胎盤的抗テネイン抗体を投与したマウス胎児の冠血管形成を検討した。

【結果】①冠動脈は大部分 PE 由来細胞で構成されるが、冠動脈の大動脈に開口部付近は一部神経堤細胞もはいりこみ、心臓神経堤焼灼すると冠動脈入口部形成異常をおこす。②テネイン C は、PE 由来、神経堤由来細胞が大動脈壁を貫通して原始冠血管網が大動脈に開口した後、中膜に血管平滑筋が動員される際に強く発現する。③テネイン C 欠損および発現過剰マウスの冠血管には大きな変化が認められないが、冠動脈が大動脈に開口する時期に抗テネイン C 抗体を投与すると、冠動脈起始部開口数に変化がみられる。

【結論】冠血管は、PE 由来細胞、神経堤由来細胞の少なくとも2つの起源をもつ細胞によって形成され、神経堤由来細胞は冠動脈が大動脈と正しく接続する段階を制御しうること、テネイン C は原始血管の成熟統合化に関与する可能性が示唆された。

ネクロシス性心筋細胞死の制御機構解析

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学
大津 欣也

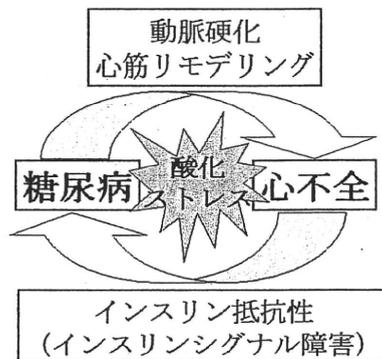
心筋症の発症において、心筋細胞内カルシウムサイクリング異常や心筋細胞の線維化などと共に、心筋細胞死がその一因を占めていると考えられる。心筋細胞死には様々な形態が存在し、種々のモデル動物によってアポトーシス性心筋細胞死の関与が報告されてきた。しかし受動的細胞死とされるネクロシス性心筋細胞死の関与およびその制御機構については不明であった。本研究において我々はまず、ネクロシス性細胞死の本態とされるミトコンドリア膜透過性遷移の必須分子であるシクロフィリンDのKOマウス (CypD KO) を解析した。CypD KOは横行大動脈縮窄圧負荷心不全モデルにおいて野生型に比し、心不全誘導に抵抗性を示した。すなわちネクロシス性心筋細胞死が心不全発症に寄与しうることを示唆された。我々はこれまで、Apoptosis Signal-regulating Kinase 1 (ASK1) がアポトーシス性心筋細胞死、およびネクロシス性心筋細胞死のいずれに対しても促進的に機能することを報告してきた。ASK1 KO成獣マウス心筋細胞ではCypD KOと同様に、酸化ストレス依存性のミトコンドリア膜電位 ($\Delta\psi$) 喪失が抑制された。すなわちASK1はネクロシス性心筋細胞死必須分子と考えられた。またASK1過剰発現は野生型心筋細胞におけるDy喪失を促したが、CypD KO細胞では阻害された。更に薬剤誘導性心筋特異的ASK1恒常活性体発現マウスにおける心不全はCypD欠失によって救済された。すなわちASK1はCypD依存性に心筋細胞ネクロシスならびに心不全発症に寄与していることが示唆された。

心不全患者の予後は、RAS系抑制や交感神経抑制による薬物療法により、改善した。しかし、薬物療法のみでは、重症心不全患者の予後および生命の質を改善することは難しく、重症心不全に対する治療法の新たな展開が期待されている。ErbB受容体やHB-EGFの遺伝子改変マウスが、拡張型心筋症様の心臓を呈することが報告され、HB-EGFやNeuregulinなどを含むEGFファミリーとErbB受容体が心筋生存シグナルに関与していることが考えられる。そこで我々は、EGFファミリー-ErbB受容体連関の心不全における役割解明を試みている。基礎観察研究として、マウス心不全モデルにおけるEGFファミリーとEGF受容体の発現レベルについて検討を行った。EGFファミリーの中で、HB-EGF遺伝子のみ、遺伝子発現レベルの上昇(2.90倍)を認めた。また、乳癌の治療薬：ErbB2受容体抗体とドキソルビシンの併用が心筋障害を呈することが知られており、ラット培養心筋細胞を用いて、これらの関係を検討した。ドキソルビシンをラット培養心筋細胞に添加すると、用量依存的にMTT活性が低下することが確認された。さらに、siErbB2導入によりMTT活性が低下し、かかる低下作用は、siErbB2導入により増強されることが明らかとなった。最後に、ドキソルビシンによるMTT活性の低下が、HB-EGFおよびNeuregulin投与により改善するか否かを検討したところ、改善を認める傾向にあった。現在、EGF受容体シグナルを中心にした心筋生存における役割を進めている。

糖尿病が、高血圧や脂質異常症とともに心血管病の重要な発症・増悪リスクであることはよく知られている。糖尿病患者は、冠動脈病変の重症度や左室駆出率低下の有無にかかわらず心不全の発症頻度が高く、死亡率も高い。さらに、心筋梗塞後に新たに生じた耐糖能障害が、その後の心不全発症を含む長期予後に密接に関与する。これらは、糖尿病が直接心筋障害を引き起こす可能性を示唆している。

一方、心不全自体が、耐糖能障害を引き起こすことも知られている。心不全では、骨格筋におけるNAD(P)H oxidaseの活性化を介した酸化ストレスが、インスリンシグナルを障害し、インスリン抵抗性の発生に関与する。さらに、糖尿病における骨格筋での酸化ストレスは、骨格筋のミトコンドリア機能を障害し、運動能力の低下をもたらす。

心不全では、インスリン抵抗性・耐糖能障害や運動能力の低下が引き起こされるが、これらは悪循環を形成し、心不全の病態の更なる悪化をもたらすと考えられる。このような悪循環の形成には、骨格筋における酸化ストレスが密接に関与しており、心不全における新たな治療標的となる可能性がある。



特発性心筋症におけるフクチン遺伝子変異の解析

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野¹⁾

／国立精神神経センター神経研究所疾病研究第一部²⁾／順天堂大学医学部脳神経内科³⁾

木村 彰方¹⁾／有村 卓朗¹⁾／林 由起子²⁾／村 upper てるみ²⁾／平澤 恵理³⁾／服部 信孝³⁾／西野 一三²⁾

【目的】ディストロフィンに代表されるように、もともと骨格筋疾患に関連するとして発見された遺伝子において、特発性心筋症患者で病因変異が見出されることがある。すなわち、骨格筋疾患と心筋疾患には原因遺伝子が一部重複している。わが国に特徴的な先天性骨格筋疾患である福山型筋ジストロフィーは、筋症状以外に精神発達遅滞を伴うことが知られている常染色体性劣性遺伝性疾患であり、フクチン遺伝子(FKTN)変異に起因する。これまでの研究から、福山型筋ジストロフィー患者の多くは、FKTN遺伝子の3' UTRにおける3kb挿入変異のホモ接合体であり、一部に3kb挿入変異とミスセンス変異の複合ヘテロ接合体が存在することが判明している。また、一般的に複合ヘテロ接合体は重症であることが知られているが、精神発達遅滞を伴わず、軽度の筋症状を示す拡張型心筋症(DCM)患者の一部に複合ヘテロ接合体が見出されたことと最近報告された。そこで本研究では、DCMおよび肥大型心筋症(HCM)患者集団におけるFKTN遺伝子変異を検索した。

【方法】DCM患者172名(孤発例100名、家族例72名)、家族性HCM患者144名、一般健常者384名を対象として、PCR法によって3kb挿入変異を検出した。また、ダイレクトシーケンス法によってFKTN変異を検索した。

【結果】3名の孤発性DCM患者に3kb挿入変異を検出した。HCM症例には挿入変異は見いだされなかったが、一般健常者集団384名中3名に挿入変異が検出された。ついでFKTN遺伝子のダイレクトシーケンスを行ったところ、3kb挿入変異を有していたDCM患者のうち1例にミスセンス変異(Cys110Phe)が見出された。このDCM症例は17歳時から原因不明の高CK血症があり、軽度の骨格筋症状を伴っていた。以上のことから、FKTNの3kb挿入変異はヘテロ接合では心筋症の病因とはならないこと、DCMの一部にFKTN変異の複合ヘテロ接合体がいることが明らかとなった。これまでの報告と合わせると、DCM症例で持続する高CK血症がある場合はFKTN変異の可能性を考慮する必要があると考えられた。

【総括】FKTN変異はDCMの原因となる。



**厚生労働省難治性疾患克服研究事業
特発性心筋症に関する調査研究
＜北風班＞**

2009年度第1回研究報告会

2009年10月1日(木)

東大病院入院棟A15F 大会議室

セッションI：心不全・心肥大1

座長：吉川 勉(慶應義塾大学)

11:00	北浦 泰(大阪医科大学)	4
	CD36欠損SHRラットにおけるSTZ誘発性糖尿病の心病変に関する研究	
11:10	室原 豊明(名古屋大学)	4
	糖尿病が拡張型心筋症における心筋弛緩能および線維化に及ぼす影響について	
11:20	久保田 功(山形大学)	5
	¹²³ I-MIBG 心筋シンチは収縮機能保持心不全における心イベントを予測する	
11:30	竹石 恭知(福島県立医科大学)	5
	Pentraxin 3は圧負荷による左室機能低下を増悪する	
11:40	河合 祥雄(順天堂大学)	6
	逆タコツボ心筋症モデルにおける病変の局在について	

セッションII：心筋症1

座長：久保田 功(山形大学)

11:50	松森 昭(京都大学)	6
	C型肝炎ウイルス(HCV)による心血管病の認識と対応のグローバルネットワーク：エジプトにおけるHCV感染における心異常	
12:00	中谷 武嗣(国立循環器病センター)	7
	心臓移植対象患者における左心補助人工心臓(LVAS)による長期補助	
12:10	吉川 勉(慶應義塾大学)	7
	糖尿病性心筋症におけるRAS系の役割	
12:20	後藤 雄一(国立精神・神経センター神経研究所)	8
	ミトコンドリア病診断の現状と課題	
12:30	川名 正敏(東京女子医科大学附属青山病院)	8
	カルベジロールの心室リモデリング抑制に副交感神経活性が関与する	

(総会・昼食)

セッションIII：心不全・心肥大2

座長：川名 正敏(東京女子医科大学附属青山病院)

13:30	木村 彰方(東京医科歯科大学)	9
	肥大型心筋症におけるCARP変異の同定と機能解析	
13:40	鄭 忠和(鹿児島大学)	10
	和温療法による慢性心不全患者の自律神経改善効果	
13:50	大津 欣也(大阪大学)	10
	加齢による心機能低下におけるオートファジーの意義	
14:00	筒井 裕之(北海道大学)	11
	慢性心不全患者の臨床像と治療：登録観察研究からのレッスン	
14:10	砂川 賢二(九州大学)	11
	梗塞後心不全におけるミトコンドリアDNAの役割	

14:20	齋藤 能彦(奈良県立医科大学)	12
	Guanylyl Cyclase-Aシグナルはアルドステロン誘発性心リモデリングにおける食塩の効果を増強し心保護に關与する	

セッションIV：心筋症2

座長： 砂川 賢二(九州大学)

14:30	廣江 道昭(国立国際医療センター戸山病院)	12
	In-111抗Tenascin-C Fabによるサル急性心筋梗塞イメージング	
14:40	小室 一成(千葉大学)	13
	拡張型心筋症発症におけるCaMKII δ とp53の役割	
14:50	武田 信彬(東京慈恵会医科大学)	13
	拡張型心筋症マウスに対するアンジオテンシン受容体拮抗薬の効果	
15:00	山岸 正和(金沢大学)	14
	肥大型心筋症の臨床病態とQT指標との関連	

(休憩)

セッションV：炎症

座長： 山岸 正和(金沢大学)

15:25	和泉 徹(北里大学)	14
	三群抗不整脈薬アミオダロンは自己免疫性心筋炎の発症を抑制し、進展をも軽減する	
15:35	松崎 益徳(山口大学)	15
	マウスウイルス性心筋炎に対する dexamethasone の効果	
15:45	磯部 光章(東京医科歯科大学)	15
	炎症性心疾患におけるアディポネクチンの役割	
15:55	今泉 勉(久留米大学)	16
	エンドトキシン誘発性左心機能障害におけるサイトカイン機能調節因子の役割	

セッションVI：再生など

座長： 磯部 光章(東京医科歯科大学)

16:05	永井 良三(東京大学)	16
	心臓シミュレーションによる再生医療の最適化	
16:15	今中 恭子(三重大学)	17
	心臓組織リモデリングにおけるテネイシンCの役割	
16:25	福田 恵一(慶應義塾大学)	17
	心臓転写因子Zac1の同定と機能解析	
16:35	豊岡 照彦(北里大学)	18
	DCM症例におけるミトコンドリアゲノム解析(予報)	
16:45	北風 政史/友池 仁暢(国立循環器病センター)	18
	心筋症の網羅的遺伝子解析におけるメタ解析	

CD36欠損SHRラットにおけるSTZ誘発性糖尿病の心病変に関する研究

大塚 薫¹⁾ / 山根 一彦²⁾ / 田中孝生²⁾ / 寺崎 文生¹⁾ / 北浦 泰¹⁾
大阪医科大学内科学Ⅲ¹⁾ / 大阪薬科大学薬物治療学²⁾

【背景】心筋におけるエネルギー産生は70%が脂肪酸代謝、30%が糖代謝に依存し、遊離脂肪酸の心筋細胞への取り込みはCD36やFATPを介する経路や拡散による。日本人では0.5%の頻度でCD36欠損が存在するが、CD36欠損者に糖尿病が合併した場合の心臓の機能、エネルギー代謝については明らかにされていない。

【目的】CD36欠損ラットモデルにstreptozotocin (STZ) 投与により1型糖尿病を惹起し、心臓の機能、エネルギー代謝、組織所見について検討する。

【方法】7週齢の雄SHR/Izmラット (CD36欠損なし) と雄SHR/Ncrラット (CD36欠損あり) にそれぞれSTZ 70mg/kgを腹腔内投与し糖尿病を発症させ、Izm-STZ群、Ncr-STZ群を作成し、STZを投与しないコントロール群 (Izm-con群、Ncr-con群) とについて心重量、心エコーによる左心機能、心筋内ATPおよび心筋組織所見を比較検討した。

【結果】STZ投与後12週までの体重増加は両コントロール群間に差がなく、STZ投与群はコントロール群に比べ少なかった。STZ投与群間比較ではNcr-STZ群の体重増加が少なく有意に抑制された、血圧はIzm-con群、Ncr-con群、Izm-STZ群の3群間に差を認めなかったが、Ncr-STZ群で低かった。心重量/脛骨長比は両STZ投与群でコントロール群に比べ小さく、STZ投与群間の比較ではNcr-STZ群で低値であった。心エコーによる左室内径短縮率はコントロール群間に差がなかったが、STZ投与群はコントロール群と比べ低かった。また、STZ投与群間の比較ではNcr-STZ群で低値であった。心筋内のATPはIzm-STZ群ではIzm-con群に比べ増加していたが、Ncr-STZ群はNcr-con群と差がなかった。組織学的検索ではNcr-STZ群の心筋横径が最も小さかった。電顕的検索ではNcr-STZ群でautophagic vacuolesが多数認められ、心筋細胞が飢餓状態であることが示唆された。

【結語】CD36欠損SHRラットに1型糖尿病が合併すると心筋にエネルギー不足を生じ心機能が低下する。

糖尿病が拡張型心筋症における心筋弛緩能および線維化に及ぼす影響について

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 / 榊原 雅樹 / 室原 豊明

【目的】糖尿病患者では、収縮障害を伴わない心不全の発症が認められ、拡張障害の関与が報告されている。一方で、冠動脈疾患や高血圧がないにもかかわらず、糖尿病自体が心筋の収縮障害を引き起こし、心筋症 (糖尿病性心筋症) の原因となる可能性も知られている。しかし、糖尿病と心筋症との関係は、原因か結果かの判断は困難であり、糖尿病性心筋症の疾患概念は確立していない。そこで、我々は糖尿病を合併した拡張型心筋症に関し、糖尿病を合併していない拡張型心筋症と比較し、心筋収縮能、弛緩能および線維化への影響と予後について検討した。

【方法】NYHA IあるいはIIの拡張型心筋症102名を対象とし、糖尿病を合併した群 (DCM-DM群) と合併しない群 (DCM-alone群) に分類した。糖尿病の診断は、標準的な基準に従った。すべての患者にマイクロマノメーター付pigカテーテルを用いて左室圧を測定し、収縮能の指標である $LVdP/dt_{max}$ と弛緩能の指標である $T_{1/2}$ を評価した。DCM-DM群12例、DCM-alone群24例の36例に対して、ピクロシリウスレッド染色を行い、心筋組織の線維化定量値であるcollagen volume fraction (CVF) を計測した。後ろ向きに心血管イベントに関し予後評価を行った。心臓カテーテル検査後の平均追跡期間は4.8年であった。

【結果】患者全体の平均年齢は 52 ± 11 歳、平均左室駆出率は 35.1 ± 10.3 %であった。冠動脈はすべての患者で正常であった。2群間において、年齢、BMI、EF、BNP、 $LVdP/dt_{max}$ に有意差は認めなかった。しかしながら、 $T_{1/2}$ においてDCM-DM群 (44.4 ± 7.9 ms) がDCM-alone群 (39.7 ± 5.6 ms, $P < 0.01$) と比較し、有意に延長していた。さらにCVF値に関し、DCM-DM群 (6.9 ± 1.8 %) がDCM-alone群 (5.2 ± 1.6 %, $P = 0.01$) に比較して有意に高値であった。Kaplan-Meier法を用いた予後の検討において、心血管イベントの出現はDCM-DM群のほうがDCM-alone群に比較し、有意に高く予後不良であった。

【結論】糖尿病の合併した拡張型心筋症は、心筋弛緩障害と線維化の進行により、心血管イベント発症の増加に関与する可能性が示唆された。

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
渡邊 哲/加藤 重彦/宍戸 哲郎/久保田 功

【背景】心不全(HF)患者の予後不良因子として、左室駆出分画(LVEF)の低下が知られているが、心不全の約半数は、収縮機能保持心不全preserved HF(PHF)と言われている。人口の高齢化とともにPHFが増加し、その予後は収縮機能低下心不全と同等であることが報告されている。収縮機能低下心不全では¹²³I-MIBG心筋シンチにおけるwashout rate(WR)の亢進が、LVEFの低下や血漿BNP、ノルエピネリンの上昇と強い相関があり、予後予測に有用である。しかしPHFにおいて¹²³I-MIBG心筋シンチが同様に有用であるかは不明である。そこで¹²³I-MIBG心筋シンチWRがPHFの予後予測に有用であるかを検討した。

【方法と結果】心不全の治療や診断のために当院に入院し、LVEF $\geq 45\%$ かつ¹²³I-MIBGの検査が可能であった連続94例を対象とした。NYHA心機能分類IおよびIIの中等度群に比べ、NYHA IIIの重症群では有意に¹²³I-MIBG WRが亢進していた(25.3 ± 12.2 vs. 48.0 ± 18.5 , $p < 0.0001$)。しかし¹²³I-MIBG WRは、LVEFや血漿BNPレベルとは有意な相関を認めなかった。¹²³I-MIBG WRを中央値で2群に分類し、Kaplan-Meier解析を行ったところWR亢進群において再入院を要する心イベント発症を有意に多く認めた($p = 0.0095$)。

【結論】¹²³I-MIBG心筋シンチWRはPHFにおいても、心不全の重症度と相関し、予後予測に有用である。

Pentraxin 3は圧負荷による左室機能低下を増悪する

福島県立医科大学医学部循環器・血液内科学講座
竹石 恭知

Pentraxin 3(PTX3)はC-reactive proteinと同じPentraxin Superfamilyに属する急性期炎症反応性蛋白であり、補体の活性化や好中球による食作用刺激などの作用を有し、体液性自然免疫に重要な役割を演じている。近年、高感度の測定法が確立され、急性冠症候群や心不全症例における新しい炎症マーカーとしての臨床的な有用性が報告されている。しかし、PTX3が心不全の発症と進展に関与しているかはこれまでに十分に検討されていない。

PTX3ノックアウトマウス(PTX3-KO)、心筋細胞にのみPTX3遺伝子を選択的に高発現したトランスジェニックマウス(PTX3-TG)、野生型マウス(WT)に大動脈狭窄手術(TAC)を行った。TAC後の心筋でのNF- κ Bの活性化、IL-6の発現、線維化、collagenの発現はWTに比較しPTX3-KOで抑制され、PTX3-TGでは反対に亢進した。TAC 4週後の左室拡張末期径の拡大、左室短縮率の低下、左室拡張末期径の上昇はPTX3-KOで抑制され、左室機能は保持された。しかし、PTX3-TGでは圧負荷による左室機能の低下は増悪した。

圧負荷後のリモデリングと心機能低下にpentraxin 3が関与していることが示唆された。

逆タコツボ心筋症モデルにおける病変の局在について

順天堂大学¹⁾／朝日生命成人病研究所附属丸の内病院²⁾／鈴鹿医療科学大学神経解剖学・病理学³⁾
河合 祥雄¹⁾／末吉 徳芳¹⁾／芦田 映直²⁾／藤井 潤²⁾／長浜 真人³⁾

【背景】家兎の頸部迷走神経電気刺激により、一過性の僧帽弁逆流、心室期外収縮、心室頻拍が生じ、この系は僧帽弁複合の病変による僧帽弁逆流モデルとして知られていた。本病態では壁運動不均一性が認められ、病変が左心室基部に局在することより、逆タコツボ心筋症のモデルとなりうる可能性がある。

【目的】家兎迷走心筋電気刺激剖検心における、組織変化、病変の局在を明らかにし、心室筋細胞Gap結合の異常の有無を抗Cx43抗体染色により検討する。

【方法】家兎20羽を、型通り心電図モニター下で右頸部迷走神経電気刺激を繰り返した。電気刺激直後に、コロイドカーボン静注し、その沈着によりマクロ病変局在を確認した。左心室を心基部から心尖部にかけて縦割し、組織標本を切り出し、抗Cx43抗体を含む各種染色を施し、心筋細胞障害と介在板でのコネキシン43発現を観察した。

【結果】心室期外収縮による2段脈は75%、心室頻拍は30%に見られた。僧帽弁逆流エコーは35%の例に確認された。左心室基部では80%の例に病変があり、乳頭筋乳頭部も含む心基部は心尖部に比して高度かつ広汎な病変を見た。組織学的に心筋細胞障害(単一心筋細胞障害およびその集合像)が見られ、刺激後1週後例では同部の間質に線維化、血管透過性亢進(墨汁沈着)を見た。僧帽弁も急性期に出血を伴う水腫性変化を呈した。電気刺激直後剖検例の心筋障害部位付近では介在板でのコネキシン43発現は減少していたが、刺激後1週後例の心筋障害近接部位では他の部位と同様程度のコネキシン43発現が認められた。

【考察】頸部迷走神経電気刺激により、心室に局在性をもつ病変が生じた。心基部に強い病変であり、ヒトの逆タコツボ現象に類似する。また、病変の偏在性は壁運動異常を形態学的に検討する貴重な実験系と考えられる。

C型肝炎ウイルス(HCV)による心血管病の認識と対応のグローバルネットワーク：エジプトにおけるHCV感染における心異常

京都大学大学院医学研究科循環器内科学¹⁾／Research Institute of Ophthalmology, Egypt²⁾
松森 昭¹⁾／Mohammad Haykal²⁾／Hany Negm²⁾

われわれの提案した本プロジェクトは2007年世界心臓連合に承認され、世界各国との共同研究が開始された。米国では心筋炎による心不全の15%にHCV感染がみられる施設があり、中国では心不全マーカーであるNT-proBNPを用いた研究で、HCVによる肝臓がん患者の79%、C型肝炎患者の17%に心疾患の存在が疑われている。

エジプトでは、全国民の18~24%がHCVに感染しており、今回は50例のHCV感染者における心異常について検討した。

【結果】

表1. 心電図所見

QT延長	38%
異常Q波	18%
左軸偏位	10%
心室性期外収縮	8%
I度房室ブロック	6%
右脚ブロック	6%
洞性頻脈	6%
心房細動	4%
左脚ブロック	2%
洞性徐脈	2%
上室性期外収縮	2%

表2. 心エコー所見

左房径拡大	34%
左室内腔拡大	10%
左室壁厚増大	8%
右室内腔拡大	6%
非対称性中隔肥大	2%
心室中隔肥大	2%
求心性心肥大	2%

【総括】エジプトにおけるHCV感染者では、高頻度に心電図、心エコー図異常がみられ、種々の病型の心筋症と関連することが示唆された。

心臓移植対象患者における左心補助人工心臓(LVAS)による長期補助

国立循環器病センター臓器移植部・心臓内科・心臓血管外科

中谷 武嗣/築瀬 正伸/瀬口 理/村田 欣洋/加藤 倫子/戸田 宏一/藤田 知之

【はじめに】心臓移植対象患者においては、心不全の悪化により左心補助人工心臓(LVAS)装着を必要とする場合が多い。特にわが国においては、心臓移植まで長期間待機する必要がある。当センターでは1994年より慢性心不全急性増悪例に対してLVASを適応するようになり、2001年からはLVAS及び心臓移植患者に対する専門病棟が稼動した。そこで、今回、当センターにおけるLVAS装着例における長期予後を検討した。

【方法】1994年から2009年までに当センターにおいて管理したLVAS98例について検討を行った。

【結果】男性68例、女性29例で、平均年齢は34歳であった。基礎疾患は、心筋症91例(DCM:85例、dHCM:6例)で、虚血性心筋疾患は7例のみであった。使用システムは、体外設置型Topyobo-NCVC型が87例(左室脱血72例)で、体内植込み型は11例(拍動型:7例、定常流型:4例)であった。平均補助期間は510日で、心移植へのブリッジ33例では平均693日(最長1444日)であった。また、装着例における生存率は5年で52.5%であった。専門病棟設置前後で比較すると、5年生存率は設置前35.5%に比し、設置後は61.8%と良好となった。体外設置型および植込み型を5年生存率で比較すると、49.9%vs70.0%と植込み型が良好であった。また、体重の影響をTopyobo-NCVC型のLV脱血装着例で検討すると、50Kg未満例と50kg以上例で差を認めなかった。装着時における病態としてPCPS装着の有無を当センターで装着した91例で検討すると、装着時PCPS施行例における5年生存率16.7%、PCPS非施行例44.3%とPCPS施行例の成績は不良であった。

【考察および結語】LVA装着例においても専用病棟による管理により補助期間が延長し、離脱あるいは移植までのブリッジ例を含め長期生存が可能となってきた。さらに植込み型の導入により長期在宅療法へ進むことが期待される。また、体重の小さな症例に対しては、体外設置型により同等の成績が示された。しかし、装着時にPCPSを装着している症例での成績は不良であり、今後さらに装着時期について検討が必要である。

糖尿病性心筋症におけるRAS系の役割

慶應義塾大学医学部循環器内科¹⁾/東京電力病院²⁾

吉川 勉¹⁾/長友 祐司¹⁾/安斉 俊久¹⁾/目黒 知己²⁾

【目的】糖尿病は冠動脈疾患や高血圧とは無関係に心不全発症の危険因子となる。糖尿病性心筋症の分子メカニズムはいまだ明らかではない。本研究はストレプトゾトシン誘発I型糖尿病モデルマウスを用いて、糖尿病性心筋症発症の背景におけるレニン・アンジオテンシン(RAS)系の役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】野生型マウスおよびアンジオテンシン受容体ノックアウト：マウスにストレプトゾトシン200mg/kg腹腔内投与により糖尿病を作成した(WT-DMおよびKO-DM)。生理食塩水を同様に投与したマウスを対照群とした(WT-CおよびKO-C)。6週間後に血行動態解析を行った後、採取された心筋を用いて病理学および分子生物学的検討を行った。

【結果】WT-DMはWT-Cに比べて、拡張機能障害を主徴とする血行動態所見を示した。KO-DMとKO-Cの間で血行動態所見に差はなかった。筋小胞体カルシウムATPaseのmRNAレベルと蛋白レベルはWT-Cに比べてWT-DMで低値であった。リン酸化フォスホランパン/全フォスホランパン比はWT-DMで低値であった。KO-DMとKO-Cの間にこれらの指標に差はなかった。NADPHオキシダーゼp47phoxサブユニットおよびグルタチオン・ペルオキシダーゼ3のmRNAレベルはWT-CよりもWT-DMで高値であった。熱ショック蛋白70および110のmRNAレベルはWT-DMにおいて低値であった。TUNEL陽性細胞はWT-Cに比べて、WT-DMで高値であった。Bcl-2蛋白レベルはWT-DMで高値であったが、Baxレベルには差はなかった。KO-DMとKO-Cで以上の指標に差はなかった。

【結論】糖尿病性心筋症は拡張障害を主徴とする血行動態を呈し、RAS系を介するカルシウム・ハンドリング異常、酸化ストレス亢進、熱ショック蛋白減少、アポトーシスはその病態に関与することが明らかとなった。

ミトコンドリア病はエネルギー産生を担当する細胞小器官であるミトコンドリアの機能低下による疾患である。ミトコンドリアはあらゆる細胞に存在することから、その機能低下は種々の症状を引き起こす。特にエネルギー依存度の高い細胞、組織が障害されやすく、中枢神経、骨格筋、心筋などがその代表例である。ミトコンドリア病の確定診断とは、患者にみられる臨床症状がミトコンドリア機能低下によって起きていることを証明することにある。実はそれが容易ではなく、病理検査、生化学検査、遺伝学的検査を駆使して行うことが必要であり、そのため多くの場合、それらを同時に行える専門的な医療機関や研究機関が診断を担っているのが現状である。問題点として以下の点が挙げられる。

1)ミトコンドリア病患者の臓器横断的な臨床症状の特徴から、中心となって診る(診断を試みる)診療科も様々になる可能性がある。担当するいろいろな診療科の医師がミトコンドリア病についての知識と情報が必要になる。

2)ミトコンドリア病の確定診断には、基本的に罹患臓器・組織の病理、生化学、DNA検査が必要になるが、骨格筋を除いて臓器ごとの診断指針や基準が定まっていない。ミトコンドリア心筋症についても同様である。

3)ミトコンドリア病の特定疾患治療認定事業を着実に進めるには、コンサルテーションを含めた診断体制を全国レベルで構築する必要がある。

4)治療については、基礎的な研究の成果を基盤にして臨床研究を推進させる必要がある。その前提として、確実な診断がつけられた症例の蓄積がきわめて重要である。

以上のような問題点をふまえて、ミトコンドリア病の知識の普及、診断指針の策定、全国的な診断体制の整備、治療研究の方向性について、今後の活動方針を述べる。

カルベジロールの心室リモデリング抑制に副交感神経活性が関与する

東京女子医科大学附属青山病院

島本 健/川名 正敏

【背景】心不全のβブロッカー(βB)治療において各βB薬に薬効差があることやβB治療への反応性に差があることが知られている。カルベジロールが心拍変動を改善することが報告されているが、心室リモデリング改善の指標となるかは不明である。

【方法】洞調律でLVEF50%未満の収縮機能の低下した急性心不全の連続23例を対象とした。急性心筋梗塞、弁膜症、先天性疾患は除外した。24時間ホルターはACE阻害薬あるいはARBを導入後の安定期とカルベジロール投与後1ヶ月で測定した。心拍変動は時間領域および周波数領域をMemCalc法で解析した。心エコーは安定期とカルベジロール投与後3ヶ月で施行した。心エコー上LVEF10%以上改善した群をレスポonder(R)、改善しない群を非レスポonder(NR)とし、各群カルベジロール投与前後でパラメーターを比較した。

【結果】LVEFはR群(n=16)では19%($p<0.0001$)改善したが、NR群(n=7)では-6%($p=0.1867$)の変化であった。SDNN、SDANN、rMSSD、pNN50、HFの改善と心機能パラメーター改善の間に有意な相関関係がみられた。R群ではLVDs($p=0.0001$)、LVDd($p=0.0122$)、BNP($p=0.0499$)が有意に改善した。meanNNは両群とも有意に低下したが、差はなかった(R群： $p=0.0006$ 、NR群： $p=0.0378$)。時間領域解析ではR群で、SDNN($p=0.0009$)、SDANN5($p=0.0017$)、rMSSD($p=0.011$)、pNN50($p=0.03$)の有意な増加がみられた。周波数領域解析ではR群でLF($p=0.0011$)、HF($p=0.0091$)の有意な増加がみられたが、LF/HF比は両群とも変化はなかった。

【結論】カルベジロールの投与により、心機能の改善に伴い心拍変動特に副交感機能の改善がみられた。副交感神経活性はカルベジロールの心室リモデリング抑制に関与する。

肥大型心筋症におけるCARP変異の同定と機能解析

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野¹⁾ / Mayo Clinic²⁾ / Baylor College of Medicine³⁾
木村 彰方¹⁾ / 有村 卓朗¹⁾ / Michael J. Ackerman²⁾ / Jeffrey A. Towbin³⁾

【目的】肥大型心筋症(HCM)では、サルコメア構成要素やZ帯構成要素の遺伝子異常が病因になることが知られているが、家族性HCM患者のうちそれらの原因遺伝子に変異を有する患者は約60%であり、さらに未知の原因遺伝子が存在すると考えられる。また、これまでの解析からサルコメア構成要素異常はCa感受性異常、Z帯構成要素異常はストレッチ反応異常をもたらすと考えられる。一方、ストレッチ反応の分子メカニズムには転写補因子CARPが関わりと推定されているが、CARPは心筋細胞の伸展負荷に応じて細胞質から核内へ移行することが報告されている。そこで本研究では、既知の原因遺伝子に変異が認められないHCM患者を対象とした候補遺伝子解析(CARP変異検索)を行うことで新規の原因遺伝子を解明することを目的とした。

【方法】既知の原因遺伝子に変異が見出されていないHCM患者384名(日本人144名、米国人240名)および一般健常者700名(日本人400名、米国人300名)を対象として、CARP遺伝子(ANKRD1)の全域についてdenatured HPLC法およびダイレクトシーケンス法によって変異を検索した。変異のうちHCMに特異的に見出されたP52A、T123M、I280Vについて、タイチンN2-A領域およびミオパラジンとの結合性を免疫沈降法により検討した。さらに、myc-tag遺伝子を用いてラット心筋細胞内での正常および変異CARPと局在を検討した。

【結果】日本人家族性HCM患者1名にT123M変異、米国人孤発性HCM患者2名にそれぞれP52AおよびI280V変異を見出した。これらの変異は一般健常者集団には認められず、HCM特異的と考えられた。一方、HCM患者2名に認められたナンセンス変異(E34X)を認めたが、は家系内でHCMと共分離しないことから病因変異ではないと考えられた。ついで、免疫沈降法による解析を行ったところ、P52A、T123M、I280VはいずれもタイチンN2-A領域およびミオパラジンに対する結合性を増強することが判明した。さらに、ラット心筋細胞に正常ないし変異CARPを導入したところ、未熟状態の細胞では正常、変異CARPとも主に核内に分布したが、成熟状態の細胞では、正常CARPは核内には存在せずI帯に分布するのに対して、変異CARPはI帯領域への分布増強とともに核周辺ないし核内への局在を認めた。すなわち、HCMに見出されたCARP変異は心筋伸展刺激がない状態でも核周辺ないし核内に分布することが判明した。

【総括】CARP変異はストレッチ反応感受性を亢進し、HCMの病因となることが推定される。

鹿児島大学大学院循環器・呼吸器・代謝内科学

桑波田 聡／宮田 昌明／藤田 祥次／池田 義之／新里 拓郎／窪菌 琢郎／濱崎 秀一／鄭 忠和

【背景】我々は、慢性心不全患者における和温療法の効果を検討し、症状の改善のみならず、心機能・末梢血管機能・神経体液性因子・酸化ストレスに対する改善効果を明らかにしてきた。また、心不全では交感神経活動が亢進かつ副交感神経活動が減弱し、病態の増悪に関与している。

【目的】慢性心不全患者における和温療法の自律神経に対する効果を検討すること。

【方法】NYHA分類Ⅱ～Ⅳ度の慢性心不全患者45名を、和温療法を4週間施行した和温療法群28名と、年齢・性別・重症度を一致させた非和温療法群17名に分け比較検討した。和温療法は、遠赤外線乾式サウナ治療室を用い、60℃・15分間のサウナ浴と出浴後30分間の安静保温を行った。入院時、治療2週後、4週後のそれぞれで、心拍変動による自律神経機能評価を行った。心拍変動スペクトルはMemCalc/Tonamシステムを用いて、5分間の連続するRR間隔の時系列解析を行い、低周波成分(LF: 0.04～0.15 Hz)、高周波成分(HF: 0.15～0.40 Hz)および両者の比LF/HFを測定した。副交感神経活動の指標として心電図R-R間隔変動係数(CVRR)とHFを、交感神経活動の指標として血漿ノルアドレナリン濃度とLF/HFを用いた。

【結果】和温療法群ではCVRR, HFともに2週後、4週後に有意に上昇し(CVRR: 前 1.36 ± 0.60 → 2週後 1.63 ± 0.59 , $p < 0.05$ → 4週後 1.84 ± 0.86 , $p < 0.01$; HF: 前 92 ± 83 msec² → 2週後 139 ± 105 msec², $p < 0.05$ → 4週後 178 ± 113 msec², $p < 0.01$)、副交感神経活動の亢進が認められた。また、血漿ノルアドレナリン濃度、LF/HFともに2週後、4週後ともに有意に低下し(血漿ノルアドレナリン: 前 599 ± 320 pg/ml → 2週後 481 ± 269 pg/ml, $p < 0.05$ → 4週後 453 ± 255 pg/ml, $p < 0.01$; LF/HF: 前 2.04 ± 1.71 → 2週後 1.47 ± 1.06 , $p < 0.05$ → 4週後 1.17 ± 0.85 , $p < 0.01$)、交感神経活動の減弱が認められた。一方、非和温療法群ではCVRR, HF、血漿ノルアドレナリン濃度、LF/HFともに有意な変化を認めなかった。

【結語】和温療法は、慢性心不全患者において副交感神経活動を亢進、かつ交感神経活動を減弱させ、自律神経機能を改善させることが示唆された。

加齢による心機能低下におけるオートファジーの意義

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学

大津 欣也

老化に伴い徐々に心機能低下をきたし老化は心不全の病態形成に大きな影響をきたしていると考えられる。オートファジーは蛋白質分解機構の一つであり蛋白質の質の制御、細胞内小器官の機能維持に重要な役割を果たしている。

本研究ではオートファジーにおいて必須の蛋白質であるAtg5の心筋特異的ノックアウトマウスを作成し老化心におけるオートファジーの意義を検討した。

まず野生型マウス心におけるオートファジーを検討した。LC3のウエスタンブロットにて検討したところオートファジーは10週齢に比し6、14、26ヶ月齢では低下していた。Atg5ノックアウトマウスはメンデルの法則に従って出生し、心機能、心形態に異常は認められなかった。しかしこのマウスは生後6ヶ月以降死亡し始めた。生後6、10ヶ月における心機能を心エコー法で評価したところ3ヶ月齢に比べ拡大、心機能低下が認められた。また心臓の線維化、ANF、BNP mRNAの亢進も観察された。さらに電子顕微鏡にて心筋組織を観察するとミトコンドリアの配列が乱れ、クリスタ構造も破壊されていた。

以上よりオートファジーは老化による心機能低下に対して心保護的な役割をしていることが明らかとなった。

「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(JCARE-CARD研究)」は、わが国における慢性心不全入院患者を対象とした多施設前向き登録観察研究である。2004年1月から2005年6月までに全国164施設より登録された2675例を平均2.4年間経過観察した患者データベースを作成し、これらのレジストリーデータをもとに解析研究が進行中である。主たる内容は1)患者の臨床像、特に左室収縮不全患者(心エコーにより測定した左室駆出率40%未満)985例と左室駆出率が保持された(50%以上)患者(HFPEF)429例の比較検討(Tsuchihashi-Makaya et al. Circ J 2009)。2)予後の規定因子の解析として、慢性腎臓病(CKD)(Hamaguchi et al. Circ J 2009)、貧血(Hamaguchi et al. Circ J 2009)、心房細動(Hamaguchi et al. Circ J 2009)、高尿酸血症、体重などの役割。3)大規模臨床試験によって収縮不全に対する治療薬として確立している β 遮断薬やアンジオテンシンII受容体拮抗薬の有効性のレジストリーデータにおける検証などである。これらの研究の結果、わが国の慢性心不全入院患者の生命予後は欧米の患者に比し良好であるものの、その臨床像は欧米の登録観察研究と共通点が多いことがあきらかとなった。今後とも、慢性心不全を対象とした登録観察研究を継続するとともに、これらの研究成果が日常診療や臨床研究・試験の基盤となることを期待したい。

梗塞後心不全におけるミトコンドリアDNAの役割

不全心筋においてミトコンドリア機能が低下し、ミトコンドリア由来の活性酸素が増加し、心不全の増悪メカニズムに関与していることが明らかとなっている。ミトコンドリア転写因子A(TFAM)は、ミトコンドリアDNAの維持に重要な役割を果たしていることが知られており、その過剰発現マウスは、心筋梗塞後の生存率を著しく改善する。一方で、Twinkleは、核でコードされたミトコンドリアDNA(mtDNA)ヘリカーゼであり、Tfam同様に、ミトコンドリアDNAコピー数を制御することができる。さらに、Twinkle過剰発現マウスも、Tfam過剰発現マウス同様に、心筋梗塞後の予後を著しく改善することが明らかとなった。そこで我々は、TfamとTwinkleという二つの異なる因子の過剰発現によるミトコンドリアDNAにコードされた遺伝子ならびにミトコンドリア呼吸鎖サブユニット、さらには酵素活性について比較検討を行った。TfamならびにTwinkleは、その過剰発現によってともにミトコンドリアDNAコピー数増加を認めた。Tfam過剰発現は、mtDNAにcodeされた遺伝子については不変～減少となったが、Twinkleは、一部のミトコンドリア遺伝子の増加を認めた。しかし、両者とも共通して各呼吸鎖酵素活性には変化を認めなかった。さらに心筋梗塞後のリモデリング心で、両過剰発現マウスはともにいくつかのredox感受性遺伝子をはじめとする核でコードされた遺伝子群の変化を伴っていた。これは、ミトコンドリアDNA-核のシグナル伝達解明への糸口となるもので、今後、これらの詳細なメカニズムについて明らかにする予定である

Guanylyl Cyclase-Aシグナルはアルドステロン誘発性心リモデリングにおける食塩の効果を減弱し心保護に関与する

奈良県立医科大学第1内科
齋藤 能彦

【目的】アルドステロン(ALD)は高食塩条件下ではミネラルコルチコイド受容体(MR)を介して心肥大、心線維化などの心リモデリング、および高血圧を惹起するが、野生型のマウスやラットでは通常食塩食餌下ではそれらは惹起されない。ナトリウム利尿ペプチド受容体/guanylyl cyclase-Aノックアウトマウス(GC-A KO)は通常食塩食餌でも心リモデリングの表現型を呈する。我々は選択的MRブロッカー(エプレレノン)を用いた実験でMRシグナルが血圧非依存的にGC-A KOの心リモデリングに関与していることを証明した。しかし、その詳細な機序は不明である。また、よく実施されるALD誘発によるMR活性化で心リモデリング誘発モデルのメカニズムや保護機序も不明な点が多い。今回はGC-AシグナルとALD誘発性心リモデリングでの食塩の効果の関係を調べるためにGC-A KOと野生型マウス(WT)を用いて、種々の食塩条件下で心肥大、心線維化を検討した。

【方法・結果】12週齢の雄のGC-A KOとWTを低食塩食餌(LS)(0.001% NaCl)、通常食塩食餌(NS)(0.6% NaCl)、および高食塩食餌(HS)(6.0% NaCl)群に分類しさらにALD投与(100ng/kg/min)の有無でそれらを群分けして4週間後に心リモデリングの状態を検討した。今回使用したALDの投与量ではGC-A KO、WTとも各食塩条件において投与前に比較して血圧上昇は認められなかった。しかし、GC-A KOでのNS群およびHS群ではALD誘発性心リモデリングの増悪が認められた。それ以外の群ではALDによる心リモデリングの増悪は認められなかった。また、ALD投与の無いGC-A KOのHS群では、GC-A KOでのLS群やNS群に比較して心臓でのcollagen IやBNPのmRNAの上昇が認められた。これらのデータはGC-AシグナルはALD誘発性心リモデリングにおいて血圧ではなく食塩の効果に拮抗することで関与することが証明された。また、GC-A KOで高食塩負荷だけで軽度心リモデリングが誘発されることが示された。各食塩条件下でGC-A KOとWT間に血漿ALD濃度と心臓におけるMRのmRNAの発現量に差が認められなかった。従ってGC-A KOでは食塩依存的にALDによるMRの反応性が増加しているものと考えられた。

【結論】GC-A KOではNS群でもALDによる心リモデリングが認められた。GC-AシグナルはALDによる心リモデリングにおいては食塩の効果を減弱していると考えられた。

In-111抗Tenascin-C Fabによるサル急性心筋梗塞イメージング

国立国際医療センター戸山病院循環器科¹⁾/富士フイルムRIファーマ株式会社²⁾
/医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター³⁾/千葉大学大学院薬学研究院分子画像薬品学⁴⁾
/三重大学大学院医学系ゲノム再生医学講座⁵⁾
廣江 道昭¹⁾/黒澤 裕之²⁾/藤本 央介²⁾/南澤 孝夫²⁾/揚山 直英³⁾
/保富 康宏³⁾/荒野 泰⁴⁾/上原 知也⁴⁾/今中 恭子⁵⁾/今中 恭子⁵⁾

【背景】組織再構築の活性因子であるTenascin-C(TnC)は、心筋症、心筋炎、心筋梗塞など多くの心疾患において、修復期の心筋組織中に発現することが知られており、診断上有用なバイオマーカーであると考えられる。

【目的】これまでに、ラットにおいてIn-111標識抗TnC-FabによるTnCの画像化を報告している。本検討では、カニクイザルの心筋梗塞モデルを用い、より臨床に近い条件下での画像化の可能性を検討した。

【方法】冠動脈完全結紮術後4日目のカニクイザルに、In-111標識抗TnC-Fab(68MBq)を静注し、投与後5.5hrに撮像を行った。なお、撮像の0.5hr前にTc-99m MIBI(740MBq)を静注し、Dual SPECT画像を撮像した。撮像後、安楽死させ、心臓のDual autoradiography(ARG)、心筋組織のHE染色および抗TnC抗体による免疫染色を実施した。

【結果】SPECTの結果、心臓に集積したIn-111のシグナルが検出された。周辺からの散乱線の影響を強く受けてはいたが、ARGとの対比より、シグナル局在が抗TnC抗体の特異的集積と一致している可能性のあることが観察された。HEおよび免疫染色の結果、壊死巣と健常部の境界領域にTnCの高発現が観察され、その分布はARG像に一致した。

【考察】周辺散乱線の影響やカメラ分解能の限界もあり、得られたSPECT像は明瞭ではなかったが、臨床に近い条件下において心臓組織でのTnCを画像化できることが判明した。

拡張型心筋症発症における CaMKII δ と p53 の役割

千葉大学大学院医学研究院循環病態医科学¹⁾ / 大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学²⁾
小室 一成¹⁾ / 東口 治弘¹⁾ / 塩島 一朗²⁾

拡張型心筋症は、最終的に心不全に至る予後不良の疾患である。アンジオテンシン変換酵素阻害薬や β 遮断薬などの薬物療法の普及に伴い以前よりその予後は改善しているが、その治療には限界がある。日本でも心移植が開始されたがドナー不足の状態であり、心臓移植により加療できる患者数は限られていると言わざるを得ず、そのため拡張型心筋症の生命予後を改善する新たな治療法の確立が切望されている。拡張型心筋症の原因は多岐にわたるが、その約30%は遺伝子変異によると考えられている。しかし現在のところ、遺伝子変異より拡張型心筋症を発症する機序については未だ不明である。今後新しい治療法を開発するには、この分子機序の解明が必要であると考えられる。最近我々は拡張型心筋症の発症機序を解明することを目的に拡張型心筋症モデルマウスを新規に作成した。ヒトと同じ遺伝子変異を持つこのモデルマウスが、かつヒト拡張型心筋症と非常に類似した表現系を示すことは既に報告している。現在このモデルマウスを用いて、遺伝子変異より拡張型心筋症に至る分子機序に関して現在検討中である。

これまでの検討により、この拡張型心筋症マウスでは野生型マウスと比較し p53 が増加していることと CaMKII δ が活性化されていることを明らかとした。拡張型心筋症マウスと p53 ヘテロノックアウトとの交配により、拡張型心筋症マウスの心機能低下が抑制された。また、拡張型心筋症マウスに CaMKII δ の阻害薬である KN-93 を投与すると、心内腔の拡大と心収縮力の低下が改善した。さらに活性化 CaMKII δ の拡張型心筋症における役割を確認するため、CaMKII δ の阻害ペプチドである AC3I を心臓特異的に過剰発現させたマウスと拡張型心筋症マウスとを交配させた。結果、KN-93 投与と同様、拡張型心筋症マウスの心内腔の拡大と心収縮力の低下が改善した。KN-93 投与および AC3I の過剰発現により、拡張型心筋症マウスにおける p53 の発現が抑制された。以上の結果より、遺伝子変異による拡張型心筋症発症には p53 と CaMKII δ が重要な役割を担っていると考えられ、p53 の発現増加に CaMKII δ の活性化が関与している可能性が示唆された。

拡張型心筋症マウスに対するアンジオテンシン受容体拮抗薬の効果

東京慈恵会医科大学循環器内科¹⁾ / 東京慈恵会医科大学細胞生理²⁾ / 東京慈恵会医科大学青戸病院内科³⁾
本郷 賢一¹⁾ / 栗原 敏²⁾ / 吉村 道博¹⁾ / 武田 信彬³⁾

ヒト拡張型心筋症の原因遺伝子変異の一つであるトロポニンT K410欠失変異を正常トロポニンTと入れ替えて作成したノックインマウス(DCMマウス)において、ヒト拡張型心筋症と同様の著明な心機能の低下が認められ、また生後6ヶ月以内にほぼ全個体が死亡するという予後不良であることが明らかとなった。DCMマウスにおいて、左室乳頭筋標本にエクオリン法を用いて細胞内Ca動態につき検討したところ、著しい収縮張力の低下にも関わらず、細胞内Ca濃度変化の増大及び時間経過の延長が認められた。今回、このDCMマウスに対するアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)であるカンデサルタンの効果につき検討を行った。カンデサルタン投与によりDCMマウスの生命予後は著明に改善した。心臓超音波検査における左心機能の検討では、著明に拡大した左室内径はカンデサルタン投与により有意に改善されていたが、左心機能については改善傾向を認めるものの、有意な変化は認められなかった。細胞内Ca動態につき検討したところ、DCMマウスにおいて修飾された細胞内Ca濃度変化については、カンデサルタン投与によっては変化しないことが明らかとなった。左室肉柱標本に界面活性剤(triton-X)処理を行うことにより作成したスキンド標本を用いて、収縮蛋白系Ca感受性につき検討したところ、DCMマウスにおいては著明にCa感受性が低下しており、この低下したCa感受性はカンデサルタン処理によっては改善しないことが明らかとなった。一方で、組織標本において心筋組織線維化について検討したところ、DCMマウスにおいては著明な線維化の亢進が認められ、カンデサルタン投与により線維化の抑制が認められた。以上の結果より、ARB投与によりDCMマウスの予後は改善され、この効果には心臓リモデリングと心筋組織線維化の抑制が関与しているものと考えられた。

【背景】QT間隔やQTディスページョンなどのQT指標は心室性不整脈の予測因子と考えられているが、遺伝子変異が確認された肥大型心筋症患者におけるQT指標の意義は、未だ明らかになっていない。そこで今回我々は、肥大型心筋症の原因遺伝子変異保因者において、QT指標と臨床像との関連について検討した。

【方法】対象は、111名の肥大型心筋症遺伝子変異保因者とした。それらの111名を、以下のような3群(A群：心電図異常を認めず、心エコー図検査も左室肥大(定義：左室壁厚13mm以上)を認めない群、B群：心電図異常は認めるが、心エコー図検査では左室肥大を認めない群、C群：心電図異常および心エコー図検査にて左室肥大を認める群)に分類した。これら3群の対象について、臨床像とQT指標を比較した。

【結果】左室最大壁厚は、C群(19.0 ± 4.3 mm)において、A群(9.2 ± 1.8 mm)およびB群(10.4 ± 1.8 mm)よりも有意に大であった。そして、最大QTc間隔およびQTディスページョンは、C群においてA群よりも有意に大であった(それぞれ、 438 ± 38 ms vs 406 ± 30 、 64 ± 31 vs 44 ± 18 、 $P < 0.05$)。B群におけるQTc間隔およびQTディスページョン(436 ± 50 および 64 ± 22)も、A群と比較して有意に大であった。

【結論】肥大型心筋症の原因遺伝子変異保因者においては、心電図異常は認めるものの心エコー図検査にては未だ左室肥大を認めないB群においても、最大QTc間隔およびQTディスページョンが延長していることが示された。今後、これらのQT指標の変化と予後との関連を検討する必要がある。

三群抗不整脈薬アミオダロンは自己免疫性心筋炎の発症を抑制し、進展をも軽減する

【背景】心筋においてKチャンネルは心筋収縮や不整脈の調節を主に担っている。一方、各種の炎症細胞にもKチャンネルが存在し、炎症の調節に関与していることが最近報告された。実験的アレルギー性脳脊髄炎においてはすでにある種の抗不整脈薬が発症を抑制することが知られている。

【目的】ラット実験的自己免疫性心筋炎(EAM)においてKチャンネル拮抗薬であるアミオダロンが発症抑制・進展抑制効果を有するか否かを検討した。

【方法・結果】ブタ心筋ミオシンをラットに皮下注射することにより免疫し、EAMモデルラットを作成した(aEAM)。まず、アミオダロン(25mg/kg/日)および生理食塩水をそれぞれのaEAMラット群に感作前3日から後21日の間連日腹腔内投与した($n=15$ vs. 15)。アミオダロン投与群はコントロール群に比べ肉眼的および組織学的な評価のいずれとも心筋炎を抑制した(0.8 ± 0.8 vs. 2.2 ± 1.1 , $P=0.028$; 0.7 ± 0.5 vs. 1.5 ± 1.1 , $P=0.049$)。次に、抗原認識されるまでの導入期(前3日~後9日)、心筋惹起性T細胞(MTL)が増殖し心筋を傷害する効果期(後12日~21日)の限局投与でも同様に、アミオダロン投与にて心筋炎の軽減効果を認めた。一方、ミオシン特異的T細胞株(MTL)を用いた抗原刺激性細胞増殖試験において、アミオダロンは用量依存性に増殖を抑制した。また、MTL移注による心筋炎(tEAM)は効果期を再現したものと考えられるが、同様にアミオダロン投与(3日前~9日後投与)でも心筋炎抑制が確認された。

【結語】アミオダロンは導入期、効果期のいずれの投与においてEAMにおける抗炎症効果を認めた。アミオダロンは不整脈の発症抑制効果だけでなく、心筋炎の軽減効果も有する。

【目的】ウイルス性心筋炎に対する副腎ステロイド剤使用の是非に関しては見解が定まっていない。そこでマウスウイルス性心筋炎モデルを用いてdexamethasone (DEX) の効果を検討した。

【方法】3週令♂A/Jマウスにcoxsackievirus B₃ (CVB3) 2×10⁴PFUを腹腔内接種し心筋炎を作成した。このウイルス接種群に加え、DEX 0.15ml/日を5日間投与し、翌日にウイルスを接種した群(前投与群)、最初にCVB3を接種した後、翌日からDEX 0.15ml/日を5日間連続投与した群(後投与群)の3群を比較検討した。全群ともウイルス接種14日後に心臓を摘出し、左室内径、壁厚、ウイルス力価(TCID₅₀)を測定した。またCOX-2阻害実験として、NS-398単独投与群、NS-398とCVB3 2×10⁴PFUの同日投与群、NS-398とCVB3 1×10⁴PFUの同日投与群の生存及び組織分析を行った。

【結果】ウイルス単独投与群は、左室内径の拡張と壁厚の減少、ウイルス力価の上昇を認めたが、DEX投与群では先行及び後投与のどちらにおいてもウイルス性心筋炎による組織変化とウイルス力価は有意に抑制されていた。更に、ウイルス接種と共にNS-398を投与した群全例が、ウイルス単独接種群よりも早期に死亡した。

【まとめ】ウイルス性心筋炎にDEXを使用した群では、心筋障害の程度が少なく、DEXによる心保護作用が認められた。ウイルス性心筋炎においてCOX-2阻害剤の併用によりマウスの早期死亡が見られることより、ステロイド受容体の下流であるCOX-2が心筋障害に関与していると考えられた。マウスウイルス性心筋炎では、DEXはウイルス性心筋炎の治療に有効であり、DEXによる保護効果が、COX-2の誘導を介している可能性が示唆された。

炎症性心疾患におけるアディポネクチンの役割

アディポネクチンは脂肪細胞から分泌されるアディポカインであり、抗炎症作用を持ち、また動脈硬化の進展抑制に関わっている。今回我々はアディポネクチンが心筋の炎症性疾患において果たしている役割を検討した。使用した疾患モデルは、急性心拒絶反応、移植心冠動脈硬化、アドリアマイシン心筋障害モデルであり、アディポネクチン過剰発現マウス(Tg-SE)、発現低下マウス(Tg-AS)を用いて検討した。

1. 急性心拒絶モデル: BALB/cから採取した心臓をTg-SEマウス(B6バックグラウンド)またはwild type B6マウスに移植した。移植心はいずれの群でも9日以内に急性拒絶され、両群で差は認められなかった。

2. 移植心冠動脈硬化モデル: bm12とTg-SEマウスまたはwild type B6の間で心臓移植を行った(class 2-mismatch)。慢性拒絶心(Tg-SEレシピエント)でアディポネクチン受容体R1, R2の発現が亢進していた(PCRおよび免疫染色)。またTg-SEレシピエント、Tg-SEドナーの両モデルの移植心とも、内膜肥厚は著明に抑制されていた。Tg-SEレシピエントではIFN- γ 、TNF α 、IL-2、IL-6、IL-10、MCP-1の発現が亢進抑制されていた。血管平滑筋細胞と活性化T細胞の混合培養ではアディポネクチン添加により平滑筋細胞の増殖抑制が見られた。

3. アドリアマイシン心筋障害モデル: wild type B6、Tg-AS、Tg-SEマウスにそれぞれ4mg/kgのアドリアマイシンを週1回6週間にわたって注射することで心不全モデルを作成した。生存率はTg-ASで短縮、Tg-SEで延長していた。wild type B6、Tg-ASでは収縮期血圧が低下したが、Tg-SEマウスでは血圧低下は軽度であった。Tg-SEマウスではTUNEL陽性細胞が減少していた。それぞれのマウスから得た新生児培養心筋細胞にアドリアマイシンを添加したところ、Tg-SEマウス細胞では他群に比して、AMPKおよびproapoptotic factorであるBaX、Bad、Bakの発現が低下し、antiapoptotic factorであるBcl-2、Bcl-Xが増加していた。この変化はTg-SE細胞の培養液中にAMPK阻害薬を添加することで阻害された。

結論: アディポネクチンは移植心冠動脈硬化およびアドリアマイシン心筋障害に抑制的に働く。前者にはPPAR γ 活性化を介した抗炎症作用が、後者にはAMPK経路を介したアポトーシスの抑制が関与している可能性がある。

久留米大学医学部心臓・血管内科・循環器病研究所

安川 秀雄／二又 誠儀／大場 豊治／今泉 勉

Interleukin-1やTNFなどの炎症性サイトカインがsepsisやエンドトキシンによる左心機能障害を促進することが知られている。一方で、G-CSFやleukemia inhibitory factor (LIF)、cardiotrophin 1などのgp130 サイトカインはこれらの病態を改善させることが報告されている。このように、エンドトキシンによる左心機能障害を促進するサイトカインと抑制するサイトカインが存在する。興味深いことに、エンドトキシンによる左心機能障害を抑制するサイトカインは、JAK-STATを活性化しsuppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3)によってその機能が抑制される。本研究の目的は、エンドトキシンによる左心機能障害におけるJAK-STAT経路とその制御因子であるSOCS3の役割について検証することである。心筋特異的SOCS3ノックアウトマウス(SOCS3-CKO)にLPS(30mg/ml)を投与し、左心機能障害、アポトーシス、アポトーシス関連分子の発現、ミトコンドリア障害などについて野性型マウス(WT)と比較評価した。LPS投与3時間後において、左室駆出率(LVEF)は両グループにおいて著明に低下した。LPS投与6時間後、WTにおいてLVEFはさらに低下したが、SOCS3-CKOではLVEFの低下は有意に抑制された。STAT3のリン酸化とBcl-xLの発現はSOCS3-CKOにおいて遷延しており、cleaved caspase 3の発現はSOCS3-CKOで抑制されていた。次に、LPS投与6時間後の心臓よりミトコンドリア分画と細胞質分画を調整し、チトクロームCの局在を評価したところ、SOCS3-CKOではチトクロームCの細胞質分画への放出が抑制されていた。さらに、LPS投与3時間後の心臓における酸化ストレス関連分子の発現をreal-time PCRで評価した。その結果、SOCS3-CKOマウスの心臓において、複数の抗酸化ストレス分子の発現が亢進していることが明らかとなった。これらの結果より、LPS投与後のSOCS3-CKOの心臓では、心筋細胞のサイトカインに対する感受性が亢進し、酸化ストレスとミトコンドリア障害が抑制されることによって左心機能障害が抑制されると考えられた。

心臓シミュレーションによる再生医療の最適化

東京大学大学院新領域創成科学研究科¹⁾ / 東京大学医学部循環器内科²⁾
杉浦 清了¹⁾ / 鷲尾 巧¹⁾ / 岡田 純一¹⁾ / 久田 俊明¹⁾ / 永井 良三²⁾

再生医療の実用化には基礎から臨床にわたる多面的な研究が必要と考えられる。今回我々は心臓シミュレーションモデルを用い心筋シートによる心不全治療の効果を検討した。東京大学において開発中の心臓シミュレータは約2000万個のバーチャル心筋細胞をヒトのCTデータから構成した心臓形状に合わせて配置した有限要素モデルであり興奮収縮連関の分子機構に基づいて心臓の興奮伝播から収縮・弛緩とそれに伴う血液の流入、駆出までを再現することができる。健常の心臓に加えマクロの形態から分子レベルの異常にいたるまで様々な病態モデルにも応用を進めている。今回の検討においては左室自由壁の広汎な心筋梗塞による不全心をまず作成した。次にここに心筋シートをモデル化した組織片を心外膜から付着し同期収縮による左室機能改善効果を術前と比較した。今後心筋細胞の走行、組織とのカップリングの様式など様々な要因を検討し応用の可能性を探る予定である。