

心筋症診断における心臓 MRI と心内膜心筋生検の意義に関する検討

国立循環器病センター

吉田 朱美／植田 初江／山田 直明／朝倉 正紀／北風 政史

背景：近年心臓 MRI(CMR)の普及により、心不全の原因鑑別も可能となっており、実臨床において心筋症診断の際に必ずしも心内膜心筋生検(EMB)を施行すべきか否かで統一した見解がない。

目的：心筋症診断における CMR と EMB の有用性を検討した。

方法：LV dysfunction 精査目的に国立循環器病センターに入院し、CMR 及び EMB を含む検査を行った 40 名を対象とした。退院時の最終診断をゴールドスタンダードとし、臨床情報をマスキングして行った CMR 診断名及び EMB 診断名の比較をした。

結果：全体での CMR 正診率・EMB 正診率は、(65 vs 65 %, n=40)であり同等であった。各々疾患では、拡張型心筋症(86 vs 79 %, n=14)、肥大型心筋症(62 vs 69%, n=13)、心サルコイドーシス(57 vs 43 %, n=7)、高血圧性心筋症(50 vs 25 %, n=4)、心筋炎(0 vs 100 %, n=2)であった。

結論：心筋症の診断において CMR と EMB は、ほぼ同等の正診率であった。今後は CMR の使用が増すことが期待される。



**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〉**

2010 年度第 1 回研究報告会

**2010 年 10 月 28 日 (木)
東大病院入院棟 A15F 大会議室**

北風班 2010 年度第 1 回総会・研究報告会 プログラム

(開会の辞)

セッション I : 心不全・心筋症ほか

座長 : 吉村 道博 (東京慈恵会医科大学)

- 11:00 福田 恵一 (慶應義塾大学) 4
G-CSF promotes the proliferation of developing cardiomyocytes in vivo and in derivation from ES cells and iPS cells
- 11:10 後藤 雄一 (国立精神・神経医療研究センター神経研究所) 4
ミトコンドリア DNA 全周シーケンス法のミトコンドリア病診断における有用性の検討
- 11:20 筒井 裕之 (北海道大学) 5
拡張型心筋症患者における運動耐容能の低下は骨格筋細胞内脂肪の増加と相関する
- 11:30 竹石 恭知 (福島県立医科大学) 5
中枢性無呼吸を合併した心不全に対する adaptive servo ventilation の効果の検討
- 11:40 川名 正敏 (東京女子医科大学付属青山病院) 6
心臓サルコイドーシスにおける心臓 MRI 遅延造影像の特徴

セッション II : 心不全・心筋症の病態解明

座長 : 筒井 裕之 (北海道大学)

- 11:50 吉村 道博 (東京慈恵会医科大学) 6
造影 MRI による肥大型心筋症患者のリスク評価
- 12:00 磯部 光章 (東京医科歯科大学) 7
MMP の抑制を介したクラリスロマイシンによる心臓リモデリングの抑制
- 12:10 久保田 功 (山形大学) 7
Toll-like receptor(TLR β 4 を介した心房内皮障害は、心房内血栓形成に関与する
- 12:20 大津 欣也 (大阪大学) 8
心不全における Ca 依存性蛋白分解酵素カルパインの役割
- 12:30 石坂 信和 (大阪医科大学) 8
アンジオテンシン II 投与ラットモデルを用いた心不全の分子メカニズムの解析

(昼食)

(第 1 回総会)

セッション III : 心不全・心筋症の分子メカニズム

座長 : 室原 豊明 (名古屋大学)

- 13:30 小室 一成 (大阪大学) 9
拡張型心筋症発症における CaMKI $\text{II}\delta$ と p53 の役割
- 13:40 木村 剛 (京都大学) 9
心不全の進行に伴う心臓エネルギー代謝変化の包括的解析
- 13:50 永井 良三 (東京大学) 10
転写因子 KLF6 による TGF β シグナル経路を介した心筋線維化・肥大の調節機序の解明
- 14:00 木村 彰方 (東京医科歯科大学) 10
ミオシン脱リン酸化素の活性制御機構
- 14:10 今中 恭子 (三重大学) 11
Matricellular タンパクによる心室リモデリングの制御メカニズム

セッションⅣ：心不全の臨床研究

座長：和泉 徹（北里大学）

14:20	鄭 忠和（鹿児島大学）	11
	心不全に対する和温療法の抗酸化作用機序の解明	
14:30	下川 宏明（東北大学）	12
	東北慢性心不全登録研究（CHART-2）から見た心血管疾患の進行と予後	
14:40	室原 豊明（名古屋大学）	13
	ドブタミン薬物負荷による左室収縮応答と CPX による運動耐容能の関連	
14:50	齊藤 能彦（奈良県立医科大学）	13
	質量顕微鏡法による心筋疾患の解析	
15:00	砂川 賢二（九州大学）	14
	慢性心不全における QOL と九州大学病院における心臓リハビリテーションの実践	

（コーヒーブレイク）

セッションⅤ：心筋炎ほか

座長：今泉 勉（久留米大学）

15:30	中谷 武嗣（国立循環器病研究センター）	14
	心臓移植医療における左心補助人工心臓治療中長期成績	
15:40	松崎 益徳（山口大学）	15
	ウイルス性心筋炎に対するグルココルチコイドの心筋保護効果の検討	
15:50	和泉 徹（北里大学）	15
	Color-engineered rat を用いた実験的自己免疫性心筋炎の病態解析	
16:00	廣江 道昭（国立国際医療研究センター病院）	16
	SOCS1-DNA を用いた遺伝子免疫療法による実験的自己免疫性心筋炎の制御効果についての検討	

セッションⅥ：心筋症の遺伝子解析・病態解明

座長：北風 政史（国立循環器病研究センター）

16:10	今泉 勉（久留米大学）	16
	ドキソルピシン心筋症の病態におけるサイトカインの役割	
16:20	豊岡 照彦（東京大学・北里大学）	17
	拡張相を示す肥大型心筋症の遺伝子解析（Ⅱ）	
16:30	山岸 正和（金沢大学）	18
	肥大型心筋症と予後関連因子	

（閉会の辞）

G-CSF promotes the proliferation of developing cardiomyocytes in vivo and in derivation from ES cells and iPS cells

慶應義塾大学医学部循環器内科

Shimoji K, Yuasa S, Onizuka T, Hattori F, Tanaka T, Hara M, Ohno Y, Chen H, Egashira T
Seki T, Yae K, Koshimizu U, Ogawa S, Fukuda K

誘導多能性幹細胞 (iPS 細胞) や胚性幹細胞 (ES 細胞) は心臓の再生医療に用いることが可能な有力なソースであるが、心筋誘導効率はいまだ十分に高いとはいえない。更に心筋誘導効率を上昇させるために我々は ES 細胞から心筋細胞を誘導する分泌因子のスクリーニングを行った。この中で、幼若心筋細胞において顆粒球コロニー刺激因子受容体 (G-CSFR) 遺伝子の発現が著明に上昇していることを見出した。次に我々は G-CSF、G-CSFR 双方がマウス胎仔の発生過程の心臓に一過性に、かつ特異的に強く発現していることを確認した。さらに、子宮内に G-CSF を直接投与すると胎仔心筋細胞の増殖が促進された結果として過形成を生じ、逆に、G-CSFR ノックアウトマウスは内因性の G-CSF シグナルによる心筋細胞の増殖が抑制された結果、胎生後期に心臓の菲薄化をきたし、そのうち約 50% が致死的になることが判明した。胎仔から単離した心筋細胞も G-CSF によって強く増殖を促進されることから、G-CSF の効果は血液細胞などを介する間接的作用ではなく、心筋細胞に対する直接的作用であることが証明された。一方、マウス ES 細胞由来の心筋細胞も G-CSFR を強く発現している。ES 細胞由来の心筋細胞に G-CSF を添加するとその増殖は強く促進され、この効果は各種の細胞増殖阻害剤で抑制される。また G-CSF の中和抗体を添加すると、心筋細胞の増殖は抑制される。さらに、siRNA によって JAK2、STAT3 を特異的に阻害した場合も G-CSF の効果は消失する。すなわち、マウス ES 細胞分化誘導系でも G-CSF は幼若心筋細胞の増殖を促進することが判明した。最後に我々は誘導多能性幹細胞 (iPS 細胞) を用いた心筋細胞誘導系でも G-CSF の同様の効果が再現されることを確認した。これらの観察から G-CSF は STAT3 経路を介して発生過程の心筋細胞の増殖に強く関与し、また、各種幹細胞からの心筋細胞産生の効率を高めることが証明された。ES 細胞や iPS 細胞由来の心筋細胞を心臓の再生医療や創薬へ応用する際に、G-CSF を用いた心筋細胞誘導法は心筋細胞の収率を大きく改善させる可能性を秘めている。

ミトコンドリア DNA 全周シーケンス法のミトコンドリア病診断における有用性の検討

国立精神・神経医療研究センター神経研究所
後藤 雄一

ミトコンドリア DNA 変異により心筋症をはじめとするミトコンドリア病が発症することはよく知られた事実であるが、その主な原因とされている代表的な点変異は m.3243A>G や m.8344A>G などである。従来のミトコンドリア DNA 検査では、これら代表的な点変異の特異的検出が主体であり、高度先進として承認されているミトコンドリア病遺伝子診断も欠失検査以外には 10 個の点変異を調べる程度のものであった。しかしながら、ミトコンドリア病の認知が進み遺伝子検査が多くの症例で依頼されるようになったこと、シーケンス検査が比較的安価にできるようになってきたことなどから、当院でも積極的にミトコンドリア全周シーケンス検査を進めてきた。現在までに 400 例以上の症例でミトコンドリア DNA 全周シーケンスを行っており、その中から頻度は低いが病因的と報告されている変異が少なからず同定されている。これらの結果を踏まえ、本検査の有用性と問題点を考察し、新たなミトコンドリア DNA スクリーニング検査の提案を行う。

拡張型心筋症患者における運動耐容能の低下は骨格筋細胞内脂肪の増加と相関する

北海道大学大学院医学研究科循環病態内科学
平林 鑑／絹川真太郎／筒井 裕之

【背景】心不全患者では運動耐容能が低下するがこれには、骨格筋の形態異常やエネルギー代謝障害が密接に関わっている。骨格筋細胞内脂肪は骨格筋細胞への脂肪酸の取り込みとミトコンドリアでの脂肪酸 β 酸化のバランスによって決定される。したがって、心不全患者においては骨格筋細胞内脂肪が蓄積している可能性があるが、現在までに骨格筋細胞内脂肪の変化やその病態生理学的意義を検討した研究はない。

【目的】拡張型心筋症患者において骨格筋細胞内脂肪が増加しているか、またその変化が骨格筋エネルギー代謝異常や運動耐容能低下と関係があるかを明らかにする。

【方法】拡張型心筋症 (DCM; LVEF<40%, NYHA I-III) と診断された心不全の男性患者 12 名及び年齢・性別を一致させた健常者 (コントロール群) 12 名を対象とした。血液検査、心エコー、プロトン MRS ($^1\text{H-MRS}$) による下肢骨格筋細胞内脂肪の測定、エルゴメーターによる有酸素運動能力の評価、リン MRS ($^{31}\text{P-MRS}$) による骨格筋エネルギー代謝の測定を行った。

【結果】DCM 群で左室拡張末期径および収縮末期径が有意に増大し、左室駆出率は有意に低下した。さらに、最大酸素摂取量および嫌気性代謝閾値のいずれも DCM 群で低下した。骨格筋細胞内脂肪量は DCM 群でコントロール群と比較して有意に増加した。両群とも下肢局所運動によってクレアチンリン酸が低下し、無機リンが増加した。安静時のクレアチンリン酸は両群間で差がなかったが、運動によりクレアチンリン酸はコントロール群と比較して、DCM 群で有意に低下した。最大酸素摂取量および嫌気性代謝閾値はそれぞれクレアチンリン酸低下率と有意な負の相関をみとめた。さらに、骨格筋細胞内脂肪量は最大酸素摂取量および嫌気性代謝閾値と有意な負の相関をみとめ、クレアチンリン酸低下率とは有意な正の相関をみとめた。

【結論】拡張型心筋症患者において下肢骨格筋細胞内脂肪が増加した。さらに骨格筋細胞内脂肪量は運動耐容能および骨格筋エネルギー代謝と密接に相関した。したがって、慢性心不全の基本病態である運動耐容能低下に脂肪酸代謝障害を含む骨格筋自体の代謝異常が重要な役割を果たしていると考えられた。

中枢性無呼吸を合併した心不全に対する adaptive servo ventilation の効果の検討

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／義久 精臣

【目的】慢性心不全患者の 60-70% に睡眠時無呼吸症候群を合併するとされる。特に中枢性睡眠時無呼吸症に伴うチェーンストークス呼吸 (Cheyne-Stokes respiration, CSR) は、心不全患者の予後を悪化させる。CSR に対する陽圧換気療法である順応性自動制御換気 (adaptive servo ventilation, ASV) 療法は無呼吸と心機能を改善することが報告されている。本研究では、ASV の交感神経活性、心筋細胞障害に対する効果を検討した。**【方法】**CSR を合併した心不全患者 42 名 (平均年齢 62 歳、平均左室駆出率 34%、平均無呼吸低呼吸指数 41.4 回/時) を対象とした。ASV 前後で BNP、NT-proBNP、高感度トロポニン T、尿中カテコラミン値を測定した。**【結果】**ASV 装着後、無呼吸低呼吸指数は改善し、夜間平均心拍数は低下した。BNP、NT-proBNP、高感度トロポニン T、尿中カテコラミン値はいずれも ASV 後に低下した。**【結論】**ASV は CSR を有する心不全症例において、交感神経活性を抑制し、心筋細胞障害を軽減した。

「心臓サルコイドーシスにおける心臓 MRI 遅延造影像の特徴」

東京女子医科大学病院心臓病センター循環器内科¹⁾ / 国立国際医療研究センター循環器内科²⁾
/ 埼玉医科大学国際医療センター画像診断科³⁾ / 東京女子医科大学病院画像診断・核医学科⁴⁾
/ 東京女子医科大学附属成人医学センター⁵⁾ / 東京女子医科大学付属青山病院循環器内科⁶⁾
中島 崇智¹⁾ / 笠井夕美子¹⁾ / 野村 新¹⁾ / 大森 久子¹⁾ / 渡邊 絵里¹⁾ / 廣江 道昭²⁾
/ 木村 文子³⁾ / 坂井 修二⁴⁾ / 萩原 誠久¹⁾ / 永田まこと⁵⁾ / 川名 正敏⁶⁾

サルコイドーシスにおける心臓病変の合併は全体の5%と少ないが、サルコイドーシスの死因の2/3以上を占めるといわれており、早期に診断することが重要である。2006年に改定された『サルコイドーシスの診断基準と診断の手引き』では、心臓病変を示唆する副徴候のなかに心臓MRI検査を用いた「Gadolinium 造影MRIによる遅延造影所見」が新たに取り入れられた。

心臓MRI検査は空間分解能および組織分解能に優れており、特にガドリニウム造影剤投与後に撮像する遅延造影像は、心筋の炎症に伴う浮腫を含めた障害心筋を描出することが可能であり、サルコイドーシスの心臓病変の診断への有用性が報告されている。心臓サルコイドーシスの中には左室拡大および左室機能低下を呈する症例が含まれ、拡張型心筋症との鑑別に苦慮する場合が少なくない。2003年7月以降に当院で遅延造影像を含む心臓MRI検査を施行した左室駆出率40%以下かつ左室拡張末期径60mm以上で遅延造影像を呈した連像63症例を検討したところ、心臓サルコイドーシス症例が17症例、拡張型心筋症が47症例であった。遅延造影所見の検討の結果、心外膜側ないしは貫壁性の帯状かつ明瞭な遅延造影が心臓サルコイドーシスに特徴的であり、拡張型心筋症との鑑別点になることが明らかとなった。

またT2強調STIR画像を用いると心筋内の浮腫を高信号領域として描出することが可能である。心臓サルコイドーシス症例では、遅延造影像を認める部位において心筋浮腫の有無を検出することで心臓サルコイドーシスの活動性を評価できる可能性、ステロイド治療前後での治療効果判定に利用できる可能性があるが、未だ定見は得られていない。

以上心臓サルコイドーシスの診断や活動性の評価における心臓MRI検査の可能性についてまとめたが、今後はより多くの施設や症例での診断能や有用性の検討と併せて、他臓器のサルコイドーシス症例における心臓病変のスクリーニングについて検討する必要がある。

造影MRIによる肥大型心筋症患者のリスク評価

東京慈恵会医科大学循環器内科
本郷 賢一 / 野尻明由美 / 吉村 道博

近年、心筋線維化の評価に遅延造影MRIが用いられるようになり、剖検所見との整合性についても報告されてきている。本研究では、心臓MRIの遅延造影所見の新たな解析法を用いて、肥大型心筋症患者における危険因子との関連及び予後についての検討を行った。ガドリニウム造影MRI上の遅延造影所見は、inversion-recovery法を用いて、正常心筋信号が無信号となる条件を設定し、ソフトウェアにより判読した。シネMRIを撮影し、心エコー法で用いられる3つの短軸像の16セグメントを用い、各々のセグメントにつき心外膜側、心筋中央部及び心内膜側の三層に分け、総計48セグメントとした。各セグメントにおいて遅延造影の有無を判定し、有所見のセグメント数をDE scoreと定義した。この方法を用いて、当院における46例の肥大型心筋症症例(Maron type III)でのMRIによる心筋線維化評価を行った。遅延造影所見は34例(74%)に認められ、DE scoreは1点から21点の範囲であった。これまでに報告のあった突然死の危険因子とされる要因が認められる症例では、DE scoreは有意に高値であった。平均3.6年間の追跡調査により、心不全発症2例、非持続性心室頻拍が4例に認められ、Kaplan-Meier法による解析で、DE score高値群で有意にイベント発生が多いことが明らかとなった。以上の結果より、DE score法による遅延造影MRIの解析法は、肥大型心筋症患者のリスク判定に有用であると考えられた。

MMPの抑制を介したクラリスロマイシンによる心臓リモデリングの抑制

東京医科歯科大学大学院循環制御内科学¹⁾ / 東京大学大学院先端医療開発学講座²⁾
磯部 光章¹⁾ / 鈴木 淳一²⁾

背景: 心室リモデリングは、心疾患患者の長期予後を決定する重大な要素である。これまでに心筋虚血再灌流後心室リモデリングの進展に MMP が重要な役割を演じていることが明らかとなった。現在臨床で広く用いられているマクロライド系抗生物質の一つであるクラリスロマイシンには、MMP-9 活性阻害効果があることが報告された。我々はクラリスロマイシンの心筋虚血再灌流障害、また急性心筋炎後の心室リモデリング抑制効果をラットモデルにて検討した。**方法および結果:** ラット心臓の左前下行枝を 30 分結紮した後に再灌流して虚血再灌流心筋傷害モデルを作成した。虚血後 7 および 14 日の心エコーでは左室収縮率の低下を無治療群で認めたが、クラリスロマイシン治療群で有意な改善を認めた。14 日目の病理学的検討では、無治療群において広範な細胞浸潤を認めたのに対し、クラリスロマイシン治療群ではその範囲は有意に抑制されていた。免疫染色では、CD4、CD8、MMP-9 などの陽性細胞の浸潤がクラリスロマイシンで抑制されていた。in situ ザイモグラムでは、クラリスロマイシンが虚血心内の MMP-9 活性を抑制していた。細胞培養実験では、IL-1beta で刺激した J774.1A 細胞から産生される MMP-9 レベルはクラリスロマイシンによって抑制されたが、MMP-2 には影響がなかった。**結論:** クラリスロマイシンの持つ MMP-9 活性阻害効果は、心筋虚血再灌流後心室リモデリングの進展を抑制し、臨床的に予後を改善する可能性がある。ミオシンによる免疫で誘発されるラット自己免疫性心筋炎モデルにおいても同様の結果を得ることができた。

Toll-like receptor(TLR)-4 を介した心房内皮障害は、心房内血栓形成に関与する

山形大学医学部内科学第一講座
加藤 重彦 / 渡邊 哲 / 鈴木 聡 / 石野 光則 / 佐々木敏樹 / 久保田 功

背景: 肥大型心筋症や左室肥大合併心不全患者において、心不全死、突然死に加え、血栓塞栓症は予後を左右する重大な合併症である。血栓形成には血流停滞、凝固能亢進に加え血管内皮障害が関与することが知られている。心房には血管内皮に類似した心房内皮が存在し、心房細動モデルで、心房内皮の炎症が血栓形成に関与することが報告された。肥大大心では心房細動を合併しやすいが、心房細動患者の心房筋において HSP60 の発現増加が報告された。HSP60 は Toll 様受容体 (TLR) -4 の内因性リガンドである。これより TLR-4 シグナルを介する心房内皮の炎症が肥大大心における心内血栓形成に関与するという仮説を立て、検討を行った。

方法・結果: 同意を得た患者の心房筋検体を心臓手術時採取した。洞調律群に比べ、心房細動群では心房内皮に一致して炎症性接着因子 VCAM-1 の発現が亢進していた。ウエスタンブロットでは VCAM-1 の増加に加え、TLR-4、HSP60 の発現も増加していた ($p < 0.05$, 各々)。次に TLR-4 欠損 (KO) マウスを用い動物実験を行った。8-12 週齢の C57BL/6 の野生型 (WT) マウスと TLR-4 欠損 (KO) マウスに大動脈縮窄術 (TAC) を行った。以前の報告とは異なり、TAC 4 週間後では両群間で心肥大の程度と心機能には差を認めなかった。しかし TLR-4KO マウスでは WT マウスと比較し、心房内血栓を認める例が少なかった [WT-TAC: 16/20 (80%) vs. TLR-4KO-TAC: 4/15 (27%) , $p < 0.001$]。TLR-4KO マウスでは、WT マウスと比較して心房筋 VCAM-1 の発現亢進と血管内皮機能を反映する eNOS リン酸化の抑制が减弱していた ($p < 0.05$, 各々)。更に TLR-4KO マウスでは、p38 リン酸化が抑制されていた ($p < 0.05$)。他 MAP kinase (ERK 及び JNK) に差を認めなかった。また WT マウスと比較し TLR-4KO マウスで NF κ B 活性が抑制されていた。

結論: TLR-4/p38、NF κ B 経路を介する心房内皮炎症が心房内血栓形成に関与する可能性が示唆された。

カルパインは Ca 依存的に基質を限定分解するプロテアーゼである。カルパインには数多くのアイソフォームが存在することが知られているがそのなかでも μ - 及び m- カルパインは組織普遍的に存在し、生命にとって必須な機能を担っている。それらカルパインはアイソフォーム特異的でプロテアーゼ活性を持つラージサブユニット (calpain 1 あるいは 2) と共通の安定化に関与するスモールサブユニット (calpain 4) からなるヘテロダイマーである。カルパインは心臓において虚血再灌流時や心不全時などカルシウムオーバーロード時に心筋細胞の細胞骨格分子を分解することにより細胞障害に働く責任分子として知られていた。しかしカルパイン阻害薬を用いた薬理学的研究が主であり、その病態生理学的意義は不明であった。今回我々はカルパインの心不全における役割を明らかにするため心筋特異的 Calpain 4 欠損マウスを作製、検討した。まず常法に基づきその floxed calpain 4 マウスを作製した。このマウスと α -myosin heavy chain promoter-Cre recombinase トランスゲニックマウスを交配し心筋特異的 calpain 4 欠損マウス (CKO) を得た。CKO マウスはメンデルの法則に従って生まれ、外観は正常であった。心筋細胞におけるカルパイン蛋白質量は CKO において calpain 4 のみならず calpain 1, 2 も 80-90% 低下を示した。生後 8 週において心形態・機能を心臓超音波法にて評価したところ同腹対照マウス (CTL) と比し有意さは認めなかった。そこで CKO マウスに大動脈縮索術 (TAC) により圧負荷をかけたところ、CTL では心機能は変化せず肥大のみを示す術後 1 週において CKO マウスにおいては心拡大、心機能低下を認めた。さらに組織学的検討において心臓線維化を認めた。従ってカルパインは圧負荷後心不全発症において心筋細胞障害に働くのではなく心筋細胞保護に働いていることが明らかとなった。

アンジオテンシン II 投与ラットモデルを用いた心不全の分子メカニズムの解析

大阪医科大学内科学 III¹⁾ / 大阪医科大学教育機構²⁾ / 大阪薬科大学³⁾
/ 三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学⁴⁾ / 国立国際医療研究センター⁵⁾
藤田 修一¹⁾ / 寺崎 文生¹⁾ / 大塚 薫¹⁾ / 北浦 泰¹⁾ / 田中 孝生²⁾
/ 幸田 祐佳³⁾ / 吉田 利通⁴⁾ / 廣江 道昭⁵⁾ / 今中 恭子⁴⁾ / 石坂 信和¹⁾

【背景と目的】 心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は利尿作用および血管拡張作用を有するホルモンである。近年さらに RAAS 系を抑制することや心筋保護作用のあることが報告されている。しかし、それらの作用の詳細なメカニズムは依然不明である。我々は以前から細胞外マトリックス蛋白である tenascin-C (TN-C) に注目し、急性心筋梗塞や拡張型心筋症など、組織障害、炎症、また組織リモデリングの存在する状況下で TN-C の発現が亢進していることを報告した。今回の研究目的は、アンジオテンシン II (Ang II) 投与ラットモデルを用いて ANP の効果と作用機序について検討することである。

【対象と方法】 250-280g の Wistar Kyoto rat 30 匹をランダムに 3 群 (Control 群、Ang II 群、Ang II + ANP 群、それぞれ N = 10) に分割し、1) 血圧測定、2) 心エコーによる評価、3) 組織学的検討 (線維化率の計測、TN-C の免疫染色、CD68 の免疫染色、心筋細胞横径の計測)、4) RT-PCR (Collagen I、Collagen III、TGF β 1、MCP-1、TNC、BNP、ANP) を行った。

【結果と考察】 Ang II 投与により、Control 群に比較して血圧の上昇が認められたが、Ang II 群と Ang II + ANP 群で血圧の差はなかった。心エコーでは Ang II 投与により左室壁肥厚、左室拡張能の有意な低下が認められ、ANP 投与によりそれらの改善傾向が認められた。また組織学的検討では Ang II 投与による有意な線維化率の増加、炎症を反映する CD-68 陽性細胞数の増加、心筋細胞の肥大が認められ、これらは ANP 投与により有意に抑制された。また、Ang II 投与により TN-C の染色性が高まり、ANP 投与により低下した。RT-PCR に関しては Ang II により線維化関連遺伝子 (Collagen I、Collagen III、TGF β 1、TN-C) の発現が増加し、ANP 投与により低下した。また、Ang II により炎症の指標となる MCP-1 の発現も増加し、ANP 投与により低下した。

【結論】 ANP が Ang II により惹起された心筋線維化と炎症を抑制し、心機能を改善することが示唆された。

拡張型心筋症発症における CaMK II δ と p53 の役割

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学
小室 一成

拡張型心筋症は最終的に心不全に至る予後不良な疾患であり、その生命予後を改善する新たな治療法の確立が望まれている。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。しかしながら、現在のところ遺伝子変異から拡張型心筋症を発症する機序については未だ不明であり、今後新しい治療法を開発するためには、この発症機序を分子レベルで解明する必要があると考えられる。

我々は拡張型心筋症の発症機序を解明するために、ヒトと同じ遺伝子変異を持つ拡張型心筋症モデルマウス (mActin-Tg) を新規に作成した。この mActin-Tg はヒト拡張型心筋症と非常に類似した表現型を示した。これまでの検討から、この拡張型心筋症モデルマウスでは野生型マウスに比べて p53 が増加していることと、CaMK II δ が活性化していることを明らかにした。この mActin-Tg マウスと p53 ヘテロノックアウトマウスとの交配や CaMK II δ 阻害薬 KN-93 の投与、さらに、CaMK II δ 阻害ペプチド AC3I を心臓特異的に過剰発現させたマウスとの交配によって心機能低下は抑制されたことから、遺伝子変異による拡張型心筋症発症には CaMK II δ の活性化を介する p53 の発現増加が重要な役割を果たしていることが示唆された。今回 CaMK II δ の役割を詳細に検討するために、心筋細胞に活性型 CaMK II δ を過剰発現させた。活性型 CaMK II δ C を過剰発現させると、活性型 CaMK II δ B を過剰発現したときには見られなかった p53 の集積が認められたところから、CaMK II δ C の活性化が p53 の発現増加に重要な役割を果たしていることが明らかになった。また、交換神経系と CaMK II δ の活性化との関係について検討するために mActin-Tg マウスに β 遮断薬 bisoprolol を投与したところ、mActin-Tg マウスの心機能低下は抑制され、CaMK II δ の活性化も抑制された。この結果から、mActin-Tg マウスの心機能低下には β アドレナリン受容体の活性化を介した CaMK II δ の活性化が関与している可能性が示唆された。

心不全の進行に伴う心臓エネルギー代謝変化の包括的解析

京都大学大学院医学研究科循環器内科学
塩井 哲雄/加藤 貴雄/木村 剛

【背景】 心不全にエネルギー代謝の変化が伴うことは知られているが、どのようにその変化が生ずるか?、又は、その変化が心不全進行において保護因子か悪化因子か?、は明らかではない。

【方法・結果】 ダール食塩感受性ラットに 6 週齢から高食塩餌を投与し、高血圧を発症させた。ラットは 11 週齢で代償性心肥大をきたし 17 週齢から 19 週齢で心不全にて死亡した。代償性心肥大期には糖の取り込みが増加していたが、心不全期には更なる糖の取り込み亢進と脂肪酸の取り込み低下を認めた。心肥大期では糖代謝・脂肪酸酸化・ミトコンドリア機能に関する遺伝子発現は保持されていたが、心不全期では転写調節因子の減少とあいまってこれらの遺伝子発現は低下していた。メタボローム解析で 114 の解糖系、TCA 回路、アミノ酸・核酸に関与する代謝産物を測定した所、心不全で解糖系から分岐するペントース・リン酸経路が活性化されていることが明らかとなった。糖酸化を亢進するジクロロアセテート (DCA) の慢性投与により、心臓エネルギー予備能と糖の取り込みが亢進した。DCA はダールラットの心機能と生存率を改善した。培養心筋細胞において、DCA は心臓でペントース・リン酸回路を亢進させ、酸化ストレスを減少させた。

【結語】 心肥大から心不全への移行に伴い心臓エネルギー代謝は大きく変化した。心不全で糖代謝が亢進するのは、心筋エネルギー供給を増加させることに加えて、ペントース・リン酸経路の亢進により酸化ストレスを軽減させることにある可能性がある。また、心筋エネルギー代謝異常への介入は、心不全治療の新しい標的になりうるということが分かった。

動脈硬化の進展による圧負荷の増大やレニンアンギオテンシン系の亢進に対して心筋は肥大や線維化といったリモデリングを経て拡張・収縮不全に至る事が知られている。その経路は非常に多岐・複雑であり、特に遺伝子転写調節による制御機能については未だ多くが不明の状態である。Krüppel-like factor (KLF) 型転写因子は昨今、心発生や病態刺激への組織リモデリングに重要な役割を果たす事が知られつつある転写因子群である。KLF6 は我々のグループが発見に関与した KLF 転写因子の一つであるが肝星状細胞への発現を介した肝線維化への関与や卵黄嚢血管発生等心血管系の発生への関与が示唆されている。KLF6 の心筋リモデリングへの関与を検討する為ノックアウトマウスに対してアンギオテンシン II (Ang II) の持続投与負荷及び大動脈結紮による圧負荷を行った。KLF6 ヘテロノックアウトマウス (klf6^{+/−} マウス) では有意に心線維化が減弱しており(線維化面積比; 野生型:klf6^{+/+} マウス 5.24%:1.6%)、また心筋肥大も軽度となる傾向が見られた(心体重比; 野生型:klf6^{+/+} マウス 10.5:8.0)。免疫組織学的検討では負荷ごく初期での Mac3 陽性細胞の心筋浸潤が同様に有意に減弱している他、心筋自体の Smad2 リン酸化の低下が認められた。マイクロアレイを用いた発現遺伝子解析では野生型に比し線維化マーカーであるコラーゲン Ia、III や心筋肥大マーカーである心房利尿ペプチド (ANP)、 β ミオシン重鎖 (β MHC) のみならずトロンボスポンディン (TSP) 1 や 4 の発現がそれぞれ 38.9%、27.7% と低下していた。初継代心筋を用いた解析では KLF6 が TSP1,4 の転写に直接関与しており Ang II 等の刺激により KLF6 が発現しこれら生理活性物質の転写を誘導し、初期の炎症細胞動員・心筋線維芽細胞や TGF β の活性化により病態刺激による心筋線維化や心筋肥大に関与している事が示された。KLF6 による TGF β 経路を介した炎症細胞浸潤や心筋線維化・心筋肥大の機序解明は転写因子によるリモデリングの制御機構についての知見を増加させるのみならず特に心不全初期の治療標的探索にも有益な情報を提供すると考えられる。

ミオシン脱リン酸化素の活性制御機構

【背景と目的】 心筋収縮の Ca 感受性異常は心筋症の病因となる。Ca 感受性制御機構にはトロポニン複合体による制御とミオシン軽鎖リン酸化制御の 2 つの経路があり、前者はよく研究されているが、後者については不明な点が多い。我々は以前に心筋特異的に発現するミオシン脱リン酸化酵素 (PP1M) のスモールサブユニット (M21) をクローニングし、M21 には 2 種類のアイソフォーム (M21A および M21B) が存在すること、これらがラージサブユニット (M110/M130) と結合すること、および心筋や平滑筋の Ca 感受性を亢進することを報告した。一方、平滑筋においては、ラージサブユニット (M110) の Thr696 または Thr853 が Rho キナーゼ (ROCK) によってリン酸化されると PP1M 活性が抑制されることが知られている。本研究は、M21 による PP1M 活性制御機構の解明を目的とした。

【方法】 M21A, M21B, M110 および M130 の全長ないし部分コンストラクトおよびアミノ酸置換コンストラクトを作製し、動物細胞 2 ハイブリッド法およびプルダウン法を用いて、これらの結合性を検討した。また、ROCK2 および恒常的活性化 ROCK2 コンストラクトを作製し、これらが単独ないし M21 との共存下で M110 および ERM (Ezrin/Radixin/Moesin) のリン酸化に与える影響を検討した。さらに、ROCK 阻害剤 (Y-27632) を用いて、これらのリン酸化が ROCK に依存するかどうかを検討した。

【結果と考察】 M21A は M110 と強く結合し、M21B は M130 と弱く結合した。M21A と M110 との結合には Ser852 が重要であった。また、M21A が存在すると M110 の Thr693 位のリン酸化が亢進したが、これは Y-27632 によって抑制されたため、ROCK を介するものと考えられた。一方、M110 は ROCK2 によって Thr696 と Thr853 位がリン酸化されるが、M21A が存在すると Thr853 位のリン酸化が生じなかったため、M21A の結合は M110 の Thr853 位がリン酸化されることを防ぐと考えられた。さらに、M21A は ROCK に結合し、ROCK の活性を亢進した。

【結論】 M21 は ROCK の活性化により M110 のリン酸化を制御することで PP1M 活性を調節する。

Matricellular タンパクによる心室リモデリングの制御メカニズム

三重大学大学院修復再生病理学¹⁾ / 三重大学マトリックスバイオロジー研究センター²⁾
今中 恭子^{1) 2)} / 下條 尚志¹⁾ / 鈴木 由加¹⁾ / 石垣 共基¹⁾ / 原 万里¹⁾ / 吉田 利通^{1) 2)}

Matricellular タンパクは、細胞外マトリックス分子うち、線維や基底膜など明らかな構造物をつくらず、発生、組織修復や再生など伴って高発現し、組織構築の改変を制御する分子群を指す。心血管疾患病態への関与が知られているオステオポンチン、ペリオスチン、CTGF などが Matricellular タンパクに分類される。我々はこれまで、Matricellular タンパクのプロトタイプであるテネイシン C (TnC) に注目し、拡張型心筋症患者、心筋梗塞患者で血中 TnC 値がリモデリングの程度に相関して上昇し、TnC の高い患者は左室リモデリングを起こしやすく予後が悪いこと、TnC ノックアウトマウス (BALB/c バックグラウンド) を用いた冠動脈結紮モデルは、心筋梗塞後急性期の生存率や梗塞巣の大きさには野生型マウスと差がみられないが、28 日後の心機能回復がよく、心室リモデリング、線維化が抑制されていることから、TnC は心室リモデリング増悪因子として作用すると考えられた。マウスモデルで、TnC は梗塞後 24 時間以内に 3 日をピークに発現し 2 週間以内に消失するため、組織リモデリングにおける TnC の役割をあきらかにするために、梗塞後急性期の組織修復過程に注目した。C57BL/6 バックグラウンドの TnC ノックアウトマウスで冠動脈結紮モデルを作製すると、同系統の野生型マウスに比較して、7 日以内の生存率が有意に低く、生き残ったマウスでは梗塞巣の線維形成が抑制されていた。培養系で、TnC は SRC および FAK を介して、integrin $\alpha v \beta 3$ と PDGFR- β のクロストークを増強し、平滑筋細胞の遊走、増殖を促進したため、TnC は組織修復時の筋線維芽細胞の動員を制御し創傷治癒を促進すると考えられた。従って、TnC はペリオスチン、SPARC などの他の Matricellular タンパク同様、急性期の組織修復を促進する一方、慢性期の心室リモデリングを促進するという両面性をもつことが示唆された。

心不全に対する和温療法の抗酸化作用機序の解明

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科循環器・呼吸器・代謝内科学
池田 義之 / 宮田 昌明 / 鄭 忠和

【背景】我々は、60°Cの均等低温サウナ装置を用いた和温療法が、心不全患者における心血管機能・神経体液性因子・自律神経機能・自覚症状・予後を改善させ、さらに酸化ストレスを軽減させることを明らかにしてきた。本研究の目的は、心不全における和温療法の抗酸化作用発現機序を解明することである。

【方法】心不全モデル動物である 30 週齢の TO2 ハムスターを和温療法施行群と非施行群の 2 群に分け、和温療法施行群に対してのみ 1 日 1 回・週 5 回・4 週間和温療法を施行した。34 週齢時に Millar catheter を用いて左心室内 +dP/dt (LV+dP/dt) を計測し血行動態を評価した。また、免疫化学染色法及び ELISA 法を用いて、酸化ストレスマーカーである 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) の心筋における発現を比較検討した。さらに、抗酸化物質である Heat shock protein (HSP) 32・HSP27 および manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) の心筋における発現を、Western blot 法にて比較検討した。

【結果】和温療法非施行群と比較し、和温療法施行群では LV+dP/dt が有意に改善した (5880 ± 1640 vs 4180 ± 660 mmHg/sec, n=11/ 群, P<0.01)。免疫組織化学染色及び ELISA 法により、4 週間の和温療法が心筋における 4-HNE 発現を有意に軽減させることが明らかとなり、不全心筋に対する和温療法の抗酸化効果が確認された (ELISA; 3.57 ± 0.96 vs 5.53 ± 1.17 µg/ml, n=8/ 群, P<0.01)。さらに、Western blot 法により、4 週間の和温療法が心筋の HSP32・HSP27 および Mn-SOD 発現を有意に増加させることが明らかになった (HSP32, 0.83 ± 0.18 vs 0.54 ± 0.12, n=8/ 群, P<0.01; HSP27, 1.25 ± 0.30 vs 0.27 ± 0.16, n=8/ 群, P<0.01; Mn-SOD, 0.81 ± 0.20 vs 0.52 ± 0.16, n=8/ 群, P<0.01)。

【結語】和温療法は、Heat Shock Protein 発現を介して心不全における酸化ストレスを軽減させることが示唆された。

【背景】生活習慣の欧米化は若年者において心血管疾患ハイリスク群を増加させ、人口構成の高齢化は心血管疾患患者の集積をもたらす。心血管疾患の末期像である心不全は今後爆発的に増加する。

【目的と方法】心不全診療のエビデンス形成には、ランダム化比較試験が必要であるが、現実の臨床を十分に反映しているとは言えない。当科では西暦 2000 年より心不全患者の多施設前向き登録事業：東北慢性心不全登録研究 (CHART) を行っている。2006 年 10 月より心不全発症のハイリスク症例を含めた新たなコホート：第二次 CHART 研究 (CHART-2) を開始した。登録基準は AHA/ACC 心不全診療ガイドラインのステージ B/C/D 患者と全ての冠動脈疾患患者である。

【結果】関連 24 施設から 10,219 名の登録を得て 2010 年 3 月に登録期間を終了した。今後 3 年間の追跡を予定している。登録時の解析を行うと、平均年齢 68.2 歳、男性が 70% を占めた。以下に現時点での中間解析の結果の一部を示す。

1) 虚血性心不全におけるスタチンの有効性について

CHART-2 に登録された症例のうち虚血性心不全症例 (N=1,850) においてスタチンは 57% に投与されていた。投与群では若年で BMI は高く糖尿病の合併が多かった。年齢、性、駆出率、投薬内容で補正した生存解析では、スタチン投与群は非投与群と比較して予後は有意に良好であった。

2) 心血管疾患における低 T3 症候群の意義

CHART-2 に登録された症例から TSH、fT3、fT4 を測定した 1,393 名を対象にして解析を行った。低 T3 症候群は心不全症例の 36.8% に認められ、高齢で女性に多く、より心不全症状が強かった。BNP と高感度 CRP は有意に上昇していた。

3) 日本人における弁膜症の意義

CHART-2 研究の登録症例のうち 18.5% に何らかの弁異常が認められた。最も多いのが僧帽弁疾患で 8.1%、複数弁の障害は 2.4% に認められた。弁機能異常を有する症例では、より高齢で女性が多く、心房細動合併が多かった。一方、高血圧・高脂血症・糖尿病のような古典的動脈硬化リスクの合併は有意に少なかった。

【結語】心血管疾患コホートはエビデンスの検証や補完に有用なツールと思われる。今後年に一回のデータ登録と予後追跡を行い、新規心不全発症に関わるリスクの解明を行う予定である。

ドブタミン薬物負荷による左室収縮応答と CPX による運動耐容能の関連

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／奥村 貴裕／室原 豊明

【背景】心肺運動負荷試験 (CPX) は慢性心不全患者の運動耐容能の評価に有用であり、特に peak VO_2 および VE/VCO_2 slope は予後予測因子、リスク層別化因子として確立されている指標である。ドブタミン負荷による左室心筋応答の評価もまた、予後予測に有用であるとの報告もみられる。しかしながら、これらの CPX の指標と左室心筋応答との関連を検討した報告は少ない。**【目的】**特発性拡張型心筋症 (IDCM) 患者において、CPX における peak VO_2 および VE/VCO_2 slope とドブタミン負荷試験による心筋収縮予備能との関連について検討した。**【方法】**対象は当院における 2007 年 12 月から 2010 年 3 月までの IDCM 患者連続 38 例。全例同時期に血液検査、心臓超音波検査、CPX および心臓カテーテル検査によるドブタミン負荷試験を施行した。心臓カテーテル検査において、左室内腔に 6Fr マイクロマノメータ付ピグテールカテーテルを留置し、ベースラインでの $LVdP/dt_{max}$ を測定した。続いて、5 γ 、10 γ 、15 γ のドブタミンを順次負荷し、定常状態になったところで同じく $LVdP/dt_{max}$ を測定した。左室収縮予備能として、ベースラインからの $LVdP/dt_{max}$ の変化率 ($\Delta LVdP/dt_{max}$) を算出した。**【結果】**平均年齢は 52 歳、心臓超音波検査では、LVEF33%、心肺運動負荷試験における peak VO_2 は平均 20.2ml/kg/min、 VE/VCO_2 slope の平均は 32.5 であった。peak VO_2 は、ベースラインの $LVdP/dt_{max}$ すなわち安静時左室収縮能と有意な相関を認めないものの、ドブタミン負荷量の増加に伴い、 $\Delta LVdP/dt_{max}$ と強い相関を認めた。 VE/VCO_2 slope は有意な相関を認めなかった。peak VO_2 および VE/VCO_2 slope それぞれに、BNP、LVEF、 $\Delta LVdP/dt_{max}$ (10)、 E/e' を説明変数とした重回帰分析を施行した結果、peak VO_2 に対し、 $\Delta LVdP/dt_{max}$ は独立した規定因子であった ($p=0.036$)。**【結語】**IDCM 患者において、ドブタミン薬物負荷による心筋収縮予備能は、 VE/VCO_2 slope より peak VO_2 に強く反映されている可能性が示唆された。

質量顕微鏡法による心筋疾患の解析

奈良県立医科大学第 1 内科¹⁾ / 浜松医科大学分子解剖学研究部門²⁾
尾上 健児^{1) 2)} / 瀬藤 光利²⁾ / 斎藤 能彦¹⁾

質量顕微鏡法とは、既存の質量分析法を応用し顕微鏡レベルの解像度で位置情報を失うことなく組織切片を分析し、得られたスペクトルから任意のピークを選択することで分子種に応じた分子分布および量をイメージングすることができる新たな解析手法である。ターゲットを絞らずに一度に数千種類の分子種を解析することができるため、従来の方法では診断し得なかった物質の同定が可能な方法であり、組織内物質を同定することで、病態に応じた分子動態や薬物動態等を知ることができ、ひいては病因解明にも結び付く可能性があるため、診断のみならず新たなバイオマーカーの発見、新たな治療戦略の構築などにつなげることができると考えられる。

今回、我々はファブリー病患者心筋生検組織およびファブリー病モデルマウス心の解析を質量顕微鏡法を用いて行った。その結果、ファブリー病で蓄積することの知られている globotriaosylceramide (Gb3) に一致するピークを主に 4 種類検出することができた。これらは、Gb3 の構成成分である脂肪酸の炭素鎖長が異なる分子種であった。これらの Gb3 は組織上の主に心筋内空胞変性部に一致して認められたが、4 種の Gb3 が同一部位に存在する場合と互いに独立して存在する部位があった。ファブリー病モデルマウスの解析では、HE 染色で明らかな心筋空胞変性が認められなかったにも関わらず、質量顕微鏡法では Gb3 を検出することができた。

以上の結果より、質量顕微鏡法を用いた解析では、従来法よりもより詳細な組織内物質の情報を知ることができると実証できた。今後、他の蓄積病に関しても本法を応用し、病態分析や病因解明などに寄与したい。

九州大学循環器内科
井手 友美/砂川 賢二

九州大学病院ハートセンターでは、2005 年より心臓リハビリテーションを開始し、心不全をふくめた多くの心疾患患者のリハビリを行っている。

心臓リハビリでは心不全患者の QOL を改善することが期待されるが、日本人での詳細な評価は未だ不十分である。日本人心不全患者の QOL 評価のため、日本語版 Minnesota Living With Heart Failure (MLWHF) の validation を行い、SF-36、NYHA、心機能・筋力との相関、心リハによる効果を比較した。

心不全患者 35 名 (平均年齢 60 ± 17 歳、NYHA 2.8 ± 0.7) に SF36 ならびに MLWHF questionnaire を実施した。日本語版 MLWHF は、SF36 の精神的 (MCS) ・身体的 (PCS) スコアならびに社会生活機能へのぞく各機能と良好に相関し、NYHA クラス分類においては、EF、BNP よりも、MLWHF、SF36 の身体的機能において、より強い相関が認められた。心臓リハビリの外来継続実施により、これら QOL の指標が改善を示した。(MLWHF $37 \pm 8 \rightarrow 34 \pm 9$, $p < 0.05$, SF36 MCS $46.3 \pm 8.5 \rightarrow 31.0 \pm 7$, $p < 0.05$, PCS $29.3 \pm 9.5 \rightarrow 34.0 \pm 6.1$, $p < 0.05$) 以上より、日本人心不全患者の QOL 評価として、日本語版 MLWHF は有用であり、心臓リハビリテーションは心不全患者 QOL 改善に効果的であることが示された。

心臓移植医療における左心補助人工心臓治療中長期成績

国立循環器病研究センター移植部¹⁾ / 国立循環器病研究センター心臓外科²⁾
中谷 武嗣¹⁾ / 戸田 宏一²⁾ / 村田 欣洋¹⁾ / 瀬口 理¹⁾
/ 築瀬 正伸¹⁾ / 藤田 知之²⁾ / 小林順二郎²⁾

【目的】心筋症患者の予後は改善してきているものの、内科的治療が奏功せず強心薬から離脱できない症例も多い。臓器移植法が改正され、さらに植込型補助人工心臓に関して、3 種の製造承認が申請中で、1 種の治験も進められている。また、植込型補助人工心臓に関する市販後調査レジストリ (J-MACS) の活動開始など市販に向けた準備が進められている。このような状況において末期的重症心不全に対する心臓移植および補助人工心臓治療の位置付けを明らかにすることが重要である。今回我々は当院での心筋症に対する補助人工心臓治療の中長期治療成績を検証した。【方法と対象】1999 年以降の当センターにおける左室心尖脱血補助人工心臓 (LVAS) を装着した心筋症連続 101 症例を対象とした。6 例は虚血性で 95 例は非虚血性心筋症であった。術前に 43 例 (43%) は IABP のみの、また 25 例 (25%) では IABP + PCPS による循環補助がなされていた。LVAS 装着機種は体外式 (TOYOBO) が 89 例、植込型が 12 例であった。【成績】手術死亡 (術後 30 日以内) は認めず、累積生存率は 90% (6 ヶ月)、83% (1 年)、72% (2 年) であった。術後遠隔期に脳合併症 (18 例)、感染 (14 例) 等で失ったが、31 例は 706 ± 365 日 (99-1444 日) LVAS 補助後、心移植施行された。心移植後は術後 4 年目に感染症で失った 1 例を除き全員生存しており、心移植後 5 年生存率は 93% であった。Cox ハザードモデルを用いた多変量解析では術前 PCPS 装着を要したショック状態は LVAS 術後遠隔期の唯一有意な予後不良因子であった (hazard ratio: 2.3)。【結論】心筋症に伴う末期的重症心不全に対しても LVAS 植え込み手術は安全に施行でき、中長期予後も海外の成績に比しても遜色の無いものであった。一方術前 PCPS を要するショック状態での LVAS 装着手術の予後は不良で、かかる症例への治療戦略が今後重要と考えられる。

ウイルス性心筋炎に対するグルココルチコイドの心筋保護効果の検討

山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学
中村 浩士/松崎 益徳

ウイルス性心筋炎に対するステロイド治療の是非に関して見解は定まっていない。最近の報告では副腎皮質ステロイドはグルココルチコイド受容体を介して心筋保護的に作用することが報告されている。そこでマウスウイルス性心筋炎モデルを用いて dexamethasone の効果を詳細に検討した。3週令♂ A/J マウスに coxsackievirus B₃ (CVB3) 2×10^4 PFU を腹腔内投与し心筋炎を作成した。CVB3 のみを投与した群 (CVB3 群)、dexamethasone 0.15ml/日を5日間投与した後、6日目に CVB3 を投与した群 (DEX-pre/CVB3 群)、CVB3 を投与した後、dexamethasone 0.15ml/日を5日間投与した群 (DEX-post/CVB3 群) の3群を作成した。14日後にマウスの心筋を採取し、左室内径、壁厚、ウイルス力価 (TCID₅₀) を測定し、それぞれ3群間を比較した。また COX-2 阻害実験として、NS-398 のみを投与した群、NS-398 と CVB3 を投与した群 (NS-398/CVB3)、CVB3 のみを投与した群、NS-398 と CVB3 を接種し dexamethasone 連日投与した群 (NS-398/DEX-pre/CVB3 & NS-398/DEX-post/CVB3) の生存分析を行った。CVB3 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-pre/CVB3、DEX-post/CVB3 群においてはその変化は有意に抑制されていた。NS-398 を用いた阻害実験ではウイルス接種と共に NS-398 を使用した群の方が全例とも超早期に死亡したが dexamethasone の早期投与により生存率を有意に改善した。以上より、マウスウイルス性心筋炎において dexamethasone 早期投与はウイルス性心筋炎の治療に有効であり、その一因として COX-2 が心筋保護的に作用している可能性が示唆された。

Color-engineered rat を用いた実験的自己免疫性心筋炎の病態解析

北里大学医学部循環器内科学
柳澤 智義/猪又 孝元/前川 恵美/水谷 知泰
品川 弥人/竹内 一郎/竹端 均/和泉 徹

背景:我々は現在までに GFP transgenic rat (GFP Tg rat) を用いた GFP ラベル化心筋炎惹起性 T 細胞株 (GFP-MTL) を樹立し、GFP-MTL が従来の MTL と同様な CM2 への抗原特異性を示し、また心筋炎惹起能も同等であることは既に報告した。この GFP-MTL を用いて自己免疫性心筋炎モデル (EAM) を作成し、GFP-MTL を追跡観察することでどのような体内、心筋組織動態を呈しているかが解明できることで心筋組織炎症への移注した T 細胞の役割の解明に繋がると想定される。

目的: Color-engineered rat (GFP transgenic rat) から作成した GFP-MTL の移注後の体内動態の解析および心筋組織炎症の発症及び持続メカニズムの解明を行う。

方法・結果:5週齢の naïve Lewis rat の尾静脈より GFP-MTL を移注し、経時的に心筋炎症部を共焦点レーザー顕微鏡下で観察を行ったところ、移注した GFP-MTL は第3病日より心筋間質内に少数ながら浸潤を認めた。第5病日より GFP-MTL 浸潤部に一致して心筋の炎症所見を認め、経時的な心筋炎重症度の増大とともに GFP-MTL の著明な集簇を呈していた。第7病日となるとホストの naïve Lewis rat 由来 CD4 陽性 T 細胞 (GFP-CD4⁺) の心筋炎症部への遊走が著明となり (GFP-MTL vs. GFP-CD4⁺: 398 ± 158 vs. 351 ± 112 細胞数、400倍1視野当たり)、心筋炎症部へのホスト CD4 陽性 T リンパ球の動員が確認された。第9日目には、より心筋炎重症度の増大を呈しているにも関わらず GFP-MTL の減少を認め、心筋炎症部は GFP-CD4⁺ が炎症の主体となっていることが確認された。(GFP-MTL vs. GFP-CD4⁺: 265 ± 61 vs. 1020 ± 210 細胞数、400倍1視野当たり)

結語: GFP-MTL が心筋間質内に直接浸潤した後心筋炎症が惹起され、経時的な心筋炎の重症度の増大とともに病態の主体が GFP-MTL からホストの CD4 陽性 T リンパ球に移行する。

SOCS1-DNA を用いた遺伝子免疫療法による実験的自己免疫性心筋炎の制御効果についての検討

国立国際医療研究センター病院循環器内科¹⁾ / 独立行政法人医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター²⁾
/ 筑波大学人間総合科学研究科循環器内科³⁾
/ 三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学・マトリックスバイオロジー研究センター⁴⁾
/ 独立行政法人医薬基盤研究所免疫シグナルプロジェクト⁵⁾
/ 三重大学大学院医学系研究科病態解明医学講座免疫制御学分野⁶⁾
廣江 道昭¹⁾ / 田尻 和子^{2) 3)} / 今中-吉田 恭子⁴⁾
/ 仲 哲治⁵⁾ / 青沼 和隆³⁾ / 保富 康宏^{2) 6)}

【背景】 Suppressor of cytokine signaling (SOCS) はサイトカインシグナルを負に制御するネガティブフィードバック調整因子であり、SOCS 分子の作用を人為的に増強あるいは減弱することにより、破綻した免疫調整機構の制御や疾患の新規治療法につながる可能性が考えられる。特に SOCS1 はインターフェロンのシグナルを抑制して自己免疫性疾患の発症を抑制し、自然免疫の制御にも関わることが明らかとなっている。本研究では、SOCS1-DNA ワクチンを用いて自己免疫性心筋炎の制御が可能であるかを検討した。

【方法と結果】 自己免疫性心筋炎は、マウスミオシンエピトープペプチドを完全フロイントアジュバントと共に皮下接種する事により作製した。この心筋炎マウスに SOCS1-DNA を投与すると、コントロールの心筋炎と比較して心重量は著しく軽減し、心筋への炎症細胞の浸潤も減少し、心臓局所の炎症性サイトカインやケモカインの産生も低下した。また心筋炎マウスに SOCS1 のアンタゴニストとして働く SOCS1 dominant negative を投与すると、SOCS1 投与とは反対に心筋炎の増悪を認めた。

【結語】 SOCS1-DNA 投与によって自己免疫性心筋炎の制御効果を認めた。SOCS1 による JAK-STAT 系の抑制によって心筋炎が軽減したことが示唆される。

ドキシソルピシン心筋症の病態におけるサイトカインの役割

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 / 京極 幸子 / 永田 隆信 / 大場 豊治 / 今泉 勉

アントラサイクリン系抗生物質は抗腫瘍効果が強いために抗がん剤として汎用されている。しかし、用量依存性に心筋障害や心不全などの重篤な副作用を誘発するため使用が制限される。塩酸ドキシソルピシン (Dox) 誘発性心筋障害の病態におけるシグナル伝達の分子機序については不明な点が多い。JAK-STAT 経路は心筋細胞の生存シグナルとして重要であり、我々はこれまでに JAK-STAT 経路のネガティブフィードバック因子である suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS3) をクローニングしその作用機構や生理機能を明らかにしてきた。本研究の目的は、Dox 心筋症モデルマウスを用いて、Dox 誘発性心筋障害の病態における SOCS3 の役割を明らかにすることである。

前回、心筋特異的 SOCS3 欠損マウス SOCS3-KO において、左室駆出率の低下と左室収縮期径の拡大が野生型マウス (WT) に比べ抑制されること、心筋障害マーカーである血清中の CK-MB の値の上昇が WT に比べ抑制されること、心筋の線維化が WT に比べ抑制されること、STAT3 のリン酸化が WT に比べ遷延することなどを報告した。

今回は、Dox 誘発性心筋障害において発現が変化するサイトカインなどの液性因子と酸化ストレスの関与についての実験結果を報告する予定である。

拡張相を示す肥大型心筋症の遺伝子解析 (II)

東京大学器官病態内科¹⁾ / 東京女子医科大学第一病理²⁾ / 理研ゲノム解析センター³⁾
/ 東京大学医科学⁴⁾ / 北里大学器官病態内科⁵⁾
/ Max-Planck Inst., Bad Nauheim⁶⁾ / 東京大学人類遺伝学⁷⁾
/ 豊岡 照彦^{1) 5)} / 小林 槇雄²⁾ / 田中 敏博³⁾ / 渡邊 洋一⁴⁾ / 和泉 徹⁵⁾
/ 中村 祐輔³⁾ / Sawa Kostin⁶⁾ / Jutta Schaper⁶⁾ / 徳永 勝士⁷⁾

[Background] Hypertrophic, dilated and mitochondrial cardiomyopathy (HCM, DCM and mtCM, respectively) constitute serious problems with the subset showing HCM initially followed by DCM (HDCM) with unclarified mechanism and the familial cases are prevalent in Japan. We assume that some HDCM would involve the gene-mutation(s) common to DCM or mtCM.

[Methods and Results] Employing novel modalities and personalized genomics, we report here, i) Gene-screening of 81 Japanese and 15 Caucasians with definite CMs, ii) HDCM in proband-1 with nuclear MYH7 mutation (C2298T, P731L) and mtCM in proband-1 to 3 (thus, multiple mutation in proband-1) with maternal inheritance, iii) Clinical features of proband-1 resuscitated from cardiac arrest, a chimera of HCM plus mtCM at autopsy of her mother with HDCM and biopsy samples from proband-2 and 3 with mtCM alone, iv) Verification of candidate gene after an evaluation with 900k-SNP survey for cardiomyopathy- or heart failure-related mutations, v) Specific clustering of all probands to a novel B5b haplogroup after full mt-genome sequencing of 16 Japanese and 14 Caucasians, and vi) The World-wide survey (n=1476) suggestive of the common roots without nuclear gene (NUMT) contamination and selective prevalence in Japan. Intriguingly, all 3 probands exhibited “Gain-of-dysfunction” in G8584A (Ala20Thr in ATP6), tRNA^{Thr} (G15927A) and tRNA^{His} (G12192A) mutations of the mt-genome, even after other non-synonymous SNPs are compensated by the “gene-suppression”.

[Discussion] Based on current bioinformatics on nuclear/mitochondrial genomes, we propose an improved scheme with stringent criteria to conquer both the difficulty to prepare transgenic model in the absence of identical variant in rodents and ethical/methodological conflicts to identify the physiological significance of human mutants. Furthermore, mtCM with delayed onset could explain the different “penetrance” of a given trait. These genetic complexities necessitate a comprehensive analysis to practise regenerative medicine in near future.

背景：肥大型心筋症は心臓突然死や心不全を発症する特発性心疾患であり、早期発見および早期治療を行うことが必要である。また肥大型心筋症の臨床病態には多様性が認められ、リスク層別化は重要な課題である。一方、レニンアンジオテンシン系は心肥大の進展に影響を与えると報告されているが、レニンアンジオテンシン系の遺伝子多型が肥大型心筋症の臨床病態に与える影響については、不明な点が多い。

目的：そこで今回我々は、サルコメア遺伝子変異を同定した肥大型心筋症について、レニンアンジオテンシン系の遺伝子多型が心機能に与える影響について検討した。

方法と結果：サルコメア遺伝子変異が同定された肥大型心筋症 126 例（男性 64 例、平均年齢 51 歳）について、angiotensin-converting enzyme (ACE) の insertion/deletion (I/D) 多型および angiotensin II type I 受容体 (AT1-R) A/C¹¹⁶⁶ 多型と心エコー図検査指標との関連を検討した。ACE 多型の D allele を有する症例では、I allele の症例と比較して有意に左室収縮末期径が大きく、左室駆出率が低下していた。AT1-R-A/C¹¹⁶⁶ 多型単独では心機能に与える影響は認められなかった。

結論：肥大型心筋症においては、原因となるサルコメア遺伝子変異を検索・同定した上で、さらにレニンアンジオテンシン系遺伝子多型を解析することにより、より詳細なリスク層別化が可能となると考えられた。



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>

2010 年度第 2 回研究報告会

2011 年 3 月 3 日 (木)
新大阪丸ビル新館 6F 606 号室