

北風班 2010 年度第 2 回総会・研究報告会 プログラム

10:30 (開会の辞)

セッションⅠ：心筋症・心不全の病態①

座長：竹石 恭知 (福島県立医科大学)

- 10:35 石坂 信和 (大阪医科大学) 4
心臓サルコイドーシスの病態に関する研究
- 10:45 山岸 正和 (金沢大学) 5
肥大型心筋症における MEF2 活性化と心筋壊死・心筋線維化
- 10:55 大津 欣也 (大阪大学) 5
心不全における炎症の発症機転
- 11:05 筒井 裕之 (北海道大学) 6
ナチュラルキラーT細胞は圧負荷による心筋肥大および心不全の形成に重要な役割を果たしている

セッションⅡ：心不全の病態②

座長：山岸 正和 (金沢大学)

- 11:15 竹石 恭知 (福島県立医科大学) 6
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
- 11:25 川名 正敏 (東京女子医科大学附属青山病院) 7
Fluid Dynamics: A New Paradigm in the Pathogenesis of Sleep Apnea in Heart Failure
- 11:35 小室 一成 (大阪大学) 7
心機能維持におけるインスリン/IGF シグナルの相補的作用
- 11:45 磯部 光章 (東京医科歯科大学) 8
慢性心不全に対する Angiotensin II 受容体拮抗薬と HMG-CoA 還元酵素阻害薬の併用効果に関する研究

セッションⅢ：心筋症など

座長：磯部 光章 (東京医科歯科大学)

- 11:55 砂川 賢二 (九州大学) 8
ミトコンドリア DNA と細胞内肥大シグナル制御の解明
- 12:05 後藤 雄一 (国立精神・神経医療研究センター神経研究所) 9
ミトコンドリア病診断体制の問題点とその解決に向けた提案
- 12:15 吉村 道博 (東京慈恵会医科大学) 9
肥大型心筋症における造影 MRI 遅延像と心イベント
- 12:25 豊岡 照彦 (東京大学・北里大学) 10
大容量 SNP マイクロアレイによる心筋症の遺伝子診断 (I)

12:40 (昼食)
(第 2 回総会)

セッションⅣ：心不全・心筋症ほか

座長：福田 恵一 (慶應義塾大学)

- 13:35 中谷 武嗣 (国立循環器病研究センター) 10
心臓移植待機患者における自己右心機能評価の重要性

13:45	今泉 勉 (久留米大学)	11
	心サルコイドーシスの診断と活動性に対する非侵襲的な定量評価方法の開発 - FDG-PET を用いた特発性拡張型心筋症との比較 -	
13:55	久保田 功 (山形大学)	11
	女性心不全患者における BNP および H-FABP の組合せによる予後予測の有用性について	
14:05	下川 宏明 (東北大学)	12
	心血管疾患進行抑制を目的としたコホート研究：第二次東北慢性心不全登録研究	

セッションV：心筋発生・心筋障害など

座長：久保田 功 (山形大学)

14:15	福田 恵一 (慶應義塾大学)	13
	末梢血 T 細胞からの iPS 細胞樹立法の確立と再生医学への応用	
14:25	和泉 徹 (北里大学)	13
	心筋障害時における Zn finger protein の役割について	
14:35	木村 剛 (京都大学)	14
	心不全における肝臓代謝異常の解析	
14:45	北風 政史 (国立循環器病研究センター)	14
	心筋細胞分化におけるユビキチン・プロテオソーム系の役割解明	

(コーヒーブレイク)

セッションVI：心筋症の診断①

座長：北風 政史 (国立循環器病研究センター)

15:10	木村 彰方 (東京医科歯科大学)	15
	家族性肥大型心筋症におけるサルコメア変異の地域分布	
15:20	齊藤 能彦 (奈良県立医科大学)	15
	次世代シーケンサーを利用した家族性 DCM 責任遺伝子同定の試み	
15:30	鄭 忠和 (鹿児島大学)	16
	心不全における高感度トロポニン T 測定の臨床的意義：BNP・NT-proBNP・心エコー指標との関連	
15:40	廣江 道昭 (国立国際医療研究センター病院)	16
	心臓サルコイドーシスの病態診断のための新規サロゲートマーカーの開発と 診断基準の改定を目指して—多施設共同研究の提案—	

セッションVII：心筋症の診断②

座長：齊藤 能彦 (奈良県立医科大学)

15:50	今中 恭子 (三重大学)	17
	細胞外マトリックスを利用した拡張型心筋症の診断と治療	
16:00	永井 良三 (東京大学)	17
	心血管病態形成における DNA 傷害・修復反応の役割の解析	
16:10	松崎 益徳 (山口大学)	18
	心臓病理を介した個別臨床カンファレンスの取り組み	
16:20	室原 豊明 (名古屋大学)	18
	糖尿病性心筋症における冠微小循環障害の新規診断法の開発と分子メカニズムに関する解析	

(閉会の辞)

【背景】サルコイドーシスは原因不明の全身性多臓器疾患で非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を特徴とする。我が国では心臓サルコイドーシス（心サ症）の頻度が高く、重症心不全や致死的不整脈により死因として重要である。従って、心サ症の治療と予後においてはとくに早期診断が重要であるが、心臓以外の臓器病変が明らかでない場合、その診断は困難で、心臓手術の後や死後剖検で明らかになることも多い。また、心サ症の活動性や治療効果の判定も確立しているとは言えない。従来、血清 ACE および血清リゾチームの上昇がサルコイドーシスの診断基準にとり入れられているが、その感度は必ずしも高くない。従って、心サ症の診断に役立つ新たなバイオマーカーの開発が望まれている。

我々は、以前より心サ症患者の心筋生検試料および拡張型心筋症と診断され左室形成術が施行された症例の切除心筋を用いて病態論的および病理組織学的検索を継続してきた。その結果、Th1 関連サイトカイン、また、S100 蛋白の一つである S100A8/A9 (MRP8/14) の発現が心サ症患者において有意に亢進していることを明らかにし、本研究班で報告した。

【研究目的】近年、自己免疫性膵炎やミクリッツ病、後腹膜線維症、炎症性大動脈瘤など、自己免疫的機序が関与している疾患において、血中の IgG4 値の上昇や、組織中の IgG4 陽性の形質細胞浸潤が認められることが明らかになり、IgG4 関連疾患として注目されている。サルコイドーシスは細胞性免疫が関与する疾患であり、IgG4 関連疾患の鑑別疾患であるとともに、一方で IgG4 関連疾患との類似点も有している。また、心サ症を含めたサルコイドーシスにおいて IgG4 陽性細胞の関与については、現在まで明らかにされていない。

そこで、今回、心サ症を合併したサルコイドーシス症例、および、心サ症を合併していないサルコイドーシス症例の血液サンプルにおける IgG4 値を測定し、サルコイドーシス症例において血清 IgG4 値が上昇しているか否か、心サ症の有無でその値に差を認めるかどうかについて検討する。また、心筋、リンパ節など組織サンプルがある症例については、IgG4 の免疫染色を行い、組織中の IgG4 陽性の細胞浸潤の有無について明らかにする。

肥大型心筋症における MEF2 活性化と心筋壊死・心筋線維化

金沢大学循環器内科
今野 哲雄/山岸 正和

肥大型心筋症 (HCM) はサルコメア蛋白をコードする遺伝子が原因遺伝子であるが、変異により活性化される細胞内シグナルに関しては不明な点が多い。Myocyte enhancer factor-2 (MEF2) は Ca 依存性肥大シグナルの下流に位置する転写因子であり、心筋細胞において活性化されると胎児性遺伝子を再発現させる。MEF2-LacZ transgene を有するミオシン重鎖変異ノックインマウス (MHC^{403/+}/MEF2-LacZ) において、心筋肥大発症前 (生後 3 週) には野生型マウスと比較して MEF2 活性の上昇は認められなかった。一方で、心筋肥大を発症した変異マウス (生後 30 週) において MEF2 活性は上昇し、組織学的には MEF2 活性および胎児型ミオシンを発現した心筋細胞は線維化組織周囲に認められた。重症 HCM を発症するホモ接合体変異マウス (MHC^{403/403}/MEF2-LacZ) では、MEF2 は生後 3 日で心筋局所において活性化され、生後 6 日では MEF2 が活性化された心筋の一部が壊死に陥った。以上より HCM では、(1) サルコメア変異により MEF2 非依存性に心筋肥大を発症する、(2) 局所心筋ストレスにより MEF2 を介して胎児性遺伝子が再発現する、(3) 胎児性遺伝子再発現が局所心筋ストレスを代償出来ない領域では心筋は壊死に陥り線維組織に置き換わる、ことが示唆された (図 1)。

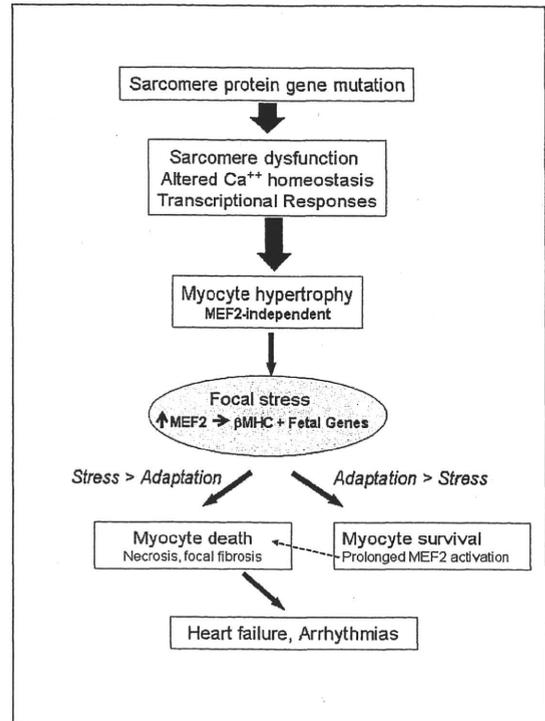


図 1

心不全における炎症の発症機転

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科
大津 欣也/岡 崇文

心不全においては血中 TNF や IL-6 の上昇と重症度との関連が報告されておりその発症進展における免疫反応の重要性が示唆されている。しかしながら感染が関与する例は少なくその炎症惹起機能は不明であった。DNA は炎症惹起能が高いことが知られている。リソソームには DNA 分解酵素である DNaseII が存在する。DNaseII はマクロファージにおいてアポトーシスに陥った核を消化する役割が報告されていたが非貪食細胞における役割は不明であった。そこで我々は心臓における DNaseII の役割を検討した。まず Cre - Flox システムを用いて心筋特異的 DNaseII 欠損マウスを作製した。このマウスはメンデルの法則によって生まれ、外見ならびに生理学的指標や心臓超音波法で評価した心機能は対照マウスと比して差を認めなかった。従って心臓において DNaseII はその発生には必須ではないと考えられた。そこでストレスに対する反応を検討するため DNaseII 欠損マウスに大動脈縮窄術による圧負荷をかけた。対照マウスでは心機能異常を示さない圧負荷後 10 日において DNaseII 欠損マウスでは心不全、炎症細胞浸潤を認めた。従って DNaseII は圧負荷に対する適応反応に重要な働きをしていることが示唆された。

ナチュラルキラーT細胞は圧負荷による心筋肥大および心不全の形成に重要な役割を果たしている

北海道大学医学研究科・循環病態内科学
絹川真太郎／高橋 将成／石森 直樹／筒井 裕之

Tリンパ球のサブセットであるナチュラルキラーT (Natural Killer T; NKT) 細胞は種々の炎症性サイトカインを産生し、組織炎症を制御する能力を有している。これまでに、自己免疫疾患や炎症性疾患においてNKT細胞は防御的な役割を果たしていることが示されている。我々は、心筋梗塞マウスにNKT細胞を特異的に活性化する α -galactosylceramideを投与すると生存率が改善し、心筋リモデリングおよび心不全の進展を抑制することを見出した。また、このNKT細胞活性化による心保護的な役割はinterleukin-10 (IL-10) 遺伝子発現を介していた。今回、我々はNKT細胞のT細胞受容体 $J\alpha 18$ 欠損マウス ($J\alpha 18$ KOマウス)を用いて、圧負荷による心肥大・心不全モデルマウスの心不全進展におけるNKT細胞の役割について検討した。野性型 (WT) マウスにおける横行大動脈縮窄 (TAC) 手術後の心筋のNKT細胞受容体 ($V\alpha 14J\alpha 18$) 遺伝子発現は2-3週間後まで経時的に増加し、以後は減少し正常レベルに戻った。WTマウスではTAC手術2週間後に左室肥大を呈したが、左室径の拡大はなく、左室短縮率は保たれ、左室拡張末期圧や肺重量は変化がなかった。一方、 $J\alpha 18$ KOマウスではTAC手術2週間後に、野性型マウスと比較して左室肥大は進展し、左室径の拡大および左室短縮率の低下があった。さらに、左室拡張末期圧や肺重量の著明な増加があった。組織学的にはKOマウスにおいて心筋細胞肥大と間質線維化の悪化があった。WTにおいて、TAC2週後にNKT細胞の増加と一致して、IL-10遺伝子発現が増加したが、KOにおいて著明に減少した。NKT細胞は圧負荷肥大心において保護的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%に睡眠時無呼吸を合併する。特に中枢性睡眠時無呼吸に伴うチェーンストークス呼吸 (CSR-CSA) は、心不全患者の予後を悪化させる。CSR-CSA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。一方、心臓再同期療法 (CRT) はペーシングによって左室収縮同期不全を改善する治療法である。本研究では、CRT植込み後に残存するCSR-CSAに対するASVの効果を検討した。**【方法】**CSR-CSAを合併した心不全患者17名 (平均左室駆出率29%、平均無呼吸低呼吸指数31.1回/時)にCRTD植込み前と6か月後にPSG検査を行ったところ、CRTD植込み6か月後に平均無呼吸低呼吸指数の有意な低下は認めなかった。そこで、CRTD植込み後6か月以上経過していてCSR-CSAの残存している症例22例を対象とし、ASV使用前と使用6か月後に無呼吸低呼吸指数、BNP値、心エコー検査指標を比較検討した。**【結果】**ASV装着後、無呼吸低呼吸指数は改善した。ASV使用6か後に血漿BNP値は低下、左室拡張末期径、左室収縮末期径は縮小した。**【結論】**ASVはCRT植込み後に残存するCSR-CSAを有する心不全例において無呼吸と心機能を改善する。

東京女子医科大学循環器内科¹⁾ / 東京女子医科大学附属青山病院²⁾
弓野 大¹⁾ / 萩原 誠久¹⁾ / 川名 正敏²⁾

Sleep apnea は、上気道閉塞によりおきる obstructive sleep apnea (OSA)、無呼吸閾値以下に PaCO₂ が低下することにより、中枢の呼吸ドライブが消失する central sleep apnea (CSA) の2つに大別される。OSA と CSA の割合は、一般人口と比較し、心不全患者で明らかに多く、それらは予後不良因子であることが言われている。またこれらの2つのタイプの sleep apnea は、病態が全く違うにもかかわらず、多くの心不全症例において共存し、一晩またある一定期間の間にも、sleep apnea のタイプが移行する。これらより心不全症例において、OSA と CSA の共通した因子が存在する可能性があることがうかがわれる。私たちは、この因子を睡眠中の下肢から上肢への体液移動であることを仮説として、まずは覚醒時および睡眠中の健常人を対象として、その仮説を検討してきた。ここでは、これまでのエビデンスを踏まえ、心不全患者における夜間睡眠中の体液移動と OSA また CSA との関係について報告する。

心機能維持におけるインスリン / IGF シグナルの相補的作用

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学
小室 一成

背景: 心臓における PI3K-Akt シグナルは主にインスリンと IGF によって活性化され、臓器サイズ・収縮機能・冠動脈血管新生を調節することが知られている。心筋細胞特異的インスリン受容体 (IR) ノックアウトマウスは、心重量はわずかに減少するもののそれ以外には明らかな異常はなく収縮能も維持されており、比較的軽微な表現型を示す。この理由として、(1) 発生過程の個体の大きさは主に IGF によって制御されており、心臓においてもインスリンより IGF の方が PI3K-Akt 活性化に関しては dominant である、(2) インスリンと IGF はその下流のシグナル伝達分子の多くを共有しており、インスリンシグナルと IGF シグナルに相補性が存在するため、単一分子のノックアウトでは軽微な表現型しか見られない、の2つの可能性が考えられる。そこで、心臓におけるインスリン / IGF シグナルの役割をさらに詳しく検討するため、心筋細胞特異的 IGF 受容体 (IGFR) ノックアウトマウスおよび心筋細胞特異的 IR/IGFR ダブルノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析した。

結果: 心筋細胞特異的 IGFR ノックアウトマウスの表現型は、野生型と差がなかった。しかし、心筋細胞特異的 IR/IGFR ダブルノックアウトマウスは生後6週間以内に心不全を発症し、6ヶ月以内に死亡した。心臓超音波検査では左室内腔の拡大と収縮能の低下を認め、組織学的には心筋細胞径の減少と間質の線維化が認められた。

結論: IR/IGFR を介するシグナルは、成長過程において正常な心収縮能の維持に必要である。インスリンシグナルと IGF シグナルは心機能維持において相補的な作用を有するが、IGF シグナルよりもインスリンシグナルのほうが相対的な重要度は高い。

HMG-CoA 還元酵素阻害剤（スタチン）には脂質低下作用とは異なる、抗心不全作用を含む多面的作用を有することが近年明らかとなった。一方、心不全治療薬のアンジオテンシン II 受容体拮抗薬（ARB）にも RAS 系阻害作用とは異なった多面的作用があることが示唆されている。スタチンと ARB の抗心不全効果の機序は一部オーバーラップすると考えられ、この二者の併用はより効果的で安全な心不全治療法である可能性があると考えた。本研究では、基礎実験にてスタチンと ARB の併用療法の心不全の治療に対する有用性ならびに機序の検討を行い、さらに前向き臨床試験にて本法が心不全治療に実際に有効であるかどうかについて検討した。*in vivo* 実験では、Dahl 食塩感受性ラットを用いた心不全モデルに ARB (losartan, LOS) とスタチン (simvastatin, SIM) を共投与すると、それぞれを単独で投与した場合と比較して有意な心不全の改善効果があることを示した。また、この機序として LOS と SIM と併用することにより薬理的活性の高いインパーヌアゴニスト作用を有する E3174 (LOS の代謝産物) 血中濃度が LOS 単独投与時と比較して著明に上昇しており、このことが心不全治療に有益な効果をもたらしていることを示した。さらに、Rho キナーゼや MMP 活性阻害など LOS と SIM 各々が有する心不全治療に対して有益な多面的作用が両薬剤の併用によって相互強化をきたしていることも *in vitro* 実験にて示した。前向き臨床試験は NYHA II° または III° で、左室駆出率 40% 以下の慢性心不全患者を対象に施行した。まず LOS25mg/日を開始し、6ヶ月の観察期間を経て LOS50mg/日への増量群と SIM10mg/日併用群に割り付け、6ヶ月後に心疾患による入院・死亡（1次エンドポイント）、自覚症状（NYHA 分類）の変化、心機能の変化、血液学的マーカー（2次エンドポイント）の評価を行った。その結果、LOS 単独投与群と比較して LOS+SIM 併用群では自覚症状、左駆出率の改善率、血漿 BNP 値の3項目が有意に改善した。今回の研究結果より、スタチンと ARB の併用は心不全の治療に有効であると結論付けられる。この治療法の確立にはさらなる検討が必要であるが、この治療法が応用されるようになれば、心不全の治療に新たな選択肢を増やすことになると思われる。

ミトコンドリア DNA と細胞内肥大シグナル制御の解明

九州大学循環器内科
井手 友美/砂川 賢二

ミトコンドリア転写因子 A は、ミトコンドリア内特にミトコンドリア DNA (mtDNA) 近傍に存在し、細胞内での mtDNA のコピー数を制御する重要な分子として知られている。Tfam の過剰発現マウスは、心筋梗塞後の心筋 mtDNA のコピー数を維持し、ミトコンドリア電子伝達系酵素活性の低下ならびに心機能低下を抑制、さらには心筋梗塞後の予後を改善することをすでに報告している。今回、リコンビナント-ヒト Tfam タンパクを精製し、培養心筋細胞に処理したところ、Tfam は細胞内特にミトコンドリアにとりこまれ、ミトコンドリア内において mtDNA コピー数を増加させることが明らかとなった。リコンビナント Tfam タンパクは、心筋細胞内の Angiotensin II あるいは TGF β による NFAT の活性化を抑制し、心筋細胞の肥大を抑制した。リコンビナント Tfam が心筋リモデリングの新たな治療戦略として有用である可能性が示唆される。

ミトコンドリア病診断体制の問題点とその解決に向けた提案

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター
後藤 雄一

ミトコンドリア病は、症状の多様性、ミトコンドリア機能の多様性、病因の多様性が特徴である。これらの特徴が、ミトコンドリア病の診断の難しさに直結している。

症状の多様性は、取り扱う診療科が多様になることを意味し、比較的患者をよく診る小児科、神経内科以外の、循環器科、糖尿病内科、耳鼻咽喉科、眼科、精神科などの診療科の積極的な診断への関与が望まれる。ミトコンドリア機能の中で最も主要な機能であるエネルギー代謝を確実に捉える生化学的検査法が、診断においては不可欠であるものの、その方法は専門的な技術を要するものである。さらに病因については、ミトコンドリア DNA、ミトコンドリアに関連する核 DNA 上の数多くの遺伝子が関わっており、網羅的に原因遺伝子検索を行えるまでには至っていない。

このような現状を踏まえて、我が国におけるミトコンドリア病診断を集約的に行う体制を確立することが急務であり、その一案を提案する。

肥大型心筋症における造影 MRI 遅延像と心イベント

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

本年度第一回の報告会で、肥大型心筋症の線維化評価として、心臓 MRI 遅延造影所見の新たな解析法につき報告した。前回以降、心イベントの発症予測に関して、種々の危険因子及び MRI 遅延造影所見との関連について、更に検討を行ったので、今回再度報告する。当院における連続 46 例の無症候性肥大型心筋症患者（Maron III 型）に造影 MRI 検査を施行し、遅延造影所見の有無を検討した。遅延造影所見は 34 例に認められ、この遅延造影をスコア化した（LGE score）。心イベントとしては、新たに発症した心不全及び心室頻拍症と定義した。平均 3.6 年間の観察にて、心不全 2 例、心室頻拍症 3 例の新たな発症が認められた。このイベント発症を予測する因子として、これまでに危険因子として報告されているもの（失神、肥大型心筋症または突然死の家族歴、非持続性心室頻拍症、壁厚 30mm 以上の著明な心肥大）及び遅延造影の有無により、それぞれ Kaplan-Meier 法を用いて解析したところ、有意に心イベントを予測するものは得られなかった。そこで、LGE score を用いて再度 Kaplan-Meier 解析を行ったところ、LGE score 高値群において LGE score 低値群に比し、有意に心イベントの発症が多いことが明らかとなった。以上より、LGE score を用いた遅延造影 MRI 解析法は、肥大型心筋症患者の心イベント予測に有用であると考えられた。

大容量 SNP マイクロアレイによる心筋症の遺伝子診断 (I)

北里大学・循環器内科¹⁾ / 理化学研究所・循環器関連遺伝子解析グループ²⁾
/ Dept. Exp. Cardiol., Max-Planck Institute³⁾ / 東京大学・人類遺伝学教室⁴⁾
豊岡 照彦¹⁾ / 田中 敏博²⁾ / 和泉 徹¹⁾ / Manfred Richter³⁾ / Sawa Kostin³⁾
/ Jutta Schaper³⁾ / 中村 祐輔²⁾ / 徳永 勝士⁴⁾

【背景、および目的】 近年の遺伝子解析技術の飛躍的な進歩により、従来困難とされたヒト全ゲノムの解析 (GWAS) により多くの疾患遺伝子の解析が為されつつある。しかし、約 30 億の遺伝子配列の決定には、高性能の配列決定法を用いても依然、膨大な時間、労力と費用を要する結果、DCM に代表される心不全の網羅的な解析は世界的にも報告が無い。一方、遺伝的背景の明瞭な家系による関連解析から家族性心筋症の原因遺伝子について肥大型心筋症 (HCM) では心筋 myosin 重鎖遺伝子 (*MYH7*) 等の sarcomere タンパク遺伝子 (Seidman *et al.*, *Cell*, 2001) が、DCM では dystrophin, titin や sarcoglycan (Sakamoto *et al.*, *PNAS*, 1997; Toyo-oka *et al.*, *PNAS* 2004) 等の細胞骨格タンパクによる変異とミトコンドリア遺伝子変異 (Shin *et al.*, *Am.J.Hum.Genet.*, 2000) が徐々に報告されて来た。更に最近は点変異による比較的稀な原因遺伝子を探る monogenic 解析から複数遺伝子の変異が相互に影響して表現型を呈する polygenic 解析に比重が移りつつあるが、その遺伝子解明は技術的な隘路から研究が大幅に遅れていた。

【方法、および結果】 今回は monogenic と polygenic 解析の中間段階として現在、解析が進んできた microarray による遺伝子多型 (SNP および SNV) 解析に注目した。解析には、①理研、国際プロジェクト (Internatl. HapMap Consortium, *Nature*, 2007) より遺伝子多型を代表するタグ SNP を選択して Case-control study を行い、② 906,600 の SNP とコピー数多型検出用プローブを含む 180 万以上の遺伝子マーカーが検出可能な Affymetrix 社製 Genome-Wide Human SNP Array 6.0、更に、③独自に過去 20 年間集積したデータベースと心不全外来に通院中の心筋症患者 (日本人 81 人、Caucasian 15 人) から得た Genomic DNA (Kato *et al.*, *Lancet* 1995) の変異配列 probe で SSPCE-FCS (Hori *et al.*, *Curr Pharm Biotechnol.* 2003) で検討した。その結果、①からは単独の遺伝子で p 値が 10^{-8} 以下の有意な単独 SNP は認められず、②に敢えて③で検討済の試料を混在させて検討した結果、白人 DCM でのみ症例同定が可能だったが、日本人固有の変異同定には至らなかった。しかし、③で明瞭な polygenic 遺伝子を認め、その変異は従来の Sanger 法による配列決定で確認された事から、我国の国情に即した microarray の開発が痛感された。

【結論】 多因子性疾患感受性遺伝子を同定する際に個々の相対危険率は比較的低いため同定が困難だったが、上記①~③を併用して、近年の GWAS のタイピング技術と疾患感受性遺伝子同定に至る明確な protocol に基づく algorithm が必要であり、本研究班の課題と考える。

心臓移植待機患者における自己右心機能評価の重要性

国立循環器病研究センター移植部・心臓外科・循環動態制御部
中谷 武嗣 / 築瀬 正伸 / 瀬口 理 / 村田 欣洋 / 藤田 知之 / 戸田 宏一 / 宍戸 稔聡

我が国における心臓移植のドナー不足は深刻で、待機期間も 870 日を超えている。このため、待機中に多くの心臓移植待機患者において左室補助人工心臓 (LVAS) が必要となっている。重症心不全患者に LVAS を用いた治療を行うタイミングの決定に難渋することが多い。そのなかで、右心機能が LVAS 装着後の予後に関連することが報告されてきた。そこで、当センターにおいて 2001 年 4 月から非拍動流を含む各種 LVAS を装着した連続 59 例を、術後 30 日以上強心剤を使用した右心機能不良群 (A 群) 23 例と、使用しなかった右心機能良好群 (B 群) 36 例に分けて予後を検討した。その結果、有意に A 群にて予後が不良であった ($P < 0.05$)。さらに右心機能評価として我々が検討してきた「包括的循環平衡モデル」により右心機能を両群で比較したところ、A 群 16.8 ± 2.1 (ml/min/kg) に対し B 群 22.9 ± 1.7 と有意に A 群は低下していた ($P < 0.05$)。近年使用が始まった植込型非拍動流 LVAS は、設定された回転数で持続的に駆出し、かつ左室内圧と血圧の差により駆出量に変化する特性を持つ。そのため、植込型非拍動流 LVAS より安定した循環補助を得るためには自己右心機能が保たれていることがより重要で、装着タイミングの決定において自己右心機能の的確な評価が不可欠と考えられる。今回の検討より「包括的循環平衡モデル」を用いて自己右心機能を評価することが LVAS 導入判断の一助となり得ると考えられた。

心サルコイドーシスの診断と活動性に対する非侵襲的な定量評価方法の開発 — FDG-PET を用いた特発性拡張型心筋症との比較 —

久留米大学医学部内科学講座心臓・血管内科部門
田原 宣広／田原 敦子／新田 良和／児玉 紀洋／溝口ミノリ／今泉 勉

【目的】 18F fluorodeoxyglucose-positron emission tomography (FDG-PET) を用いて、心サルコイドーシスの診断や活動性を非侵襲的に定量評価できるか否か検討する。

【方法】 1) サルコイドーシス 24 例、特発性拡張型心筋症 8 例、健常者 15 例を対象に空腹時の FDG-PET 検査を施行した。AHA scientific statement に従って左心室を 17 分割し、Bull's eye map を作成、各部位の FDG 集積を Max standardized uptake value (SUV) を用いて算出した。左心室における FDG の集積強度を 17 分画の Average SUV を用いて、不均一性を 17 分画 SUV の標準偏差、変動係数 (COV: coefficient of variation=標準偏差/平均 SUV) を用いて評価した。「2006 年 心臓サルコイドーシス診断の手引き」に従い、心サルコイドーシスの診断が FDG-PET により定量評価できるか検討した。

2) FDG-PET における定量値を用いて ROC curve を作成、心サルコイドーシスの診断に対する cut-off 値や精度について検討した。

3) 心サルコイドーシス例にステロイド治療をおこない、ステロイド未使用例と共に FDG 集積の変化について検討し、活動性を評価できるか検討した。

【結果】 心筋 FDG の集積強度による評価では、心サルコイドーシスの検出は困難であった。心筋 FDG 集積の不均一性による評価では、COV は心臓への波及のないサルコイドーシス例で 0.14 ± 0.03 、健常例で 0.14 ± 0.03 と同等で、心サルコイドーシス例では 0.25 ± 0.05 と拡張型心筋症例の 0.15 ± 0.02 と比べ、有意に大であり ($p < 0.01$)、標準偏差よりも正確に心サルコイドーシスを定量的に診断することが可能であった。心サルコイドーシスの診断に対する COV の cut-off 値を 0.18 とすると、敏感度は 100%、特異度は 97% と高い診断精度であった。ステロイド未使用の心サルコイドーシス例では 1 年後の FDG-PET では COV が増加したのに対し、心サルコイドーシス例ではステロイド治療 1 ヶ月後より COV は正常化 ($0.23 \pm 0.05 \rightarrow 0.14 \pm 0.06, p < 0.05$)、1 年後の評価でも正常値を保ち、COV は心サルコイドーシスの活動性評価にも有用であった。

【考察】 心筋 17 分画 SUV の COV は、心サルコイドーシスの診断のみでなく、治療効果の判定にも有用であると考えられた。COV を用いて、心サルコイドーシスを早期かつ正確に診断ができ、ステロイド治療を適正におこなうことができれば、心筋障害の進展を阻止し、ひいては予後改善につながると考えられる。また、原疾患不明の慢性心不全例では FDG-PET による心サルコイドーシスの鑑別が望ましいと考えられる。

女性心不全患者における BNP および H-FABP の組合せによる予後予測の有用性について

山形大学医学部第一内科
渡邊 哲／久保田 功

背景： これまで心血管疾患に関する臨床研究の多くは男性を対象に行われ、性差を加味した研究は少なかった。近年、心疾患を持つ女性の増加や性差医学への関心の高まりから、わが国においても循環器領域における性差医療に関するガイドラインが作成された。女性心不全患者の特徴として高齢、高血圧、左室収縮能保持症例が多いなどが報告されている。慢性心不全の予後予測因子として有用な brain natriuretic peptide (BNP) と heart-type fatty acid binding protein (H-FABP) レベルは、男女差があり、年齢とともに増加することが知られている。

目的： 慢性心不全患者の病因、臨床背景などについて、性別ごとの特徴を検討するとともに、BNP と H-FABP の組合せ測定が、リスク層別化に有用かを検討する。

方法・結果： 心不全の治療・検査のために入院した 459 例 (女性 177 例、男性 282 例) において、入院時に血漿 BNP と血清 H-FABP レベルを測定し、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最長 1825 日 (中央値 681 日) までフォローアップした。女性患者は男性より高齢であったが、原因疾患には差を認めなかった。また BNP および H-FABP 値には、男女差はなかった。心イベントを予測するカットオフ値を男女ごとに求めると BNP (女 418 vs. 男 234 pg/ml) と H-FABP (女 4.9 vs. 男 5.1 ng/ml) であった。BNP および H-FABP 高低より 4 群 (low/low; high/low; low/high; high/high) に分けると、両者が高値の群で有意に心イベントが多かった。

結論： 心イベント予測に対する BNP のカットオフ値を決定する場合は、血漿 BNP 値の性差を考慮すべきと思われた。BNP と H-FABP の組み合わせによる評価は、女性心不全患者のリスク層別化に有用である。

【背景】 わが国では心血管疾患の有病率が増加している。心血管疾患は進行性疾患と考えられ、心不全はその末期的段階である。心不全を発症すれば予後は不良であり、診療コストの増加は先進諸国においては国家的問題と考えられている。心血管疾患が増悪する過程において急性心不全症候群 (AHFS) の発症が最も重要な契機であると思われ、その発症のメカニズムと発症予防法の解明が必要と考えられる。

【目的】 心血管疾患と心不全の病態進行における疫学的知見の集積を行うため下記のコホート研究を現在施行中である。

1) **第二次東北慢性心不全登録研究 (CHART-2)** : 冠動脈疾患 /Stage-B/Stage-C/Stage-D の症例を東北地区 24 施設で連続登録し最低 3 年間にわたって臨床パラメータとイベントを前向きに調査する。

2) **東北急性心不全登録研究 (TAHFS-Study)** : CHART-2 研究の参加施設から 4 施設を選択し AHFS で入院した症例を一年間後ろ向きに連続登録する。

【結果】

1) **CHART-2 研究**

2010 年 3 月末日までに 10,219 名の登録が得られた。2010 年 9 月末日 (平均観察期間 2.4 年) で初回の予後調査を施行した。本報告会では、β 遮断薬使用の現況とその有効性などについて報告する。

2) **TAHFS 研究**

2007 年 1 月から 12 月までに入院した 506 名の登録を行った。本報告会ではそのうち 412 例の解析結果概要を報告する。Table 1 に登録症例の概要と先行研究の比較を示した。

【結語】 連続登録によるコホート研究は、実臨床の現況・成果を最も良く反映すると思われる。薬物介入臨床試験では得られない real-world の知見が得られることを期待している。

**Table 1 Clinical characteristics of patients with acute heart failure:
A comparison of five epidemiological studies**

	AHF registry N = 412	ATTEND N = 1100	ADHERE N = 187565	OPTIMIZE-HF N = 48612	EHFS II N = 3580
Demographics					
Age (years)	77 ± 11	73 ± 14	72 ± 14	73 ± 14	70 ± 13
Male (%)	51	59	49	48	61
Comorbidities (%)					
Hypertension	68	71	74	71	63
Diabetes	36	34	44	42	33
Stroke	21	12	17	16	13
Atrial fibrillation/flutter	55	40	31	31	39
Chronic obstructive pulmonary disease	7	9	29	28	19
Etiology (%)					
Ischemic	30	33	57	46	30
Hypertensive	24	18	N/A	23	11
Valvular	23	17	N/A	N/A	34
Dilated cardiomyopathy	13	13	N/A	N/A	N/A
Clinical status on admission					
Systolic blood pressure (mmHg)	144 ± 36	147 ± 38	144 ± 33	143 ± 33	N/A
Heart rate (beat/min)	95 ± 28	99 ± 39	N/A	87 ± 22	median 95
Creatinine level (%)	1.2 ± 0.9	1.4 ± 1.5	1.8 ± 1.6	1.8 ± 1.8	N/A
Brain natriuretic peptide (pg/ml)	1167 ± 1459	1063 ± 1158	median 843	1273 ± 1330	N/A
LVEF < 40%	40	57	47	49	46
Outcomes					
Length of stay, median (day)	29	21	4	N/A	9
In-hospital mortality (%)	10	7.7	3.8	3.8	6.7

LVEF: left ventricular ejection fraction.
Numerical data are shown as mean ± standard deviation

従来の iPS 細胞の樹立方法はレトロウイルスを用いて Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc の四つのリプログラム遺伝子を線維芽細胞に導入する方法であった。この方法は、①皮膚の細胞をパイオプシーが必要、②線維芽細胞樹立に時間が掛かる (iPS 細胞樹立までに 2 ヶ月半掛かる)、③遺伝子をゲノムに挿入するため染色体上の既存遺伝子を破壊し遺伝子異常を惹起する可能性がある、④ iPS 細胞樹立後にマスキングされるリプログラミング遺伝子がゲノム上に残存し、再度活性化して奇形腫等の腫瘍を形成する可能性が有る等が問題点として挙げられていた。これらの問題を解決するため、我々は血液中 T リンパ球を使い、1 滴の血液 (0.1 ml) から僅か 1 ヶ月足らずでゲノム遺伝子を損傷せずに iPS 細胞を樹立する方法を開発した。血液単核球成分を抗 CD3 抗体と IL2 存在下で培養すると T リンパ球のみが細胞増殖し、5 日目にはコロニーを形成する。この増殖 T リンパ球に対し、センダイウイルス SeV を用いて 4 つのリプログラム遺伝子の導入を行った。SeV は RNA(−) 鎖型のウイルスであり、細胞内に取り込まれた SeV はゲノムには取り込まれず、細胞質内で増殖する。このため、4 つのリプログラム遺伝子の導入に伴うゲノム遺伝子の破壊やこれらの遺伝子の再活性化が伴わない。この方法で樹立した iPS 細胞は *in vitro* でも心筋を含む 3 胚葉系に分化すること、15 継代程度で残存ウイルスは完全に消滅すること、ゲノム染色体形に異常のないこと、免疫不全マウスに移植すると奇形腫を形成し、多分化能を有することを証明した。皮膚生検を必要としないため、若年女性からも iPS 細胞が樹立できるため、今後の疾患 iPS 細胞研究等に極めて有用なツールになると考えられる。我々は健常者や種々の遺伝性心筋疾患の患者から TiPS 細胞を樹立し、これを用いて正常および疾患心筋細胞を誘導し、種々の疾患の病態解明、創薬へと研究を進めている。本講演ではこれらの最新の取り組みについて解説する。

心筋障害時における Zn finger protein の役割について

北里大学医学部循環器内科¹⁾ / ネブラスカ州立大メディカルセンター²⁾
河野 健^{1) 2)} / 古川 学²⁾ / 和泉 徹¹⁾

【背景】 BTB-Zn finger protein は protein-protein interaction 機能を有する (POZ) BTB ドメインと DNA と結合する Zn-finger ドメインを持つタンパクである。BTB-ZF は遺伝子の転写調節、細胞周期や細胞の形質転換或いは DNA 損傷の修復に深く関わることが知られているが、心筋障害における BTB-ZF の役割については未だ良く解明されていない。

【目的】 今回我々は BTB-ZF タンパクの一つである ZBTB-7 に注目し、心筋障害においてその役割を検討した。

【方法】 プロテアゾーム阻害剤 MG132 (0-0.5 μ M) を先行投与し、0-2.0 μ M の異なった Doxorubicin 存在下でマウス心筋細胞を 24 時間培養した。心筋細胞を細胞質分画と核抽出分画に分け、ZBTB-7 および p53 の発現を確認した。

【結果】 ZBTB-7 は MG132 の非存在下でも発現が確認でき、心筋に常在的に発現しており、核抽出分画に存在していた。培養心筋は Doxorubicin 0.5 μ M, 24 時間投与後形態的に障害を認めた。Doxorubicin 濃度依存的に ZBTB7 の発現量は低下し、同時に p53 の発現量が増加した。ZBTB7 は Doxorubicin 存在下であっても MG132 によって分解が抑制されていた。

【考察と今後】 ZBTB7 の分解はプロテアゾーム阻害薬で抑制されていたことより、ユビキチンによる能動的分解と考えられる。近年 ZBTB-7 は癌抑制遺伝子である ARF に結合することによって、その転写を特異的に抑制することが明らかとなった。ARF は Mdm2 および p 53 と複合体を形成し p53 のプロテアゾーム分解を抑制し p 53 を安定化させる。よって ZBTB-7 が減少し、その結果 p53 が上昇したという今回の結果により ARF-ZBTB7-p53 各因子が深く関わっていると推測される。p 53 は癌抑制遺伝子としての役割が重要視されているが、心筋においては必ずしも有益な役割を果たしているとは限らない事が多くの研究によって明らかとなってきた。今後心筋症においても BTB-ZF など転写調節因子、それに続く転写の状態などの検討も重要となると思われる。

心不全における肝臓代謝異常の解析

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】 インスリン抵抗性など全身の代謝異常が、重要な心不全の予後規定因子であることが知られている。肝臓は全身のエネルギー代謝の要であるが、心不全の進展に伴い肝臓の代謝がどのように変化するかはよく分かっていない。

【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。ダール食塩感受性ラットでは食餌摂取が低下し体重減少を認めた。心不全期に¹⁸F-DGの肝臓への取り込みは増加していた。心不全期に、肝臓のグリコーゲン量は減少しトリグリセリド量が増加していた。また、肝臓組織でトリグリセリド産生に関与する酵素群の遺伝子発現増加がみられ、それらの遺伝子群の発現を制御するSREBPの発現亢進を伴った。メタボローム解析で解糖系、TCA回路、アミノ酸・核酸などの代謝産物を測定した所、Acetyl CoAやCitrateなどのKrebs回路の代謝産物が減少していた。また、全身の栄養状態の指標であるrapid turnover proteinが、肝臓組織で減少していた。一方で、心肥大期より肝臓組織で炎症性サイトカインが増加していた。

【結語】 心不全モデル動物の肝臓において、グリコーゲン合成からトリグリセリド合成へのシフトと、rapid turnover proteinの合成低下が見られた。心肥大期より肝臓で炎症性反応がみられ、lipotoxicityおよびcachexiaの原因となっている可能性が示唆された。

心筋細胞分化におけるユビキチン・プロテオソーム系の役割解明

国立循環器病研究センター臨床研究部・心臓血管内科
朝倉 正紀/関 庚徳/北風 政史

ES細胞やiPS細胞といった幹細胞から心筋細胞を効率的に分化誘導する手法が盛んに研究されている。心筋細胞の分化において、BMPシグナルやWntシグナルの抑制が心筋発生に重要であることが報告されてきている。従来のシグナルの抑制メカニズムは、伝達因子の発現抑制や、抑制因子の発現上昇など、関連因子の発現調節で説明されることが多かったが、1980年代から明らかにされたユビキチンプロテアソーム系(UPS)による選択的・能動的蛋白分解が、様々なシグナルを調節することがわかってきた。しかし心筋発生においてUPSが重要な役割を示すとの報告はなされていない。そこで我々は、心臓の発生・分化段階に重要な役割を持つE3リガーゼを探索し、その機能を明らかにすることを目的とした。ES細胞から心筋細胞への分化系を用いて、DNAマイクロアレイ法による網羅的遺伝子発現解析を行った。心筋発生に特異的な遺伝子であるNkx2.5やMef2cなどと発現量が相関する遺伝子を探索した。これらの遺伝子群から、心臓に高発現する遺伝子を抽出した。心筋発生に関連し、心臓に高発現する遺伝子群から、ユビキチンプロテアソーム系に関連する遺伝子を探索した。その過程について、発表させていただく。

家族性肥大型心筋症におけるサルコメア変異の地域分布

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態分野
有村 卓朗／大塚 春奈／木村 彰方

【背景と目的】心筋サルコメア構成要素の遺伝子異常は肥大型心筋症 (HCM) の病因となる。我々は以前から HCM 原因遺伝子の探究を行っており、特発性心筋症班の活動としてわが国における HCM 病因変異の頻度について報告して来た。しかしながら、以前の報告では主に西日本の症例が多かったため、わが国全体の病因変異分布については不明な点が残されている。本研究は、全国各地から収集した家族性 HCM 患者について、サルコメア変異の系統的解析を実施し、病因変異の地域分布を明らかにすることにある。

【方法】全国各地の医療機関からインフォームドコンセントの下に採血され、連結可能匿名化された家族性 HCM 発端患者 108 名を対象とした。HCM の主要な原因遺伝子であるサルコメア 6 遺伝子 (MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3, MYL2, MYL3) について、ダイレクトシーケンス法にて変異を検索した。変異が検出された場合には、可能な限り家系解析を実施するとともに、一般健常者 200 名を解析することで、遺伝的多型か病因変異であるかを検討した。また、心筋症調査票に記載された臨床所見から、原因遺伝子ごとの臨床的特徴を検討した。

【結果と考察】家族性 HCM 患者 108 名中の 44 名に、病因変異と考えられる合計 32 種類のサルコメア変異が検出された。原因遺伝子ごとの内訳は、MYH7 変異が 13 名 (12.0%) の患者に 12 種 (うち 2 種は従来報告のない新規変異)、MYBPC3 変異が 20 名 (18.5%) の患者に 12 種 (うち 6 種は新規)、TNNT2 変異が 9 名 (8.3%) の患者に 6 種 (うち 1 種は新規)、TNNI3 変異が 2 名の患者に 2 種 (うち 1 種は新規) であった。臨床的な特徴は、MYH7 変異例および MYBPC3 変異例は肥大の程度が強いこと、TNNT2 変異例は心室頻脈を伴う例や家族に突然死が多いことなどであった。また、以前の解析結果と合わせて検討したところ、関東や関西では MYH7 および MYBPC3 の変異例が多いのに対して、九州では MYH7 および TNNT2 変異例が多く、四国では MYBPC3 変異が圧倒的に多かった。また、複数の患者家系に見出された変異の地域分布をみると、特定の地域への偏りがあり、変異の創始者効果によるものと思われた。

【結論】HCM の病因変異の分布には地域差がある。

次世代シーケンサーを利用した家族性 DCM 責任遺伝子同定の試み

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⁾
/ 基礎生物学研究所生物機能解析センター³⁾
尾上 健児^{1) 2)} / 瀬藤 光利²⁾ / 重信 秀治³⁾ / 齊藤 能彦¹⁾

2000 年のヒトゲノム概要配列の決定、2003 年の精密配列の決定をもってヒトゲノムプロジェクトは完了し、その情報は医療を含む多方面に活用されつつある。その進歩とともにハードウェアの革新も進み、現在では次世代シーケンサーが広く生命科学の分野で用いられつつある。次世代シーケンサーの特長は従来のサンガー法を用いたキャピラリーシーケンス法に比し、大量のデータを超高速にしかも安価に行えるという点である。具体的には従来法に比し 10 万倍以上の塩基数を一度の測定で計測でき、コストは約 1/5000 で済む。現在までに次世代シーケンサーを用いた疾患責任遺伝子の同定が数例報告されている。

今回我々は次世代シーケンサーを利用し、家族性 DCM の責任遺伝子同定を試みた。その結果、発症者に特異的な SNP が 107 個の遺伝子で確認された。2010 年に公表された 1000 人ゲノムプロジェクトの結果を加味しても疾患責任遺伝子候補は 20 遺伝子に絞られるのみであった。これらの解析と並行して施行した質量顕微鏡解析では、患者心筋でリン脂質の一種である Phosphatidylcholine の減少が認められた。ゲノム解析と質量顕微鏡解析の結果を統合すると、最も疑わしい疾患責任遺伝子として *LMNA* が浮上した。

次世代シーケンサーを用いた疾患責任遺伝子の同定は、非常に強力なツールであるが、情報量が多すぎるがゆえに絞り込み作業に難渋する。今回の結果から、インフォマティクスの活用に加えて質量顕微鏡法を用いたメタボロミクスも統合することで、疾患責任遺伝子をより正確に同定できると考えられた。

心不全における高感度トロポニン T 測定の臨床的意義: BNP・NT-proBNP・心エコー指標との関連

鹿児島大学大学院循環器・呼吸器・代謝内科学

宮田 昌明/楠本 敦旨/鄭 忠和

【背景】心筋トロポニン T は心筋障害により検出され、心筋特異的なマーカーとして急性心筋梗塞の診断に用いられている。更に慢性心不全患者においても、心筋トロポニン T の上昇を認め、心不全患者の予後予測因子となることが報告されており、心不全患者におけるトロポニン T の上昇は、持続する心筋障害によるものと考えられている。しかし、心機能低下と高感度トロポニン T との関連についての報告はない。近年、従来法と比較し、測定感度が約 10 倍となる高感度トロポニン T の測定方法が開発され、微小心筋障害も検出できることが期待されている。そこで我々は、心不全患者において高感度トロポニン T を測定し、脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP)、ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体 N 端フラグメント (NT-proBNP)、心エコー指標との関連を検討した。

【方法】対象は心不全が疑われ心エコーを施行した入院及び外来患者、連続 246 症例 (男性 131 例、平均年齢 63.6 歳) である。高感度トロポニン T、BNP、NT-proBNP、血清クレアチニンを同時採血により測定し、推算糸球体濾過量 (eGFR) は計算により求めた。心エコーにて、左室と右室の Tei index、左室駆出率、E/E' を測定した。

【結果】単回帰分析において、高感度トロポニン T は、BNP ($R=0.664$, $P<0.0001$)、NT-proBNP ($R=0.726$, $P<0.0001$)、eGFR ($R=-0.481$, $P<0.0001$) と強い相関を認めた。また、高感度トロポニン T は、左室 Tei index ($R=0.342$, $P<0.0001$)、右室 Tei index ($R=0.400$, $P<0.0001$)、左室駆出率 ($R=-0.338$, $P<0.0001$)、E/E' ($R=0.455$, $P<0.0001$) とともに有意な相関を示した。次に、高感度トロポニン T を目的変数とし、BNP、eGFR、左室及び右室 Tei index、左室駆出率、E/E' を独立変数として多変量解析を行ったところ、BNP、eGFR、左室 Tei index、E/E' は、高感度トロポニン T に対して独立した規定因子であることが示された。更に、BNP のかわりに NT-proBNP を用い多変量解析を行った結果、NT-proBNP、eGFR、E/E' は、高感度トロポニン T の独立した規定因子であることが示された。

【結語】高感度トロポニン T は心不全患者において、心不全マーカーや心エコーによる心機能障害と相関することを初めて報告した。心不全患者における高感度トロポニン T の上昇は、持続する微小心筋障害による心機能低下を反映していることが示唆された。

心臓サルコイドーシスの病態診断のための新規サロゲートマーカーの開発と診断基準の改定を目指して —多施設共同研究の提案—

国立国際医療研究センター病院循環器内科

廣江 道昭

サルコイドーシス (サ症) は、慢性経過をたどる非乾酪性肉芽腫病変形成を特徴とする原因不明の全身性疾患である。肺および皮膚などのサ症は自然寛解することも多々あり、一般に予後は良好である。しかし心臓サルコイドーシス (心サ症) では進行性であり、心不全や突然死を招き予後不良となる。心サ症は肉芽腫の分布が不均一なために、心筋生検をもってしてもその診断率は 19% と低く、診断が最も困難な循環器疾患の一つとなっている。早期よりステロイド治療に踏み切れば比較的予後はよく、新たな診断法の開発が急務となっている。

これまで細胞外マトリックス分子の一つテネイシン C に着目し、心血管疾患を始めとする種々の病態における分子機能解析とそれを応用した診断・治療法の開発をすすめ、血中テネイシン C が炎症マーカーとして心筋梗塞、拡張型心筋症患者などの重症度評価・予後予測に有用であることを明らかにした。先行研究では、心サ症の血中テネイシン C が上昇していることを把握している。更に、アクネ菌 (*Propionibacterium acnes*) の内因性感染が原因となり過敏性免疫反応を惹起する結果として本症が発症するとの説を支持している。このアクネ菌に特異的な PAB 抗体は、サ症リンパ節病変部において 90% 以上の症例で陽性所見を呈することから、リンパ節や肺病変においては病理組織診断上有用な補助診断法となりつつある。心筋生検材料を用いた PAB 抗体による免疫染色法は、私どもの先行研究でたとえ肉芽腫がなくとも、何らかの炎症病変があれば、有用であることが判明しつつある。本研究では多施設共同で、血液、心筋生検材料を収集し、新規サロゲートマーカー (テネイシン C、PAB 抗体) が診断に有用性を検証する。さらに臨床像、種々の検査所見 (MRI、FDG-PET) によるデータベースを作成して、新規サロゲートマーカーに基づく新たな診断基準を作成する。

細胞外マトリックスを利用した拡張型心筋症の診断と治療

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⁾
/ 国立国際医療研究センター³⁾ / 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター⁴⁾
今中 恭子^{1) 2)} / 鈴木 由加¹⁾ / 原 万里¹⁾ / 吉田 利通^{1) 2)}
/ 廣江 道昭³⁾ / 揚山 直英⁴⁾ / 保富 康宏⁴⁾

マトリックス分子の多くは、生理活性を持つが、その中でも matricellular タンパクとよばれる分子群は発生、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。我々は、そのひとつテネイシンC (TnC) に注目し、正常な心臓には発現しないが、活動性炎症に伴って特異的に発現するため、活動性炎症のマーカーになることを明らかにした。さらに、拡張型心筋症患者では血中 TnC 値が上昇し、TnC 値の高い患者は心機能が低下しやすく、長期予後が悪く、リモデリングの進行を予知するバイオマーカーになることも明らかになった。しかし、TnC は心臓に特異的な分子ではなく、また、特に心不全のような高サイトカイン血症の場合、脾臓、肝臓、腎など多彩な臓器で産生が増加しうるため、TnC の生体内分子イメージングによって、心臓内病変部位を特定する必要がある。現在、我々は、霊長類自然発症心筋症モデルコロニーを用い、血中 TnC によるスクリーニングを行い、血中値の高い High risk 個体を選別し、抗 TnC 抗体を用いた SPECT 撮像による心筋内病変の描出するシュミレーション実験を試みている。この、TnC 指標とした拡張型心筋症のリスク層別化は、実際の臨床で、拡張型心筋症と診断されている心不全症例から慢性心筋炎や心サルコイドーシスを鑑別し、ステロイド投与など個別最適化治療の実現に有用であると思われる。

心血管病態形成における DNA 傷害・修復反応の役割の解析

東京大学大学院医学系研究科内科学専攻循環器内科
永井 良三 / 鈴木 亨

DNA 傷害・修復反応が DNA チェックポイントを含む古典的な役割に加え、老化などの非癌領域においても制御機構を有することが近年報告された (Bartkova et al. 2005, 2006; Gorgoulis et al. 2005)。一方、酸化ストレスは心血管細胞の機能不全や老化を制御することが知られている。DNA 傷害は酸化ストレスや癌化ストレスにより誘導されるが、心血管病態は DNA 傷害・修復による制御機構が最も明らかにされていない分野の一つである。

DNA 傷害・修復反応において中心的な役割を果たす分子である ATM (ataxia-telangiectasia mutated) は PI3K 関連タンパクファミリーに属し、酸化ストレスにおいて重要な役割を担う報告がある。しかし、循環器疾患における ATM シグナル経路の役割は不明であった。さらに、ATM 変異に関連した心血管病態形成機構は全く不明であった。本研究では ATM ノックアウトマウスおよび培養細胞を用いて心血管病態形成における DNA 傷害・修復反応の役割を解析した。まず、内皮細胞における役割を解析した結果、酸化ストレスが Akt/p53/p21 経路を介したシグナルによる、ATM の活性化・リン酸化を通じて、血管内皮細胞老化を誘導することが示された。この反応は ATM をノックダウンした細胞において抑制されていることが観察され、さらに ATM 特異的阻害剤によっても抑制されることが確認された。さらに、これらの細胞実験において得られた所見は、ATM ノックアウトマウスモデルを用いた動物実験によっても確認された。ATM ノックアウトマウスでは野生型マウスに比較して、大動脈における内皮細胞老化の誘導が抑制された。一方、心臓の解析を現在進めているが、ATM ノックアウトマウスでは浸透圧ポンプによるアンジオテンシン II の持続投与により、心臓線維化が促進しており、心血管病態形成に広く作用することが示された。

以上の知見より、我々は ATM が酸化ストレスにより誘導された血管内皮細胞における機能不全・老化を制御することを明らかにし、さらに ATM が心臓線維化反応における役割を有する可能性も示した。今後は傷害・修復反応が心血管病態における役割と位置づけを包括的に明らかにし、新しい診断および治療法開発の糸口としたい。

心臓病理を介した個別臨床カンファレンスの取り組み

山口大学医学部地域医療推進学講座¹⁾ / 山口大学大学院医学系研究科器官病態内科学²⁾
中村 浩士¹⁾ / 石原 里江²⁾ / 矢野 雅文²⁾ / 三浦 俊郎²⁾ / 松崎 益徳²⁾

【背景】当施設では特発性心筋症に関する調査研究のひとつである“拡張型心筋症における炎症の関与についての検討～心内膜心筋生検を用いて～[課題番号2008-3]”を遂行中である。しかしながら循環器診療における心筋生検検査は有用性を認識されつつも、その実践と臨床利用には様々な限界があるために全国的にも汎用されていないのが実状である。

【方法】心筋生検検査の臨床的意義付けを向上させる目的で、以下の複数の行動目標を実施した。
①一般染色に加えて炎症性マーカー（リンパ球、マクロファージ、テネイシンCなど）を含む免疫染色を行う。②病理画像は総てデジタル化する。③所見はスライド受領後1週間以内に解析・返却する。④症例数5例程度を基準に個別臨床カンファレンスを臨床現場で行う。⑤患者認証は総て番号で行う。⑥遠隔通信を使用し教育的トレーニングサイトを立ち上げる。

【結果】山口大学での心筋生検件数は、12～20症例/年から昨年は34症例に増加した。3大学病院及び5病院で総数50症例の解析と7回の個別臨床カンファレンスを行った。

【まとめ】総てのスタッフが参加しやすい個別臨床カンファレンスを実施することで、①臨床診断や治療をもう一度見直すきっかけになる。②病理組織を通した臨床経験を重ねる事ができる。③教育的モチベーションを上げることができると考えられた。

糖尿病性心筋症における冠微小循環障害の新規診断法の開発と分子メカニズムに関する解析

名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科学
坂東 泰子 / 奥村 貴裕 / 室原 豊明

【背景】糖尿病患者では、心筋毛細血管密度の低下や心筋線維化に代表される糖尿病性心筋障害と呼ばれる病態が存在するが、その機序や診断法は未確立である。

【目的】糖尿病性心筋障害における exoprotease である dipeptidyl peptidase (DPP4) の活性変化と分子メカニズムを解析し診断法としての意義を明らかにする。

【方法】DPP 4 活性欠損突然変異型ラットおよび同系統野生型ラットをストレプトゾトシン誘発により糖尿病化した2群を作成した (DM-DPP(-), DM-DPP(+))。8週間高血糖暴露後、同一週令の非糖尿病病化コントロール2群 (ctl-DPP(-), ctl-DPP(+)) 含む計4群ラット心筋組織標本に対して、①抗 CD31 抗体及び抗 dystrophin 抗体を用いた免疫二重染色による心筋毛細血管密度・心筋細胞サイズ変化、② in situ および in vitro での心筋 DPP4 活性の検出③免疫蛍光染色による心筋 DPP4 の局所発現の共焦点顕微鏡による観察④血管新生関連分子 (SDF-1 α 、VEGF、Akt、eNOS) の活性変化に関する生化学的評価を行った。

【結果】DM-DPP(+) ラットは心筋毛細血管密度低下・心筋細胞サイズの低下、心筋間質線維化及び組織低酸素の増強を認めた。DM-DPP(-) ラットではこれら心筋毛細血管密度低下・心筋細胞サイズの低下を認めなかった。DM-DPP(+) ラットでは in situ および in vitro とともに心筋 DPP4 活性亢進を認めた。免疫蛍光染色により心筋組織における DPP4 発現は心筋毛細血管内皮に局在し、他臓器で報告されているリンパ管内皮や静脈内皮には存在しなかった。DM-DPP(+) ラット心筋では、ctl-DPP(+) および DM-DPP(-) ラット心筋と比し、心筋 SDF-1 α 含有量が有意に低下していたが、VEGF 含有量には差はなかった。心筋 Akt/eNOS 活性は DM-DPP(+) ラット心筋で低下を認めたが、ctl-DPP(+) および DM-DPP(-) ラットでは差はなかった。

【結論】本研究から、高血糖状態による心筋毛細血管 DPP4 活性亢進は、血管新生ケモカイン SDF-1 α 分解を介して心筋毛細血管新生低下させる結果、心リモデリングを惹起する可能性が示唆され、心筋組織における DPP4 活性染色は糖尿病性心筋障害の新たな診断方法となる可能性が示唆された。

Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表 2008 年度

1) 書籍

班員	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
筒井裕之	絹川真太郎, 筒井裕之	心不全	磯部光章, 佐々木成	心腎関連の病態理解と診療	羊土社	東京	2008	50-56
	筒井裕之, 絹川真太郎	急性心不全	刈尾七臣, 筒井裕之	心血管病薬物治療マニュアル	中山書店	東京	2008	36-44
	筒井裕之	慢性心不全	刈尾七臣, 筒井裕之	心血管病薬物治療マニュアル	中山書店	東京	2008	45-52
	筒井裕之, 岩野弘幸, 山田 聡	病態生理	松崎益徳	新しい診断と治療のABC 5 8 / 循環器 9 心筋症	最新医学社	大阪	2008	100-106
久保田 功	久保田功	6. 循環器疾患 急性心膜炎, 収縮性心膜炎.	山口徹, 北原光夫編, 福井次矢総編集.	TODAY'S THERAPY 2008 今日の治療指針.	医学書院	東京	2008	308-309
	渡邊哲, 久保田功	4. 甲状腺疾患と心臓.	堀正二, 永井良三編.	循環器疾患最新の治療 2008-2009.	南江堂	東京	2008	471-474
	渡邊哲, 久保田功	IV. 高血圧治療の最前線をいく 4. 薬物療法心拍数を抑制するカルシウム拮抗薬の特徴とエビデンス.	刈尾七臣, 島田和幸, 吉川純一, 笠貫宏, 土師一夫, 別府慎太郎, 松崎益徳編.	新・心臓病診療プラクティス 11. 高血圧を識る・個別診療に活かす	文光堂	東京	2008	231-233
小川 聡	吉川勉	心筋障害の進行とカテコールアミン	伊藤浩, 吉川純一	新・心臓病診療プラクティス	文光堂	東京	2008	272-8
松森 昭	松森昭	心筋炎	山口徹	今日の治療指針2008	医学書院	東京	2008	306-307
	松森昭	慢性心不全治療ガイドライン (2005年改訂版)	山口徹	今日の治療指針2008年	医学書院	東京	2008	1558-1562
	西尾亮介, 松森昭	III章心不全 D. 心筋炎	小室一成, 北風政史	循環器-専門医のための薬物療法Q&A	中外医学社	東京	2008	285-289
	松森昭	Biomarkers and Left Ventricular Function	篠山重威	AHA Highlights 2007	協和企画	東京	2008	196-201
	西尾亮介, 松森昭	3. 心筋症 2) 拡張型心筋症	北風政史	心不全診療マニュアルSkill Up	羊土社	東京	2008	143-156
松崎益徳	中村浩士	拡張型心筋症	北島顕, 友池仁暢	厚生労働省難治性疾患克服研究事業特発性心筋症調査研究班心筋症: 診断の手引きと解説	かりん舎	札幌	2005	
	中村浩士	拘束型心筋症	松崎益徳, 吉川純一	臨床心臓病学	文光堂	東京	2006	
	中村浩士	非定型的疣贅性心内膜炎 (Libman-Sacks)	矢崎義雄	循環器症候群Ⅱ (第2版)	日本臨床社	大阪	2007	
	中村浩士	ウイルス性心筋炎	矢崎義雄	循環器症候群Ⅲ (第2版)	日本臨床社	大阪	2008	
	中村浩士	リウマチ性大動脈炎	矢崎義雄	循環器症候群Ⅲ (第2版)	日本臨床社	大阪	2008	

班員	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
今泉 勉	安川秀雄、 今泉 勉	虚血性不全心の病態に迫る 心筋障害に迫る 左室リモデリングと心不全	吉川純一、 伊藤 浩	新・診療プラクティス12 冠動脈疾患の病態に迫る	文光堂	東京	2008	240-245
	安川秀雄、 大場豊治、 馬渡一寿、 今泉 勉	第3章肥大型心筋症 予後	松崎益徳	新しい診断と治療のABC 58.心筋症	最新医学社	大阪	2008	89-99
	大内田昌直、 翁 徳仁、 今泉 勉	第3章病態からみた心不全のアプローチ 1. 左心不全	北風政史	心不全診療Skill Upマニュアル	羊土社	東京	2008	209-214
	松岡秀洋、 今泉 勉	高血圧	矢崎義雄監修、 相澤義房、 今泉 勉、 島本和明、 友池仁暢、 永井良三、 松崎益徳編	心血管疾患診療のエクセレンス	日本医師会	東京	2008	S102-S113
	大内田昌直、 藤山友樹、 今泉 勉	I.循環器疾患 3.急性心不全	松浦三男	総合臨牀第57巻増刊 新版処方計画法	永井書店	大阪	2008	814-817
	稲毛智仁、 今泉 勉	C.心疾患 Q7.徐脈性不整脈に合併した高血圧に対して使用する降圧薬の選択は？	富野康日己監修、 小室一成、 北風政史編	専門医のためのQ&A 循環器	中外医学社	東京	2008	55-56
	稲毛智仁、 今泉 勉	C.心疾患 Q6.頻脈性不整脈に合併した高血圧に対して使用する降圧薬の選択は？	富野康日己監修、 小室一成、 北風政史編	専門医のためのQ&A 循環器	中外医学社	東京	2008	53-54
	大内田昌直、 今泉 勉	急性心筋梗塞に伴う機械的合併症	堀 正二、 永井良三	循環器疾患最新の治療2008-2009	南江堂	東京	2008	69-72
大内田昌直、 今泉 勉	ACC/AHA心不全ガイドライン	熊谷裕生、 小室一成、 堀内正嗣、 森下竜一	高血圧ナビゲーター 第2版	メディカ出版	東京	2008	316-319	
河合祥雄	河合祥雄			イラストで学ぶ循環器看護	株式会社メディカ出版	大阪	2008年	
	河合祥雄	分離型大動脈弁下狭窄		循環器症候群(第2版) IV-その他の循環器疾患を含めて	日本臨床	東京	2008年	269-272
	河合祥雄	心内膜心筋線維症		循環器症候群(第2版) III--その他の循環器疾患を含めて---	日本臨床	東京	2008年	183-185
	河合祥雄	特発性肥厚性大動脈弁下狭窄		循環器症候群(第2版) III--その他の循環器疾患を含めて---	日本臨床	東京	2008年	227-230

班員	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
河合祥雄	岩井秀明、形本静夫、河合祥雄、山倉文幸、加納達二、信太直己、雨宮有子、池田啓一		岩井秀明・順天堂大学	千葉県血清研究所記念保健医療福祉基金調査研究事業「近未来の生活習慣病予防対策」報告書	千葉県血清研究所	千葉	平成20年3月	
	河合祥雄	メディカルチェック	千葉県健康福祉部健康づくり支援課がん・生活習慣病病対策室	健康生活コーディネート学習教材	千葉県健康福祉部	千葉	平成21年1月	
今中恭子 大津欣也	今中(吉田)恭子	心筋生検	梅澤明弘、黒田雅彦、大喜多肇	研修医のための病理マニュアル	診断と治療社		2008	30
	彦惣俊吾、大津欣也	細胞死(アポトーシスとオートファジー)		Heart View	ライフサイエンス出版		2008	38-41
北浦泰	寺崎文生、北浦泰、伊東隆英	拘束型心筋症.	松崎益徳	新しい診断と治療のABC 58 心筋症	最新医学社	大阪	2008	171-181
	北浦泰、寺崎文生、伊東隆英	拘束型心筋症.	北風政史	心不全診療マニュアル	羊土社	東京	2008	157-168
	寺崎文生、北浦泰	二次性心筋症.	井村裕夫	わかりやすい内科学	文光堂	東京	2008	196-201