

パでは適応拡大がなされが、本邦でも
適応拡大への検討が望まれる。

2.低酸素換気療法

小児の先天性心疾患のうち肺体血
流比が増大し低心拍出の心不全
のコントロールが困難な症例に限っ
て施行している。実際に施行したのは
3例（HLHS 2, cTGA 1）であるが、
この治療の必要度の高いと考えられ
た4例は準備だけして実際には使用

しなかった。2例ではこの治療によっ
て血行動態の安定が得られた。1例で
は効果は得られなかった。3例とも合
併症はみとめていない。今後は術前管
理においても有効で安全な使用法の
工夫を続けて適応のある症例に限っ
て施行する。

3：先天性心疾患の児童・生徒におけ る管理指導について

児童生徒に見られる先天性心疾患に
おいても以前から運動部（クラブ）活
動の可と禁との判定の目安が示され
ていた¹⁻³⁾。その後、先天性心疾患の
予後も明らかにされ、治療法や手術成

績も改善されてきた。そこで学校生活
管理指導の指針を改正することが必
要になった先天性心疾患もあるので、
内外の文献や専門医の経験などを参
考にしながら一部を改正した。
下記の指針は目安であり、個々の児童
生徒に対する診察や検査のほか、試合

<p>や競技に至るまでの練習方法や練習量、本人の参加意欲や習熟度を総合して決められるべきである。</p>	<p>該当する指針</p> <p>1. 治療前の先天性心疾患</p> <p>(1) 心室中隔欠損症：肺高血圧のないもの [注1]</p>
<p>運動部（クラブ）活動可でも、新たに合併症が出現したり、病状が変化したりすることもあるので定期的な経過</p>	<p>(2) 心房中隔欠損症：肺高血圧のないもの [注1]</p>
<p>観察は必要である。なお未治療の症例のなかには手術やインターベンション治療に</p>	<p>(3) 動脈管開存症：肺高血圧のないもの [注1]</p>
<p>より運動能力が向上し、学校生活指導管理区分も改善するものもあるので、このよう</p>	<p>(4) 大動脈弁狭窄症：無症状で、軽症のもの [注2]</p>
<p>な症例には治療が勧められる。</p>	<p>(5) 大動脈二尖弁^{4,5)}：大動脈基部や上行大動脈の拡張が軽度でかつ大動</p>
<p>脈弁狭窄・大動脈弁閉鎖不全がな</p>	<p>いか、軽症のもの [注3]</p>
<p>で、このような症例は専門医の意見を聞きながら学校生活管理指導区分が</p>	<p>(6) 大動脈弁閉鎖不全症：無症状で正常左室容量・正常左室収縮能で軽</p>
<p>決められるべきである。</p> <p>II. 管理指導指針</p>	<p>症のもの [注3]</p>
<p>a. 運動部（クラブ）活動可（E可）に</p>	<p>(7) 肺動脈弁狭窄症：軽症のもの [4]</p>

(8) 僧帽弁閉鎖不全症：左房や左室の	もの [注 1]
明らかな拡大がない軽症のもの [注 5]	動脈管開存症：肺高血圧のあるもの [注 1]
2. 治療後の先天性心疾患	
(1) 心室中隔欠損症：肺高血圧 [注 1]	大動脈弁狭窄症：軽症でないもの
および不整脈 [注 6] のないもの	[注 2]
(2) 心房中隔欠損症：肺高血圧 [注 1]	大動脈二尖弁：大動脈基部・上行
および不整脈 [注 6] のないもの	大動脈の中等度以上の拡張があるもの
(3) 動脈管開存症：肺高血圧 [注 1]	の
のないもの。問題なく治癒している場合	大動脈弁閉鎖不全症：軽症でないもの [注 3]
は管理不要でもよい。	
(4) 肺動脈弁狭窄症：軽症に相当し肺	肺動脈弁狭窄症：軽症でないもの
動脈弁逆流が多くないもの [注 4]	[注 4]
b. 運動部（クラブ）活動禁（E 禁）以	僧帽弁閉鎖不全症：軽症でないもの [注 5]
上の制限に該当する指針	
治療前の先天性心疾患	2. 治療後の先天性心疾患
心室中隔欠損症：肺高血圧のある	手術を受けた医療機関の専門医に
もの [注 1]	よる定期的な経過観察・検査で判断さ
心房中隔欠損症：肺高血圧のある	れるべきであるが、転居・医療機関の

<p>特性などによってそれが不可能なときは専門医の判断を仰ぐ。</p>	<p>よる Levine 1/6 度以下の拡張期雑音⁷⁾ 上行大動脈造影法で1度の逆流⁸⁾</p>
<p>ここでいう肺高血圧とは安静時の平均肺動脈圧 25mmHg 以上を目安とする。⁶⁾</p>	<p>心臓超音波カラードプラ法では下記の場合</p>
<p>軽症大動脈弁狭窄症の判定は以下の所見が参考になる。</p>	<p>① 左室内逆流ジェットの到達距離が僧帽弁前尖までのもの⁹⁾</p>
<p>心臓カテーテル検査での左室-大動脈引き抜き圧較差が 20 mmHg 未満</p>	<p>② 傍胸骨長軸断面で逆流ジェット開始点（大動脈弁）から 1cm の範囲で逆流ジェットの幅と同部位での流出路徑の比が 25% 以下^{8,10)}</p>
<p>心臓超音波連続波ドプラ法で得られた（上行大動脈内）最高血流速度が 2.5 m/s 未満または簡易ベルヌイ法による収縮期平均</p>	<p>③ 中学生以上で成人の体格に近い場合では縮流部（vena contracta）の幅</p>
<p>圧較差 20 mmHg 未満</p>	<p>3mm 未満^{8,10)}</p>
<p>〔注 3〕 軽症大動脈弁閉鎖不全症の判定は以下の所見が参考になる。</p>	<p>〔注 4〕 軽症肺動脈弁狭窄症の判定は以下の所見が参考になる。^{1,8,11)}</p>
<p>聴診上、大動脈弁閉鎖不全に</p>	<p>1) 心臓カテーテル検査で右室-肺動</p>

脈引き抜き圧較差が 40 mmHg 未満

壁に沿って見られる場合は

2) 心臓超音波連続波ドプラ法で得ら

過少評価するので注意を要

れた(主肺動脈内)最大流速が 3.5 m/s

する。

未満

③ 中学生以上で成人の体格

[注 5] 軽症僧帽弁閉鎖不全症の

に近い場合では縮流部(vena contracta)

判定は以下の所見が参考になる。

の幅 3 mm 未満^{7,10,13)}

1) 聴診上、僧帽弁閉鎖不全による

[注 6] 手術と関連がないと考えられ

Levine 2/6 度以下の収縮期雑音⁷⁾

る軽微な不整脈は除く。

2) 左室造影法で I 度の逆流⁸⁾

【解説】

3) 心臓超音波カラードプラ法では下

1. 連続波ドプラ法による推定最大圧

記の場合

較差について

① 心臓超音波傍胸骨四腔断面像や心

大動脈弁狭窄症および肺動脈弁狭

尖部からの長軸像で逆流ジェット

窄症の連続波ドプラ法による推定最

弁から左房後壁までの到達距離が左

大圧較差は実際の圧較差より過大評

房内 3 分の 1 までのもの¹²⁾

価する可能性があるため^{8,13,14)}、最大

② 左房に占める逆流ジェッ

血流速度はそのことを考慮した値と

ト面積の割合 < 20 %^{8,10,12)}

した。

ただし逆流ジェットが左房

2. カラードプラ法を行う場合のカラ

ーゲインについて

大動脈弁閉鎖不全および僧帽弁閉鎖不全でカラードプラ法を行う場合、カラーゲインをノイズが発生しない最大値に設定し、折り返し血流速度を60-70 cm/s に調節して行う。

[注3] および [注5] の3) ①に示すカラードプラ法による逆流ジェット

の到達度の評価方法は簡便で広く使われているが、到達点が同じでも逆流ジェット幅の大小により重症度が異なり、装置の設定条件の影響も受けるため [注3] および [注5] の3) ②③の評価法も参考にすること。

3. 軽症大動脈弁狭窄について

米国心臓協会/米国心臓病学会ガイドライン^{8,13,14)}によると、軽症大動脈弁狭窄症では全ての運動が可能とし、そ

の基準として心臓超音波連続波ドプラ法で得られた収縮期平均圧較差 25 mmHg 未満、最高血流速度 3.0 m/s 未満としている。日本循環器学会ガイドラインでもその基準に従っている¹⁵⁾。

しかし小児は活動量が多く、運動強度も大きくなることも想定されるので、この値に安全域を設けた。ただしレジスタンス運動（等尺運動；Isometric exercise）は左室圧が上昇しやすいので注意をする。

4. 縮流部 (vena contracta) について^{8, 10)}

大動脈弁閉鎖不全や僧帽弁閉鎖不全では、縮流部の幅は有効逆流弁口面積を反映するとされている。

縮流部はカラードプラ法で逆流血流が逆流弁口を通過した直後の心腔内（大動脈弁閉鎖不全では左室・僧帽弁

閉鎖不全では左房側僧帽弁直下)で最も狭く観察される部分であり、傍胸骨長軸断面でその幅を計測する。

4.小児不整脈の診療

文献検討により、以下のような診療ガイドラインを検討した。

基礎心疾患のある場合

A. 上室期外収縮

基礎心疾患・誘因がある場合にはその治療や誘因の除去が優先されるが、

Fontan 型術後例では頻発する上室期外収縮により、血行動態や心機能に影響を及ぼす可能性が高い。

薬物治療の実際(図1)

Fontan 術後など、上室期外収縮が発作性心房細動、心房粗動を誘発する場合には、自覚症状の有無にかかわらず薬物治療を考慮する。心機能が正常の場合、

第一選択薬は β 遮断薬、第二選択薬は slow drug、第三選択薬が intermediate drug となる。軽度心機能低下では第一選択薬は β 遮断薬、第二選択薬は intermediate drug 第三選択薬は slow drug となる。中等度異常の心機能低下がある場合 intermediate drug の中から選択する。心不全合併例ではジギタリスや少量の β 遮断薬も考慮する³。

B. 心房細動

小児や若年者において基礎心疾患のない孤立性心房細動は極めて稀で、通常は基礎心疾患があって心房負荷や心房拡大・線維化等を伴っているなど病的な心房においてみられる。心房細動をきたしやすい疾患は、僧帽弁疾患、心筋症による心不全(とくに肥大型心筋症)、

右房拡大を伴った Fontan 術後例、甲状腺機能亢進症、高血圧等があげられる⁴。⁵。また不整脈・突然死・けいれん等の家族歴を有する症例のなかに心房細動が遺伝性不整脈である可能性がある⁶。

心房細動では主に血行動態の障害と塞栓症が問題となる。心室の興奮が不規則で時に過剰な頻脈をきたす。頻脈が30秒未満の短いイベントであれば無症状であることが多いが、発作が長く続くと血行動態の破綻を来し、動悸・倦怠感・食欲不振・胸部圧迫感・息切れ・失神・心不全・心停止などの症状を呈する。

塞栓症は心房内での血液うっ滞により血栓形成が生じるためにおこる。左房内の血栓は動脈塞栓の原因となるが、とくに脳梗塞は最も重大な合併症である。

薬物治療の実際（図2）

心房細動の治療は①心室レートのコントロール（レートコントロール）②除細動（リズムコントロール）③抗凝固療法などを個々の症例に応じて組み立てる。血行動態が破綻してショック・急性肺水腫など緊急治療が必須の場合は電氣的除細動を行なうが、血栓塞栓症のリスクがあるため抗凝固療法が不十分であればレートコントロールを優先する。

基礎疾患のある場合はまずその原因を改善する治療を検討する。肥好心や不全心ではアンジオテンシン変換酵素阻害薬（ACE-I）やアンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬（ARB）、β遮断薬などの使用を検討する。僧帽弁閉鎖不全にたいする僧帽弁形成術や僧帽弁置換術などの手術・Fontan 術後の巨大右房にたいす

る両大静脈肺動脈吻合術への変換 (TCPC conversion)など外科的治療についても検討する。次にレートコントロール治療が薦められるが、症状が強い場合には洞調律維持が必要となる場合がある。不全心では心房細動がしばしばマクロリエントリーにより生じており K チャネル遮断薬の効果が期待される。薬としてはアミオダロン・ソタロール(不全心除く)・ベプリジルが相当するが、現在心房細動に対する保険適応が認められているのは肥大型心筋症におけるアミオダロンと持続性心房細動にたいするベプリジルだけである。アミオダロンは心房細動を合併した心不全の洞調律復帰⁷や慢性心不全の心房細動新規発生の予防に有効であった⁸と報告されている。

5) 抗凝固療法

塞栓症を起こしやすい危険因子を持っている場合は原則としてワーファリンを投与する。危険因子には塞栓・血栓症の既往、弁膜症、心不全、高血圧などがある。プロトロンビン時間で INR2.0～3.0 を目標とするが、機械弁の場合は 2.5～3.5 にする。心房細動が 48 時間以上持続例では血栓塞栓症の回避のために事前の十分な抗凝固療法が必要である。最低 3 週間以上の十分なワーファリン療法または経食道心エコー検査で左心耳内血栓のないことを確認した後に直ちにヘパリン投与開始して早期に除細動を行なう。除細動後に新たに心房内血栓が形成される可能性があることより、除細動後最低 4 週間はワーファリンを投与し、4 週間洞調律が維持されていれば抗凝固療法を

終了してもよい。

C. 心房粗動

心房粗動は心房レートの高い(>240 拍/分)きわめて規則的な上室頻拍と定義される。心房粗動が心房頻拍と異なるのは心房レートが高めである点である。心電図は典型的な例では基線が鋸歯状であることが特徴である。

通常型は心房粗動のなかで最も多く認められるもので右房内のマクロリエントリーであり、解剖学的峡部(下大静脈—三尖弁輪間)を含む三尖弁周囲を心尖部からみて反時計回りに興奮が旋回してII・III・aVF 誘導で陰性鋸歯状波を呈する。術後の拡大した右房においては(Fontan 術後など)このリエントリー回路が安定しており心房粗動がおきやすい状態となっている⁹。非通常型は三尖弁

周囲を時計回りに興奮が旋回して陽性鋸歯状波を呈するものや他に右房上部・右房自由壁・左房内のリエントリーを機序とするものなどがある。開心術後に右房壁の切開創(瘢痕組織)を周回するリエントリーを機序とする心房粗動も非通常型の原因として重要であり、切開線リエントリー頻拍と呼ばれる。

病態・臨床的意義

心房粗動は房室伝導の程度によって症状が規定される。最も多くみられる通常型では粗動時の心房は約 300/分、房室伝導は 2:1 で心室の心拍数は 150/分程度の心電図が典型的であるが粗動波(F波)がQRSに重なるために診断がつかず、心拍数 150/分の上室性頻拍症と誤って診断される場合がある。若年者では運動時な

ど房室伝導が良好になると 1:1 伝導と
なって心拍数は 300/分にもなり血圧低
下・失神などの重篤な症状を呈する場
合がある。小児や若年者は房室伝導が
良好であり粗動時の 1:1 房室伝導は特
に注意すべき点である。逆に睡眠中は
房室伝導が 3:1 や 4:1 などがみられる。
心房粗動は出生時や日齢 1 にみられる
場合がある(特に先天性心疾患がある
児)が幼児や思春期ではきわめて少な
い¹⁰。新生児の心房粗動はいったん治
まると通常は再発しない。基礎心疾患の
ない健康小児の場合には他の全身疾患
(内分泌・リウマチ・代謝性疾患・神経筋
疾患)に伴っている可能性がある。開心
術後で右房切開線周囲を巡回するマク
ロリエントリーでは心房レートと房室伝
導によって症状が規定される。

3. 治療の実際(図 3)

血行動態が不安定な場合:心不全やシ
ョック(血圧低下)をきたしている場合な
ど不安定な血行動態では静脈麻酔後、
心電図 R 波に同期して DC(1J/kg: 成人
では 50J)により速やかに粗動を停止さ
せる。

血行動態が安定している場合:心室レー
トが 100/分以上ではまずレートコントロ
ールを目的として房室結節を抑制する
薬物(β 遮断薬・ジゴキシン・ベラパミル・
ジルチアゼム・ベプリジル)を投与する。

2 歳以下では前述したように Ca チャネ
ル遮断薬は心血管系の虚脱をきたすこ
とがあるため投与に注意する¹¹。

洞調律復帰を目的とした薬物治療:第一
選択としては心房筋の不応期延長を目
的として中等度以上の K チャネル遮断

作用を持つ薬物を選択する。静注薬ではプロカインアミド・ニフェカレント、経口薬ではプロカインアミド・キニジン・ベプリジル・ソタロールなどである。第二選択は峡部緩徐伝導の抑制を目的とし解離速度の比較的遅い Na チャネル遮断薬 (intermediate ~ slow drug) を用いる。カテーテルアブレーション: 心房粗動にたいするカテーテルアブレーションは有効性が高く比較的安全に施行できることより、抗不整脈薬治療の効果が十分でなく体重が 25~30kg 以上であれば有効な治療法として検討すべきである

E. 結論

臨床症例を中心に内臓錯位症候群を含めた小児先天性心疾患治療の現行治療について検討した。本研究で開発した、アデニル酸シクラーゼサブタイプ選択的刺激薬や PDE3 阻害薬は、現

在もっともよく使用されている PGE1 に替わりうる効果的な動脈管拡張薬と考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hokosaki T, Mori M, Nishizawa T, Nakamura T, Imagawa T, **Iwamoto M**, Yokota S. Long-term efficacy of plasma exchange treatment for refractory Kawasaki disease. *Pediatric International*. 2012 ;54(1):99-103
2. Ichikawa Y, **Iwamoto M**, Yanagi S, Masuda M, Intrapericardial and Retrocardial Implantation of Implantable Cardioverter Defibrillator Lead in a Child with Type 3 Long QT Syndrome, 2011, 32 (7): 1048-52, *Pediatric Cardiology*.
3. 岩本眞理、西澤崇、新村一郎、

他：運動誘発性発作を呈するQT延長症候群の運動負荷心電図の特徴について 日本小児循環器学会雑誌 26巻1号 p67-72, 2010

4. 住友直方、岩本眞理、他：上室性期外収縮・心房細動・心房粗動、小児不整脈の診断・治療ガイドライン 日本小児循環器学会雑誌 Supplement, 2010 September

5. 岩本眞理：不整脈 一最新主要文献と解説一 総合小児科診療のための小児科学レビュー 2010 p49-53, 2010. 4

6. **岩本眞理**：【図解でどんだんステップアップ新生児循環管理なるほど Q&A】不整脈を理解しよう！不整脈はどのように起こるの？メカニズムとその意味は？、Neonatal Care(1341-4577)2012 春季増刊 Page118-121(2012.03)

7. 吉永正夫，泉田直己，住友直方，高橋良明，富田英，長嶋正實，山内邦昭，新垣義夫，**岩本眞理**，上野倫彦，牛ノ濱大也，太田邦雄，佐藤誠一，田内宣

生，高木純一，立野滋，檜垣高史，堀米仁志，市田露子，白石裕比湖，日本小児循環器学会学校心臓検診委員会、先天性心疾患の学校生活管理指導指針ガイドライン(2012年改訂版)、日本小児循環器学会雑誌(0911-1794)28巻1号 Page2-5(2012.01)

2. 学会発表

1. 渡辺重朗，岩本眞理，市川泰広，志水直，佐近琢磨，新村一郎 肥大型心筋症の初期心電図変化についての検討. 日本心電学会、2010.9、大分

2. 笠間啓一郎，松木佑介，南智行，鈴木伸一，磯松幸尚，益田宗孝，咲間裕之，市川泰広，渡辺重朗，西澤崇，岩本眞理. 三尖弁への介入が必要であった心室中隔欠損症に合併した活動期感染性心内膜炎の外科治療. 第46回日本小児循環器学会、2010.7、千葉

3. 南智行，松木佑介，笠間啓一郎，鈴木伸一，磯松幸尚，咲間裕之，

- 市川泰広, 渡辺重朗, 西澤崇, 岩本眞理, 益田宗孝. 大動脈輪拡張症、大動脈弁閉鎖不全症を伴う小児 Marfan 類似疾患に対する外科治療経験. 第 46 回日本小児循環器学会、2010.7、千葉
4. 市川泰広, 咲間裕之, 渡辺重朗, 西澤崇, 岩本眞理, 益田宗孝, 三浦倫一, 柳貞光. 薬剤抵抗性の先天性 QT 延長症候群(LQT3)に対して、植え込み型除細動器(ICD)を植え込んだ 1 女児例. 第 46 回日本小児循環器学会、2010.7、千葉
5. 松木佑介, 南智行, 笠間啓一郎, 鈴木伸一, 磯松幸尚, 益田宗孝, 咲間裕之, 市川泰広, 渡辺重朗, 西澤崇, 岩本眞理. 未破裂で診断された Valsalva 洞動脈瘤 4 症例の外科的検討. 第 46 回日本小児循環器学会、2010.7、千葉
6. 笠間啓一郎, 松木佑介, 南智行, 鈴木伸一, 磯松幸尚, 益田宗孝, 咲間裕之, 市川泰広, 渡辺重朗, 西澤崇, 岩本眞理. 動脈スイッチ手術の遠隔成績 最近 10 年間の検討. 第 46 回日本小児循環器学会、2010.7、千葉
7. 第 3 回横浜小児先端医療セミナー、「動脈管を知る」小児循環器の臨床から、市川泰広、2010 年 9 月、横浜
8. 市川泰広、青木理加、岩本眞理、南沢亨、横山詩子、石川義弘、出生後の血清浸透圧の変化が動脈管収縮に及ぼす作用の検討、2011 年 7 月、福岡、日本小児循環器学会、ポスター
9. 市川泰広、金晶恵、咲間裕之、西澤崇、岩本眞理、難治性上室性頻拍に対するアミオダロン使用例の検討、2011 年 7 月、福岡、日本小児循環器学会、ポスター

10. 岩本真理、西澤崇、市川泰広、
咲間裕之、金晶恵、笠間啓一郎、磯松
幸尚、益田宗孝、ワーファリンによる
抗凝固療法のモニタリングにおける
簡易検査法の有用性について、2011
年 7 月、福岡、日本小児循環器学会、
ポスター

11. 咲間裕之、金晶恵、市川泰広、西
澤崇、岩本真理、栄養障害に伴う衝心
脚気の 1 例、2011 年 7 月、福岡、日
本小児循環器学会、ポスター

12. 中野祐介、金晶恵、咲間裕之、鉾
崎竜範、岩本真理、重症先天性 QT 延
長症候群(LQTS)2 例における ICD 植
込み後の管理、2011 年 11 月、名古屋、
第 15 回日本小児心電図学会、名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

取得予定なし

2. 実用新案登録

取得予定なし

3. その他

次ページに、参考文献および入院
症例の内訳を示す。

2010-2011 年横浜市立大学附属病院小児循環器統計

総入院数 461 例・緊急入院 82 例

先天性心疾患、川崎病；心臓カテーテル検査総数 216 件

VSD 37 件、MCLS 23 件、TOF 13 件、その他 139 件
インターベンション(74 件)

不整脈；心臓カテーテル検査総数 9 件

2010-2011 年 小児関連心臓手術件数 166 件、

緊急手術 21 件

* 成人先天性心疾患手術症例 30 件を含む

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

動物実験による検討を中心とした内臓錯位症候群に対する
新規治療薬の開発に関する研究

研究分担者 横山 詩子 横浜市立大学医学部循環制御医学 講師

研究要旨

内臓錯位症候群には高頻度で動脈管依存性先天性心疾患が合併する。これらの患児には手術まで動脈管を開存させておく必要があるが、現在はプロスタグランジンEの持続点滴が唯一の治療であるが、超短時間作用、呼吸抑制、血管リモデリング促進による狭窄などが臨床上の問題点となっている。本研究では、①アデニル酸シクラーゼのサブタイプに着目した副作用の少ない新規動脈管開存薬を開発し、②動脈管はほかの血管と比べて血管の弾性線維形成が極端に低下し、それが出生後の血管収縮に関連している可能性を見出し、動脈管における弾性線維形成のメカニズムを解明した。今後これらの結果を効果的な動脈管制御の開発につなげてゆきたい。

A. 研究目的
動脈管は胎生期に肺動脈と大動脈をバイパスする血管であり、出生後は速やかに閉鎖する。動脈管の閉鎖の過程には、次の二つの機序が関与している。
① 出生直後からプロスタグランジン E 濃度の低下と血中酸素分圧の上昇により血管収縮がおこり、さらに②出生前からプロスタグランジン E 刺激により平滑筋細胞からヒアルロン酸が分泌されることにより、平滑筋細胞の遊走に基づく内膜肥厚が生じ、完全に内腔が閉鎖する。生後の動脈管の閉鎖遅延（動脈管開存症）は、未熟児

で循環不全などを引き起こし、生命予後を左右するため直ちに閉鎖させる必要がある。一方、内臓錯位症候群には、体または肺循環経路に高度狭窄や閉鎖を有する複雑心奇形を合併し、そのような患児では、生命を維持するための初期治療として、動脈管を開存させたままにして、必要な体または肺血流を補う必要がある。したがって、動脈管閉鎖の詳細な機序を理解し、動脈管を効果的に開存させる薬剤を開発することは、小児医療上非常に重要である。先行研究で、プロスタグランディン E 受容体 EP4 シグナルは動脈管の拡張だけではなく、ヒアルロン酸の産生亢進による内膜肥厚形成にも関与していることが明らかになった。EP4 シグナルの下流でサイクリック AMP を産生する酵素であるアデニル酸シクラーゼ (AC)アイソフォームは 9 種類あり、その役割や発現部位に特異性がある。しかし、動脈管でのアデニル酸シクラーゼアイソフォームの役割は明らかにされていない。そこで、我々は各アデニル酸シクラーゼアイ

ソフォームの動脈管における血管拡張作用および、ヒアルロン酸産生と内膜肥厚形成への作用を検討し、効果的な動脈管開存をもたらす動脈管選択的な薬剤を開発することを目的とした。

平成 23 年度は、さらに動脈管の開存を制御している分子機序を明らかにするために血管弾性線維に着目して研究を行った。動脈管は弾性線維の形成がほかの血管に比べて極端に低下していることが知られている。この血管の性質の違いが動脈管の開存と閉鎖をつかさどっていると考え、動脈管における弾性線維形成のメカニズムを明らかにした。

弾性線維の異常は、大動脈瘤や血管狭窄性疾患、肺気腫など多彩で重篤な疾患をもたらす。弾性線維は、エラスチン蛋白がマイクロフィブリルという線維に沈着し、凝集してから、リジロキシダーゼ(Lox)が架橋結合することで形成される。特にエラスチン蛋白を架橋結合する Lox は弾性線維形成に重要である。このように弾性線維を

形成する構成要素は明らかになっているが、ホルモンや受容体レベルでの弾性線維の制御は不明である。

本研究では、動脈管に多く発現しているプロスタグランジンE2(PGE2)受容体の一つであるEP4を介するシグナルが弾性線維の形成を低下させているという仮説を検証することを目的とした。

B. 研究方法

I. 実験材料

試薬

PGE2(SIGMA、アメリカ)、ONO-AE1-329(EP4刺激剤)(小野薬品、大阪)、sulprostone(EP1/3刺激剤)(SIGMA)、butaprost(EP2刺激剤)(SIGMA)、beta-aminopropionitrile(BAPN、Lox阻害剤)(SIGMA)、8-Bromoadenosine-3',5'-Cyclic Monophosphate(BrcAMP、非選択的cAMPアナログ)(SIGMA)、PKA inhibitor(Protein Kinase A阻害剤)(Calbiochem)、gallein(G β γ 阻害

剤)(Calbiochem)、U73122(PhospholipaseC阻害剤)(Calbiochem)、Phorbol 12-Myristate 13-Acetate(PMA、Protein Kinase C活性化剤)(SIGMA)、bisindolylmareimide(bis、Protein Kinase C阻害剤)(和光純薬、大阪)、U0126(MEK阻害剤)(Calbiochem)、NH₄Cl(ライソゾーム阻害剤)(和光純薬)フォルスコリン(Fsk)誘導体である6-[N-(2-isothiocyanatoethyl)aminocarbonyl] forskolin (FD1) および6-[3-(dimethylamino)propionyl]-14 15- dihydroforskolin (FD6) は日本化薬(東京)から提供を受けた。Fsk (F6886)はSIGMA (USA)から購入した。プロスタグランジンE₁ (PGE₁、38903)はCalbiochem(ドイツ)から購入した。

実験動物と組織

全ての動物実験は横浜市立大学の倫理的規約を遵守して行った。本実験では全て日本SLC(静岡)より購入した妊娠Wistar ratを使用した。動脈管

および大動脈の組織は胎生 19 日、胎生 21 日、生後 0 日(出生直後：出生後 6 時間以内)の胎仔および新生仔から摘出された。胎生 19 日は未熟動脈管で、胎生 21 日は成熟動脈管として使用した。

AC5 遺伝子欠損マウス (AC5KO) は本研究室の奥村敏准教授、AC6 遺伝子欠損マウス (AC6KO) は Kirk Hammond 博士から提供して頂いた。EP4 遺伝子欠損マウスは京都大学の杉本幸彦教授から提供して頂いた。マウスの動脈管および大動脈の組織は胎生 18.5 日、生後 0 日の胎仔および新生仔より摘出した。

II. 実験方法

ラット動脈管平滑筋細胞の初代培養

初代培養には胎生 21 日の Wistar rat の動脈管を用いた。摘出した動脈管を 800 μ l の collagenase-dispase 混合試薬 [1.5 mg/ml の collagenase-dispase (Roche、スイス)と 0.5mg/ml の elastase type II-A (SIGMA) と 1mg/ml の trypsin

inhibitor type I-S (SIGMA) と 2mg/ml の bovine serum albumin fraction V (SIGMA) を Hanks' balanced salt solution (SIGMA)に溶解した液]を 1.5ml チューブに入れ、37°Cで 15 分間反応させた。細胞懸濁液を 37°C、1000rpm で遠心し、上清を取り除き、collagenase II 混合試薬 [1mg/ml の collagenase II (Worthington)と 0.3mg/ml の trypsin inhibitor type I-S (SIGMA) と 2mg/ml の bovine serum albumin fraction V (SIGMA) を Hanks' balanced salt solution (SIGMA)に溶解した液]を 1.5ml チューブに入れた。37°Cで 12 分間反応させ、数回ピペティングして、poly-L-lysine (SIGMA)でコーティングした 35mm 組織培養用ディッシュに播種し、37°C、5%CO₂-21%O₂のインキュベーターで培養した。培養液は 10%の fetal bovine serum:FBS (EQUITECH-BIO. INC)と 100 U/ml の penicillin・streptomycin (SIGMA、USA)を溶解した Dulbecco's Modified