

った (56 vs 11%, $P < 0.05$)。

D. 考察

Ga-67 シンチグラムでの集積は、心サ症の活動性やステロイドの治療効果予測に有用であると報告される。しかし、心サ症に限った検討でも、Ga-67 の心臓への集積は必ずしも多くない。一方で、胸郭内リンパ節への Ga-67 の集積は非常に多い。サルコイドーシスが全身性疾患であり、しばしば各臓器病変の病勢と平行に動くとの報告を鑑みると、Ga-67 の再集積が胸郭内リンパ節のみに認められた場合も、心サ症の再燃を考慮し、心イベント発生を危惧する必要がある。

E. 結論

本研究は、ステロイド療法中の心サ症例の再燃を、Ga-67 の胸郭内リンパ節の再集積から判断した初めての研究である。ステロイド療法中の心サ症において胸郭内への Ga-67 再集積は、心病変の再燃をも示唆し、ステロイド療法をはじめとする免疫抑制療法を行う上でのガイド指標となりうる。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

G. 研究発表

石井俊輔、猪又孝元、和泉徹ら、Clinical Significance of Recurrence of Extracardiac Ga-67 Uptake in Cardiac Sarcoidosis During Steroid Therapy. 第 76 回日本循環器学会学術集会 (2012 年 3 月 18 日、福岡国際会議場)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

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

特発性心筋症に関する調査研究

—心臓移植後の急性および慢性拒絶に対して薬理的な plasminogen activator inhibitor-1
の抑制効果について—

研究分担者：磯部 光章（東京医科歯科大学 循環制御内科学）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来個別研究に加え、サブグループ研究班の設立に向けて、計画を進めた。具体的には、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の状況などを検討する予定である。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者及び家族に対するセミナーを開催した。

A. 研究目的

心臓移植後の患者の生命予後は移植片の急性拒絶および慢性拒絶により起る移植冠動脈病変 [graft arterial disease (GAD)] に影響を受けている。これらの拒絶には炎症と血栓形成が深く関わっている。Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 は炎症反応や血栓形成に大きな役割を持っている。PAI-1 は線溶系に関わっているセリンプロテアーゼの一つで、PAI-1 の上昇は心筋梗塞や動脈硬化などの心血管病の進展に関わっていると言われていいる。PAI-1 の上昇は心臓の移植片でも見られるが、まだ心臓移植についての詳しい役割はわかっていない。そこでマウスの心臓移植モデルに PAI-1 の阻害剤を投与することで移植後の拒絶に対してどのような影響があるかを検討した。

B. 研究方法

ドナーマウスの心臓をレシピエントマウスの腹部へ異所性の心臓移植を行った。急性拒絶モデル（フルアロミスマッチ）は BALB/cA マウスをドナー、C57BL/6 マウスをレシピエントとし、慢性拒絶モデル（MHC class II ミスマッチ）は BM12 マウスをドナー、C57BL/6 マウスをレシピエントとして作製した。選択的 PAI-1 阻害剤（IMD1622）

は移植後に1日2回腹腔内投与により与えた（10mg/kg/day）。移植片は腹部触診を行い、毎日心臓の拍動を確認した。急性拒絶では移植後7日目に移植片を摘出し、慢性拒絶では60日目に摘出した。

（倫理面への配慮）

大学規定の動物実験保護のガイドラインに沿って本研究を行った。

C. 研究結果

急性拒絶モデルは無治療においては移植後7日目に移植片の廃絶が起る。しかし PAI-1 阻害剤を投与するとその生着は延長することがわかった。また慢性拒絶では移植後60日目の心臓では心筋に重度な炎症性細胞の浸潤が見られ、冠動脈には新生内膜が形成され、内膜肥厚が起ることが確認出来るが、PAI-1 阻害剤を投与することによりそれらが抑制されることが確認出来た。免疫染色の結果では CD4, CD8, CD11b 陽性細胞の浸潤が無治療群で多く見られたが、PAI-1 阻害剤投与によりそれらは抑制出来た。また慢性拒絶後の移植片では MMP の活性、炎症性ケモカイン、サイトカインである MCP-1, MIP-1alpha, MIP-1beta, IP-10, IL-2, TNF-alpha, IFN-gamma の上昇が見られたが、PAI-1 阻害剤はそれらを抑制することがわ

かった。Th1 と Th2 サイトカインの比率を見てみると、無治療群では Th1 に傾いているが、PAI-1 を投与した移植片ではそのバランスが崩れていた。リンパ球混合試験においてアロ刺激によるリンパ球の増殖は PAI-1 阻害剤を投与すると抑えることが確認できた。

D. 考察

急性拒絶は炎症性サイトカインの上昇や炎症性細胞の浸潤が見られるのが特徴である。先の研究で PAI-1 の発現が他の炎症性サイトカインの発現を調整していることが報告された。PAI-1 と炎症との関わりについてはまだ議論されていることではあるが、PAI-1 阻害剤は心臓移植後の生着の延長が見られた。我々の結果では PAI-1 阻害剤は炎症性サイトカインの減少などが見られ PAI-1 阻害剤は抗炎症作用があることが確認出来た。

GAD の進展において PAI-1 遺伝子の多型がリスクファクターになることが報告され、GAD と PAI-1 の関わりがあることが示唆される。我々の結果では PAI-1 阻害剤は GAD の形成を抑制することが見られた。この結果は、PAI-1 は長期的な平滑筋細胞の増殖を誘導していると考えられる。内膜肥厚によって出来た新生内膜の多くは平滑筋細胞によって構成されているが、その特徴は中膜に存在する元々の平滑筋細胞とは大きく異なる。その新生内膜に存在する平滑筋にはケモカインの受容体が存在することが知られている。受容体への刺激は平滑筋細胞の分化や進展に関わることが知られている。PAI-1 阻害剤によるケモカインの抑制効果はこれらの経路を通して GAD の進展を抑制したと予想出来る。また以前の報告では薬理的な PAI-1 の阻害は p53 やカスパーゼ 3 の発現を上昇して線維芽細胞の増殖や活性を抑制することが知られている。我々の結果では慢性拒絶において象徴的な GAD の線維化の形成を PAI-1 阻害剤が抑制することが確認出来た。しかし PAI-1 と平滑筋細胞の増殖、線維化については逆の結果になることも報告されている。特に遺伝子改変動物を使用した際にこの様なことが起ることが多く、更なる調査が必要である。薬理的な PAI-1 の阻害は心臓移植に対して有効であるが、投与量や投与期間のなどまだ検討する余地がある。

E. 結論

PAI-1 阻害は炎症を抑制することにより移植後の急性およ

び慢性拒絶を抑制した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ogawa M, Suzuki J^{1*}, Yamaguchi Y, Muto S, Itai A, Hirata Y³, Isobe M², Nagai R⁴. 「The effects of pharmacologic plasminogen activator inhibitor-1 inhibition in acute and chronic rejection in murine cardiac allografts.」『Transplantation』91(1) pp21-6. 2011.

2. 学会発表

Suzuki J, Ogawa M, Hirata Y, Nagai R, Isobe M. 「The effect of pharmacological PAI-1 inhibition in acute and chronic rejection in murine cardiac allografts.」米国心臓病学会 (AHA), オーラルセッション, 11月 2009年, オーランド。

Ogawa M, Suzuki J, Isobe M. 「The Role of Plasminogen Activator Inhibitor-1 on the Prevention of Acute and Chronic Rejection in Murine Cardiac Allografts」世界移植学会, ポスターセッション, 8月 2010年, バンクーバ。

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性克服研究事業）
分担研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

—ミトコンドリア病における心筋症の研究—

研究分担者：後藤 雄一（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所）

研究要旨 ミトコンドリア DNA の 3243 変異は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。国立精神・神経医療研究センターでは全国からのミトコンドリア病の診断依頼を受け、1983 年～2003 年までですべてに 203 例の 3243 変異を有する例を経験している。これらの症例の診断時の臨床サマリーから心筋障害の頻度を算出した。その結果、すべての 3243 変異を有する症例においては、心筋症が 19%（38/203）、伝導障害が 12%（25/203）、MELAS 症例においては、心筋症が 22%（16/134）、伝導障害が 12%（6/134）という頻度であった。また、MELAS とは診断されていない非特異的ミトコンドリア病においては（49 例）、その約 1/3 で心筋症が存在し、MELAS の診断に脳卒中様症状が起きる前から心筋症で発症している症例がこの群に含まれている可能性が考えられた。

A. 研究目的

ミトコンドリア DNA 変異の m.3243A>G 変異は、ミトコンドリア病の点変異で最も頻度が高く、心筋症を含む種々の臨床症状との関連が知られている。3243 変異でおきる心筋症の特徴を調べるために、3243 変異を有する患者における心症状の頻度を筋生検時の臨床サマリーから調べた。

B. 研究方法

国立精神・神経医療研究センター神経研究所では、1983 年～2003 年 3 月までに診断依頼で骨格筋や血液が送られてきており、その中の 3243 変異を同定できた 203 例について、その当時の臨床サマリーにおける心臓の症状の記載のあった症例をまとめた。

C. 研究結果

3243 変異を有する例の 66%（134/203）は臨床的に MELAS または MELAS 疑いの症例であったが、その内、心筋症が 22%、伝導障害が 17%の症例で認められた。一方、MELAS 以外の臨床情報をもつ症例では比較的心筋症の頻度が高かった（33%）。全体として心筋症の頻度は 19%（38/203）、伝導障害の頻度は 12%（25/203）であった。

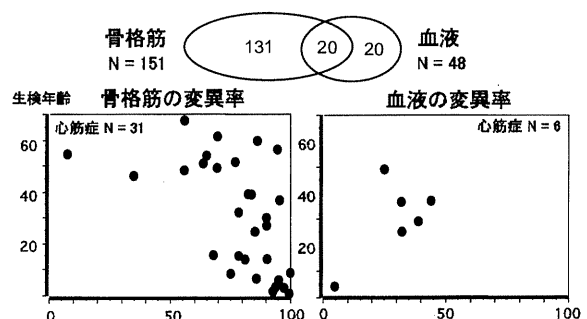
臨床病型と心筋障害

臨床病型	症例数	心筋症	伝導障害
MELAS	121	14 (12%)	14 (12%)
MELAS疑い※	13	6 (46%)	4 (31%)
MELAS+MELAS疑い	134	20 (15%)	18 (14%)
すべてのMELAS		(22%)	(17%)
非特異的ミトコンドリア病	49	16 (33%)	6 (12%)
CPEO	7	1	0
糖尿病/難聴	5	1	0
MERRF	4	0	0
Leigh脳症、その他	4	0	1
合計	203	38 (19%)	25 (12%)

※明らかな脳卒中はないが頭痛/嘔吐・遷延するけいれんのいずれかを呈した症例

また、骨格筋もしくは血液での 3243 変異率と心筋症 37 例との関係を調べたが、3243 変異率が高いほど心筋障害が出現しやすいという結果は得られなかった。年齢との関係もあきらかではなかった。

3243変異率の測定



D. 考察

3243 変異を有するミトコンドリア病患者では、診断時において、20%前後が心筋症を、15%前後が伝導障害を有していた。この比率は MELAS もしくは MELAS 疑いの症例においてもほぼ同様であったが、非特異的ミトコンドリア病と診断されている一群では、心筋症が 33%と高率であった。これは、非特異的ミトコンドリア病と診断されていた症例の中に少なからず MELAS の脳卒中様症状を発症する前の状態の患者が含まれていると予想される。

骨格筋もしくは血液での 3243 変異を調べられていた 37 例（筋 31 例、血液 6 例）と心筋症発症年齢と変異率を比較してみたが、変異率の高さと心筋障害発症の関係はあきらかではなかった。ただし、骨格筋の変異率が高いほど早く発症する傾向は幾分あるように見える。

E. 結論

ミトコンドリア DNA3243 変異による心筋障害症状の頻度を明らかにした。しかし、診断後の経過観察データがないことから、自然経過での心筋障害の発症頻度を明らかにする研究が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

後藤雄一. MELAS 症候群. 症候群ハンドブック、中山書店、東京、pp73-74, 2011

後藤雄一. ミトコンドリア病. 標準神経病学第 2 版、医学書院、東京、pp46-52, 2012

2. 学会発表

後藤雄一. ミトコンドリア病の基礎と臨床. 第 114 回日本小児科学会、東京、8.13, 2011

Yuichi Matsushima, Yu-ichi Goto, Laurie S. Kaguni. Protein Turnover in Regulation of Mitochondrial DNA Copy Number and Gene Expression. The eighth European Meeting on Mitochondrial Pathology, Zaragoza, Spain, 6.20-23, 2011

Ishiyama A, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto Y. Mitochondrial

Disease with unusual exocrine pancreatic manifestations. 5th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research-Asia, 8th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine, 11th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine, Kagoshima, Japan, Aug. 31-Sep.4, 2011

Goto M, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto Y. MELAS phenotype associated with the m.3302A>G mutation in the mitochondrial tRNA-Leu(UUR) gene. 5th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research-Asia, 8th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine, 11th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine, Kagoshima, Japan, Aug. 31-Sep.4, 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

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

特発性心筋症に関する調査研究

—糖尿病性心筋症におけるセリンプロテアーゼ Dipeptidylpeptidase4 の役割—

研究分担者：室原 豊明・坂東 泰子

（名古屋大学大学院医学系研究科 病態内科学講座 循環器内科学）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来個別研究に加え、サブグループ研究班の設立に向けて、計画を進めた。具体的には、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の状況などを検討する予定である。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者及び家族に対するセミナーを開催した。

A. 研究目的

【背景】セリンプロテアーゼの一つである Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4)阻害剤が急性心筋梗塞後の予後・心リモデリング改善作用を有することが報告されているが、慢性心不全における病態意義は不明である。

【目的】糖尿病誘発性拡張不全心における DPP4 の役割をモデル動物を用いて解析し、心不全患者検体におけるそのバイオマーカーとしての意義を明らかにする。

B. 研究方法

雄 10 週令 Wistar ラットをストレプトゾトシン誘発により 9 週間高血糖暴露した群 (DM-vehicle) および DPP4 阻害剤ビルダグリプチンを投与した群 (DM-Vilda) 同一週令の非糖尿病化コントロール群 (ctl) の計 3 群を作成し、各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、②in 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左心臓カテーテル及び心エコーによる心機能解析、さらに、⑤当施設の心不全患者データベースより、拡張不全を呈する患者計 30 例において、冠静脈洞血 (CS)・末梢静脈血 (PV)・冠動脈血 (CA) における DPP4 活性変化を測定すると

もに、各種心不全指標との相関を解析した。

(倫理面への配慮)

インフォームド・コンセントについては書面にて検体採取および解析に関する説明書・同意を得る。患者より取得した説明書・同意書は 2 部作成し、1 部は患者控えとして患者自身にお渡しし、そのコピーにあたるもう 1 部は紙のままファイルに整理しすべて施錠可能なキャビネットに保管する。個人情報連結可能匿名化で保存し、研究目的以外に患者データは使用しない。患者に割り付けた連結用 ID と相関データはすべて電子化エクセルファイルに連結表を作成し、パスワードロック機能を有するハードディスク内に保存する。ハードディスクは施錠可能なキャビネットに保管する。研究途中での同意の撤回はいつでも自由に行えるものとする。また同意撤回した場合は当該患者検体がもし保管されていた場合はそれを廃棄処分とする。研究結果の分析結果（個人の検査結果等）は個人が同定されないよう十分に配慮した上で国内外学会や論文発表を行う。

C. 研究結果

DM-vehicle 群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-Vilda 群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-vehicle 群では in situ および in vitro 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た。DM-vehicle 群心筋では、ctl 群と比し、心筋 SDF-1 α 含有量が有意に低下していたが、DM-Vilda 群では心筋 SDF-1 α 含有量には差はなかった。左心臓カテーテル及び心エコーによる心機能解析により、DM-vehicle 群で認められた拡張機能障害は、DM-Vilda 群において改善していた。拡張不全患者の CS 血 DPP4 活性は PV 血 DPP4 活性と強い相関を有した [R=0.532 (P=0.003)]。一方 CA 血における DPP4 活性には相関は認められなかった。糖尿病の合併は、CS 血 PV 血中の DPP4 活性を増加し、これら指標は、心拡張能の指標である E/e' と正の相関を示した [R=0.386 (P=0.04)]。

D. 考察

心不全には、従来知られていた収縮能の低下した収縮不全性心不全 (HFREF) 以外に、収縮能は保たれているが拡張能の異常を介した拡張不全性心不全 (HFPEF) と呼ばれる病態が、心不全全体の 50% 以上に存在することが知られ、注目を集めている。しかし、その診断に有用な特異的バイオマーカーや治療薬は未だ不明であった。拡張不全心について、その発症メカニズムの一端には、血管抵抗亢進をきたすような基礎疾患の存在 (高血圧、糖尿病、腎不全、貧血、など) が指摘されており、これらのことから、本研究は、特に糖尿病に着目し、ラット糖尿病性拡張不全モデルを用いた前臨床試験を行い、本成果を論文投稿中である (Circulation, in revision)。

E. 結論

本研究から、高血糖状態は DPP4 活性を亢進させ、心臓での SDF-1 α 分解を介して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、末梢静脈血 DPP4 は拡張機能障害のマーカーとなりうる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1: Cheng XW, Shi GP, Kuzuya M, Sasaki T, Okumura K, **Murohara T**. Role for cysteine protease cathepsins in heart disease: focus on biology and mechanisms with clinical implication. *Circulation*. 2012 Mar 27;125(12):1551-62.
- 2: Uchida Y, Takeshita K, Yamamoto K, Kikuchi R, Nakayama T, Nomura M, Cheng XW, Egashira K, Matsushita T, Nakamura H, **Murohara T**. Stress Augments Insulin Resistance and Prothrombotic State: Role of Visceral Adipose-Derived Monocyte Chemoattractant Protein-1. *Diabetes*. 2012 Mar 6. in press.
- 3: Muramatsu T, Matsushita K, Yamashita K, Kondo T, Maeda K, Shintani S, Ichimiya S, Ohno M, Sone T, Ikeda N, Watarai M, **Murohara T**; NAGOYA HEART Study Investigators. Comparison between valsartan and amlodipine regarding cardiovascular morbidity and mortality in hypertensive patients with glucose intolerance: NAGOYA HEART Study. *Hypertension*. 2012 Mar;59(3):580-6.

2. 学会発表

- 1) Yasuko K Bando, Toshimasa Shigeta, Morihiko Aoyama, **Toyoaki Murohara**. Therapeutic And Diagnostic Significances of Dipeptidyl-peptidase 4 in Diabetic Cardiomyopathy. シンポジウム 18 糖尿病における心血管病の特徴と対策 第 76 回日本循環器学会総会 (福岡) 平成 24 年 3 月 17 日
- 2) Toshimasa Shigeta, Yasuko K Bando, Morihiko Aoyama, **Toyoaki Murohara**. A DPP4 inhibitor Reverses Diastolic LV Dysfunction Through DPP4/SDF1 Axis in Diabetic Heart Independently of Glycemic Control. 第 76 回日本循環器学会総会 (福岡) 平成 24 年 3 月 17 日

3) Toko Mitsui, Yasuko K Bando, Toshimasa Shigeta,
Morihiko Aoyama, Toyoaki Murohara. A DPP4 activity
of HFPEF patients positively correlated with that in the
peripheral circulation and rose in complicated diabetes
第76回日本循環器学会総会（福岡）平成24年3月16日

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特記事項なし

2. 実用新案登録

特記事項なし

3. その他

特記事項なし

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

特発性心筋症に関する調査研究

—肥大型心筋症の心筋線維化検出における心臓 MRI と心筋生検の診断精度比較に関する研究—

研究分担者：山岸 正和（金沢大学 循環器内科）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来の個別研究に加え、サブグループ研究班の設立に向けて、計画を進めた。具体的には、心臓 MRI 検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の状況などを検討する予定である。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者及び家族に対するセミナーを開催した。

A. 研究目的

心筋線維化は肥大型心筋症における主要な組織学的異常所見であり、心不全や心室性不整脈の発症に関与することが知られている。このため、心筋線維化の検出は肥大型心筋症患者のリスク層別化において重要である。心筋線維化の検出法として、従来は心筋生検以外には検査法が存在しなかったが、近年、ガドリニウム造影心臓 MRI による非侵襲的検出法が開発され日常臨床の場に普及しつつある。しかしながら、これまで肥大型心筋症における心筋線維化の検出において、心臓 MRI と心筋生検の診断精度を直接比較した研究は見受けられない。

本研究の目的は、心臓 MRI および心筋生検の両検査を施行された肥大型心筋症患者を対象として、心臓 MRI と心筋生検の心筋線維化に関する検出精度を比較することである。

B. 研究方法

金沢大学附属病院において心臓 MRI および心筋生検の両検査を施行された 21 名の肥大型心筋症患者を対象とした。心臓 MRI による遅延造影部位を心筋線維化と判定し、コンピューターソフトウェア (Image J) を用いて定性および定量を行った。心筋生検標本においては、Azan 染色により青色に染色される部位を心筋線維化と判定し、その性状により線維瘢痕または間質線維化に分類した。線維化

面積は Image J ソフトウェアを用いて定量化を行った。定性および定量化されたデータを用いて、心筋線維化に関する心臓 MRI と心筋生検の検出精度を比較した。また、定量化された心筋線維化面積がどのような臨床指標と相関するかについても検討を行った。臨床指標として、年齢、性別、心エコー所見（左室最大壁厚・左室拡張末期径・左室駆出率・ E/A ・ E/e' ）を用いた。

（倫理面への配慮）

本後ろ向き観察研究は、金沢大学医学倫理審査委員会により承認されている。

C. 研究結果

心筋生検で検出された線維瘢痕は、感度 35%・特異度 100%の診断精度で心臓 MRI により検出された左室全体の線維瘢痕を診断可能であった。一方、心筋生検で検出された間質線維化は、感度 88%・特異度 59%の診断精度で心臓 MRI により検出された左室全体の線維瘢痕を診断可能であった。

心筋生検標本における定量化された線維化面積は、左室拡張指標 (E/e') との間に相関が認められた。一方、心臓 MRI における定量化された線維化面積は、左室拡張指標 (E/e') および収縮指標 (LVEF) との間に相関が認められた。

D. 考察

心筋生検で検出された線維癒痕は、高い特異度で左室全体の線維癒痕を診断可能であったが、感度は不良であった。すなわち、心筋生検による線維癒痕の有無のみで左室全体の線維癒痕の診断を行うと、多くの偽陰性を生じると考えられる。一方、心筋生検で検出された間質線維化は、高い感度で左室全体の線維癒痕を診断可能であったが、特異度は不良であった。つまり、心筋生検による間質線維化の有無のみで左室全体の線維癒痕の診断を行うと、多くの偽陽性を生じると考えられる。更に、心筋生検標本において定量された心筋線維化面積と心臓 MRI において定量された心筋線維化面積は、心機能に対して各々異なる相関を示した。このように、心筋線維化の検出に関する心筋生検と心臓 MRI の診断精度の差異を理解することは、肥大型心筋症患者のリスク層別化、更には心機能障害の病態把握において有用であると考えられた。

E. 結論

心筋生検と心臓 MRI は肥大型心筋症患者における心筋線維化検出に関して異なる診断精度を示すため、心筋線維化の判定において注意が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

[1] Demura M, Wang F, Yoneda T, Karashima S, Mori S, Oe M, Kometani M, Sawamura T, Cheng Y, Maeda Y, Namiki M, Ino H, Fujino N, Uchiyama K, Tsubokawa T, Yamagishi M, Nakamura Y, Ono K, Sasano H, Demura Y, Takeda Y. Multiple noncoding exons 1 of nuclear receptors NR4A family (nerve growth factor-induced clone B, Nur-related factor 1 and neuron-derived orphan receptor 1) and NR5A1 (steroidogenic factor 1) in human cardiovascular and adrenal tissues. *J Hypertens*. 2011;29(6):1185-95.

[2] Nakanishi C, Nagaya N, Ohnishi S, Yamahara K, Takabatake S, Konno T, Hayashi K, Kawashiri MA, Tsubokawa T, Yamagishi M. Gene and protein expression analysis of mesenchymal stem cells derived

from rat adipose tissue and bone marrow. *Circ J*. 2011;75(9):2260-8.

[3] Mori M, Kanzaki H, Amaki M, Ohara T, Hasegawa T, Takahama H, Hashimura K, Konno T, Hayashi K, Yamagishi M, Kitakaze M. Impact of reduced left atrial functions on diagnosis of paroxysmal atrial fibrillation: results from analysis of time-left atrial volume curve determined by two-dimensional speckle tracking. *J Cardiol*. 2011;57(1):89-94.

2. 学会発表

[1] Tetsuo Konno, Kenshi Hayashi, Toshinari Tsubokawa, Eiichi Masuta, Katsuharu Uchiyama, Noboru Fujino, Masakazu Yamagishi. Diagnostic Values of Myocardial Biopsy for Predicting Fibrotic Involvement of the Whole Hypertrophic Cardiomyopathy Heart in the Era of Cardiac Magnetic Resonance Imaging. 84th Annual Scientific Session of American Heart Association, Nov 12-16, 2011(Orlando, USA)

[2] Noboru Fujino, Tetsuo Konno, Kenshi Hayashi, Katsuharu Uchiyama, Kenji Sakata, Takashi Fujita, Toyonobu Tsuda, Yoji Nagata, Hidekazu Ino, Masakazu Yamagishi. Impact of Genetic Analysis on the mode of Death in Genotyped Hypertrophic Cardiomyopathy. 84th Annual Scientific Session of American Heart Association, Nov 12-16, 2011(Orlando, USA)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特記すべきことなし。

2. 実用新案登録

特記すべきことなし。

3. その他

特記すべきことなし。

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

特発性心筋症に関する調査研究

—代謝異常に着目した新しい特発性心筋症の診断・治療法の開発—
研究分担者：木村 剛（京都大学大学院医学研究科 循環器内科学）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来個別研究に加え、サブグループ研究班の設立に向けて、計画を進めた。具体的には、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の状況などを検討する予定である。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者及び家族に対するセミナーを開催した。

A. 研究目的

特発性心筋症患者の多くにおいて心臓のポンプ機能が低下し心不全に陥る。また、心不全の程度は特発性心筋症患者の重症度を規定する大切な因子の1つである。

心不全は加齢に伴い指数関数的に増加する典型的な加齢関連疾患であり、今後その絶対数の増加が予想される。心不全の発症には心臓のみならず神経系、骨格筋、呼吸器、腎臓、肝臓や脂肪組織などの代謝臓器、などの非心臓組織が重要な役割を果たすと推定されている。心不全は多臓器疾患であり、それゆえ加齢に伴い多臓器の機能が低下するに伴い、指数関数的に増加すると考えられる。しかし、心臓のポンプ機能の低下に非心臓組織がどのように関与するか？、また逆に、心臓のポンプ機能の低下がどのように非心臓組織の異常を引き起こすか？、については十分な検討がない。

B. 研究方法

心不全に伴い悪液質や全身のインスリン抵抗性など全身の代謝異常も引き起こされる。これらの代謝異常は心不全の予後と密接に相関することが知られているが、心不全の病態進展における意義は明かでない。そこで、我々は、遺伝的に均一な心不全モデルラット（ダール食塩感受性ラット）を用い心肥大から心不全への移行において全身および

肝臓の代謝の変化を解析した。

（倫理面への配慮）

実験は京都大学動物実験施設の倫理委員会の許可を得て行われた。

C. 研究結果

ダール食塩感受性ラットでは、摂食量の減少と体重増加不良がみられ、全身の栄養状態指標である RTP（Rapid turn-over protein）の減少、血漿炎症性サイトカインを伴っていた。よって、本モデルは心臓悪液質モデルと使用しうることが分かった。

我々は心臓悪液質のメカニズムの解明するため、全身の同化と異化を調節する要である肝臓の代謝を解析した。心不全の進展に伴い食餌摂取量は低下し、血糖と血中インスリンは減少しており飢餓状態にあると考えられた。飢餓状態にも関わらず、遊離脂肪酸は減少しており、トリグリセリド値は上昇していた。心不全期において、肝臓への糖の取り込みは増加しており、メタボローム解析にて定量した解糖系の中間代謝産物の増加を伴っていた。糖新生に関する遺伝子発現は低下していたので取り込まれた糖は解糖系に流れていると推測された。対照的に、脂質合成に関する遺伝子発現は上昇しており、肝臓内のトリグリセリドは上

昇していた。

D. 考察

本来、飢餓状態では、肝臓はトリグリセリドを分解し糖新生を行い、産生された糖を血中に放出し脳、骨格筋、心臓へ供給するのが生理的な役割であることを考えると、心不全における肝臓代謝異常は心不全の悪化因子であると考えられた。

E. 結論

①小動物心不全モデルが心臓悪液質モデルとして使用できることが分かった。②小動物心不全モデルにおいて包括的に肝臓エネルギー代謝を計測した。③心不全の治療標的として肝臓を含む全身の代謝異常が標的となる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kawashima T, Inuzuka Y, Okuda J, Kato T, Niizuma S, Tamaki Y, Iwanaga Y, Kawamoto A, Narazaki M, Matsuda T, Adachi S, Takemura G, Kita T, Kimura T, Shioi T. Constitutive SIRT1 overexpression impairs mitochondria and reduces cardiac function in mice. *J Mol Cell Cardiol.*, 51, 1026-1036, 2011.

Kato T, Niizuma S, Inuzuka Y, Kawashima T, Okuda J, Kawamoto A, Tamaki Y, Iwanaga Y, Soga T, Kita T, Kimura T, Shioi T. Analysis of liver metabolism in a rat model of heart failure. *Int J Cardiol.* in press.

2. 学会発表

Kato T, Shioi T, Niizuma S, Kawashima T, Okuda J, Kawamoto A, Tamaki Y, Iwanaga Y, Soga T, Kita T, Kimura T. Cardiac cachexia is associated with abnormal liver metabolism and pro-inflammatory responses in a rat model of heart failure. The 83th Scientific Sessions of American Heart Association, November 12-16, 2011, Orland, USA.

Kawamoto A, Shioi T, Kato T, Niizuma S, Kawashima T, Okuda J, Tanada Y, Tamaki Y, Kimura T. Tc-99m sestamibi is a useful noninvasive method to assess cardiac mitochondrial function in vivo. The 83th Scientific Sessions of American Heart Association, November 12-16, 2011, Orland, USA.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

特発性心筋症に関する調査研究

一拡張不全（HFpEF）の病因・病態と治療法に関する研究；HFpEFにおけるカルニチンの役割—
研究分担者：小室 一成（大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学）

研究要旨 左室駆出率が保持されている拡張不全（Heart Failure with Preserved Ejection Fraction; HFpEF）は、左室駆出率が低下している収縮不全と同様に予後が不良であるが、現在までHFpEFに対する有効な治療法はなく、HFpEFの病因・病態解明と治療法開発が急務である。本研究では、HFpEFの病因・病態に関連する因子の同定を明らかにすべくHFpEFモデルラットである高食塩食投与 Dahl 食塩感受性ラット血漿を用いた網羅的解析（メタボローム解析）を行い、遊離カルニチン濃度低下を明らかにした。また、遊離カルニチンはHFpEF患者血中でも低下を認めた。L-カルニチンをHFpEFモデルラットに投与することにより、左室中・血中遊離カルニチン濃度は回復し、心線維化抑制・HFpEF発症抑制・生存率改善を認めた。さらに、L-カルニチンによる心線維化抑制の機序に関して詳細な解析を行った。この研究の推進のもと、HFpEFに対する新たな治療法の具現化に向けて進める。

A. 研究目的

心不全患者は我が国に200万人以上存在すると推定される。心不全はわが国を含む先進国の主要な死因であり、また、患者の生活の質を低下させている。その中でも、左心室が拡大せず左室駆出率も保持されている拡張不全（HFpEF）は、心不全全体の40%を占め、左室駆出率が低下している収縮不全と同様に予後不良であることが分かっている。HFpEFに対する有効な治療方法が全く確立していないことが予後不良の原因の一つと考えられ、過去20年間にHFpEFの生命予後は改善していない。また、HFpEFは高齢者、女性に多いため、心不全全体に占める患者の割合は先進国で年々増加しており、この病態に対する治療法の確立が急務である。そこで本研究では、HFpEFモデルラットである高食塩食投与 Dahl 食塩感受性ラット・新生児ラット由来培養心線維芽細胞・HFpEF患者血液サンプルを用いて、HFpEFが発症する機序を明らかにし、新たなHFpEFの治療法を開発することをその目的とした。

B. 研究方法

我々は、HFpEFモデルラットである高食塩食投与 Dahl 食塩感受性ラットを用いて、キャピラリー電気泳動-飛行時間型-質量分析計法による血漿中代謝物質の網羅的解析（メタボローム解析）を行い、HFpEF発症に関わる可能性がある物質をスクリーニングした。また、このメタボロ

ーム解析から得られた物質が、HFpEFに対する治療介入のターゲットになりうるか否かを、HFpEFモデルラットと新生児ラット由来培養心線維芽細胞を用いて確認した。さらに、その物質のHFpEF患者における血中濃度を評価し、HFpEF患者における関与の可能性についても検討した。

C. 研究結果

HFpEFモデルラットの血漿中代謝物質のメタボローム解析から、HFpEFモデルラットにおける遊離カルニチン濃度低下を見出した。さらに、遊離カルニチンはHFpEFモデルラット左室中及びHFpEF患者血中においても低下していることを確認した。また、HFpEFモデルラットでは、カルニチントランスポーターである organic cation/carnitine transporter 2 (OCTN2) の腎臓での発現低下に伴う尿中カルニチン排泄亢進と、左室OCTN2発現低下を認め、血中・左室中の遊離カルニチン濃度低下の機序であると考えられた。

HFpEFモデルラットにおける遊離カルニチン濃度低下を回復させる目的で、HFpEFモデルラットへのL-カルニチン投与を行った。HFpEFモデルラットへのL-カルニチン投与により、うっ血性心不全発症抑制と生存率改善を認めた。また、L-カルニチン投与による左室カルニチン濃度の回復に伴い、左室線維化及び心筋スティフネス増大の抑制を認め、心不全発症抑制と生存率改善の機序であると考えられ

た。

培養心線維芽細胞において、L-カルニチン投与は、アンジオテンシン II によるコラーゲン産生亢進を抑制し、HFpEF モデルラットで認めたL-カルニチンによる心線維化抑制効果が *in vitro* でも確認された。

HFpEF モデルラット左室および培養心線維芽細胞において、L-カルニチン投与は心線維化抑制作用を有するプロスタサイクリンの産生を増加させた。また、HFpEF モデルラット左室および培養心線維芽細胞において、L-カルニチン投与によって、プロスタサイクリンの前駆体であるアラキドン酸の増加と、アラキドン酸産生律速酵素である fatty acid desaturase (FADS) 1/2 発現増加を認めた。培養心線維芽細胞では、FADS 1 または FADS2 の siRNA を用いたノックダウンによって、L-カルニチン投与によるアラキドン酸とプロスタサイクリンの産生増加を認めなくなった。したがって、L-カルニチンは FADS 1/2 発現を増加させることにより、アラキドン酸さらにはプロスタサイクリン産生を増加させ、心線維化を抑制すると考えられた。

D. 考察

今回の検討により、HFpEF モデルラットのみならず HFpEF 患者においても血中遊離カルニチン濃度の低下が見出され、ヒトにおいても遊離カルニチン濃度低下が HFpEF 発症に寄与している可能性が示唆された。

さらに HFpEF モデルラットにおいては、L-カルニチン投与で血中・左室中遊離カルニチン濃度を回復させることによって、HFpEF 発症を抑制し、生存率を改善することが見出され、HFpEF 治療として有用であると考えられた。また、L-カルニチンは、FADS 1/2 発現増加を介するアラキドン酸産生増加さらにはプロスタサイクリン産生増加を介する心線維化抑制により、HFpEF 発症抑制効果を発揮するものと考えられた。

E. 結論

遊離カルニチン濃度低下は HFpEF 発症の一因となりうると考えられ、また L-カルニチン投与による遊離カルニチン補充療法は HFpEF 治療戦略の有望な選択肢の一つになりうると思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(学会発表)

1. Omori Y, Komuro I et al. L-carnitine Supplementation Attenuates Cardiac Fibrosis and Prevents Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in Dahl Salt-sensitive Rats. 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会. 2011 年, 横浜.
2. Omori Y, Komuro I et al. L-carnitine Prevents Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in Associated with Attenuation of Cardiac Fibrosis. AHA Scientific Sessions 2011. 2011 年, Orlando.
3. Omori Y, Komuro I et al. L-carnitine Supplementation Prevents Cardiac Fibrosis and Heart Failure with Preserved Ejection Fraction by Promoting Cardiac Prostacyclin Production. 第 28 回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会. 2011 年, 東京.

(論文発表)

1. Omori Y, Komuro I et al. L-Carnitine Prevents the Development of Ventricular Fibrosis and Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in Hypertensive Heart Disease. 現在投稿中.

H. 知的財産権の出願・登録状況

国際特許出願中

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

特発性心筋症に関する調査研究

—特発性心筋症に対する機能代替法としての補助人工心臓・心臓移植に関する研究—

研究分担者：中谷 武嗣（国立循環器病研究センター 移植部）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来個別研究に加え、サブグループ研究班の設立に向けて、計画を進めた。具体的には、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の状況などを検討する予定である。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者及び家族に対するセミナーを開催した。

A. 研究目的

心不全に対する各種治療法の進歩により、その治療成績は向上してきたが、高度心筋障害を伴う心不全では心臓ポンプ機能の代替が必要であり、補助人工心臓（VAS）や心臓移植が考慮される。しかし、我が国の心臓移植ドナーの不足は深刻であり、心臓移植待機患者の多くが左心補助人工心臓（LVAS）装着下に長期間待機を必要としている。このような長期補助例における死亡原因の一つとして感染症がある。そこで、今回 LVAS 長期補助患者の生存に対する菌血症の予後規定因子を検討した。

B. 研究方法

対象は心移植へのブリッジとして当センターにおいて1999 - 2010年にLVASを装着した109例で、装着時年齢は34±13歳、LVAS補助期間は584±389日（17-1703日）であった。また、体外設置型が97例（全例ニプロ製）、各種植込み型が12例（Novacor:4, EVAHEART:3, HeartMate-VE:3, Jarvik2000:1, HeartMate-2:1）であった。

C. 研究結果

65例（60%）で菌血症を認めた。菌血症発症患者の予後は発症しなかった患者に比して不良であった（死亡率:48% vs 18%）。また、グラム陽性菌以外を検出した例の累積生存率はグラム陽性菌のみを検出した群より累積生存率は有意

に不良であった。しかし、菌血症発症例において心臓移植に至った18例における1年生存率は100%であった。Cox hazard modelによる多変量解析では装着術後の右心不全、グラム陽性菌以外の菌血症が有意な危険因子であった。

D. 考察

LVAS装着患者における感染は予後不良因子であり、その管理に難渋することが多い。菌血症を認める症例に対し、嚴重な抗菌剤治療およびLVAS挿入部に対する慎重なケアを行ない、局所感染状態で管理し、心臓移植実施時にLVAS除去に加え、体網充填術を施行することにより、心臓移植術後に敗血症を発症せずに管理することが可能となる。しかし、長期に亘って管理することは困難であり、今回示すようにこのような症例に対し心臓移植を実施した場合の成績は良好であり、早期に移植実施を行うことも検討すべきと思われる。

E. 結論

LVASによる長期補助例において、菌血症発症患者の予後は不良であったが、心移植施行に至った症例の予後は良好であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1)中谷武嗣： 補助人工心臓と心臓移植。日本臨床（増刊号） 冠動脈疾患 下 69(9): 434-440, 2011
- 2)中谷武嗣、藤田知之： 心臓移植。医学のあゆみ 237(5)： 397-403, 2011
- 3)中谷武嗣： 心臓移植の現状と展望。内科 108(1): 91-94, 2011
- 4)中谷武嗣、戸田宏一、築瀬正伸、藤田知之、小林順二郎、瀬口理、村田欣洋、佐藤琢磨、角南春樹、堀由美子、長岡紀江、和田恭一、植田初江、宮田茂樹、内藤博昭：改正臓器移植法下における心臓移植実施の現状と問題点。移植 46:457-464,2011.
- 5)Horibe A, Matzno S, Matsuyama K, Kurosawa N, Nakakura I, Yamashita D, Wada K, Okada H, Kohara N and Nakatani T: Evaluation of higher clearance of serum vancomycin (VCM) after treatment of dilated cardiomyopathy with left ventricular assist system (LVAS) together with carperitide. 日本 TDM 学会誌 28(1): 7-13, 2011.
- 6)Ochi H, Wada K, Okada H, Kohara N, Fujita T, Toda K, Sakamoto M, Seguchi O, Murata Y, Yanase M and Nakatani T: The persistence of drug-induced fever by teicoplanin – a case report. Int. J Clin Pharmacol Ther. 49 :339-343, 2011.
- 7)Toda K, Fujita T, Domae K, Shimahara Y, Kobayashi J, Nakatani T.: Late aortic insufficiency related to poor prognosis during left ventricular assist device support. Ann Thorac Surg 92: 929-934, 2011.

2. 学会発表

- 1)Murata Y, Shishio T, Seguchi O, Yanase M, Fujita T, Toda K, Uemura K, Sugimachi, M and Nakatani T. :Novel Auantification of right ventriruclar pum@ function to estimate and feasibility of weaning from inotropic support after Implantation of left ventirucular assist system. ISHLT 31st Annual Meeting and Scientific Sessions 2011.4.13-16, 2011, San Diego, U.S.A.
- 2)Nishinaka T, Yamazaki K, Saito S, Tukai H, Nakatani T, Kobayashi J, Matsumiya G, Sawa Y, Nishimura T, Ono M, Kyo S, Kitamura S. Long-term durable implantable centrifugal blood pump:EVAHEART left ventricular assist system. ISHLT 31st Annual Meeting

and Scientific Sessions, 2011.4.13-16, 2011, San Diego, U.S.A.

- 3)Nakatani T: Current status of Japanese registry for mechanically assisted circulatory support(J-MACS), 2011 Gordon Research Conference on Assisted Circulation, Waterville, U.S.A., 2011.6.12-17.
- 4)Sato T, Yanase M, Murata Y, Seguachi O, Sunami H, Matsuyama T, Ikeda Y, Ishibashi-Ueda H, Nakatani T. C4d deposition of capillary endothelium, as a marker of antibody mediated rejection. 12th Congress of the Asian Society of Transplantation, Seoul, Korea, 2011.9.25-28.
- 5)Wada K, Takada M, Ochi H, Okada H, Kohara N, Shishido T, Murata Y, Seguchi O, Yanase M, Nakatani T. Circadian pharmacokinetics of everolimus in Japanese heart transplant recipients. 12th Congress of the Asian Society of Transplantation, Seoul, Korea, 2011.9.25-28.
- 6)中谷武嗣： Present status and future trend of ventricular assist systema and heart transplantation., フォーカスセッション、第75回日本循環器学会学術集会、横浜、2011.8.3-4.
- 7)中谷武嗣、戸田宏一、築瀬正伸、藤田知之、瀬口理、村田欣洋、堀由美子、長岡紀江、和田恭一、植田初江、内藤博昭：改正臓器移植法下における心臓移植実施の現状と問題点。第47回日本移植学会総会、シンポジウム、東京、2011.10.4-6. 10.5
- 8)中谷武嗣：左心補助人工心臓および心臓移植による重症心不全治療。第15回日本心不全学会学術集会、シンポジウム、鹿児島、2011.10.13-15 10.15
- 9)築瀬正伸、長岡紀江、堀由美子、佐藤琢真、角南春樹、村田欣洋、瀬口理、藤田知之、戸田宏一、中谷武嗣：国立循環器病研究センターの経験から改正臓器移植法案施行後の心臓移植を考える。第30回日本心臓移植研究会、シンポジウム、鹿児島、2011.10.14
- 10)中谷武嗣、戸田宏一、藤田知之、小林順二郎、村田欣洋、瀬口理、築瀬正伸、佐瀬一洋、押山広明：植込型補助人工心臓「今後の展開」。第49回日本人工臓器学会大会、シンポジウム、東京、2011.11.25-27.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他

本研究の協力者

築瀬正伸 国立循環器病研究センター 移植部

戸田宏一 国立循環器病研究センター 心臓血管外科

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

特発性心筋症に関する調査研究

—奈良医大でのたこつぼ心筋症のまとめ—

研究分担者：斎藤 能彦（奈良県立医科大学 第1内科）

研究要旨

本研究は、特発性心筋症のなかで、高齢女性に好発する、急性発症の原因不明の心筋症であるたこつぼ心筋症の特徴をまとめ、その成因を解明しようとするものである。

奈良医大に 1999 年から 2007 年に入院されたたこつぼ心筋症 18 例を対象にした。過去の報告に一致して男性は 1 例のみで、年齢は平均 75 歳、全員に誘因となる精神的ストレスが確認された。血清ノルアドレナリン濃度は有意に上昇しており、左室駆出率との間に有意の負の相関($r = -0.84, p = 0.036$)が認められた。CK は軽度上昇する例が多く平均 $424 \pm 446 \text{IU/L}$ であった。急性期に心筋生検がなされた 8 例では contraction bands が 4 例(50%)に認められたが、心筋の大小不同、心筋の変性、配列の乱れは軽度であった。

A. 研究目的

たこつぼ心筋症は、わが国で疾患概念が最初に提唱された疾患であり、高齢女性に好発し、精神的ストレスに続発して急激に発症し、左室心基部が過収縮するのに対してそれ以外の部位は高度の壁運動低下を来し、その形態が「たこつぼ」に似ていることからこの命名となっている。しかし、疾病の本態は精神的ストレスが関与していること以外、詳細は解明されていない。今回の東日本大震災後にも本疾病の増加が報告されているが、突然死との関連も示唆されているが、急性期を乗り切った症例の予後は総じて良好であり、その為に組織学的検討は比較的遅れている。

我々は、たこつぼ型心筋症の発症機序を解明する目的で当院に入院した症例を対象に臨床的特徴をまとめさらに急性期に心筋生検が施行された 8 例に関しては組織学的な検討を加えた。

B. 研究方法

急性期に採血し、血中 BNP 濃度、血中カテコラミン濃度、血清 CK 濃度を測定すると共に心筋生検を行った。

(倫理面への配慮)

基本的に実施している検査は全て保険診療内の検査である。ひと臨床研究としてはヘルシンキ宣言に則り、3 省合同の指針に従い心筋生検に関しては本人および家族より

書面で承諾書をいただき、その組織の取り扱い（すでにあるいは今後調べるよていの遺伝子等）に関しては本学の倫理委員会で承認をえている。

C. 研究結果

18 例の入院時の臨床的特徴は表 1 にまとめたとおりであり、全員で発症の誘因と考えられる精神的ストレスが認められた。過去の報告通り高齢女性が 94% であった。急性期に心不全を呈した症例が多いが、前例回復し急性期死亡例は皆無であった。

表 1. たこつぼ症例の特徴

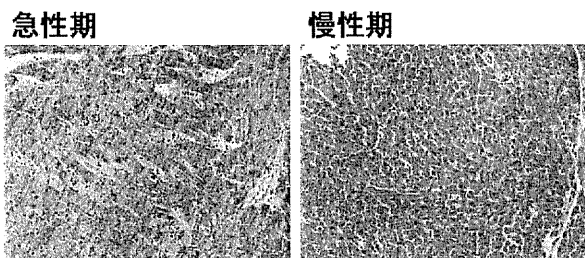
症例数 n	18
女性, n (%)	17 (94)
年齢, yo (SD)	75(2)
身長, cm(SD)	152(2)
体重, kg(SD)	53(4)
SBP mmHg (SD)	129(7)
DBP mmHg (SD)	77(4)
LVEF % (SD)	53(4)
BNP pg/ml(SD)	538(145)
max CK, IU/L (SD)	424(446)

入院後の CK は軽度上昇し平均 424IU/L まで上昇した。血清カテコラミン値の有意な上昇と、血清ノルアドレナリン値と心機能との間に有意な負の相関関係($r = -0.84, p = 0.036$)が認められた (図 1)。心筋生検の病理学所見は、

contraction bands が4例(50%)に認められたが、心筋の大小不同、心筋の変性、配列の乱れは軽度であった。

contraction bands を認めた症例でも症細胞浸潤や間質の線維化の程度は非常に軽度であり、可逆的な組織学的変化であると考えられた。たこつぼ型心筋症の予後は一般に良好とされているが、経過後心機能の改善の遅延した1例において再度心筋生検を施行したが、その時の心筋組織所見はほぼ正常に復していた(図2)。

図2.



HE 染色

D. 考察

今回の検討で、たこつぼ型心筋症はこれまでの報告通り、高齢者女性に好発し、比較的予後良好の疾患であった。CKは軽度上昇する症例が多く、軽度の心筋梗塞との鑑別がより困難な症例も含まれることが分かった。急性期のカテコラミンの上昇と心機能の低下との間に有意の逆相関が認められ、カテコラミンの過剰な上昇が心筋の収縮障害と関与していることが示唆された。急性期の心筋生検所見では、炎症細胞浸潤や線維化はわずかであり約半数にcontraction band necrosisが認められた。カテコラミンの上昇からCa²⁺の過負荷、さらにはcontraction band necrosisに繋がる経路が想像され今後はCa²⁺ハンドリングに関与する分子の解析が必要である。

E. 結論

たこつぼ型心筋症18例の臨床的特徴と組織学的則片を検討した。Contraction band necrosisが半数に認められ今後この成立機序を分子的に解析する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Asai O, Nakatani K, Tanaka T, Sakan H, Imura A, Yoshimoto S, Samejima KI, Yamaguchi Y, Matsui M, Akai Y, Konishi N, Iwano M, Nabeshima Y, Saito Y.

Decreased renal α -Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion.

Kidney Int. 2012 Jan 4. [Epub ahead of print]

Saito Y, Kishimoto I, Nakao K.

Roles of guanylyl cyclase-A signaling in the cardiovascular system.

Can J Physiol Pharmacol. 89:551-556, 2011.

Saito Y.

Roles of atrial natriuretic peptide and its therapeutic use.

J Cardiol. 56:262-70, 2010. Epub 2010 Sep 29. Review.

2. 学会発表

該当の発表なし。

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

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

特発性心筋症に関する調査研究

—Ryanodine Receptor Defects in Failing Hearts—

研究分担者：矢野 雅文（山口大学医学部附属病院 第二内科）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来個別研究に加え、サブグループ研究班の設立に向けて、計画を進めた。具体的には、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の状況などを検討する予定である。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者及び家族に対するセミナーを開催した。

A. 研究目的

我々は、心筋筋小胞体(SR)の Ca^{2+} 放出チャネルであるリアノジン受容体 (RyR2) 内において Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC) や Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia(CPVT)でみられる点突然変異集合領域 {N-末端ドメイン(1-600)およびセントラル (C) ドメイン(2000-2500)} 間のドメイン連関障害は、異常な Ca^{2+} 漏出を生じ心不全や致死的不整脈の発症ないし病態の悪化に深く関与することを報告してきた。今回、心不全時の RyR2 チャネル機能異常の機序に calmodulin (CaM)が関与するとの仮説を立てた。すなわち、正常心では上記 RyR2 内 N-C ドメイン連関とチャネルポアとの間のアロステリックな構造連関は RyR2 に CaM が結合することにより抑制的に制御されるが、不全心では CaM が RyR2 から解離しチャネルが不安定化する、という仮説を立てた。本仮説を証明するために不全心において N-C ドメイン連関障害が、CaM の RyR2 への結合に及ぼす影響と Ca^{2+} 放出能に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

1) 心不全犬モデルの作成
250bpm の高頻度右室ペーシングを開始し、4週間で心不全犬を作成した。

2) 犬心筋細胞の単離

イヌを麻酔下で開胸して心臓を摘出し、これを左冠動脈回旋枝に灌流される楔形の形に切り取り、コラゲナーゼ入りのバッファー溶液を用いて灌流し棒状のイヌ心筋細胞を単離した。

3) 単離心筋細胞における Ca^{2+} spark の計測

サポニン処理心筋細胞の Ca^{2+} spark は、アルゴンレーザーを備えた倒立顕微鏡(Axiovert 100, Carl Zeiss)であるレーザー共焦点顕微鏡(LSM-510, Carl Zeiss)を用いて、Zeiss x40 油浸 Plan-Neofluor 対物レンズ (開口数 1.3; 励起波長 488 nm; 蛍光波長 > 505 nm)の設定で計測した。

4) RyR2 に対する CaM 結合実験

光感受性クロスリンカーである sulfosuccinimidyl-6-[4'-azido-2'-nitrophenylamino]hexanoate(Sulfo-SANPAH, PIERCE)を用いて RyR2 に対する CaM の結合を評価した。

(倫理面への配慮)

実施にあたっては、Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the NIH (NIH Publication No.85-23, revised 1996)、国立大学法人山口大学動物倫理委員会における動物使用に関する規則等に則り、倫理的配慮のもと行われた。

C. 研究結果

不全心筋 SR では、N-C ドメイン連関障害により RyR2 に対する CaM の結合親和性は、正常心筋 SR に比し著明に低下していた。また、内因性 CaM (蛍光抗体法で評価) も、不全心筋細胞では正常に比し著明に低下していた。これに一致して、細胞内 Ca²⁺ spark 頻度は不全心筋細胞で増大しており SR 内の Ca²⁺貯蔵量は減少していた。骨格筋型 RyR1 の点突然変異病である悪性高熱症の特効薬であるダントロレンは、N-C ドメイン連関障害を是正し、それに一致して、CaM の RyR2 に対する結合は正常化し、不全心筋細胞内 Ca²⁺ spark 頻度も減少し、細胞収縮能も改善した。さらに CaM の RyR2 に対する結合親和性を高めた GSH-CaM は不全心の RyR2 に対しても正常の結合親和性をもって結合可能であり、この GSH-CaM を蛋白導入キットを用いて intact の不全心筋細胞に導入すると、細胞内 Ca²⁺ spark 頻度は著明に減少、SR 内の Ca²⁺貯蔵量も正常化し、細胞収縮能は著明に改善した。

D. 考察

RyR2 の調節蛋白の 1 つである CaM は、生理的な Ca²⁺濃度の範囲において Ca²⁺放出を抑制し、それによってチャネルを正常状態に安定化させている。CaM が結合できない変異型 RyR2 が左室拡大を伴う異常な心筋肥大を誘発するという事実からも CaM の RyR2 への結合が左心室の正常機能や構造を維持するための重大な因子であることが示唆される。本研究における最も重要な所見は、不全心では N 末端とセントラルドメイン間のドメイン連関障害 (unzipping) により RyR2 から CaM が解離し Ca²⁺漏出を生じるが、ドメイン unzipping を是正し不全心筋 RyR2 へ CaM を再結合させるか、または、直接 CaM の RyR2 に対する結合親和性を高めることによって Ca²⁺漏出が抑制され、細胞収縮能が改善したことである。この知見は、内因性 CaM の結合親和性を調節することが新たな心不全治療になり得る可能性を示唆する。

E. 結論

不全心筋では、RyR2 における N 末端ドメインとセントラルドメイン間のドメイン連関障害により、CaM の RyR2 への結合親和性の低下が引き起こされ、その結果、異常 Ca²⁺放出が生じ (SR 内 Ca²⁺貯蔵量の減少を介して)、細

胞収縮障害をきたす。一方、CaM の結合親和性の低下を是正することにより Ca²⁺放出能が正常化し心筋細胞機能は改善する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Susa T, Kobayashi S, Tanaka T, Murakami W, Akashi S, Kunitsugu I, Okuda S, Doi M, Wada Y, Nao T, Yamada J, Ueyama T, Okamura T, Yano M, Matsuzaki M. Urinary 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine as a Novel Biomarker for Predicting Cardiac Events and Evaluating the Effectiveness of Carvedilol Treatment in Patients With Chronic Systolic Heart Failure. *Circ J*. 2011;76:117-26.

2. Suetomi T, Yano M, Uchinoumi H, Fukuda M, Hino A, Ono M, Xu X, Tateishi H, Okuda S, Doi M, Kobayashi S, Ikeda Y, Yamamoto T, Ikemoto N, Matsuzaki M. Mutation-Linked Defective Inter-Domain Interactions within Ryanodine Receptor Cause Aberrant Ca²⁺ Release Leading to Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. *Circulation* 2011;124:682-694

3. Yoshida M, Ohkusa T, Nakashima T, Takanari H, Yano M, Takemura G, Honjo H, Kodama I, Mizukami Y, Matsuzaki M. Alterations in adhesion junction precede gap junction remodelling during the development of heart failure in cardiomyopathic hamsters. *Cardiovasc Res*. 2011;92:95-105.

4. Kobayashi S, Susa T, Tanaka T, Wada Y, Okuda S, Doi M, Nao T, Yoshiga Y, Yamada J, Okamura T, Ueyama T, Kawamura S, Yano M, Matsuzaki M. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine reflects symptomatic status and severity of systolic dysfunction in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2011;13:29-36.

G. 知的所有権の取得状況

なし