

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：和温療法の心不全進展抑制作用：マウス圧負荷心不全
モデルを用いた検討

お名前・ご施設名：赤崎雄一、宮田昌明、鄭 忠和
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

目的

長期間の心肥大は心不全に移行するが、この過程においてアポトーシスが重要な役割を担っていると考えられている。ヒートショックプロテイン 27 (HSP27) は抗アポトーシス作用のある蛋白として発見され、リン酸化 HSP27 は心筋細胞を保護すると報告されている。

和温療法が心不全患者において、心機能や血管機能を改善することは知られているが、和温療法の心肥大への効果はよく分かっていない。本研究で、圧負荷心肥大モデルマウスを用いて、和温療法の心肥大及び心不全への効果発現機序について検討した。

方法

C57BL/6 マウスに大動脈縮窄(TAC)を施し、心臓圧負荷モデルを作成し、心肥大および心不全モデルとして使用した。手術後 2 週間で、全てのマウスにおいて心エコーで左室肥大を確認後、ランダムに和温療法群と未治療群に振り分けた。和温療法群では、深部体温が 1 度上昇する条件で、1 日 1 回 4 週間、動物実験用遠赤外線サウナ装置を用いて温熱浴を施行した。TAC 後 6 週間目において、体重、心拍数、血圧については 2 群間で差を認めなかった。心エコーでは、和温療法群は未治療群に比べると、左室拡張末期径は有意に低下し(未治療群 vs.和温療法群, 3.53 ± 0.09 vs. 3.20 ± 0.10 mm, $P < 0.05$, 各群 $n=6$)、左室内径短縮率は有意に高かった(36.6 ± 1.29 vs. 46.2 ± 0.47 mm, $P < 0.01$, 各群 $n=6$)。心重量/脛骨長比は和温療法群では未治療群に比べ、有意に低値を示した。(9.66 ± 0.53 vs. 7.89 ± 0.22 mm, $P < 0.01$, 各群 $n=9$)。左室から蛋白を抽出したウェスタンブロットにおいて、TAC モデルではアポトーシスシグナルが増加していたが、和温療法施行群では、これらの蛋白質が低下していた。また抗アポトーシス作用のある HSP27 のリン酸化が和温療法群では増加していた。

結果

和温療法は、圧負荷心肥大モデルにおいて、心肥大から心不全への移行を抑制した。その機序として HSP27 のリン酸化を増強することでアポトーシスを減少させていることが考えられた。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル: Pentraxin 3 (PTX3) は慢性心不全の予後を予測する

お名前・ご施設名: 野出孝一

佐賀大学医学部循環器内科

慢性心不全と炎症の関与が注目されており、心不全の炎症の状態を正確に反映するバイオマーカーが必要とされている。Pentraxin3 (PTX3)は、CRP と同じ pentraxin family に属する急性期反応性物質であり、CRP と比べ、より局所の血管炎症を反映する可能性が示唆されている。我々は、PTX3 が慢性心不全の予後予測マーカーとなりうるか検討するため、慢性心不全患者 55 名の血中 PTX3 濃度を測定し、平均 38 ヶ月追跡を行った。PTX3 の中央値は、3.5ng/ml (interquartile range) で、健常群と比べ優位に高値であった。追跡期間中 16 名の死亡と 26 名の心不全増悪による再入院がみられた。PTX3、年齢、NYHA, LVEF, BNP を含む多変量解析の結果、PTX3 は独立した予後予測マーカーであると考えられた。

心血管死 予後予測因子

Variables	Coefficients	Hazard ratios	95% CI	P
Male	0.738	0.478	0.139-1.642	0.241
Age	0.003	1.003	0.950-1.059	0.913
NYHA III/IV	0.562	1.754	0.481-6.399	0.395
LVEF	0.012	1.012	0.963-1.063	0.633
BNP	<0.001	1.000	0.998-1.001	0.675
hsCRP	<0.001	1.000	1.000-1.000	0.742
PTX3	0.155	1.167	1.021-1.335	0.024

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：左心補助人工心臓装着患者における菌血症の

予後規定因子に関する検討

お名前・ご施設名：中谷武嗣、三隅祐輔、戸田宏一、藤田知之、村田欣洋、

瀬口 理、築瀬正伸

国立循環器病研究センター移植部、心臓血管外科

〔目的〕臓器移植法の改正により心臓移植実施数が増加したが、心臓移植希望者数も増加しており、長期の待機を要する状況が続いている。このため、多くの患者が左心補助人工心臓(LVAS)装着により心臓移植待機を続けている。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。

〔方法〕対象は心移植への Bridge として 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、各種植込み型が 12 例であった。〔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。しかし、心臓移植に至った 22 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。〔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。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：心不全の網羅的な遺伝子解析

—我国独自の microarray 開発による検討(I)

お名前・ご施設名：豊岡照彦¹、田中敏博²、S. Kostin³、和泉 徹⁴、J. Schaper³、

徳永勝士⁴

¹北里大学・循環器内科、²理研・循環器疾患研究チーム、

³Max-Planck 研究所・実験病理部門、⁴東京大学、人類遺伝学教室

10年前の約30億のヒゲムの塩基配列決定の応用として最近の大容量 microarray と大量情報処理技術により遺伝子の網羅的解析から病態解明に迫る Genome-wide study (GWAS)が種々の疾患で進行している。筆者らは心不全の国際共同研究として日本人 200名(健常者、100名と不全患者100名)および特に人種差の大きい白人 DCM 患者 14名で、SNP/SNV 解析を行った結果、909,143箇所に変異を確認した。これは過去の遺伝子解析に基づく経験則の予想値、300万箇所の約1/3に過ぎず、未だ不十分な状況である。今回は心不全関連遺伝子について先入観による遺伝子 bias を避けるために、敢えて診断基準を設けず、担当医の判断に基づいて Case-control study を行い、 χ^2 検定で p 値が 10^{-4} 以下の SNP を 7,287箇所認め、「心不全」は多様な原因から最終的に共通の収縮/拡張不全に至る症候群と定義すると、今回の総合的な遺伝子解析は短期的に心不全発症機構の多面的な検証の他に、将来的には遺伝子レベルの危険因子の把握、予後との関連から有効な治療選択を含め個別医療や医療経済など多くの臨床/社会医学に資する。

更に我々は exon 部分(ORF)について同義変異を 2,688箇所、non-sense 変異による stop codon を 54箇所、塩基の挿入や欠失を 230箇所認め、残りは非同義変異が占めた。具体的な遺伝子は科学研究費を頂いた関連機関と共同研究者の承認を頂いた後、公表する予定であるが、予想された細胞接着因子、各種イオンチャネルや細胞内信号伝達物質遺伝子に加え、遺伝子の転写/翻訳や calpain など、タンパク合成や分解に関与する多種の遺伝子が候補に挙げられ、アミノ酸配列は決定されても生理機能が不明のタンパクも含まれた。更に、非同義変異は code するアミノ酸の親水性、極性、芳香族性、アルコール性やチオール性などを共有する同族間変異は単独では生理機能に重大な影響は少ないと予想されるが、変異の重積状態では厳密な検証が必要となる。

マウスなど小動物による遺伝子改変技術は遺伝子欠損状態の機能解析に有力であるが、①各種代償機構による病態の修飾や、②小型動物がヒトと共通配列を示すと限らず、③特に小動物の心筋細胞は大動物に比べて、細胞の表面積が体積に比較して大きいこと、細胞膜のチャネルタンパクや transporter の機能解析に必ずしも適さないと考えられる。また、④*in vitro* の培養細胞は未熟な単核の cardiomyoblast で増殖能を有し、変則的な細胞内外の物質交換し、wall stress、冠血流など多様な物理的負荷の下で筋収縮・弛緩を繰り返す *in vivo* の細胞とは細胞環境がかけ離れている場合も多く、今後の実験条件の改善が求められる。

今回の網羅的な解析結果から、①従来報告された心不全関連遺伝子に加え、②症状発現、③急性心不全に至る重篤な不整脈、④大動脈瘤の進展、環境因子の影響も大きい各種薬物に対する CYP、⑤高脂血症やウイルス性心筋炎に対する免疫機構など、多彩な遺伝子と、⑥人種差の大きい SNP では欧米で開発された microarray には白人の SNP が多く、必ずしも我国の国情に合わないなど多くの興味深い所見と今後の研究方向が示された。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：拡張型心筋症の病因 BAG3 変異は心筋サルコメアの
整合性異常とアポトーシス亢進を来す

お名前・ご施設名：木村彰方・有村卓朗・石川泰輔（東京医歯大・難治研・
分子病態）、布田伸一（東京女子医大・東病院・循環器
内科）、河合祥雄（順天堂大・スポーツ医学）

【背景と目的】拡張型心筋症（DCM）の 20–35%は遺伝性であり、遺伝子変異がその病因となる。これまでに 20 種類を超える原因遺伝子が報告されているが、それらの原因遺伝子に変異が見出されるのは家族性 DCM 患者の 17%程度であり、多くの症例の原因は未知である。最近欧米人 DCM 家系に Z 帯構成要素である BAG3 の遺伝子異常が報告され、さらにそれらとは異なる BAG3 変異が筋原線維ミオパチー（MFM）患者で報告されているが、BAG3 遺伝子異常による機能変化は明らかではない。

【方法】互いに血縁関係のない家族性 DCM 患者 72 名についてダイレクトシーケンス法を用いて BAG3 遺伝子変異を検索した。変異が検出された場合には、可能な限り家系解析を行うとともに、健常者集団 400 名における当該変異の有無を検討した。DCM 特異的と考えられる変異および MFM 変異について、新生児ラット心筋細胞（NRC）、H9c2 細胞（心筋細胞株）、C2C12 細胞（筋芽細胞株）への遺伝子導入を行い、機能異常を検討した。

【結果と考察】家族性 DCM 患者 2 名に DCM 関連変異（Arg218Trp および Leu462Pro）を見出した。いずれも家系内で DCM と共分離し、健常人には見出されなかった。これらの変異と MFM 関連変異（Pro209Leu）および疾患と関連しない多型（Arg28Trp）について機能変化を検討した。DCM 関連変異はいずれも NRC での Z 帯整合性異常をもたらし、また NRC および H9c2 細胞株で代謝ストレス時（無血清培地での培養）のアポトーシスが亢進したが、C2C12 の分化には影響しなかった。これに対して MFM 関連変異は C2C12 の分化異常をもたらすが、NRC, H9c2 では機能異常を示さなかった。また、疾患と関連しない多型はいずれの機能変化とも示さなかった。これらのことから、DCM 関連変異は心筋細胞のサルコメア整合性障害と代謝ストレスに対するアポトーシス亢進を介して DCM 病態をもたらすと考えられた。

【結論】BAG3 変異は新たな DCM 原因遺伝子である。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル: 拡張型心筋症マウスに対する直接レニン阻害薬の効果

お名前・ご施設名: 本郷賢一、吉村道博

東京慈恵会医科大学循環器内科

レニン・アンジオテンシン系の阻害薬として、その最上流を抑制する直接レニン阻害薬 (DRI) が使用可能となり、種々の心疾患での有効性が期待されている。しかしこれまでに拡張型心筋症 (DCM) に対する DRI の効果は検討されておらず、基礎的なデータも必要と考える。今回、遺伝性拡張型心筋症の原因遺伝子の一つであるトロポニン T K410 欠失変異を、正常トロポニン T と入れ替え作成したノックインマウス (DCM マウス) を用いて DRI の効果を検討した。DCM マウスは、ヒト DCM と同様に著明な左室拡大及び左心機能低下を来すこと、また生後 6 ヶ月以内にほぼ全ての個体が死亡することが明らかになっている。この DCM マウスに、DRI (アリスキレン 50mg/kg/日) を、植え込み型浸透圧ポンプを用いて投与した。DRI の使用により DCM マウスの生命予後が顕著に改善した。心エコー上、左室拡大及び低下した心機能も著明に改善した。DCM マウスでは心筋線維化が認められるが、DRI により線維化の抑制も認めた。細胞内 Ca 動態について、Ca 感受性発光蛋白エクオリン法を用いて評価したところ、DCM マウスでは細胞内 Ca 濃度変化の増大と収縮張力の低下が認められ、この変化は DRI 使用により改善する傾向が認められた。本研究結果より、DRI が DCM に有効である可能性が示された。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：心筋炎劇症化の因子と薬物治療に対する反応性

—東京都 CCU ネットワークデータベースでの解析

お名前・ご施設名：東京医科歯科大学循環器内科¹ 磯部光章

東京 CCU ネットワーク学術委員会：稲葉理¹、佐藤康弘²、長尾建³、高山守正⁴

²災害医療センター循環器科・³駿河台日本大学病院循環器科・⁴榊原記念病院
循環器科

はじめに：急性心筋炎は、通常は、後遺症なく自然治癒をする良性な疾患であるが、まれに劇症化例を経験する。劇症化例では、急速に悪化する血行動態の維持のために経皮的心肺補助装置（PCPS）や補助人工心臓を必要とする場合もある。今回、我々は東京都内の循環器疾患の大部分をカバーする CCU ネットワークのデータベースを用いて、急性心筋炎の劇症例の臨床像を後ろ向きに検討した。対象と方法：2007 年から 2009 年までに上記ネットワークの CCU 入院患者のデータベースに登録された重症心筋炎 138 例（0-84 歳、男性 79 名）を対象とした。劇症型心筋炎は、院内死亡例あるいは血行動態維持のために PCPS を必要とした症例と定義し、入院時身体所見、血行動態、検査成績、治療と劇症型心筋炎との関連について検討を行った。結果：劇症例は 42 例（30%）であり、残りの 96 例が非劇症化例であった。単変量解析では、劇症例で入院時の意識障害、末梢循環障害、心電図の QRS 幅増大症例が多く、心筋逸脱酵素は上昇、血圧および左室駆出率は低下していた。多変量解析では、収縮期血圧の低値（ $p=0.029$ ）と QRS 幅増大（ $p=0.048$ ）とが劇症化の独立した予後予測因子であった。収縮期血圧ならびに QRS 幅のカットオフ値はそれぞれ 101mmHg（感度 68.0%、特異度 80.1%、AUC 0.769）と 120msec（感度 72.4%、特異度 88.5%、AUC 0.821）であった。両者を合わせると感度は 94.3%に上昇した。死亡例は 20 例（14%）であったが、①入院時血圧低下および QRS 幅増大例で 29%、②血圧低下か QRS 幅増大のいずれかで 22.2%、③両者ともに陰性例で 3.6%であった。ステロイドおよび γ グロブリンは①に投与されることが多かったが、46%は死亡退院となった（ステロイド単独 25%、 γ グロブリン単独 0%、両者不使用例 29%）。結論：入院時の収縮期血圧の低値ならびに心電図の QRS 幅増大が、心筋炎劇症例の予測因子である。また、劇症例に対するステロイド、 γ グロブリン併用療法は予後の改善には寄与しなかった。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：潜在的左室流出路狭窄が確認された肥大型心筋症の予後調査研究

お名前・ご施設名：加藤真帆人、中井俊子、田野絢子、笠巻祐二、相澤芳裕、小船達也、國本 聡、渡邊一郎、廣 高史、平山篤志

日本大学医学部内科学系循環器内科学分野

【背景】

肥大型心筋症の中には、労作あるいは左室容量が減少するような条件が加わったときにのみ左室流出路狭窄を呈する症例があることが知られている。この潜在性左室流出路狭窄を呈する肥大型心筋症は、常時狭窄が認められる閉塞性肥大型心筋症と同様に、薬物治療もしくは経皮的室中隔焼灼術などの非薬物治療により積極的に左室流出路の圧較差を軽減するべきかどうか十分なエビデンスはなく、いまだ議論がなされているところである。また、潜在性左室流出路狭窄を呈する肥大型心筋症の予後について、閉塞性もしくは非閉塞性肥大型心筋症と比較したデータは少なく、治療方針の統一化がなされていない一因となっている。

【目的】

本研究はドブタミン負荷心臓超音波検査にて潜在性左室流出路狭窄が確認できた肥大型心筋症について、その心臓の構造と心筋の性状を観察し、閉塞性肥大型心筋症および非閉塞性肥大型心筋症と比較し、それぞれの予後調査を行うことである。

【方法】

2010年4月1日以降、当科を受診した肥大型心筋症患者で、本研究の趣旨に賛同され、同意書が取得できた全患者を登録した。登録後、経胸壁心臓超音波検査、ドブタミン負荷心臓超音波検査、および Gadolinium 造影心臓 MRI を施行した。心臓超音波検査は左室収縮機能、拡張機能、不均等な心筋肥大の評価、僧帽弁機構の収縮期前方運動 (SAM)、左室流出路における左室駆出血流速波形を記録し、最大血流速度、最大圧較差を計測した。心臓 MRI では Gadolinium により心筋の造影を行い、特に遅延相における心筋組織の線維化を評価した。

【結果】

2011年9月1日までに登録を行った非閉塞性肥大型心筋症 15 名中 9 名で潜在的左室流出路狭窄が確認された。負荷試験による左室流出路の圧較差増大を既定する予測因子は、安静時における胸部圧迫感の出現、意識消失の既往、および形態的には不完全な SAM であった。また、心臓 MRI 検査では、負荷をかけても左室流出路狭窄が誘発されない症例の中に、Gadolinium による造影の遅延相で、心筋の線維化が示唆され、肥大型心筋症の拡張相への移行期と判断される症例が 1 例認められた。

【考察】

これまで肥大型心筋症においては左室流出路狭窄が予後不良因子とされており、逆に非閉塞性肥大型心筋症の予後は比較的良好であると考えられてきた。しかし、そのような症例の中には負荷をかけてはじめて左室流出路に狭窄を認める潜在性左室流出路狭窄を呈する肥大型心筋症が少なからず存在することが判明した。これらの症例は何らかの症状を訴える頻度が高く、その予後についても閉塞性肥大型心筋症と同等である可能性がある。また、一方で、顕在性もしくは潜在性の左室流出路狭窄を認めない症例の中に、Gadolinium 造影心臓 MRI により肥大型心筋症の拡張相に移行しつつある症例が混在していることが判明した。つまり、肥大型心筋症の予後は、顕在性もしくは潜在性の流出路狭窄がなくとも、心筋の線維化による拡張相への移行期である場合には不良である可能性がある。

【結語】

非閉塞性肥大型心筋症の約 60% で潜在性左室流出路狭窄が観察された。また、心臓 MRI により拡張相への移行期である症例も見つかり、これらは流出路狭窄がなくともその予後は不良であると推測される。今後は、このコホートを追跡調査し、心臓の形態的特徴および心筋の性状などと、予後の関連について調査していく。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

研究報告会 抄録

タ イ ト ル： 心不全における非心臓組織の代謝変容解析お名前・ご施設名：塩井哲雄、加藤貴雄、木村 剛京都大学大学院医学研究科循環器内科学

心不全が加齢と共に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。

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。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。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：心不全・致死的不整脈におけるカルシウム制御異常の
機序

お名前・ご施設名：矢野雅文

山口大学医学部附属病院第二内科

心筋細胞膜の脱分極が生じるとに L 型 Ca^{2+} チャネル (LTCC) から少量の Ca^{2+} が流入し、その流入 Ca^{2+} がトリガーとなり筋小胞体 (SR) 膜上にある Ca^{2+} 放出チャネルのリアノジン受容体 (RyR) からの大量の Ca^{2+} 放出を引き起こす。細胞内の増加した Ca^{2+} は、収縮蛋白を活性化した後、SR の Ca^{2+} -ATPase により SR 内に再び取り込まれるとともに、一部は $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換機構や細胞膜 Ca^{2+} ポンプを介して除去される。このような細胞内の Ca^{2+} 濃度変化は心筋の機械的収縮・弛緩に先行し心筋収縮・弛緩様式を規定する重要な因子となっている。細胞内 Ca^{2+} ホメオスタシスの破綻は、SR 内 Ca^{2+} 含有量の低下や拡張期の Ca^{2+} 漏出を介して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。

一方、RyR は、巨大な高分子蛋白として存在し、チャネルポアを形成する膜貫通領域は全体の約 1 割を占め、残りの約 9 割は細胞質側に突出した構造物として存在しチャネル開閉を調節していると考えられている。最近我々は、この RyR 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-terminal ドメイン (1-600) および central ドメイン (2000-2500)} 間のドメイン連関障害が、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示した。一方、このような RyR 内のドメイン連関障害を薬理的に是正することにより、 Ca^{2+} 漏出が抑制され心不全や致死的不整脈の発症が抑制されることも判明した。以上、RyR は今後新たな心不全・致死的不整脈治療ターゲットとして期待できる。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

研究報告会 抄録

タイトル: カロリー制限による糖尿病性心筋リモデリング改善作用
の分子メカニズム

お名前・ご施設名: 坂東泰子、室原豊明

名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科学

【背景】糖尿病患者では、心筋毛細血管密度の低下や心筋ミトコンドリア変性に代表される糖尿病性心筋障害（リモデリング）と呼ばれる病態が存在する。カロリー制限は糖尿病に対する非薬物的治療介入の一つであるが、カロリー制限が、これら糖尿病性心筋リモデリングに与える効果や機序については不明である。

【目的】カロリー制限は糖尿病性心筋障害を可逆性に改善しうるか。またその機序を明らかにする。

【方法】18週令遺伝性2型糖尿病マウス KK^{Ay} 及び高脂肪食負荷により糖尿病化した糖尿病2群（KK-AL, C57-HFD）および同週令の4週間カロリー制限群（KK-CR, C57-CR）、同一週令の通常食コントロール2群（KK-AL, C57-AL）含む計6群に対して、心エコーによる心機能評価、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シリウスレッド染色による心筋線維化評価、③透過電子顕微鏡によるミトコンドリア形態変化解析④オートファジーマーカー蛋白 LC3turn over assay による活性評価⑤傷害ミトコンドリアマーカー PARKIN/PINK 蛋白発現解析を行った。

【結果】4週間のカロリー制限で KK-AL は $32.6 \pm 1.58\%$ の体重減少を認めた。一方、C57-HFD は $80.8 \pm 3.8\%$ の体重増加を認めた。心エコーでは KK-AL 及び C57-HFD は心拡張能の低下、左室壁厚の増加を認めた。免疫染色にて心筋毛細血管密度低下・心筋細胞サイズの増加、心筋間質線維化の増強を認め、カロリー制限ではこれら心筋毛細血管密度低下・心筋細胞サイズ増加・線維化増強が改善されていた。KK-AL, C57-HFD の心筋電子顕微鏡像においてほとんどの心筋ミトコンドリアは変性像を呈し、各ミトコンドリア分画における PARKIN/PINK 発現量の増加、オートファジー活性抑制を認めたが、カロリー制限ではオートファジー活性亢進を伴いミトコンドリアの多くが正常化を示した。

【結論】本研究から、カロリー制限は、心筋オートファジー活性化を介して糖尿病性心筋リモデリングを可逆性に改善することが示唆された。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：NKT細胞が虚血再灌流障害へ及ぼす役割の解明

お名前・ご施設名：絹川真太郎・筒井裕之

北海道大学院医学研究科循環病態内科学

虚血性心筋症は心不全の原因として重要である。心筋梗塞時の再灌流療法は極めて有効な治療法であるが、心筋虚血による心筋障害だけでなく、再灌流自体による心筋障害もその後の心筋障害に関与し、虚血性心筋症に影響すると考えられている。NKT細胞は様々な炎症性サイトカインを産生し、組織炎症を制御することが知られている。したがって、虚血再灌流（I/R）障害における心筋局所の炎症にNKT細胞が何らかの役割を果たしている可能性が考えられる。今回、NKT細胞を特異的に活性化させる α ガラクトシルセラミド（ α GC）がI/R障害へ及ぼす影響を検討した。45分虚血-24時間再灌流のI/Rモデルを作成し、梗塞サイズを評価した。 α GCは再灌流前30分に投与した（I/R+ α GC）。I/R群と比較して、I/R+ α GC群で有意に梗塞サイズは縮小した（ 47.1 ± 2.5 vs 37.8 ± 2.7 %）。血清トロポニンIも同様に減少した。FACS解析を行ったところ、偽手術群と比較してI/R群でNKT細胞の浸潤が増加し、I/R+ α GC群ではさらに増加した。免疫染色の結果ではCD3陽性およびMPO陽性細胞はI/R群で増加したが、I/R+ α GC群で有意に減少した。さらに、I/R+ α GC群でIL-4遺伝子発現が有意に増加し、TNF- α やIL-1の遺伝子発現が有意に減少した。本研究では、NKT細胞の活性化によって虚血再灌流障害を弱めた。このことには免疫抑制性のIL-4の発現増加や炎症性細胞浸潤の抑制を介していると考えられた。 α GCによる新たな虚血再灌流障害治療の可能性が示唆された。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル： 奈良医大でのたこつぼ心筋症 18 例のまとめ

お名前・ご施設名： 斎藤能彦

奈良県立医科大学 第一内科

たこつぼ型心筋症は、突然発症する左心室心尖部の一過性収縮低下をきたす心疾患であり、ストレスが誘因となって発症すると考えられているが、その病態は未だ不明な点が多い。今回我々は、たこつぼ心筋症の臨床学的特徴および心筋の病理学的特徴について解析する。対象は当科でたこつぼ型心筋症と診断された 18 例で、8 例に心筋生検が実施し検討した。受診時の血清 BNP 値は 538 ± 145 pg/ml と上昇していた。たこつぼ心筋症例では、全例でストレスの誘因となる契機が確認され、血清カテコールア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。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 を認めた心筋炎症例と比較しても炎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。今回のたこつぼ型心筋症 18 例は全例、心機能が回復しており、その回復平均期間は 12.4 ± 3.6 日であった。たこつぼ型心筋症の予後は一般に良好とされているが、今回の心筋生検の病理組織学的所見からも、不可逆的な線維化や心筋の変性などの所見が乏しく、たこつぼ型心筋症は予後が良好な疾患であることを裏付けるものと考ええる。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：細胞外マトリックスによる心筋組織リモデリング制御の
分子メカニズム

お名前・ご施設名：今中恭子^{1),2)}、吉田利通^{1),2)}、木村泰三³⁾、青沼和孝³⁾、

吉村耕一⁴⁾、青木浩樹⁵⁾、今泉勉⁵⁾

1)三重大学修復再生病理学、2)マトリックスバイオロジー研究センター

3)筑波大学循環器内科、4)山口大学器官病態外科学、

5)久留米大学循環器病研究所

マトリックス分子の多くは、機械的支持組織として働くだけでなく、生理活性を持ち、組織リモデリングで重要な働きを演じる。その中でも、正常組織にはあまり発現しないが組織リモデリングに伴って高発現し、線維や基底膜のような構造物をつくらず、強い生物活性をもつ **matricellular** タンパクとよばれる分子群が注目されている。我々はこれまで、典型的 **matricellular** タンパクであるテネイシン C(TnC)に注目し、その特異的な発現様式を利用して、血中バイオマーカーや分子イメージング標的として診断に用いる試みを進め、拡張型心筋症患者、心筋梗塞患者で血中 TnC 値は、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から、心室リモデリングの進展に関与すると予想した。TnC ノックアウトマウスを用いた冠動脈結紮モデルでは、野生型より急性期死亡率が高いが、28 日後の心機能回復がよく、心室リモデリング、線維化が抑制されることから、TnC は多彩な分子機能を持ち、状況依存的に、しばしば相反する機能を示すため、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考えた。さらに詳しい分子機能を調べるために、マウスにアンジオテンシン II を負荷し、血管のストレス応答に注目した。正常大動脈では TnC は腎動脈分岐部より下の腹部大同動脈の中膜に限局して低く発現していたが、アンジオテンシン II 負荷により大動脈全長で誘導され、特に腎動脈上に強く誘導された。TnC ノックアウトマウスはアンジオテンシン II 負荷により腎動脈上の大動脈解離を発症した。バイオメカニクスおよび遺伝子発現解析から、TnC は血管壁の弾性維持に貢献し、破壊性ストレスに対してマトリックスを強化し、炎症応答性を制御することにより大動脈組織を保護する機能を持つことが明らかになった。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル：心筋の線維化が予後に与える影響

お名前・ご施設名：青木竜男、福本義弘、杉村宏一郎、佐藤公雄、三浦 裕、

後岡広太郎、建部俊介、山本沙織、中山雅晴、下川宏明

東北大学大学院 医学系研究科 循環器内科学

背景：心筋の線維化は心不全進行に大きな役割を果たすが、その予後との関係は明らかでない。

方法と結果：2001年1月から2008年9月に当院で心筋生検を行った172例について、生検組織内の collagen volume fraction (CVF)と予後の関係を検討した。LVEF>50%の症例を HFPEF 群(heart failure with preserved ejection fraction)、LVEF≤50%の症例を HFREF 群(heart failure with reduced ejection fraction)とした。平均 follow-up 期間は両群共に 44 ヶ月で、CVF は2群間で有意差を認めなかった(1.83% vs. 2.07%、P=0.44)。HFREF 群では15例の心血管イベント(心臓死、突然死、心不全入院)と9例の死亡、HFPEF 群では4例の心血管イベントを認めた。多変量解析では CVF は HFREF 群において死亡、心血管イベントの有意な予測因子であった(死亡：HR 13.5、P=0.006、心血管イベント：HR 6.20、P=0.011)。一方、HFPEF 群では、CVF は予後の予測因子とはならなかった。また、HFREF 群において CVF と LVEDP は有意な相関関係を示した($r=0.387$, $P<0.001$) が、HFPEF 群では相関関係を認めなかった($r=-0.092$, $P=0.664$)。

結語：心筋生検による線維化評価は HFREF 群で予後予測に有用であり、線維化心筋が重要な治療対象である可能性が示唆された。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

研究報告会 抄録

タイトル：心臓線維化の新しい機序-DNA 修復機構の役割

お名前・ご施設名：鈴木 亨・東京大学医学部附属病院循環器内科

永井良三・東京大学医学部附属病院循環器内科

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等に対して、心筋は肥大や線維化といったリモデリングを経て拡張・収縮不全に至ることが知られているが、その経路は複雑・多岐である。遺伝子転写調節や DNA 傷害・修復による制御が示唆されるが、その分子機序は十分に解明されていない。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、心臓病態における制御機序は明らかにされていない。我々は過去に 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、さらに、ATM が心臓線維化反応における重要な役割を有する可能性を示した。今回、ドキシソルビシン心筋症マウスモデルを用いて、ATM が p53、P21 を介し、心筋細胞内酸化ストレス生成を促進することを明らかにした。また、ノックアウトマウスにおいても ATM が酸化ストレスによる心機能障害に寄与し、その抑制剤が心機能障害を改善することを明らかにした。

一方、KLF 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ことが知られつつある。我々は過去に KLF6 ノックアウトマウスではアンジオテンシン II 持続投与負荷及び大動脈結紮による圧負荷に対して心臓線維化が有意に減弱し、負荷初期での Mac3 陽性細胞の心筋浸潤が有意に減弱している所見を得た。今回、この初期細胞浸潤から心筋慢性炎症に至る調節機構解明に迫った。KLF6 は心筋細胞特異的に刺激後早期に発現を認め、心筋細胞での重要性が示唆された。KLF6 ノックアウトマウスに GFP 骨髄移植を行った所、心筋に浸潤するマクロファージの極性の変化を認めた。また心筋細胞・マクロファージの共培養では刺激心筋細胞由来の液性因子によりマクロファージ極性に変化する他、心筋細胞・炎症細胞間の相互作用が重要である知見が得られた。アンジオテンシン II 等への刺激に対して 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・心線維芽細胞等の活性化により心筋線維化や心筋肥大に関与していることが示された。

以上のことから、DNA 傷害・修復因子 ATM による酸化ストレスによる心筋線維化機序のなれば転写因子 KLF6 による心筋炎症細胞浸潤調節の解明は心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。

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル： 不全心における炎症反応の分子機構

お名前・ご施設名： 岡 崇史、大津欣也

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科

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。我々は前回の班会議においてリソソーム DNA 分解酵素である DNaseII 欠損マウスに圧負荷をかけたところ圧負荷後 10 日において心不全、炎症細胞浸潤を認めたことを報告した。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おり、DNA が炎症惹起分子として作用しうることが明らかとなった。今回我々は DNA の炎症惹起分子機構について明らかにするため圧負荷後 2 日の DNaseII 欠損マウス心臓を解析した。圧負荷後 2 日でもすでに炎症細胞の浸潤を認めた。また EDU 染色陽性の沈着物が圧負荷後 DNaseII 欠損マウス心に観察され、この沈着物はオートファゴソーム/オートライソソームマーカーである LC3 陽性であり、またライソソームマーカーである LAMP2a 陽性であった。これはミトコンドリア DNA がオートリソソームに沈着していることを示唆する。ミトコンドリア DNA はバクテリア DNA に類似しておりバクテリア DNA は TLR9 によって認識され炎症を惹起することが報告されている。そこで TLR9 阻害薬を DNaseII 欠損マウスに投与したところ圧負荷後心不全・心筋炎の発症は阻害された。従ってオートファジー・リソソーム系による分解を逃れたミトコンドリア DNA は TLR9 依存性に心筋炎を発症しうることが示唆される。

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金

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

第 2 回北風班 総会・研究報告会

日時: 3 月 1 日(木)10:30~17:00

場所: 東大病院 入院棟 A 15F 大会議室

平成23年度第2回北風班・研究報告会

日時：2012年3月1日（木）10：30～17:00予定

場所：東大病院 入院棟A 15F大会議室

10:30 開会のご挨拶						
セッション	座長	番号	時間	班員お名前	ご所属	最新ご連絡タイトル
1	大阪医科大学 石坂 信和	1-1	10：40	野出 孝一	佐賀大学医学部 循環器内科学	炎症マーカーと慢性心不全
		1-2	10：48	後藤 雄一	国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第二部	3243変異を有するミトコンドリア病の心筋障害
		1-3	10：56	竹石 恭知	福島県立医科大学医学部 循環器・血液内科学講座	加齢と心不全：Senescence marker protein 30 の機能解析
		1-4	11：04	吉村 道博	東京慈恵会医科大学 循環器内科	変異トロポニンT導入拡張型心筋症マウスにおけるアリスケレンの予後改善効果の検討
		1-5	11：12	北風 政史	国立循環器病研究センター	心不全患者における心イベント発生を予測する 関数の導出
		1-6	11：20	福田 恵一	慶應義塾大学医学部 循環器内科	直接リプログラミングによる心筋作製
2	東京慈恵会 医科大学 吉村 道博	2-1	11：28	下川 宏明	東北大学大学院医学系研究科 循環器病態学分野	左心系心疾患を有する患者に合併する反応性後毛細血管性肺高血圧症の 臨床的重要性
		2-2	11：36	石坂 信和	大阪医科大学 内科学Ⅲ	心サ症、非心サ症における心エコー所見の推移（第2報）
		2-3	11：44	和泉 徹	北里大学医学部 循環器内科学	ステロイド療法中の心臓サルコイドーシス例における心外への67Ga再集積の 臨床的意義
		2-4	11：52	磯部 光章	東京医科歯科大学大学院 医学総合研究科 循環器病態内科学	心臓に局限するサルコイドーシス：診断基準の問題点
		2-5	12：00	今泉 勉	久留米大学医学部 内科学講座 心臓・血管内科学門	心肥大症例におけるFabry病スクリーニング
		2-6	12：08	永井 良三	東京大学大学院医学系研究科 内科学専攻 循環器内科	心不全における心腎連関の新規分子メカニズムの同定
			12：16～ 13：45		総会・昼食	
3	東京医科歯科 大学 木村 彰方	3-1	13：45	砂川 賢二	九州大学大学院医学研究院 循環器内科	収縮期圧負荷刺激と拡張期伸張刺激による心筋の応答性の差異に関する検討
		3-2	13：53	久保田 功	山形大学医学部 内科学第一講座	心臓における核内 High Mobility Group Box 1は 心肥大および心不全の進行を抑制する
		3-3	14：01	矢野 雅文	山口大学医学部附属病院 第二内科	心不全・致死的不整脈の共通発症要因としてのリアノジン受容体機能異常
		3-4	14：09	植田 初江	国立循環器病研究センター	心室頻拍に関連する病理学的所見の特徴 -特発性心筋症と二次性心筋症での比較-
		3-5	14：17	鄭 忠和	鹿児島大学大学院 循環器・呼吸器・代謝内科学	高血圧性左室肥大パターンによる心機能障害の比較 ：心エコーを用いた心時相解析による検討
		3-6	14：25	室原 豊明	名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻・病態内科学講座 循環器内科学	糖尿病性拡張不全心におけるセリンプロテアーゼDipeptidylpeptidase4の役割
4	三重大学 今中 恭子	4-1	14：33	中谷 武嗣	国立循環器病研究センター	心移植後のLOSの危険因子
		4-2	14：41	平山 篤志	日本大学医学部内科学系統 循環器内科学分野	潜在的左室流出路狭窄が確認された肥大型心筋症の予後調査研究
		4-3	14：49	山岸 正和	金沢大学医薬保健研究域医学系 循環器医学専攻・臓器機能制御学	肥大型心筋症患者における死因と遺伝学的予後規定因子
		4-4	14：57	木村 彰方	東京医科歯科大学	わが国の家族性肥大型心筋症におけるサルコメア変異の頻度と地域分布に関する 体系的解析
		4-5	15：05	川名 正敏	東京女子医科大学附属青山病院	非虚血性拡張型心筋症を有する植込み型除細動器患者において腎機能障害が 適切作動に及ぼす影響に関する研究
			15：13～ 15：30		休憩	
5	日本大学 平山 篤志	5-1	15：30	今中 恭子	三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学	霊長類モデルを用いた拡張型心筋症のリスク層別化と 個別最適化治療選択システムの試み
		5-2	15：38	木村 剛	京都大学大学院医学研究科 循環器内科学	ダールラット心不全モデルにおける分子鎖アミノ酸 投与の効果
		5-3	15：46	豊岡 照彦	北里大学 医療系大学院	心不全関連遺伝子の網羅的解析(GWAS,II) ミオシン重鎖遺伝子を含む14番染色体の解析を一例として
		5-4	15：54	筒井 裕之	北海道大学大学院医学研究科 循環器病態内科学	心筋梗塞後心不全のインスリン抵抗性および 骨格筋インスリンシグナル障害におけるプロレニン受容体の役割
		5-5	16：02	小室 一成	大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学講座	心筋インスリンシグナルによる心機能調節
		5-6	16：10	斎藤 能彦	奈良県立医科大学 第一内科	奈良医大でのたこつば心筋症のまとめ（2）
			16：18	発表終了 予定		
閉会のご挨拶						

(敬称略)

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
研究報告会 抄録

タイトル: 炎症マーカーと慢性心不全

お名前・ご施設名: 佐賀大学医学部循環器内科

野出 孝一

慢性心不全と炎症の関与が注目されており、心不全の炎症の状態を正確に反映するバイオマーカーが必要とされている。Pentraxin3 (PTX3)は、CRP と同じ pentraxin family に属する急性期反応性物質であり、CRP と比べ、より局所の血管炎症を反映する可能性が示唆されている。我々は、PTX3 が慢性心不全の予後予測マーカーとなりうるか検討するため、慢性心不全患者 55 名の血中 PTX3 濃度を測定し、平均 38 ヶ月追跡を行った。PTX3 の中央値は、3.5ng/ml (interquartile range)で、健常群と比べ優位に高値であった。追跡期間中 16 名の死亡と 26 名の心不全増悪による再入院がみられた。PTX3、年齢、NYHA,LVEF,BNP を含む多変量解析の結果、PTX3 は独立した予後予測マーカーであると考えられた。

心血管死 予後予測因子

Variables	Coefficients	Hazard ratios	95% CI	P
Male	0.738	0.478	0.139-1.642	0.241
Age	0.003	1.003	0.950-1.059	0.913
NYHA III/IV	0.562	1.754	0.481-6.399	0.395
LVEF	0.012	1.012	0.963-1.063	0.633
BNP	<0.001	1.000	0.998-1.001	0.675
hsCRP	<0.001	1.000	1.000-1.000	0.742
PTX3	0.155	1.167	1.021-1.335	0.024