

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成24年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：Senescence marker protein 30 は doxorubicin
cardiotoxicity を抑制する

お名前・ご施設名：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

【目的】

Senescence marker protein 30 (SMP30)は加齢に伴い減少する分子量 34 kDa のタンパク質として同定された。その後の解析により SMP30 は抗酸化作用を介し抗加齢蛋白として機能していることが示唆されている。本研究では、ドキソルビシン(DOX)による心機能低下における SMP30 の役割を検討した。

【方法と結果】

12週齢の野生型(WT)マウス、SMP30 欠損(KO)マウス、心臓にのみ選択的に SMP30 遺伝子を高発現した SMP30-TG マウスを用いた。マウスの腹腔内に DOX 20 mg/kg か生食を投与した。DOX 投与1週間後、心エコー検査を行い、サクリフェイスし心臓を摘出した。SMP30-KO マウスでは、WT マウスと比べて DOX 投与後の左室駆出率は低下し、線維化は増加、superoxide 産生は増加、8OHdG 陽性細胞数、TUNEL 陽性細胞数は増加、caspase-3 活性、Bax/Bcl-2 比、JNK 活性は上昇した。対照的に SMP30-TG マウスでは、WT マウスに比し DOX 投与後の左室駆出率は高く、線維化は減少、superoxide 産生は低下、8OHdG 陽性細胞、TUNEL 陽性細胞は減少、caspase-3 活性、Bax/Bcl-2 比、JNK リン酸化活性は低下した。

【結論】

SMP30 は抗酸化作用、抗アポトーシス作用を有し、DOX による心機能低下を抑制した。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： テネイシン C による心筋炎の制御

お名前・ご施設名： 田尻和子¹⁾, 町野智子¹⁾, 青沼和孝¹⁾, 保富康宏²⁾

今中恭子³⁾⁴⁾

1) 筑波大学医学医療系循環器内科

2) 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター

3) 三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学

4) 三重大学マトリックスバイオロジー研究センター

細胞-マトリックス相互作用のメディエーターとして機能する特別な細胞外マトリックス分子として、**matricellular** 蛋白の存在が注目されている。テネイシン C (TNC) は、典型的な **matricellular** 蛋白で、活動性炎症に伴って一過性に発現し、その発現レベルは心筋炎/心筋症の疾患活動性と相関を示すため、病態診断指標として用いることができるが、その詳細な分子機能は未だ明らかではない。今回は、マウス自己免疫性心筋炎モデルを用いて TNC による炎症の制御メカニズムを明らかにすることを目的とした。マウス自己免疫性心筋炎において、心臓組織中の TNC は炎症細胞の浸潤に一致して発現し、炎症細胞の消退に伴って消失していた。次に TNC 欠損 (KO) マウスに心筋炎を誘導したところ、WT と比べて心筋炎が軽減した。特に、KO 心筋炎マウスでは心筋に浸潤する Th17 細胞の減少、制御性 T 細胞の増加を認め、ヘルパー T 細胞の分化に TN-C が影響を及ぼして心筋炎を抑制している可能性が示唆された。そこで次に、ヘルパー T 細胞の分化に重要な樹状細胞への TN-C の作用を検討した。骨髄細胞より作成した樹状細胞に TN-C を添加すると、Th17 細胞への分化に必要な IL-6 産生の増加を容量依存性に認め、ナイーブ T 細胞との共培養実験では Th17 細胞への分化を促進し、制御性 T 細胞への分化を阻害することが明らかとなった。またこれらの反応は siRNA による $\alpha 9 \beta 1$ インテグリンのノックダウンによりキャンセルされることより、 $\alpha 9 \beta 1$ インテグリンを介した TNC のシグナルが樹状細胞からの IL-6 産生を促していることが示唆された。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：心不全関連遺伝子の網羅的解析(Ⅲ) 代謝性症候群(MeS)に
共通する我国固有の心不全遺伝子について

お名前・ご施設名：豊岡照彦¹、中島敏明²、許 俊鋭³、小野 稔³、和泉 徹¹、
S. Kostin⁴、J. Schaper⁴、豊岡理人⁵、徳永勝士⁵

¹北里大学 循環器内科、²東京大学 虚血生理研究部、

³心臓外科、⁵人類遺伝学、⁴Max-Planck Inst., Exp. Cardiol.

[背景と目的]

心不全(HF)と代謝性症候群(MeS)の間には臨床像、民族差や治療面の多様性など共通性が多く、共に医療経済を圧迫する大きな要因である。分子生物学、高速演算装置と microarray の進歩によりヒゲムの全容が明らかになり多遺伝子性疾患の解析が可能になりつつある。MeS は血圧、体格や血中脂質と関連する SNP(Single Nucleotide Polymorphism)解析が 10 万人以上の患者群で欧米人を中心に研究成果が発表され、特に GWAS (Genome-Wide Association Study)は SNP や CNV (Copy Number Variation)の高密度化により責任遺伝子と修飾遺伝子を漏れなく探索可能な点から、全患者の全ゲム解析迄の過渡期には注目される。更に、関連遺伝子を核遺伝子の他に、ミトコトリア遺伝子の haplogroup 解析に拡大して民族差、ATP 生産や apoptosis 等の細胞代謝に関する生物学的側面と、国際交流により遺伝子の組合せが多様化して社会的側面が増大すると予想される(Toyo-oka *et al.*, In “*Genes and Cardiovascular Function*”, Springer, 2011)。

[方法と結果]

心不全は単一疾患でなく、多疾患に起因する「症候群」であり、更に高齢者で複数疾患の合併が多い事から、敢えて原疾患を特定しなかった。対象は通常薬物治療に抵抗性で、Complex arrhythmia や家族性負荷が認められ、東大、北里大の心不全専門外来に通院中の難治性患者で遺伝子診断の倫理委員会承認を得た 175 症例を登録した。内膜生検試料を得た症例では心筋自体から、また、通常は抹消静脈血から既報により Genomic DNA を精製した。

核内遺伝子について 180 万以上の SNP と CNV をカバーする Genome-Wide Human SNP Array 6.0 により 7,053 箇所を同定した。Pearson の χ^2 検定、又は Fisher 検定で危険率 $< 5 \times 10^{-8}$ に設定して 207 箇所に絞り込んだ。更に gSNP、非翻訳領域と同義遺伝子変異を除外して 26 箇所に縮小した。なお、翻訳に無関係とされた intron 内の SNP (iSNP) が最近、発現効率に影響する事が判明し、除外しなかった。この結果を基に欧米の大規模 GWAS 報告で MeS の血圧、体格や血中脂質の 3 要素を比較して日本人、4 家系の独立家系に SNP が全て共通した HF と突然死症例を同定し、電頭にも示された。この中に細胞内の ion transporter が含まれ、この SNP は白人の MAF は 3.4%で、10 万人以上の東洋人に皆無だった。

ミトコトリアの SNP 解析は核遺伝子に比べ遅れている。幸い、ミトコトリアの全ゲムは 16kbp と短く、今回は全配列を screening し、変異部位を従来の Sanger 法で確定した。その結果、上記の 4 家系は B5b1a-haplogroup に属し中国大陸北部から日本に移動した事が示された。更に、この変異は tRNA の 3 次構造を変え転写効率を下げ、タンパク合成が低下すると予想された。

[結語] 核とミトコトリアの両ゲム解析は従来の民族差の概念を超える特異な変化を示した家系に重症心不全や突然死が多発した点から、心不全発生の機構を解明するために、核とミトコトリアの両ゲムの解析(transgenomics)の重要性が示された。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： サイトカイン機能調節因子 SOCS と心筋保護機構

お名前・ご施設名： 安川 秀雄¹、大場 豊治¹、永田 隆信¹、京極 幸子¹、
青木 浩樹²、今泉 勉^{1, 2}

¹久留米大学医学部心臓・血管内科

²久留米大学循環器病研究所

SOCS (suppressor of cytokine signaling) は、サイトカインによって発現が誘導され JAK に会合することにより JAK のキナーゼ活性を強力に抑制し、サイトカインの活性を負に制御する。われわれはこれまでに SOCS の分子作用機構や生理機能を明らかにしてきた。さらに、組織特異的に SOCS の発現を欠失するマウスを作成し、肥満、炎症や心疾患の病態における SOCS の役割について研究を行ってきた。ドキシソルビシン誘発性心筋障害モデル、梗塞後心不全モデルや虚血再灌流心筋障害モデルにおいて、心筋障害に伴う JAK-STAT 経路の活性化に伴い SOCS3 が速やかに発現誘導され、心筋特異的に SOCS3 を欠失したマウスでは野生型マウスと比較し心機能の改善を認める。これらの結果は、これらの障害ストレスによる心筋保護機構に SOCS3 が重要であり、心筋の SOCS3 がこれらの病態の治療標的となる可能性を示している。心筋特異的に SOCS3 を欠失したマウスでは、これらの病態において STAT3 の活性化の遷延を認め、マイクロアレイ解析を行った結果、アポトーシス、血管新生、炎症やミトコンドリアに関連する遺伝子の発現パターンが野生型マウスと比較し異なることが明らかとなった。今回、これまでの SOCS に関する研究と心筋保護機構における SOCS3 の役割について報告する予定である。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成24年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：iPS細胞を用いた心筋症の病態解析

お名前・ご施設名：内藤篤彦・大阪大学医学部心血管再生医学寄附講座

李鍾國・大阪大学医学部心血管再生医学寄附講座

森田啓行・東京大学医学部循環器内科

小室一成・東京大学医学部循環器内科

心筋症は遺伝子変異が原因で心筋細胞に起こる異常のために発症することが推測されるが、発症メカニズムについて不明な部分も多く、病態に根ざした治療法の開発も進んでいない。心筋症の病態解明を妨げる最も大きな因子として、生理的な表現型を解析可能な心筋細胞を患者から十分量採取できないことが挙げられる。心筋症患者の体細胞から樹立したiPS由来心筋細胞は患者と同一のゲノムを有しており、その解析を通じて心筋症の病態を明らかにし、異常表現型を是正する薬剤をスクリーニングすることで病態に根ざした治療法が開発可能になると考えている。

我々は今回、文部科学省再生医療の実現化プロジェクト「疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究」に採択された。本プロジェクトは、拠点機関(大阪大学、東京大学、慶應義塾大学)がiPS細胞技術を活用して厚生労働省難治性疾患研究班(難治班)および製薬企業と共同で心筋症および遺伝性不整脈の病態解明と治療薬開発を行うものである。本プロジェクト内で大阪大学、東京大学は、「特発性心筋症に関する調査研究」(北風班)と共同で心筋症の病態解明と治療薬開発を行う予定であり、北風班を対象に幅広く心筋症患者の紹介をお願いしたいと考えている。大阪大学ではMYH7やTNNT2、MYBPC3、TTN、TPMといった収縮性・カルシウム感受性を司るサルコメア関連遺伝子の変異が認められる肥大型心筋症、拘束型心筋症、拡張型心筋症患者を紹介いただき、共同研究を実施していくことを考えている。また、東京大学では心筋症と診断されている患者のうち、生検等で心筋内に異常代謝産物が蓄積している症例(Fabry病、LAMP2遺伝子異常、PRKAG2遺伝子異常を含む)を紹介いただき、共同研究を実施していくことを考えている。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：ヒト ES 細胞および iPS 細胞由来心筋細胞における
代謝の特性を利用した大量精製法の確立

お名前・ご施設名：遠山周吾、福田恵一

慶應義塾大学循環器内科

心臓再生医療は重症心不全患者にとって有用な治療戦略であり、胚性幹細胞（ES 細胞）や人工多能性幹細胞（iPS 細胞）は細胞移植における魅力的な細胞源である。ES および iPS 細胞を用いた再生医療を実現化するためには、1 人の患者あたり数億個もの心筋細胞が必要と考えられる。しかし、ES および iPS 細胞を用いる場合、分化した細胞中に未分化幹細胞が混入することにより、移植の際に腫瘍形成する可能性がある。したがって、移植前に未分化幹細胞を除去し、心筋細胞のみを大量精製することが必要である。これまで心筋精製法に関しては、密度勾配遠心分離や遺伝子改変による方法が用いられてきたが、いずれも純度や安全性・安定性などの面で満足のものではなかった。これらの問題点を克服するため、我々はミトコンドリア蛍光色素と FACS を組み合わせることで、遺伝子改変することなく高純度に心筋精製可能であることを報告した（Nature Methods 2010）。しかし、この手法は FACS を用いるため、大量の心筋細胞を得るには不向きであると考えた。そこで我々は、大量の精製心筋細胞を得るための理想的な心筋精製法を探索した。その結果、トランスクリプトーム解析及びメタボローム解析を用い、心筋細胞及び非心筋細胞における代謝の特性を明らかにすることで、未分化幹細胞を含む非心筋細胞が死滅し、心筋細胞のみ生存可能な代謝環境を作製し、効率よく大量の心筋細胞を精製することに成功した（Cell Stem Cell 2013）。ヒト ES 由来精製心筋細胞の純度を免疫染色及び FACS を用いて評価したところ 98%以上であった。また腫瘍形成の有無を評価するため、精製ヒト ES 由来心筋細胞を免疫不全マウスの精巣に移植したところ、全く腫瘍は形成されなかった。本方法は遺伝子改変を用いず FACS 等の複雑な技術も不要であるため、ES および iPS 由来心筋細胞を大量精製するのに適しており、今後ヒト心臓再生医療への応用が期待される。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：LVAS 装着患者における脳血管イベントに関する検討

お名前・ご施設名：村田欣洋、稗田道成、築瀬正伸、瀬口 理、角南春樹、

佐藤琢磨、渡邊琢也、宮田 茂、秦 広樹、藤田知之、

中谷武嗣

国立循環器病研究センター 移植部、心臓外科、輸血部

【目的】

心臓移植までのつなぎ(Bridge to Transplant:BTT)として左心補助人工心臓(LVAS)は有用であり、2011年4月から在宅療法が行える植込型 LVAS 2種が保険償還され、その施行数が増加している。臓器提供の少ない我が国における心移植待機期間は 2-3 年と長く、LVAS による長期補助を行わざるを得ない状況である。このため、LVAS の予後規定因子である脳梗塞や脳出血による脳血管障害や感染症の管理が重要である。そこで今回、各種左心補助人工心臓装着患者における脳血管イベントについて検討を行った。

【方法】

当センターにおいて、2011年4月から2012年7月までに、新規に LVAS 装着を行った重症心不全27症例(植込型;EVAHEART11例/DuraHeart4例、体外設置型;Nipro·TOYOBO型 LVAS12例、平均年齢;35.8±11.5歳、男女比:22:5、平均観察期間;203±167日)において、生存、及び、脳血管イベントについて検討した。

【結果】

植込型および体外設置型において、生存率、脳血管イベント発生率に差を認めなかった。

【結論】

LVAS による長期補助においては、良好な QOL を維持するために脳血管イベントの発生を含めた LVAS の合併症管理が重要であり、今後も機種に応じた対応など検討を進める必要がある。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 特発性心筋症症例の症例背景と予後 -CHART2 研究からの報告-お名前・ご施設名： 坂田泰彦・後岡広太郎・三浦正暢・高田剛史・宮田敏・但木壮一郎・下川宏明東北大学循環器内科・循環器 EBM 開発学寄附講座

東北大学大学院循環器内科では関連 24 施設の協力を得て、心血管疾患の進行や心不全の発症予防を目的とした大規模前向き登録観察研究 CHART-2 (The Chronic Heart Failure Analysis and Registry in Tohoku District-2) 研究を行っている。今回 CHART-2 研究に登録された Stage C/D 症例 (N=4,754) において、心不全の基礎疾患別に症例背景と予後を比較検討した。図に示すように特発性心筋症を有する症例は比較的若年であったが、左心機能は不良であり、β 遮断薬の投与率は高かった。また死亡率は平均年齢で 6 歳年上の虚血性心不全症例とほぼ同等であり、その約 3 分の 1 は心不全増悪による死亡であった。現在こうした症例背景を考慮した治療の糸口を見出すべく解析を行っている。

	高血圧性心疾患 N=473	特発性心筋症 N=922	心臓弁膜症 N=1127	虚血性心疾患 N=2232
男性	303 (64.1%)	638 (69.2%)	614 (54.5%)	1749 (78.4%)
年齢 (歳)	69.6 ± 12.6	64.3 ± 13.3	71.6 ± 11.5	70.1 ± 10.7
BMI	24.4 ± 6	23.4 ± 4.8	22.3 ± 5.1	23.6 ± 4.6
高血圧	472 (99.8%)	633 (68.7%)	834 (74%)	1812 (81.2%)
糖尿病	103 (21.8%)	207 (22.5%)	206 (18.3%)	754 (33.8%)
収縮期血圧, mmHg	134.4 ± 19.5	121.1 ± 19.6	125.5 ± 18.1	127.6 ± 18.6
心拍数, bpm	73.6 ± 16.3	72.5 ± 16.4	73.6 ± 15.5	70.9 ± 13.5
左室駆出率, %	61.5 ± 14.8	49.4 ± 16.5	61 ± 14.4	56.4 ± 14.9
β 遮断薬	235 (49.7%)	710 (77%)	375 (33.3%)	1053 (47.2%)
RAS 阻害薬	392 (82.9%)	754 (81.8%)	750 (66.5%)	1591 (71.3%)
死亡率 *				
全死亡	11.2%	12.3%	19.0%	14.3%
心不全死	1.9% (17%)	4.2% (35%)	7.5% (39%)	3.3% (23%)
突然死	0.6% (6%)	0.7% (5%)	0.6% (7%)	1.8% (13%)

* : 中央値 3.1 年間の累積死亡率、心不全死と突然死の()内は死亡全体における割合

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：心サ症，非心サ症における心エコー所見の推移（第 3 報）

お名前・ご施設名：大関道薫、寺本邦洋、寺崎文生、石坂信和

大阪医科大学循環器内科

第 1・2 報で、サ症患者 54 例（心サ症 13 例、非心サ症 41 例）について心エコー所見の推移を比較した検討を報告した。非心サ症の診断がついている症例において、その経過中に、急速な左室駆出率（LVEF）の低下や左室拡張末期径の増大の進行により、心臓の表現型が出現するケースが存在することを明らかにした。

一連の検討の目標は、非心サ症群において、心サ症進展群では、LVEF の低下の速度が速いかどうか、つまり、LVEF の低下の速度は心サ症進展のプレディクタとなるかどうかを明らかにすることにある。一方、非心サ症から、心サ症に進展する症例は多くない。剖検では、心臓へのサルコイドの浸潤は稀な現象ではない。そこで、今回、非心サ症症例において、LVEF が比較的低い症例で、「(真の) 心臓 involvement」が、LVEF より高い症例よりも、より高率である、との仮定の下で検討を行った。

非心サ症患者 47 例を、最終心エコーにおける LVEF (latest LVEF) により 3 分割して検討した。その結果、latest LVEF が低いほど、単位期間あたりの LVEF の低下速度は速く、また、左室収縮末期径の拡大速度は速かった。一方、これらの 3 群で、左室拡張末期径の拡大速度や、中隔厚・後壁厚の変化速度に差を認めなかった。latest LVEF の低値群で心サ症への進展が多いかどうか継続して観察する必要がある。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：肥大型心筋症と不整脈基質：貫壁性再分極時間のばらつきお名前・ご施設名：志賀 剛、鈴木 敦、萩原誠久東京女子医科大学循環器内科

背景：肥大型心筋症患者において心臓突然死の予知・予防は生命予後の改善に必要である。心臓突然死の約 8 割は心室頻拍・心室細動とされているが、肥大型心筋症の突然死予防としてリスク層別化はまだ十分でない。本研究の目的は、肥大型心筋症の不整脈基質として貫壁性再分極時間のばらつきの寄与について検討することである。

方法：植込み型除細動器植込みの適応がある心臓突然死リスクを有する拡張型心筋症 147 例（年齢 54 ± 15 歳、男性 106 例）、肥大型心筋症 48 例（年齢 57 ± 16 歳、男性 40 例）、不整脈源性右室心筋症 9 例（年齢 52 ± 16 歳、男性 5 例）、他の非虚血性心疾患 52 例（年齢 55 ± 15 歳、男性 24 例）を対象とした。また、虚血性心疾患 92 例（年齢 66 ± 9 歳、男性 82 例）も対照として用いた。高分解能心電図を行い、RT dispersion と Tpeak-Tend dispersion を測定し、比較検討した。

結果：肥大型心筋症は他の心筋症に比し、Tpeak-Tend dispersion が有意に長かった。また、虚血性心疾患例と比しても両者は有意に長かった。（表）

結論：心筋症における心室性不整脈機序として肥大型心筋症では貫壁性再分極時間のばらつきを基質とするリエントリーが示唆される。また、肥大型心筋症の新たなリスク指標として Tpeak-Tend dispersion のさらなる検討が望まれる。

	n	RT dispersion (msec)	Tpeak-Tend dispersion (msec)
肥大型心筋症	48	78 ± 28	71 ± 26
拡張型心筋症	147	77 ± 26	$54 \pm 25^{**}$
不整脈源性右室心筋症	9	59 ± 28	$31 \pm 22^{**}$
他の心筋症	52	75 ± 25	$55 \pm 26^*$
虚血性心疾患	92	82 ± 33	$59 \pm 25^{**}$

* $p < 0.05$, ** $P < 0.001$ vs 肥大型心筋症

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル：急性重症心不全に対するミルリノンと低用量β 1 遮断薬の併用療法

—低用量β 1 遮断薬の心筋筋小胞体からのCa²⁺漏出抑制作用—

お名前・ご施設名：小林茂樹、矢野雅文

山口大学大学院医学系研究科 器官病態内科学

【背景】最近、私たちは、頻脈と左室収縮障害を合併した重症急性心不全において、ミルリノンに低容量β 1 遮断薬ランジオロールを併用することが、ミルリノン単独投与よりも心機能をより改善させることを報告した。【目的】このβ 遮断薬の急性効果の機序は、単なる徐拍効果によるものか、あるいは、それ以外の細胞内 Ca²⁺ハンドリング是正効果も関与しているかどうかについて検討した。【方法】正常および高頻度右室ペーシングによるイヌ心不全モデルから単離した心筋細胞を用いて、Ca²⁺ transient と Cell shortening の同時記録、Ca²⁺ spark assay、および筋小胞体 (SR) 内 Ca²⁺ content を計測した。さらに、心筋型リアノジン受容体 (RyR) とフォスホランバン(PLB)のリン酸化の程度を Western Blot 法にて検討した。【結果】正常の単離心筋細胞に、ミルリーラを投与しても、SR から有意な Ca²⁺リークは生じなかったが、イヌ心不全モデルの単離心筋細胞にミルリーラを投与すると、心筋筋小胞体(SR)から有意に Ca²⁺リークが増加した。しかしながら、ミルリーラに低容量ランジオロール併用すると、SR からの Ca²⁺リークは抑制され、その結果、SR Ca²⁺ content は増加し、Ca²⁺ transient と Cell shortening はミルリーラ単独投与より改善した。不全心筋細胞では、低用量ランジオロールは、RyR の過リン酸化を選択的に抑制し、PLB のリン酸化レベルには影響を与えなかった。【総括】急性期重症心不全において、ミルリノンに低容量ランジオロールを併用することによる心機能の改善には、心拍数の低下だけでなく、SR からの Ca²⁺リーク抑制が重要な機序であると考えられた。低用量β 1 遮断薬による SR からの Ca²⁺ リーク抑制には、RyR の過リン酸化の選択的抑制の関与が示唆された。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：ALK1 シグナル下流で働く TMEM100 の意義に関する研究

お名前・ご施設名：斎藤能彦

奈良県立医科大学

肺高血圧症は難治性右心不全を発症する。しかし、肺循環の制御に関わり右心不全の発症・進展に特異的に関与する分子に関しては未だ不明な点が多い。そこで我々はモノクロタリン投与による肺高血圧／右心不全ラットの右室で増減する遺伝子を網羅的に探索した。それらのうち右心不全の右室で左室に比べ選択的に発現が亢進しており、かつコントロールの野生型ラットの右室で左室に比してベースの発現が高い新規遺伝子 *TMEM100* (transmembrane protein 100) に着目し実験を進めてきた。

TMEM100 蛋白は 2 回膜貫通ドメインを有し、脊椎動物間でそのアミノ酸配列が強く保存されているが、その機能に関する報告はない。興味深いことに、*Tmem100* の成体における発現は正常の体内分布では肺(血管内皮)と心臓(特に右室心筋)に発現が認められた。また、肺高血圧モデル動物(モノクロタリン投与や慢性低酸素刺激モデル)の肺でその発現が低下していた。それら発現パターンの変化からも、肺高血圧や右心不全の病態に何らかの関与があると推察された。

我々は培養細胞を用いた実験から TGF β スーパーファミリーのリガンドである BMP9 や BMP10 が ALK1/BMPR2 受容体複合体を通じて *TMEM100* 発現を調節していることを見出した。また、その *TMEM100* の内在性の機能を調べるために *TMEM100* KO マウスを作製したところ血管新生、動脈分化障害および動静脈シャント形成の表現型を呈し胎生 E11.0 日齢前後で胚性致死した。血管内皮における *TMEM100* の重要性を確認するために、Cre-loxP システムを用いて血管内皮特異的 *TMEM100* KO マウスを作製したところ、null KO マウスと同様の血管形成異常で胚性致死することが確認できた。現在、成体での *TMEM100* の機能解明のために出生後に薬剤(タモキシフェン)で全身 *TMEM100* を欠損できるマウスも作製しそれらの表現型の解析を行っている。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・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、國本 聡、田野絢子、笠巻祐二、小船達也、

中井俊子、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

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おり、この肥大型心筋症は、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心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べきかどうか十分なエビデンスはない。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いことが一因となっている。

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。

2011 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。

2012 年 12 月 31 日までに登録を行った非閉塞性肥大型心筋症 64 名のうち 38 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 26 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 13 症例認められた。予後調査では、全症例 96 名中、死亡が 3 名、心不全による入院が 8 症例認められた。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：肥大心におけるテクネチウムセスタミビの保持についての検討

お名前・ご施設名：塩井 哲雄¹、河本 章¹、加藤 貴雄^{1,2}、木村 剛¹

1.京都大学大学院医学研究科 循環器内科学

2.田附興風会医学研究所北野病院 循環器内科

【背景】

Technetium-^{99m} sestamibi (^{99m}Tc-MIBI) は心筋虚血の診断に広く用いられている。^{99m}Tc-MIBI はまず血流依存性に心筋細胞内へ取り込まれるが、その細胞内での保持は培養心筋細胞においてミトコンドリア膜電位に依存することが知られている。

【目的】

肥大心において ^{99m}Tc-MIBI の保持を規定する因子を同定する。

【方法と結果】

〔実験 1〕生体内で ^{99m}Tc-MIBI 保持がミトコンドリア膜電位に依存するかを検討する為、ミトコンドリア膜電位を脱分極させる Carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) を正常ラットに投与した。5mg/kg の CCCP をラットの腹腔内に投与したところ、エコーで計測した心収縮能は低下し、また、³¹P MR スペクトロスコピーによる計測で心臓のリン酸クレアチンおよび ATP は低下した。ラットに ^{99m}Tc-MIBI を静注し、15 分後および 3 時間後に、心臓組織を取り出して組織中濃度を測定した。CCCP を腹腔内投与したラットでは、正常ラットに比べて、^{99m}Tc-MIBI の保持が低下していた。

〔実験 2〕高血圧性心不全モデルであるダール食塩感受性ラットを用い ^{99m}Tc-MIBI の保持を検討した。^{99m}Tc-MIBI の組織中濃度は心重量と負の相関を示し、ANF 遺伝子発現と正の相関を示した。^{99m}Tc-MIBI の心臓一個あたりの保持量は、心不全ラットにおいて正常ラットと同程度であった。

【結論】

肥大心において、ミトコンドリア膜電位の指標である ^{99m}Tc-MIBI の保持量は、正常心と同程度であった。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 炎症細胞による心機能調節機序

お名前・ご施設名： 藤生 克仁・永井 良三

東京大学医学部附属病院

自治医科大学/東京大学大学院医学系研究科

これまでに我々は、心臓マクロファージが左室圧負荷時（TAC モデル）の adoptive response に必要であることを動物モデルにおいて示してきた。今回、近年臨床的に焦点が当てられている右心系負荷に対するストレス応答について炎症系細胞の関与を検討した。マウスにおいて、右室圧負荷時に、右室肥大、右室線維化が生じ、同時にマクロファージをはじめとする炎症細胞の浸潤が認められた。このモデルは少なくとも 2 ヶ月は右室負荷があるものの生存可能であったが、クロドロネートリポソームを用いてマクロファージ除去を試みると、多くのマウスは急性期に完全房室ブロックとなり死亡し、生存したマウスも右心不全で死亡した。このころから、心臓マクロファージは右心系の adoptive response に重要であることに加えて、刺激伝導系の恒常性維持にかかわっていることが明らかとなった。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：虚血性心疾患におけるナチュラルキラーT細胞の役割お名前・ご施設名：絹川真太郎、筒井裕之北海道大学大学院医学研究科循環病態内科学

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。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 (α -GC) 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、さらにこの 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ることを見出した (Circ Res 2012)。また、前回の班会議報告では、心筋虚血再灌流障害モデルにおいても、 α -GC 投与によって梗塞サイズが縮小することを報告した。今回、NKT 細胞欠損マウスを用いて、心筋虚血再灌流障害自体における内因性 NKT 細胞の役割を検討した。野生型マウスでの再灌流後 24 時間で心筋における NKT 細胞は 1.8 倍まで増加した。NKT 欠損マウスの梗塞サイズは野生型と比較して縮小した (45 ± 3 vs 33 ± 2 %, $p<0.05$)。この時、NKT 欠損マウスの心筋において、MPO 陽性細胞および CD3 陽性細胞の浸潤が減少し、TUNEL 陽性細胞も減少した。さらに、IL-10、IFN- γ 、TNF- α などのサイトカインが減少した。野生型マウスに IFN- γ 抗体を投与すると、梗塞サイズは縮小したが、NKT 細胞欠損マウスでは IFN- γ 抗体は影響しなかった。したがって、虚血再灌流障害時における内因性の NKT 細胞活性化は梗塞サイズの増悪に関わっていることが示唆された。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル：ミトコンドリア DNA における心筋リモデリングにおよぼす作用と
その機序の解明

お名前・ご施設名：井手友美 砂川賢二

九州大学循環器内科

（背景および研究の目的）

ミトコンドリア TFAM (Mitochondrial Transcriptional Factor A) は、ミトコンドリア DNA (mtDNA) に非特異的に結合し、mtDNA の維持に重要であることが知られている。TFAM の過剰発現によってマウス心筋梗塞後の予後が改善するがその機序は不明である。本研究では、TFAM による心筋リモデリングの抑制機序を明らかにすることを目的とした。

（方法および結果）

TFAM 過剰発現マウスならびに TFAM 同様に mtDNA コピー数を制御する因子としてミトコンドリア DNA ヘリカーゼである Twinkle 過剰発現マウスを用いた。TFAM および Twinkle 過剰発現マウスはともに mtDNA が 2 倍程度に増加しているが、その増加機序は異なり、ミトコンドリア呼吸鎖機能には影響を及ぼさない。これらのマウスに動静脈シャント(AVF) を作成し、容量負荷による左室拡大モデルを用いた。シャント手術後 1 日目の時点で、LVEDP の上昇、MMP-9 発現増加を認めたが、TFAM, Twinkle は超早期から MMP-9, CTGF 発現を抑制していた。慢性期において、両マウスは同程度に明らかな左室拡大の程度の改善と左室機能の維持を示した。組織においてはミトコンドリア由来の酸化ストレスが抑制されていたが、酸化 mtDNA はむしろ過剰発現マウスにおいて増加していることが示され、mtDNA による直接の消去効果が示唆された。

（結論）

mtDNA の数的増加により心筋リモデリングが改善する。酸化ストレスおよびレドックス関連シグナリングの抑制が寄与していると考えられる。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 拡張型心筋症における心収縮予備能の測定意義

お名前・ご施設名： 名古屋大学大学院 医学系研究科 循環器内科学

奥村貴裕，坂東泰子，室原豊明

【背景・目的】

心肺運動負荷試験(CPX)による最大酸素摂取量(peakVO₂)は心不全における予後予測因子として確立されている。また、ドブタミン(DOB)負荷による左室心筋応答も予後予測に有用であるとの報告も散見される。われわれは、DCM 患者 38 例を対象とした先行研究において、ドブタミン負荷試験による心収縮予備能は、peak VO₂ と有意に相関し、独立した規定因子であることを報告した (*Int J Cardiol* 162; 234–239, 2013)。今回われわれは、標準的心不全治療の下で、これらの指標と臨床予後について検討した。

【方法】

対象は、DCM 患者 52 例。全例 CPX にて症候限界性に運動耐容能評価を行い、peak VO₂ を測定した。同時期に、マイクロマノメータ付きピッグテールカテーテルを左室内腔に留置し、心収縮予備能の指標として、ドブタミン 10 γ 負荷時の LVdP/dt_{max} 増加率(Δ LVdP/dt_{max}(10))を算出した。さらに、心イベントに関する予後評価を行った (平均追跡期間：2.9 年)。

【結果】

平均年齢は 52 歳、左室駆出率および BNP は 33%、178pg/mL であった。 Δ LVdP/dt_{max}(10)は、peak VO₂ と有意に相関した($r=0.38$, $p=0.006$)。また、peak VO₂<18 群では、心イベントが有意に高く(HR=3.18, $p=0.029$)、 Δ LVdP/dt_{max}(10)<60%群でも、高率に心イベントを認めた(HR=3.25, $p=0.026$)。

【結語】

拡張型心筋症において、心肺運動負荷試験における peak VO₂ は、ドブタミン負荷による心収縮予備能を反映し、予後予測に有用な指標と考えられた。

抄録ご寄稿

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：拡張型心筋症の線維化病変の特徴と臨床像の関連

-両心室短軸断面組織標本による解析-

お名前・ご施設名：松山高明，橋村宏美，植田初江

国立循環器病研究センター

臨床検査部 臨床病理科

【背景】

拡張型心筋症(DCM) は heterogeneous な疾患であり、定義である両心腔の拡大と心室壁の菲薄化は肉眼的形態を示しているのみで、実際、組織学的には線維化のパターンや程度は様々である。今回、移植摘出心および剖検心の両心室短軸断面の大組織切片を作製評価し、DCM 症例の線維化のパターンとその臨床像の特徴の関連を解析した。

【対象・方法】 1998 年から 2012 年までに当センターで心移植または病理解剖を施行し DCM と病理学的に診断した 44 症例(男性 33 例、女性 11 例、平均年齢 40.7 才)。ホルマリン固定後の乳頭筋レベルの両心室短軸断面をそのままパラフィン包埋して薄切し、H&E および Masson 染色を施行して、左室の心筋線維化の分布を観察。両心室一面の線維化パターンを、左室壁の全層にびまん性に間質線維化 (diffuse interstitial fibrosis) が広がる群(A 群)と置換性の線維化(replacement fibrosis)を主体とした群 (B 群) に分類し、それぞれの臨床経過や炎症との関連を比較検討した。

【結果】

対象症例は A 19 例、B 群 25 例に分類された。この 2 群間で家族歴は A 群では 7 例(36.8%) 認めたが、B 群では 3 例(12.0%) 認めるのみであった ($p=0.05$)。炎症の関与に関連して、リンパ球浸潤を認めたものは A 群では 6 例 (35.3%) であったが、B 群では 14 例 (58.3%) と有意差はなかったが B 群にやや多かった($p=0.15$)。また、心不全発症年齢、心不全発症から移植または死亡に至る期間に有意な差はなく、臨床経過で致死性不整脈(心室頻拍/細動) が問題となる症例数にも差はなかった。

【結語】

DCM では原因が遺伝子の関与によるものも多いが、置換性の線維化を示すものでは炎症が関与するものが多い可能性が示唆された。心臓 MRI 検査では線維化病変を明瞭に評価できるようになりつつあり、今後さらに DCM の原因とその組織学的表現型としての線維化のパターンの解析をすすめる必要がある。

市民公開講座

心不全ってどんな病気？ 心不全を知る、防ぐ、治す！

日時 2013年2月17日(日) 14:00~16:00

場所 東京医科歯科大学 鈴木章夫記念講堂
東京都文京区湯島1-5-45 M&Dタワー2階

参加費 無料 事前予約 不要

演者

磯部 光章 (東京医科歯科大学)
北風 政史 (国立循環器病研究センター)
福田 恵一 (慶應義塾大学)
平山 篤志 (日本大学)
真茅みゆき (北里大学)
西井 大輔 (玄々堂君津病院)

司会

ムーラン



●交通機関

専用駐車場はありません。
公共交通機関をご利用ください。
・JR 中央線 御茶ノ水駅
・JR 総武線 御茶ノ水駅
・東京メトロ 丸ノ内線 御茶ノ水駅
・東京メトロ 千代田線 新御茶ノ水駅

主催 日本心不全学会
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」班

後援 日本心臓財団・日本医師会・東京都医師会・東京医科歯科大学

お問い合わせ

東京医科歯科大学循環器内科 TEL 03-5803-5231(直通)
〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45
国立循環器病研究センター北風部長室 TEL 06-6833-5012(内線2225)
〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1