

201324025A

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)

特発性心筋症に関する調査研究

平成 25 年度 総括研究報告書

研究代表者 北風 政史

(国立循環器病研究センター)

平成 26(2014)年 3 月

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)

特発性心筋症に関する調査研究

平成 25 年度 総括研究報告書

研究代表者 北風 政史

(国立循環器病研究センター)

平成 26(2014)年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- 特発性心筋症に関する調査研究1
北風 政史

II. 分担研究報告

- 心不全における脳由来神経成長因子(BDNF)の役割4
筒井 裕之
- 尿管障害と糸球体障害の合併は慢性心不全患者の予後不良因子である7
久保田 功
- 本邦における慢性心不全の背景、治療、長期予後における性差9
下川 宏明
- 疾患特異的 iPS 細胞を活用した心筋症の病態解析および創薬スクリーニング12
小室 一成
- 心臓間質細胞と心筋細胞の相互作用による心臓恒常性維持機構とその破綻である心不全発症機序14
永井 良三
- 直接プログラミングによる心臓再生法の開発17
福田 恵一
- ラット自己免疫性心筋炎モデルにおける選択的 IKK 阻害剤の効果の検討19
磯部 光章
- ミトコンドリア病患者における核遺伝子病因検索22
後藤 雄一
- 肥大型心筋症における Force-Frequency Relation 評価の意義25
室原 豊明
- 肥大型心筋症の発症進展における USMG5 の機能的意義解明を目指した研究27
山岸 正和
- 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29
木村 剛
- 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31
中谷 武嗣
1. Proton MR spectroscopy による心筋内脂肪蓄積の評価
2. 肥大型心筋症における冠動脈病変の評価 -心臓 CT を用いた検討-34
斎藤 能彦

| | |
|--|----|
| 低用量β1遮断薬は心筋型リアジン受容体のCa ²⁺ 漏出を抑制し、カルシウムハンドリング異常を 是正する | 37 |
| 矢野 雅文 | |
| 迷走神経による心不全治療の至適条件検討 | 39 |
| 砂川 賢二 | |
| 心不全関連遺伝子の網羅的解析(IV) BWAS (Bigenome Wide Association Study)の重要性 | 45 |
| 豊岡 照彦 | |
| Phosphodiesterase 3A (PDE3A) の心筋保護作用 | 47 |
| 竹石 恭知 | |
| 肥大型心筋症の突然死リスク:左室内圧較差の意義 | 49 |
| 志賀 剛 | |
| FHOD3 変異は拡張型心筋症の原因となる | 52 |
| 木村 彰方 | |
| ヒト心筋組織におけるトロンビンの発現 | 56 |
| 吉村 道博 | |
| 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 | 58 |
| 平山 篤志 | |
| 心室リモデリングにおいて炎症と線維化を制御する分子機構の解明 | 60 |
| 今中 恭子 | |
| 血清 FGF23 値と心臓リモデリングの関連の検討サ | 63 |
| 石坂 信和 | |
| 右室心筋生検標本は拡張型心筋症の左室線維化病変を反映しているか | 68 |
| 植田 初江 | |
| 慢性心不全治療におけるバイオマーカー | 70 |
| 野出 孝一 | |
| | |
| Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 73 |
| | |
| Ⅳ. 附録 | 83 |
| 別刷 | |
| 研究班総会・研究報告会 | |
| 市民公開講座 | |

I. 総括研究報告およびII. 分担研究報告

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））
総括研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

研究代表者：北風 政史（国立循環器病研究センター 臨床研究部 部長）

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。引き続き、特発性心筋症における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目的とした。各分担研究者および研究協力者において、特発性心筋症およびかかる疾患によって惹起される心不全を中心とした課題に対して、臨床研究および基礎研究の様々なアプローチから解明を進めた。また、心臓サルコイドシスの診断基準の改訂や肥大型心筋症における遺伝子変異の解析等をサブグループ研究として進めた。さらに、研究成果の社会への還元として、心筋症患者における大きな課題である突然死をテーマにした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

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、その後三十年以上、特発性心筋症の疫学・病因・病態・診断・治療を明らかにするため、基礎的見地および臨床的見地から、継続して研究が進められてきた。

1995年のWHO/ISFC合同委員会による特発性心筋症の分類定義が、現在広く用いられている。最近になり、特発性心筋症に対する分子生物学および遺伝学による解析が着実に進み、特発性心筋症の病因・病態が徐々に明らかになり、アメリカ心臓病学会やヨーロッパ心臓病学会で新たな特発性心筋症の分類定義が提唱された。

我が国においても、特発性心筋症に関する蓄積された新しいエビデンスを分析評価し、必要なエビデンスを診療に應用することが必要な時期に来ていると思われる。

いままでの本研究班の様々な特発性心筋症に関する研究から、遺伝子異常に関する研究が明らかにされてきた。また、Caハンドリング、p53シグナリング、増殖因子などが重要な役割を演じていることを明らかにされてきた。またiPS細胞の登場で、拡張型心筋症に対する診断や細胞治療の可能性も注目されている。

また、心疾患に対するMRIを中心とした画像診断技術が急速に進んできた。本研究班では、MRIなどの画像診断を駆使し、従来の心筋生検と比較し、MRIの有用性を明らかにしてきた。これらの研究結果を臨床に還元すること

を目標とした。

本研究班のもう一つの重要な使命は、研究成果の社会への還元である。特発性心筋症に関する最新の情報を患者および家族を中心とした国民に積極的に発信していくことを努力する。

本目標を達成するために、前年度に引き続き、研究を進めることを目的とした。

B. 研究方法

特発性心筋症の病因・病態解明および新たな診断・治療法の確立を目指すべく、①特発性心筋症患者の診療実態の把握、②基礎的検討および臨床的検討の両側面から検討を行う。かかる成果を創出するために、本研究班を3層（全体研究、サブグループ研究、個別研究）に分けて研究を進めることを継続して行った。

(I) 全体研究

前年度に引き続き特発性心筋症に対する前向き登録研究を継続的に行うこととした。

(II) サブグループ研究

本研究班では、昨年度に引き続き、サブグループ研究に注力して研究を行う予定である。前年度に計画したサブグループ研究を進め、さらに臨床応用を見据えた研究を試みていくこととした。

(III) 個別研究

従来から継続的に行われてきた特発性心筋症にお

ける病態の解明を目指して、各分担研究者により、臨床研究および基礎研究を用いた解析を進めることとした。

(倫理面への配慮)

臨床研究に関しては、ヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針などに準拠して行うようにした。動物実験に関しても、各施設の倫理委員会の承認のもとに進めることを基本とした。

C. 研究結果

本研究班は、前年度に引き続き、全体研究、サブグループ研究、個別研究の3層に分けて、研究を進めてきた。

(I) 全体研究

前向き登録研究を継続的に進めた。

(II) サブグループ研究

特発性心筋症に関する課題を解決するべく、分担研究者数名で構成し、サブグループとしてこれらの課題に対する検討を進めた。前年度で検討された下記のサブグループ研究に関して、準備および遂行を進めた。

① 肥大型心筋症における遺伝子異常の頻度に関する検討とその予後の全国調査

肥大型心筋症を呈し、家族歴を有する患者において、突然死、心不全死などを高率に発症する患者が存在する。これらの患者の予後は悪く、予後が不良なハイリスク患者の同定を行うことが切に求められている。我が国における家族歴を有する肥大型心筋症における遺伝子異常の頻度を同定するために、国立循環器病研究センター、大阪大学、金沢大学の3施設で検討することとした。

② 心不全患者の再入院を推定する数式化に関する研究

急性心不全患者で入院した後の予後が不良であり、入院後の予後改善が全世界的に大きな課題となっている。心不全患者の再入院リスクを評価できれば、心不全患者の予後改善のみならず、医療費軽減に大きく貢献できる。そこで、心不全患者の再入院を推定する数式を同定し、その

有効性を評価することとした。

③ 心臓サルコイドーシスに関する新たな診断基準策定に向けた検討

心臓サルコイドーシスは、心不全を呈する予後不良な疾患である。心臓移植に至る症例に一定頻度存在していることも知られており、心臓サルコイドーシスの診断は極めて重要と考えられている。しかしながら、心臓サルコイドーシスの確定的な診断法は全世界で存在しないのが現状である。画像診断の進歩などに伴い、心臓サルコイドーシスの診断ガイドラインの改定を目標に、日本心不全学会などとの共同で、新たなガイドライン策定に向けた調査研究を開始することとした。

(III) 個別研究

心不全の新たな標的因子の探索のため、次世代シーケンシングを用いたRNASeqとマイクロアレイ法の比較を行った。マイクロアレイ法の解析により得られた心不全により上昇した遺伝子群の上位は、すべてRNASeq法でも同定が可能であった。一方、RNASeq法で観察された上位20遺伝子の心不全関連候補遺伝子のうち、半数程度がマイクロアレイ法では同定が出来なかった。今後は、両者を合わせた解析を行うことで、従来と異なった候補遺伝子の絞り込みが可能であると思われた。

(IV) 患者に関する還元

特発性心筋症を含めた心不全患者向けの市民公開講座を開催した。今年度は、2014年2月16日(日)14時~16時にて、金沢大学附属病院宝ホールで、「心臓突然死から身を守る：心筋症を理解しよう」を日本循環器学会北陸支部と共催で、開催した。

(V) その他

今年度は、文部科学省再生医療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」と共同で、心筋症患者のiPS細胞を用いた診断法、治療法の開発を進めることとなった。

D. 考察

特発性心筋症に関して、研究班代表として、全体研究、サブグループ研究、個別研究の3グループに分類して研究

を進めてきた。コホートの作成に関しては、一研究事務局では限界があり、共通の基盤整備が望まれるところである。本研究班の年2回の会合は、全国における心筋症に関する進行状況をお互い確認できる点が、極めて重要な点であり、我が国の心筋症の進行を把握できる点でも大事である。本枠組みが今後も継続的になされることを切に希望するところである。

E. 結論

特発性心筋症に関する病因・病態の解明および診断・治療法の開発に向けて、班代表として、個別研究、サブグループ研究、全体研究の調整を進めてきた。また、市民公開講座を行い、患者への知識提供を試みた。

本報告は研究分担者 朝倉正紀と共に行った。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Luo T, Chen BH, Zhao ZL, He NQ, Zeng Z, Wu B, Fukushima Y, Dai M, Huang QB, Xu, DL, Bin JP, Kitakaze M, Liao YL.

Histamine H2 receptor activation exacerbates myocardial ischemia/reperfusion injury by disturbing mitochondrial and endothelial function. *Basic Res Cardiol* 2013;108:342.

2. Tsukamoto O, Kitakaze M.

Biochemical and Physiological Regulation of Cardiac Myocyte Contraction by Cardiac-Specific Myosin Light Chain Kinase. *Circ J.* 2013;77(9):2218-2225.

3. Hayashi T, Amaki M, Kanzaki H, Funada A, Sugano Y, Ohara T, Takahama H, Hasegawa T, Kitakaze M, Anzai T.

A successful case of percutaneous transluminal septal myocardial ablation for mitral regurgitation emerged following mitral valve repair surgery. *Internal Medicine* 2013;52(24):2765-2769.

2. 学会発表

(国内)

1. 高濱博幸、今津美樹、浅沼博司、舟田晃、菅野康夫、大原貴裕、長谷川拓也、朝倉正紀、神崎秀明、安斉俊久、北風政史:

Serum fibroblast growth factor 23 as a surrogate marker in patients with heart failure.

第61回日本心臓病学会学術集会 2013年9月20-22日(熊本)

2. 進藤一紘、朝倉正紀、関庚徳、伊藤慎、高橋彩子、今津美樹、浅沼博司、北風政史
次世代シーケンサーを用いた新規心不全関連遺伝子の探索
第61回日本心臓病学会学術集会 2013年9月20-22日(熊本)

3. 長谷川拓也、朝倉正紀、江口和男、浅沼博司、天木誠、高濱博幸、舟田晃、菅野康夫、大原貴裕、神崎秀明、橋村一彦、友池仁暢、金智隆、安斉俊久、北風政史
BNPは冠動脈疾患発症リスクの代用マーカーとなりうるか
第61回日本心臓病学会学術集会 2013年9月20-22日(熊本)

4. 今津美樹、高濱博幸、浅沼博司、舟田晃、菅野康夫、大原貴裕、長谷川拓也、朝倉正紀、神崎秀明、安斉俊久、北風政史
Elevation of serum fibroblast growth factor 23 in patients with heart failure: A potential clinical significance.
第21回日本血管生物医学学会学術集会 2013年9月26-28日(大阪)

(海外)

1. Imazu, M; Takahama, H; Asanuma, H; Funada, A; Ohara, T; Hasegawa, T; Asakura, M; Kanzaki, H; Anzai, T; Kitakaze, M

Association between plasma indoxyl sulfate levels and cardiac hypertrophy in patients with heart failure.

ESC Congress 2013, Aug.31-Sept.4 (Amsterdam, Holland)

2. Imazu, M; Takahama, H; Asanuma, H; Funada, A; Ohara, T; Hasegawa, T; Asakura, M; Kanzaki, H; Anzai, T; Kitakaze, M

Clinical significance of serum fibroblast growth factor 23 as a surrogate marker of the cardiorenal hemodynamic state

ESC Congress 2013, Aug.31-Sept.4 (Amsterdam, Holland)

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（難治性疾患等克服研究事業（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

—心不全における脳由来神経成長因子（BDNF）の役割—

研究分担者：筒井 裕之（北海道大学大学院医学研究科 循環病態内科学 教授）

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。引き続き、特発性心筋症における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目的とした。各分担研究者および研究協力者において、特発性心筋症およびかかる疾患によって惹起される心不全を中心とした課題に対して、臨床研究および基礎研究の様々なアプローチから解明を進めた。また、心臓サルコイドーシスの診断基準の改訂や肥大型心筋症における遺伝子変異の解析等をサブグループ研究として進めた。さらに、研究成果の社会への還元として、心筋症患者における大きな課題である突然死をテーマにした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

心不全患者は運動耐容能が低下しており、予後の独立した規定因子である。さらに、心不全患者では抑うつ症状を合併することが知られおり、運動療法は運動耐容能を改善するとともに、抑うつ症状も改善することが知られている。脳由来神経成長因子（BDNF）は海馬に存在し、神経細胞の成長、維持、修復に関わっており、うつ病患者では低下していると報告されている。最近の報告では、骨格筋細胞からも産生され、運動トレーニングで増加することが明らかにされている。これらの結果から、心不全患者においても血中BDNFが低下しており、BDNFと運動耐容能が密接に関連しているのではないかと仮説を立て、検証した。さらに、BDNFは心不全の予後のマーカーとなり得ると考えた。

B. 研究方法

心不全患者43名（平均年齢58歳、NYHA I-III度）の血中BDNFを測定し、運動耐容能を含む臨床情報収集とともに、心血管イベントによる全死亡または心不全による再入院をend-point（心事故）として追跡調査した。健常者27名（平均年齢52歳）を対照群とした。

（倫理面への配慮）

すべての被験者に研究の意義、必要性および危険性につき説明し、書面で同意を得た。研究計

画は北海道大学病院の自主臨床試験審査委員会の審査を受け、承認を得た。

C. 研究結果

血中BDNFは健常者と比較して心不全患者で有意に低下した（ 24.6 ± 5.8 vs. 17.5 ± 4.9 ng/mL, $P < 0.001$ ）。単変量解析の結果、最大酸素摂取量（ $r = 0.372$, $p = 0.016$ ）や嫌気性代謝閾値（ $r = 0.324$, $p = 0.043$ ）とBDNFは有意な相関関係があった。一方、心機能やうつ症状とは関連がなかった。また、多変量解析の結果で、BDNFは最大酸素摂取量の独立した規定因子であった（ β -coefficient=5, 95%信頼区間1.64-8.42, $p = 0.004$ ）。平均14ヶ月の追跡で心不全患者18名（死亡8名、心不全入院10名）の心事故が発生した。Cox比例ハザードモデルによる多変量解析では年齢、BNP > 中央値、男性、NYHA 3度、左室駆出率、推定糸球体濾過量 < 中央値、血中BDNF < 17.5 ng/mLのうちBDNFのみが独立した心事故予測因子であった。

D. 考察

これまでに、BDNFは脳・神経領域で研究が行われてきたが、心不全における研究は皆無であった。我々の研究結果では、BDNFが心不全患者の重症度および予後のマーカーとなり得ることを示している。

BDNFは脳の海馬から産生されるが、心臓や骨格筋から分泌されており、血中のBDNFの産生源としてどの臓器

が重要であるかはわかっていない。少なくとも、骨格筋培養細胞での研究結果では、骨格筋細胞から直接放出されることが知られている。一方、心不全の運動耐容能の規定因子が末梢の骨格筋であり、骨格筋のミトコンドリア機能障害によることが、多くの研究で報告されている。BDNFがミトコンドリア機能維持に関わる可能性も指摘されており、BDNFの低下が骨格筋ミトコンドリア機能障害、さらには運動耐容能低下に関わっている可能性を示唆しており、我々の結果を支持するものである。今後、心不全におけるBDNFの役割に関して更なる検討が必要と思われる。

E. 結論

心不全患者において、血中BDNFは低下しており、密接に運動耐容能と関連し、独立した予後規定因子であった。したがって、BDNFは心不全の臨床において重症度を示す重要なバイオマーカーとなり得ると考えられた。

研究協力者：絹川真太郎、福島新

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Hamaguchi S, Kinugawa S, Tsuchihashi-Makaya M, Goto D, [Tsutsui H](#); Weekend versus weekday hospital admission and outcomes during hospitalization for patients due to worsening heart failure: a report from Japanese Cardiac Registry of Heart Failure in Cardiology (JCARE-CARD). *Heart Vessels* 2013 in press
2. Hamaguchi S, Kinugawa S, Tsuchihashi-Makaya M, Goto D, Yamada S, Yokoshiki H, [Tsutsui H](#); Characteristics, management, and outcomes for patients during hospitalization due to worsening heart failure-A report from the Japanese Cardiac Registry of Heart Failure in Cardiology (JCARE-CARD). *J Cardiol* 62, 95-101, 2013
3. Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Abe T, Suga T, Takada S, Kadoguchi T, Okita K, Matsushima S, [Tsutsui H](#); Increased plasma soluble (pro)renin receptor levels are correlated with renal dysfunction in patients with heart failure. *Int J Cardiol* 168;43143-4, 2013
4. Homma T, Kinugawa S, Takahashi M, Sobirin MA, Saito A, Fukushima A, Suga T, Takada S, Kadoguchi T, Masaki Y, Furihata T, Taniguchi M, Nakayama T, Ishimori N, Iwabuchi K, [Tsutsui H](#); Activation of invariant natural killer T cells by α -galactosylceramide ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *J Mol Cell Cardiol* 62, 179-88, 2013
5. Hamaguchi S, Kinugawa S, Tsuchihashi-Makaya M, Matsushima S, Sakakibara M, Ishimori N, Gotto D, [Tsutsui H](#); Hyponatremia is an independent predictor of adverse clinical outcomes in hospitalized patients due to worsening heart failure. *J Cardiol*, 2013 in press
6. Fukushima A, Kinugawa S, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Yokota T, Matsushima S, Abe T, Suga T, Takada S, Kadoguchi T, Katsuyama R, Oba K, Okita K, [Tsutsui H](#); Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels are correlated with exercise intolerance in patients with heart failure. *Int J Cardiol*, 168;e142-4, 2013
7. Tsuchihashi-Makaya M, Matsuo H, Kakinoki S, Takechi S, Kinugawa S, [Tsutsui H](#); J-HOMECARE Investigators: Home-based disease management program to improve psychological status in patients with heart failure in Japan. *Circ J.* 77(4): 926-933, 2013
8. Yamada S, Sakakibara M, Yokota T, Kamiya K, Asakawa N, Iwano H, Yamada S, Oba K, [Tsutsui H](#); Acute hemodynamic effects of adaptive servo-ventilation in patients with heart failure. *Circ J.* 77(5): 1214-1220, 2013
9. Iwano H, Yamada S, Watanabe M, Mitsuyama H, Mizukami K, Nishino H, Yokoyama S, Kaga S, Okada K, Nishida M, Yokoshiki H, Mikami T, [Tsutsui H](#); Strain Rate Dispersion Index Can Predict Changes in Left Ventricular Volume and Adverse Cardiac Events Following Cardiac Resynchronization Therapy. *Circ J.* 77(11):2757-2765, 2013
10. Fujita T, Fujino N, Anan R, Tei C, Kubo T, Doi Y, Kinugawa S, [Tsutsui H](#), Kobayashi S, Yano M, Asakura M, Kitakaze M, Komuro I, Konno T, Hayashi K, Kawashiri M, Ino H, Yamagishi M; Sarcomere gene mutations are associated with increased cardiovascular events in left ventricular hypertrophy. *JACC Heart Failure.* 1(6):459-466, 2013
11. Okita K, Kinugawa S, [Tsutsui H](#); Exercise intolerance in chronic heart failure--skeletal muscle dysfunction and potential therapies. *Circ J.* 77(2): 293-300, 2013
12. Suga T, Kinugawa S, Takada S, Kadoguchi T, Fukushima A, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Takahashi M, Sobirin MA, Ono T, Hirabayashi K, Yokota T, Okita K, [Tsutsui H](#); Combination of exercise training and diet restriction normalizes limited exercise capacity and impaired skeletal muscle function in diet-induced diabetic mice. *Endocrinology* 155;68-80, 2014

2. 学会発表

1. 降旗高明、絹川真太郎、福島新、本間恒章、正木芳弘、阿部隆宏、高田真吾、門口智泰、松島将士、横田卓、沖田孝一、筒井裕之：

Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels are associated with exercise intolerance in patients with heart failure.

第17回日本心不全学会学術集会、2013.11.28

2. Takada S, Kinugawa S, Fukushima A, Homma T, Masaki Y, Furihata T, Katsuyama R, Yokota T, Matsushima S, Abe T, Suga T, Kadoguchi T, Okita K, Tsutsui H:

Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels are associated with exercise intolerance in patients with heart failure.

American Heart Association Scientific Sessions 2013, 2013.11.17 (Dallas, USA)

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（難治性疾患等克服研究事業（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

—尿細管障害と糸球体障害の合併は慢性心不全患者の予後不良因子である—

研究分担者：久保田 功（山形大学医学部 内科学第一講座 教授）

研究要旨

腎機能障害の存在は、慢性心不全の臨床的な予後に密接に関連していることが知られている。糸球体障害と尿細管障害の双方が腎機能障害の進展に関連する一方で、心不全の進行に与える尿細管障害の意義は明らかでなかった。尿細管障害を尿中 $\beta 2$ ミクログロブリン/尿中クレアチニン比（UBCR）で評価し、急性心筋梗塞患者で検討すると、UBCRの上昇とMACEの出現の関連を明らかにした。続いて、当院に入院した慢性心不全患者で同様の検討を行なった。UBCRの上昇が、NYHA分類の重症度や退院後の心不全急性増悪の出現頻度と関連があり、Coxの比例ハザードモデルにおいてUBCR上昇が心血管イベントに対する独立した危険因子であることを明らかとした。腎機能障害の指標となる、尿細管障害、尿中微量アルブミンの存在、糸球体濾過量の低下の各因子の相乗効果に関して検討を行うと、各因子の蓄積によって心不全の急性増悪による再入院率が上昇していた。これらの一連の結果から、腎機能障害の存在と心不全の増悪がこれまで考えられていた以上に密接に関連性を持つことを意味し、腎機能障害の詳細な検討と介入が、慢性心不全患者の臨床症状や臨床経過の改善につながる可能性があることが示唆された。

A. 研究目的

心不全は心筋障害に伴い進展することが明らかであるが、Angiotensin converting enzyme (ACE) 阻害薬や β ブロッカー、抗アルドステロン薬の使用により、慢性心不全患者の予後は改善されつつある。一度発症した心不全は、上記の薬剤で受容体活性を抑制しても、緩徐に心機能障害が進行していくことから、増悪に関与する因子を明らかにしていくことは重要な意義がある。

近年、腎機能障害の存在と心不全の進行の関連が着目されている。腎機能障害には糸球体障害、尿細管障害、尿中アルブミン排泄亢進の各々が寄与しているが、それらの存在と心不全の進展の関連を詳細に検討はなされていなかった。そこで、本研究では、心不全の進行に与えるこれらの因子の意義に着目し臨床研究を行った。

B. 研究方法

① 当院に、急性心筋梗塞で入院した患者連続 89 例を対象とした。尿細管障害を尿中 $\beta 2$ ミクログロブリン/尿中クレアチニン比（UBCR）で評価し尿中アルブミンを尿中アルブミン/尿中クレアチニン比（UACR）、糸球体障害をeGFRで評価し、これらの腎機能障害とMACEの関連を検討する先行研究を行った。

② 慢性心不全の精査、加療目的で入院し、酸性尿、重症の弁膜症、3か月以内のACSの既往などを除外基準とした患者を対象として、腎機能障害と心不全の臨床背景や予後と比較検討を行った。UBCR, UACR, eGFRを指標とし患者を分類し、エンドポイントを心血管死、もしくは心不全悪化による再入院とした。

（倫理面への配慮）

超音波心臓図検査、血液生化学検査などは、一般診療範囲で行ない、患者負担の増加はない。また、使用済み検体は、施設の取り決めに従い、廃棄物の物理的封じ込めを徹底している。心不全患者の研究プロトコルは山形大学医学部倫理委員会で承認を受けて、患者からは文書で同意を得ている。

C. 研究結果

急性心筋梗塞患者での検討では、UBCRの上昇が退院後の心不全の出現と密接に関連があることが明らかとした。続いて、同様の検討を慢性心不全患者で行ない、UBCRの上昇が、NYHA分類の重症度、心血管イベントの出現頻度と関連があることを明らかにした。Coxの比例ハザード

モデルにおいても UBCR 上昇が、心血管イベントに対して独立した危険因子であることが明らかとした。さらに、UBCR 上昇、UACR 上昇、eGFR 低下の各因子の相乗効果に関して検討を行うと、各因子の蓄積によって心不全の急性増悪による再入院率が上昇していくことを明らかとした。

D. 考察

高齢化に伴い腎機能障害を合併する心不全患者は増加している。我々はこれまで、一般住民を対象とした臨床研究において、腎機能障害の進展に、糸球体障害、尿細管障害、尿中微量アルブミンなどの存在が関与することを報告してきた。しかし、これらの腎機能障害を構成する各因子の心不全進展に対する意義について検討はなされていなかった。本研究において、これまで主に着目されてきた UACR 上昇や eGFR の低下のみならず、尿細管障害の存在が心不全患者の病態形成に関与していることが明らかとなり、腎機能障害の病態に応じた治療法が心不全の新規治療ターゲットとなり得る可能性が示唆されたと考えられる。

E. 結論

心不全の病態形成には、尿細管障害、尿中微量アルブミン排泄、糸球体濾過量の低下が独立して関与していることが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Funayama A, Shishido T, Netsu S, Narumi T, Kadowaki S, Takahashi H, Miyamoto T, Watanabe T, Woo CH, Abe J, Kuwahara K, Nakao K, Takeishi Y, Kubota I. Cardiac nuclear high mobility group box 1 prevents the development of cardiac hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc Res.* 2013 ;99:657-64.
2. Otaki Y, Watanabe T, Shishido T, Takahashi H, Funayama A, Narumi T, Kadowaki S, Hasegawa H, Honda S, Netsu S, Ishino M, Arimoto T, Miyashita T, Miyamoto T, Konta T, Kubota I. The impact of renal tubular damage, as assessed by urinary β 2-microglobulin-creatinine ratio, on cardiac prognosis in patients with chronic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2013;6:662-8.

3. Funayama A, Shishido T, Miyashita T, Netsu S, Otaki Y, Arimoto T, Takahashi H, Miyamoto T, Watanabe T, Konta T, Kubota I. Renal tubulointerstitial damage is associated with short-term cardiovascular events in patients with myocardial infarction. *Circ J.* 2013;77:484-9.

2. 学会発表

1. Narumi T et al, Cardiac-specific overexpression of high-mobility group box 1 attenuates cardiovascular apoptosis and mitochondrial dysfunction during the pathogenesis of doxorubicin cardiomyopathy. American Heart Association Scientific Sessions 2013, Dallas; Nov 2013
2. Kadowaki S et al, Relationship between uric acid and myocardial damage in general population. American Heart Association Scientific Sessions 2013, Dallas; Nov 2013
3. Otaki Y et al, Ubiquitin E3 ligase ITCH ameliorates reactive oxygen species-induced cardiomyopathy through interaction with thioredoxin-interacting protein. American Heart Association Scientific Sessions 2013, Dallas; Nov 2013

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（難治性疾患等克服研究事業（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

—本邦における慢性心不全の背景、治療、長期予後における性差—
研究分担者：下川 宏明（東北大学大学院 循環器内科学分野 教授）

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。引き続き、特発性心筋症における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目的とした。各分担研究者および研究協力者において、特発性心筋症およびかかる疾患によって惹起される心不全を中心とした課題に対して、臨床研究および基礎研究の様々なアプローチから解明を進めた。また、心臓サルコイドーシスの診断基準の改訂や肥大型心筋症における遺伝子変異の解析等をサブグループ研究として進めた。さらに、研究成果の社会への還元として、心筋症患者における大きな課題である突然死をテーマにした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

慢性心不全とは慢性の心筋障害により心臓のポンプ機能が低下し、末梢主要臓器の酸素需要量に見合うだけの血流量を拍出できない状態、と定義される。心不全の性差に関しては、米国の有名なコホート研究である Framingham Heart Study の 1971 年の報告において、16 年の観察期間中に男性 2336 人中 81 人、女性 2873 人中 61 人が心不全を発症し、発症後 5 年間での死亡率は男性 62%、女性 42% と、女性の方が心不全の発症頻度が低いのみならず発症後も予後が良好であった、と報告されている。以後慢性心不全における性差について世界中で様々な報告がなされてきたが、本邦の慢性心不全における性差の検討はまだまだ不十分である。そこで本研究では本邦の慢性心不全症例の背景、治療、長期予後における性差について検討を行った。

B. 研究方法

対象は東北大学が東北地方の 24 の関連施設と協力して行っている CHART2 研究（Chronic Heart Failure Analysis and Registry In the Tohoku District 2）に登録された Stage C/D、すなわち慢性心不全の症例を対象とした（図 1）。すなわち CHART-2 研究に登録された 10219 人の患者のうち慢性心不全患者である Stage C/D の 4736 人を対象とし、症例背景と治療、心血管事故発生頻度における性差を比較検討した。心血管事故のエンドポイントは全死亡、心不全入院、心筋梗塞、脳卒中の 4 つとした。

図 1 : CHART-2 study

Chronic Heart Failure Analysis and Registry In the Tohoku District 2

1. 参加施設: 東北地区 24 基幹病院
2. 登録対象: 全ての慢性心不全患者とそのハイリスク症例を連続登録
3. 登録症例数: 10,219 例
4. 追跡: 2006年-2010年に登録を行い、現在も追跡調査を継続中

Shiba, Shimokawa et al. Circ J 2011;75:823-33.



（倫理面への配慮）

本研究は 2009 年に東北大学倫理委員会の承認を受けて開始した。以後、追跡期間を通じて倫理的問題は生じなかった。

C. 研究結果

図 2, 図 3 に症例背景を示す。男性の方が高い数値は青、女性の方が高い数字は赤で示す。年齢は男性が 67.7 歳、女性が 71.5 歳と女性の方が高齢であった。NYHA 重症度は女性の方が高く、背景として虚血性心疾患の比率が少なく、PCI や CABG の既往が少なかった。また動脈硬化の危険因子である糖尿病、喫煙は男性の方が多く、高血圧、脂質異常症については差が認めず、弁膜症の比率は女性の

方が多かった。左室駆出率については女性の方が大きく、また BNP は女性の方が高値であった。また投薬状況は、β 遮断薬、スタチンの投与が男性で多く、利尿薬の投与が女性で多く、RAS 系阻害薬については差を認めなかった。

図2: 背景比較(1)

| | 男性 (N=3,234) | 女性 (N=1,502) | P-value |
|----------------|-----------------|-----------------|---------|
| 年齢(歳) | 67.7±12.1 | 71.5±12.3 | <0.001 |
| BMI | 24±3.5 | 23.3±4.5 | <0.001 |
| NYHA III-IV(%) | 9.3 | 15.6 | <0.001 |
| 背景疾患 | | | |
| 虚血性心疾患(%) | 54.1 | 32.2 | <0.001 |
| 心筋症(%) | 19.7 | 18.9 | 0.533 |
| 弁膜症(%) | 8.1 | 15.6 | <0.001 |
| 既往症 | | | |
| PCH(%) | 38.1 | 20.2 | <0.001 |
| CABG(%) | 10.6 | 5.7 | <0.001 |
| 高血圧(%) | 77.9 | 76.8 | 0.441 |
| 糖尿病(%) | 36.4 | 31.7 | 0.002 |
| 脂質異常症(%) | 73.3 | 70.7 | 0.066 |
| 喫煙(%) | 23.4 | 6.6 | <0.001 |
| 心筋梗塞(%) | 40.3 | 19.9 | <0.001 |
| 脳梗塞(%) | 3.5 | 3.7 | 0.879 |
| 悪性腫瘍(%) | 12.3 | 10.3 | 0.049 |

Sakata, Shimokawa et al. Circ J 2014;78:428-35.

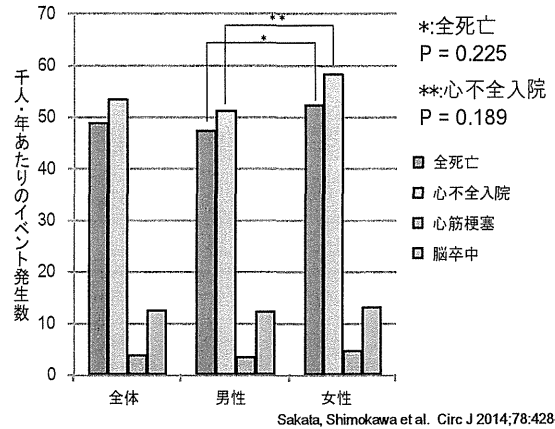
図3: 背景比較(2)

| | 男性 (N=3,234) | 女性 (N=1,502) | P-value |
|----------------------|-----------------|-----------------|---------|
| 収縮期血圧(mmHg) | 126.1±18.9 | 126.7±19.8 | <0.001 |
| 心拍数(回/分) | 71.7±14.6 | 74.1±15.5 | <0.001 |
| 左室駆出率(%) | 55.5±15.2 | 60±15.4 | <0.001 |
| ヘモグロビン(g/dl) | 13.6±2 | 12.3±2.2 | <0.001 |
| eGFR(ml/min/1.73 m2) | 61.6±24.5 | 58.3±22.8 | <0.001 |
| BNP(pg/ml) | 184.7±275.6 | 219.6±323.8 | <0.001 |
| 投薬歴 | | | |
| アスピリン(%) | 62.3 | 47 | <0.001 |
| スタチン(%) | 39.3 | 35.4 | 0.011 |
| β遮断薬(%) | 51.3 | 43.9 | <0.001 |
| RAS阻害薬(%) | 78.6 | 76.4 | 0.101 |
| 利尿薬(%) | 49.8 | 59.7 | 0.001 |

Sakata, Shimokawa et al. Circ J 2014;78:428-35.

図4に各エンドポイントの発生率を示す。1000 人年あたりの死亡数は男性 47.3、女性 52.4 で有意差は認めず、心不全入院、心筋梗塞、脳卒中の発生についても同様で、明らかな性差を認めなかった。

図4: エンドポイント発生率



Sakata, Shimokawa et al. Circ J 2014;78:428-35.

図5に Cox 比例ハザードモデルによる解析結果を示す。多変量解析の補正に使用した因子を下段に示す。いずれも単変量解析では男女間に有意差は認めなかったが、全死亡に関しては補正後ハザード比が 0.79 と、男性に比べ女性のリスクが低かったが、心不全入院についてはこのような差は認めなかった。

図5: COX解析

COX比例ハザードモデルによる解析

| | 全死亡 | | |
|----|-------|-----------|---------|
| | HR | 95%CI | P-value |
| 男性 | 1.0 | - | - |
| 女性 | 0.79 | 0.64-0.98 | 0.031 |
| | 心不全入院 | | |
| | HR | 95%CI | P-value |
| 男性 | 1.0 | - | - |
| 女性 | 1.03 | 0.77-1.37 | 0.859 |

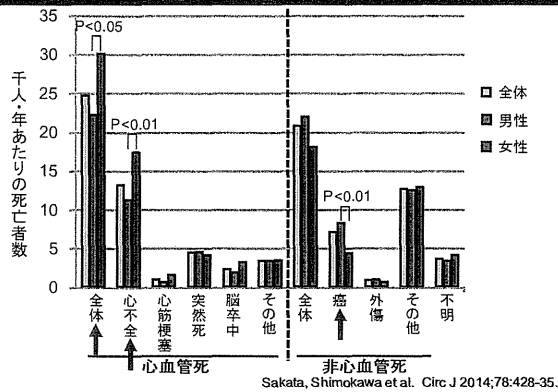
補正に使用した因子:

性別、年齢、BMI、既往歴(高血圧、糖尿病、脂質異常症、喫煙)、左室駆出率、収縮期血圧、心拍数、ヘモグロビン、クレアチニン、BNP、投薬(β遮断薬、RAS阻害薬、スタチン)

Sakata, Shimokawa et al. Circ J 2014;78:428-35.

図6に男女間で、1000 人年あたりの死亡者数を死因毎に比較した結果を示す。1000 人年あたりの心血管死亡、特に心不全死亡数は男性に比較して女性で大きであった一方で、1000 人年あたりの癌による死亡者数は男性の方が大きであった。その他の死因について性差は認めなかった。

図6: 死因比較



以上まとめると今回の検討では女性の慢性心不全患者は男性と比べ高齢であり、虚血性心疾患が少なく弁膜症が多く、重症例が多かった。RAS 阻害薬の使用頻度に性差はなかったが、女性ではβ遮断薬の使用が少なく利尿薬の使用が多かった。背景調整後は女性の方が予後は良好であったが、1000 人年あたりの実死亡数には性差は認めず、死亡原因は男性と比較して女性では心血管死、心不全死が多いことが明らかとなった。

D. 考察

今回の検討では、本邦の慢性心不全症例においては背景調整後には女性の予後が良好となるもかかわらず、1000 人年あたりの実死亡数では男女同等であった。男性と比較して女性ではBNP 値が高く、NYHA 分類上も重症度が高い患者が多く、心血管死が多い事を考慮すると、女性の心不全患者は男性患者と比べてより重症の患者が多いものと考えられ、そのため実臨床の現場では、千人年あたりの死亡者数に男女で差が消失したものと考えられる。

また今回、1000 人年あたりの実死亡数に性差がなかったが、これまでの報告では実死亡数でも女性が少ないとする報告が多い。しかしながらこれらの報告のほとんどでは重症度には性差がなく、この点が今回の検討と異なっている。対象が異なるため一概には言えないが、社会の産業化、高齢化により疾病構造が変化し、女性の心不全が重症化し、死亡頻度が男女で同等になりつつあるのかもしれない。また興味深いことに収縮能の保たれた心不全のみを比較した場合死亡率に性差がないとする報告がある。我々のコホートでもその約3分の2がEF50%以上の収縮能の保たれた心不全であり、収縮能の保たれた心不全の増加などの変化もまた、女性の慢性心不全症例の1000 人年あたりの実死亡数が増加に寄与している可能性がある。

E. 結論

本邦の慢性心不全患者において、女性患者は男性と比較して背景が重症であり、1000 人年あたりの実死亡数には性差を認めなかった。今後性差を十分に考慮した慢性心不全治療法の確立が必要であると考えられる。最後に本研究・発表に御協力いただいた東北大学、および東北心不全協議会のメンバーに感謝申し上げる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takada T, Sakata Y, Miyata S, Takahashi J, Nochioka K, Miura M, Tadaki S, Shimokawa H; on behalf of the CHART-2 Investigators. Impact of elevated heart rate on clinical outcomes in patients with heart failure with reduced and preserved ejection fraction: a report from the CHART-2 Study. *Eur J Heart Fail.* 2013 Dec 31. doi: 10.1002/ejhf.22. [Epub ahead of print]
2. Hao K, Takahashi J, Ito K, Miyata S, Sakata Y, Nihei T, Tsuburaya R, Shiroto T, Ito Y, Matsumoto Y, Nakayama M, Yasuda S, Shimokawa H; on behalf of the Miyagi AMI Registry Study Investigators. Emergency Care of Acute Myocardial Infarction and the Great East Japan Earthquake Disaster. *Circ J.* 2014 Jan 21. [Epub ahead of print]
3. Sakata Y, Miyata S, Nochioka K, Miura M, Takada T, Tadaki S, Takahashi J, Shimokawa H. Gender differences in clinical characteristics, treatment and long-term outcome in patients with stage c/d heart failure in Japan. *Circ J.* 2014 Jan 24;78(2):428-35.
4. Miura M, Sakata Y, Miyata S, Nochioka K, Takada T, Tadaki S, Takahashi J, Shiba N, Shimokawa H; CHART-2 Investigators. Usefulness of combined risk stratification with heart rate and systolic blood pressure in the management of chronic heart failure. A report from the CHART-2 study. *Circ J.* 2013;77(12):2954-62.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

上記、該当なし

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）） 分担研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

一疾患特異的 iPS 細胞を活用した心筋症の病態解析および創薬スクリーニング—
研究分担者：小室 一成（東京大学大学院医学系研究科 循環器内科学 教授）

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。引き続き、特発性心筋症における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目的とした。各分担研究者および研究協力者において、特発性心筋症およびかかる疾患によって惹起される心不全を中心とした課題に対して、臨床研究および基礎研究の様々なアプローチから解明を進めた。また、心臓サルコイドーシスの診断基準の改訂や肥大型心筋症における遺伝子変異の解析等をサブグループ研究として進めた。さらに、研究成果の社会への還元として、心筋症患者における大きな課題である突然死をテーマにした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

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。本研究の目的は心筋症患者から iPS 細胞を樹立し、iPS 細胞を分化誘導させた心筋細胞を解析することで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を開発することである。

B. 研究方法

医療機関の倫理委員会による承認を得た上で、研究対象者にインフォームドコンセントを実施し、自由意思による承諾を得る。研究対象者の血液を採取し、センダイウイルスベクターあるいはエピソームベクターを用いて初期化因子を細胞内に導入し、iPS 細胞を樹立する。iPS 細胞を心筋細胞へと分化誘導させた後に、免疫染色等を用いた形態解析、遺伝子発現解析やプロテオミクス等の生化学的解析、カルシウムイメージング等の生理学的解析を実施し、心筋症患者特有の表現型を同定する。

（倫理面への配慮）

患者由来 iPS 細胞を利用した研究については機関の倫理

委員会に承認を得た上で実施する。企業との共同研究の際は、改めて倫理委員会に患者由来 iPS 細胞の取り扱いについて承認を得る。個人情報保護には細心の注意を払い、ヘルシンキ宣言に則って人権を尊重した研究を行う。

C. 研究結果

平成 25 年度には大阪大学医学部において、Fabry 病および拡張型心筋症症例から iPS 細胞を樹立した。また、東京大学において健常ボランティアを対象として、コントロールとなる iPS 細胞を樹立した。さらに、肥大型心筋症患者から樹立した iPS 由来心筋細胞の表現型をハイコンテントアナリシス機器で解析した結果、従来報告されていた心筋細胞面積の増大を確認し、形態に関する他パラメータの異常が再現性をもって出現することを明らかにした。

D. 考察

肥大型心筋症、拡張型心筋症、Fabry 病患者からも問題なく iPS 細胞樹立および心筋細胞分化誘導が可能であることが明らかになった。肥大型心筋症患者から樹立した iPS 細胞および iPS 由来心筋細胞を用いて疾患表現型を再現することに成功したが、同一個体から樹立した iPS 細胞のクローン間差や個体間差も少なからず存在することから、スクリーニング系を確立する上では他のパラメータと複合して解析を行うことが必要と考えられた。

E. 結論

心筋症患者から iPS 細胞を樹立し、分化誘導した心筋細胞を用いることで疾患表現型を再現することに成功した。今後は症例数を増やすとともに、予後予測、薬剤選択、新規薬剤開発などより臨床へのフィードバックを念頭に置いた上で研究計画を進める必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tsukamoto Y, Mano T, Sakata Y, Ohtani T, Takeda Y, Tamaki S, Omori Y, Ikeya Y, Saito Y, Ishii R, Higashimori M, Kaneko M, Miwa T, Yamamoto K, Komuro I. A Novel Heart Failure Mice Model of Hypertensive Heart Disease by Angiotensin II Infusion, Nephrectomy, and Salt Loading. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 305:1658-1657, 2013

Matsumoto S, Sakata Y, Suna S, Nakatani D, Usami M, Hara M, Kitamura T, Hamasaki T, Nanto S, Kawahara Y, Komuro I. Circulating p53-responsive microRNAs are predictive indicators of heart failure after acute myocardial infarction. *Circ Res*.113:322-326,2013

Oka T, Akazawa H, Naito AT, Komuro I. Angiogenesis and cardiac hypertrophy: maintenance of cardiac function and causative roles in heart failure. *Circ Res*.114:565-571,2014

2. 学会発表

(国内)

小室一成、心不全の発症機序の解明から新しい治療へ、第 50 回日本臨床分子医学会学術集会・特別講演 3、4/12-13、東京国際フォーラム

小室一成、変貌する心不全の概念と治療、第 49 回日本内科学会北海道支部生涯教育講演会、6/23、北海道大学

(海外)

小室一成、Regenerating Injured Myocardium“Cardiac Angiogenesis and Myogenesis”、Keystone Symposia 2013、Snowbird Resort Keystone USA、4/7-12

小室一成、第 30 回国際心臓研究学会 (ISHR) 日本部会総会・Special Lecture (座長)、La Valencia Hotel San Diego USA、6/29

小室一成 Signaling in Heart Failure Wnt Signaling the Failing Heart ISHR XXI WORLD CONGRESS・Session4、San Diego USA、6/29-7/4

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（難治性疾患等克服研究事業（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

—心臓間質細胞と心筋細胞の相互作用による心臓恒常性維持機構とその破綻である心不全発症機序—

研究分担者：永井 良三

（自治医科大学 学長 ・ 東京大学医学部 循環器内科 客員教授）

研究要旨

心筋細胞は心臓を構成する細胞の中では、約半分程度であり、間質細胞とよばれる心臓線維芽細胞や炎症系細胞などが残りを占める。本研究では、この間質の細胞に着目し、心臓の恒常性維持にどのようにかかわっているのかを解明し、さらに、どのようにその恒常性維持機構が破綻し心不全を発症するかを検討した。特に、心臓内に存在する心臓マクロファージに着目し、その増殖が恒常性の維持、心不全の発症にかかわっていることを明らかにした。心臓のマクロファージは、心筋細胞との相互作用を介して、重要な働きをしており、また、心臓のマクロファージの増加は心系シグナルや液性因子を介して多臓器連携の中で制御されており、今後新しい診断、治療の標的となりえる。

A. 研究目的

心臓を構成する細胞は心筋細胞に加えて、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞を中心とする冠動脈系細胞、心臓線維芽細胞、炎症系細胞と多種にわたる。従来、心機能を検討する実験においては、心筋細胞を中心に解析が行われているが、近年、心筋細胞以外の細胞、いわゆる間質の細胞の役割が注目されており、本研究室から心臓線維芽細胞の心不全における重要性を報告してきた。本研究計画では、心臓の間質の細胞のうち、心臓マクロファージに着目して、心臓恒常性における機能解析、および心筋細胞と心臓マクロファージ間の相互作用の破綻が心不全の発症に関係するかどうかを検討し、新たな心臓の恒常性維持機構の解明および破綻メカニズムを解明から、新しい治療標的を検索することを目的とする。

B. 研究方法

野生型マウスにおいて、クロドロネートリポソームを用いて、マクロファージを除去し、心臓のマクロファージを減少または障害を加えた状態で圧負荷心不全モデル（TAC）を作成し、心機能への影響を検討する。また、我々はすでに、TAC 時に心臓マクロファージの数を規定する因子として、腎臓由来の物質 X を同定している。この物質 X の上流遺伝子である転写因子 KLF5 を腎臓特異的にノックアウトした腎臓特異的 KLF5 遺伝子改変マウスを用

いて、腎臓と心臓の恒常性維持機構を TAC モデルにおいて解明する。さらに、TAC モデルによる左心不全モデルに加えて、肺動脈結紮モデルによる右心不全モデルも作成し、左心不全と右心不全における心臓マクロファージの関与、心筋細胞の反応性の差を検討する。

（倫理面への配慮）

動物実験については、東京大学内の動物実験法規に基づいて、実験計画書の提出、審査の結果、適正な実験計画であると判断されており、承認された実験計画書に基づいて、実験を行っている。

C. 研究結果

クロドロネートリポソームを投与したマウスは、それだけで、心筋細胞の代謝機構の異常を呈しており、特に TCA サイクルが働きづらくなっており、心臓のマクロファージは、心臓の恒常性維持に必要であることが判明した。さらに、このメカニズムは心臓マクロファージ由来の分泌タンパク A が心筋細胞に作用して、心筋細胞の代謝を調節していることが明らかとなった。さらに、右心不全モデルにおいては、心臓マクロファージを除去しておく、完全房室ブロックで早期に死亡することを見出した。このことは、心臓の刺激伝導系においても、心臓マクロファージが、その恒常性維持機構に関係していることを示したものである。

腎臓特異的な転写因子 KLF5 ノックアウトマウスは、TAC 時に腎臓から分泌タンパク X が分泌されなくなるため、心臓のマクロファージが増加せずに、早期に心不全で死亡することを見出した。また、この分泌メカニズムは、心臓から脳—交感神経系を介して腎臓に分泌シグナルが入ることを明らかとし、心臓・脳・腎臓連携が存在し、心臓の恒常性維持に重要な働きをしていることが明らかとなった。最後に心臓マクロファージ増加の機序として、心臓内に存在する新規増殖機序 S を介してマクロファージが増加することをつきとめた。

D. 考察

今回の検討から、心臓マクロファージが心筋細胞および心臓内の刺激伝導系細胞との相互作用を介して、心臓の恒常性維持および圧負荷等の心臓ストレスに対するストレス応答に重要な働きをしていることが明らかとなり、新たな診断、治療の標的として注目すべきであると思われた。さらに、この心臓マクロファージと心筋細胞との相互作用は分泌タンパクによって構成されており、この分泌タンパクも今後、治療の標的として有望であると思われた。また、心臓マクロファージのストレス応答時の増加メカニズムとして、腎臓の関与および新規心臓内メカニズムを明らかとしたことで、心腎連携の新たなメカニズムを同定し得た。この心腎連携は神経シグナルを介しており、今後、心不全治療として、脳や腎臓も研究標的とすべきあると考えられた。

E. 結論

心臓マクロファージは心筋細胞との相互作用によって、心筋代謝、刺激伝導性を調節しており、心臓の恒常性維持およびストレス応答に関与している。特に、心不全、房室ブロックの発症に関与している可能性が高く、今後、新たな治療標的となることが予想される。また、心腎連携の心臓における最終のエフェクターも心臓マクロファージおよびその心臓内での増殖メカニズムであることを同定し得たため、心腎連携のさらなる研究の突破口になることが予想される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Kato N, Kinugawa K, Imamura T, Muraoka H, Minatsuki S, Inaba T, Maki H, Shiga T, Hatano M, Yao A, Komuro I and Nagai R Trend of Clinical Outcome and Surrogate Markers During Titration of beta-Blocker in Heart Failure Patients With Reduced Ejection Fraction. *Circ J* 77 (4): 1001-8. 2013.
- Okada J, Sasaki T, Washio T, Yamashita H, Kariya T, Imai Y, Nakagawa M, Kadooka Y, Nagai R, Hisada T and Sugiura S Patient Specific Simulation of Body Surface ECG using the Finite Element Method. *Pacing Clin Electrophysiol* 36 (3): 309-21. 2013.
- Nagai R, Kinugawa K, Inoue H, Atarashi H, Seino Y, Yamashita T, Shimizu W, Aiba T, Kitakaze M, Sakamoto A, Ikeda T, Imai Y, Daimon T, Fujino K, Nagano T, Okamura T, Hori M and Investigators J L Urgent management of rapid heart rate in patients with atrial fibrillation/flutter and left ventricular dysfunction. *Circ J* 77 (4): 908-16. 2013.
- Fujiu K, Nagai R, Contributions of cardiomyocyte-cardiac fibroblast-Immune cell interactions in heart failure development, *Basic Res in Cardiol*, 108(4)357, 2013
- Shen H, Eguchi K, Kono N, Fujiu K, Matsumoto S, Shibata M, Oishi-Tanaka Y, Komuro I, Arai H, Nagai R, Manabe I, Saturated Fatty Acid Palmitate Aggravates Neointima Formation by Promoting Smooth Muscle Phenotypic Modulation., *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 2013, 33(11):2596-607
- Fujiu K, Nagai R, Fibroblast-mediated pathways in cardiac hypertrophy, *J Mol Cell Cardiol.*, 2014, in press, doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.01.013
- Fujiu K, Wang J, Nagai R, Cardio-Protective Function of Cardiac Macrophage, *Cardiovasc Res*, 2014, in press
- ##### 2. 学会発表
- Fujiu K, Manabe I, Shibata M, Nagai R, Komuro I, GM-CSF mediates the cardiac adaptive response through the heart-brain-kidney interaction, 第77回日本循環器学会学術集会, 横浜, 2013
- 藤生克仁, 真鍋一郎, 柴田宗彦, 永井良三, 小室一成, マクロファージを軸として細胞間・臓器間連携による心臓恒常性維持機構, 病態生理シンポジウム「臓器連携1」, 第23回日本病態生理学会, 東京, 2013