
研究助成業績報告集

2014（平成 26）年度 指定研究助成

公益財団法人 循環器病研究振興財団

序

高血圧・糖尿病・脂質異常症などの生活習慣病が原因で起こる心臓病・脳卒中は、今や我が国における国民総死亡のなかでトップの座を占め、国民医療費の最大部分を占めています。

公益財団法人循環器病研究振興財団は、これらの循環器病の成因、病態、疫学、予防、診断、治療などの研究を効果的に推進することを目的として、1987年(昭和62年)に設立され、現在に至っています。

ここに、当財団の2014年度(平成26年度)における研究助成の対象となった指定研究課題の研究報告を集録し、関係各位のご参考に供するとともに、今後の循環器病研究のより一層の進展に深い理解を寄せて頂くことを期待するものであります。

平成27年9月

公益財団法人循環器病研究振興財団・理事長
(国立循環器病研究センター・名誉総長)

山 口 武 典

* 総目次 *

No	研究課題	研究代表者	頁
1	血管病変の早期診断治療における画像処理情報技術の向上に関する研究	飯田 秀博	1
2	メタボリックシンドロームの動脈硬化症の発症・進展に及ぼす影響に関する基礎的、臨床的研究	宮本 恵宏	5
3	致死性不整脈の病態とその治療法および抗不整脈の薬剤反応性に関する研究	鎌倉 史郎	8
4	和食の脳保護・脳精神機能改善、及び、肥満・糖脂質代謝へ与える効果の検討	柳本 広二	12
5	二管球搭載型マルチスライスCT・320列マルチスライスCTを用いた心筋灌流評価法の検討	内藤 博昭	16
6	脊髄障害防止の観点からみた胸部下行・胸腹部大動脈瘤外科治療ないしはステントグラフト治療体系の確立	湊谷 謙司	18
7	心不全に対するレスベラトロールの効果に関する研究	安斉 俊久	22
8	脳卒中および認知症の機序の解明と新しい治療戦略の開発	光山 勝慶	25
9	AESCULON（非侵襲心拍出量モニター）を用いた脳心血管疾患合併維持透析患者の透析条件と血圧維持療法の適正評価	吉原 史樹	34
10	心房細動を合併する僧帽弁弁膜症患者に対する低侵襲手術の臨床試験	小林 順二郎	37
11	大動脈手術に関する感染症の検討	湊谷 謙司	41
12	様々な心血管疾患における酸化ストレスの関与に関する基礎および包括的大規模臨床検討	小川 久雄	44

血管病変の早期診断治療における画像処理の

向上に関する研究

—医療機器ソフトウェアの実用化に向けて—

国立循環器病研究センター研究所・画像診断医学部部長

飯田 秀博

I. 緒言

種々の化合物を放射性同位元素で標識し、この体内分布を画像診断するのが核医学検査である。真の放射能濃度分布を表す画像を正しく再構成し、かつその体内動態を詳細に解析することで、局所組織の循環や種々の基質代謝量、受容体結合能、さらには分子プロセスの各要素を数値として（定量的に）提示することができると考えられる。実際には技術はまだ成熟しておらず、装置毎に異なる補正がなされるが常に正しい画像が得られているわけではない。本研究では、一線の臨床機関に設置される既存の SPECT 装置を使って機能画像の定量化を可能にする技術開発を行い、医療技術として確立させることを目的とした。放射線診断薬の分布を正確に画像再構成するソフトウェアと、脳内の動態を数理解析することで機能画像の定量化を実際に診療の中で利用可能にする基盤整備を行ってきた。具体的には、まず ^{123}I -標識 iodoamphetamine を投与後の SPECT 撮像データから安静時および血管拡張薬投与後の局所脳血流量の定量画像を計算するプログラムパッケージ (QSPECT/IMP-DTARG/ARG) を実用化し、さらに撮像プロトコルの標準化を踏まえてマニュアル等を整備し、2004 年より国内の臨床機関での利用を支援してきた。検査のクオリティを確認するために、できる限り匿名化したデータを積極的に回収してデータのクオリティ確保に必要な要素を明らかにしてきた。本年度は、このデータの取りまとめを行った。

また、 ^{123}I -FP-CIT (イソフルパン) がドーパミントランスポーター (DaT) 診断薬として臨床利用が開

始されたことを受けて、この機能画像定量化パッケージ (QSPECT/DaT) を開発し、その基本的性能評価を行った。

II. 対象・方法

5施設に設置された 11 の SPECT 装置とコリメータの組み合わせにおいて、すでに提示してきた一連の手順(1)に従って、①装置の絶対感度キャリブレーション実験、②一様円筒ファントムによる画像均一性の確認実験、さらに③線条体を含む頭部を模倣するファントム(2)を使った実験を実施した。線条体ファントム実験においては、線条体 specific binding ratio (SBR) 値を定量し、内容放射エネルギーから定められる SBR 真値との一致を確認し、さらにそれぞれの装置に搭載される画像再構成結果との比較を行った。装置搭載ソフトウェアにおいては、再構成手法の再現性を図る目的で、全て Filtered-back Projection (FBP) 法を採用し、この時輪郭抽出に基づく一様 μ 分布を仮定した吸収補正法を適用、散乱線補正を行わない手順を採用した。

上記の画像計算においては、全て QSPECT/DaT Ver. 2.14.12 を利用した。この時、散乱線補正には当該研究者が利用してきた transmission-dependent convolution subtraction (TDCS) 法を採用し、この時のコリメータ突き抜けはコリメータ毎に求めたパラメータで補正した(3, 4) (図 1)。

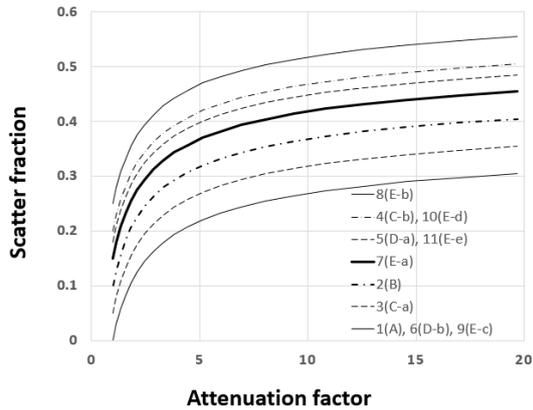


図1 当該画像再構成プログラムで利用した散乱線補正のパラメータ。コリメータ毎にコリメータダウンスキャッタの影響を実測し補正を行っている。

FP-CIT 診断薬の臨床治験データを利用して、健康者群とパーキンソン症候群、およびアルツハイマー病を含む健康者群とレビー小体認知症群との弁別能について評価した。

III. 結果

絶対値検定された ^{123}I -溶液シリンジのプロジェクトン画像を図2に示す。使用したコリメータによっては ^{123}I が発生する高エネルギー γ 線の突き抜けの効果で、スター状、あるいはX状に裾野を示すことがあり、この程度もコリメータに大きく依存している。図1の補正データはこの効果を補償するものである。

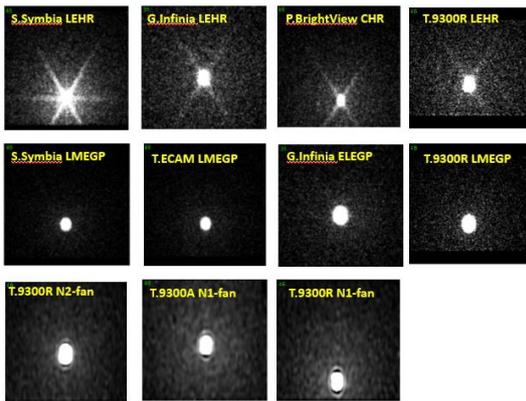


図2 検定された ^{123}I 溶液シリンジを使った絶対感度キャリブレーション実験における、プロジェクトンのコリメータ依存性。カラースケールはピークの1.0%に設定した

臨床試験に先立って装置画像の確認を行うことを目的として行った一様円筒ファントムの画像プロファイルの比較を図3に示す。汎用の低エネルギーコリメータを利用する場合には、吸収補正のみ実施し

た再構成画像は中央で盛り上がり、全体に過大評価となる。散乱線を補正することでこれが抑制されるが、さらに突き抜けの効果を補正することでほぼ一般的な画像が得られる。一方、高エネルギー γ 線の除去を目的に開発された ^{123}I 専用コリメータを利用した場合には、中央部分の盛り上がりは小さく、したがって補正量も少ない。突き抜けの影響がごく僅かであることから、散乱線補正のみ行うことでほぼ一般的な放射能分布が再現された。また、コリメータに依存せずファントム内の放射能濃度は、真値 (10.6kBq/mL) に一致した。

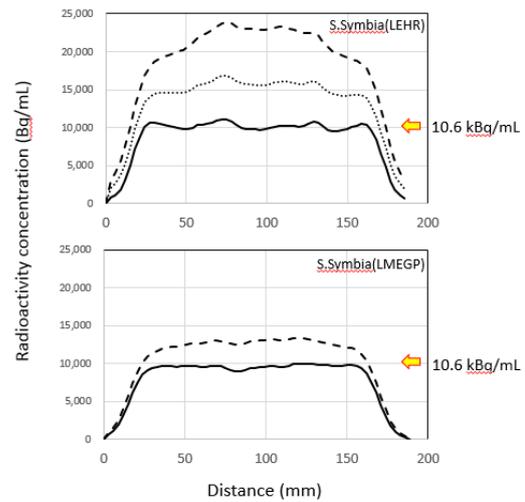


図3 円筒一様ファントムを使った画質の一様性と定量精度評価実験の結果

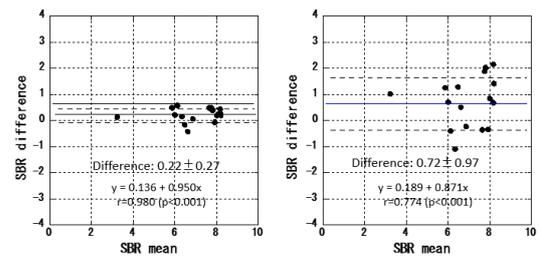


図4 線条体ファントムを使って得た SBR 値の真地との比較。左：QSPECT 再構成、右：機器搭載の FBP 再構成の結果。

線条体ファントムにおいては、線条体内および脳全体の放射能濃度から SBR 値の精度検証が可能であった。第4図に示す通り、QSPECT 画像再構成により求めた画像は装置・コリメータ間のバラつきが小さく、 $\pm 5\%$ の精度で一致していた。一方、各装置に内蔵されている FBP 再構成法では大きくバラつき、QSPECT プログラムの優位性が確認された。装置ソフトで正確な定量がなされない理由は、ペネトレーションの補正がなされていないこと、および

頭部輪郭抽出が不完全であることが理由であると考えられた。

5 図には、QSPECT プログラムを用いて計算した線条体ファントムの DVR 画像を示す。コリメータ開口度の補正を行ったことで画像コントラストが上昇し、また線条体領域の詳細な構造が認められた。

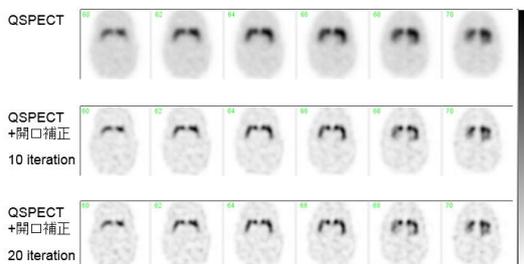


図5 線条体における QSPECT/DeT プログラムの計算結果。従来の 2D 再構成 (上段) に加えて、コリメータ開口度の補正を行ったことで画像コントラストが上昇し、また線条体領域の詳細な構造が認められる (中段、下段)。

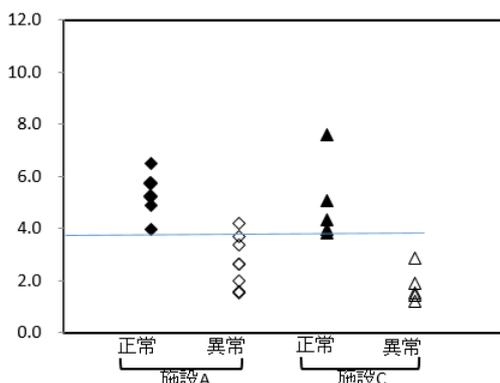


図6 QSPECT 画像再構成に基づく SBR 値の比較。A と C の 2 施設において健常者群と疾患群とがよく弁別でき、かつほぼ同一の閾値により診断支援がなされることが確認された。

図 6 には、国内 4 施設で行われた治験のうち、QSPECT 再構成が可能な SPECT 装置を用いた A 施設と C 施設のデータについて検討した結果を示す。健常者群 (A および C 施設で共に 5 名) と疾患群 (A および C 施設でそれぞれ 8 名および 5 名) とで、SBR 値に施設間差は認められず、一定の閾値 (およそ 4.0) が設定であった。

IV. 考察

SPECT 画像の定量化は、施設を超えて正常値やデータベース、指標の閾値を共有するうえで不可欠である。従来のコンセンサスとして、そもそも SPECT は装置依存性が極めて少ない。なぜならば、吸収、散乱は体内で生じる現象であり、装置は関与しないからである。ただし ^{123}I 標識 SPECT 製剤の場

合は、ペネトレーション (高エネルギー γ 線によるコリメータの隔壁透過) が誤差要因となるため、装置ごとに異なる調整が必要となる。また、部分容積効果も重要な誤差要因である。

近年の研究により、SPECT 画像のコントラストは画像構成法およびプログラムに依存して異なることが指摘されている⁽⁵⁾。われわれは、同一の画像再構成ソフトウェアを施設間で共有し、Bolt ら^(2, 6, 7) が行ったコアラボ解析を実現させるべく、QSPECT/DeT プログラムを開発し、今回の検討ではその妥当性が確認できたと考える。

QSPECT 画像再構成では、正確な頭部輪郭抽出法に基づく吸収減弱係数 (似) マップを用いることにより、精度の高い散乱線補正および吸収補正が可能である。画像再構成の後、リスライス処理 (現在は手動で実施) を施したうえで、立体的な関心領域を自動で適用する。これらにより、部分容積効果が少なく正確で、かつ施設間で再現性の高い SBR 値 (定量的指標) を算出する。SBR 値などとともに結果レポートとして表示する DVR (分布容積比) 画像は、バックグラウンドを 1 として正規化したもので、視覚的な診断をサポートするものである。

本 QSPECT/DeT プログラムの妥当性は、すでに以下のように確認されている。すなわち、欧州における正常例の検討により、QSPECT/DeT プログラムは、他のワークステーションソフトウェアに比べ、SBR 値を正確に計測し、加齢に基づく現象をより精度よく確認することができた。これは QSPECT/DeT の機能のうち、輪郭抽出の精度の高さによるものである。

V. 結論

精度の高い輪郭抽出法、および骨の影響も考慮した補正により、画像再構成から SBR 値、DVR 画像の計算がほぼ全自動で行える QSPECT ダットスキャンモードは、施設間でのデータ共有に有用であると期待された。H27 年 2 月になされた改正医機法に基づき、医療機器ソフトウェアとしてそれぞれ認証および承認を得るために十分な基礎データが得られたと考えられる。

VI. 研究協力者

中川原 謙二 国立循環器病研究センター・脳卒中統合イメージングセンター・部長
 銭谷 勉 国立循環器病研究センター研究所・室長

VII. 参考文献

- 1) Iida H, Nakagawara J, Hayashida K, et al. Multicenter evaluation of a standardized protocol for rest and acetazolamide cerebral blood flow assessment using a quantitative SPECT reconstruction program and split-dose ^{123}I -iodoamphetamine. *J Nucl Med.* Oct 2010;51:1624-1631.
- 2) Tossici-Bolt L, Dickson JC, Sera T, et al. Calibration of gamma camera systems for a multicentre European (1)(2)(3)I-FP-CIT SPECT normal database. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging.* Aug 2011;38:1529-1540.
- 3) Iida H, Narita Y, Kado H, et al. Effects of scatter and attenuation correction on quantitative assessment of regional cerebral blood flow with SPECT. *J Nucl Med.* Jan 1998;39:181-189.
- 4) Kim K, Watabe H, Shidahara M, et al. SPECT Collimator Dependency of Scatter and Validation of Transmission-Dependent Scatter Compensation Methodologies. *IEEE Trans Nucl Sci.* 2001;48:689-696.
- 5) Hapley S, Soret M, Ferrer L, et al. Quantification in spect: Myth or reality? A multi-centric study. In: Seibert JA, ed. 2004 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record, Vols 1-7; 2004:3170-3173.
- 6) Fleming JS, Bolt L, Stratford JS, Kemp PM. The specific uptake size index for quantifying radiopharmaceutical uptake. *Physics in medicine and biology.* Jul 21 2004;49:N227-234.
- 7) Tossici-Bolt L, Hoffmann SM, Kemp PM, et al. Quantification of ^{123}I FP-CIT SPECT brain images: an accurate technique for measurement of the specific binding ratio. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging.* Dec 2006;33:1491-1499.

メタボリックシンドロームの動脈硬化症の発症・進展に及ぼす影響に関する基礎的、臨床的研究

国立循環器病研究センター予防健診部・部長
予防医学・疫学情報部・部長
バイオバンク・副バンク長
循環器病統合情報センター・センター長
宮本 恵 宏

I. 緒 言

我が国は、生活習慣の変化により、肥満、耐糖能障害、脂質代謝異常といった代謝性動脈硬化疾患の有病率が増加している。これらの危険因子は重積しやすく、それぞれの重症度は小さくても集積により、疾患リスクが高まることが知られ、この危険因子の集積した病態はメタボリックシンドロームと呼ばれ、心血管病の危険因子として注目されている。

肥満の増加に伴い、従来のやせ型の糖尿病患者に加え、肥満を基盤としてメタボリックシンドロームのコンポーネントを有する患者が増加していることが予想される。そしてこのような糖尿病患者は、細小血管障害だけではなく、高率に大血管障害を合併することが予想され、心血管病予防の観点からもこれらの患者の病態を解明する必要がある。

そこで、今回は、研究1：基礎インスリン療法が血管内皮障害に及ぼす影響の検討、研究2：MRIによる冠動脈高輝度プラーク・イメージングの冠動脈疾患予測能に関する検討を行った。

II. 研究1：基礎インスリン療法が血管内皮障害に及ぼす影響の検討

1) 背景

糖尿病治療の重要な目的の一つは動脈硬化の進展を予防することである。これを達成するためには良好な血糖コントロールを行うことが必要とされる。現在血糖管理において基礎インスリンアナログを用いた血糖管理が広く用いられている。この基礎インスリンアナログは現在数種類が臨床的に用いられて

いるが、基礎的な検討で体重増加や細胞増殖能に関して異なった作用を有する可能性が示唆されている。^{1,2} このことから、個々のインスリンにより動脈硬化進展に与える影響が異なる可能性が考えられる。

2) 対象・方法

国立循環器病研究センター通院中で 20-70 歳の HbA1c 6.9%以上の 2 型糖尿病患者 32 名を対象にデテミル及びグラルギン開始群に無作為割付けし、各薬剤 6 ヶ月間のクロスオーバー試験を行った。試験期間中の血糖コントロール目標は HbA1c 6.9%以下とし、インスリンの調節のみで行った。主要評価項目は上腕動脈超音波検査による血管内皮機能%Flow mediated vasodilatation: %FMD)、副次評価項目として hsCRP、PAI-1、VEGF、レプチン、アディポネクチンを測定した。(図 1)

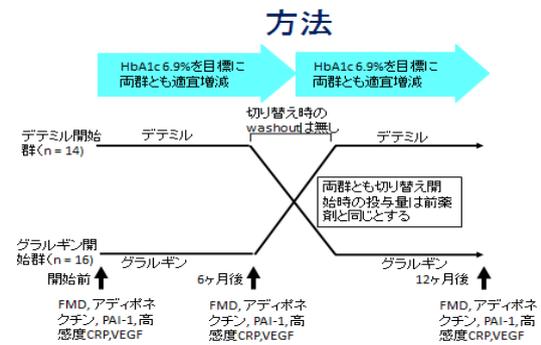


図1 研究のプロトコル

2) 結果

デテミル開始群で1名が通院を自己中断、1名が6ヶ月後に同意を撤回したため、デテミル開始群14名、グラルギン開始群16名で解析を行った。グラルギン投与により有意な体重増加が生じたが、デテミルでは有意な体重増加は認められなかった。一方血糖コントロールに関してはグラルギンの方が優れる傾向にあった。 $\%FMD$ はデテミルでは有意な増加を認めたが、グラルギンでは増加傾向にあるが有意ではなかった(図2A)。またPAI-1はデテミル群でのみ有意な低下を認めた(図2B)。レプチン/アディポネクチン比はグラルギン群では有意に上昇していたが、デテミル群では有意な変化を認めなかった。(図2C) 高感度CRPは両群で増加を認めた。

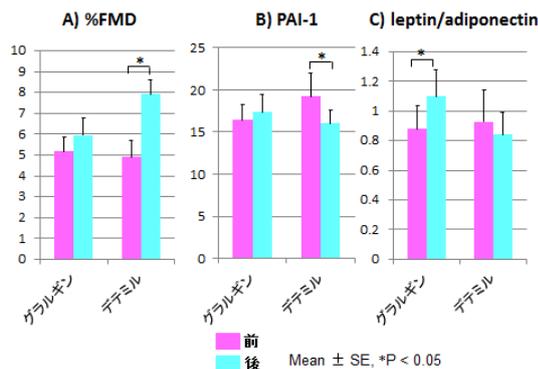


図2 薬剤投与前後での評価指標

3) 考察

今回の結果は血管内皮機能保護にはデテミルの方が優れている可能性を示唆している。インスリングラルギンはIGF-1受容体への結合がヒトインスリンより強く、また細胞増殖作用が強いことが報告されている(1)。またデテミルはadipogenesis作用がヒトインスリンより弱いことが報告されており(2)、これらの作用が臨床的に両インスリンの血管内皮保護作用の差につながった可能性が示唆される。

4) 結論

基礎インスリンを用いた血糖管理は血管内皮機能保護に有用であるが、その作用は個々のインスリンアナログで違いがある可能性がある。今後更なる検討

が必要である。

Ⅲ. 研究2: MRIによる冠動脈高輝度プラーク・イメージングの冠動脈疾患予測能に関する検討

1) 背景

我々はこれまでの検討で、冠動脈高輝度プラークが不安定病変ではないかと考えていたが、高輝度プラークと冠動脈疾患イベントとの関連を示す研究はない。そこで、我々は前向き観察研究を行いその関連を検討した。

2) 対象・方法

冠動脈CT検査を受けた虚血性心疾患患者568名に心臓MRI検査をおこなった。非造影T1強調画像で高輝度プラークのplaque-to-myocardium signal intensity ratio (PMR)を計測し、その後の冠動脈イベントを追跡した。

2) 結果

追跡期間中(中央値55ヶ月)に55名に冠動脈イベントを観察した。ROC解析により冠動脈イベントを予測するPMRのカットオフ値は1.4であった。多変量Cox regression解析では、冠動脈疾患の既往があることハザード比は3.56(95%信頼区間1.76-7.20, $p < 0.001$)であったが、PMRが1.4以上であることは冠動脈既往、他のリスク因子に独立した予測因子であった。PMRが1.4以上で冠動脈既往がある群はもっともイベントのリスクが高く、PMRが1.4未満で冠動脈既往がない群がもっともリスクが低かった。PMRが1.4以上で既往のない群はPMRが1.4未満で既往のある群と同じリスクであった。(図3)

この結果は2014年の米国心臓学会で報告し、米国心臓病学会雑誌に報告した³。

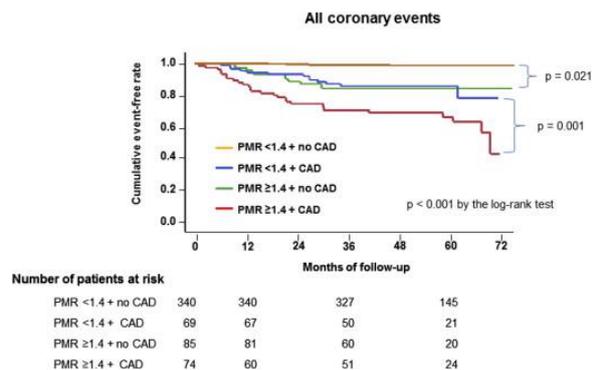


図3 PMR=1.4 と冠動脈疾患既往の有無による4群間の冠動脈疾患イベントの生存曲線

3) 考 察

MRI による冠動脈不安定プラークの評価は冠動脈疾患の既往のない群の中からハイリスク群を検出することができる。本研究によって非造影 T1 強調画像で高輝度に描出される冠動脈プラークの臨床的意義が明確になった。

4) 結 論

PMR が 1.4 以上の冠動脈プラークは冠動脈発症の強い予測因子である。

5) 参考文献

- 1) Kurtzhals P1, Schäffer L, Sørensen A, Kristensen C, Jonassen I, Schmid C, Trüb T. Correlations of receptor binding and metabolic and mitogenic potencies of insulin analogs designed for clinical use. *Diabetes*. 2000;49(6):999-1005.
- 2) Böhm A1, Staiger H, Hennige AM, Haas C, Machicao F, Häring HU. Effect of insulin detemir, compared to human insulin, on 3T3-L1 adipogenesis. *Regul Pept*. 2008;151(1-3):160-3.
- 3) Noguchi T, Kawasaki T, Tanaka A, et al.: High-Intensity Signals in Coronary Plaques on Non-contrast T1-Weighted Magnetic Resonance Imaging as a Novel Determinant of Coronary Events. *J Am Coll Cardiol*. 2014 63(10):989-99.

IV. 研究協力者

- 楨野久士 国立循環器病研究センター・糖尿病・代謝内科・医長
- 野口暉夫 国立循環器病研究センター・心臓血管内科・部長
- 西村邦宏 国立循環器病研究センター・循環器病統合情報センター・室長

致死性不整脈の病態とその治療法および 抗不整脈薬の薬剤反応性に関する研究

—Brugada 症候群における ICD 植込み例の長期予後と合併症に関する研究—

国立循環器病研究センター・臨床検査部長
鎌倉史郎

I. 緒言

Brugada 症候群は 12 誘導心電図の V1~V3 誘導で coved 型あるいは saddleback 型の心電図を呈し、主に夜間に心室細動(VF)を起こす疾患である(1)。本疾患は 1992 年に Brugada らにより報告されて以降、この 20 年間で、病態、疫学、遺伝的背景、臨床的特徴、予後に関して多数の知見が蓄積されている(2-4)。Brugada 症候群では、突然死を予防するための治療法として植込み型除細動器(ICD)が第一選択となるが、これまで様々なコホート研究で、致死的不整脈の発生に比較して、不適切作動、リード不全、感染などの合併症が高い頻度で出現することが指摘されている(5)。昨年度の研究では、Brugada 症候群における VF 発症率が加齢に伴って減少し、70 歳以降では新規の VF 発症がないことを報告した。本年度は、Brugada 症候群における ICD 植込み例の長期予後、ICD の作動状況に加え、合併症の頻度を調査した。

II. 対象・方法

1992 年から 2013 年までに当院を受診し、ICD 植込みを施行した Brugada 症候群、連続 120 例を対象とした(男性:115 例, 平均年齢: 46.6 ± 12.2 才)。非侵襲的検査(病歴聴取、身体所見、12 誘導心電図、87 点体表面電位図、運動負荷試験、加算平均心電図、心臓超音波検査、CT、MRI)、ならびに侵襲的検査(冠動脈造影、エルゴノビン/アセチルコリンによる冠攣縮誘発試験、右室/左室造影)を行い、不整脈源性右室心筋症を含めた器質的心疾患がないことを確認した。

Brugada 症候群の診断

全例で baseline もしくは薬剤負荷後に、12 誘導

心電図と高位肋間(第 2、3 肋間)の V1 から V3 誘導心電図を記録し、coved 型の Type 1 心電図を 1 つでも認める場合に、Brugada 症候群と診断した。Type 1 心電図は coved 型で 2mm 以上の J 点、あるいは ST 部分の上昇と、T 波の陰転化とを伴う場合と定義した(2)。薬剤負荷にはピルジカイニド (1mg/kg)、ジソピラミド (1.5mg/kg)、あるいはフレカイニド (2mg/kg)のいずれかを用いた。心電図は全て 25mm/秒、10mm/mV で記録し、V1-V3 の J 点の時相は同時記録した他の誘導(主として V5、V6 誘導)における QRS 終末点に一致する時相とした。

臨床所見、検査

全例で診断時の年齢、性別、初回の VF 時の年齢、45 歳以下の突然死の家族歴、上室性頻拍の有無、ICD 適応等の臨床的特徴を調査した。観察期間中の VF 再発はデバイスの interrogation により、VF もしくは心室頻拍(VT)に対して適切なショックもしくは antitachycardia pacing が行われた場合とした。経過観察の開始時点は VF 既往のある群では VF 発症日とし、それ以外の群では当院通院開始日とした。デバイスチェックを含んだ経過観察は 3 か月から 6 か月毎に行い、全ての VF 再発時の年齢、上室性頻拍の発症、ICD 合併症を調査した。Electrical storm は 24 時間以内に 3 回以上の VF を認めるものと定義した。リード不具合とは急性期のリード穿孔やリード dislodge を除く、外科的処置を要する慢性期での重大なリード障害と定義した。

III. 結果

1. 臨床的特徴と ICD 植込み適応

120 例中、85 例(71%)が baseline で spontaneous type 1 心電図を呈し、残りは薬剤負荷で type 1 心電

図を認めた。ICD は、36 例(30%)の心室細動の既往例 (VF 群)、54 例(45%)の失神既往例(失神群)、30 例(25%)の無症候(無症候群)例に植え込まれていた。無症候群では、EPS による VF 誘発(26 例)、45 歳未満の突然死の家族歴(2 例)が ICD の適応とされていた。なお、2 例は type 1Brugada 型心電図を呈し、医師、患者が ICD 植込みを希望したために適応とされていた。診断時に、上室性頻拍：心房細動(AF)、心房粗動(AFL)、心房頻拍(AT)が 11 例(9.2%)に認められた。

2. 予後

平均観察期間は 101.9 ± 67.5 か月で、最終観察時の平均年齢は 55.2 ± 13.3 歳であった。VF による適切作動は経過中 31 例(26%)に認め、2 例(2%)が死亡(自殺)した。経過中の VF は、VF 群で有意に多く、観察開始 10 年での VF による適切作動率は VF 群で 52.7%、失神群で 26.7%、無症候群 4.0%であった。既報のとおり、VF 発症年齢のピークは 30 歳台で、以後加齢と共に頻度は減少し、全例が 70 歳未満で VF を発症していた(平均年齢 45.0 ± 12.1 歳、27-69 歳)。70 歳以降での新規 VF 発症はなかったが、虚血性心疾患を有する 2 例に再発性の VF を認めた。上室性頻拍は診断時には 11 例(9.2%)で認められたが、経過観察期間中に新たに 17 例で発症し、最終観察時には 28 例(23.3%)で上室性頻拍を認めた。それらは AF: 22 例、AFL: 5 例、房室結節回帰性頻拍: 1 例であり、上室性頻拍の平均発症年齢は 52.3 ± 12.7 歳であった。

3. ICD 合併症

観察期間中、39 例(33%)で合計 50 件の ICD 関連合併症を認めた。各グループ間で合併症の頻度に有意差はなく、経過観察開始 10 年間の合併症発生率は全体で 37.0%であり、VF 群(48.1%)、失神群(30.0%)、無症候群(35.2%)間で有意な差を認めなかった(図 1)。無症候群では、不適切作動が適切作動の頻度を大きく上回った。不適切作動が 25 件(上室性頻拍 11 件、洞性頻拍 5 件、リード断線 3 件、T 波 oversensing 3 件、電磁干渉または myopotential oversensing 3 件)あり、リード不具合 12 件(リード断線 7 件、リード穿孔 3 件、リード dislodge 2 件)、デバイス感染 10 件、デバイスの機械的刺激による疼痛によるデバイス位置変更を 3 件で認めた。

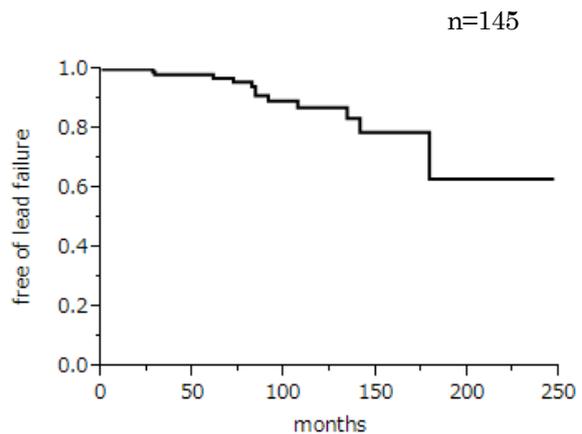


図 1 リード関連合併症の出現状況

上室性頻拍による不適切作動は、上室性頻拍を有する 28 例中 11 例(39%)に認められた。10 例が AF で、1 例が AFL によるものであった。8 例は経過中に不適切作動を契機に新たに発見された AF であった。不適切作動を起こした時の平均年齢は、 57.4 ± 11.3 歳と比較的高齢であり、その頻度は加齢と共に増加する傾向が認められた。

リコールリード(Sprint Fidelis, Riata) (n=124)

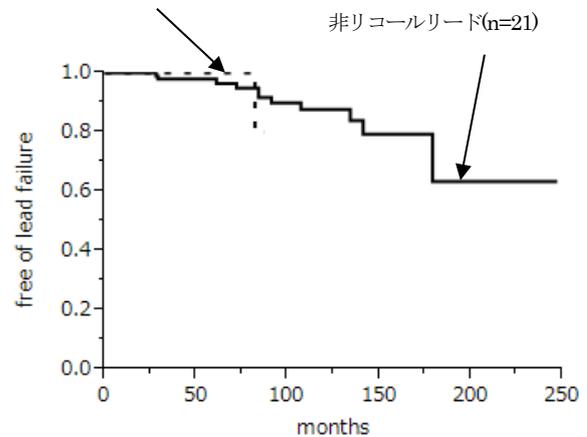


図 2 リコールリードとそれ以外のリードの断線発生状況の比較

なお、リード断線を 10 例(8.3%)に認めたが、それらはリード植込み後、平均 98 ± 41 カ月の遠隔期に発生していた。リード断線は経年的に増加し、植込み後 10 年での発生率は 12.9%であった。Sprint Fidelis や Riata リードといった recall リードを 21 本(14.5%)使用していたが、それ以外のリードと recall リードとの間で断線の発生率に差は認めなかった(図 2)。10 例全例にリードの追加を行ったが、2 例にリード抜去を要した。

IV. 考 察

ICD は Brugada 症候群における突然死予防の第一選択治療とされているが、適切作動を上回る頻度で合併症が認められることがこれまでに報告されている (5-7)。一般に Brugada 症候群では、ICD 植込み後は良好な予後が期待できるため、中年で植込みが行われた場合、以後数十年にわたる ICD の管理が必要となる。本研究においても、不適切作動、リード不具合、デバイス関連感染に罹患するリスクが加齢とともに高くなる傾向が認められた。

一方、上室性頻拍は Brugada 症候群の診断時には 11 例(9%)にしか認められなかったが、102 ヶ月の経過期間中に 17 例で新たに頻拍が出現した。また、8 例では不適切作動を契機に頻拍が発見された。それら上室性頻拍の主な機序は AF、AFL であるが、その平均発症年齢は 52.3 ± 12.7 歳と、中年期以降に発生ピークを認めた。しかがって Brugada 症候群では、加齢に伴って上室性頻拍による不適切作動のリスクが高くなると考えられた。このため、不適切作動予防を目的とした至適頻拍プログラミングや、remote monitoring の活用が高齢者では重要になると考えられた (5, 6, 8, 9)。

本研究では、高齢の Brugada 症候群の予後以外に、経時的なリード断線のリスクをも検討した。その結果、リコールリード以外のリードにおいても、同等の頻度で経時的に断線が生じることが判明した。一般に ICD 植込み例でリード断線を認めた場合、新たにリードを追加する以外に、リード抜去が必要となるケースが少なくない。長期間留置されたリードの抜去はリスクが高く (10)、それに引き続いて新たにリードを追加する場合はその利点と欠点を十分に考慮する必要がある。これまで VF 既往例や、VF 再発例では、引き続き VF が生じるリスクが高いとして無条件に電池交換、リード追加/交換が行われてきた。一方、無症候の Brugada 症候群では、VF 発症は 0.5%/年と低リスクであることが報告されているものの (3)、現時点では VF の発生リスクを適確に予測する方法がないため、ICD を植え込まない、電池交換をしない、リードを追加/交換しないという判断を下すことは非常に困難であった。しかしながら本研究において、70 歳以降での新規の VF の発症がなかったことから、70 歳までに無症候で経過した Brugada 症候群は、以後の VF の発症に関して極めて低リスク群と考えるとさしつかえないと考えられた。また、虚血性心疾患を合併していない例では 70 才

以降に VF の初発だけでなく再発も認めず、一方で上室性頻拍による誤作動のリスク、リード断線のリスクが加齢で高まったことから、それらの例では新規に ICD を植え込まない、または ICD を植え込むにしても、皮下植込み型 ICD とする (11)、あるいはすでに ICD が植え込まれている例では電池の交換を行わない、リード追加/交換をしないという方法が治療の選択枝の 1 つとして考えられた。

V. 結 論

Brugada 症候群における約 10 年間の ICD 経過観察では、70 歳以降の年齢で VF の新規発症を認めなかった。一方で無症候群では適切作動を上回る頻度の合併症が発生していた。特に、上室性頻拍による不適切作動が中年期以降に増加し、リード断線のリスクが経年的に高くなっていった。高齢の Brugada 症候群例では、加齢に伴い ICD 関連の合併症にさらされるリスクが高くなることから、70 歳まで致死性不整脈の確認されていない Brugada 症候群では、ICD 植込みや、リード追加/抜去等の侵襲的処置を行う利点が少ない可能性が示唆された。

VI. 研究協力者

草野研吾	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・部長
相庭武司	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・医長
野田 崇	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・医長
岡村英夫	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・医長
宮本康二	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・医師
中島育太郎	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・医師
石橋耕平	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・医師
和田 暢	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・医師
鎌倉 令	国立循環器病研究センター・心臓血管内科部門不整脈科・医師

IX. 参考文献

- 1) Brugada P, Brugada J: Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and

- sudden cardiac death: A distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report. *J Am Coll Cardiol.* 1992; 20: 1391-1396.
- 2) Antzelevitch C, Brugada P, Borggreffe M, et al. Brugada syndrome; report of the second consensus conference; endorsed by the Heart Rhythm Society and the European Heart Rhythm Association. *Circulation.* 2005; 111: 659-670.
 - 3) Probst V, Veltmann C, Eckardt L, Meregalli PG, Gaita F, Tan HL, Babuty D, Sacher F, Giustetto C, Schulze-Bahr E, Borggreffe M, Haissaguerre M, Mabo P, Le Marec H, Wolpert C, Wilde AA. Long-term prognosis of patients diagnosed with Brugada syndrome: results from the FINGER Brugada Syndrome Registry. *Circulation.* 2010;121: 635–643.
 - 4) Priori SG, Gasparini M, Napolitano C, Della Bella P, Ottonelli AG, Sassone B, Giordano U, Pappone C, Mascioli G, Rossetti G, De Nardis R, Colombo M. Risk stratification in Brugada syndrome: results of the PRELUDE (PRogrammed ELectrical stimUlation preDICTive valuE) registry. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59:37–4
 - 5) Sacher F, Probst V, Iesaka Y, Jacon P, Laborderie J, Mizon-Gerard F, Mabo P, Reuter S, Lamaison D, Takahashi Y, O'Neill MD, Garrigue S, Pierre B, Jais P, Pasquie JL, Hocini M, Salvador-Mazenq M, Nogami A, Amiel A, Defaye P, Bordachar P, Boveda S, Maury P, Klug D, Babuty D, Haissaguerre M, Mansourati J, Clementy J, Le Marec H. Outcome after implantation of a cardioverter-defibrillator in patients with Brugada syndrome: a multicenter study. *Circulation.* 2006;114:2317–2324.
 - 6) Sacher F, Probst V, Maury P, et al. Outcome after implantation of a cardioverter-defibrillator in patients with Brugada syndrome: a multicenter study-part 2. *Circulation.* 2013; 128: 1739-47.
 - 7) Sarkozy A, Boussy T, Kourgiannides G, Chierchia GB, Richter S, De Potter T, Geelen P, Wellens F, Spreeuwenberg MD, Brugada P. Long-term follow-up of primary prophylactic implantable cardioverter-defibrillator therapy in Brugada syndrome. *Eur Heart J.* 2007;28:334–344.
 - 8) Veltmann C, Kuschyk J, Schimpf R, Streitner F, Schoene N, Borggreffe M, Wolpert C. Prevention of inappropriate ICD shocks in patients with Brugada syndrome. *Clin Res Cardiol.* 2010;99:37–44.
 - 9) Sacher F, Probst V, Bessouet M, Wright M, Maluski A, Abbey S, Bordachar P, Deplagne A, Ploux S, Lande G, Jais P, Hocini M, Haissaguerre M, Le Marec H, Clementy J. Remote implantable cardioverter defibrillator monitoring in a Brugada syndrome population. *Europace.* 2009;11 489–494.
 - 10) Farooqi FM, Talsania S, Hamid S, Rinaldi CA. Extraction of cardiac rhythm devices: indications, techniques and outcomes for the removal of pacemaker and defibrillator leads. *Int J Clin Pract.* 2010;64:1140-7.
 - 11) De Maria E, Cappelli S, Cappato R. Shock efficacy of the entirely subcutaneous defibrillator for termination of spontaneous ventricular fibrillation in Brugada syndrome. *Heart Rhythm.* 2013;10:1807-9.

和食の脳保護・脳精神機能改善、及び

肥満・糖脂質代謝へ与える効果の検討

—新たな脳保護効果・評価モデルの開発—

国立循環器病研究センター分子病態部疾患分子研究・室長

柳 本 広 二

I. 諸 言

食品群の中には、生体に対する優れた機能性を有するものがあり、そのような食材を探索し、見出すことは、薬剤に頼らない健康維持や健康増進を目指す上で重要な意味を持つ。中でも脳保護効果を有する食品、食材の発見、または開発に関しては、脳卒中、血管性認知症やアルツハイマー病等から脳を護り、発症を防ぐ、との観点からも、ますます重要性が増している。しかしながら、ある食材が脳保護効果を有するか否かの評価は決して容易ではなく、再現性に乏しい実験動物を用いた前臨床評価系、具体的には、血管内で生じる血栓や塞栓といった不特定要素（環境）の影響を受け易い脳梗塞モデルも多数存在し、時には、脳梗塞が殆ど、または、全く生じなかった、あるいは、重度の虚血のために判定以前に死亡した、といった個体の除外が、明瞭な除外基準の提示なく、さらには、その実数を示すことなくその他の結果のみが提示されている。

本研究では、食材の持つ脳保護効果を客観的に再現性高く評価することができる技術の開発を目的に、異なる血管閉塞手技後の脳虚血の発症確率、および、重症度と変動率をマウスにてそれぞれ判定し、再現性の高く、前臨床試験に耐え得る、新たなマウス脳梗塞モデル「脳保護効果評価系」を開発した。

II. 対象・方法

1. 1-3血管閉塞法の検討

マウス C57BL/6J を用いて、一過性局所脳虚血を負荷する技術を検討した。脳は通常、脳血

流予備能という、突然に生じた局所脳血流の低下状態に対する自動的代償機能の存在によって守られており、そのために脳梗塞性の病巣を脳内に生じさせるといったモデル作成においては、一か所だけの脳血管閉塞では（穿通枝領域を除き）脳障害・脳梗塞が生じるに十分な虚血が（その他の血液凝固、血栓、塞栓が合併しない限りは）生じない。しかしながら、その事実が広く知れ渡っているとは言い難い。そのことを確認するために、一側中大脳動脈の1血管閉塞法（1VO）、一側総頸動脈および中大脳動脈の2血管閉塞法（2VO）、そして、虚血深度が十分に得られる両側頸動脈、一側中大脳動脈を用いた3血管閉塞法（3VO）を用い、それぞれの結果を検討した。尚、体重が30グラム前後のマウスでは、開頭（穿頭）を含む外科的操作による極微量の出血が、循環血液量の減少、血圧低下、および脳灌流圧を低下させ、脳虚血障害における重症度に甚大な影響を与えるため、すべての血管閉塞手技を微小脳外科技術（鋭的剥離、鈍的剥離の適切な組み合わせのみ）を用いた無血操作のみで構成する必要があった。すなわち、本モデルの開発においては、剥離途中の止血操作は実施せず（必要とせず）、血管に対する凝固（止血）処置は、（左側の）中大脳動脈に対してのみ行うことを目標とした。

2. 顕微鏡下手術手技

ハロセン麻酔下に、体温（核温＝直腸温）、心拍数、血圧（尾動脈）を持続的、または間歇的にモニターした。手術用顕微鏡（Möller-Wedel,

Germany) 下、頸部正面に縦の正中切開を加え、両側の頸動脈（内頸動脈、外頸動脈分岐部直前＝近位部）を露出させた（それらに1VO、または2VOに供した）。次に、左側頭部/顔面にて、左頬骨弓（zygomatic arch）上の側頭筋の表面を走行する顔面静脈に接して腹側の筋膜に、横切開を設け、経側頭筋膜・経側頭筋的に（そのことによって、顔面静脈を筋膜と共に背側に持ち上げることで）側頭筋内の深部へ無血的に侵入することが可能となり、頬骨弓の背側・腹側の筋付着部を上下に剥離後、頬骨弓を必要最小限（所定の範囲で）切除、摘出した。次に、露出した左顎関節の上縁を下方へ圧排することで、左側頭骨底部/外側を露出させた。左三叉神経本幹の導出路に相当する側頭骨圧痕上に、直径約1.5mmのburr holeを設けた。嗅神経束の外縁となる部位にて、左中大脳動脈をバイポーラー凝固撮子にて凝固閉塞させ、閉頭した。2、および3VOにおいては、15分間の後、頸動脈のクリップを外すことで再灌流を生じさせた。

上記の経側頭筋的アプローチにより、左側の頬骨弓を覆うように存在し、頬骨弓の切離時に出血の原因となる（側頭筋上を走行する）顔面静脈を傷つけることなく、従って、左側の上部顔面より灌流される静脈血の灌流障害による不規則な静脈性出血を防ぐことが可能となった。

3. 局所脳血流量の測定

1VO、2VO、3VOのそれぞれ異なった虚血導入手技によって生じる局所脳血流量の変化（虚血前、虚血中、虚血後＝再灌流状態）を、虚血周辺部の定点において、レーザードップラー血流計を用い、計45分間、全身麻酔科にて持続的にモニターした。

III. 結果（成績）

1. 脳梗塞巣の出現率

虚血開始24時間後の脳を取り出し、1mm厚の冠状断を作成し、脳梗塞の有無を解析した結果、各群における脳梗塞の出現率は、1VOでは14%（一個体のみ）、2VOでは74%、3VOでは100%であった。

2. 脳梗塞体積と変動率

24時間後の脳梗塞体積を各個体にて測定した結果、それらの平均値が、1VOでは2.2mm³、2VOでは7.3mm³、3VOでは22.1mm³であった。また、脳梗塞体積の平均値に対する標準偏差の値：変動係数（variation coefficient）は、それぞれ265%、81%、21%であり、中大脳動脈のみの、1VOでは、極めて低い脳梗塞の出現率と、極めて大きな変動係数值（脳梗塞体積の大きなばらつき）が示された。

3. 局所脳血流量の変化

1VOを用いた虚血導入手技では、正常状態（前値）脳血流（＝100%）に対して、血管閉塞直後、一過性に122%へと上昇し、その後は緩やかに初期値へ戻った。すなわち、観察期間内に脳血流の低下は生じず、むしろ一過性の血流増加のみが観察された。2VOを用いた虚血導入では、前値脳血流量に比して57-59%まで低下し、その後、ほぼ同レベルにて推移し、再灌流後はほぼ前値まで回復した。一方、3VOを用いた虚血導入では、閉塞直後に前値脳血流量の20%まで低下し、その5分後よりは、ほぼ10%で推移し、再灌流直後には100%（前値のレベル）、さらに、その15分後には120%に達し（オーバーシュート）、さらにその後は再度前値へと緩やかに回復した。

IV. 考察

遺伝子操作を含み、最も汎用性の高いC57BL/6Jマウスを用いて、3種の異なる虚血導入手段によって、局所脳虚血を誘導し、それぞれの虚血レベルを観察したところ、中大脳動脈のみの閉塞（1VO）による虚血誘導では、当該脳皮質における局所脳血流の低下は生じず、むしろ、一過性上昇のみが観察された。また、同法では、血管閉塞の24時間後に、用いた全個体の17%のみに脳梗塞が出現した（平均値：2.1mm³）ことより、安定的な虚血病巣を誘導することには適さないことが明らかとなった。また、2VO法を用いた虚血誘導では、血管閉塞後、前値の6割程度の低下となっており、脳傷害を生じる程度の虚血（20%以下）には至らなかった。一方、3VO法を用

いた虚血誘導では、脳の機能障害/代謝障害が生じる前値脳血流の20%以下となり、さらにその後は10%まで低下した。

V. 結論

3VO法を用いた虚血誘導を用いた場合のみ、24時間以内に死滅するとされる、いわゆる虚血性 penumbra と呼ばれる、神経組織にとって生と死の境となる閾値（前値の10%）のレベルで安定的に推移した。虚血性 penumbra では連続的な spreading depolarization と血管の持続的な狭小化が合併し、さらに脳血流量が低下すると言われており、初期の20%以下への低下からさらに、10%レベルへの低下、という2段階の脳血流の低下が観察されたことは、そのような、虚血レベルを増悪させる、虚血性 penumbra に特徴的な電気生理学的病態が生じている可能性がある。

以上のことより、1, 2VO法ではなく、3VO法による虚血誘導によって初めて、安定的な脳梗塞を生じる程度の、虚血性 penumbra と呼ばれる虚血レベルが導入されることが明らかとなった。

3VOの技術を用いた本一過性局所脳虚血モデルは、脳予備能の存在を十分に考慮し、血液中の凝固・凝血作用に依存することなく（血栓、塞栓を作らず）、すべての個体に安定した一定の体積を有する脳梗塞を生じさせることが示された。本モデルは、その技術を習得するまでには一定の期間を要するものの、食材や、その抽出物質を含む、様々な生理活性物質を持つ脳保護作用（効果）の探索（検出）に、今後大きな威力を発揮すると考えられる。

尚、本研究成果は、European Neurology, 2014, 71, 4-18 に報告した。

VI. 研究協力者

楊 冬 国立循環器病研究センター研究所・分子病態部疾患分子研究室（研修員）、（日中友好病院・脳神経外科）
中城有香子 国立循環器病研究センター研究所・分子病態部疾患分子研究室・研究員
飯原弘二 国立循環器病研究センター・脳神

経外科・前部長

片岡広治 国立循環器病研究センター・脳神経外科・医長

中川原譲二 脳卒中統合イメージングセンター一部・部長

趙 強 国立循環器病研究センター研究所・分子病態部疾患分子研究室（研修員）、（保定市第一病院脳神経外科）

VII. 参考文献

- 1) Yang D, Nakajo Y, Iihara K, et al., An integrated stroke model with a consistent penumbra for the assessment of neuroprotective interventions. *Euro Neurol* 2014; 71:4-18.
- 2) Yang D, Nakajo Y, Iihara K, et al., Alogliptin, a depeptidylpeptidase-4 inhibitor, for patients with diabetes mellitus type 2, induce tolerance to focal cerebral ischemia in non-diabetic, normal mice. *Brain Res* 201;1517: 104-113.
- 3) Yamamoto H, Kokame K, Okuda T, et al., NDRG4-deficient mice exhibit spatial learning deficits and vulnerabilities to cerebral ischemia. *J Biol Chem* 2011; 286:26158-26165.
- 4) Yanamoto H, Nagata I, Niitsu Y, et al., Evaluation of MCAO stroke models in normotensive rats: standardized neocortical infarction by 3VO technique. *Exp Neurol* 2003; 182: 261-274.
- 5) Kitagawa K, Matsumoto M, Yang G, et al., Cerebral ischemia after bilateral carotid artery occlusion and intraluminal suture occlusion in mice: evaluation of the patency of the posterior communicating artery. *J Cereb. Blood Flow Metab.* 1998; 18:570-579.
- 6) Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, et al., Experimental studies of ischemic brain edema: 1. a new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the

- ischemic area. *Jpn J Stroke* 1986;8:1-8.
- 7) Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al., Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989; 20: 84-91.
 - 8) Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al., Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke* 1986; 17:1304-1308.
 - 9) Brint S, Jacewicz M, Kiessling M, et al., Focal brain ischemia in the rat: methods for reproducible neocortical infarction using tandem occlusion of the distal middle cerebral and ipsilateral common carotid arteries, *J Cereb. Blood Flow Metab.* 1988; 8:474-485.
 - 10) Chen ST, Hsu CY, Hogan EL, et al., A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction. *Stroke* 1986;17: 738-743.
 - 11) Goto Y, Kassell NF, Hiramatsu K, et al., Effects of intraischemic hypothermia on cerebral damage in a model of reversible focal ischemia. *Neurosurgery* 1993; 32: 980-985.

二管球搭載型マルチスライス CT・320列 マルチスライス CT を用いた心筋灌流評価法の検討

国立循環器病研究センター・病院長

内藤 博 昭

I. はじめに

虚血性心疾患の治療を考える上で、冠動脈の狭窄度のみでなく、心筋虚血の有無やその程度も重要な判断材料となる。心筋虚血の評価方法として、運動負荷あるいは薬剤負荷を用いた心臓核医学検査が一般的である。一方、CTやMRIを用いた心筋血流評価も報告されているが、広くは普及していない。

その理由として、手技の煩雑さがあげられる。CTに関しては被曝の増加も問題となる。MRIを用いた心筋虚血評価には、薬剤負荷が用いられるが、その負荷のために必要な時間、副作用の出現とその対応が問題となる。また、心筋負荷検査に時間を費やすことで、他の検査ができなくなることは、病院経営上のデメリットになる。

過去の報告から CT における心筋灌流評価は必ずしも診断能が高くないとされている。CTを用いた心筋灌流に関する文献を調査した。

II. 対象と方法

PubMedにて、論文の検索を行った。cardiac, coronary artery, myocardium, CT perfusion(CTP)をキーワードとして98論文を抽出。その中で、心筋灌流を評価していた17編の原著論文を調査した。

III. 結果

17論文のうち、同一施設から7編の報告があり、これは検討から除外した。最終的に10論文を調査した(表1)。

心筋虚血のゴールドスタンダードとして選択的冠動脈造影、SPECT、FFR、選択的冠動脈造影とSPECTが行われていた。

CTPを用いた診断精度は、感度84%、特異度75%、PPV75%、NPV84%であった。

表1

文献		症例数	感度(%)	特異度(%)
1	多施設研究	110	90	84
2	多施設研究	381	88	51
3	単施設研究	21	67	92
4	単施設研究	31	78	75
5	単施設研究	50	77	94
6	単施設研究	32	83	90
7	単施設研究	108	100	33
8	単施設研究	76	92	95
9	単施設研究	31	100	69
10	単施設研究	59	70	92

IV. 考察

64列以降のCTを用いた冠動脈造影(冠動脈CTA)は、その診断精度が高いことが知られている。今回CTによる心筋灌流の診断精度を調べたが、その診断能は冠動脈CTAには及ばない。虚血性心疾患の診断樹におけるCTPの位置づけとして、冠動脈CTAや負荷心電図のような早い段階でのスクリーニングは推奨されない。

CTPの用途としては、たとえば、冠動脈CTAとの融合画像による虚血責任血管の同定、核医学による心筋灌流が実施困難な状況などが考えられる。

CTによる心筋灌流画像の問題点の一つとして、その被曝の多さがあげられる。CTの多列化が進み、一回あるいは数回の撮影で左室全体の撮影が可能となり、ダイナミック撮影が報告されてきている。これは当然のことながら、被曝増加につながる。近年逐次近似再構成法などにより、被曝低減が図られてきており、CTPの敷居が低くなりつつあるが、診断能の限界を考慮して、検査を計画すべきである。今後の症例の積み重ねにより、絶対値評価法の確立や高

分解能を生かした核医学や MRI に対する優位性など、発展していく余地はあると思われる。

V. 結論

MDCT を用いた心臓 CT (心筋灌流) の診断精度に関する調査を行った。CT による心筋灌流の診断精度は必ずしも高くないことが示された。

VI. 研究協力者

東 将浩 国立循環器病研究センター・放射線部・医長
福田哲也 国立循環器病研究センター・放射線部・医長
神崎 歩 国立循環器病研究センター・放射線部・医師
森田佳明 国立循環器病研究センター・放射線部・医師
三田祥寛 国立循環器病研究センター・放射線部・医師
山田直明 国立循環器病研究センター・放射線部・非常勤医師

VII. 参考文献

- 1) Cury RC, Kitt TM, Feaheny K, et al. A randomized, multicenter, multivendor study of myocardial perfusion imaging with regadenoson CT perfusion vs single photon emission CT. *J Cardiovasc Comput Tomogr* 2015;9:103-112.
- 2) George RT, Mehra VC, Chen MY, et al. Myocardial CT perfusion imaging and SPECT for the diagnosis of coronary artery disease: a head-to-head comparison from the CORE320 multicenter diagnostic performance study. *Radiology* 2014;272:407-416.
- 3) Kido T, Watanabe K, Saeki H, et al. Adenosine triphosphate stress dual-source computed tomography to identify myocardial ischemia: comparison with invasive coronary angiography. *Springerplus* 2014;3:75.
- 4) Bamberg F, Marcus RP, Becker A, et al. Dynamic myocardial CT perfusion imaging for evaluation of myocardial ischemia as determined by MR imaging. *JACC Cardiovasc Imaging* 2014;7:267-277.

- 5) Kim SM, Chang SA, Shin W, Choe YH. Dual-energy CT perfusion during pharmacologic stress for the assessment of myocardial perfusion defects using a second-generation dual-source CT: a comparison with cardiac magnetic resonance imaging. *J Comput Assist Tomogr* 2014;38:44-52.
- 6) Huber AM, Leber V, Gramer BM, et al. Myocardium: dynamic versus single-shot CT perfusion imaging. *Radiology* 2013;269:378-386.
- 7) Branch KR, Busey J, Mitsumori LM, et al. Diagnostic performance of resting CT myocardial perfusion in patients with possible acute coronary syndrome. *AJR Am J Roentgenol* 2013;200:W450-457.
- 8) Feuchtner GM, Plank F, Pena C, et al. Evaluation of myocardial CT perfusion in patients presenting with acute chest pain to the emergency department: comparison with SPECT-myocardial perfusion imaging. *Heart* 2012;98:1510-1517.
- 9) Wang Y, Qin L, Shi X, et al. Adenosine-stress dynamic myocardial perfusion imaging with second-generation dual-source CT: comparison with conventional catheter coronary angiography and SPECT nuclear myocardial perfusion imaging. *AJR Am J Roentgenol* 2012;198:521-529.
- 10) Busch JL, Alessio AM, Caldwell JH, et al. Myocardial hypo-enhancement on resting computed tomography angiography images accurately identifies myocardial hypoperfusion. *J Cardiovasc Comput Tomogr* 2011;5:412-420.

脊髄障害防止の観点からみた胸部下行・胸腹部大動脈瘤 外科治療ないしはステントグラフト治療体系の確立

国立循環器病研究センター心臓血管外科・部長

湊 谷 謙 司

I. 緒 言

近年、大動脈瘤外科治療全体の成績向上が得られているが、胸腹部大動脈瘤の外科治療は手術侵襲も大きく成績は決して良好とは言えない。特に、術中の脊髄障害（対麻痺）は重要な問題で、広範囲胸腹部大動脈手術においては10～20%の頻度で発生し、やや低いとされるステントグラフト治療においても5～10%に発生する。したがって従来より、① 軽度低体温下の部分体外循環や左心バイパスによる下半身灌流法あるいは超低体温下の循環停止法、② MRI・CTを用いたAdamkiewicz動脈の同定、③ 運動誘発電位（motor evoked potential, MEP）などによる術中脊髄虚血のモニタリング、④ 肋間・腰動脈の温存・再建、⑤ 脳脊髄液ドレナージ、⑥ 薬物療法、など様々な脊髄障害防止対策が試みられてきた。しかしながら、明らかなエビデンスに乏しく、一施設での症例数にも限界があり、各施設で独自の防止対策を行っているのが現状で、未だ標準化された脊髄障害防止対策の確立に至っていない。そのような中で、脊髄の栄養血管として主に第8胸椎から第1腰椎の範囲の大動脈から分岐し肋間（腰）動脈を経て脊髄前面に至るAdamkiewicz動脈が存在し、脊髄障害の防止のためにはその血行再建の必要性が指摘されている。しかしながら、術中限られた時間内で、手がかりもなくAdamkiewicz動脈へとつながる責任肋間（腰）動脈を正確に同定し、かつその血行再建を成功させることは容易なことではない。したがって、術前にAdamkiewicz動脈をMRI・CTにより脊髄への血流パターンを把握することは、確実なAdamkiewicz動脈血行再建を含め手術全体の戦略を立てる上で極めて有用と考える。本研究の目的は、胸部下行・胸腹部大動脈手術において、術前のMRI・CTによるAdamkiewicz動脈の同定実施が脊

髄障害発生に与える影響（発生防止のための有効性）について検討する。さらに、胸部下行・胸腹部大動脈手術およびステントグラフト治療における脊髄障害発生に与える要因を検討することにより、脊髄障害発生率の軽減、治療成績の向上を目的とする。

II. 対象・方法

① 胸部下行・胸腹部大動脈手術もしくはステントグラフト治療を施行された（る）患者において、MRI・CTによるAdamkiewicz動脈の同定実施が脊髄障害発生に与える影響を多施設共同コホート研究（前向きおよび後ろ向き）にて検討する。② 胸部下行・胸腹部大動脈手術もしくはステントグラフト治療を施行される患者において、脊髄障害および院内死亡の発生に影響を与える要因について多施設共同コホート研究（前向き）にて検討する。③ Adamkiewicz動脈の同定に関して、部位、同定可能割合について多施設共同コホート研究（前向きおよび後ろ向き）にて調査する。

1) 研究対象：① 胸部下行、胸腹部大動脈手術もしくはステントグラフト治療を施行された患者、② 2000年1月から2010年12月までに手術を施行された患者、③ 倫理委員会承認後に登録を行う患者に対しては、同意能力があり、自ら同意文書に署名できる患者

2) 研究デザイン：多施設共同コホート研究（13施設）

3) 目標症例数：① 下行大動脈瘤 1,100～1,320例、② 胸腹部大動脈瘤 550～770例

4) 評価項目：

主要評価項目：退院までの脊髄障害発生割合

副次評価項目：

(1) Adamkiewicz動脈の同定方法

- (2) Adamkiewicz 動脈の部位
- (3) Adamkiewicz 動脈の同定可能割合
- (4) 手術による院内死亡割合
- (5) 合併症の発生割合
- (6) 下記項目の評価
 - ① 手術：術式（置換範囲）、補助手段、循環停止時間、心筋虚血時間、体外循環時間、手術時間、麻酔時間
 - ② 出血：術後出血、輸血量（MAP、FFP）、血小板輸血
 - ③ 回復：挿管時間、ICU 滞在日数、術後入院期間
 - ④ 遠隔期調査における死亡割合、など

（倫理面への配慮）

本研究はヒトを対象とした臨床研究であり、ヘルシンキ宣言に基づく倫理原則、臨床研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針、ならびに本邦における法的規制要件を遵守し実施する。患者を登録する前に、研究実施計画書について、各施設に倫理委員会または審査委員会から文章による承認を得る。患者への同意・説明文書には、試験データは研究者により厳重に保護される旨説明される。前向き研究においては、研究担当医師は、登録までに本研究についての内容を患者本人に説明し、参加について文書による同意を患者本人より得るものとする。同時に、当該研究の目的を含む研究の実施についての情報を公開し、研究対象者となる者が研究対象者となることを拒否できるように配慮する。また、実施計画書は、患者本人の希望により、いつでも閲覧できることとする。本研究で得られた個人情報は画像情報も含め厳重に保護し、個人を特定できる情報は開示しないなど取り扱いには十分留意する。本研究は研究対象者の自発的同意と協力により行い、その段階でも同意を撤回拒否でき、拒否による不利益はないものとする。

III. 結果

13施設より予定以上の2,551症例の登録から以下の統計解析結果を得た。

1. CTやMRIにより、51.5%にAKA同定が施行され、うち87.2%でAKA同定が可能であった。
2. 97%でAKAは第8胸椎から第1腰椎の間が分岐し、残り3%は他部位から分岐していた。
3. 下行大動脈手術4.9%、胸腹部大動脈手術

11.1%、ステントグラフト治療2.9%に脊髄障害を認めた。

4. 下行大動脈手術13.1%、胸腹部大動脈手術17.3%、ステントグラフト治療15.4%に入院死亡を認めた。
5. Open surgeryにおいては脊髄障害のリスクファクターは、年齢65歳以上、広範囲胸腹部大動脈瘤、緊急手術、内腸骨動脈の閉塞であった。
6. これらの患者群のサブ解析で、Adamkiewicz動脈が置換範囲に含まれている症例では、Adamkiewicz動脈を再建しなかったことが、脊髄障害のリスクファクターとなった。
7. ステントグラフト治療では脊髄障害のリスクファクターは腎不全、緊急手術であった。

IV. 考察

電子媒体（USBと電子メール）を用いた全国規模登録試験で初の試みであったが、初期トラブルはあったものの、予想を上回るデータが収集できたことは、これまでの単独施設からの症例数の壁を打ち破り、結果を出すという今回の主旨に沿うことができた。

まず、MRIやCTなどの非侵襲的画像検査により、約9割の症例でAdamkiewicz動脈が同定できていた。以前は5～7割程度とされていたが、非侵襲的画像診断技術の進歩と知識の広まりにより、高率にAdamkiewicz動脈の同定が可能となっていた。初期の頃はMRIで始まったこの同定検査も、最近のCT機器の進歩により冠動脈を中心に細かな血管の評価検査の発展は著しく、簡便に施行できる点から今や主流となった。石灰化や骨の影響を受けやすいが、CTにより同定率が高まったことは事実である。また、同定できた症例のほとんどにおいて、Adamkiewicz動脈は第8肋間動脈から第1腰動脈の範囲から分岐していたが、残りの3%の症例においてはその範囲以外から分岐していた。わずかな頻度ではあるが、手術やステントグラフト治療においてこの事を十分念頭に置き、責任肋間・腰動脈の温存、再建に努める必要がある。

次に、本研究の主要評価項目である脊髄障害の実際の発生に関して、わが国の主要施設の症例登録であったこともあり、手術、ステントグラフト治療の両群において、脊髄障害の発生数は海外からの主要論文から想定される範囲内にあった。ただ、入院死亡に関しては、緊急例も含まれていることもあり、

想定より不良であり、特にステントグラフト治療において、手術と同程度の死亡率を認めた。一つには、緊急症例の成績が不良であること、さらに、術前状態不良例（ハイリスク症例）が含まれていた可能性がある。

今回の主要評価項目である、術前の Adamkiewicz 動脈同定が脊髄障害の発生防止に効果的であるか、については、現段階の解析では、有用性が判明したのは胸腹部大動脈手術においてのみであった。また Adamkiewicz 動脈を置換範囲に含む症例では、これを再建することが、脊髄障害の予防になった。ステントグラフト治療においては、術中の脊髄虚血モニタリングで一過性に虚血を呈するが、血圧上昇や脳脊髄液ドレナージで容易に回復することが多く、手術の場合と異なるようである。ただ、鎖骨下動脈閉塞例、腹部大動脈置換術後、広範囲瘤などのハイリスク症例においては、手術と同様の注意が必要である。

このように、手術とステントグラフト治療では、脊髄障害の発生頻度、発生メカニズム、防止対策、などに差を認める。特に、ステントグラフト治療においては Adamkiewicz 動脈再建が実質不可能であり、逆に Adamkiewicz 動脈分岐部をステントグラフト治療のランディングゾーンとして確保するなど、Adamkiewicz 動脈の血流が無視されても大きな障害につながっていないのが現状である。収集されたデータより、今後、更にサブ解析を行い、その効果を詳細に検証する予定である。

V. 結論

術前の Adamkiewicz 動脈同定の試みが脊髄障害の発生防止に効果的であるかを検討したが、胸腹部大動脈手術において有用性が判明し、可能であれば実施すべき有用な術前検査と考える。また胸腹部大動脈手術においては、Adamkiewicz 動脈が置換範囲にふくまれる場合、これを再建することが、脊髄障害の予防に有用であると思われた。

VI. 研究協力者

湊谷謙司 国立循環器病研究センター・心臓血管外科・部長
佐々木啓明 国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医長
田中裕史 国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師

清家愛幹 国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師
糸永竜也 国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師
尾田達哉 国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師
大西佳彦 国立循環器病研究センター・麻酔科・部長
荻野 均 東京医科大学外科学第二講座・主任教授

VII. 参考文献

1. 論文発表
- 1) Minatoya K, Ogino H, Matsuda H, Sasaki H, Yagihara T, Kitamura S. Replacement of the descending aorta: recent outcomes of open surgery performed with partial cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008;136:431-5.
- 2) Ogino H. 1. Is Hypothermia a reliable adjunct for spinal cord protection in descending and thoracoabdominal aortic repair with regional or systemic cooling? *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;58: 220-2 (Editorial)
- 3) Matsuda H, Ogino H, Fukuda T, Iritani O, Sato S, Iba Y, Tanaka H, Sasaki H, Minatoya K, Kobayashi J, Yagihara T: Multidisciplinary approach to prevent spinal cord ischemia after thoracic endovascular aneurysm repair for distal descending aorta. *Ann Thorac Surg.* 2010; 90:561-5.
- 4) Matsuda H, Fukuda T, Iritani O, Nakazawa T, Tanaka H, Sasaki H, Minatoya K, Ogino H. Spinal cord injury is not negligible after TEVAR for lower descending aorta. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010; 39:179-86.
- 5) Tanaka H, Minatoya K, Matsuda H, Sasaki H, Iba Y, Kobayashi J. Embolism is emerging as a major cause of spinal cord injury after descending and thoracoabdominal aortic repair with contemporary approach. Magnetic resonance findings of spinal cord injury Interactive thoracic and cardiovascular surgery: *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 19:205-10, 2014.

- 6) Tanaka H, Minatoya K, Sasaki H, Seike Y, Itonaga T, Oda T, Kobayashi J: Recent thoracoabdominal aortic repair outcomes using moderate to deep hypothermia combined with target reconstruction of the Adamkiewicz artery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 20:605-10. 2015.
- 7) Tanaka H, Ogino H, Kenji Minatoya K, Matsui Y, Higami T, Okabayashi H, YSaiki Y, Aomi S, Shiiya N, Sawa Y, Okita Y, Sueda T, Akashi H, Kuniyoshi Y, Katsumata T: The impact of preoperative identification of the Adamkiewicz artery on spinal cord protection in descending and thoracoabdominal aortic repair: A JApanese study of Spinal cord Protection in descending and thoracoabdominal Aortic Repair (JASPAR) *J Thoracic Cardiovasc Surg.* 2015 revised.

心不全に対するレスベラトロールの効果に関する研究

国立循環器病研究センター・心臓血管内科部長

安 齊 俊 久

I. 緒 言

ブドウの皮などに含まれるポリフェノール的一种であるレスベラトロール (3,4,5-trihydroxy-trans-stilbene) は、抗酸化作用、抗炎症作用、血管新生抑制作用などさまざまな生理活性を有することが知られており、抗動脈硬化作用をもたらす可能性が考えられている。さらに最近では、レスベラトロールが、SIRT1 (silent information regulator two ortholog 1) を活性化し、抗加齢作用をもたらす可能性が明らかにされている¹⁾。心血管疾患は、その多くが高齢者で発症することからわかるように、加齢がその発症過程において重要な役割を果たしており、特に心不全は、社会の高齢化に伴って年々増加を認めている。我々は、塩化カルシウム刺激によるマウス腹部大動脈瘤 (Abdominal Aortic Aneurysm: AAA) モデルにおいて、レスベラトロールが AAA の形成を抑制することを以前に明らかにした²⁾。

圧負荷心不全は、左室肥大、心筋線維化による左室拡張機能障害のモデルとしても知られている。レスベラトロールをはじめとした抗酸化作用を有する物質は、左室拡張機能障害を主体としたいわゆる左室駆出率の保持された心不全 (Heart Failure with preserved Ejection Fraction: HFpEF) の病態に対しても有効である可能性が考えられる。レスベラトロールは、強力な抗酸化作用、抗炎症作用、長寿遺伝子 SIRT1 の活性化などを介して、圧負荷心不全に良好な効果をもたらす可能性が考えられる。我々は、マウス圧負荷心不全モデルにおいて、心機能低下、心筋線維化に対してレスベラトロールが抑制効果を有し、その機序においてマクロファージの浸潤軽減と NFκB 活性化の抑制が関与している可能性をこれまでに報告した。平成 26 年度には、線維化抑制の機序を明らかにするため、各種検討を行った。

II. 対象・方法

1) 心不全モデルの作成

野生型マウスに対してケタミン・キシラジン麻酔下に気管内挿管後、大動脈弓部を縮窄し、大動脈縮窄 (TAC) モデルを作成した。縮窄以外の全処置を行う群を Sham 群とした。Sham 手術後に PBS を投与する群 (Sham/CON, n = 8)、TAC 手術後に PBS のみを 4 週間、経口投与する群 (TAC/CON, n = 8)、TAC 手術後にレスベラトロール 100 mg/kg/day を PBS に溶解して 4 週間、経口投与する群 (TAC/RSVT, n = 8) の 3 群を作成した。

2) 生命予後の評価

手術後 4 週間にわたり生命予後を観察し、カプランマイヤー曲線により 3 群間で比較する。

3) 左室機能の評価

術後 4 週目に、心拍数、心エコーによる左室機能 (左室拡張末期径: LVEDD、収縮末期径: LVESD 及び短縮率: FS) の評価を行った。

4) 心臓の摘出と組織固定

静脈血採血、左室機能、血行動態測定後、心臓を摘出し、重量を測定する。一部の切片は組織学的検討用に 10%ホルマリンにて固定し、残りは OCT コンパウンドに包埋後、液体窒素にて急速凍結し、-80°C に保存した。

5) 心筋線維化の定量化

Masson-Trichrome 染色により、心筋の血管周囲ならびに間質における線維化を評価した。Image J Software を用いて、線維化面積の比率 (%area fraction: %AF) を計測した。

6) 免疫組織化学染色による心筋病理の検討

TGF-β (sc-146, Santa Cruz Biotech., Santa Cruz, CA) に対する抗体を用いて心筋の免疫組織化学染色を行った。

7) real time RT-PCR による遺伝子発現の検討

心筋組織より TRIzol を用いて RNA を抽出し、TGF- β 1, IL-6, NADPH (p47^{phox})の発現に関して、real time PCR 法を用いて定量化した (ABI Prism™ 7700)。

III. 結果

1) 生命予後

術後、各群に振り分けた後の死亡率に有意差は認められなかった。ただし n が限られており、生存曲線による検討にはさらなる検討が本来は必要と考えられた。

2) 左室機能の評価

心拍数に 3 群間で差は認められなかった。LVEDD、LVESD は TAC/CON 群において、Sham/CON 群に比べ有意に増大し (p<0.05)、短縮率 (FS) は有意に低下した (p<0.05)。TAC/RSVT 群では、TAC/CON 群に比べ、LVEDD、LVESD は有意に低下し (all p<0.05)、FS は有意に増加した (p<0.05)。レスベラトロールによる圧負荷不全心に対する心機能改善効果が認められた。

3) 心筋線維化の評価

術後 4 週目に TAC/CON 群では、Sham/CON 群に比較し、著明な心筋間質の線維化を認め、%AF の有意な増加を認めた (p<0.05)。TAC/RSVT 群では、TAC/CON 群に比較し、%AF の減少を認めた (p<0.05)。

4) 免疫組織染色の評価

抗 TGF- β 抗体により、免疫組織染色を行ったところ、Sham/CON 群に比較し、TAC/CON 群では、術後 1 週目、4 週目において有意に発現の上昇を認めた。TAC/RSVT 群では、術後 1 週目、4 週目ともに TAC/CON 群に比べ TGF- β の発現が低下した (all p<0.05)。

5) real time RT-PCR による遺伝子発現

TGF- β 1, IL-6, NADPH (p47^{phox})の発現は、それぞれ Sham/CON 群に比較し、TAC/CON 群において、術後 1 週目、4 週目に有意に発現の上昇を認めた (all p<0.05)。TAC/RSVT 群では、TAC/CON 群に比較し、これらの発現は全て術後 1 週目、4 週目において低下した (all p<0.05)。

IV. 考察

レスベラトロールにより、圧負荷心不全モデルにおける心機能低下、心筋線維化が改善され、その機序として、TGF- β の蛋白ならびに mRNA レベルで

の発現低下と IL-6、NADPH の mRNA 発現低下を伴うことより、レスベラトロールによる抗炎症作用、抗酸化作用の関与が疑われた。

炎症、酸化ストレスは、心筋梗塞後左室リモデリングや圧負荷心不全、あるいは糖尿病性心筋症の病態においても重要な働きをしていることが、近年明らかにされている。これまでの研究で、レスベラトロールが、圧負荷後のマクロファージ浸潤と NF κ B の活性化を抑制することを明らかにしていたが、今年度の研究により、レスベラトロールの抗炎症作用、抗酸化作用が重要な働きをしていることが明らかになった。レスベラトロールは、活性酸素種の除去だけでなく、炎症細胞による活性酸素種の産生抑制、NADPH オキシダーゼ活性の抑制、内因性の抗酸化物質である Nrf2 (nuclear factor-E2-related factor-2) の産生促進など、多くの機序を介して抗酸化作用をもたらすことが知られている。また、レスベラトロールは、虚血再灌流傷害を抑制する可能性が考えられており、ラットの摘出灌流心を用いた実験では、レスベラトロールによってフリーラジカルが除去され、梗塞サイズが縮小される効果が示されている³⁾。

心不全の病態においては、神経体液性因子の賦活化が予後を悪化させる要因と考えられ、レンン・アンジオテンシン・アルドステロン系を抑制するアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬、アンジオテンシン受容体拮抗薬 (ARB)、アルドステロン拮抗薬、また交感神経系を抑制する β 遮断薬が予後を改善することが示されてきたが、これら以外に、炎症や酸化ストレスも心不全の病態では重要な役割を果たしていると考えられる。本研究の結果より、レスベラトロールは特に圧負荷心不全でみられるような拡張障害を主体とした心不全に対して、抗酸化作用、抗炎症作用を介して良好な効果をもたらす可能性が考えられる。

急性心不全患者の約 40%は、拡張障害を主体とした HFpEF によって占められるといわれ、特に高齢者に多く認めることが明らかにされている⁴⁾。これまでに行われた大規模臨床試験では、ACE 阻害薬、ARB、アルドステロン拮抗薬のいずれも予後を改善する結果が示されておらず、新規治療法の開発が喫緊の課題となっている。レスベラトロールの HFpEF に対する有効性が期待される。

V. 結論

強力な抗酸化作用を有するレスベラトロールは圧負荷不全心において、炎症性サイトカイン、NADPHの発現抑制などを介して左室機能低下、心筋線維化を抑制する可能性が示唆された。今後、HFpEFを含めた難治性心不全の治療薬としての有用性を検討すべきものと考えられる。

VI. 研究協力者

神崎秀明	国立循環器病研究センター・心臓血管内科・医長
菅野康夫	国立循環器病研究センター・心臓血管内科・医長
長谷川拓也	国立循環器病研究センター・心臓血管内科・医師
大原貴裕	国立循環器病研究センター・心臓血管内科・医師
高濱博幸	国立循環器病研究センター・心臓血管内科・医師
天木 誠	国立循環器病研究センター・心臓血管内科・医師
舟田 晃	国立循環器病研究センター・心臓血管内科・医師
永井利幸	国立循環器病研究センター・心臓血管内科・医師

VII. 参考文献

- 1) 安斉俊久：心血管疾患治療への応用. レスベラトロールの基礎と応用. 東京：シーエムシー出版；2012. p.222-230
- 2) Kaneko H, Anzai T, et al.: Resveratrol prevents the development of abdominal aortic aneurysm through attenuation of inflammation, oxidative stress, and neovascularization. *Atherosclerosis* 2011 ; 217 : 350-357
- 3) Sato M, Maulik G, et al.: Myocardial protection by protykin, a novel extract of trans-resveratrol and emodin. *Free Radic Res* 2000 ; 32 : 135-144
- 4) 安斉俊久. 左室駆出率の保持された心不全. *循環器病研究の進歩* 2013; 34: 37-44

脳卒中および認知症の機序の解明と 新しい治療戦略の開発

熊本大学大学院生命科学研究部生体機能薬理学・教授
光山勝慶

I. 諸言

脳卒中は循環器疾患の中で主要死因の一つであることは言うまでもないが、認知症のリスク因子としても注目されている。また、高齢化社会の到来により、認知症の発症増加が医学のみならず社会問題となっている。認知症の原因疾患として、アルツハイマー型認知症が最も多いが、その病態にはβアミロイド蛋白の沈着・凝集のみならず血管内皮障害、動脈硬化、血液脳関門の破綻などの血管障害が関与していることが最近注目されている[1, 2]。すなわち、血管性認知症のみならず、アルツハイマー型認知症の病態にも血管が重要な役割を担っている。また、血管リスク因子であるメタボリックシンドローム、肥満、高血圧、糖尿病も認知症の発症リスクを増加させることがよく知られている[3, 4]。

酸化ストレスや炎症は脳卒中や認知症をはじめ、さまざまな動脈硬化性疾患に関与することが知られており、有望な治療ターゲットの一つである[5]。Apoptosis signal-regulating kinase 1(ASK1)は、MAPキナーゼ-キナーゼ-キナーゼの一つであり、酸化ストレスによって活性化され、細胞のアポトーシス・増殖、炎症等、多彩な細胞応答に関与する[6]。我々は以前からASK1の心血管病における役割を検討し、ASK1が血管内皮障害や血管リモデリングに関与することを報告している[7-9]。そこで、本研究では、脳虚血、βアミロイド、高脂肪食の認知症における役割を調べるとともに、ASK1の役割についても検討した。

II. 対象・方法

(研究1) C57/BL6J マウスを用いて、マイクロコイルによる頸動脈狭窄を行い慢性脳低灌流による認知症モデルマウスを作成した。この認知症マウスに、特異的ASK1阻害薬(K811)を前投与あるいは後投与し、その有効性について詳細に調べた。さらに、ASK1の活性化に酸化ストレスが関与し、ASK1の下流にはp38 MAPキナーゼが存在することがわかっている[6]、

特異的 p38 阻害薬 (SB239063) や抗酸化薬 (アポニン) をこの認知症モデルに投与し、認知症および各種パラメーター (以下) への影響についても検討した。すなわち、Y-迷路試験[10, 11]により認知機能を調べた。Evans blue 投与により、血液脳関門の破綻を定量した[11]。白質病変、炎症性サイトカインである TNF-α の発現、GFAP の免疫染色による活性化アストロサイトを定量した。

(研究2) メタボリックシンドロームや肥満が認知機能と関連性があることが疫学的研究で示されている。そこで、肥満を引き起こすことがよく知られている高脂肪食[12, 13]をマウスに長期摂取させることが認知機能に対して影響を与えるかどうかを検討した。さらにASK1の関与についても検討した。すなわち、ASK1欠損マウス、野生型マウスそれぞれを(1)高脂肪食摂取群、(2)正常食摂取群の2群に分け、2ヶ月齢からそれぞれの餌を投与し、17ヶ月齢、あるいは24ヶ月齢まで経過を観察した。そして、Y迷路試験やPassive avoidance testによる認知機能、Light/dark transition testによる不安機能、Rota-rod testによる神経運動機能、白質病変、海馬の神経細胞数、海馬の毛細血管密度、内臓脂肪量、骨格筋量、脳内βアミロイド沈着、アディポネクチン、サイトカイン等について解析した。

(研究3) β-アミロイド凝集が原因で起こるアルツハイマー病のモデル動物である5XFADマウス[14]を用いて、アルツハイマー型認知症におけるASK1の役割を調べた。すなわち、5XFADマウスとASK1ノックアウトマウスを交配し、認知機能を中心にそのフェノタイプについて調べた。

(研究4) 5XFADマウスは脳内の神経細胞のみならず血管にもβ-アミロイドが沈着している。しかしながら、β-アミロイドによる血管障害の機序や役割については明らかではない。そこで、5XFADマウスと野生型マウス間で脳血流量、脳血管反応性について比較検討した。さらに、5XFADの短時間(17分間)の中大脳

動脈閉塞による虚血再灌流モデルを作成し、脳神経細胞障害、酸化ストレス、炎症、血流等について測定し、レニン・アンジオテンシン系の役割を調べるため、アンジオテンシン受容体ブロッカー投与の効果調べた。

III. 結果

(研究 1) 両側頸動脈をマイクロコイルにより部分狭窄することによる慢性脳低灌流状態により作製した

認知症モデルマウスにおいて K811 前投与の効果調べた。K811 は、マウスの脳血流量、血圧には影響を与えなかったが、K811 投与により、認知症マウスで見られる認知機能の低下、血液脳関門の破綻 (エバンスブルーの脳内への漏出)、白質病変の形成、脳内のアストロサイト活性化、TNF- α の増加が有意に抑制されていた (図 1)。

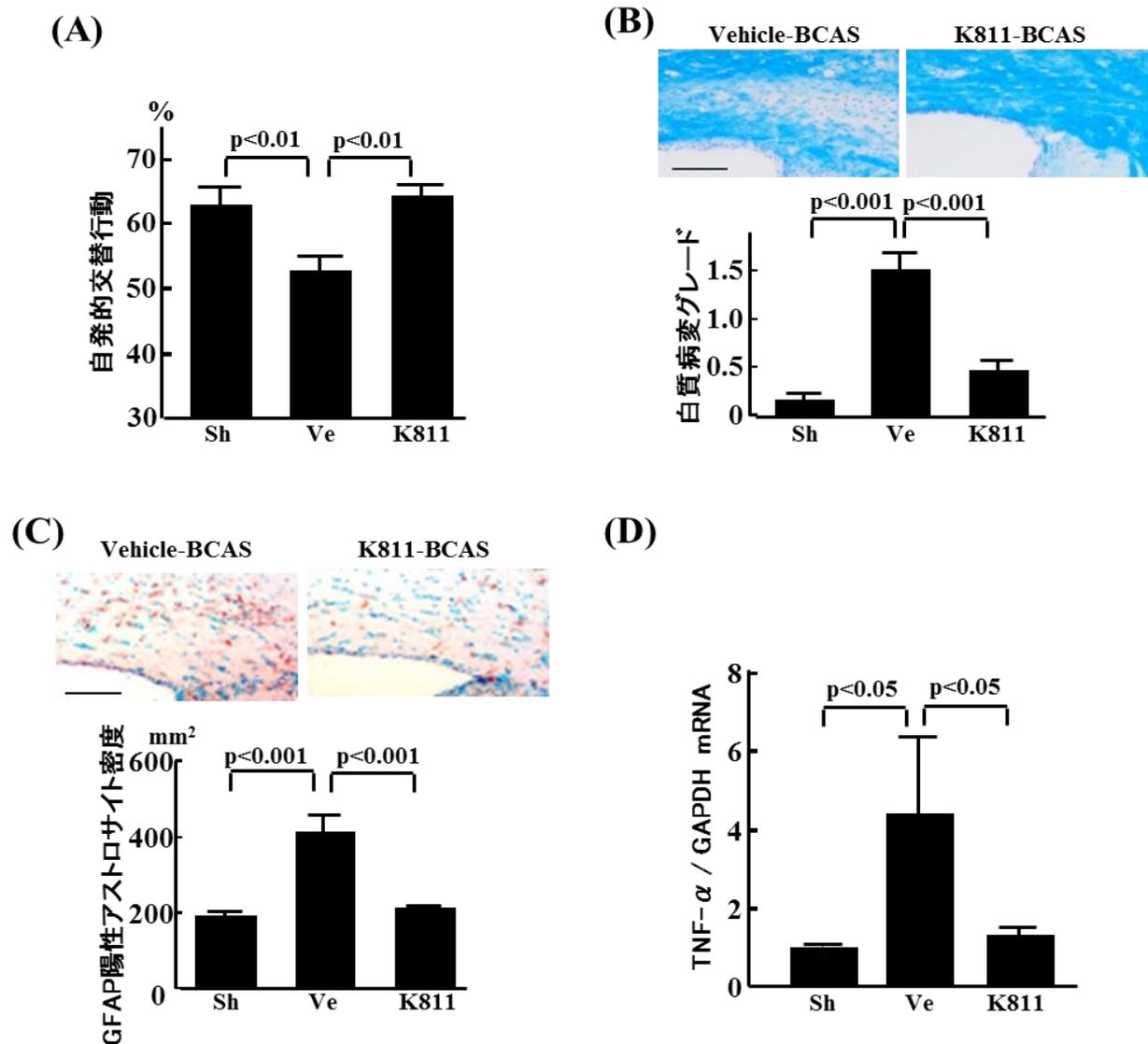


図 1 慢性脳低灌流状態による認知症モデルにおける特異的 ASK1 阻害薬 (K811) の効果

- (A) Y 迷路試験により認められた認知症モデルマウスでの自発的交替行動の減少は K811 の前投与により有意に抑制された。
- (B) 認知症モデルマウスでの著明な白質病変の形成は K811 の前投与により有意に抑制された。上図は、脳白質部の Klüver-Barrera 染色像を示す。
- (C) 認知症モデルマウスのアストロサイトの活性化は、K811 の前投与により有意に抑制された。上図は GFAP 抗体での免疫染色像を示す。
- (D) 認知症モデルマウスの脳内 TNF- α 発現増加は K811 の前投与によって有意に抑制された。
- Sh; 偽手術群, Ve; 両側頸動脈部分狭窄マウス (認知症モデルマウス) にビークル投与した群, K811; 両側頸動脈部分狭窄マウス (認知症モデルマウス) に K811 を投与した群

また K811 をマウスの脳低灌流状態開始後に投与を開始した場合も認知症モデルの認知機能低下を有意に抑制した (図2)。さらに、p38 と酸化ストレスの役割を検討するために SB239063 とアポシニンそれぞれの効果について検討した。両薬剤ともに両側頸動脈狭窄による脳血流量の低下や血圧には影響を与えなかったが、

両薬剤ともに認知症マウスの認知機能の低下、血液脳関門の破綻、白質病変、アストロサイト活性化、脳内 TNF- α の発現誘導を有意に抑制した (図3、4、5)。すなわち、p38 や酸化ストレスが慢性脳低灌流に由来する認知機能低下や脳障害に関与することがわかった。

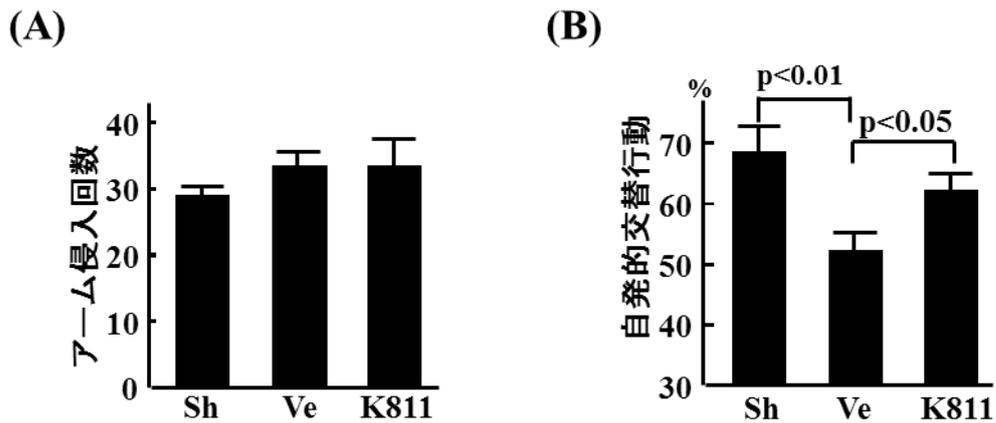


図2 マウスの両側総頸動脈狭窄 24 時間後に K811 を投与した場合の効果

Y 迷路試験により認知症モデルマウスでのアーム侵入回数は 3 群間で差がなかったが (A)、自発的交替行動の減少は K811 の 24 時間後からの投与により有意に改善した (B)。

Sh; 偽手術群, Ve; 両側頸動脈部分狭窄マウス (認知症モデルマウス) にビークル投与した群, K811; 両側頸動脈部分狭窄マウス (認知症モデルマウス) に K811 を投与した群

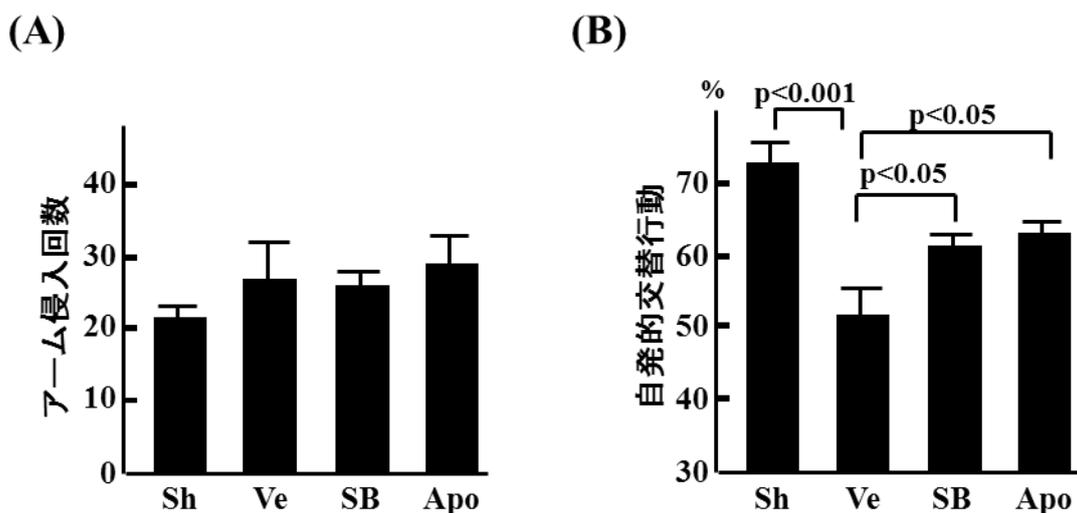


図3 慢性脳低灌流による認知症マウスに対する p38 阻害薬および抗酸化薬の認知機能に対する効果

(A) Y 迷路試験によるアーム侵入回数は、すべての群で有意差はなかった。

(B) Y 迷路試験による自発的交替行動率は認知症モデルのビークル投与群で有意に低下していたが、SB (SB239063) 投与あるいは APO (アポシニン) 投与により有意に抑制された。

Sh; 偽手術群, Ve; ビークル投与群, SB; SB239063 投与群, Apo; アポシニン投与群

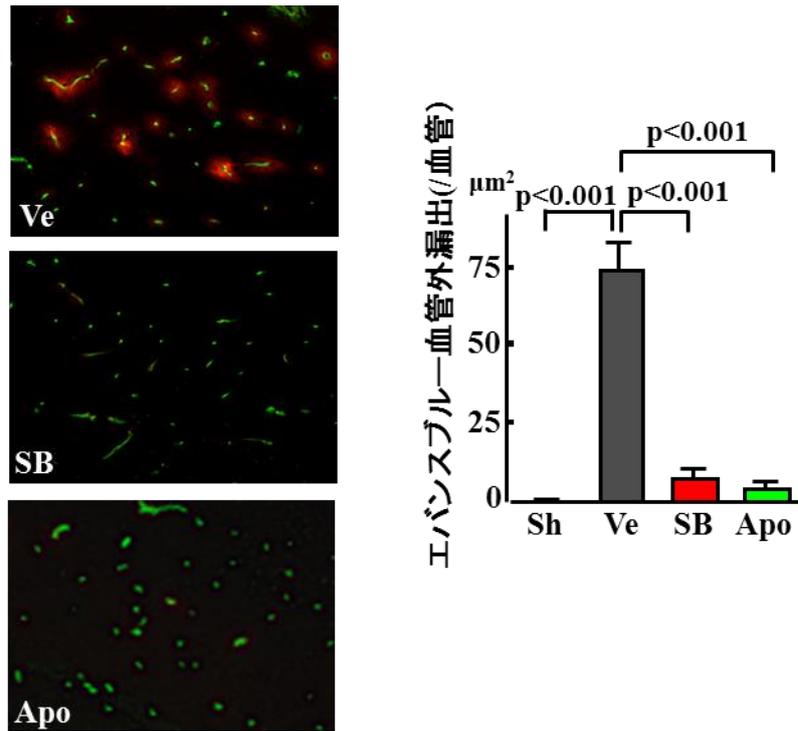


図4 慢性脳低灌流による認知症マウスの血液脳関門破綻に対する p38 阻害薬、抗酸化薬の効果

左の写真はエバンスブルー投与後の脳内血管外漏出の典型的な組織画像を示す。ビーグル群 (Ve) では、慢性脳低灌流状態による認知症モデルで著明なエバンスブルーの脳内血管外漏出がみられた。一方、p38 阻害薬 (SB)、抗酸化薬 (Apo) 投与群ではエバンスブルーの血管外漏出が有意に抑制された。

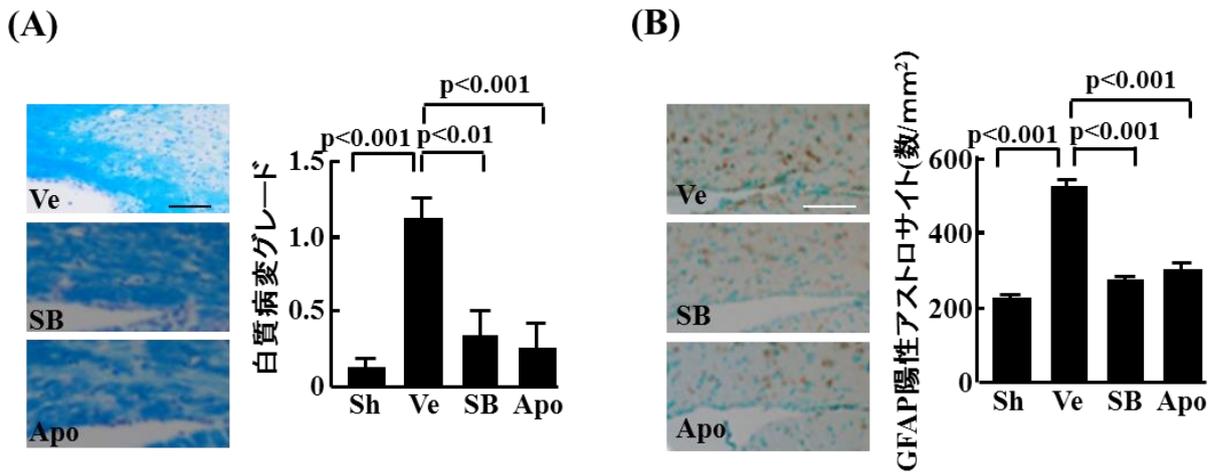


図5 慢性脳低灌流による認知症マウスでの白質病変(A)とアストロサイト活性化(B)は、p38 阻害薬 (SB)、抗酸化薬 (Apo) 投与によって有意に抑制された。

(A)の左図は各群の白質病変の典型画像 (Klüver-Barrera 染色) を示す。(B)の左図は GFAP 免疫染色の典型的画像を示す。

(研究2) 高脂肪食の長期摂取が及ぼす認知機能への影響と、ASK1 の役割を検討した。Y 迷路試験や Passive avoidance test の結果から、高脂肪食長期摂取により 15 ヶ月齢以降の野生型マウスで認知機能が有意に低下していることがわかった (図6)。一方、ASK1 欠損マウスでは、高脂肪食長期摂取による認知機能の低下はみられなかった (図6)。高脂肪食を長期間摂取している 17 ヶ月齢、24 ヶ月齢の野生型マウスでは著明な白質病変の進行がみられたが、ASK1 欠損マウスでは白質病変の形成はみられなかった (図7)。長期間高脂肪食を摂取している野生型マウスでは海馬の毛細血管密度の有意な低下や海馬神経細胞数の減少がみられたが、ASK1 欠損マウスではこれらの変化はみられなかった (図8)。さらに、長期間高脂肪食を摂取している野生型マウスおよび ASK1 欠損マウスは、初期の頃は高脂肪食摂取により著明な体

重増加 (肥満) をきたしたが、予想外なことに約 15 ヶ月齢ぐらいから体重が著明に減少し始め、その体重減少は白色脂肪量の減少や骨格筋量の減少に起因した。ASK1 欠損マウスでは高脂肪食長期摂取による体重の減少が野生型マウスよりさらに著明であり、その理由として骨格筋量の減少がより著明であることが関与していた。また、ASK1 欠損マウスの方が筋力の低下が著明であった。この痩せと認知機能との関連性を調べたが、体重、内臓脂肪量、骨格筋量と、認知機能との間には有意な相関関係はみられなかった。脂肪組織のアディポネクチン、TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1 の発現量、血清甲状腺ホルモン濃度は、高脂肪食摂取の野生型マウスと ASK1 欠損マウス間で差はなかった。脳アミロイド β 沈着量は高脂肪食摂取で増加はみられなかった。

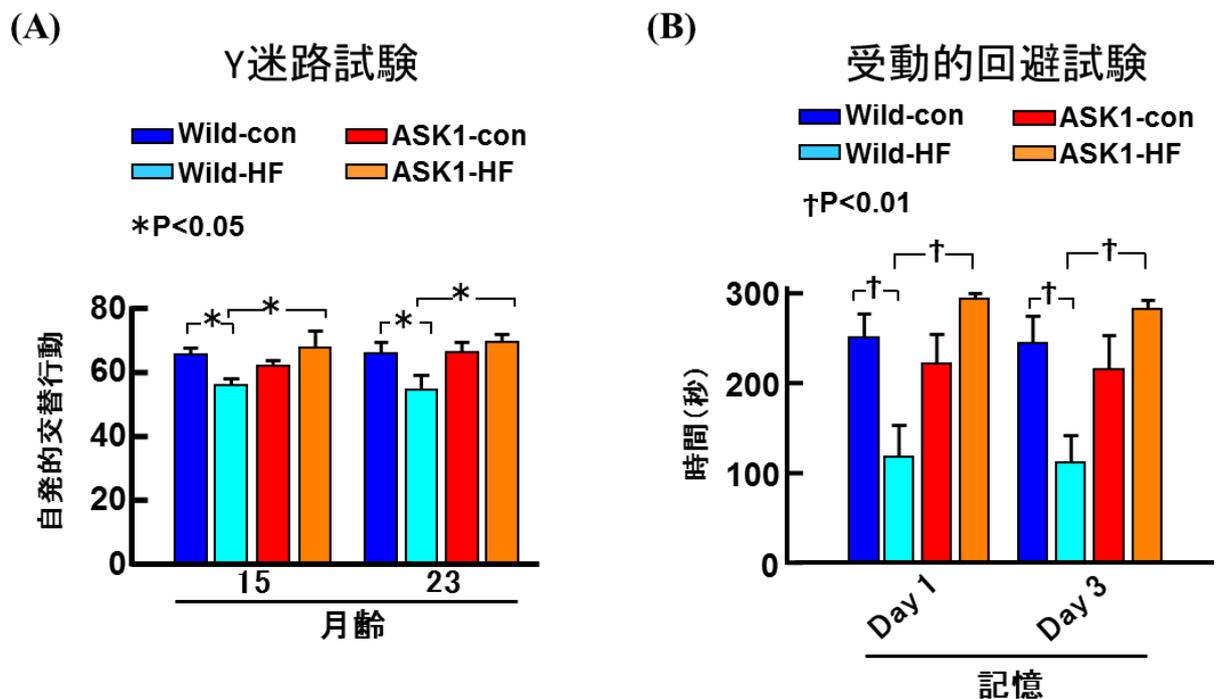


図6 高脂肪食長期摂取の認知機能への影響 -野生型マウスと ASK1 欠損マウスでの比較-

(A) Y 迷路試験における自発的の交替行動は高脂肪食を摂取している 15 ヶ月齢および 23 ヶ月齢の野生型マウスで有意に減少したが、ASK1 欠損マウスでは同月齢でも有意な減少はみられなかった。

(B) 受動的回避試験による解析で、高脂肪食長期摂取している野生型マウスでは認知機能の著明な低下がみられたが、ASK1 欠損マウスでは著明な低下はみられなかった。

Wild-con;野生型マウスのコントロール食摂取群, Wild-HF;野生型マウスの高脂肪食摂取群, ASK1-con;ASK1 欠損マウスのコントロール食摂取群, ASK1-HF;ASK1 欠損マウスの高脂肪食摂取群

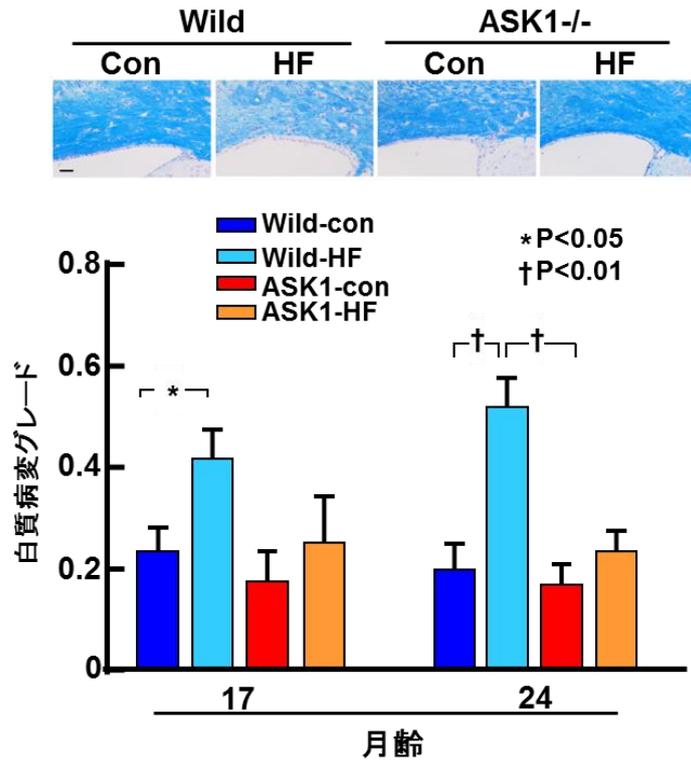
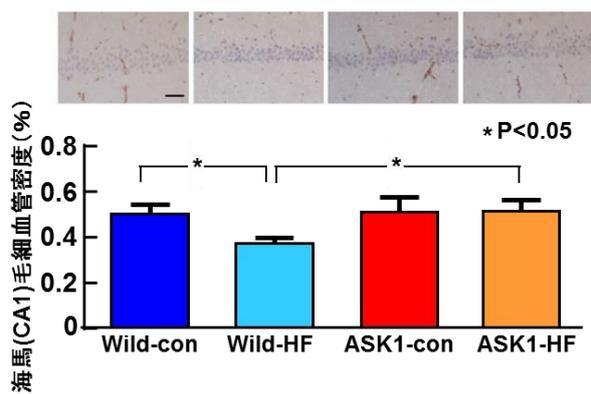


図7 高脂肪食を長期摂取した野生型マウスと ASK1 欠損マウスの白質病変のグレード

上図は各群の典型的な白質病変画像 (Klüver-Barrera 染色) を示す。高脂肪食を長期摂取した野生型マウスでは 17 ヶ月齢、24 ヶ月齢で著明な白質病変の進展がみられたが ASK1 欠損マウスではみられなかった。

(A)



(B)

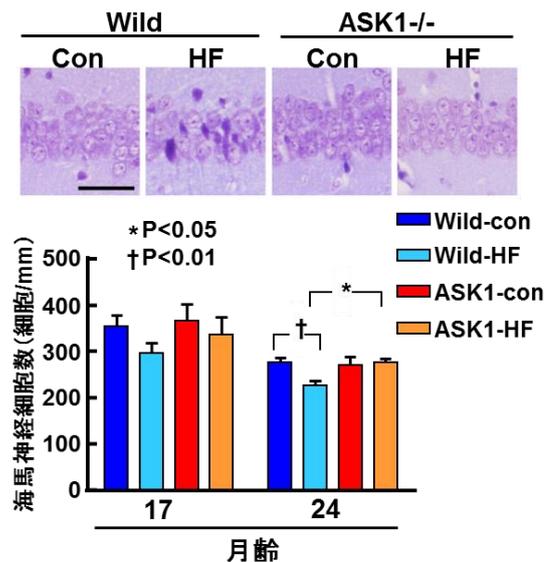


図8 高脂肪食を長期投与した野生型マウス、ASK1 欠損マウスの海馬毛細血管密度(A)と海馬神経細胞数(B)

(A)および(B)の上図は典型的な組織画像を示す。(A)海馬 CA1 毛細血管密度は高脂肪食長期摂取を受けた野生型マウスで有意に減少したが、ASK1 欠損マウスでは減少していなかった。(B)高脂肪食を長期摂取している 24 ヶ月齢の野生型マウスでは海馬神経細胞数が著明に減少していたが、ASK1 欠損マウスでは減少がみられなかった。

(研究3) 野生型マウス (wild)、ASK1 欠損マウス (ASK1KO)、5XFAD、5XFAD+ASK1KO マウスの4群を用い、18-20ヶ月齢の時点で血圧、体重を測定し、水迷路試験にて長期記憶の比較検討を行った。血圧は4群間で差がなかった。体重は5XFAD バックグラウンドをもつ2群のマウスで減少しており、Wild vs. 5XFAD, Wild vs. 5XFAD+ASK1KO、ASK1KO vs. 5XFAD+ASK1KO 群で有意な差を認めた。また Water maze 試験においても5XFAD を背景にもつマウス群にて長期記憶の有意な障害を認めた。次に24ヶ月齢において、ASK1KO、5XFAD、5XFAD+ASK1KO マウスの3群間において明暗試験 (不安行動)、Y 迷路試験 (空間認識能力) を行ったが有意差は認められなかった。しかし受動回避試験 (短期記憶、長期記憶) では長期記憶障害に差はなかったが、5XFAD 群に比し5XFAD+ASK1KO 群にて短期記憶障害の有意な軽減を認めた。24ヶ月齢でアセタゾラミド負荷試験を行い脳血管反応性を比較検討したが、それぞれの群で15-25%程度の同様な血流増過がみられ、3群間で違いはなかった。体重、筋肉量、頸骨長はASK1KO 群において他の2群と比べ有意に保たれていたが、5XFAD 群、5XFAD+ASK1KO 群では差を認めなかった。また脳重量は3群間で有意な差はなかった。以上より、5XFAD マウスにおいては、加齢に伴う体重減少、長期記憶障害 (水迷路)、筋肉量の低下はみられたが、不安行動、空間認識能力、脳重量においては野生型マウスと差を認めなかった。またASK1の欠損により短期記憶障害のみ軽減した。

(研究4) 脳内β-アミロイドタンパクの著明な沈着はみられるが、脳血流量や脳血管反応性は正常である週齢の5XFADを用いて両側頸動脈の一過性閉塞 (17分間) による虚血再灌流モデルを作製し、虚血の及ぼす影響とレニン・アンジオテンシン系の関与を調べた。5XFADの脳虚血再灌流モデルを作製し、アンジオテンシン受容体ブロッカーはアセタゾラミドによる脳血流反応性、血圧、体重、脳重量には有意な影響を与えなかった。しかしWater maze testにより認知機能低下を有意に抑制することがわかった。さらに、虚血再灌流でみられる海馬の神経細胞数の低下、血液脳関門の破綻、酸化ストレスの増加をアンジオテンシン受容体ブロッカーは有意に抑制した。

IV. 考察

(研究1) 血管性認知症の機序としては、高血圧や糖尿病などにより脳内動脈硬化が進行し慢性脳低灌流状態による白質病変を形成し、認知機能が低下するこ

とがよく知られている。マウスの両側頸動脈をマイクロコイルにより部分狭窄することにより、慢性脳低灌流状態にすると脳白質病変の形成と認知機能低下が生じることが知られており、有用な認知症モデルの一つである [10, 11, 15]。今回、この認知症モデルマウスにASK1 阻害薬、P38 阻害薬、抗酸化薬それぞれを投与することにより、脳白質病変や認知機能障害は有意に軽減した。しかも、ASK1 阻害薬を脳低灌流開始24時間後に投与しても認知機能低下が抑制されたので、ASK1 阻害薬はこのタイプの認知症の治療薬として期待できるかもしれない。慢性脳低灌流状態では、血液脳関門の破綻が早期から生じるが、これらの3種類の薬剤投与により血液脳関門の破綻が軽減していたことにより、酸化ストレス-ASK1-p38 カスケードが血管障害を介して認知機能低下に関与していると考えられる (図9)。

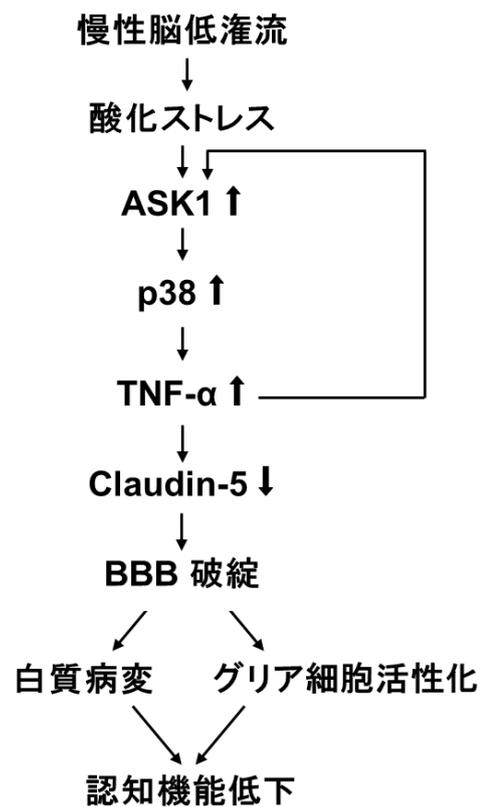


図9 慢性脳低灌流による認知機能低下の分子機序と酸化ストレス、ASK1、p38の役割

(研究2) 高脂肪食摂取が肥満、インスリン抵抗性、耐糖能異常を引き起こすことは良く知られているが、高脂肪食の長期摂取の効果および認知機能に及ぼす影響については十分わかっていない。本研究では、高脂肪食を長期摂取することが認知機能にどのような影響を及ぼすか、またASK1の関与の可能性について検討した。興味深いことに、高脂肪食を長期摂取することで認知機能が著明に低下することがわかった。しかも、その機序にASK1が関与していることが明らかとなった。高脂肪食長期摂取は、脳において白質病変の形成、海馬での毛細血管数の減少、海馬神経細胞数の減少を引き起こすことがわかり、高脂肪食長期摂取による認知機能障害にはおそらく慢性脳低灌流による海馬神経細胞障害と白質病変の形成が関与していると考えられる。一方、Bアミロイド蛋白の沈着は高脂肪食摂取によって増加はみられなかったことから、このモデルでの認知機能低下にBアミロイド蛋白の関与は少ないと考えられる。さらに、ASK1欠損マウスでは高脂肪食を長期摂取しても上述の脳病変は有意に減少していたことから白質病変や海馬神経細胞障害の機序にASK1が関与していると考えられる。上述のように高脂肪食摂取が肥満を引き起こすことはよく知られているが、今回の実験では高脂肪食を極めて長期間摂取すると体重増加(肥満)から一転して体重減少が進行し、痩せ状態になることをみつけた。また、この痩せ状態(体重減少)は、白色脂肪量の減少と骨格筋量の減少が関与していた。そして興味深いことにASK1欠損マウスでは高脂肪食による痩せが野生型マウスより著明であり、その原因として骨格筋量のさらなる減少が関与していた。このように高脂肪食が長期摂取により痩せを引き起こすこと、そしてその機序にASK1が一部関与している可能性が示唆された。しかしながら、痩せ状態と認知機能との間には有意な関連性は見られなかった。以上から、メタボリックシンドロームが認知機能のリスク因子であることが良く知られているが、過剰な高脂肪食の慢性摂取が関与している可能性と、その機序にASK1が関与している可能性が示唆された。

(研究3) Bアミロイド沈着・凝集により引き起こされるアルツハイマー病モデルである5XFADでは認知機能の低下のみならず、加齢に伴う体重減少、筋肉量の減少がみられた。一方、不安行動、空間認識能力の変化は認められなかった。このようにアルツハイマーモデルマウスでは、単に認知機能の障害のみならず加齢に伴う全身的な変化がみられることは興味深い。今

後、その機序について更なる検討が必要である。5XFADの認知機能障害におけるASK1の役割を検討するために5XFADとASK1ノックアウトマウスを交配し、そのフェノタイプを各マウスと比較検討した。5XFADにおいてASK1の欠損は短期記憶障害の軽減を認めたのでASK1はアルツハイマー病における認知機能低下に一部関与している可能性が示唆されたが、今後さらなる検討が必要である。

(研究4) アルツハイマーモデルマウス(5XFAD)における脳虚血再灌流の影響を調べたところ、軽度の脳虚血によってアルツハイマーマウスでは海馬の神経細胞数減少、血液脳関門の破綻、酸化ストレスの増加、認知機能の低下等、脳虚血に対して抵抗性が減弱している可能性が示唆された。そして、アンジオテンシン受容体ブロッカーがこれらの脳障害を有意に抑制したことから、脳内レニン・アンジオテンシン系がアルツハイマーマウスにおける虚血抵抗性の低下に一部関与している可能性がある。最近では、脳内レニン・アンジオテンシン系の活性物質としてアンジオテンシンIIのみならず、アンジオテンシン(1-7)が脳のさまざまな病態生理に関与していることが注目されており、今後、脳内AT1受容体を介する作用のみならずアンジオテンシン(1-7)の受容体であるMas受容体の関与等について更なる検討が必要と思われる。

V. 結論

(1)慢性脳低灌流に起因する認知症にASK1阻害薬やp38阻害薬が有用であることが動物実験で示された。(2)高脂肪食の長期摂取が認知機能障害を引き起こすことが示され、その機序に海馬神経細胞障害や白質病変が関与することがわかった。また、高脂肪食摂取による認知機能障害にASK1が関与することが示唆された。(3)アルツハイマーモデルマウスを用いた研究からASK1がアルツハイマー型認知機能障害に一部関与していることが示唆されたが、今後さらなる検討が必要である。(4)アルツハイマーモデルマウスの結果から、脳内Bアミロイドの沈着は脳虚血再灌流障害に対する抵抗性を減弱する可能性が示唆され、その機序に脳内レニン・アンジオテンシン系が関与している可能性がある。(5)本研究はすべて実験動物を用いた基礎的知見であるので、その臨床的意義を明らかにするためのトランスレーショナルリサーチが今後必要であることは言うまでもない。

VI. 研究協力者

長谷川 雄 熊本大学大学院生命科学研究部・講師

鯉渕信孝 熊本大学大学院生命科学研究部・助教
 植川 颯 熊本大学・脳神経外科
 中川隆志 熊本大学大学院医学教育部・大学院生
 馬 明杰 熊本大学大学院医学教育部・大学院生
 外山研介 熊本大学大学院医学教育部・大学院生
 末田大輔 熊本大学大学院医学教育部・大学院生

Ⅶ. 参考文献

- 1) Kalaria RN, Akinyemi R, and Ihara M Does vascular pathology contribute to Alzheimer changes? *J Neurol Sci* 2012;322:141-147.
- 2) Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, et al. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the american heart association/american stroke association. *Stroke* 2011;42:2672-2713.
- 3) Frisardi V, Solfrizzi V, Seripa D, et al. Metabolic-cognitive syndrome: a cross-talk between metabolic syndrome and Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev* 2010;9:399-417.
- 4) Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, et al. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2005;62:1556-1560.
- 5) Iadecola C Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 2004;5:347-360.
- 6) Ichijo H, Nishida E, Irie K, et al. Induction of apoptosis by ASK1, a mammalian MAPKKK that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways. *Science* 1997;275:90-94.
- 7) Izumi Y, Kim S, Yoshiyama M, et al. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 in injured artery and its critical role in neointimal hyperplasia. *Circulation* 2003;108:2812-2818.
- 8) Izumi Y, Kim-Mitsuyama S, Yoshiyama M, et al. Important role of apoptosis signal-regulating kinase 1 in ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1877-1883.
- 9) Izumiya Y, Kim S, Izumi Y, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 plays a pivotal role in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and remodeling. *Circ Res* 2003;93:874-883.
- 10) Dong YF, Kataoka K, Toyama K, et al. Attenuation of brain damage and cognitive impairment by direct renin inhibition in mice with chronic cerebral hypoperfusion. *Hypertension* 2011;58:635-642.
- 11) Toyama K, Koibuchi N, Uekawa K, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 is a novel target molecule for cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34:616-625.
- 12) Molnar J, Yu S, Mzhavia N, et al. Diabetes induces endothelial dysfunction but does not increase neointimal formation in high-fat diet fed C57BL/6J mice. *Circ Res* 2005;96:1178-1184.
- 13) Burcelin R, Crivelli V, Dacosta A, et al. Heterogeneous metabolic adaptation of C57BL/6J mice to high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;282:E834-842.
- 14) Oakley H, Cole SL, Logan S, et al. Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *J Neurosci* 2006;26:10129-10140.
- 15) Shibata M, Ohtani R, Ihara M, et al. White matter lesions and glial activation in a novel mouse model of chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke* 2004;35:2598-2603.

AESCULON（非侵襲心拍出量モニター）を用いた

脳心血管疾患合併維持透析患者の透析条件と

血圧維持療法の適正評価

国立循環器病研究センター高血圧・腎臓科・医長

吉原史樹

I. 緒言（はじめに・目的）

これまでに報告されている Impedance Cardiography 法を用いた心拍出量モニタリングでは、Gold standard とされる心拍出量の測定結果と比べて精度が必ずしも高くなかった^{1,2}。今回の研究に使用する非侵襲心拍出量モニターAESCULONは Electrical Cardiometry 法を用いた方法であり測定精度が非常に高いとされる^{3,4}。Electrical Cardiometry 法とは、大動脈中の電気抵抗の変化率を測定する方法のひとつである。4つのセンサーを頸部（2つ）および左側胸部（2つ）に貼付し、外側一対の電極経由で一定振幅の交流電流を胸部に印加し、内側一対の電極経由にて電圧を記録し、印加される電流と測定電圧との比である伝導率の時間的変化から、一回心拍出量を始めとした各種指標をリアルタイムでモニタリングすることが可能である⁴。当センターは脳心血管疾患患者の治療を担う専門施設であるため、脳心血管合併症を有する維持透析患者の血液透析を行うことが少なくない。そこで、血液透析中にAESCULONを用い心拍数（HR）、平均血圧（MAP）、心係数（CI）、全身血管抵抗係数（SVRI）などのモニタリングを行い、透析条件や血圧維持薬の種類による影響や効果を検討した。

II. 対象・方法

本研究は、「横断研究」である。本研究遂行にあたり国立循環器病研究センター倫理審査委員会の承認を得た（研究課題番号 M24-76）。選択基準は、当センター入院中で維持血液透析を受けている成人患者で、説明書を通じて研究の詳細を説明し、同意文書によ

る同意が得られた場合とした。除外基準は、①本人による同意が得られない場合、②ペースメーカーや植え込み型除細動器の治療を受けている患者、③頸部および左側胸部の皮膚状態が電極貼付に望ましくないと判断される場合、④高度の大動脈弁閉鎖不全症がある患者、⑤広範囲な浮腫や胸水を認める患者、⑥金属プレート、人工関節などを上半身・上腕に埋め込みされている患者、⑦担当医師の判断により、当該試験への参入が不適切と考えられる患者とした。AESCULONによるモニタリングは、透析開始前10分より透析終了後15分まで施行し、HR、MAP、CI、SVRIなどを記録した。臨床の評価項目は、①透析前後の血液データ（総蛋白、アルブミン、尿素窒素、電解質、ヘモグロビン、C反応性蛋白など）②心エコー図検査データ〔左房径、心室中隔壁厚、左心室後壁厚、左心室拡張末期径、左心室収縮末期径、Fractional shortening、左心室流入波速度比（E/A比）、E波減衰時間、大動脈弁または僧帽弁狭窄症がある場合の弁口面積および圧較差、大動脈弁または僧帽弁の閉鎖不全症がある場合の逆流の程度など〕③透析中の総除水量、除水速度、血圧維持目的の薬剤投与の有無、薬剤の種類と投与量とした。

統計解析：血圧維持療法の有無により2群に分類し、臨床評価項目についてt-testを用いて比較した。さらに、AESCULONによって得られたHR、MAP、CI、SVRIをt-testを用いて比較した。また、体重増加量（ ΔBW ）、除水速度（UFR）、CIおよびSVRIの変化度（ ΔCI 、 $\Delta SVRI$ ）とMAPの変化度（ ΔMAP ）の相関の有無について検定を行った。ソフトウェアはJMP10（SAS Institute Inc., Cary, North

Carolina, USA) を用いた。

III. 結果 (成績)

血圧維持療法群 (14 例) において非療法群 (26 例) と比較して、弁膜症の合併頻度が高かった (血圧維持療法群 42.9% vs. 非療法群 0%, $p=0.0003$) が、年齢、性別、糖尿病、脂質代謝異常症、降圧薬の投与頻度に有意差を認めなかった。透析前に総蛋白、アルブミン、尿素窒素、尿酸、ヘモグロビン値などに 2 群間で有意差を認めなかったが、K 値は血圧維持療法群で高値であった (血圧維持療法群 4.7 ± 0.8 vs. 非療法群 4.2 ± 0.6 mEq/L, $p=0.0357$)。心エコー図検査所見では、左房径、左心室径、左心室収縮能や拡張能に有意差を認めなかったが、三尖弁逆流圧較差は血圧維持療法群で有意に高値であった (血圧維持療法群 30.3 ± 11.7 vs. 非療法群 16.9 ± 13.6 mmHg, $p=0.0065$)。UFR は血圧維持療法群で非療法群と比較して有意に高値であった (680.7 ± 162.5 vs. 360.8 ± 271.2 mL/hr, $p=0.0003$)。透析前に血圧維持療法群で HR が多く、MAP と SVRI は低値であった (HR: 血圧維持療法群 78.9 ± 16.0 vs. 非療法群 67.4 ± 8.9 bpm, $p=0.0057$, MAP: 血圧維持療法群 79.1 ± 18.0 vs. 非療法群 90.3 ± 12.9 mmHg, $p=0.029$, SVRI: 血圧維持療法群 2475.4 ± 554.6 vs. 非療法群 3265.3 ± 1053.3 dyn \cdot s \cdot cm $^{-5}$ \cdot m 2 , $p=0.013$)。透析 3 時間後にも血圧維持療法群で HR は多く、MAP、SVRI は低値であった (HR: 血圧維持療法群 77.9 ± 13.6 vs. 非療法群 65.9 ± 8.9 bpm, $p=0.0017$, MAP: 血圧維持療法群 79.4 ± 15.9 vs. 非療法群 90.9 ± 12.8 mmHg, $p=0.0169$, SVRI: 血圧維持療法群 2624.5 ± 662.6 vs. 非療法群 3471.6 ± 887.4 dyn \cdot s \cdot cm $^{-5}$ \cdot m 2 , $p=0.0034$)。CI は透析前、3 時間後ともに 2 群間で有意差を認めなかった。 Δ MAP と Δ SVRI の間に正相関を認めたが、 Δ MAP と Δ CI、 Δ BW、UFR の間には関連はなかった (図)。高張溶液投与群 (13 例) は非投与群 (27 例) と比較して、透析 3 時間後に MAP と SVRI が低値であったが (MAP: 高張溶液群 78.1 ± 15.7 vs. 非高張溶液群 91.1 ± 12.6 mmHg, $p=0.0076$, SVRI: 高張溶液群 2636.1 ± 688.2 vs. 非高張溶液群 3434.6 ± 891.1 dyn \cdot s \cdot cm $^{-5}$ \cdot m 2 , $p=0.0072$)、交感神経刺激薬投与群 (6 例) と非投与群 (34 例) の比較では、透析 3 時間後に MAP、SVRI に有意差を認めなかった。

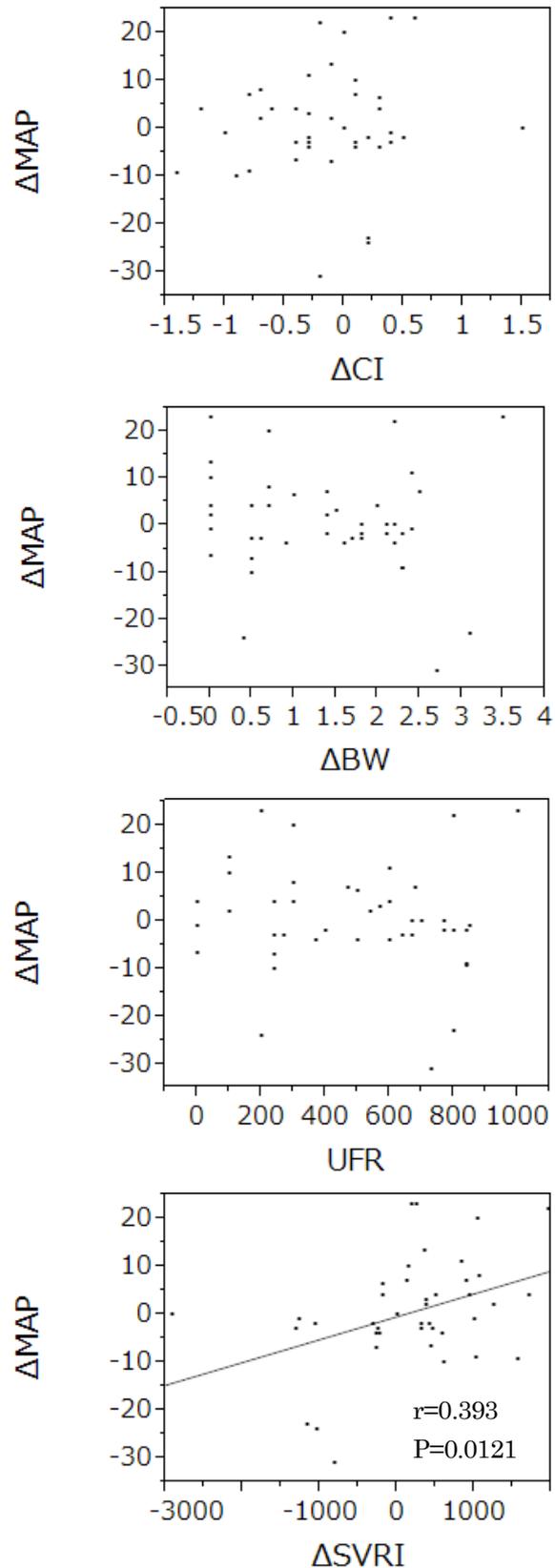


図: Δ MAP と Δ CI、 Δ BW、UFR、 Δ SVRI の相関

IV. 考察

脳心血管合併症を有する維持透析症例の血液透析を行う場合、出来る限り血行動態が安定することが

望ましいが、透析関連低血圧などを合併する症例では血圧を維持することは困難であることが少なくない⁵。さらに血圧低値の原因は、ドライウエイトの下方設定、過大な除水速度、低心機能、自律神経機能障害、低アルブミン血症、薬剤（ナファモスタット、ACE 阻害薬）、アセテート透析液など多岐にわたることが報告されており⁵、原因の同定も容易とは言えず、原因に対する治療方法も確立しているとは言い難い。

今回我々の検討結果において、血圧維持療法群と非療法群の比較を行ったところ、心エコー図検査所見の最大静脈径および心機能に有意差を認めず、AESCULON データの CI に有意差を認めないことより、ドライウエイトの下方設定や低心機能が血圧維持療法群における血圧低下の原因である可能性は低いと考えられた。また、血中アルブミン値や ACE 阻害薬の投与頻度にも有意差を認めなかった。除水速度は血圧維持療法群で非療法群と比較して有意に大きかったため、血圧低下の原因のひとつである可能性があるものの、血圧変化度とは関連性は認められず、関与は小さいものであると考えられた。

AESCULON で得られたデータで興味深い点は、SVRI の変化度と血圧変化度との間に関連性が指摘されたことや、血圧維持療法群では、透析開始前より SVRI が低値であったことである。さらに、血圧維持療法の内、高張溶液投与群では SVRI は非投与群と比較して有意に低値となるが、交感神経刺激薬投与群では非投与群と比較して有意差を認めないことより、少なくとも今回検討を行った症例群に限っては、末梢血管抵抗が低値であることが、透析中の血圧低値の原因のひとつである可能性が考えられた。さらに、血圧維持目的の対策として、除水速度の抑制や高張溶液投与による Plasma refilling の促進よりも、末梢血管抵抗の維持や上昇作用を有する交感神経刺激薬の方が有用である可能性があるものの、今後より詳細な検討が必要である。

V. これまでの結論（まとめ）

透析中の血圧低下には末梢血管抵抗低値の関与が大きいことが示唆された。血圧維持目的で投与される高張溶液および交感神経刺激薬の有用性評価は、今後より詳細な検討が必要である。

VI. 研究協力者

中村敏子 国立循環器病研究センター・高血圧・

腎臓科・医長

岸田真嗣 国立循環器病研究センター・高血圧・
腎臓科・医師

小川浩司 国立循環器病研究センター・臨床工学部・
臨床工学技士

西垣孝行 国立循環器病研究センター・臨床工学部・
臨床工学技士

中崎宏則 国立循環器病研究センター・臨床工学部・
臨床工学技士

石塚 梓 国立循環器病研究センター・高血圧・
腎臓科・専門修練医

林 輝行 国立循環器病研究センター・臨床工学部・
臨床工学技士長

河野雄平 国立循環器病研究センター・高血圧・
腎臓科・部長

VII. 参考文献

- 1) Fuller-HD. The validity of cardiac output measurement by thoracic impedance: a meta-analysis. Clin Invest Med, 15:103-112, 1991.
- 2) Raaijmakers-E, Faes-TJ, Scholten-RJ et al. A meta-analysis of three decades of validating thoracic Impedance cardiography. Crit Care Med, 27:1203-1213, 1999.
- 3) Norozi-K, Beck-C, Osthaus-WA et al. Electrical velocimetry for measuring cardiac output in children with congenital heart disease. Br J Anaesth, 100:88-94, 2008.
- 4) Schmidt-C, Theilmeier-G, Van Aken-H et al. Comparison of electrical velocimetry and transoesophageal doppler echocardiography for measuring stroke volume and cardiac output. Br J Anaesth, 95:603-610, 2005.
- 5) Hirakata-H, Nitta-K, Inaba-M et al. Japanese Society for Dialysis Therapy Guidelines for Management of Cardiovascular Diseases in Patients on Chronic Hemodialysis Therapeutic Apheresis and Dialysis, 16:387-435, 2012.

心房細動を合併する僧帽弁弁膜症患者に 対する低侵襲手術の臨床試験

国立循環器病研究センター・副院長
小林 順二郎

I. 緒言

心房細動(AF)は最も一般的な不整脈であり、僧帽弁手術を受けた患者の 40~60%が心房細動を合併している。僧帽弁手術だけでは心房細動は治らず、結果として脳卒中を引き起こすことになる¹⁾。

心房細動に対する外科手術として、1987年に Cox らによって、それまでは根治的な非薬物療法は不可能と考えられていた心房細動に対するメイズ手術が開発された²⁾。その後、手術の簡略化や低侵襲化あるいはより生理的な心房興奮の回復を目的として、心房切開線の変更、凍結凝固や高周波エネルギーによる切開線の代用、あるいは切開線の簡略化等が行われてきた。手術の危険性は弁膜症手術等の成人心臓手術とほぼ同様であり、適切な症例に施行すれば 70~90%で心房細動を洞調律に復帰させる。そして、僧帽弁形成術や人工弁置換術を行う際にメイズ手術を併施することにより、術後脳梗塞の発生率低下が認められる³⁾。一方、右小開胸で、僧帽弁弁膜症に対する低侵襲心臓手術 (Minimally Invasive Cardiac Surgery : MICS)が行われるようになってきたが、AF に対するメイズ手術を、現在市販されている従来の器機でクライオアブレーションを行うことは、その大きさのため困難であった。今回メドトロニクス社製 Cardioblade CryoFlex Surgical Ablation System を用いて胸骨切開術より侵襲性の低い MICS 術にてクライオ・メイズ手術を行いその有用性・安全性を明らかにしたい。

II. 対象・方法

僧帽弁置換術或いは弁形成術を必要としている心房細動患者を対象として Cardioblade CryoFlex Surgical Ablation System を使用し、MICS にてクライオ・メイズ手術を行う。選択基準は以下の通りである。

1) HRS/EHRA/ECAS ガイドラインによって定義

される AF 患者

2) 僧帽弁形成・置換 (人工弁) のために、MICS 手術を行う患者

3) 20 歳以上の患者

除外基準は以下の通りとする。

1) 房室回帰性頻拍 (AVRT) の患者

2) NYHA 分類でクラス IV の患者

3) 左室駆出率が 30%以下の患者

4) 心原性ショックなど緊急の心臓手術または再開心術が必要な患者

5) 左房径が 7.0 cm を超える患者

6) 術前に、動脈内バルーンポンプまたは強心薬の静脈内投与が必要な患者

7) 透析が必要な腎不全または肝不全の患者

8) 余命が 1 年未満の患者

9) 妊娠しているまたは術後 12 ヶ月以内に妊娠希望がある患者

10) 現在、進行性の全身性感染症と診断されている患者

11) 登録の 6 週間以内に心筋梗塞を発症した患者

対象となる被験者に対し、試験内容について、別に定める同意説明文書に基づいて十分に説明し、被験者が内容をよく理解したことを確認した上で本試験への参加について、被験者の自由意思による同意を文書で得るものとする。併用禁止薬、併用禁止療法は定めない。

プライマリーエンドポイント

1) 6 ヶ月時点のホルター心電図記録より、AF が 1 分以上持続しなかった患者の割合

セカンダリーエンドポイント

1) 遠隔期の MACCE (主要心脳血管イベント) 発生率

2) 安全性評価項目

有害事象の定義

有害事象とは、当該機器の使用により生じた全ての好ましくない又は意図しない疾病又は障害並びにその徴候（臨床検査値の異常を含む。）のことであり、当該機器との因果関係の有無は問わない。問診および観察により有害事象の有無を調査し、有害事象が認められた場合には、追跡調査を実施するとともに、以下の項目について症例報告書に記入する。

(1) 有害事象名（病名、症状、検査値異常など）

(2) 発現日および転帰日

(3) 重篤度（「医薬品等の副作用の重篤度分類基準について」に従う）

(4) 処置（治療の有無および治療内容）

(5) 有害事象の転帰（1.回復（消失） 2.軽快 3.未回復（不変） 4.後遺症 5.死亡 6.不明）試験終了時に判断する。

(6) 試験機器との因果関係（1.明らかに関連あり 2.おそらく関連あり 3. 関連なし 4.不明）以下のいずれかに該当するものを重篤と定義する。なお、重篤度の判定において重篤と判断された場合には、緊急報告を行う。

(1) 死に至るもの

(2) 生命を脅かすもの

(3) 有害事象の治療のための入院の延長が必要となるもの

(4) 永続的または顕著な障害・機能不全に陥るもの

(5) 先天異常を来たすもの

(6) 上記に挙げるものに準じて重篤であるもの

有害事象ごとに試験機器との因果関係について、判定基準を参考にして症例報告書に記入する。

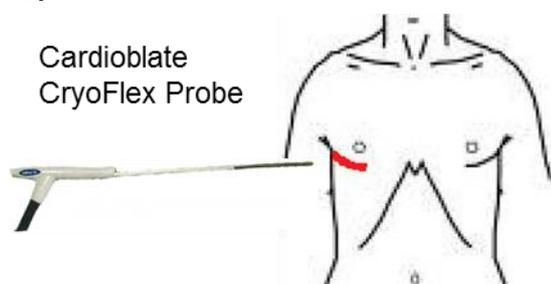


図1. 右小開胸によるクライオ・メイズ手術



図2. 自由に曲げることができる Cardioblade CryoFlex の先端

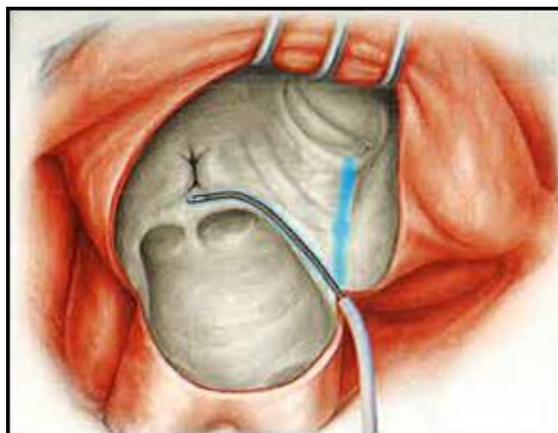


図3. 心房上に冷凍凝固を行い電氣的な隔離線を作成し、異常伝導路をブロックする（クライオ・メイズ手術）

III. 結果

Cardioblade CryoFlex Surgical Ablation System を用いた先進医療Bを厚生労働省と事前面談を行ったところ、メドトロニック社の FDA 認可時の申請情報を適切に受けられないこと、さらにセンチュリーメディカル社が、Atricure 社製 Cardiablation system を従来の器機の一部改変で申請する予定が判明した。このため PMDA への申請を中断せざるを得ず、従来器機での MICS 下のクライオ・メイズ手術を行っている。近い症例、この器機を用いた治療に移行する可能性もある。

これまでに発作性 AF を合併した僧帽弁閉鎖不全 (MR) に対する MICS 僧帽弁形成術と同時に 8 例にクライオ・メイズ手術を施行した。全例男性で手術時年齢は平均 58.4 ± 8.9 歳であった。7 例は後尖病変で切除縫合を、1 例は前尖病変で腱索再建を施行した。人工弁輪を全例に使用した。手術時間は平均 244 ± 27 分で、人工心肺時間は平均 134 ± 15 分、大動脈遮断時間（心停止時間）は平均 101 ± 13 分であった。術中経食道エコーでの僧帽弁逆流はいずれも trivial 以下であった。術後経胸壁エコーでの僧帽弁逆流は、いずれも trivial 以下で、術後平均 7.6 日に退院した。退院時の心電図では全例洞調律であった。術後遠隔期の心電図では、全例洞調律で、Holter

ECG を施行した 5 例では、AF を認めなかった。

遠隔期の有害事象は、1 例に洞機能不全に対するペースメーカー植込みであった。

IV. 考 察

国立循環器病研究センターにおいて、僧帽弁手術と同時にメイズ手術を施行した症例の早期成績としては、退院時の洞調律回復率は 73%であった。我々の施設では、初期にはすべての AF 症例に対して、メイズ手術を行ってきたが、その結果から、メイズ手術のよい適応として、1) AF 歴 10 年以下、2) 心電図の V1 誘導の f 波 0.15mV 以上、3) 胸部 X 線での心胸郭比 65%以下、4) 心臓超音波検査での左房径 65mm 以下があげられる。これらの基準をすべて満たせば洞調律に復帰する確率は 90%以上である 4)。

僧帽弁手術に、メイズ手術を同時に行った場合の遠隔期 AF 回避率は、4 年で 64.4%、8 年で 61.2%であった。僧帽弁形成術あるいは生体弁による弁置換術では、ワーファリンによる抗凝固療法は術後 3 ヶ月を越えると不要になることから、AF に対するメイズ手術はできる限り行うべきであると考えられる。メイズ手術施行後の遠隔期の心事故回避率は、退院時洞調律の症例では 4 年で 90.5%、8 年で 81.5%であったのに対し、AF 症例では、4 年で 76.3%、8 年で 65.3%と不良であった 4)。脳梗塞の発生を低下させるためにも、洞調律回復が期待される症例には、積極的にメイズ手術を行うべきであることが明らかとなっている 5)-7)。

我々は、術後心機能の面からも、術前左室機能低下を有する患者に対しても、積極的にメイズ手術を行っている。クライオアブレーションを多用したメイズ手術では、心停止時間が、僧帽弁手術に加えてわずか 15-20 分程度延長するのみであり、洞調律により、不全心では心拍出量が 20%以上増加することから、術前の左室機能によらずメイズ手術を積極的に行うべきであると考えている。AF を合併する僧帽弁閉鎖不全において、弁形成術に加えて、maze 手術を行うことで洞調律に復帰すれば、左室容積は術前より洞調律の患者と同程度にまで縮小する事が明らかになっている 8)。

今回 MR に対する MICS 僧帽弁形成術においてクライオ・メイズ手術を行うことで、著しい心停止時間の延長や僧帽弁逆流の残存・再発も認めなかった。対象が持続性 AF でなく、発作性 AF ではあるが、遠隔期に 1 例も AF を認めていない成績は良好なもの

と考えられる。1 例において洞機能不全を認めたが、これは従来のクライオ・メイズ手術でも認めうる事象である。しかしながら、従来のクライオ装置は広く心房筋を損傷したり、洞結節動脈の狭窄や閉塞を起こしたりする可能性もあるため、新しい cryoablation デバイス 9), 10) を本邦に早期に導入することが重要と思われる。

V. 結 論

発作性 AF を合併する僧帽弁閉鎖不全症患者に対する MICS 僧帽弁形成術とクライオ・メイズ手術の同時手術は妥当と思われる。

VI. 研究協力者

藤田知之	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医長
秦 広樹	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師
島原佑介	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師
佐藤俊輔	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師

VII. 参考文献

- 1) 循環器病の診断と治療に関するガイドライン (2010 年度合同研究班報告) . 不整脈の非薬物治療ガイドライン (2011 年改訂版)
- 2) Cox JL, Schuessler RB, Boineau JP. The surgical treatment of atrial fibrillation: Development of definitive procedure. J Thorac Cardiovasc Surg 1991; 101: 402-405
- 3) Itoh A, Kobayashi J, Bando K, et al. The impact of mitral valve surgery combined with maze procedure. Eur J Cardio-thoracic Surg 2006; 29: 1030-1035
- 4) Kobayashi J, Kosakai Y, Nakano K, et al: Improved success rate of the maze procedure in mitral valve disease by new criteria for patients' selection. Eur J Cardio-thorac Surg 1998; 13: 247-252
- 5) Nakajima H, Kobayashi J, Bando K, et al: The effect of cryo-maze procedure on early and intermediate term outcome in mitral valve disease: Case matched study. Circulation 2002; 106 (Suppl. I): I-46-50

- 6) Funatsu T, Kobayashi J, Nakajima H, Iba Y, Shimahara Y, Yagihara T. Long-term results and reliability of cryothermic ablation based maze procedure for atrialfibrillation concomitant with mitral valve surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2009; 36: 267-71
- 7) Fujita T, Kobayashi J, Toda K, Nakajima H, Iba Y, Shimahara Y, Yagihara T. Long-term outcome of combined valve repair and maze procedure for nonrheumatic mitral regurgitation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010; 140: 1332-7
- 8) Kobayashi J, Sasako Y, Bando K, et al: Eight-year experience of combined valve repair for mitral regurgitation and maze procedure. *J Heart Valve Dis* 2002; 11:165-172
- 9) Murphy DA, Miller JS, Langford DA, et al. Endoscopic robotic mitral Valve surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 132:776-81
- 10) Gammie JS, Didolkar P, Krowsoski LS, et al. Intermediate-term outcomes of surgical atrial fibrillation correction with the cryo-maze procedure. *Ann Thorac Surg* 2009; 87: 1452-9

大動脈手術に関する感染症の検討

国立循環器病研究センター血管外科・部長

湊 谷 謙 司

I. 緒 言

胸部大動脈術後の人工血管感染は非常に重篤な合併症の一つであり、敗血症、吻合部の破綻などの致命的な病態を併発し、未解決のまま残された重要な検討課題である。その発生率は人工血管置換手術の0.9~1.9%と報告され、死亡率は25~75%と非常に高率である。欧米からの代表的な報告であるCoselliらの報告をみても、再手術後の病院死亡率は42%と非常に高率である。しかしながらこれまでの報告においては、未だ包括的なものが存在しておらず、その発生頻度・治療法・その予後については不明である点が多い。

胸部人工血管感染に罹患した患者において、本邦での疫学、治療法、危険因子、治療法、予後を症例対象研究にて検討する。

II. 対象・方法

2000年1月から2013年12月の間、当院で施行した胸部大動脈人工血管置換術1497例中、人工血管感染と診断された31例(2.1%)を後方視的に検討した。(診断時平均年齢64.1±15.3歳、男性24例)初回手術は大動脈基部置換術6例、上行大動脈置換術4例、全弓部置換術21例であった。緊急手術は7症例であった。

III. 結 果

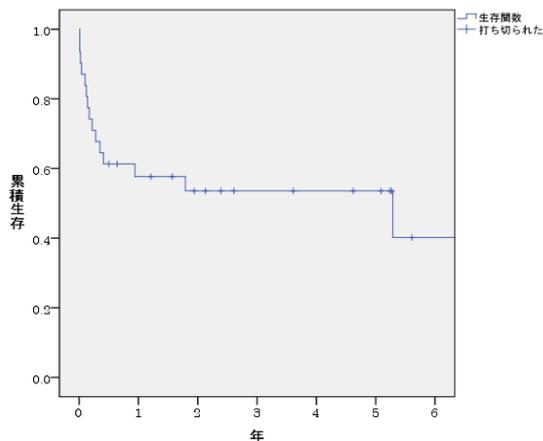
初回手術入院中発症した症例は21例、退院後発症した症例は10例、初回手術から発症までの期間は中央値で17日であった。確定診断方法は開胸心嚢水培養22例、PET5例、ガリウムシンチグラフィ2例、一時的体外膜ペースメーカーリード培養2例であった。起炎菌は黄色ブドウ球菌が24例(77.4%)と高率であり、うちMRSAは21例であった。その他の起炎菌として、緑膿菌1例、連鎖球菌1例、アクネ菌1例、腸球菌1例、カンジダ1例、不明2例

であった。治療は全例抗生剤点滴加療を行い、30例で開胸心嚢内洗浄を行い、6例に再人工血管置換術、17例に大網もしくは腹直筋充填術を行った。13例にvacuum assisted closure (VAC療法)を行った。再人工血管置換のグラフト内訳は、凍結保存同種血管2例、リファンピシン浸透ダクロン人工血管1例、ダクロン人工血管3例であった。

全体の病院死亡は12例(38.7%)であった。死因は敗血症8例、周術期心不全3例、脳出血1例であった。再人工血管置換症例6例中3例死亡(50%)、大網もしくは腹直筋充填術17例中6例死亡(35.3%)、VAC療法13例中5例死亡(38.5%)であった。MRSA人工血管感染症例21例の病院死亡率は47.6%であった。2007年以前の前期群14例と2008年以降の後期群17例を比較すると、病院死亡率は前期群50.0%、後期群23.5%と後期群の症例の成績が優位に良好であった。(p=0.050)累積1年生存率57.7%、3年生存率53.6%、5年生存率53.6%であった。(図1)病院死亡のリスク因子を表に示す。単変量解析の結果、初回術後10日以内早期発症症例(p=0.050)、後期群(p=0.050)、MRSA感染(p=0.045)がリスク因子であった。

表 病院死亡リスク因子 単変量解析

因子	P値	オッズ比	95%信頼区間
男性	0.535	1.786	0.090-0.349
年齢	0.228	1.033	0.980-1.09
MRSA 感染	0.045	9.900	0.011-0.945
前期群	0.050	4.333	0.928-20.244
術後10日以内発症	0.050	5.319	0.035-1.000
再人工血管置換術	0.530	1.776	0.093-3.391
大網・筋皮弁充填術	0.471	1.714	0.396-7.427
VAC	0.981	1.018	0.235-4.407



IV. 考察

胸部人工血管感染の予後は現在においても非常に不良であり、その死亡率は37%–42%と報告されており、人工血管置換術後のもっとも重篤な合併症の一つである。[1-4]

本研究の結果、当院での胸部大動脈人工血管置換術の予後は、病院死亡率38.7%、1年生存率57.7%であり、依然として不良である。特にMRSA人工血管感染の死亡率は47.6%と高率であり、特に予後不良であった。しかしながら、2008年以降の後期群の病院死亡率は優位に低下しており、(23.5%)近年徐々に治療成績が向上してきている。前期群・後期群の治療の違いとしては、1. VAC療法の導入、2. 抗MRSA薬リネゾリドの使用開始、3. エンドトキシン吸着療法の使用開始、がある。齊木らの報告では、VAC療法は、縦隔炎を伴う胸部人工血管感染で有用であったとしている。[5] 当院でも2008年以降採用しており、その単独使用では有意差は出ていないが、近年の成績向上の一助となっている可能性は高い。また、2006年以降、当院でも抗MRSA薬であるリネゾリドの投与を開始している。リネゾリド投与症例は5例であり、全例退院し、死亡例を認めなかった。また、2010年以降4例に敗血症時にエンドトキシン吸着療法を施行しており、4例とも生存し得た。この3種類の治療に合わせて、近年の手術成績の向上が治療予後改善に寄与していると思われる。

V. 結論

今回の研究により、胸部人工血管感染症は、依然として重篤な疾患であることが判明したが、医学の進歩により、徐々にその治療成績が向上してきてい

ることがわかった。本研究を踏まえ、今後更なる治療予後向上が期待できると思われた。

VI. 研究協力者

湊谷謙司	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・部長
佐々木啓明	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医長
田中裕史	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師
清家愛幹	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師
糸永竜也	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師
尾田達哉	国立循環器病研究センター・心臓血管外科・医師

VII. 参考文献

- 1) Coselli JS, Crawford ES, Williams TW Jr, Bradshaw MW, Wiemer DR, Harris RL, et al. Treatment of postoperative infection of ascending aorta and transverse aortic arch, including use of viable omentum and muscle flaps. *Ann Thorac Surg* 1990;50:868-81.
- 2) Coselli JS, Köksoy C, LeMaire SA. Management of thoracic aortic graft infections. *Ann Thorac Surg*. 1999;67:1990-3.
- 3) T. Oda, K. Minatoya et al. Prosthetic vascular graft infection through a median sternotomy: a multicentre review. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Feb 27. pii: ivv024.
- 4) Suzuki T, Kawamoto S, Saiki Y. Contemporary outcome of the surgical management of prosthetic graft infection after a thoracic aortic replacement: is there a room to consider vacuum-assisted wound closure as an alternative? *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2014;DOI 10.1007/s11748-014-0451-5

- 5) Saiki Y, Kawamoto S, Sai S, Tabayashi K. An effective vacuum-assisted closure treatment for mediastinitis with aortic arch replacement. Interactive CardioVasc Thorac Surg 2008;7:712-4.

様々な心血管疾患における酸化ストレスの関与に関する 基礎および包括的大規模臨床検討

熊本大学大学院生命科学研究部循環器内科 教授
小川久雄

I. 諸言

血管内皮機能障害は多くの心血管病の前駆段階であり増悪因子でもあることから、その発症機序や病態への関与機序を明らかにすることが極めて重要である。

我々は以前より一貫して、血管内皮機能障害の循環器疾患における関与メカニズムを主に酸化ストレス (ROS; Reactive Oxygen Species) や一酸化窒素 (Nitric Oxide; NO) を中心に、動物モデルを用いた基礎研究と、実際の心血管病患者を対象にした臨床的検討を一貫して行ってきた。

例えば、循環器領域でもっとも重要な分子の一つである NO を産生する内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) の機能不全である eNOS アンカップリング現象が ROS の産生源になるという新たな知見を詳細なメカニズムとともに動物実験を中心とした基礎研究で明らかにしており 1,2)、さらに、NADPH oxidase やキサンチン oxidase などのいわゆる“古典的”ROS 産生システムも様々な循環器病態の発症と進展に関与することを基礎的に検証し 3,4)、その結果を報告している。また、ROS との関連ということで、ROS 誘導性のシグナル分子の探索と機能解析も研究しており、細胞のアポトーシスを惹起するシグナル分子 MAPKinase Kinase Kinase (MAPKKK) である Apoptosis signal regulating kinase -1 (ASK1) を中心に、その病態の関与のメカニズムを ASK1 遺伝子欠損マウスを用いて検討し、様々な心血管疾患における同分子の重要性を証明した 5,6)。

臨床研究では、尿中の ROS の代謝物であるバイオピリン値が心不全患者では上昇しており、その重症度とも有意に相関すること、尿中の 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine が、急性心筋梗塞患者に対する緊急の再灌流療法ののちに、やはり血中で増加することなどを明らかにしている 7,8)。

また、抗酸化酵素であるチオレドキシンの血漿中の値も不安定狭心症患者 9) や、耐糖能異常患者 10) で有意に増加していることを明らかにした。

本研究では、これまでの基礎研究を踏まえて eNOS アンカップリングを中心とした ROS による血管内皮機能障害の様々な心血管病への関与メカニズムを様々な新しい循環器疾患病態モデル動物を用いて検討する基礎検討と、これまで報告の全くない eNOS アンカップリングを産生源とした ROS をはじめ、実際のヒト病態における ROS 関与の有無を新しいバイオマーカーを用いて臨床的に検討するトランスレーショナル・リサーチを展開する。

つまり、eNOS アンカップリングのみならず ROS がどの程度、各種循環器疾患に関与し予後に影響を与えるか、様々な ROS のバイオマーカーを用いて包括的に検討する予定である。

これらにより、心血管病に対する新たな診断ツールの確立とともに新たな治療アプローチについての知見がえられると考える。

II. 対象・方法

本研究では主に下記の研究を同時進行的におこなっていく。

- ① 各種循環器疾患での新規 ROS バイオマーカーの有効性に関する検討 (臨床研究)
- ② 各種循環器疾患における ROS 産生メカニズムおよびその役割の解明 (基礎研究)

上記①に関しては、近年では実際の臨床病態での ROS 関与について検討しており、ROS のひとつである Hydroperoxide の代謝物を新しい ROS マーカーである d-ROM ; derivatives of reactive oxygen metabolites として専用の測定器を用いて定量し、

循環器疾患との関与ならびに予後予測マーカーとしての有用性を既存のROSマーカー(8-OHdGなど)と比較検討をおこなう。

具体的には、冠動脈疾患患者におけるd-ROM値が、冠動脈病変の重症度や複雑性と相関しており有用な予後予測マーカーとなりえること、さらに慢性心不全患者を、心不全の分類である左室収縮保持型心不全(HFNEF; Heart failure with non-reduced left ventricular ejection fraction)と、左室収縮低下型心不全(HFREF; Heart failure with reduced left ventricular ejection fraction)に分けてそれぞれd-ROM値を定量化し、心不全重症度(NYHA分類)との相関や心血管イベントの予測マーカーとなるかを検討し、HFNEFとHFREFでのROS関与の割合など相違点を明らかにし、治療法の確立されたHFREFと違い、未だ治療法や病態機序の解明がすすんでいないHFNEFの新たな治療法・診断法の確立に寄与したいと考えている。

d-ROMに関しては、これまでも様々な疾患での有用性が散見されているが、循環器疾患への関与はそう多くない。心房細動に対する経皮的カテーテルアブレーション後の再発に対してこれが有用な予測ツールになりうる報告がなされたが¹¹⁾、他の循環器疾患におけるある程度のボリュームをもつ臨床研究はなされていない。

これまでの既存のROS測定法と違い、d-ROMテスト(Diacron srl, Grosseto, Italy)は少量の血液で測定でき、測定時間も専用の測定機器(F.R.E.E.; Diacron srl)で5分あまりででき、測定手技もシンプルなため検者間でバイアスがかかる可能性はない。その有用性と信頼性に関してもほぼ確立されているといえるため^{12,13)}、本研究ではこのツールを測定デバイスとして用いる。

(研究 1-1) 心拡張不全でのeNOSアンカッピングによるROSの関与の臨床的検討

(研究 1-2) 慢性腎臓病(CKD; chronic kidney disease)患者での血管内皮機能障害ならびにROSの関与の臨床的検討

(研究 1-3) 冠動脈疾患(CAD; coronary artery disease)患者でのROSの関与の臨床的検討

・研究の方法:

当科入院患者において入院時あるいは心臓カテー

テル検査施行時に採血を行い、eNOSアンカッピングの原因であるビオプテリン代謝異常のマーカーである血中BH4/BH2比ならびに前述のROSマーカー(血中d-ROM、尿中8-OHdGなど)を測定する。

さらに血管内皮機能の指標としては、新しい非侵襲的な生理的血管内皮障害測定装置であるEndo-PAT2000(図1)を用いて客観的・定量的に測定をおこなう¹⁴⁾。これにて、現在注目され新たな治療法の確立が急務である循環器疾患である(1-1)心拡張不全心不全(HFNEF)、(1-2)CKD、(1-3)CADに対する血管内皮機能障害の関与、ならびにROSを中心とした関与機序の検討を行う。



図1 Endo-PAT2000による末梢血管内皮機能の定量化

上記疾患はいずれも血管内皮機能障害が病態の進展に関与することが基礎研究を中心に明らかにされているが、これを実際の臨床研究で証明した報告は少ない。

こと、eNOSアンカッピングなどのROS増加による血管内皮機能障害の心血管疾患関与を包括的に検討した大規模臨床研究は皆無のため、本研究で上記(1)(2)(3)や他の循環器疾患でもd-ROM測定の有用性を明らかにし、簡便な測定ツールであるd-ROMが将来の心血管イベントの予測マーカーとなり得るのはどのような疾患なのか?、既存のROSマーカーでは十分な心血管疾患のマーカーとなるものは少ないがd-ROMの有用性はどうか、これから臨床的に重要な疑問を解決したい。

・法令等の順守への対応:

事前に十分な説明を行い全ての患者より承諾書を得た後に血管内皮機能検査および採血を行う。血管内皮機能検査は非侵襲的なもので技術的にも特に問

題はないものと考えられる。保存した採血は鍵のかかる冷蔵庫に保管され、データは個人が特定できない番号を付す。

患者情報の保管場所は熊本大学医学部付属病院内とし責任者は小川久雄（循環器内科診療科長）とする。終了後の資料は予後調査の資料として同部局で保管する。さらに、測定終了後の検体は当科にて -20°C 以下設計の冷凍庫にて維持管理する。

研究②に関しては、主に以下のような基礎研究をおこなっていく。

（実験 2）肺動脈性肺高血圧症の新しい分子機序の基礎的検討

・研究の方法：

VEGF 受容体拮抗薬と低濃度酸素負荷によるヒト肺動脈性肺高血圧症の真のモデル動物を用いて、実験 1 と同様に抗酸化剤等を投与し効果を検討する。さらに同モデルを病理学的・生化学的に解析し、肺動脈性肺高血圧症の分子メカニズムを明らかにする。

現在までに Vitamin E をはじめ抗酸化薬による循環器疾患改善効果は臨床的には悉く証明されなかった。新たな ROS に対する介入方法が希求されているが、これらの動物実験で疾患背景に応じたより効率的な ROS に対する介入による心血管疾患予防・改善方法を確立したい。

・法令等の順守への対応：

動物実験は「熊本大学動物実験等に関する規則」を遵守、熊本大学動物実験委員会承認を経て施行。遺伝子改変動物を用いた実験は「熊本大学遺伝子組換え生物等第二種使用等安全管理規則」を遵守、学内の安全委員会の承認を経て施行する。

Ⅲ. 結果

（研究 1-1）心拡張不全での eNOS アンカッピングによる ROS の関与の臨床的検討

まず、当科に入院となった合計 221 名の心拡張不全（HFNEF）患者に対して、患者数と冠危険因子や CAD の合併率をマッチさせた 212 名の非心不全の対象患者で臨床背景を比較検討した。結果、HFNEF 患者では、ROS のマーカーである d-ROM 値は有意に高値であった（343 [312-394] U.CARR vs. 336 [288-381] U.CARR, $p<0.001$ ）。さらに、body mass index (BMI)、血中 BNP 値と高感度 C 反応性蛋白 (CRP)

値が高い（全て $p<0.01$ ）ことがわかった。また、拡張能の指標である E/e' 値が高く、治療薬である β ブロッカーやループ利尿薬の使用率が有意に高値（全て $p<0.01$ ）であることが示された。

さらに、HFNEF 患者において重症度によって d-ROM 値を比較すると、235 人の NYHA II 度の HFNEF 患者にくらべて、52 人の NYHA III/IV 度の重症心不全患者は、主に女性で ($p<0.008$)、心房細動の合併、心不全入院の既往、BNP 値・高感度 CRP 値、左室の mass index (LVMI) がいずれも有意に高値であった ($p<0.003$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.007$, $p=0.04$)。また、d-ROM 値は重症の HFNEF 患者において有意に高値であった（405 [346-478] U.CARR vs. 338 [308-383] U.CARR, $p<0.001$ ）。d-ROM 値とその他のバイオマーカーの相関をみると、BNP 値 ($r=0.19$, $p=0.001$)、 $(r=0.16$, $p<0.01$)、高感度 CRP 値 ($r=0.39$, $p<0.001$) (図 2) とそれぞれ有意な正相関を認めた。

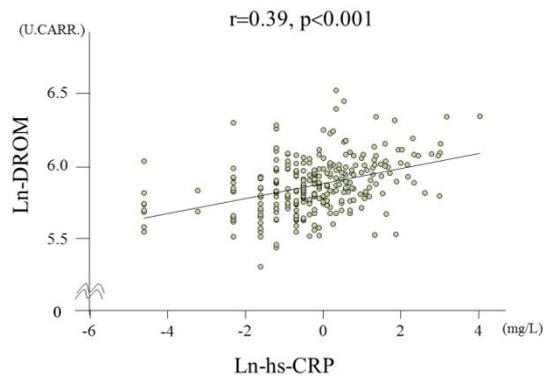


図 2 HFNEF 患者での d-ROM 値と高感度 CRP 値の相関

さらに、287 人の HFNEF 患者を平均 20 か月フォローアップしたところ、合計 71 の心血管イベントを認めた。さらに Kaplan-Meier 解析では、d-ROM 値が低値の群 (median 以下、カットオフ値：346 U.CARR) は d-ROM 高値群に比べて有意に心血管イベントが少ないことがわかった (log-rank test: $P=0.01$) (図 3)。

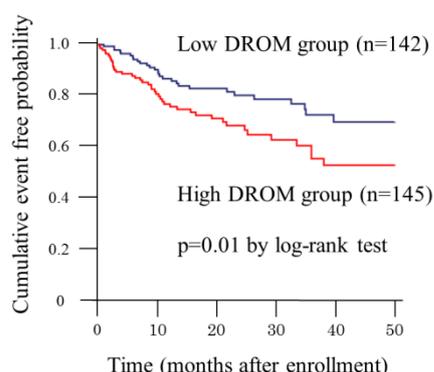


図3 HFNEF患者でのd-ROM高値群はCVイベントが多い
(Hirata Y, Ogawa H, et al. Int J Cardiol 2014)

さらに Cox 比例ハザード解析においても、 \ln -d-ROM 値は、有意かつ独立して心血管イベント発症を予測することが示された (ハザード比: 4.11, 95%信頼区間: 1.04-16.2, $p=0.04$) 15)。

さらに、上記と同様の診断基準をみたした HFNEF 患者 64 名を対象に、患者数と冠危険因子や CAD の合併率をマッチさせた 64 名の非心不全の対象患者で臨床背景を比較検討した。結果、HFNEF 患者では、ROS のマーカーである d-ROM 値は有意に高値であった (312.5 [294.8-396.3] U.CARR vs. 384.0 [348.5-426.0] U.CARR, $P<0.001$)。

さらに、心不全の安定した早朝内服前に採血を行い、HPLC 法を用いて血中の BH4 値と、その酸化物である BH2 値を測定し、eNOS アンカップリングの指標とした。結果、リスクマッチさせた対照群と比較しても、BH4 値は HFNEF 群で低下する傾向にあり (対象 vs. 心拡張不全患者; 33.4 ± 24.1 nM vs. 26.3 ± 15.9 nM, $P=0.051$)、酸化物 BH2 は逆に有意に上昇していた (対象 vs. 心拡張不全患者; 13.4 ± 9.5 nM vs. 16.8 ± 10.1 nM, $P=0.047$)。このため eNOS アンカップリングの指標となる BH4 の相対的低下を示す BH4/BH2 比の低下は有意であった (対象 vs. 心拡張不全患者; 3.21 ± 2.05 vs. 2.05 ± 1.62 , $P<0.001$)。

また、BH4/BH2 比とその他のバイオマーカーの相関をみると、d-ROM 値と有意に負に ($r=-0.181$, $p=0.04$)、末梢血管内皮機能の指標である RH index (RHI ; 血管内皮機能の指標) 値とは有意に正に ($r=0.233$, $p=0.009$)、さらに心拡張能の指標である E/e' 値と ($r=-0.26$, $p=0.003$) それぞれ有意に相関を認めた (図 4) 16)。

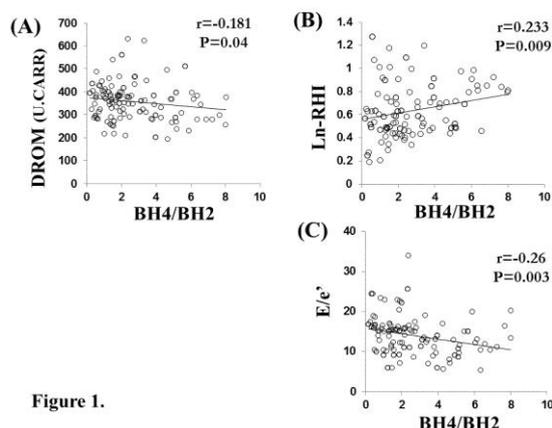


Figure 1.

図4 血中 BH4/BH2 比と他のマーカーとの相関

(Yamamoto E, Ogawa H, et al. Int J Cardiol 2015)

われわれの以前の報告どおり 17)、HFNEF 患者の末梢血管内皮機能障害が高度に低下していることとあわせると、DS ラットを用いた基礎研究の結果と同様に、HFNEF 患者の血管内皮機能障害に eNOS アンカップリングによる ROS の増加が深く関与している可能性が示唆された。

(研究 1-2) CKD 患者での血管内皮機能障害ならびに ROS の関与の臨床的検討

前述したように、DS ラットは食塩負荷により著明な血管内皮機能障害と CKD を発症するが、これに ROS による血管内皮機能障害が関与することや、eNOS アンカップリングが関与していることを我々は基礎検討で既に明らかにしている。

また、実際のヒト病態において CKD と末梢血管内皮機能障害との関連を検討した報告を以前われわれは報告している 18)。具体的には、当科に入院した連続 1000 症例以上の検討で、eGFR 値により分類した CKD ステージが高い群ほど Endo-PAT によって測定した RHI が低下していること、eGFR<60 の stage III 以上の CKD 患者 (n=413) においては、非 CKD 患者 (n=647) より有意差をもって末梢の血管内皮機能 (RHI 値) が低下していることも明らかにしている。さらに、CAD を合併している CKD 患者は、CAD のない CKD に比べて明らかに Ln-RHI が低下していた (0.499 ± 0.183 vs. 0.582 ± 0.206 , $P<0.001$)。Multivariate logistic regression analysis では、RHI 低下は CKD 患者において CAD 合併の独立した相関因子であった 18)。

さらに引き続いての研究では、当科に入院となっ

た合計 188 名の CKD 患者に対して、患者数と冠危険因子などをマッチさせた 188 名の非 CKD の対象患者で臨床背景を比較検討した。結果、CKD 患者では、ROS のマーカーである d-ROM 値は有意に高値であった (347.0 [301.8–391.8] U.CARR vs. 338.5 [299.8–384.3] U.CARR, $p=0.03$)。さらに、eGFR 値は CKD 群で有意に低いほか、血中 BNP 値と高感度 C 反応性蛋白 (CRP) 値が CKD 群で有意に高い (ともに $p<0.01$) ことがわかった。

また、d-ROM 値とその他のバイオマーカーの相関をみると、BNP 値 ($r=0.20$, $p<0.001$)、 $(r=0.16$, $p<0.01)$ 、高感度 CRP 値 ($r=0.31$, $p<0.001$) (図 5)、血清 P 値 ($r=0.14$, $p<0.02$) とそれぞれ有意な正相関を認めたものの、eGFR 値とは有意な相関は認めなかった。

先の HFNEF の臨床検討と同様に、d-ROM 値はいずれの病態でも高感度 CRP 値と比較的強い相関を認めており、“ROS” と“炎症”の病態における強い連関を示唆するものである。

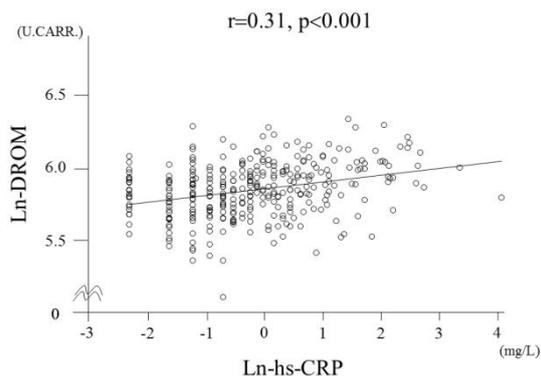


図 5 CKD 患者における d-ROM 値と高感度 CRP との正相関 (Hirata Y, Ogawa H, et al. Medicine 2015)

また、324 人の CKD 患者を平均 23±14 ヶ月のフォローアップの間で、83 例の CKD 患者において心血管イベントが発症された。Kaplan-Meier 解析では、d-ROM 値が低値の群 (median 以下、カットオフ値: 348 U.CARR) は d-ROM 高値群に比べて有意に心血管イベントが少ないことがわかった (log-rank test: $P=0.01$) (図 6)。

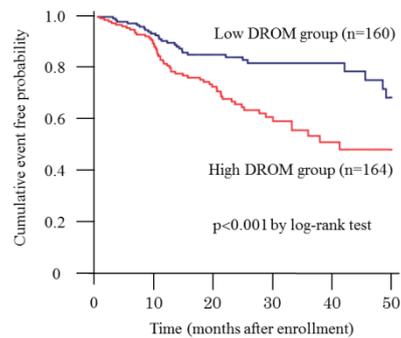


図 6 CKD 患者における d-ROM 高値群は CV イベントが多い (Hirata Y, Ogawa H, et al. Medicine 2015)

.Multivariate Cox hazard analysis では、d-ROM は CKD 患者における心血管イベント発症の独立した予知因子であった (ハザード比=1.76, 95%信頼区間=1.10-2.82, $p=0.02$)。

以上より、CKD 患者において末梢の血管内皮機能だけでなく ROS マーカーである d-ROM は、CAD 合併、さらにはその後の心血管イベント発症の予測、つまりリスク層別化に有用であることが示唆された (19)。

(研究 1-3) CAD 患者での ROS 関与の臨床的検討

まず、当科に入院となった合計 395 名の連続の CAD 患者において、患者数と冠危険因子の合併率をマッチさせた 227 名の CAD 患者と非 CAD の対象患者で臨床背景を比較検討した。結果、CAD 患者では、ROS のマーカーである d-ROM 値は有意に高値であった (338 [302.0–386.0] U.CARR vs. 311.0 [282.0–352.5] U.CARR, effect size=0.33, $p<0.001$) (図 7A)。

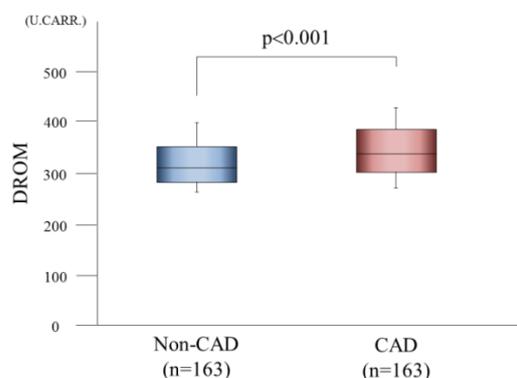


図 7A CAD 患者と対照群の d-ROM 値の比較 (Hirata Y, Ogawa H, et al. JAHA 2015)

さらに、CAD 患者において重症度によって d-ROM 値を比較すると、152 人の 1 枝病変 (SVD) 患者にくらべて、243 人の多枝病変 (MVD) 患者は、d-ROM 値は有意に高値であった (360.0 [313.5–397.0] U.CARR vs. 332.0 [296.0–371.8] U.CARR, effect size=0.17, p=0.001) (図 7B)。

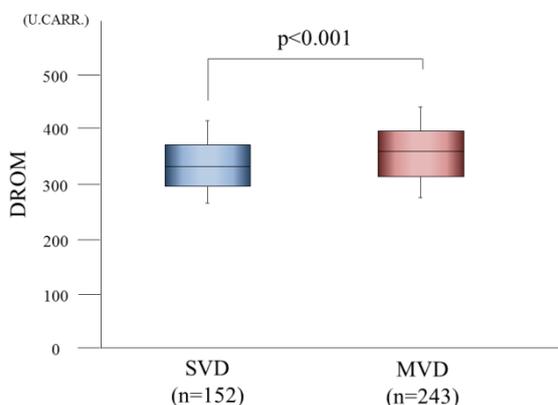


図 7B CAD 患者の重症度における d-ROM 値の比較
(Hirata Y, Ogawa H, et al. JAHA 2015)

CAD 患者の病変を複雑度によって d-ROM 値を比較しても、267 人の単純病変 患者にくらべて、128 人の複雑病変患者は、d-ROM 値は有意に高値であった (373.0 [318.8–408.3] U.CARR vs. 337.0 [302.0–381.0] U.CARR, effect size=0.18, p<0.001)。

d-ROM 値とその他のバイオマーカーの相関をみると、BNP 値 ($r=0.16$, $p=0.001$)、高感度 CRP 値 ($r=0.39$, $p<0.001$) とそれぞれ有意な正相関を認めしたが、既存の ROS のマーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine レベルとは有意な相関を認めなかった。

さらに、393 人の CAD 患者を平均 20 か月フォローアップしたところ、合計 83 の心血管イベントを認めた。さらに Kaplan-Meier 解析では、d-ROM 値が低値の群 (median 以下、カットオフ値 : 346 U.CARR) は d-ROM 高値群に比べて有意に心血管イベントが少ないことがわかった (図 8)。

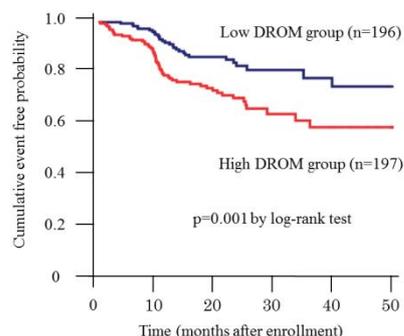


図 8 CAD 患者における d-ROM 高値群は CV イベントが多い
(Hirata Y, Ogawa H, et al. JAHA 2015)

.Multivariate Cox hazard analysis では、単変量解析で残った 8 つの因子を含めた 3 つのモデルを作成し、検討をおこなったが、いずれにおいても d-ROM は CAD 患者における心血管イベント発症の独立した予知因子であった。

さらに、末梢での d-ROM 値に心臓での d-ROM 産生が反映されているか検討するために、患者の心臓カテーテル検査の際に、冠循環の入り口と出口、つまり大動脈基部 (Ao) と冠静脈洞 (CS) における d-ROM 値を測定し、CAD 患者と非 CAD 患者で比較した。

結果、Ao での d-ROM 値に有意差はなかったが (316.0 [266.0–355.5] U.CARR vs. 318.0 [272.0–364.5] U.CARR, $p=0.36$)、CS における d-ROM 値は CAD 患者で有意に高かった (309.0 [266.0–355.0] U.CARR vs. 327.0 [293.0–376.5] U.CARR, $p=0.05$)。結果、冠循環での d-ROM 産生 (Δ DROM = CS での DROM – Ao での DROM) は、CAD 患者において有意に高値であった (-2.0 [-9.0–9.0] U.CARR vs. 8 [-8.0–28.3] U.CARR, effect size=0.21, $p=0.04$) (図 9)

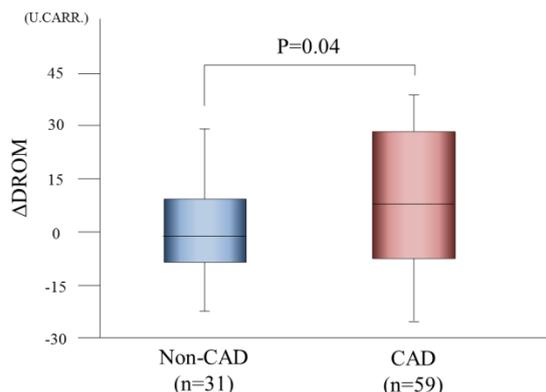


図9 冠循環での d-ROM 産生の CAD 患者と非 CAD 患者の比較 (Hirata Y, Ogawa H, et al. JAHA 2015)

以上より、CAD 患者において末梢の血管内皮機能だけでなく ROS マーカーである d-ROM は、その後の心血管イベント発症の予測、つまりリスク層別化に有用であることが示唆された。さらに d-ROM 値の少なくとも一部に冠循環での d-ROM 産生が寄与していることが示された 20)。

(実験 2) 肺動脈性肺高血圧症の新しい分子機序の基礎的検討

従来、基礎研究で用いられていた肺高血圧症のモデル動物は、モノクロタリンというアルカロイドを動物に注射し、これにより肺循環で炎症を起こし肺高血圧を惹起するというものであった。しかしこのモデルでは肺高血圧はみられるものの、実際の患者に認められる求心性内膜過形成や plexiform 病変などの進行した病理像は認めないため、同モデルを用いた基礎研究の結果が実際の臨床病態を反映しているかは疑問であった。しかし最近、Abe らは VEGF 受容体拮抗薬 (Sugen 5416) 皮下注+低酸素 3 週飼育+常酸素 10-11 週飼育により、全てのヒトの肺動脈性肺高血圧症の病理像を忠実に再現する初めての疾患モデルラットを確立し注目されている (図 10) 21)。

そこで、我々もラットに同様の刺激をおこない肺動脈性肺高血圧症モデルラットを作成し本研究に用いる。さらに、我々は eNOS アンカッピング改善薬として BH4 製剤 (塩酸サプロプテリン) を肺高血圧症モデルラットに投薬し、その改善効果を検証する。また、既存の特発性肺高血圧症の臨床での治療薬であるエンドセリン受容体拮抗薬を投薬し、その病態改善機序に eNOS アンカッピングが関与

するかも同時に検討したいと考えている。

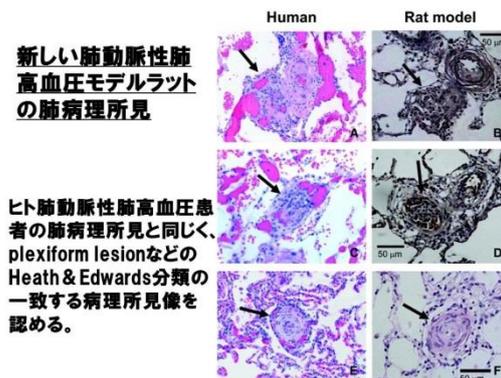


図 10 新しい肺動脈性肺高血圧モデルラットの病理像 (Abe K. et al. Circulation 2010)

IV. 考察

本臨床研究によって以下の知見が明らかになった。

今回の臨床検討で、まず心拡張不全患者では末梢血の新しい ROS のバイオマーカーである d-ROM 値が上昇しており、さらに同患者での予後にも有意に相関することが明らかになり、d-ROM が心拡張不全患者における心血管イベント発症の独立した予測因子となることがわかった。

心不全における血管内皮機能障害や ROS の関与は、これまで主に心収縮不全心不全で明らかにされてきたが、その機序は明確でなかった。以前われわれは心拡張不全患者での末梢血管内皮機能の有用性を報告しているが、心拡張不全患者への効果的な治療法が確立されていない現状があるため、今後は心拡張不全において血管内皮機能障害をターゲットとした治療戦略が新たな治療法の確立に寄与できる可能性を考えなければならない。

このため次に、ROS の新たな産生源であり血管内皮機能障害の発症機序の重要な一つである「eNOS アンカッピング」の原因であるビオプテリン代謝異常のマーカーとして血中 BH4/BH2 濃度を HPLC 法を用いて測定している。

以前の報告で、血中 BH4/BH2 濃度と、血管内皮機能を反映する反応性充血時の FMD の低下が有意に相関するという報告があるが 22)、より簡便かつ客観的に血管内皮機能を非侵襲的に測定できる Endo-PAT2000 を用いた検討はこれまで皆無であった。

本研究では、心拡張不全患者において予想通り、血中における BH4 の低下と、その酸化物である BH2 の増加がみられ、「eNOS アンカッピング」の指標たる BH4/BH2 比が有意に低下していることが

明らかになった。さらに BH4/BH2 比は、有意に d-ROM 値や RHI 値と相関しており、これらは初めてヒトの HFNEF の臨床病態で eNOS アンカッピングの有意な関与を示唆する重要な報告である。

また、この結果は、我々が以前行った心拡張不全モデルである DS ラットによる検討の結果と合致するもので、心拡張不全において血管内皮機能障害の発症機序に eNOS アンカッピングが深く関与する可能性を強く示唆するものである。

実際、これまでの報告では、喫煙患者や糖尿病患者の血管内皮機能を BH4 製剤の単回静脈内注射が改善させたとの報告がある。しかし、慢性的な同薬剤の投与が何らかの病態に効いたとの報告は全くなく、我々の DS ラットによる基礎研究の結果通り BH4 製剤である塩酸サプロプテリンの投薬が血管内皮機能障害のみならず心拡張不全をも改善させることが、臨床研究によっても明らかにされれば、治療法が全く確立されていない心拡張不全の新たな治療法の確立に寄与でき、現在小児の先天性代謝疾患である高フェニルアラニン血症にのみ疾患適応となっている塩酸サプロプテリン製剤が eNOS アンカッピングが関与する循環器疾患にも適応が拡大することが期待できる。

心血管疾患における ROS に対する様々な大規模な介入試験（ビタミン C やビタミン E による）は、いずれも有意な抑制効果をしめしておらず、実臨床での ROS 抑制の難しさを物語っているが、ROS 誘導性のシグナル分子に対する介入は、より効果的・実際の心血管病抑制のみならず、その上流である食塩感受性高血圧や生活習慣病の改善効果も期待できる可能性がある。今後もビオプテリン代謝異常を中心とした血管内皮機能障害の発症機序、ならびに心拡張不全の分子学的メカニズムを検討していき、新たな心拡張不全治療薬の確立にも寄与したいと考えている。

また心臓病のみならず、CKD や CAD に対する血管内皮機能障害ならびに ROS の関与の検討を本研究では臨床的にこなっている。

本邦では成人の約 20%が「eGFR<60mL/分/1.73m²」だと推計され、CKD 対策は喫緊の課題である。また、CKD の予後は末期腎不全への進行より心血管イベントの合併に依ることが明らかになっており、CKD 患者における心血管病合併リスクの層別化は非常に重要な課題である。昨今、心疾患と C

KD 病態の発症と進展が互いに密接に関わっていることが明らかになり、「心腎連関」という概念でその共通基盤や分子機序の解明がすすんできている。

そこで、我々もこれら心腎連関の共通基盤である血管内皮機能障害に着目し、本研究で新しい非侵襲的生理的血管内皮機能測定装置である Endo-PAT2000 を用いるとともに同様に d-ROM 測定をおこない、CKD 患者における心血管疾患合併のリスク層別化について検討をおこなった。

また、前述のように我々は以前より様々な病態モデル動物を用いて、血管内皮機能障害によってもたらされる臓器障害の発症メカニズムを基礎的に検討してきた。Dahl 食塩感受性高血圧ラット（DS ラット）は、食塩負荷により著明な高血圧が惹起され、血管内皮機能障害から心拡張不全のみならず CKD を早期に発症することが知られる。前述のように、我々の基礎研究で、同ラットの血管では内皮機能障害のみならず ROS の増加がみられており CKD 進展にも深く関与することを我々は明らかにしている。

我々は本研究において、CKD 患者における d-ROM の有用性を明らかにしている。今後は血中 BH4 や、その酸化物である BH2 を同病態でも測定し、CKD の発症・進展に大きく関与する血管内皮機能障害への eNOS アンカッピングの関与を、いまだ報告が皆無である実際のヒト CKD 病態においても今後検討していく。

これらにより、CKD 患者での心血管病合併のリスク層別化における末梢内皮機能障害測定の有用性を検討するとともに、eNOS アンカッピングという新しい ROS 産生源への介入が CKD の新たな治療法となる可能性を検証し、臨床上きわめて重要な CKD の新たな治療・管理の確立に寄与したい。

これら CKD 患者と同様に、CAD 患者においても本研究で d-ROM の有用性を明らかにするとともに、冠循環での d-ROM 産生をはじめ臨床的に証明している。今後も様々な循環器病態における d-ROM の有用性を検討していく。

その一環として現在、わらわれは肺動脈性肺高血圧症（PAH 患者で d-ROM 測定を行っている。PAH は、ここ 10 年で病態機序の解明がすすみ、新たな治療薬物が登場したことは事実であるが、依然予後不良の疾患で分子病態メカニズムの解明や予後改善のための新たな治療法の開発が待望される疾患であることは間違いない。実際、新しい薬物治療の 3 本柱であるプロスタサイクリン誘導体、PDE5 阻害

薬、エンドセリン受容体拮抗薬は、それぞれ肺高血圧の程度への効果は臨床研究において証明されたものの、患者の予後改善という点では、単独投与および併用療法でもその効果は十分とは言えず、病態の著明な改善はみられないとの報告もある。

eNOS アンカッピングは、これまでの動物実験の成果から肺動脈性肺高血圧症の病態の首座をなしている可能性があり、実際のヒト病態での関与の証明は非常に重要である。本研究により eNOS アンカッピングのヒト病態への関与が証明されれば、eNOS アンカッピングへの介入が既存の NO 吸入療法やプロスタサイクリン誘導体、PDE5 阻害薬といった NO 産生を上昇させ肺血管抵抗を改善させる治療法よりも効率的な治療法となり、これら既存の治療への不応例 (non-responder) にも適用できる可能性が考えられる。

V. 結論

今回、臨床研究においては、心拡張不全、CKD さらには CAD という現在、循環器領域でもっとも注目されている各疾患に着目し、それぞれにおける ROS の関与、とくに eNOS アンカッピングという新しい ROS 産生源を中心に検討を行った。

結果、我々の既存の基礎研究と同様に、臨床研究においても CKD や心拡張不全には ROS が関与している可能性が示唆され、さらに eNOS アンカッピング現象をはじめとした eNOS の機能不全がこの ROS 産生に影響している可能性が示唆された。

一方、基礎研究においても各種循環器疾患における ROS の関与を抗酸化剤を病態モデル動物に投与し検討をおこなっている。これまでの知見と同様に、様々な循環器疾患における ROS の包括的関与が示唆され、その詳細な分子機序に関して現在、検討をすすめている。

VI. 研究協力者

山本英一郎 熊本大学医学部附属病院循環器内科・診療講師、助教
杉山正悟 陣内病院・循環器科部長
陣内秀昭 陣内病院・院長、熊本大学医学部附属病院 循環器予防医学先端医療寄附講座・客員准教授
松井邦彦 山口大学医学部附属病院総合診療医学分野・教授
掃本誠治 熊本大学大学院 生命科学研究部 循環

器内科学・准教授

平田快紘 熊本大学大学院生命科学研究部循環器内科学・大学院生

時津孝典 熊本大学大学院生命科学研究部循環器内科学・大学院生

VII. 参考文献

- 1) Yamamoto E., Yamashita T., Tanaka T., et al.: Pravastatin enhances beneficial effects of olmesartan on vascular injury of salt-sensitive hypertensive rats, via pleiotropic effects. *Arterioscler Thromb Vasc Bio.* 27:556-563, 2007.
- 2) Yamamoto E., Kataoka K., Shintaku H., et al.: Novel mechanism and role of angiotensin II-induced vascular endothelial injury in hypertensive diastolic heart failure. *Arterioscler Thromb Vasc Bio.* 27:2569-2575, 2007.
- 3) Yamamoto E., Tamamaki N., Nakamura T., et al.: Excess salt causes cerebral neuronal apoptosis and inflammation in stroke-prone hypertensive rats, through angiotensin II-induced NADPH oxidase activation. *Stroke.* 39:3049-3056, 2008.
- 4) Yamamoto E., Kataoka K., Yamashita T., et al.: Role of xanthine oxidoreductase in reversal of diastolic heart failure by candesartan in salt-sensitive hypertensive rat. *Hypertension.* 50:657-662, 2007.
- 5) Yamashita T., Yamamoto E., Kataoka K., et al.: Apoptosis signal-regulating kinase-1 is involved in vascular endothelial and cardiac remodeling caused by nitric oxide deficiency. *Hypertension.* 50:519-524, 2007.
- 6) Yamamoto E., Dong YF., Kataoka K., Yamashita T., et al.: Olmesartan prevents cardiovascular injury and hepatic steatosis in obesity and diabetes, accompanied by apoptosis signal regulating kinase-1 inhibition. *Hypertension.* 52:573-580, 2008.
- 7) Nagayoshi Y, Kawano H, Hokamaki J, et al.: Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels increase after reperfusion in acute myocardial infarction and may predict

- subsequent cardiac events. *Am J Cardiol.* 95:514-7., 2005.
- 8) Hokamaki J, Kawano H, Yoshimura M, et al.: Urinary biopyrrins levels are elevated in relation to severity of heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 43:1880-5., 2004.
 - 9) Hokamaki J, Kawano H, Soejima H, et al.: Plasma thioredoxin levels in patients with unstable angina. *Int J Cardiol.* 99:225-31., 2005.
 - 10) Miyamoto S, Kawano H, Hokamaki J, et al.: Increased plasma levels of thioredoxin in patients with glucose intolerance. *Intern Med.* 44:1127-32., 2005.
 - 11) Shimano M, Shibata R, Inden Y, et al.: Reactive oxidative metabolites are associated with atrial conduction disturbance in patients with atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 6:935-40.,2009.
 - 12) Cesarone MR, Belcaro G, Carratelli M, et al. A simple test to monitor oxidative stress. *Int Angiol.* 1999;18:127-30.
 - 13) Iamele L, Fiocchi R, Vernocchi A. Evaluation of an automated spectrophotometric assay for reactive oxygen metabolites in serum. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40:673-6.
 - 14) Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sugamura K, et al.: Digital assessment of endothelial function and ischemic heart disease in women. *J Am Coll Cardiol.* 55:1688-96., 2010.
 - 15) Hirata Y, Yamamoto E, Tokitsu T, et al. Reactive oxidative metabolites are associated with the severity of heart failure and predict future cardiovascular events in heart failure with preserved left ventricular ejection fraction *Int J Cardiol.* 179C:305-308, 2014.
 - 16) Yamamoto E, Hirata Y, Tokitsu T, et al. The pivotal role of eNOS uncoupling in vascular endothelial dysfunction in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Int J Cardiol.* 190: 335-337, 2015.
 - 17) Akiyama E, Sugiyama S, Matsuzawa Y, et al.: Incremental prognostic significance of peripheral endothelial dysfunction in patients with heart failure with normal left ventricular ejection fraction. *J Am Coll Cardiol.* 60:1778-86., 2012.
 - 18) Hirata Y, Sugiyama S, Yamamoto E, et al.: Endothelial function and cardiovascular events in chronic kidney disease. *Int J Cardiol.* 15:173:481-6., 2014.
 - 19) Hirata Y, Yamamoto E, Tokitsu T, et al. The pivotal role of a novel biomarker of reactive oxygen species in chronic kidney disease. *Medicine.* 2015 (In Press)
 - 20) Hirata Y, Yamamoto E, Tokitsu T, et al. Reactive oxygen metabolites are closely associated with the diagnosis and prognosis of coronary artery disease. *J Am Heart Assoc.* 4:e001451. 2015.
 - 21) Abe K, Toba M, Alzoubi A, et al.: Formation of plexiform lesions in experimental severe pulmonary arterial hypertension. *Circulation.* 121:2747-54.,2010
 - 22) Takeda M, Yamashita T, Shinohara M, et al.: Plasma tetrahydrobiopterin/dihydrobiopterin ratio: a possible marker of endothelial dysfunction. *Circ J.* 2009;73:955-62.

公益財団法人循環器病研究振興財団 研究助成業績報告集 2014(平成 26)年度

2015 年 発行

発 行 公益財団法人循環器病研究振興財団

〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5丁目7番1号

電 話 06-6872-0010

