研究助成業績報告集

2024 年度 読売テレビチャリティ基金研究助成

公益財団法人　循環器病研究振興財団

＊ 目 次 ＊

No	研　　究　　課　　題	研 究 者	頁
1	単極誘導で評価する不整脈基質とアブレーションへの応用	片岡 直也	1
2	間質を標的とした心不全治療戦略の開発	加藤 勝洋	8
3	心臓マクロファージを起点とした免疫細胞ネットワークによる心不全制御機構の解明	工藤 藤美	12

単極誘導で評価する不整脈基質とアブレーションへの応用

富山大学学術研究部医学系内科学（第二）・助教
片岡直也

Ⅰ．緒　言

心室頻拍(Ventricular Tachycardia: VT)に代表される心室性不整脈は、植込み型除細動器が広く普及した現代においても大きな臨床課題である。そもそも、植込み型除細動器は心室性不整脈の発生を抑制するものでは無い上に、適正作動を繰り返す症例は予後が悪いことが知られている。また、我が国では２０２１年にその保険適応が認められ、今後症例数の増加が見込まれる長期在宅補助人工心臓治療では、繰り返す心室性不整脈は右心不全や大動脈弁不全などを惹起することで予後を悪化させることが知られている（参考文献１）。よって、カテーテルアブレーションによるＶＴの根治は時代のニーズであるが、現在の技術では再発率が３割以上に達する事が課題になっている。

そもそも何故、ＶＴに対するアブレーションは難易度が高いのか？理由の一つとして「頻拍の全周期をマッピングする事が難しい」事が知られている。ＶＴはリエントリー性不整脈の代表格だが、リエントリーの維持には必須緩徐伝導路（isthmus）の存在が不可欠である。アブレーションでは、そのisthmus を同定・焼灼する事で、頻拍は停止する。通常、isthmus の位置同定には、頻拍を維持しながら興奮伝搬をマッピングする必要があるが、ＶＴが持続すると血行動態が不安定になる事から、その全周期をマッピングする事は多くの場合困難である。経皮的左室補助循環は、血行動態を維持しながらＶＴをマッピングするのに有益であるが、現時点でアブレーション目的での使用は認められていない（参考文献２）。そのため、洞調律中に isthmus を推定する様々な手法が考案されてきたが、まだ確実にisthmus を推定できる方法は存在しない。

これまでの基礎研究において、isthmus には傷害心筋が存在し、その電気的不応期は不均一で、特に短い不応期と長い不応期の組織間で電気的興奮が旋回する事が頻拍維持の主因である事が報告されている（参考文献３）。従来、臨床例における局所心筋不応期の評価方法は定まったものが存在しなかったが、我々は最近、high-pass filter を 0.05Hz(体表面心電図と同一)に設定して記録した単極誘導電位を用いる事で、局所不応期の不均一性を３次元マッピング上に反映できることを見出し、「Repolarization Time (RT) Map」と名付け報告した（参考文献４）。これにより、不応期が短い領域が白色で描出され、同部位が isthmus に一致する可能性が示されたが、多症例を用いた検証はなされていない。そこで今回、１）RT Map により描出された不応期の不均一性とisthmus の関係性、および２）RT Map で描出される関心領域＝アブレーション標的部位と、従来のマッピング手法で描出される関心領域（アブレーション標的部位）との相違点を、多症例を用いて検証することにした。

Ⅱ．対象・方法

研究対象：２０１９年１月から２０２４年８月に富山大学附属病院で持続性心室頻拍に対するカテーテルアブレーションが行われた連続症例を、電子カルテを用いてスクリーニングした。登録基準は、１）Advisor HD Grid マッピングカテーテル（Abbott, MN）を用いて高密度マッピングを実施した症例、および２）瘢痕関連リエントリー性心室頻拍と診断を受けた症例、とした。心室頻拍の起源が右心室であるか左心室であるかは問わないこととした。除外基準は、１）心室全体の高密度マッピングが記録されていないもの、２）心房細動症例（R-R 間隔が不均一で不応期の評価が難しいため）とした。なお本研究は、富山大学倫理委員会で承認を受けたものである（R2017071、承認日：2020 年 3 月 12 日）。

アブレーション手法：全症例は、EnSite マッピングシステム（Abbott, MN）を用いて、深鎮静下に行わ

れた。右大腿静脈より穿刺したシースを用いて右心系、またはブロッケンブロー法により左心系へ電極カテーテルを挿入し、VT を誘発した。誘発するプロトコールは、基本周期 400msec または 600msec で、最大３連期外刺激まで行い、期外刺激の周期は心室不応期まで短縮した。誘発された VT に対し右室心尖部からペーシングを行うことで、リエントリーの証明を行った。続いて、Advisor HD Grid マッピングカテーテル（Abbott, MN）を用いてマッピングを行った。VT 中血行動態が安定している場合は VT 中の acitvation map を作成し、血行動態が不安定となる場合は洞調律中に substrate map を作成した。

アブレーション至適部位の決定法：アブレーションの至適部位は、次の２つの方法で決定した。１）VT 中に拡張期電位が記録され、同部位からの entrainment pacing で concealed entrainment と post pacing interval ≤ tachycardia cyncle length+20msec が確認できた部位、または２）VT により血行動態が破綻して pacing study が困難な場合は、洞調律中に伝導遅延（isochronal crowding）が記録され、かつ pace-map により VT と同一の波形が記録され、同部位のアブレーション後は VT が誘発されなくなった場合と定義した。

基質マッピングの取得法：VT 誘発後、洞調律中に以下の方法により基質マッピングを行った。１）Voltage map: 局所電位の peak to peak の波高値を記録した。単極誘導電位は左室<8.3 mV、右室<5.5 mV を、双極誘導電位は<1.5 mV を、それぞれ低電位領域と定義した（参考文献５，６）。２）Isochronal late activation map (ILAM): 双極誘導電位の局所遅延電位にアノテーションを合わせた ILAM を作成した。特に伝導遅延が強い部分を、１cm 四方で３色以上のカラーを含む領域とし、deceleration zone (DZ) と定義した（参考文献７）。３）RT map：RT map は、下大静脈に不関電極を設定し、high-pass filter を 0.05 Hz に設定した単極誘導電位を記録することで作成した。局所 RT の計測方法は、Wyatt 法に基づき、その開始点を体表面心電図の QRS onset とし、終了点を ST-T 時相の最大一次微分点とした（参考文献８）。計測された RT を心室全体で８色の等時線に分類し、RT の短いものから順に暖色系（白色、赤色など）に、長いものは寒色系（青色、紫色など）に分類した。なお先行報告した参考文献５に従い、アブレーションの標的部位となりうる関心領域は、局所 RT が短い部分（白色～赤色）と定義した。典型図を図１に示す。

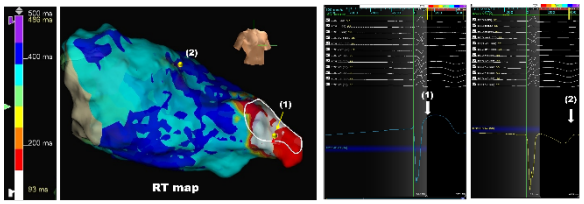

図１　RT map の典型例

肥大型心筋症の一例。左室心尖部が白色～赤色で表現される RT の短い領域と同定された。局所 RT が短い部分（1）は、陰性 T 波を伴わない ST 上昇を呈し、長い部分（2）は ST 低下とそれに続く陰性 T 波を呈する単極誘導波形であった。

評価項目：次の４つの項目を比較検証した。（１）Voltage map における低電位領域、ILAM における DZ、そして RT map における局所 RT が短い領域の大きさをそれぞれ比較した。（２）それら関心領域とアブレーション至適部位との相関を検証した。（３）ILAM で同定された DZ と RT map で同定された局所不応期が短い部分が、VT 回路内のどの位置に分布しているかを評価した。（４）DZ とアブレーション部位とが一致した場合、また局所 RT が短い部分とアブレーション部位とが一致した場合について、それぞれ VT 再発率を比較した。

統計解析：連続変数は中央値（四分位）で記載した。低電位領域と DZ、局所 RT の短い領域の３群間に有意差が存在するかは、フリードマン検定を用いて確認し、多重比較法にはスティール・ドゥワス検定を採用した。VT 再発の群間比較にはカプランマイヤー曲線を描き、ログ・ランク検定を用いて有意差検定を行った。両側検定で p 値<0.05 を統計学的有位と判断した。解析ソフトには、JMP ver. 14 (SAS, NC, USA)を用いた.

Ⅲ. 結　果

登録患者：全 33 アブレーション症例がスクリーニングを受け、うち７名が除外された（瘢痕関連リエントリー性頻拍では無かった、十分なマッピングが行われていなかったという理由）。残り 26 症例において、誘発された全 43 個の VT が検証され、そのうち電気生理検査で瘢痕関連リエントリー性頻拍であることが証明できなかった 12 個の VT は除外した。最終的に 31 個の VT（頻拍周期の中央値[四分位]： 340 [290–380] msec)が解析対象となった。解析対象となった患者背景は表１の通りである。

表1　患者背景

ACEi; アンジオテンシン変換酵素阻害薬, ARB; アンジオテンシン受容体拮抗薬, ARNI; アンジオテンシン受容体拮抗薬およびネプリライシン阻害薬, CIEDs; 心臓植え込み型電気デバイス, MRA; ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬, SGLT2; ナトリウム・グルコース共輸送体2を示す。

年齢、歳	75 [57–82]
男性, 人 (%)	20 (77)
Body mass 指数, kg/m²	23.7 [20.0–26.1]
左室駆出分画 (%)	37 [30–54]
器質的心疾患	
虚血, 人 (%)	9 (35)
拡張型心筋症, 人 (%)	6 (23)
不整脈原性右室心筋症, 人 (%)	3 (12)
先天性心疾患, 人 (%)	3 (12)
サルコイドーシス, 人 (%)	2 (8)
アミロイドーシス, 人 (%)	2 (8)
肥大型心筋症, 人 (%)	1 (4)
CIEDs, 人 (%)	18 (73)
植え込み型除細動器, 人 (%)	14 (54)
心臓再同期療法, 人 (%)	6 (23)
薬物治療	
ACEi, ARB, ARNI, 人 (%)	18 (69)
ベータ遮断薬, 人 (%)	19 (73)
MRA, 人 (%)	14 (54)
SGLT2 阻害薬, 人 (%)	12 (46)
ループ利尿薬, 人 (%)	16 (62)
強心薬, 人 (%)	5 (19)
アミオダロン, 人 (%)	21 (81)
リドカイン, 人 (%)	7 (27)
PAINESD リスクスコア, 点	8 [4–13]
低リスク, 人 (%)	15 (58)
中等度リスク, 人 (%)	7 (27)
高リスク, 人 (%)	4 (15)

アブレーション手技の詳細は表2の通りである。

表2　手技の詳細

アブレーション1回目, 人 (%)	20 (77)
再発後2回目, 人 (%)	6 (23)
心室調律	
洞調律, 人 (%)	21 (81)
両心室ペーシング, 人 (%)	5 (19)
VT 起源	
右室, 人 (%)	4 (13)
左室, 人 (%)	27 (87)
手技時間, 時間	3 [2.5–4.0]
心外膜マッピング, 人 (%)	6 (23)
介入が必要な合併症, 人 (%)	3 (12)

各マッピングで描出される関心領域の比較：双極誘導および単極誘導で描出される低電位領域は、全症例で同定された。一方で、ILAM で同定された DZ は、21 症例（81%）で同定された。RT map では同一症例内の RT の不均一性を描出するため、全症例で RT が短い領域が同定された。各関心領域の面積を比較すると、低電位領域（双極：76.7 [49.2–108.4] cm²、単極：94.4 [54.6–144.0] cm²）,に比べ、DZ (4.2 [2.8–8.4] cm²) および RT の短い領域 (5.1 [2.9–10.1] cm²) は有意に小さく、関心領域を絞り込むことができることが分かった（p <0.001, 図2）。

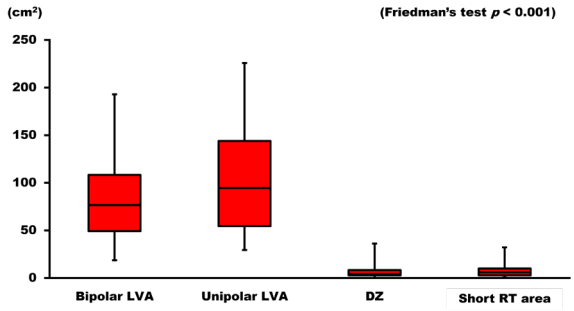

図2　各関心領域の比較

また、アブレーション至適部位と各マッピング法における関心領域の一致率についても比較した。その結果、低電位領域はその面積が大きいために一致率が顕著に低い一方で、DZ や RT の短い領域は、一致率が同程度に高いことが判明した。(DZ vs. 単極誘導低電位領域と、DZ vs. 双極誘導低電位領域は、どちらも p = 0.005; RT の短い領域 vs. 単極誘導低電位領域と、RT の短い領域 vs. 双極誘導低電位領域は、どちらも p < 0.001, 図3).

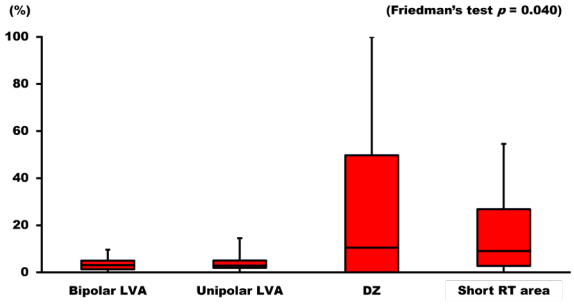

図3　各関心領域とアブレーション至適部位の一致率

全 31 個の VT のうち、18 個の VT が DZ と一致した。そのうち、89%（16 個）が RT の短い領域と解剖学的に一致した。一方で、DZ と一致しなかった残りの 13 個の VT のうち、9 個（69%）は RT の短い領域とアブレーション至適部位が一致した。まとめると、DZ の 58%、RT が短い領域の 81%がアブレーション至適部位に一致した。この一致率は基礎心疾患間で有意な差は見られなかったが、興味深いことに、不整脈原性右室心筋症では RT が短い領域とアブレーション至適部位は全例で一致が見られなかった。一致した症例の数[%]は次の通りである。虚血：8 [89], 拡張型心筋症：3 [50], 不整脈原性右室心筋症：0 [0], 先天性心疾患：3 [100], サルコイドーシス：2 [100], アミロイドーシス：1 [50], 肥大型心筋症：1[100] (p = 0.29)。

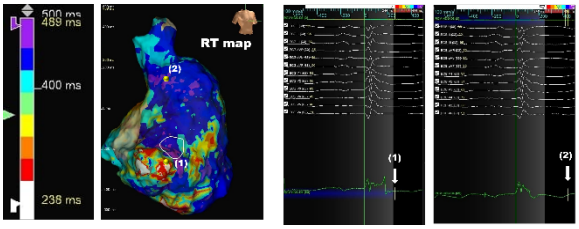

図 4　不整脈原性右室心筋症の一例。アブレーション至適部位（白色で囲った領域）と RT が短い領域（白～赤色）が一致しないことが見てとれる。

RT が短い領域は VT isthmus のどこに位置するか:

DZ と RT の短い領域が、アブレーション至適部位（＝ isthmus）のどこに位置するか、その解剖学的位置関係を比較した。アブレーション至適部位と一致した全１６個の DZ のうち、４個（25%）は VT isthmus の中央部に位置したが、残りの 12 個(75%)は入口部分に位置した。一方で、RT が短い領域は、４個（16%）が isthmus 中央部と重なる一方で、残り２１個（84%）は出口付近に位置した。DZ と RT が短い領域とは、中央値で 16 mm（6.5–27.5 mm）離れていた。以下に DZ が入り口側に、RT の短い領域が出口側に位置した典型例を提示する（図 5）。

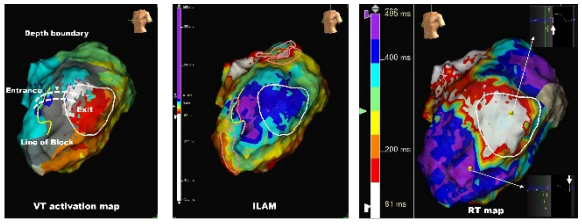

図 5　虚血性心筋症に合併した瘢痕関連リエントリー性頻拍の一例：DZ が入り口側に、RT の短い領域が出口側に位置する。左が VT activation map、真ん中が ILAM による DZ の検出、右が RT map による RT の短い領域の描出（白色～赤色）を表す。

RT が短い領域をアブレーションした後の予後：

アブレーションした部位と DZ の一致の有無について、VT 再発率を比較した。その結果、DZ とアブレーションした部位が一致していたかどうかは、その後の VT 再発率に影響を及ぼさなかった（Log-rank p = 0.59、図６）。

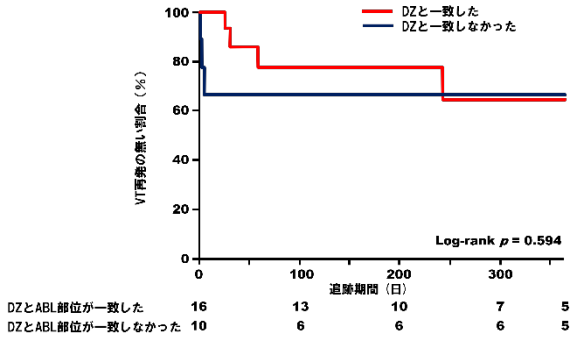

図６　アブレーション後再発率:DZ と焼灼部位の一致の有無では、VT 再発率に差が見られない。

一方で、RT が短い領域とアブレーションした部位の一致の有無について VT 再発率を比較した結果、統計学的有意差はなかったものの、RT が短い領域とアブレーション部位が一致していた群の方が、VT 再発が少ない傾向が見られた（Long-rank p = 0.18、図７）。

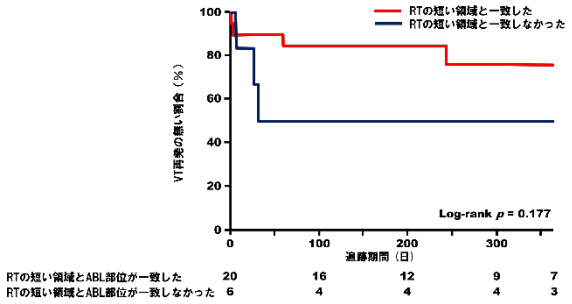

図７　アブレーション後再発率：RT が短い領域と焼灼部位の一致の有無を比較したもの。RT の短い領域と一致した群（赤線）の方が、VT 再発が少ない傾向であった。

Ⅳ. 考　察

今回の研究では、筆者が独自に開発した RT map に基づき、多症例においてその臨床的意義を解析することができた。第一に、RT map では同一心筋内でも不応期（RT）が不均一であることが分かり、特に RT が短い領域は、ST 上昇と陰性 T 波の消失が見られることが分かった。第二に、RT map によっ

て描出されたRTの短い領域（白～赤色で描出される部分）は、従来から伝導遅延の描出法として知られるILAMにおけるDZや、voltage mapにおける低電位領域とともに、傷害電位を描出することが可能であり、特に低電位領域よりも効率よくアブレーション至適部位を絞り込むことができた。その効率は、現在の標準的手法であるILAMにおけるDZと同程度であった。第三に、VT回路において、DZは主に入口から中間部に位置する一方で、RT の短い領域は出口付近に位置することが分かり、その距離は中央値で16mmであった。第四に、RTの短い領域とアブレーションした部位が一致した場合は、そうではない症例に比較してＶＴ再発が抑制される傾向を示した。

従来のマッピング手法が不足していること：

瘢痕関連リエントリー性頻拍には、伝導障害とともに再分極の不均一性が必要条件であり、伝導遅延した興奮全面が再分極時相が短く再度の脱分極が可能となった領域に突入することで維持される（参考文献９）。しかしながら従来のマッピング手法（今回用いたILAMにおけるDZや、rotational activation pattern と呼ばれる興奮旋回のパターン化）は、このうち双極誘導電位を用いて伝導障害の描出に着目したものであり、再分極時相を評価する手法は見られなかった（参考文献 10)。VT アブレーションの成績を向上させるうえで、VT 回路の全容を洞調律中に精密に推測する手法の開発は欠かせず、伝導障害とともに再分極の不均一性も可視化する手法の開発が望まれていた。

RT mapはこれらの諸問題をどう解決したか？：

我々が開発したRT mapは、単極誘導電位の解析に主眼を置くことで、再分極時相の不均一性を可視化することに成功した。以前から基礎研究においては、体表面心電図と同一の手法で記録した単極誘導電位では、Wyatt法を用いる事で再分極時相の終末点を決定することが技術的に可能であることが分かっていた。しかしながら臨床例での検証は不十分であった。それは、多くの３次元マッピング装置が単極誘導電位を記録する際、ノイズ（ドリフト）を避けるためにhigh-pass filterを2Hzに設定する為である。しかしながら今回着目しているST-T時相は、high-pass filter の設定によりその形態が大きく異なることは、先行報告した症例報告で述べた通りである（参考文献４）。よって我々は、体表面心電図と同一の設定になるように、下大静脈に電極カテーテルを留置することで不関電極を設定し、さらにhigh-pass filterを0.05Hzに設定することが可能である EnSite を用いる事で、それらの課題を解決した。このことにより、同一瘢痕領域内でもRTが不均一であることが可視化できるようになった。今回の研究では、このうちRTの短い領域がVT回路の出口として機能し、頻拍維持の役割の一部を担っている可能性が示唆された。このように本研究は、従来の双極誘導電位を用いた伝導障害の可視化のみならず、再分極時相の不均一性を組み合わせることで、従来よりもさらにVT回路の正確な推定に役立つことが期待される結果となった。

また単極誘導電位を用いる事は、別の側面でも意義を持つ。それは、双極誘導電位が電極に近接した狭い領域のみの情報を反映するのに対し、単極誘導電位はより広範囲の情報を反映することにある。それにより、より深い領域（心筋中層～心外膜）にVTの必須回路が存在する症例においても、従来より正確に心内膜側からVT回路を推定することができる可能性がある。

RT mapの問題点：

技術的問題点として、RT mapはST時相の上昇や低下に注目しているため、傷害電流の影響を常に注視する必要がある。組織に電極を強く押し当てるとSTが上昇することが知られており、その影響を排除するため、本研究では格子状の電極カテーテル（HD grid）を用いて優しく組織に接触させて記録したが、特にアブレーションカテーテルなどの棒状電極では、先端電極で記録された単極誘導を用いた評価は避けるべきである。さらに、本研究ではWyatt法用いて再分極時相の終点を決定したが、本研究で示されたRTが短い領域で見られたようなST上昇とT波の消失（単相活動電位のような波形）において、再分極時相の終点をどこに決定すべきかは、議論が残っている（参考文献 11)。またRT mapは、EnSite システムを用いた全自動で終点を決めるため、そこに術者の意図が加わる可能性は少ない。しかしながら、ST-T部分がほとんど凹凸の見られない電位が記録された場合（図４の電位が典型的）、その電位を採用すべきか判断に苦慮する。とくに不整脈原性右室心筋症においては、全例でRTが短い領域とアブレーション至適部位が一致しなかったが、同じように再分極時相の評価を試みた別グループの報告でも、不整脈原性右室心筋症で再分極時相の不均一性が見られなかった例を報告している（参考文献

12)。この現象が不整脈原性右室心筋症特有のものであるのか、それとも右室においてはRT mapが不向きであるのかは、今後の検討課題である。

本研究の限界：

単一施設での検証であり、他施設を含めた検討が、このような新しい技術の汎用性を確認するには必要である。またアブレーションによって再分極時相の不均一性（RT の不均一性）が改善されるのかはアブレーション後の追加マッピングが必要であるが、本研究では実施しなかった。さらに、そもそも今回採用した手法でのRT時間が、心筋局所の不応期と一致するのかについても、今後臨床症例での検証が必要である。

Ⅴ．結　論

我々が開発したRT mapは、洞調律中に再分極時相の不均一性を描出し、アブレーション至適部位を絞り込むことに成功した。不関電極を下大静脈に接地し、high-pass filterを0.05Hzに設定した単極誘導電位では、RTが短い領域ではST上昇とT波の消失を呈し、ＶＴ回路の出口部分に多くが一致した。このような再分極時相の不均一性と、従来のマッピングで描出される伝導障害を組み合わせることで、より正確にＶＴ回路を推定することが可能である。

Ⅵ．研究協力者

以下の通り（敬称略）。

小井貴寿・富山大学附属病院第二内科

内田圭祐・富山大学附属病院第二内科

今村輝彦・富山大学医学薬学研究部内科学（第二）准教授

絹川弘一郎・富山大学医学薬学研究部内科学（第二）・教授

謝辞：本研究に対し的確なご指導と貴重なご助言を賜りました川崎医科大学 総合内科学３教室 永瀬聡教授に、心より深く感謝申し上げます。 また、電位記録における技術的支援にご尽力いただきました日本光電工業株式会社 中部支店 循環器営業部 寺田靖氏にも、厚く御礼申し上げます。

Ⅶ．参考文献

1) Kataoka N, Imamura T. Catheter Ablation for Tachyarrhythmias in Left Ventricular Assist Device Recipients: Clinical Significance and Technical Tips. J Clin Med 2023; 12: 7111.

2) Kataoka N, Imamura T, Keisuke Uchida, et al. Urgent catheter ablation in Japanese patients with mechanical circulatory supports suffering from refractory ventricular electrical storm. J Cardiol 2023; 81: 229-235.

3) Kelemen K, Greener ID, Wan X, et al. Heterogeneous repolarization creates ventricular tachycardia circuits in healed myocardial infarction scar. Nat Commun 2022; 13: 830.

4) Kataoka N, Imamura T, Uchida K, et al. Unipolar morphology-guided critical isthmus emphasis in a patient with scar-related ventricular tachycardia. HeartRhythm Case Rep. 2024; 10: 656-660.

5) Hutchinson MD, Gerstenfeld EP, Desjardins B, et al. Endocardial unipolar voltage mapping to detect epicardial ventricular tachycardia substrate in patients with nonischemic left ventricular cardiomyopathy. Circ Arrhythm Electrophysiol 2011; 4: 49-55.

6) 11. Polin GM, Haqqani H, Tzou W, et al. Endocardial unipolar voltage mapping to identify epicardial substrate in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. Heart Rhythm 2011; 8: 76-83.

7) Aziz Z, Shatz D, Raiman M, et al. Targeted Ablation of Ventricular Tachycardia Guided by Wavefront Discontinuities During Sinus Rhythm: A New Functional Substrate Mapping Strategy. Circulation 2019; 140: 1383-1397.

8) Coronel R, de Bakker JM, Wilms-Schopman FJ, et al. Monophasic action potentials and activation recovery intervals as measures of ventricular action potential duration: experimental evidence to resolve some controversies. Heart Rhythm 2006; 3: 1043-1050.

9) Clayton RH, Holden AV. Dispersion of cardiac action potential duration and the

initiation of re-entry: a computational study. Biomed Eng Online 2005; 4: 11.
10) Hattori M, Komatsu Y, Naeemah QJ, et al. Rotational Activation Pattern During Functional Substrate Mapping: Novel Target for Catheter Ablation of Scar-Related Ventricular Tachycardia. Circ Arrhythm Electrophysiol 2022; 15: e010308.
11) Haws CW, Lux RL. Correlation between in vivo transmembrane action potential durations and activation-recovery intervals from electrograms. Effects of interventions that alter repolarization time. Circulation 1990; 81: 281-8.
12) Stoks J, Langfield P, Cluitmans MJM. Methodological and Mechanistic Considerations in Local Repolarization Mapping. JACC Clin Electrophysiol 2024; 10: 376-7.

間質を標的とした心不全治療戦略の開発

名古屋大学医学部附属病院・助教

加藤　勝洋

Ⅰ．緒　言

超高齢化社会に伴い心不全患者は増加の一途をたどり、心不全罹患者数は世界中で 6,000 万人以上、国内で約 120 万人と健康的・社会的問題である。慢性心不全は、がんと並び予後不良な疾患であり、1 度心不全入院した患者の約 30%は 2 年以内に死亡するとされており、多くのがんより生存率は低く、その治療法の開発は喫緊の課題である [1]。心不全は「左室駆出率の低下した心不全(HFrEF)」と「左室駆出率の保たれた心不全（HFpEF)」に分類されそれぞれ約半数を占めるが、HFpEF 患者の予後を改善する有効な治療法は未だ十分には確立されておらず、循環器の分野では最大のアンメットメディカルニーズである。HFrEF や左室駆出率が軽度低下した心不全に対しては、現在 4 剤の心不全治療薬の有効性が示されており投与が推奨されている。一方、HFpEF に対しては、ナトリウムグルコース共輸送体 2（Sodium Glucose Cotransporter-2：SGLT2）阻害剤及び非ステロイド型ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬(mineralocorticoid receptor antagonist：MRA)であるフィネレノンは、心不全増悪イベントの抑制効果が報告されてガイドラインで推奨されている薬剤である [2,3,4]。しかしながら、SGLT2 阻害剤やフィネレノンを投与されても依然として心不全の悪化による死亡率や入院率のリスクは高く残存しており、十分な改善効果とは言えない。心不全患者の死亡率と罹患率をさらに低下させ、生活の質（Quality of Life：QOL）を改善するには、新しい治療戦略の開発が必要とされている。特に、HFpEF に対する有効な治療法が限定的であり、新たな治療戦略の確立が必要である。

心不全モデルとして、横行大動脈縮窄による圧負荷やアンジオテンシンやフェニレフリン投与による心肥大モデルが使用されていたが、最近、米国の研究室により、マウスに耐糖能異常・メタボリックストレスを誘導する高脂肪食と、高血圧を誘導する一酸化窒素合成酵素阻害薬 L-NAME を同時投与する HFpEF モデルが報告された [5]。HFpEF 発症のメカニズムは依然として不明な点が多く、動物モデルやヒト検体を用いて世界中の研究室で HFpEF の病態解明を目指した研究が進められている。HFpEF を発症するメカニズムとして、1）心臓や脂肪組織におけるナトリウム利尿ペプチドを介したグアニル酸シクラーゼ/cGMP/PKG シグナルの異常、2）肥満や糖尿病、慢性腎臓病、COPD などに伴う慢性炎症による微小血管機能不全やマクロファージを含めた心臓への炎症細胞の浸潤、間質の線維化、3）タイチンのリン酸化状態の異常により心筋弛緩能への影響、4）ミトコンドリアの機能障害などの心筋エネルギー代謝の障害、5）心筋細胞のカルシウムハンドリング異常など多くの可能性が報告されている。このように HFpEF の発症には多彩な原因が示唆されているが、その重要な要因の 1 つとして線維芽細胞の増殖と間質の線維化が挙げられる。しかしながらこの線維化を改善する治療薬はこれまでに開発されていない。我々は、線維芽細胞の多様性に着目した研究から、線維芽細胞には線維化を抑制する善玉(aFib)と線維化を促進する悪玉(pFib)が存在すること、善玉線維芽細胞に特異的なマーカー分子として GPI アンカー型膜型タンパク質である Meflin（遺伝子名は Islr）を同定してきた。Meflin 欠損マウスを用いて、ヒト HFpEF マウスモデルを含めた種々の心不全モデルでの解析から、Meflin が心臓の線維化・硬化の抑制及び左室拡張機能の維持に重要であることを明らかにした [6]。さらに、Meflin を心臓特異的に過剰発現させると左室拡張機能、運動耐容能

及び線維化が改善した。本知見から、Meflin の発現を誘導する薬剤が、線維化改善を介した心不全治療薬候補となる可能性を考え、低分子化合物のライブラリースクリーニングを行い候補化合物として合成レチノイドを同定した。さらに候補化合物であるタミバロテン(AM80)を HFpEF モデルマウスへ投与すると左室拡張能の顕著な改善に加えて運動耐容能の改善を認めた(PCT/JP2023/016268, WO2023/210634)。AM80 は本邦で急性前骨髄球性白血病に対して承認されている既存薬であり、ヒトに対する一定の安全性も確認されている。現在までの非臨床試験成績やがん以外の領域で実施されている臨床試験の状況を踏まえ、新規 HFpEF 治療薬として、医師主導治験が開始可能と判断した。本研究では、①効力を裏付ける試験のデータをさらに収集し（用量反応性の確認)、②PMDA と対面助言を実施し、非臨床 POC 取得のための非臨床試験パッケージの項目（効力を裏付ける試験・安全性薬理試験・毒性試験・薬物動態）の確定、医師主導治験実施のためのプロトコール作成、治験審査委員会への申請を進める。そして、最終的には第Ⅱ相医師主導治験を実施し、臨床 POC を取得後に大手製薬企業へ導出することで、薬事承認を目指す。

Ⅱ．対象・方法

これまで候補化合物として検討してきたAM80は、急性前骨髄球性白血病に対して 1 日あたり 6mg/m² の用法・用量で承認されている。HFpEF に対する非臨床試験で 3mg/kg/day で有効性を確認してきており、ヒト等価用量に換算すると 50kg 体重で 1 日あたり 12.2mg となる。可能な限り低用量で有効となるかを確認した上で臨床試験へ進めるために、以下に示すように用量反応性を確認した。なお、近年、多発性嚢胞腎に対する治験が開始され、その用量は 1 日 1 回 4mg 52 週間経口投与する臨床試験であり、この量を一つの目安とした。なお、アルツハイマーの治験でも同量（1 日 1 回 4mg 24 週間経口投与）であった。

（1）HFpEF モデルにおける AM80 の薬効評価（用量反応性の確認）

HFpEF モデルにおいて、AM80 の用量反応性心不全改善効果を評価する。現在まで AM80 の投与量として 3 mg/kg を、5 週間連日経口投与を行なってきたが、より低用量でも有効となる適切な投与用量を設定するために、0.1、1.0、3 mg/kg の 3 群を設定し、毎日 5 週間経口投与を行い、心エコーによる E/e’の評価及び組織学的な線維化の定量評価を行った。慢性心不全患者へ治療介入する目的の１つとして、自覚症状や運動耐容能の改善による QOL の向上、健康寿命の延伸が挙げられる。HFpEF モデルにおいて、小動物用トレッドミルを用いて AM80 投与による運動耐容能の改善効果の評価を行った。また、血圧への影響も評価した。

（2）治験に向けた非臨床試験の充足性の確認

AM80 は上述のように、既に急性前骨髄性白血病に対して製造販売承認されていることに加え、非小細胞肺癌、骨髄異形成症候群、膵臓がん、ループス腎炎、クローン病、アルツハイマー病、多発性嚢胞腎など多種多様な疾患に対し臨床試験が実施されていることから、治験を開始する上での非臨床試験のデータは充足していると考えている。しかし、適応疾患が異なるため、現在までに得られた効力を裏付ける試験結果や上記用量反応性の確認の非臨床試験の結果を踏まえ、PMDA に RS 戦略相談を申し込み、将来的な治験開始に向けて、さらなる非臨床試験パッケージの充足性について意見を聴いた。

（3）治験に向けたプロトコールの作成

名古屋大学医学部附属病院先端医療開発部の協力のもと、医師主導治験のための治験実施計画書や患者説明・同意書、関連する手順書の作成を進めた。骨子を作成後に RS 戦略相談（事前面談）を行った。その後 RS 戦略相談（対面助言）を行い、治験デザインを固定した。治験実施計画書を基に、説明文書・同意文書を作成し、治験薬概要書、治験に必要な手順書の作成を進めた。また、並行して症例集積を確実にするために、分担施設として治験に協力していただける施設を探し、治験実施体制の構築を進めた。

Ⅲ．結　果

HFpEF モデルマウスにおける AM80 の用量反応性心不全改善効果の検討を行ったところ、AM80 の用量が 1mg/kg 以上で、E/e’（拡張能の指標）の低下が認められ（図１）、トレッドミルによる歩行距離も延長した（図２）。線維化の割合についても同様に低下が認められた。一方、血圧に関しては各群で有意な差は認めなかった。

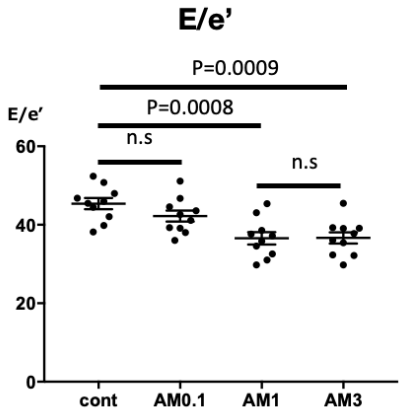

図 1　HFpEF モデルに対する AM80 の作用の心エコーによる評価

左室充満圧・拡張能の指標である E/e’ が、AM80 の用量 1mg/kg 以上で有意に改善した。

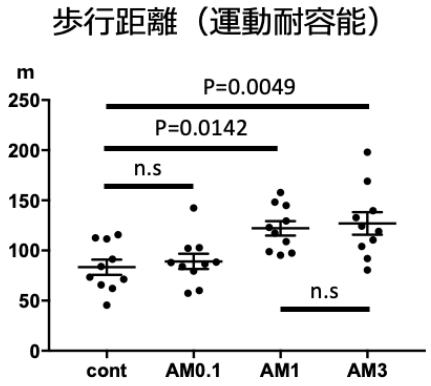

図 2　HFpEF モデルに対する AM80 の作用の歩行距離による評価

運動耐容能が AM80 の用量 1mg/kg 以上で有意に改善した。

これまでの非臨床試験の結果及び今回の結果に基づいて、HFpEF に対する低用量タミバロテンの有効性及び安全性を探索的に検討するための治験デザインを固定するために、RS 戦略相談（事前面談）を行い、その後 RS 戦略相談（対面助言）を行い、主な治験デザインを固定した。現時点で臨床試験が開始していないため、評価項目やその設定根拠について公開することは差し控えさせて頂いた。

現在は、医師主導治験遂行に必要な書類の作成等の準備を進めている。並行して、症例集積を確実にするために名古屋大学医学部附属病院を主施設とし、分担施設として数施設を加えて、多施設共同医師主導治験を実施する体制を整えた。

Ⅳ．考　察

本研究で提案している治験薬は、これまでの独自の研究結果に基づく線維芽細胞の形質転換誘導薬であり、現在使用可能な心不全治療薬とは全く異なった薬理作用に基づいて悪化した心不全の病態を可逆的に改善させる可能性がある。HFpEF の根本的治療薬となりうる可能性を秘めているが、HFrEF に対しても効果があることが期待される。

日本経済における大きな問題の１つとして、医薬品・医療機器による貿易赤字の膨張が挙げられる。2023 年には医薬品・医療機器による貿易赤字はおよそ 5 兆円となっており、2023 年の貿易収支は 6 兆 6000 億円余りの赤字であることから、いかにこの額が大きいかが理解できる。昨今、HFpEF をはじめ心不全の治療法開発はすべて欧米の製薬企業および創薬ベンチャーによってなされており、国内企業による開発の兆しはほとんどない。HFpEF のマーケットが広大であるが故に、外資系企業による新薬導入は、我が国の医療財政の逼迫状況をさらに悪化させる可能性がある。したがって、国内発の新薬創出は喫緊の課題である。高齢化により、今後ますます HFpEF は増加することを鑑みても、その治療法開発は重要である。今後の医療財政を考えていく上でも、ドラックリポジショニングのような開発費を抑えることができる手段を、企業主体ではなく国策として遂行していく必要があるのではないかと考えられる。

現在、国内で医師主導治験を行うための費用を賄うことができる循環器疾患関連の研究費は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の「臨床研究・治験推進研究事業」または「橋渡し研究プログラム」しかなく、これらの研究費の獲得を目指している。また、国内外の大手製薬企業やベンチャー企業など複数社と研究費の提供について交渉を行っている。本研究で使用している薬剤は日本で開発されたものであり、日本国としてのサポートを受けて是非とも国産の慢性心不全治療薬の開発を進めたいと考えている。

Ⅴ．結　論

HFpEF モデルマウスに対して、AM80 の用量が

1mg/kg 以上で心不全改善効果があることが明らかとなった。第Ⅱ相多施設共同医師主導治験を実施するための治験デザインが固定した。引き続き医師主導治験実施のために尽力する。

Ⅵ. 研究協力者

榎本　篤・名古屋大学大学院医学系研究科　腫瘍病理学・教授
清水　忍・名古屋大学医学部附属病院 先端医療開発部・准教授
室原　豊明・名古屋大学大学院医学系研究科　循環器内科・教授
近藤　徹・名古屋大学医学部附属病院　循環器内科・病院助教
森崎　英典・名古屋大学大学院医学系研究科　循環器内科・大学院生
五十部　穣・名古屋大学医学部附属病院 先端医療開発部・特任教授

Ⅶ. 参考文献

1) Kitai T, Miyakoshi C, Morimoto T, et al. Mode of Death Among Japanese Adults With Heart Failure With Preserved, Midrange, and Reduced Ejection Fraction. JAMA Netw Open. 2020;3(5):e204296.
2) Anker SD, Butler J, Filippatos G, et al. Empagliflozin in Heart Failure with a Preserved Ejection Fraction. N Engl J Med. 2021;385(16):1451-1461.
3) Solomon SD, McMurray JJV, Claggett B, et al. Dapagliflozin in Heart Failure with Mildly Reduced or Preserved Ejection Fraction. N Engl J Med. 2022;387(12):1089-1098.
4) Solomon SD, McMurray JJV, Vaduganathan M, et al. Finerenone in Heart Failure with Mildly Reduced or Preserved Ejection Fraction. N Engl J Med. 2024;391(16):1475-1485.
5) Schiattarella GG, Altamirano F, Tong D, et al. Nitrosative stress drives heart failure with preserved ejection fraction. Nature. 2019;568(7752):351-356.
6) Hara A, Kobayashi H, Asai N, et al. Roles of the Mesenchymal Stromal/Stem Cell Marker Meflin in Cardiac Tissue Repair and the Development of Diastolic Dysfunction. Circ Res. 2019;125(4):414-430.

心臓マクロファージを起点とした
免疫細胞ネットワークによる心不全制御機構の解明

千葉大学大学院医学研究院・疾患システム医学　特任助教
工藤　藤美

Ⅰ．緒　言

超高齢社会において心不全は急増しており、新たな機序の理解に基づく治療法開発は喫緊の課題である。心臓マクロファージは、心臓間質における免疫細胞の大部分を占めている。我々は、心臓マクロファージが心臓の恒常性を維持する一方、心臓リモデリングを進め心不全に寄与することも明らかにしてきた [1]。しかし、心臓マクロファージがどのように多様な役割を果たすのか、その機構はよく分かっていない。我々は、シングルセル RNA-seq（scRNA-seq）解析から、心臓マクロファージが複数の亜集団（サブセット）から構成されることを見いだし、それぞれのサブセットは異なる機能を有する可能性が高いことが示唆された。心臓マクロファージの起源は卵黄嚢や胎児期の肝臓であるが、加齢や炎症により骨髄由来単球からマクロファージへと分化することが知られている [2]。我々の高齢マウスの解析から、心臓マクロファージのサブセット構成が加齢により変容しており、主に CCR2 を発現するマクロファージが高齢マウス心臓において増加することがわかった（図 1）。このことから、マクロファージサブセットの変容が加齢による心臓恒常性の破綻に関与すると仮説を立てた。さらに我々は、心臓マクロファージサブセット間でケモカインの発現量が異なることを新たに見いだした。以上より、マクロファージ由来ケモカインによる免疫細胞間ネットワークの制御を介した心臓恒常性維持機構の存在が示唆された。

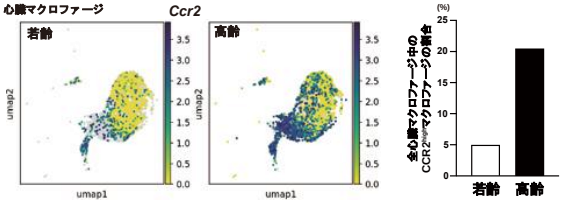

図 1 若齢および高齢マウスにおける CCR2 を発現する心臓マクロファージサブセットの割合

本研究では、マクロファージサブセットを中心にケモカインを介した免疫細胞ネットワークにより、免疫・非免疫細胞を含む細胞間コミュニケーションがどのように心臓恒常性と病態を制御するかを明らかにするため、心臓マクロファージサブセットの変容に伴う各サブクラスのケモカイン産生能の違いに着目し、免疫細胞ネットワークの変化による心不全発症制御機構を明らかにする。特にマクロファージが産生する CCL４に着目し、心臓マクロファージサブセットによるケモカインネットワークの生理的・病理的意義を明らかにする。

Ⅱ．対象・方法

心臓マクロファージの各サブセットが異なる免疫細胞ネットワークを構成することで機能多様性をもたらすと考え、ケモカインが介在するマクロファージサブセットを中心とした免疫細胞ネットワークが、心臓細胞社会の中でどのように恒常性や病態を制御するかを明らかにする。具体的には、(1) 心臓マクロファージサブセットのケモカイン発現解析、(2) CCL4-CCR5 シグナリングによる心臓恒常性とリモデリングの制御機構について解析を行う。

(1) 圧負荷ストレスモデルとして横行大動脈結紮術（transverse aortic constriction、TAC）を行った野生型マウスの心臓から免疫細胞をソーティング、scRNA-seq 解析を行い、マクロファージサブセットのケモカイン発現を解析する。

(2) CCL4-CCR5 シグナリングによる心臓リモデリングの影響を検討するため、TAC 処置したマウスに CCR5 阻害剤（Maraviroc）を投与し、心エコーにより心機能の評価を行った。

Ⅲ. 結　果

(1) TAC 処置後 1 週での心臓マクロファージの scRNA-seq により、心臓マクロファージは 9 種類のサブセットに分けられた。各心臓マクロファージサブセットのケモカイン発現を比較したところ、心臓マクロファージは定常状態および TAC 後において様々なケモカインを発現していることがわかった。また、TAC 後 1 週においては、マクロファージにおいて *Ccl4* 発現が増加していたが、その発現レベルは各マクロファージサブセットにより違いが認められた（図 2）。

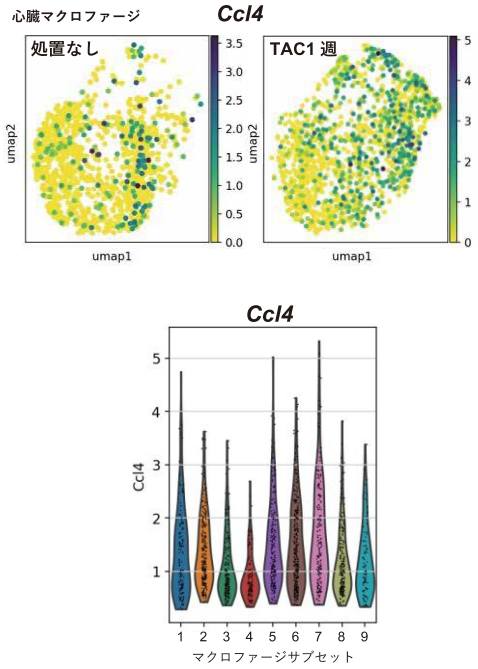

図 2　TAC 処置後 1 週での心臓マクロファージの *Ccl4* 発現

(2) 心臓マクロファージサブセットに発現が認められた CCL4 は CC ケモカインの一つであり、単球やマクロファージ等から産生され T 細胞など多種の免疫細胞を標的とし、炎症や免疫細胞制御に関与する[3]。TAC 処置をしたマウスに CCL4 の受容体である CCR5 の阻害剤（Maraviroc）を投与し、2 週間後の心機能の測定を行ったところ、阻害剤投与群において EF の低下が見られた。さらに、4 週間後に阻害剤投与群では心肥大が亢進していた。このことから CCL4-CCR5 シグナリングが心臓リモデリングに影響することが示唆された。

Ⅳ. 考　察

心臓マクロファージの *Ccl4* 発現レベルは各マクロファージサブセットにより異なり、心臓マクロファージサブセットの多様性による CCL4 を介した免疫細胞ネットワークの制御が示唆された。また、CCR5 は心臓非免疫細胞には発現していないことから、マクロファージと他の免疫細胞とのコミュニケーションが心臓リモデリングを制御することが考えられた。マクロファージ特異的 *Ccl4* 欠損マウスを用いた心臓リモデリング機序についての解析を進めるとともに、ケモカインによるマクロファージサブセットと免疫細胞とのコミュニケーションに着目し、リンパ球や好中球を始めとする免疫細胞の動態ならびにシングルセル解析等により細胞間コミュニケーションの変動を明らかにしていきたい。また、免疫細胞ネットワークが心筋細胞や線維芽細胞、血管内皮細胞へどのように働きかけるか、これらの細胞間相互作用についても明らかにしたい。今後は心臓マクロファージサブセット由来のケモカインが仲介する細胞間ネットワークの機能と、心臓恒常性や病態制御機構について明らかにするとともに、診断・治療標的としての意義を検討する。

Ⅴ. 結　論

CCL4 シグナルが心臓リモデリングの制御に重要であり、心保護に働くことが示唆された。心臓マクロファージサブセットと免疫細胞とのコミュニケーションによる心臓恒常性維持機構が考えられた。

Ⅵ. 研究協力者

眞鍋　一郎・千葉大学大学院医学研究院・教授
金　恵理・千葉大学大学院薬学研究院・大学院生

Ⅶ. 参考文献

(1) Fujiu K, Shibata M, Nakayama Y, et al. A Heart–Brain–Kidney Network Controls Adaptation to Cardiac Stress through Tissue Macrophage Activation. Nat Med 2017;23: 611–622.
(2) Ginhoux F, Guilliams M. Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. Immunity 2016;44: 439–449.
(3) Mantovani A, Sica A, Sozzani S, The Chemokine System in Diverse Forms of Macrophage Activation and Polarization. Trends in Immunology 2004;25:677–686.