

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号： 14101  
 研究種目： 基盤研究 (C)  
 研究期間： 2010 ~ 2012  
 課題番号： 22590780  
 研究課題名 (和文) 心筋梗塞後の両室リモデリング進展における新たな修飾因子の解明  
 研究課題名 (英文) Evaluating the mechanisms of right ventricular remodeling after left ventricular myocardial infarction  
  
 研究代表者  
 土肥 薫 (DOHI KAORU)  
 三重大学・大学院医学系研究科・助教  
 研究者番号： 50422837

研究成果の概要 (和文)：ビーグル犬に粒子径  $50\mu\text{m}$  の微小塞栓物質を左冠動脈に注入することにより右室梗塞を伴わない広範左室心筋梗塞を作成し、6 週後に正常犬と比較した。心筋梗塞犬では、慢性期の左室収縮・拡張障害や線維化と共に、梗塞の及ばない右室においても肺高血圧の存在なしに収縮・拡張障害および線維化が認められた。これらの結果から、心筋梗塞における右室機能障害は、左室機能低下に伴う右室後負荷が主因でなく、分子生物学的機序によるリモート・リモデリングであることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：We evaluated the right ventricular (RV) function in dogs with left ventricular (LV) myocardial infarction (MI) generated by permanent occlusion of left coronary artery using  $50\mu\text{m}$  microspheres. Ventricular contractility and relaxation were impaired, and myocardial fibrosis were prominent both in the left and right ventricles in dogs with MI (6 weeks after onset) compared with normal dogs whereas pulmonary artery pressure was similar in the both groups. These results may shed new light on the causal mechanism of RV remodeling after LVMI.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：臨床心血管病態学

## 1. 研究開始当初の背景

人口の高齢化や、動脈硬化を促進させる食の欧米化や運動不足などの社会的背景により、心筋梗塞患者は今後さらに増加することが予想される。心筋梗塞時の再灌流療法や、早

期の RAA 系阻害および  $\beta$  遮断といった過剰な神経体液性因子活性の抑制という標準治療の確立で、心筋梗塞後の死亡率は着実に減少しているが、一方で非常に梗塞範囲が広範な症例や再灌流治療の機会を逸した症例、ある

いは高度の再灌流障害が認められた症例では、その後の十分な薬物治療にも関わらず梗塞後の心筋リモデリング抑制が十分でなく、次第に慢性心不全へと移行する症例も多くみられるため、今後は心筋梗塞後の心不全発症予防が非常に重要な治療テーマとなる。また、心不全患者において、その原因疾患が左室心筋梗塞であっても、右室機能障害は様々な程度で存在し、運動耐容能や予後を規定する重要な要素であることが知られている。右室機能不全を伴う心筋梗塞後心不全患者では、容易に両心不全状態となり、治療抵抗性かつ予後不良であるため、左室のみでなく、右室を含めた両室機能低下の進展様式とその機序を、心行動態解析と分子生物学的解析により統合的に解明することは、心筋梗塞患者の心不全予防および心不全治療戦略にとって非常に重要な役割をはたすと考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究は、これまで詳細に検討されなかった心筋梗塞における右室リモデリングを、左室におけるリモデリング同様、心筋壊死や過剰な伸展負荷が惹起する様々な分子生物学的機序を介して進展する、広義の「リモート・リモデリング」であると仮説を立て、両室リモデリングの進展様式をエコー法と圧容積関係により詳細に検討し、さらにその制御機構を分子生物学的アプローチにより明らかにするプロジェクトである。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象：ビーグル犬（成犬 8-10kg）

### (2) 広範心筋梗塞モデルの作成

全身麻酔および人工呼吸管理下のビーグル犬（成犬 8-10kg）に、右大腿動脈よりセルジンガー法で冠動脈カテーテルを挿入し、左冠動脈に微小塞栓物質を注入する。左室駆出率が 35-40%程度に減少し、心原性ショックに陥らない程度の広範心筋梗塞を作成して終了する。6 週間後に左室・右室血行動態評価を行い、心筋組織の組織学的解析、組織学的解析も行う。

### (3) 左室・右室血行動態評価

心筋梗塞作成から 6 週間後に、全身麻酔および人工呼吸管理下で右外頸静脈から右房にペーシングカテーテルを挿入し、120bpm の右房ペーシングで脈拍数を固定する。マイクロチップマンノメーター付ピグテールカテ

テルを左内頸動脈より左室に挿入し、コンダクタンスカテーテルを右内頸動脈より左室に挿入する。呼気終末で人工呼吸を 5 秒間停止し、無呼吸状態でスワン・ガンズカテーテルによる心内圧測定、マイクロチップマンノメーター付ピグテールカテーテルとコンダクタンスカテーテルによる左室圧容積関係を測定する。更に、左右外頸静脈からそれぞれマイクロチップマンノメーター付ピグテールカテーテルとコンダクタンスカテーテルを右室に挿入し、右室圧容積関係を測定する。直後に心エコーを施行し、左室駆出率、右室駆出率などを求めた。同様の血行動態評価を正常犬 8 頭でも行い、比較検討した(図)。

### (4) 心筋組織の組織学的解析

血行動態評価後、安楽死させ、心筋標本を右室自由壁、心室中隔非梗塞部位、左室自由壁非梗塞部位、および左室梗塞部位で採取し、ホルマリン固定および $-80^{\circ}\text{C}$ での凍結保存をした。正常犬についても同様に非梗塞部位の心筋採取をする。心筋間質の線維化を sirius-red 染色法で評価し、Video densitometry 法で collagen volume fraction (CVF) を比較した。

### (5) 分子生物学的検討

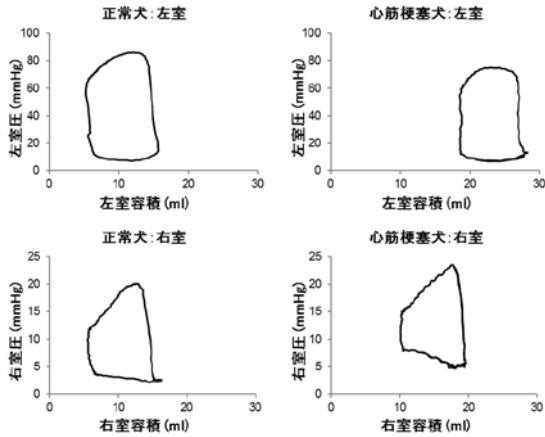
心筋の線維化を中心としたリモデリング機構の修飾因子として、心筋細胞内の TGF- $\beta$  および CTGF (結合組織成長因子) に着目し、ウレア電気泳動-ウエスタンブロット法で解析中した。

## 4. 研究成果

### (1) 左室・右室血行動態

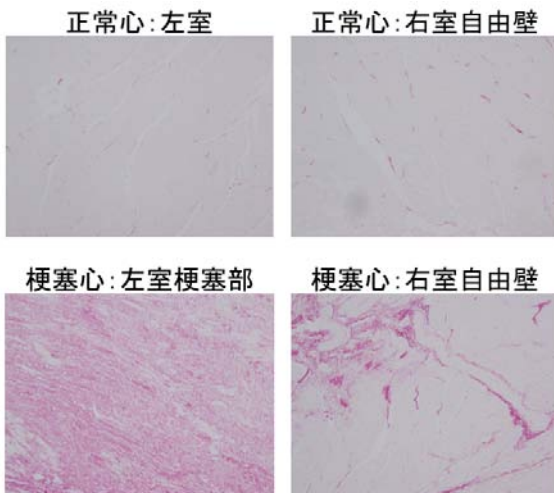
犬では正常犬と比べ、明らかな左室駆出率の低下 (LVEF:  $66 \pm 2$  vs.  $39 \pm 4$  %,  $p < 0.05$ )、収縮性の低下 (Ees:  $11 \pm 3$  vs.  $5.0 \pm 2$  mmHg/ml,  $p < 0.05$ )、および弛緩能の低下 (Tau:  $35 \pm 4$  vs.  $41 \pm 4$  msec,  $p < 0.05$ ) が認められた。右室においても同様に、正常犬と比べ、明らかな右室駆出率の低下 (RVEF:  $61 \pm 6$  vs.  $49 \pm 7$  %,  $p < 0.05$ )、収縮性の低下 (Ees:  $2.2 \pm 0.3$  vs.  $1.7 \pm 0.3$  mmHg/ml,  $p < 0.05$ )、および弛緩能の低下 (Tau:  $51 \pm 11$  vs.  $102 \pm 42$  msec,  $p < 0.05$ ) が認められた。一方、心筋梗塞犬と正常犬では、肺動脈圧 ( $7.6 \pm 1.7$  vs.  $7.3 \pm 2.8$  mmHg,  $p = \text{ns}$ )、右室収縮末期圧 ( $23 \pm 4$  vs.  $22 \pm 3$  mmHg,  $p = \text{ns}$ )、右室拡張末期圧 ( $2.3 \pm 1.5$  vs.  $1.9 \pm 2.2$  mmHg,  $p = \text{ns}$ )、および右房圧 ( $4.1 \pm 1.6$  vs.  $3.6 \pm 1.6$  mmHg,  $p = \text{ns}$ ) には、統計学的有意差は認められなかった。以上の結果から、左室心筋梗塞後、血行動態的な右室負荷の増大が認められない状態であっても、右室には収縮・弛緩能の低

下といった機能障害が認められることが示唆された (図)。



### (2) 心筋組織の組織学的解析

心筋生検組織においては、現在検討中ではあるが、検討できた3例に関しては、心筋梗塞犬では、正常犬に比し心筋梗塞部位のみならず、右室自由壁の CVF が高値(1.9±0.9 vs. 3.9±2.4 %)の傾向にあった (図)。



### (3) 分子生物学的検討

左室および右室の組織学的解析結果を踏まえ、心筋の線維化を中心としたリモデリング機構の修飾因子として、心筋細胞内の TGF-β および CTGF (結合組織成長因子) に着目し、ウレア電気泳動 - ウェスタンブロット法で解析中であり、今後の検討が必要である。

### (4) 補足

実験計画当初は、イヌ広範心筋梗塞モデルを、1) 無治療群、2) 利尿剤のみによる低心負荷群、3) RAA 系阻害薬+β 遮断薬投与群に振り分け、さらに正常犬と比較することで、左室および右室リモデリングの進展様式を、心エコーおよび圧容積関係による心行動態の解析により検討することを目標としたが、現時点では、無治療群と正常犬との比較検討の途上である。また、無治療群では、左室心筋梗塞に伴う左房圧上昇(肺動脈楔入圧上昇)に伴い、肺動脈圧、つまり右室後負荷の増大が予測されたため、利尿剤による心負荷軽減が右室リモデリングにどのような影響を与えるのか、検討が必要と考えたが、心筋梗塞後6週間の本モデルでは、肺動脈楔入圧上昇や肺動脈圧上昇は認められなかった。従って、「利尿剤のみによる低心負荷群」の作成は、本研究から除外し、「RAA 系阻害薬+β 遮断薬投与群」と「無治療群」における左室および右室血行動態解析、心筋組織の組織学的解析、組織学的解析により、心筋梗塞後にみられる右室拡大および機能低下は、左室におけるリモデリング同様、RAA 系と心臓交感神経の賦活化を中心とした分子生物学的機序により進展するリモート・リモデリングであるという仮説を証明する予定である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計2件)

- ① 小西 克尚、土肥 薫、伊藤正明、他  
陳旧性心筋梗塞患者の右心室機能：左心室機能および血清 BNP 値との関連  
第60回 日本心臓病学会学術集会  
2012年9月15日 石川県金沢市
- ② 小西 克尚、土肥 薫、伊藤正明、他  
Right Ventricular Systolic Function is Highly Dependent on Left Ventricular Dysfunction in Patients with Previous Myocardial Infarction and High Plasma Brain Natriuretic Peptide Levels. European Society of Cardiology Congress August 28 2012, Munich, Germany

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土肥 薫 (DOHI KAORU)  
三重大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：50422837

(2) 研究分担者

伊藤 正明 (ITO MASA AKI)  
三重大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：00223181

田辺 正樹 (TANABE MASA KI)  
三重大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：50456737