

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04936

研究課題名(和文)重症心不全に対する外科的心負荷軽減による機能回復予測の包括的解析

研究課題名(英文)Comprehensive analysis of factors related to functional recovery of severe heart failure by surgical unloading

研究代表者

松宮 護郎 (MATSUMIYA, Goro)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：20314312

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：左室駆出率30%未満かつNYHA あるいは 度である重症心不全患者を対象とし、治療による逆リモデリングを予測する指標を探索することを目的とし、左室心筋サンプルからRNA-sequenceを行った。有意の左室逆リモデリングを認めた群で術前の臨床的指標に差を認めなかったが、RNA-sequenceの結果、左室逆リモデリングを認めなかった群で有意にupregulateされるミトコンドリア呼吸鎖複合体、p38MAP kinase関連蛋白をcodingする遺伝子が確認され、有用な予測因子となりうることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We sought to examine whether RNA sequencing of myocardial tissue samples can identify any useful factor to predict reverse remodeling of left ventricle in response to optimal medical management. Dilated cardiomyopathy patients with LVEF below 30% and NYHA class III or IV symptoms were analyzed. No difference were found in preoperative clinical parameters. RNA sequencing identified upregulated genes in non-reverse remodeling group, which encode mitochondrial respiratory chain complex and proteins involved p38 MAP kinase dependent cell death.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：心不全 心筋症 リモデリング 補助人工心臓

## 1. 研究開始当初の背景

心疾患の最終病態である心不全は循環器領域における最も大きな克服すべき課題である。種々の薬物療法やインターベンションの発達にもかかわらず心不全患者は年々増え、現状の治療が無効な no option 症例も増加している。遮断薬や ACE 阻害剤などによる薬物療法も奏功しない重症心不全に対しては、心臓移植やそのつなぎとしての補助人工心臓 (Ventricular assist system; VAS) が唯一の有効な治療法とされてきた。しかしながら、心臓移植におけるドナー不足は世界的な問題であり、また移植後の成績も新しい免疫抑制剤の使用や管理の進歩にも関わらず、ここ 20 年近く大きな改善は得られていない。また年齢や種々の合併症などにより心臓移植の適応にならない心不全患者もたくさん存在し、こういった置換型心不全治療はすべての重症心不全患者に対する普遍的治療法とはいえない。

こういった現状から、置換型治療にかわり、自己心を温存、回復させる再生型治療が注目されており、特にわが国においてはその展開が不可欠と考えられる。近年、重症心不全患者が移植へのブリッジとしての VAS 治療中に自己心機能の回復を得て、離脱が可能になるという現象 (bridge to recovery) が注目されている。心筋症による末期心不全に対し VAS 装着が必要になった場合、疾患自体が基本的に進行性であることから VAS を離脱することは不可能と考えられてきたが、1997 年に Berlin Heart Institute から拡張型心筋症患者 17 人の VAS 離脱例が報告され、以降この現象が注目されるようになった。この現象は心臓のリモデリングの進展機序を考えるうえで非常に興味深く、いくつかの基礎的研究が進められている。

VAS による循環補助と左室減圧が及ぼす影響として、まず全身の循環動態改善に伴い、ノルエピネフリン、BNP、レニン-アンジオテンシン系ホルモン等の血中レベルの改善が認められ、交感神経機能の改善、アドレナリンレセプター数の増加など神経体液性因子の正常化が得られることが報告されている。

VAS 装着前後での左室心筋組織を用いた研究では、左室の unloading により心筋肥大やアポトーシスの軽減、細胞外マトリックスにおけるコラーゲン崩壊の低下とクロスリンクの増強が起こることなどが示されている。同部からの単離心筋を用いた研究では、刺激に対する収縮性の改善、筋小胞体でのカルシウムハンドリングの改善などが報告されている。

しかしながら、これらは VAS 装着時および VAS による左室補助後心臓移植術施行時に採取した心筋を比較した研究であり、その間の心機能回復との相関を解析したものは未だ

ほとんど認められない。その原因として多くの欧米の施設では VAS 装着後定期的な心機能評価を行っていないことが挙げられる。

我々は多くの VAS 臨床例を経験し、VAS 装着中の心機能評価法、心機能改善のメカニズムなどについて検討を行ってきた (Saitoh, Matsumiya, JHLT 2010, Matsumiya, Circ J 2009)。VAS 装着例全例で自己心機能回復を目指した外科および薬物治療を行い定期的な心機能評価を行った。

その結果、VAS 装着時の左室心筋繊維化の程度と心機能回復に相関が認められること、離脱可能性の評価方法としてポンプオフテスト時の左室駆出率 (LVEF)、左室径 (LVDD)、肺動脈楔入圧 (PCWP) の変化に着目し、PCWP の増加に伴い LVEF が低下しないものでは離脱しうること、さらに水負荷により容量負荷を行った際の左室拡張能と左室収縮性の変化が有用な指標となることを示した。

現在わが国の多くの施設でこれらを指標として VAS 装着中の心機能評価が行われている。

補助人工心臓治療のみならず、左室形成術、僧帽弁手術などの外科的治療が重症心不全症例に対して行われているが、VAS 治療と同様に、これらの治療により左室に逆リモデリングが起こり心機能が回復する症例、いわゆる responder とそれ以外の non-responder があり、それを術前に正確に予測することは既存の各種 modality を用いても困難であり、これらの手術の有効性が広く認められない大きな原因となっている。したがって外科的左室減圧による心機能回復を予測するための新しい指標の探索が必要である。

近年、次世代シーケンサーが臨床医学の場においても普及してきている。次世代シーケンサーは生物の全ゲノム配列の解析や、RNA 発現レベルの解析 (RNA-sequence) を短時間で可能とし、種々の疾患や病態との関連が解析されている。心疾患においても、心不全に関する疾患感受性遺伝子や、一部の特発性心筋症の原因遺伝子が同定されてきている。しかし、左室の負荷軽減による左室逆リモデリング、心機能回復に関与する因子を次世代シーケンサーを用いて網羅的に探索した報告は未だ存在しない。

本研究によりそれらが同定されれば、重症心不全患者に対する治療方針に大きな影響を与えることが期待される。また、心筋症における心機能低下の機序や、その後の左室逆リモデリングの分子レベルでの機序の解明に寄与すると考えられる。

## 2. 研究の目的

拡張型心筋症などに起因する高度低左心機能症例に対して、左室形成術、僧帽弁手術、心臓再同期療法、補助人工心臓などの外科的治療により心負荷軽減を行った場合に、有意の左室逆リモデリングが起こり心機能の改善を認める症例と心機能改善を認めない症例があり、その鑑別は現時点では困難である。

本研究では、種々の画像診断等による心機能解析に加え、左室心筋生検あるいは補助人工心臓装着術時に採取される左室心筋検体から組織学的な検討および、次世代シーケンサーを用いた網羅的な全遺伝子情報の解析を行う。手術後の左室逆リモデリングや心機能回復の程度とこれらの解析で得られた情報との相関を比較検討することで、左室機能回復を予測する因子を網羅的に探索することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では、高度左心機能低下を有する重症心不全症例の左室心筋組織を解析の対象とした。

重症心不全の条件は NYHA 心機能分類 あるいは、かつ左室駆出率 (LVEF) 30%未満と定義し、虚血性心筋症とサルコイドーシス、アミロイドーシス、ミトコンドリア心筋症などの二次性心筋症症例は除外した。

手術時に摘出またはカテーテルによる心筋生検を行い左室心筋の一部を採取、保存した心筋サンプルより RNA を抽出し、Illumina 社次世代シーケンサーである HiSeq 1500 を用いて RNA-sequence を行った。

すべての患者で 遮断薬、レニン アンジオテンシン系阻害薬による十分な薬物療法を施行した。また適応があれば CRT、弁置換術、左室補助人工心臓装着術などの非薬物療法を行った。6-12 か月後に心エコー検査を行い、逆リモデリングの有無を検討した。

## 4. 研究成果

有意の左室逆リモデリング (LVEF>30%かつ治療前に比べ 10%以上の改善)を認めた群 (RR 群) (N=8) と、そうでなかった群 (NRR 群) (N=9) で比較を行った。術前の年齢 (46.1 vs. 47.1 歳)、病悩期間 (36.1 vs 79.0 か月) や左室機能 (LVDd; 72 vs. 79mm, LVEF 21.5 vs. 20.4%)、血行動態指標 (PCWP; 27 vs. 29mmHg, CI 2.3 vs 2.06L/min/m<sup>2</sup>) には有意差を認めなかった。RR 群で AVR 2, VAD 2 例、NRR 群で AVR 1, VAD 8 例で施行された。

RNA-sequence の結果、左室逆リモデリングを認めなかった群で有意に upregulate されている 150 の gene が確認された。それらのうちもっとも差が大きかった 3 つの gene は

ミトコンドリア呼吸鎖複合体、および p38MAP kinase 関連蛋白を coding しアポトーシスに関連するもの、および機能不明のものであった。qRT-PCR でこれらの因子の発現を検討すると RR 群で有意に低発現であることが確認された。左室逆リモデリング予測因子としての有用性を ROC 解析で確認すると AUC 0.99, 0.93, 0.90 と良好な値を示した。

以上の結果から、これらの因子が重症心不全症例の左室逆リモデリング予測に有用である可能性が示唆された。

## 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)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他](計0件)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

松宮 護郎 (MATSUMIYA, Goro)  
千葉大学・大学院医学研究院・教授  
研究者番号: 20314312

### (2)研究分担者

石田 敬一 (ISHIDA, Keiichi)  
千葉大学・大学院医学研究院・  
特任准教授  
研究者番号: 40375671

上田 秀樹 (UEDA, Hideki)  
千葉大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号: 50738987

黄野 皓木 (KOUNO, Hiroki)  
千葉大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号: 40375803

松浦 馨 (MATSUURA, Kaoru)  
千葉大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号: 50436375

田村 友作 (TAMURA, Yusaku)  
千葉大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：60738988

渡邊 倫子 (WATANABE, Michiko)  
千葉大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：20766274