

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08117

研究課題名(和文)心房周囲脂肪における心房細動の進展の解明：肥満犬心房細動モデルを用いた検討

研究課題名(英文)Role of epicardial fat on atrial remodeling of atrial fibrillation

研究代表者

奥村 恭男 (OKUMURA, Yasuo)

日本大学・医学部・教授

研究者番号：20624159

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：肥満により促進される心房筋リモデリングの機序を明らかにするために、ビーグル犬を用いた実験を行った。通常食に高頻度心房刺激を3カ月間長期に行った長時間心房細動(AF)群は、高カロリー食のみ給餌した肥満群と比較し、左房不応期が短縮していたが、高カロリー食を給餌し、同様の刺激を行った長時間AF肥満群が最も短縮し、AF誘発性が亢進していた。以上から、心房筋リモデリングはAF単独でも見られるが、肥満の存在により促進されることが明らかになった。先行研究で、2カ月の短時間AFモデルで心外脂肪・心房筋へ脂肪浸潤が見られたことから、今回の長時間AFモデルでの組織学的検証で、さらなる知見が得られると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、肥満や心外脂肪が心房筋の電気的、構造的リモデリングを引き起こす機序における一要因を明らかにした。まず、僅か半年の肥満状態で左房圧上昇による血行動態的な変化が引き起こされ、心房細動(AF)誘発性が増加すること、さらに肥満に3カ月AFが持続すると、AF持続単独よりも左房不応期が短縮し、AF誘発性が助長されることを明らかにした。AF誘発性は、組織学的には、先行研究の肥満イヌ短期間AFモデルや短期間AFモデルでみられた心外脂肪や心房筋への脂肪浸潤や線維化が関連していると考えられるが、今回の肥満群、肥満イヌ長時間AFモデル、長時間AFモデルの追加検証にて新たな知見が得られると考えられる。

研究成果の概要(英文)：To investigate the impact of obesity on electrophysiological and anatomical property on left atrium, 15 dogs were divided into three groups. High-fat diet and rapid atrial pacing for 10-12 weeks (Obese-L-AF group, n=5), rapid atrial pacing for 10-12 weeks with normal diet (L-AF group, n=5), and high-fat diet only (Obese group, n=5). Body weight was increased in Obese and Obese-L-AF group than in L-AF group. During electrophysiologic study, effective refractory period (ERP) of the left atrium (LA)/pulmonary veins (PVs) were shortest in Obese-L-AF group, and shorter in L-AF group than Obese group. AF vulnerability including the inducibility and duration of AF was modestly greater in Obese-L-AF than in Obese and L-AF groups. Our data suggest that electrical remodeling may be pronounced by AF maintenance under the obese condition. The histopathological examination in those models will provide additive insights into the role of epicardial fat/fatty infiltration on AF substrate.

研究分野：医歯薬学

キーワード：肥満犬心房細動モデル 肥満 心外脂肪 脂肪浸潤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病、高血圧、肥満を含んだメタボリック症候群は、全身の炎症の惹起を通して心房細動 (atrial fibrillation: AF) の進行に寄与する。さらにメタボリック症候群の表現型である心房周囲脂肪と心房筋の電氣的、構造的リモデリングに密接な関連性があることは報告されているが、その正確なメカニズムは明らかでない。

### 2. 研究の目的

本研究では、我々が開発した肥満イヌ高頻度心房刺激モデルを用いて、肥満によって促進された心房筋の構造的リモデリングの機序を明らかにするとともに、その表現型である心房周囲脂肪の心房細動進展における機序を解明することである。

### 3. 研究の方法

ビーグル犬 15 頭を対象に高カロリー食を給与し、10~12 週間の長時間高頻度心房刺激を行う肥満合併長時間高頻度心房刺激群 (Obese-L-AF 群: 5 頭)、通常食に長時間高頻度心房刺激を行う群 (L-AF 群: 5 頭)、高脂肪食のみを与える肥満群 (Obese 群: 5 頭) に分ける。電気生理学的検査を行い、心内電位や心房細動の誘発性を評価し、組織学的、分子生物学的解析を行う。先行研究の通常食のみを与えた対照群、高カロリー食を給与し、4~8 週間の短期間高頻度心房刺激を行った Obese-S-AF 群 (5 頭)、通常食に短期間高頻度心房刺激を行った S-AF 群 (5 頭) とともに総合的に比較検討し、AF 持続期間による経時的相違を明らかにする。

### 4. 研究成果

Obese 群 5 頭および Obese-L-AF 群 5 頭の実験は終了したが、ペースメーカー移植後の合併症による 2 頭の死亡やコロナ禍などの影響で実験の遅延が生じ、L-AF 群 1 頭の実験は未施行である。現時点における Obese 群、L-AF 群および Obese-L-AF 群における体重、バイタル、心腔内超音波指標の比較を表に示す。Obese 群、Obese-L-AF 群の体重はそれぞれ 18.2kg、16.0kg と L-AF 群の 13.0kg に比較しやや高値を示し、血行動態指標では、拡張期血圧は 73.2mmHg、84.6mmHg、68.8mmHg と Obese-L-AF 群が L-AF 群に比較し有意に高かった。左房圧は Obese 群が 23.4mmHg と他 2 群に比較し高く、Obese-L-AF 群は 12.5mmHg と L-AF 群 8.8mmHg に比較し高い傾向を示したが、有意ではなかった。心腔内エコー指標は左房容積が Obese 群、Obese-L-AF 群がともに 5.4cm<sup>2</sup> であり、L-AF 群 3.6cm<sup>2</sup> に比較し拡大傾向にあり、IVSd もそれぞれ 6.0mm、5.8mm、3.6mm と Obese 群、Obese-L-AF 群が L-AF 群に比較し厚かった。LVEF はそれぞれ 60.6%、79.9%、69.8% と Obese-L-AF 群のみが他 2 群に比較し有意に高値を呈した。

表 1. Obese 群、L-AF 群および Obese-L-AF 群における体重、バイタル、心腔内超音波指標の比較

	Obese 群 (n=5)	L-AF 群 (n=4)	Obese-L-AF 群 (n=5)	P 値
体重 (kg)	18.2 ± 4.6	13.0 ± 4.1	16.0 ± 2.1	0.16
収縮期血圧 (mmHg)	109.0 ± 14.3	113.0 ± 6.0	120.8 ± 10.8	0.28
拡張期血圧 (mmHg)	73.2 ± 9.6	68.8 ± 8.1	84.6 ± 5.6*	0.029
左房圧 (mmHg)	23.4 ± 6.9*	8.8 ± 3.5	12.5 ± 7.7	0.014
左房容積 (cm <sup>2</sup> )	5.4 ± 1.3	3.6 ± 0.6	5.4 ± 1.5	0.11
IVSd (mm)	6.0 ± 1.7*	3.6 ± 0.7	5.8 ± 1.3	0.035
PWd (mm)	7.2 ± 1.2	5.9 ± 1.5	6.7 ± 2.2	0.51
LVDd (mm)	26.2 ± 4.4	20.6 ± 4.5	23.4 ± 2.7	0.14
LVEF (%)	60.6 ± 6.1	69.8 ± 2.8	79.9 ± 2.9*	<0.001

IVSd, 拡張末期中隔厚; PWd, 拡張末期左室後壁厚; LVDd, 左室拡張末期径; LVEF, 左室駆出率

\*P<0.05 vs. L-AF 群 by Turkey-Kramer post-hoc HSD 検定

参考として、通常食のみを行った対照群、4~8 週間の短期間高頻度心房刺激を行った S-AF 群、Obese-S-AF 群の先行研究の結果を表 2 に示す。

表 2. Obese 群、S-AF 群および Obese-S-AF 群における体重、バイタル、心腔内超音波指標の比較

	対照群 (n=5)	S-AF 群 (n=5)	Obese-S-AF 群 (n=5)	P 値
体重 (kg)	11.7 ± 1.9	10.7 ± 1.4	17.6 ± 1.5*	<0.001
収縮期血圧 (mmHg)	111.0 ± 18.8	114.0 ± 15.5	125.6 ± 21.1	0.45
拡張期血圧 (mmHg)	65.8 ± 9.4	67.4 ± 11.5	73.2 ± 9.6*	0.017
左房圧 (mmHg)	11.4 ± 2.1	11.9 ± 6.4	13.5 ± 2.9	0.72
左房容積 (cm <sup>2</sup> )	5.6 ± 1.3	3.8 ± 2.0	5.7 ± 1.5	0.16
IVSd (mm)	5.9 ± 0.5	7.0 ± 1.1	7.2 ± 2.0	0.28
PWd (mm)	6.8 ± 1.3	7.7 ± 1.0	8.5 ± 0.6	0.06
LVDd (mm)	25.7 ± 4.0	24.1 ± 5.8	20.8 ± 4.4	0.30
LVEF (%)	70.2 ± 5.6	63.6 ± 14.7	69.6 ± 13.7	0.65

IVSd, 拡張末期中隔厚; PWd, 拡張末期左室後壁厚; LVDd, 左室拡張末期径; LVEF, 左室駆出率

\*P<0.05 vs. 対照群、S-AF 群 by Turkey-Kramer post-hoc HSD 検定

今回の Obese 群、Obese-L-AF 群は体重が高値を呈し、Obese-S-AF 群とほぼ同様であり、血行動態的には Obese-L-AF 群の拡張期血圧や左房圧はやや高いが Obese 群ほど上昇しておらず、Obese-S-AF 群とほぼ同様であった。L-AF 群は体重や拡張期血圧、左房圧は対照群、S-AF 群とほぼ同様であり、左房径は最小であり、S-AF 群と類似の特徴を有しているといえる。

Obese 群、L-AF 群および Obese-L-AF 群における電気生理学的検査を表 3 に示す。以下に示すように、L-AF 群は Obese 群に比較し左房、肺静脈の不応期 (ERP) が短縮する傾向を示し、Obese-L-AF 群は有意に短縮していた。LAA から高頻度心房刺激をそれぞれ 2, 4, 6, 8, 10 秒間の設定で 5 回行った際の AF 誘発性は 3 群ともに高く、Obese 群 25 回 (5 回 × 5 頭) 中 20 回 (80%)、Obese-L-AF 群 25 回中 24 回 (96%)、L-AF 群 20 回 (5 回 × 4 頭) 中 18 回 (80%) であり、AF 持続時間も、Obese-L-AF 群 3.1 (2-5) 秒、L-AF 群 2 (1.6-2.9) 秒と統計的な有意差は認めなかったが Obese-L-AF 群が最長であり、AF vulnerability が高いことが示唆された。

表 3 . Obese 群、L-AF 群および Obese-L-AF 群における電気生理学的検査の比較

	Obese 群 (n=5)	L-AF 群 (n=4)	Obese-L-AF 群 (n=5)	P 値
不応期(ERP)				
左房 (LA 本体, LAA)	133 ± 22	119 ± 14	87 ± 48*	0.012
肺静脈 (IPV, LSPV, RSPV)	137 ± 15	119 ± 16	107 ± 37*	0.008
AF 誘発性	25 回中 20 回 (80%)	20 回中 18 回 (80%)	25 回中 24 回 (96%)	0.12
AF 持続期間	2 (0.5-3.5) 秒	2 (1.6-2.9) 秒	3.1 (2-5) 秒	0.12

LA, 左房; LAA, 左心耳; IPV, 下肺静脈; LSPV, 左上肺静脈; RSPV, 右上肺静脈。

\*P<0.05 vs Obese 群 by Turkey-Kramer post-hoc HSD 検定 or Wilcoxon t 検定

参考資料として、先行研究の対照群、S-AF 群、Obese-S-AF 群の電気生理学的検査の結果を表 4 に示す。

対照群、S-AF 群、Obese-S-AF 群の電気生理学的検査の比較

	対照群 (n=5)	S-AF 群 (n=5)	Obese-S-AF 群 (n=5)	P 値
ERP				
左房	145 ± 41	114 ± 46	103 ± 39	0.09
肺静脈	161 ± 38	127 ± 43	128 ± 36*	0.032
AF 誘発性	25 回中 7 回 (28%)	25 回中 8 回 (32%)	25 回中 17 回 (68%)*	0.006
AF 持続期間	0 (0-1) 秒	0 (0-4.5) 秒	3 (0-3.5) 秒*	0.011

LA, 左房; LAA, 左心耳; IPV, 下肺静脈; LSPV, 左上肺静脈; RSPV, 右上肺静脈。

\*P<0.05 vs 対照群 by Turkey-Kramer post-hoc HSD 検定 or Wilcoxon t 検定

AF 誘発性、持続時間ともに、L-AF 群は S-AF 群よりさらに AF vulnerability が亢進しており、Obese-L-AF 群は Obese-S-AF 群よりさらに亢進し、最大となっていることが示された。

今回の検証では高頻度心房刺激による AF モデル作成期間を先行研究の 7.7 ± 3.8 週から、11.4 ± 2.0 週に約 1 カ月延長させている。高頻度心房刺激の延長により、さらに AF の器質が増加することが示された。今回の Obese-L-AF 群の高カロリー食を餌付けする期間は 6 カ月であり、先行研究と同様のプロトコールで行っているため、肥満患者に AF が長期持続すると、AF 器質さらに増加することが明らかになったといえる。

先行研究の対照群、S-AF 群、Obese-S-AF 群および現時点で終了している Obese 群の組織学的検証では、心外脂肪が対照群、S-AF 群、Obese-S-AF 群、Obese 群と段階的に認め、心房筋への脂肪浸潤も同様の傾向を認めた (心外脂肪厚: 対照群 93 [41-179] μm; S-AF 群 249 [178-355] μm; Obese 群 233 [136-329] μm; Obese-S-AF 群; 334 [243-550] μm, P<0.001; %脂肪浸潤: 対照群 7.3 [0.7-17.1]%; S-AF 群 29.3 [21.4-47.6]%; Obese 群 27.9 [12.5-31.7]%; Obese-S-AF 群; 43.1 [38.6-48.6]%, P<0.001) (図 1)。線維化の程度も僅かであるが 4 群間で有意差を認め (対照群 1.5 [0.6-1.9]%; S-AF 群 5.1 [2.4-6.7]%; Obese 群 1.4 [0.8-2.6]%; Obese-S-AF 群 4.1 [2.8-6.2]%, P<0.001)、Obese-S-AF 群、S-AF 群は他の 2 群に比較し大きかった (図 2)。さらに分子生物学的検証においても線維化関連マーカーである α-SMA、β-actin、TGF-β1 mRNA は、対照群、Obese 群では発現量は低い S-AF 群、Obese-S-AF 群では増加しており、とくに Obese-S-AF 群では対照群より有意に発現していた (図 3)。しかしながら、炎症関連マーカーである MCP-1 と IL-6 mRNA の発現には有意差は認めなかった。

图1

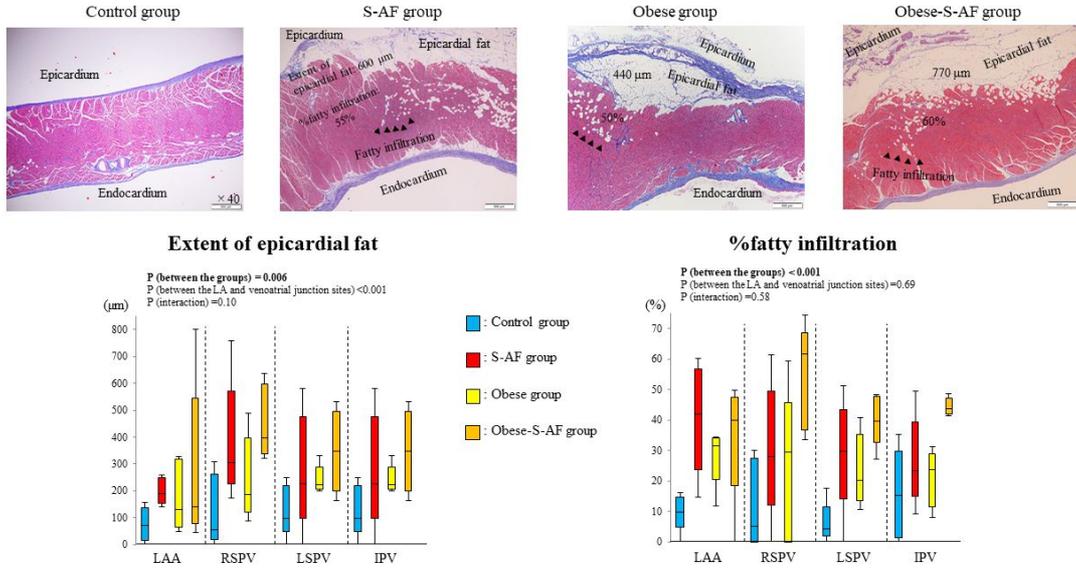


图2

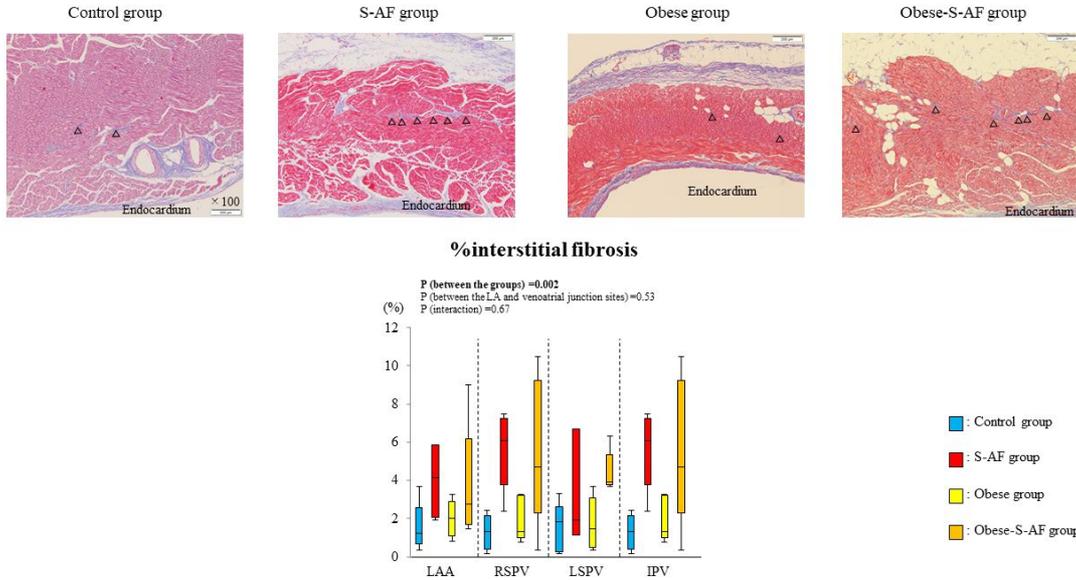
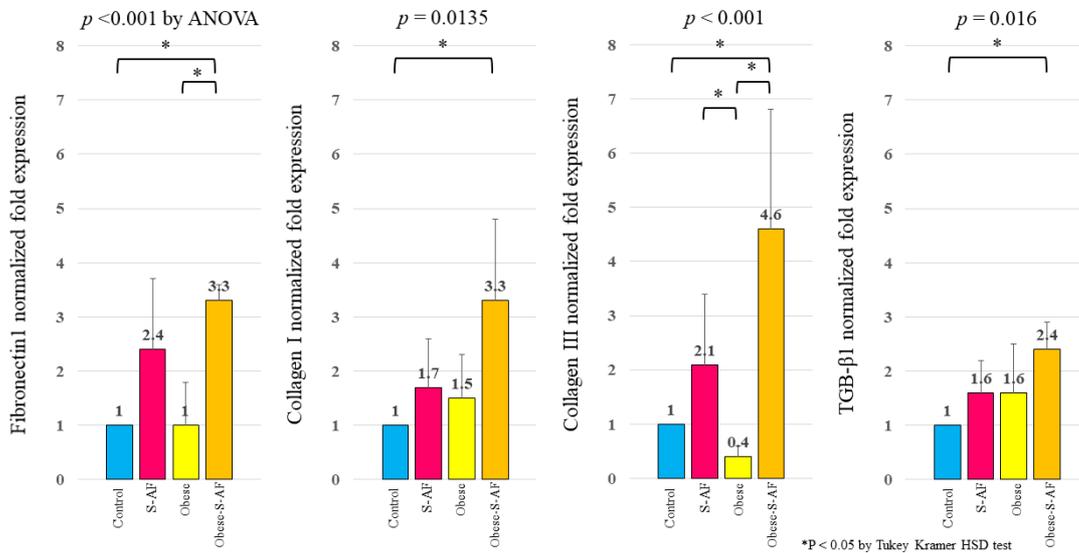
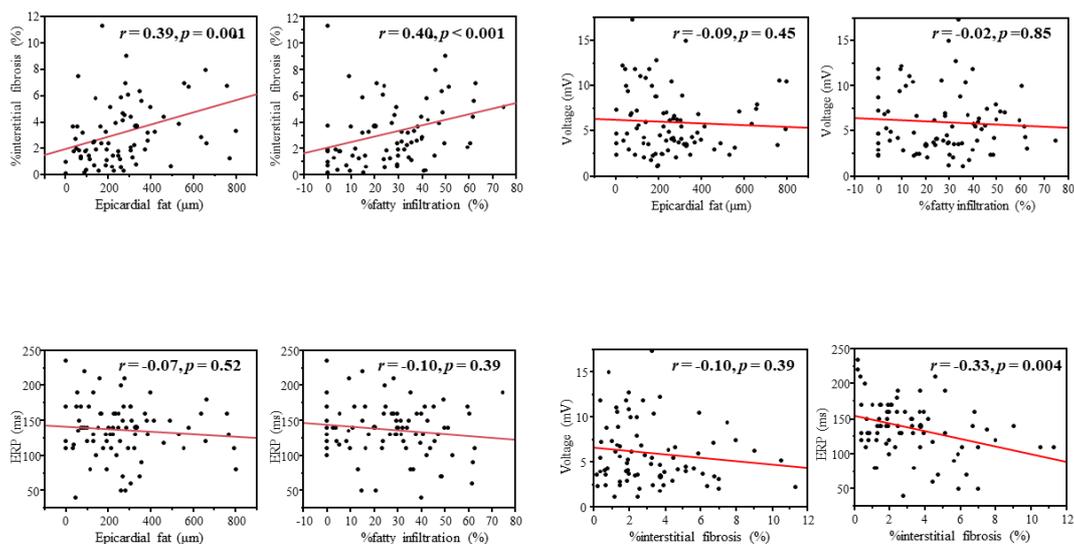


图3



以上から現時点で明らかになっていることは、心外脂肪及び心房筋への脂肪浸潤は、肥満単独のみならず AF 単独の存在でも生じ、さらに肥満に AF が合併すると心外脂肪や脂肪浸潤の程度がさらに促進されることが明らかになった。線維化の発現は 6 ヶ月間の肥満単独の Obese モデルでは発現せず、S-AF 群、Obese-S-AF 群で僅かではあるが発現し、分子生物学的検証においても線維化関連マーカーは同様の傾向を呈していた。

図4



また、組織学的な心外脂肪および心房筋への脂肪浸潤の程度が、線維化の程度と中等度の相関が認められた( $r=0.39$ ,  $P=0.001$ ;  $r=0.40$ ,  $P<0.001$ )。心外脂肪および心房筋への脂肪浸潤の程度は心房筋の障害を反映する左房不応期の短縮とは相関がみられなかったが、線維化の程度は、心房筋の障害を反映する左房不応期の短縮と有意に関連していた(図4)。以上から、従来の報告と同様に線維化の存在が心房筋の不応期を規定する主因であるが、心外脂肪や脂肪浸潤は線維化を促進する律速因子である可能性を支持する重要な所見であると言える。今後、L-AF 群、Obese-L-AF の組織学的、分子生理学的検査により、現在得られている電気生理学的所見の裏付けを検証し、心外脂肪や線維化が AF 器質に与える機序をさらに深めることができると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Otsuka N, Okumura Y, Arai M, Kurokawa S, Nagashima K, Watanabe R, Wakamatsu Y, Yagyu S, Ohkubo K, Nakai T, Hao H, Takahashi R, Taniguchi Y, Li Y.	4. 巻 32
2. 論文標題 Effect of obesity and epicardial fat/fatty infiltration on electrical and structural remodeling associated with atrial fibrillation in a novel canine model of obesity and atrial fibrillation: A comparative study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cardiovascular Electrophysiology	6. 最初と最後の頁 889-899
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jce.14955.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Monno K, Okumura Y, Saito Y, Aizawa Y, Nagashima K, Arai M, Watanabe R, Wakamatsu Y, Otsuka N, Yoda S, Hiro T, Watanabe I, Hirayama A.	4. 巻 34
2. 論文標題 Effect of epicardial fat and metabolic syndrome on reverse atrial remodeling after ablation for atrial fibrillation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Arrhythm	6. 最初と最後の頁 607-616
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/joa3.12124.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Otsuka Naoto, Masaru Arai, Kouichi Nagashima, Kazuki Iso, Ryuta Watanabe, Yuji Wakamatsu, Sayaka Kurokawa, Kimie Ohkubo, Toshiko Nakai, Hiroyuki Hao, Rie Takahashi, Yoshiki Taniguchi, Yasuo Okumura
2. 発表標題 Influence of obesity and atrial fibrillation on the progression of electrical and structural remodeling in a canine atrial fibrillation obesity model.
3. 学会等名 Heart Rhythm Society（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Seina Yagyu, Koichi Nagashima, Ryuta Watanabe, Masaru Arai, Yuji Wakamatsu, Naoto Otsuka, Sayaka Kurokawa, Toshiko Nakai, Yasuo Okumura
2. 発表標題 Is Epicardial Adipose Tissue the Cause or Consequence of Atrial Fibrillation?: Implication of Ablation Effects
3. 学会等名 Heart Rhythm Society（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 門野 越、奥村 恭男、齋藤 佑記、相澤 芳裕、永嶋 孝一、新井 将、渡邊 隆大、若松 雄治、廣 高史、渡辺 一郎、平山 篤志.
2. 発表標題 Importance of Epicardial Adipose Tissue on Reverse Atrial Remodeling after Atrial Fibrillation Ablation
3. 学会等名 第82回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masaru Arai, Yasuo Okumura, Ichiro Watanabe, Koichi Nagashima, Kazuki Iso, Ryuta Watanabe, Yuji Wakamatsu, Sayaka Kurokawa, Kimie Ookubo, Toshiko Nakai, Hiroyuki Hao, Rie Takahshi, Yoshiki Taniguchi, Mizuki Nikaidou, Atsushi Hirayama
2. 発表標題 Influence of Obesity on the Progression of Electrical and Structural Remodeling in a Canine Atrial Fibrillation Model
3. 学会等名 第65回日本不整脈心電学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 門野越、齋藤佑記、相澤芳裕、永嶋孝一、新井将、渡邊隆大、若松雄治、大塚直人、依田俊一、奥村恭男
2. 発表標題 Is Epicardial Adipose Tissue the Cause or Consequence of Atrial Fibrillation?
3. 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akimasa Yamada, Yasuo Okumura
2. 発表標題 Noninvasive Assessment of Ventricular Fibrosis and Diastolic Dysfunction in Atrial Fibrillation with Magnetic Resonance-based Extracellular Volume Fraction and Feature-tracking Strain.
3. 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaru Arai, Yasuo Okumura, Koichi Nagashima, Ichiro Watanabe, Kazuki Iso, Keiko Takahashi, Yuji Wakamatsu, Sayaka Kurokawa, Kimie Ohkubo, Toshiko Nakai.
2. 発表標題 Influence Of Obesity On The Progression Of Electrical And Structural Remodeling In A Canine Atrial Fibrillation Model.
3. 学会等名 Heart Rhythm Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------