

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16408

研究課題名（和文）幼齢期心臓支配神経への選択的操作に伴う成熟期心筋における病態形成の解明

研究課題名（英文）Pathogenesis in the mature myocardium following selective manipulation of the innervation of the heart in the larval stage

研究代表者

羽山 陽介（Yohsuke, Hayama）

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・客員研究員

研究者番号：50802964

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：心筋組織を中心に支配神経の障害と再生が、組織障害からの回復と再生にどのような影響を及ぼすのか遺伝学的な手法を主に用いて解析を行った。心筋組織については障害後再生時に増生する交感神経は、心外膜側や血管周囲を中心とした線維化を誘発する可能性が示唆され、臨床で問題となる病理の一部であると考えられた。その他、神経系と血管内皮細胞、炎症細胞との連関が示唆されたが、臓器により現象は一定せず、組織再生においては炎症系細胞が主役を担うことが示唆される観察を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

交感神経が心不全の病態形成に重要な役割を果たしていることは良く知られているが、同病理が神経トーンの変化する例えば心臓周術期にも強く関係しており、神経の再支配が組織学的な直接のリモデリング及ぼすことが再確認された。また侵襲に対する応答には炎症細胞の関与が重要と考えられ、治療介入を考える上で示唆を与える。いずれも例えば小児心臓手術において周術期管理の重要性を説くものであり、社会的に意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the effects of injury and regeneration of the nerves, mainly in myocardial tissue, on recovery and regeneration from tissue injury, mainly using genetic methods. In myocardial tissue, the sympathetic nerves that increase during regeneration after injury may induce fibrosis, mainly on the epicardial side and around blood vessels, which may be part of the pathology that causes problems in clinical practice. Other observations suggested a linkage between the nervous system, vascular endothelial cells, and inflammatory cells, but the phenomena were not consistent from organ to organ, suggesting that inflammatory cells play a leading role in tissue regeneration.

研究分野：循環生理学

キーワード：交感神経 副交感神経 リモデリング 血管内皮 炎症 線維化 マクロファージ 細胞外分泌小胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 治療の進歩に伴い成人先天性心疾患患者は本邦でも 40 万人を超え急増しており、社会の中枢を担うべき青年期～壮年期に心不全や不整脈を続発することは大きな問題となっている()。先天的な形態異常や弁膜症等の遺残病変など多因子が関与するが、とりわけ小児期の手術に伴う心臓支配神経の切断といった心臓神経への修飾が病態に深く関与していると推測される。研究者は、臨床研究(国循センター病院等)において、手術瘢痕部位から遠隔の心室領域に広がるびまん性・不均一な心筋線維化と心室収縮・拡張障害との関連、開心術後心の両心室の拡張不全型心不全という新規病態の指摘と、この拘束性心筋障害と「開心手術回数」との関連、心室交感神経分布の不均一性と、手術回数や心室性不整脈出現との関連、を報告してきた()。除神経とその再支配現象が心臓の成長や機能的成熟に及ぼす影響を分布部位別や神経種類別に理解することは、病態解明に欠かせない基礎的かつ重要な問題であると考えた()。

(2) 神経支配と組織再生や増殖には相互作用があるとされている()。交感神経依存性の心筋組織再生現象といった基礎研究の報告などがその例である()。しかし、組織や生命活動の時期によりその影響は異なるようであり、未だ未解明の部分が多い。神経系、血球系、血管系との連関が示唆されることから、上記(1)の解明のため、組織修復や再生の場で異システムそれぞれに介入を行い相互への影響を分析する必要があると考えた。

2. 研究の目的

(1) 心臓支配神経各種の操作を行い、成獣期に続発する心筋障害や心筋成長への影響を解析することを目的とした。これまでの薬理的な介入は全身への非選択的な影響を回避できていなかったが、神経種ならびに部位選択的な操作(除去・抑制・刺激)を行う動物実験モデルを使用し、心筋成長への影響や成獣期に続発する心筋障害を解析する。

(2) 組織再生における神経系の関与を明らかにする。その際に、システム間の連携を解析する目的で、神経系のみならず、血管系、血球系との連関を明らかにするため、神経系を選択的に観察や操作を行うことができる動物実験モデル、血管系を系譜観察し操作を行うことができる動物実験モデル、血球系を選択的に操作し非操作群と比較し検討できる動物実験モデルそれぞれを使用することで、組織再生に主たる寄与を行っているシステムの分析を行う。その解析の中で組織再生を促進する因子を同定し、治療介入へ応用できるかどうかの検討を行う。

3. 研究の方法

(1) 心臓に分布する神経を、神経の種類別(交感、迷走、求心性)、心臓部位の別に、選択的に遺伝子操作(刺激・抑制・除去等)できる技術(心臓神経操作用ラットと逆行性ウイルスベクター10種の組合せ、開発済国際特許 PCT/JP2017/025468)を用いて、幼若齢期(週齢 4-6 週)に開胸手術下に特定部位に接種し、成獣期(週齢 12-16 週)における、心臓組織形態解析等を行った。

(2) 具体的な実験手技については以下の通りである。

基本的に組織像は還流固定後、2%パラホルムアルデヒドで 4-24 時間転倒混和固定後に、スクロース脱水、10 μ m の凍結切片へ切り出し、-80 $^{\circ}$ C 保存して解析へ使用した。抗原特異的一次抗体および蛍光色素標識二次抗体を用いて蛍光染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

開胸手術は気管内挿管および吸入麻酔下に肋間切開を行い、適宜介入を行った。

genotyping は標的に応じたプライマー配列および Tm 温度を設定し、型通り PCR 増幅を行い、EtBr 添加 1%アガロースゲル電気泳動を行い、UV トランスイルミネーターで撮像し評価した。

Western blotting は、組織摘出後、速やかに氷上 Lysate buffer でホモジナイズ後、BCA 法で濃度調製を行い-80 $^{\circ}$ C 保存し、型通り電気泳動、PVDF メンブレンへの転写、1 次および 2 次抗体で染色し ECL 化学発光法で検出し半定量測定を行った。

組織ノルエピネフリン濃度の測定は、試料を生食灌流後にミンスし過塩素酸をベースとした組織用 buffer 内でホモジナイズし pH 調整後フィルタを通した後に高速液体クロマトグラフィー法で測定した。

tamoxifen は 80 mg/kg を 4 日間腹腔内投与とした。

下肢虚血モデルでは吸入麻酔下に、大腿動脈を外側大腿動脈や深大腿動脈の分岐部より近位部において、8-0 糸で 2 重結紮および切断した。組織障害については趾脱落を陽性とした。血流評価は吸入麻酔下にレーザードプラ測定装置を用いて、約 1 分間の足底ドプラ信号強度について介入側/Sham 側の相対比として算出した。

骨髄由来マクロファージの培養は、先に L929 細胞を DMEM + 10%FCS でコンフルエントにした状態での培養上清を準備し、両大腿、下腿、脊椎の骨髄を ice cold の DMEM へ抽出した後、接着

細胞を除外し浮遊細胞に対して DMEM + 10%FCS + 15%L929 細胞上清で数継代培養を行い純化培養した。M1/M2 polarization には、それぞれ IFN、IL-4 添加で行った。

細胞外分泌小胞は細胞数カウント後、FCS 非含有 DMEM で 48 時間培養した後の上清を回収し、Tim4 アフィニティー磁気ビーズ法を用いて収集した。-80 で保存し、絶対量の測定は抗 CD63 抗体と HRP 二次抗体を用いた ELISA 法で測定した。

硝酸塩濃度は細胞カウントを一致させた後、LPS 添加後の培養上清を回収し Griess 法で行った。貪食能は 1.0 μm ラテックスビーズを等量付与し、4 時間後に速やかに固定し共焦点レーザー蛍光顕微鏡による組織像の Z-stack 像を撮像し、ランダム視野でのビーズ数をカウントすることで計測した。

TUNEL 染色は、再固定後ビオチン化 TdT を反応させ、蛍光色素標識ストレプトアビジンで染色し組織観察を行った。

フローサイトメトリーは、組織摘出後、速やかに ice cold の DMEM 内でミンスし、コラゲナーゼ添加 DMEM 内で 37 60 分振盪した後、以後 4 でフィルタ透過によりシングルセルとし、stain buffer を用いて蛍光色素コンジュゲート細胞膜蛋白特異抗体で染色および洗浄し解析した。

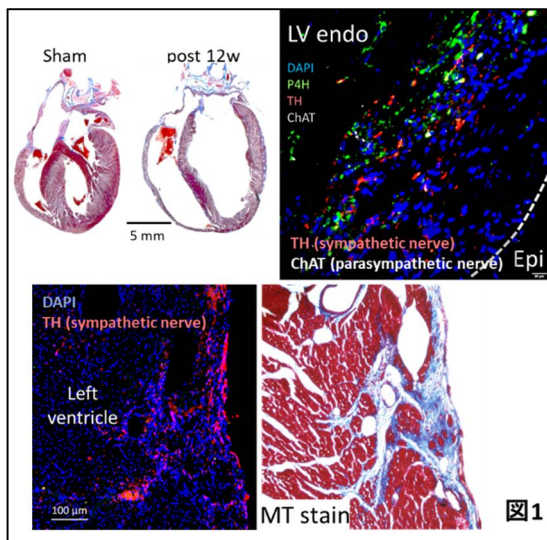
脂肪染色は 10 μm 凍結切片に対して Oil O red 染色を行った。

4. 研究成果

(1) 齧歯類の心臓解剖を踏まえ、まずは左右心室に限定した支配神経の全除神経を施行した。除神経のモデル妥当性は、処置後の心筋実質内ノルエピネフリン濃度を HPLC で測定し減少していることで確認した。心室神経操作後 12 週間の時点で、心筋菲薄化・心拡大、心外膜側を中心とした心筋の繊維化、心筋繊維化領域に一致する、神経の再支配とともに増加した交感神経線維 (TH 抗体免疫染色陽性) と周囲の細胞浸潤 (線維芽細胞) や副交感神経線維 (ChAT 抗体免疫染色陽性) が観察された。心臓神経の除神経・再支配過程が、周囲の心筋構成細胞・組織に影響を及ぼす像が示唆された (図 1)。心臓神経の切断・再支配過程が、周囲の心筋構成細胞・組織に影響を及ぼす像が示唆された。

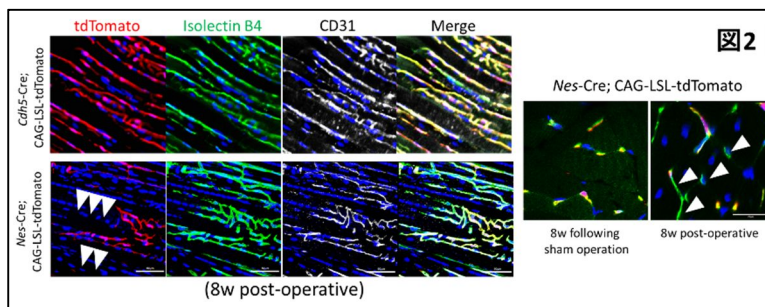
(2) 交感神経活動の観察が可能なラットを作製した (DBH-tTA2A-Cre; CAG-LSL-GCaMP6f)。また交感神経刺激アデノウイルス随伴ベクターを作製した (AAV-TH-NaChBac; G229A-2A-turboRFP)。前述ラット腎臓に同ベクターを局所注射し、2 光子顕微鏡による Ca イメージングを行ったところ、腎臓交感神経が対側に比して 251%まで増加し、高血圧が誘導された。

(3) Cre 組み換え依存的に神経を除去するアデノウイルス随伴ベクター (AAV-Floxed-DTA) を投与することで、心臓特定領域の除神経が可能であると考えた。上記(1)の結果につき実験を行ったが、一定の結果を得ることが出来なかった。実験手技の不安定性や個体差が大きいと考え、モデルを簡略化することとした。



(4) 別の実験系として Balb/c-nu mice に対する MDA-MB-231 ヒト乳癌細胞を播種したモデルに対して Cre 組み換え非依存的に交感神経を除去するベクター (AAV-TH-DTA) を投与することで、交感神経系が細胞増殖に及ぼす影響について観察した。交感神経の選択的アブレーションに伴い、細胞増殖が抑制されることを観察した (詳細は主に指導教官が確立した実験系であるため詳細は割愛)。

(5) 神経再生過程を観察するために、神経堤マーカーである Nes に注目し、Nes-CreER^{T2}; CAG-LSL-tdTomato マウスを作成し tamoxifen 依存性 fate mapping の系を確立した。観察の過程で Nes が神経に発現していることを確認したが、主に血管系にも系譜発現していることに気付いた。そのため、血管内皮細胞の tamoxifen 依存性 fate mapping の系として Cdh5-CreER^{T2}; CAG-LSL-tdTomato マウスの供与(同研究所、別研究室より)を受け、両者の除神経有無に伴う侵襲からの再生現象について



評価した。

モデルは下腿虚血モデルを用いた。その理由は虚血後、特に下腿で血管内皮細胞が一旦脱落した後に血管再生が起こり組織再生の土台となることから神経系と組織再生との連関を観察する点で適していると考えたためである。まず大腿神経を機械的に切断することで、除神経側と sham 側とで足底の虚血からの回復過程を観察した。しかし血流回復の速度は除神経側と sham 側とで差はなかった。そのため、血管網再生に神経系の関与は小さいものと考えた。

tamoxifen 依存性 fate mapping の系では介入前に tamoxifen を投与し 1 週間以上の washout 期間を設けることで、細胞分化後の時点でのプロモーター発現に依存した fate mapping の実験系を確立した。まず介入術後 12 週の時点で一旦脱落した下腿筋肉周囲血管網は完全に Cdh5 系譜細胞で置換されており、再生血管が全て Cdh5 系譜細胞に由来することが明らかになった。一方、再生後の血管網は一部が Nes 系譜であるもの一部は Nes 非系譜であることが判明し (図 2)、Cdh5 系譜かつ Nes 非系譜の細胞群が血管再生の幹細胞であるという仮説を立てた。しかし、その後詳細に観察した結果、特に筋肉の短軸像などで Nes 系譜細胞は厳密には血管内皮細胞と局在が異なり、また PDGFR⁻、NG2 と共染色されることから、周皮細胞を見ているものと解釈した。すなわち、分化後の血管網における虚血後再生では、再生血管は全て Cdh5 系譜細胞でありその再生現象は神経系とは無関係と思われること、一方で周皮細胞は成熟すると Nes 陽性であるものの血管再生時には Nes 非系譜細胞 (幹細胞) によって供給されることが判明した

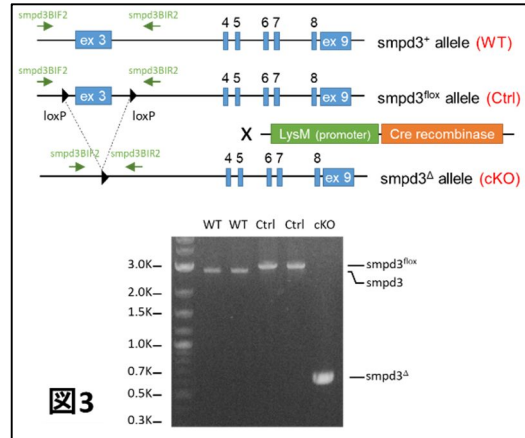


図 3

(6) (1)および(5)で神経再生や血管再生時には周囲に強い炎症性細胞が浸潤しており、免疫染色 F4/80 + Arg1 + の所見や他の遺伝子改変マウス (Iba1-GFP マウス) の観察で、M2 型マクロファージが主な役割を果たしているものと考えられた。実際に下腿虚血モデルにおいて直後にクロドロン酸内包リポソームを投与 (マクロファージの薬理的アブレーション) すると、有意に下腿足趾の壊死、血流回復の遅延が誘導されたため、組織再生の主たる役割と果たすものと考えられた。しかしこの現象は除神経の有無に関係なく見られたため、当初の研究背景とは異なり神経系の関与は小さいと思われた。さらにメカニズムを解明する目的で細胞外分泌小胞に注目し、smpd3 の Cre リコンビナーゼ依存的なノックアウトマウス (cKO) を作成した。マクロファージのプロモーターとしては LysM を用いた。腹腔マクロファージの PCR で loxP 前後での DNA リコンビネーションが起こっていることを確認した (図 3)。同マウスは下肢虚血モデルにおいて有意に足趾の壊死が出現するものの、血流の回復速度自体は対照群と同等であった。しかし下腿腓腹筋の筋線維の萎縮、脂肪性置換が見られ、血流回復とは関係なく組織再生に何らかの異常を来しているものと思われた (図 4)。なお、術後炎症時における組織フローサイトメトリーにおいて M2 分画は control 群と cKO 群とで同等であるように思われた (十分な反復解析ができず、確定的ではない)。

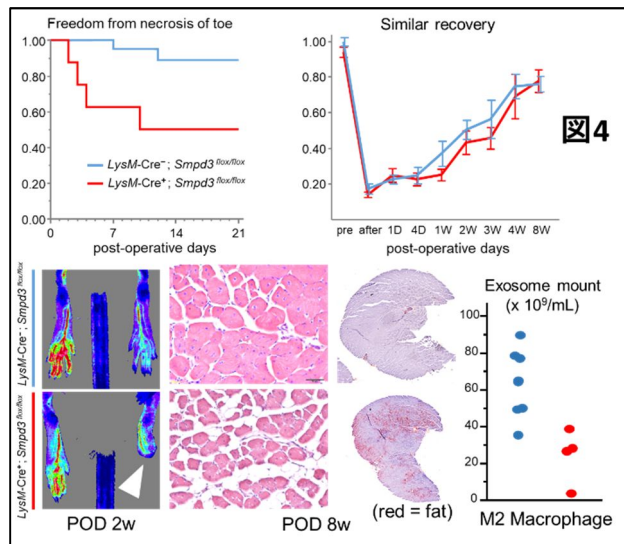


図 4

(7) cKO マウスにおけるマクロファージの機能解析を行い、貪食能に大きな差はないと考えられた。また NO 産生能は既報とは異なり、大きな差を検出することはできなかった(図 5)が、こちらも十分な反復解析ができず確定的ではなかった。培養上、細胞外分泌能は局在化に関わらず減少しているように思われたが、特に M2 型で大きく低下しているように解析された。

組織像では対照群と比較したアポトーシスの増加が見られ、これは細胞群とは関係の無い現象のように思われた(図 6)。培養上清から細胞外分泌小胞の濃縮液を抽出し、術後 1,3,5,7 日に筋注することで cKO において観察された組織障害がレスキューされるように思われたが、再現性を十分担保できない状態で中断となった。現時点では、M2 マクロファージ由来細胞外分泌小胞が組織再生に寄与している、という仮説を十分検証はできていない。

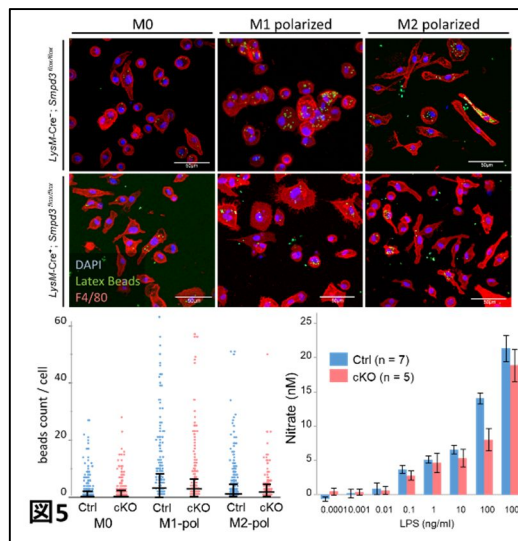


図5

(8) 2018 年 5 月に指導研究者の異動に伴う実験系の移動および縮小化、2018 年 6 月の大阪府北部地震での被災、2019 年 7 月に研究施設の移転、2020 年 3 月より複数回の緊急事態宣言と実験系の処分、等により基礎実験は思うように進まなかった。動物実験が施行できない時期については、やむを得ず本テーマと関連する臨床研究を並行した。

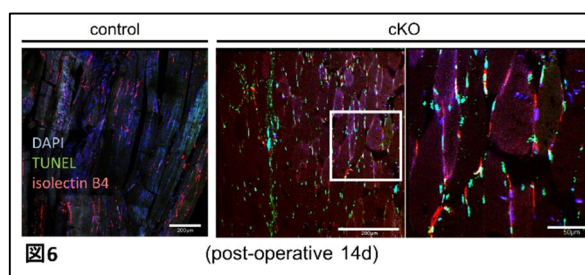


図6

具体的には、先天性心疾患の最重症型である単心室症における心筋機械的非同期に伴う心不全の病態形成についての解析、成長に伴う大動脈硬化と拡大リモデリングの変化についての解析、成人先天性心疾患の大動脈術後リモデリングと運動耐容能や予後との関連に関する解析、単心室心筋運動のモデル化および非同期運動とその占拠表面積との関連についてのシミュレーション解析などを行った。いずれも査読あり海外論文へ投稿し受理された。

<引用文献>

Shiina Y, Toyoda T, Kawasoe Y, et al. Prevalence of adult patients with congenital heart disease in Japan. *Int J Cardiol* 2011;146:13-6.

Ono S, Ohuchi H, Miyazaki A, Abe T, Kiso K, Yamada O. Heterogeneity of Ventricular Sympathetic Nervous Activity is Associated with Clinically Relevant Ventricular Arrhythmia in Postoperative Patients with Tetralogy of Fallot. *Pediatr Cardiol* 2015; 36: 1515-22.

Zhou S, Chen LS, Miyauchi Y, et al. Mechanisms of cardiac nerve sprouting after myocardial infarction in dogs. *Circ Res* 2004; 95: 76-83.

David L Stocum, The role of peripheral nerves in urodele limb regeneration. *Eur J Neurosci*. 2011; 34(6): 908-16.

White IA, Gordon J, Balkan W, Hare JM. Sympathetic Reinnervation Is Required for Mammalian Cardiac Regeneration. *Circ Res* 2015;117:990-4.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計22件（うち査読付論文 22件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Toru Kawada, Takashi Sonobe, Yohsuke Hayama, Takuya Nishikawa, Tadayoshi Miyamoto, Tsuyoshi Akiyama, James T. Pearson, Masaru Sugimachi	4. 巻 218
2. 論文標題 Accentuated antagonism of vagal heart rate control and less potent prejunctional inhibition of vagal acetylcholine release during sympathetic nerve stimulation in the rat	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Autonomic Neuroscience	6. 最初と最後の頁 25-30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.autneu.2019.02.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hiromi Yamamoto, Toru Kawada, Shuji Shimizu, Yohsuke Hayama, Toshiaki Shishido, Yoshitaka Iwanaga, Kanji Fukuda, Shunichi Miyazaki, Masaru Sugimachi.	4. 巻 285
2. 論文標題 Acute effects of intravenous carvedilol versus metoprolol on baroreflex-mediated sympathetic circulatory regulation in rats.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 65-71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2019.02.062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Atsunori Kamiya, Yohsuke Hayama, Shigeki Kato, Akihiko Shimomura, Takushi Shimomura, Katsumasa Irie, Ryosuke Kaneko, Yuchio Yanagawa, Kazuto Kobayashi, Takahiro Ochiya	4. 巻 22
2. 論文標題 Genetic manipulation of autonomic nerve fiber innervation and activity and its effect on breast cancer progression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1289-305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41593-019-0430-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Toru Kawada, Hiromi Yamamoto, Yohsuke Hayama, Takuya Nishikawa, Kunihiko Tanaka, Masaru Sugimachi.	4. 巻 317
2. 論文標題 Contrasting open-loop dynamic characteristics of sympathetic and vagal systems during baroreflex-mediated heart rate control in rats.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology. Regulatory, Integratory and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 R879-890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00231.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawada T, Shimizu S, Hayama Y, Yamamoto H, Saku K, Shishido T, Sugimachi M	4. 巻 315
2. 論文標題 Derangement of open-loop static and dynamic characteristics of the carotid sinus baroreflex in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology.	6. 最初と最後の頁 R553-67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00092.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu S, Une D, Kawada T, Hayama Y, Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M	4. 巻 68
2. 論文標題 Lumped parameter model for hemodynamic simulation of congenital heart diseases.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 103-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12576-017-0585-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawada T, Akiyama T, Sonobe T, Shimizu S, Hayama Y, Pearson JT, Shishido T, Sugimachi M	4. 巻 216
2. 論文標題 Central activation of cardiac vagal nerve by alpha2-adrenergic stimulation is impaired in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Autonomic neuroscience : basic & clinical	6. 最初と最後の頁 39-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.autneu.2018.09.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawada T, Hayama Y, Nishikawa T, Yamamoto H, Tanaka K, Sugimachi M.	4. 巻 219
2. 論文標題 Even weak vasoconstriction from rilmenidine can be unmasked in vivo by opening the baroreflex feedback loop.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 144-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lfs.2019.01.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawada T, Sonobe T, Hayama Y, Nishikawa T, Miyamoto T, Akiyama T, Pearson JT, Sugimachi M	4. 巻 218
2. 論文標題 Accentuated antagonism of vagal heart rate control and less potent prejunctional inhibition of vagal acetylcholine release during sympathetic nerve stimulation in the rat.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Autonomic neuroscience : basic & clinical	6. 最初と最後の頁 25-30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.autneu.2019.02.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayama Y, Miyazaki A, Ohuchi H, Miike H, Negishi J, Sakaguchi H, Kurosaki K, Shimizu S, Kawada T, Sugimachi M	4. 巻 33
2. 論文標題 Septal Flash-like Motion of the Earlier Activated Ventricular Wall Represents the Pathophysiology of Mechanical Dyssynchrony in Single-Ventricle Anatomy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Echocardiography	6. 最初と最後の頁 612-621 e2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.echo.2019.11.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayama Y, Ohuchi H, Negishi J, Iwasa T, Sakaguchi H, Miyazaki A, Tsuda E, Kurosaki K	4. 巻 316
2. 論文標題 Progressive stiffening and relatively slow growth of the dilated ascending aorta in long-term Fontan survivors-Serial assessment for 15 years.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 87-93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2020.04.071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayama Y, Ohuchi H, Negishi J, Iwasa T, Sakaguchi H, Miyazaki A, Tsuda E, Kurosaki K	4. 巻 129
2. 論文標題 Effect of Stiffened and Dilated Ascending Aorta on Aerobic Exercise Capacity in Repaired Patients With Complex Congenital Heart Disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The American Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 87-94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amjcard.2020.05.028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayama Y, Shimizu S, Kawada T, Negishi J, Sakaguchi H, Miyazaki A, Ohuchi H, Yamada O, Kurosaki K, Sugimachi M	4. 巻 70
2. 論文標題 Impact of delayed ventricular wall area ratio on pathophysiology of mechanical dyssynchrony: implication from single-ventricle physiology and OD modeling.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Science	6. 最初と最後の頁 38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-020-00765-y	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 0件)

1. 発表者名 Yohsuke Hayama, Shuji Shimizu, Toru Kawada, Masaru Sugimachi
2. 発表標題 Ventricular Morphology as Well as Conduction Delay Plays a Key Role in the Pathogenesis of Mechanical Dyssynchrony of Univentricular Heart
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 Toyoshima Y, Ohuchi H, Hayama Y, Fujino M, Fukuyama M, Negishi J, Iwasa T, Kurosaki K
2. 発表標題 High Plasma Levels of Presepsin, a Marker of Bacterial Infection, Reflect Global Fontan Pathophysiology.
3. 学会等名 American Heart Association's Scientific Sessions 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hayama Y, Shimizu S, Kawata T, Sugimachi M.
2. 発表標題 Preceding Contraction of Less Distensible Ventricular Compartment Plays a Key Role in the Pathogenesis of Mechanical Dyssynchrony in the Univentricular Heart
3. 学会等名 American Heart Association's Scientific Sessions 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hayama Y, Shimizu S, Kawata T, Sugimachi M.
2. 発表標題 Ventricular Morphology as Well as Conduction Delay Plays a Key Role in the Pathogenesis of Mechanical Dyssynchrony of Univentricular Heart
3. 学会等名 The 83rd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 羽山 陽介, 清水 秀二, 川田 徹, 杉町 勝
2. 発表標題 心室域による拡張能の差がFontan術後単心室における機械的非同期の病態形成に重要である - シミュレーションによる考察
3. 学会等名 The 45th Annual Meeting of Japanese Society of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hayama Y, Shimizu S, Kawata T, Sugimachi M.
2. 発表標題 Theoretical Analysis in the Pathogenesis of Mechanical Dyssynchrony in the Univentricular Heart
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of the Japanese Society for Medical and Biological Engineering
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 羽山 陽介, 清水 秀二, 川田 徹, 三池 虹, 坂口 平馬, 宮崎 文, 大内 秀雄, 黒崎 健一, 杉町 勝
2. 発表標題 Rebound Stretch Motion of the Earlier Activated Wall Represents the Pathophysiology of Mechanical Dyssynchrony in Single-Ventricle Anatomy
3. 学会等名 第56回日本小児循環器学会総会・学術集会
4. 発表年 2020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
---------	---------