

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08436

研究課題名（和文）急性心不全及び急性心筋梗塞後の予後予測因子としての血漿遊離DNAの臨床応用

研究課題名（英文）Clinical applications of plasma cell-free DNA as a predictor of prognosis after acute heart failure and myocardial infarction

研究代表者

河合 康幸（KAWAI, Yasuyuki）

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：40324157

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：急性心不全患者において血漿遊離DNA（cfDNA）がその予後予測に有用化検討するため、まず30人の急性心不全患者で心筋からcfDNAが放出されているかどうかを冠静脈洞と大動脈基部のcfDNA濃度差により検討したところ、18人が正の値（陽性群）、12人が負の値（陰性群）となった。組織学的検討から陽性群が陰性群より線維化が軽度であった。陽性群では心筋細胞のアポトーシスが生じており、線維化が生じる過程を反映している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性心不全患者において冠静脈洞と大動脈基部のcfDNA濃度差の検討から、cfDNAが心臓で産生されたものかどうか、またその臨床的意義は明らかにはならなかった。さらにcfDNAが負の値になる合理的な理由も説明ができなかった。したがってcfDNAが心疾患でどのような意義を持っているのかを今後さらに明らかにし、そのための研究方法を見出す必要がある。

研究成果の概要（英文）：The source of cell-free DNA (cfDNA) in patients with acute heart failure (AHF) is unknown. Therefore, we evaluated the transmyocardial arteriovenous differences of plasma cfDNA concentrations in patients with AHF. We enrolled 30 patients with AHF. Blood samples were obtained simultaneously at aortic root (AO) and at coronary sinus (CS). We evaluated the plasma levels of transmyocardial gradient of cfDNA concentration (Δ cfDNA). Myocardial samples were subjected to histological examination. The mean levels of Δ cfDNA in 18 patients were 3.1 ± 3.5 microg/ml (positive group), in the other 12 patients were -3.1 ± 2.4 microg/ml (negative group). In the histological evaluation, 7 of 18 patients (39%) in the positive group showed cardiac fibrosis, 9 of 12 patients (75%) in the negative group showed cardiac fibrosis. We postulated myocardial apoptosis is occurring in the positive group without cardiac fibrosis and gradually would cause cardiac fibrosis.

研究分野：循環器内科

キーワード：cell-free DNA acute heart failure apoptosis

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 本邦において急速な高齢化により、高齢者心不全の増加が問題となっている。急性・慢性心不全診療ガイドラインにも示されているように、急性心不全発症後、慢性心不全の急性増悪を繰り返し、終末期に至る。この要因の一つとして左室リモデリングの進行が考えられる。

最近、血液中に細胞死(アポトーシス)によって細胞から放出された遊離 DNA (cell free DNA: cfDNA) が、急性心筋梗塞、狭心症、心房細動等の心疾患患者において検出されることが研究分担者らによって報告された。急性心不全および急性心筋梗塞発症後の左室リモデリングの進展には、心筋細胞のアポトーシスがその一因として想定されている。

(2) 初年度は急性心不全患者において、予後予測因子として血漿遊離 DNA を活用するための予備研究として、血漿遊離 DNA が心筋から放出されているか否かを検討したが、冠静脈洞と大動脈基部の血漿遊離 DNA 濃度差から、心筋から放出されている明らかな確証を得ることができなかった。COVID-19 感染の影響から、急性心筋梗塞患者も減少しているため、心不全の一因となり患者数が比較的多い心房細動患者を対象にした。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、急性心不全患者において、cfDNA が簡便かつ有用な左室リモデリングのバイオマーカーになり得るか否かを明らかにすることである。そのためにも、急性心不全患者において、心筋から血漿 cfDNA が放出されているか否かを検討した。

(2) 心房細動患者の血漿遊離 DNA 濃度を検討することとした。また血漿遊離 DNA は、心筋細胞のアポトーシスを反映する可能性があることから、心筋のリモデリングを反映する左房径、左房容積との相関も検討した。

3. 研究の方法

(1) 30 人の急性心不全による初回入院患者を対象とした。BNP、トロポニン T および左室駆出率を測定した。心不全改善時に心臓カテーテル検査を行い、同時に中心静脈、大動脈基部、冠静脈洞からの採血および心筋生検を行った。心筋サンプルより組織学的評価を、血漿サンプルより cfDNA 濃度を測定した。

(2) 対象は、カテーテルアブレーション施行目的に入院した心房細動患者連続 40 人である。そのうち発作性心房細動患者 26 人 (PAf 群)、持続性心房細動患者 14 人 (Per-Af 群)、対象を失神や心室頻拍などで電気生理学的検査のみを行った洞調律患者 9 人 (Control 群) とした。すべての患者は、治療あるいは検査施行前に、大腿静脈シースから採血を施行された。これらの血漿サンプルより cfDNA 濃度を測定した。また全心房細動患者において血漿 cfDNA 濃度と左房径、左房容積、左房容積係数との相関を検討した。

4. 研究成果

(1) 冠静脈洞と大動脈基部の cfDNA 濃度差 (cfDNA) を算出したところ 18 人が正の値であり、その平均値は、 $3.1 \pm 3.5 \mu\text{g/ml}$ であった (陽性群)。逆に cfDNA が負の値になった患者は 12 人でその平均値は、 $-3.1 \pm 2.4 \mu\text{g/ml}$ であった (陰性群)。また陽性群、陰性群のそれぞれの cfDNA 濃度は 6.2 ± 3.8 、 $4.2 \pm 1.8 \mu\text{g/ml}$ と有意に陽性群で高値であった。陽性群と陰性群の相違は何によるのか検討したが、いずれのパラメーターとも相関がなかった。組織学的検討では、陽性群 18 人中、線維化を認めた患者が 7 人 (39%) に対して、陰性群 12 人中、線維化を認めた患者は 9 人 (75%) であった。当初、心不全患者においてはすべて心筋でアポトーシスを生じ、cfDNA が放出 (cfDNA が陽性) されるものと予想していたが、陽性患者は、30 人中 18 人であった。cfDNA が負になる意味は現時点で不明であるが、組織学的検討からは、陽性群が陰性群に比べ、統計学的有意差はないものの線維化の程度が軽度であることから、陽性群では心筋細胞のアポトーシスを生じており、将来、線維化が乗じる過程を反映しているのではないかと推察している。

(2) 各群における血漿 cfDNA 濃度の中間値は、それぞれ Paf 群 $2.75 (1.47-3.92) \mu\text{g/ml}$ 、Per-Af 群 $2.65 (1.76-3.14) \mu\text{g/ml}$ 、Control 群 $2.35 (1.27-2.55) \mu\text{g/ml}$ であった。これまでに報告されている健常者の血漿 cfDNA 濃度の中間値は、 $2.60 (1.57-4.02)$ であり、各群といずれも統計学的有意差はなかった。全心房細動患者において血漿 cfDNA 濃度と左房径 (mm)、左房容積 (ml)、左房容積係数 (ml/m^2) との相関を調べたところ、左房径、 $r=-0.0641 (P=0.686)$ 、左房容積、 $r=-0.3104 (P=0.051)$ 、左房容積係数、 $r=-0.1726 (P=0.268)$ であった。

心房細動患者において、血漿 cfDNA 濃度は、発作性、持続性にかかわらず健常者と同じレベルであった。また左房のリモデリングを反映すると考えられる左房容積と統計学的に有意ではないものの負の相関があり、血漿 cfDNA 濃度値が小さい程、左房容積は大きいとういことになる。したがって高い血漿 cfDNA 濃度は現在起こりつつある心房筋のアポトーシスを反映し、リモデリングが完成してしまえば、アポトーシスが起らないため血漿 cfDNA は低くなるのかもしれない。さらに患者数を増やして検討する必要があると考えられた。

<引用文献>

Fujihara J et al. Clin Chim Acta. 2019;497:61-66

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究結果報告内容にあるように、統計学的意義のある結果を出すことができず、学会発表や論文作成に至らなかった。

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
研究分担者	藤林 幸輔 (FUJIBAYASHI Kousuke) (10633323)	金沢医科大学・医学部・講師 (33303)	
研究分担者	藤原 純子 (FUJIHARA Junko) (20346381)	島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教 (15201)	
研究分担者	若狭 稔 (WAKASA Minoru) (50468980)	金沢医科大学・医学部・講師 (33303)	
研究分担者	竹下 治男 (TAKESHITA Haruo) (90292599)	島根大学・学術研究院医学・看護学系・教授 (15201)	

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
---------	---------