

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 24 年 4 月 3 日現在

機関番号：14301
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21590892
 研究課題名（和文） ウイルス性心筋炎・心筋症における心臓リンパ管新生調整因子による治療法の開発
 研究課題名（英文） Development of New Treatment Strategies for Viral Myocarditis and Cardiomyopathy with Lymphangiogenesis factors in the Heart
 研究代表者
 西尾 亮介（NISHIO RYOSUKE）
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号：00335275

研究成果の概要（和文）：経冠動脈的にアデノウイルスベクターを心臓へ導入するためのマイクロバルーンを用い、リンパ管新生インデューサーである VEGF-C^{156S} 及びリンパ管新生ブロッカーである VEGFR3-Fc の治療効果につきウイルス性心筋炎および心筋症モデルマウスにおいて検討した。臨床応用可能な心臓リンパ管新生調整因子による治療法をウイルス性心筋炎および心筋症モデルマウスにおいて確立し、発展させた。

研究成果の概要（英文）：We examined the effects of VEGF-C^{156S}, lymphangiogenesis inducer, and VEGFR3-Fc, lymphangiogenesis blocker, in murine models of viral myocarditis and cardiomyopathy with micro-catheters. We developed new treatment strategies for viral myocarditis and cardiomyopathy with lymphangiogenesis factors in the heart.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
21 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
22 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
23 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

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

① 近年、リンパ管新生因子 VEGF-C

(Vascular endothelial growth factor-C) やその受容体 VEGFR-3 といったリンパ管特異的な新生因子や受容体が発見され、21 世紀の今世紀になりようやくリンパ管のより詳細かつ正確な研究が可能となった。外科領域では、癌リンパ節転移を促す腫瘍リンパ管新生という病態とそれを予防する抗リンパ管新生療法や、リンパ浮腫とその治療としてのリンパ管新生療法などの研究がすすめられて

いる。

② VEGFR-3 ノックアウトマウスは血管の再構築の異常と心膜液貯留のため胎生 9.5 日で致死となる。リンパ管は閉鎖循環系の一部を担っており、血液はリンパ管を経て、リンパ節という重要な免疫の場を通過する。心筋の浮腫は心不全、心筋炎、高血圧症、心移植などの様々な病態と関連して認められる。この心筋浮腫の重要な成因の一つとして、心臓リンパ管は指摘されてきた。また、心臓浮腫は

収縮能、拡張能へ影響を与え、心機能障害との関連が指摘され、慢性的な浮腫は心臓の繊維化とも関連があると指摘されてきた。一方、近年、心臓疾患における免疫の関与の重要性が明らかとなってきた。心筋炎・心筋症といった心疾患では、心臓において免疫反応が誘導される。心疾患において免疫の関与は重要であり、心臓リンパ管は循環と免疫の双方にとり重要な役割を担っていることから、心疾患の病態にとって重要な関与が大いに予想された。ところが、今日まで、心臓リンパ管の誘導や存在および心疾患の病態に関する役割について、分子生物学的または免疫学的観点から行われた研究は皆無に等しかった。

③ 従来、心臓リンパ管に関する研究は、心臓または心筋内から色素を注入し、心臓リンパ管へ取り込ませる色素注入法が用いられてきた。しかし、この方法にはいくつかの重要な方法論的問題点があり、正確なリンパ管の同定は困難で、心臓におけるリンパ管を正確に捉えるために、他の方法が必要であった。そこで、我々はウイルス性心筋炎、心筋梗塞モデルマウスにおいてリンパ管を特異的に同定する抗 VEGF-R3 抗体および抗 Podoplanin 抗体を用い、心臓におけるリンパ管の存在を検討した。そして、世界で初めて心筋炎及び心筋梗塞モデルにおいて分子生物学的または免疫学的に心臓リンパ管の存在を明らかにした (Nishio R, et al. *Circulation*. 2006;114 suppl I: 185)。

2. 研究の目的

心臓リンパ管新生調整因子を用いた治療法の開発を目的とする。

開発に当たっては、生活の質を十分に考慮した実現可能な治療法の開発が不可欠と考えられる。臨床応用の段階では、アデノウイルスベクターの治療目的での使用の制限が予想され、さらに、用いるタンパク、遺伝子、成長因子等の性質を考慮すると、少なくともモニタリングとデリバリーの機能を備えた治療用デバイスによる心内膜または心外膜直下からのアプローチや、再生治療の応用も不可欠と考えられる。

3. 研究の方法

ウイルス性心筋炎・心筋症動物モデルおよび臨床データの解析から、心臓リンパ管新生調整因子による治療法を検討する。実現可能な療法とするため、治療用デバイスや再生治療法の応用も視野に入れる。

① 我々はウイルス性心筋炎及び拡張型心筋症モデルマウスにおいて、リンパ管を特異的に同定する抗 VEGF-R3 抗体および抗 Podoplanin 抗体により、心臓リンパ管の存在

を明らかとした。そこで、我々はモデルマウスを用い、ウイルス性心筋炎・心筋症の病態における心臓リンパ管新生調整因子の関与をさらに詳細に解析する。そして、各疾患モデルマウスにおける心臓リンパ管新生に関連する分子の発現についての検討をさらに加える。我々は独自の方法によりマウスにおいてコンダクタンスカテーテルを用い、左室圧容積関係から心機能評価を行っている。これらの技術・方法を用いて心機能との関連をさらに詳細に検討する。

② 心内膜心筋生検および剖検心病理組織標本、リアルタイム PCR 法等を用いた VEGF-C や VEGFR-3 等のリンパ管関連因子の発現の定量化、臨床上のパラメーターを用い、心筋炎・心筋症患者における心臓リンパ管の病態との関連の解明をさらに詳細に検討する。さらに、疾患における病期と心臓リンパ管形成との関連について詳細な検討を加える。動物モデルおよびヒト心臓組織から得られたデータより病態における心臓リンパ管の役割をより詳細に解明する。これらより、心筋炎・心筋症の心臓リンパ管新生療法及び抗心臓リンパ管療法の臨床応用を検討する。

③ 我々がこれまで行ってきた経冠動脈的にアデノウイルスベクターを心臓へ導入するためのマイクロバルーンなどを応用・発展させ、臨床応用を検討する。用いるタンパク、遺伝子、成長因子等の性質を考慮すると、少なくともモニタリングとデリバリーの機能を備えたデバイスによる心内膜または心外膜直下からのアプローチが不可欠と考えられる。同時に、経血管的・経リンパ管的アプローチが不可欠なため、微小管腔用デバイスの併用も視野に入れる。我々はマイクロテクノロジーを用い、マウスの心臓移植、心筋梗塞のモデルを作成し、経血管的に体重 17g の心不全モデルマウスの心機能の評価を行うことに成功している。マウスにおける安定した血行動態解析技術を持っている機関は当研究機関のみである。可能な限り低侵襲的であり、医療コストおよび患者本位の医療という両面から治療法を考慮していく。

4. 研究成果

① ウイルス性心筋炎・心筋症モデルマウスを用い、病態における心臓リンパ管新生調整因子の関与を詳細に解析した。心臓リンパ管新生に関連する分子の発現についての検討を加えた。コンダクタンスカテーテルを用い、心機能との関連を詳細に検討した。これらにより、心不全の病態における心臓リンパ管新生調整因子の関与が明らかとなった。

② 心内膜心筋生検および剖検心病理組織

標本および臨床上のパラメーターを用い、心不全患者における心臓リンパ管の病態との関連の解明を検討した。さらに、疾患における病期と心臓リンパ管形成との間連について検討を加えた。動物モデルおよびヒト心臓組織から得られたデータより病態における心臓リンパ管の役割をより詳細に解明した。これらより、心不全の心臓リンパ管新生療法及び抗心臓リンパ管療法の臨床応用を検討した。

③ 経冠動脈的にアデノウイルスベクターを心臓へ導入するためのマイクロバルーンなどを応用・発展させ、臨床応用を検討した。微小管腔用デバイスの併用も視野に入れた。可能な限り低侵襲的であり、医療コストおよび患者本位の医療という面から治療法を開発した。

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6件)

- ① JCS Joint Working Group, Guidelines for diagnosis and treatment of myocarditis (JCS 2009): digest version.、Circ J.、75、734-743、2011、有、PMID: 21304213
- ② Wang Y, Shimada M, Xu Y, Hu D, Nishio R, Matsumori A.; Role of substance P in viral myocarditis in mice.、Heart Vessels、25、348-352、2010、有、PMID: 20676845
- ③ Matsumori A, Nishio R, Nose Y.、Calcium channel blockers differentially modulate cytokine production by peripheral blood mononuclear cells.、Circ J.、74、567-571、2010、有、PMID: 20118567
- ④ Yui Y, Kodama K, Hirayama A, Nishio R, Iwanaga Y, Nonogi H, Haze K, Sumiyoshi T, Yui N, Hosoda S, Kawai C; Japan Multicenter Investigation for Cardiovascular Diseases B (JMIB-B) Study Group.、Reverse remodeling and improved function by antihypertensive treatment in hypertensive patients with coronary artery disease.、J Hypertens.、28、178-185、2009、有、PMID: 19927011
- ⑤ Nishio R, Matsumori A.、Gelsolin and cardiac myocyte apoptosis: a new target in the treatment of postinfarction remodeling.、Circ Res.、104、2009、有、PMID: 19359605
- ⑥ Sawada H, Oeda T, Yamamoto K, Kitagawa N, Mizuta E, Hosokawa R, Ohba M, Nishio

R, Yamakawa K, Takeuchi H, Shimohama S, Takahashi R, Kawamura T.、Diagnostic accuracy of cardiac metaiodobenzylguanidine scintigraphy in Parkinson disease.、Eur J Neurol.、16、174-82.、2009、有、PMID: 19146639

[学会発表] (計3件)

- ① Ryosuke Nishio, Hajime Kubo, Akira Matsumori、Role of Lymphangiogenesis Factors in Heart Diseases. World Congress of Cardiology Scientific Sessions 2010、June 19th、2010、China National Convention Center, Beijing, China
- ② Ryosuke Nishio, Hajime Kubo, Akira Matsumori、心疾患におけるリンパ管新生、第34回リンパ学会総会、平成22年6月26日、東京大学 山上会館 大会議室、東京
- ③ Ryosuke Nishio, Hajime Kubo, Kaoru Koike, Akira Matsumori、Effects of Lymphangiogenic Factors on Left Ventricular Function in Heart Diseases.、17th Asian Pacific Congress of Cardiology、May 21st、2009、Kyoto International Conference Center

[図書] (計9件)

- ① 西尾亮介、松森昭、総合医学社、「ER・ICUでの薬の使い方 Q&A~2011・12」 VI. 循環器疾患の緊急治療 26. 心筋炎/劇症型心筋炎、197-207、2011
- ② 西尾亮介、松森昭、東京医学社、「小児内科 心筋・心膜疾患の up to date」 I. 総論急性心筋炎の病態生理—とくにウイルス感染症における場合、673-679、2010
- ③ 西尾亮介、松森昭、羊土社、「循環器診療サビア 8 心不全の急性期対応」 4章: 心不全の原因疾患と急性期対応を知る D. (拡張型) 心筋症、232-239、2010
- ④ 西尾亮介、松森昭、科学評論社、「循環器内科」(第67巻第3号) 特集/循環器と他臓器疾患 5. 循環器と免疫、262-272、2010
- ⑤ 西尾亮介、松森昭、羊土社、診療に活かす心機能評価、実際の患者治療に心機能評価を取り入れる §1 収縮機能の低下 4. 二次性心筋症 (サルコイドーシス、アミロイドーシスなど)、181-193、2010
- ⑥ 西尾亮介、松森昭、南江堂、「循環器疾患最新の治療 2010-2011」 VI-4 拘束型心筋症、191-194、2010
- ⑦ 西尾亮介、松森昭、メジカルビュー社、月刊「Mebio」(2009年12月号) 心血管病の診断と治療におけるバイオマーカーの有

- 用性 トロポニン I 抗体、16-23、2009
- ⑧ 西尾亮介、松森昭、中外医学社、重症心不全の予防と治療 1 章 6. 感染症学から、43-50、2009
 - ⑨ 西尾亮介、メジカルビュー社、失神を究める IV—循環器疾患における失神の病態と治療を知る 3. 心筋症、160-169、2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西尾 亮介 (NISHIO RYOSUKE)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：00335275