

平成 30 年 6 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：2015～2017

課題番号：15K09104

研究課題名(和文)メタボリック症候群が心房細動の進行および血栓形成に与える影響

研究課題名(英文)Effect of metabolic syndrome on the remodeling and thrombosis formation of atrial fibrillation

研究代表者

奥村 恭男 (OKUMURA, Yasuo)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：20624159

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：メタボリック症候群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。高カロリー食を給餌し、高頻度心房刺激を行ったMetS-AF群および通常食に同様の刺激を行ったAF群は、通常食の給餌のみの対照群に比較し、左房・肺静脈不応期が短縮していた。心房細動持続時間は、対照群、AF群、MetS-AF群の順に延長し、同様に組織学では左房心筋内心外膜側を中心に脂肪浸潤が増加していた。線維化も同様の傾向を示したが統計的な差はなかった。脂肪浸潤の程度は不応期の短縮と関連していた。以上から、左房心筋内への脂肪浸潤が、心房細動リモデリングの進展に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To investigate the impact of obesity/metabolic syndrome on electrophysiologic and anatomical AF substrates, 15 dogs were divided into three groups. High-fat diet and rapid atrial pacing for 4-8 weeks (MetS-AF group, n=5), Rapid atrial pacing for 4-8 weeks with normal diet (AF group, n=5), and Normal diet without rapid atrial pacing (control group, n=5). Body weight was increased significantly in MetS-AF group than in AF and control groups. During electrophysiologic study, ERP of the left atrium (LA)/pulmonary veins (PVs) were shorter in MetS-AF group than AF group and control group. Histological examination showed extent of fatty infiltration with a small fibrotic change in epicardial LA increased in the MetS-AF group compared to AF and control groups. Shortening of LA/PVs-ERP was correlated with the extent of fatty infiltration. Our data suggest that fatty infiltration of the LA in the MetS-AF group plays an important role in the pathogenesis of AF.

研究分野：医歯薬学

キーワード：メタボリック症候群 心房細動 リモデリング 血栓形成 脂肪浸潤

1. 研究開始当初の背景

糖尿病、高血圧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) の進行に寄与するだけでなく、AF の合併症である脳塞栓症のリスクを上昇させる。しかし、メタボリック症候群により促進される心房筋の電氣的、構造的リモデリングや、脳塞栓症の発症の素地となる血栓形成の正確なメカニズムは明らかになっていない。

2. 研究の目的

メタボリック症候群イヌの高頻度心房頻拍モデルを作成し、メタボリック症候群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解明するとともに、脳塞栓症を引き起こす左心房血栓形成の機序を解明する。

3. 研究の方法

(1)メタボリック症候群による、AF 発症・維持に關与する電気生理学的、構造的リモデリングへの影響と左心房血栓形成の機序の解明

動物実験：ビーグル犬 15 頭を対象に高カロリー食を給与し、高頻度ペースメーカー刺激を行う群 (MetS-AF 群：5 頭)、通常食に高頻度ペースメーカー刺激を行う群 (AF 群5頭)、通常食を与えるのみの対照群(5 頭)に分けた。MetS-AF 群および AF 群は各給餌開始 16 週後にペースメーカー植込みを行い、4~8 週間高頻度心房ペーシングを行った。全例 20~24 週後、電気生理学的検査を行い、各心房、肺静脈の各領域の心内電位、不応期、右心耳からの心房連続刺激による AF の誘発性を評価した。安楽死後、組織学的検証を行った。

(2)メタボリック症候群および心外脂肪 (epicardial adipose tissue : EAT) と、アブレーション後の reverse atrial remodeling や AF 再発への関連性

臨床研究：カテーテルアブレーションを行った AF 患者 80 例を対象に、アブレーション 3 か月後に reverse atrial remodeling (RAR : 10%以上の心臓超音波で測定される左房容積の縮小)がみられた症例におけるメタボリック症候群や心臓超音波上 EAT 厚さの影響を評価した。また、アブレーション後の EAT 厚さの変化を調査した。

4. 研究成果

(1)対照群、AF 群および MetS-AF 群における各種指標の比較を表 1 に示す。体重と拡張期血圧は MetS-AF 群が他群と比較して高値を示したが、左房径、左室駆出率、左心耳流速に差はなかった。血液バイオマーカーは、MetS-AF 群で高インスリン血症を呈しており、D-dimer も他群に比較し高値であった。生理学的には MetS-AF 群、AF 群で左房・肺静脈不応期が有意に短縮していた。三次元マップ上の洞調律時の電位波高は、右房、左房で

MetS-AF 群、AF 群で低値であったが、肺静脈では 3 群間に差はなかった。右心耳からの 5 秒間の高頻度刺激での誘発による AF 持続時間は、対照群、AF 群、MetS-AF 群と段階的に延長していた(0.6±0.3 vs. 2.6±1 vs. 3.2±0.7 sec, P=0.0342)。組織学的検討では、対照群、AF 群、MetS-AF 群となるに従い、左房・肺静脈入口部の心房筋内に有意に脂肪浸潤が見られ、特に EAT から連続する心外膜側を主体にその傾向が強かった(心内膜側：1.2±0.2% vs. 2.4±1.1% vs. 3.6±0.8%, P=0.005 ; 心外膜側：4.5±1.1% vs. 5.8±2.1% vs. 18.7±2.4%, P<0.001)。左房・肺静脈における線維化は、対照群、AF 群、MetS-AF 群と段階的に増加していたが、全体にその分布は少なく有意な相違はなかった(2.7±0.3% vs. 2.9±0.3% vs. 3.9±1.2%, P=0.568)。全 15 例の左房・肺静脈の組織学的な脂肪浸潤の分布は、洞調律中の電位波高との関連性は認められなかったが、組織学的に一致した部位での不応期の短縮と中等度に相関していた(心内膜側：r = -0.40, P=0.0076 ; 心外膜側：r = -0.38, P=0.0117)。

表 1. 対照群、AF 群、MetS-AF 群の比較

	対照群 (n=5)	AF 群 (n=5)	MetS-AF 群 (n=5)	P 値
<b>体重 (kg)</b>	<b>12.8 [10.5-13.5]</b>	<b>10.5 [9.4-12.0]</b>	<b>17.0 [16.5-19]</b>	<b>&lt;0.0001</b>
収縮期血圧 (mmHg)	115 [95-125]	115 [94-127]	130 [104-145]	0.4798
<b>拡張期血圧 (mmHg)</b>	<b>68 [57-74]</b>	<b>68 [53-76]</b>	<b>80 [79-102]</b>	<b>0.0130</b>
平均左房圧 (mmHg)	10.7 [9.6-13.5]	10 [7.4-16.4]	14 [10.5-16.3]	0.2607
超音波指標				
左房径短径 (mm)	24 [22-26]	17 [16-25]	25 [22-26]	0.6714
左房径長径 (mm)	28 [25-30]	24 [18-30]	27 [25-31]	0.3871
左房容積 (cm <sup>3</sup> )	5.3 [4.5-6.7]	3.6 [2.0-5.7]	5.6 [4.5-6.9]	0.1845
左室中隔壁厚 (mm)	5.9 [5.6-6.8]	7.6 [5.2-7.8]	7.2 [5.4-10.5]	0.4299
左室後壁厚 (mm)	7.0 [5.0-8.7]	7.4 [6.8-9.2]	8.5 [7.7-9.1]	0.1086
左室駆出率 (%)	68 [65-66]	58 [65-82]	72 [66-83]	0.2248
左心耳血流速度	45 [38-46]	43 [33-43]	41 [31-57]	0.6544
血液バイオマーカー				
<b>Insulin (μU/mL)</b>	<b>6.9 [3.6-9.8]</b>	<b>5.4 [2.5-9.2]</b>	<b>15.8 [9.1-55.4]</b>	<b>0.0477</b>
Adiponectin (μg/mL)	3.0 [1.9- 4.4]	3.4 [1.8-4.4]	4.4 [3.4-6.6]	0.1819
Leptin (ng/mL)	0.8 [0.7-1.3]	0.8 [0.6-1.2]	0.7 [0.6-1.0]	0.7925
vWF (%)	92 [81-140]	59 [56-112]	86 [75-102]	0.4256

D-dimer (µg/mL)	0.27 [0.13-0.36]	0.35 [0.26-0.49]	0.48 [0.40-0.56]	0.0313
AT (ng/mL)	1 [0.8-2.8]	2.9 [1.5-3.7]	1.1 [1.0-3.0]	0.3615
電気生理学的指標				
全心房内伝導時間	63 [48-67]	58 [42-71]	57 [49-69]	0.9823
有効不応期 (ms)				
右房 (側壁, 右心耳)	168 ± 9	141 ± 17	146 ± 9	0.243
左房/肺静脈 (後壁, 左心耳, 左右上下肺静脈)				
	155 ± 8	121 ± 9	118 ± 8	0.003
電位波高 (mV)				
左房 (後壁, 中隔, 右心耳)	4.2 ± 0.3	4.2 ± 0.5	1.9 ± 0.3	<0.001
左房 (前壁, 後壁, 中隔, 肺静脈)	4.9 ± 0.4	5.4 ± 0.5	3.8 ± 0.4	0.0189
肺静脈 (右左上下)				
	4.2 ± 0.4	4.9 ± 0.6	4.1 ± 0.4	0.4552

AF を引き起こす心房の電気生理学的特性の変化は、心房不応期の短縮、心房不応期の刺激頻度依存性の低下、伝導速度の低下で説明され、心房内の興奮波長(興奮伝導速度 × 有効不応期)が短縮することで、AF を維持するためのリエントリー形成を促進につながると考えられる。このような AF を発生・維持させる初期の電気生理学的変化を電気的リモデリングと呼ぶが、本研究の AF 群、MetS-AF 群での AF 持続時間の延長は、全心房内伝導時間は 3 群間に差がないことから、主に左房、肺静脈における不応期の短縮が関与していると考えられる。この肺静脈の不応期の短縮には、いくつかの機序が考えられる。一つは、心房、肺静脈のストレッチである。MetS-AF 群では、拡張期血圧や平均左房圧が高値であり、この時相の圧力は直接心房、肺静脈壁にかかることから、これらの圧が組織のストレッチを反映していると考えられる。細胞外ストレッチによって伸展活性化チャネルが開くことで細胞内 Ca<sup>2+</sup>過負荷が起こる。この細胞内 Ca<sup>2+</sup>過負荷は、撃発活動や異常自動能を誘発して AF のトリガーを形成するとともに、Ca<sup>2+</sup>チャネルの不活化をきたし、有効不応期を短縮させてリエントリーを引き起こす。もう一つは、左房心筋内への脂肪浸潤の影響である。本研究では対照群に対し AF 群、MetS-AF 群で不応期が有意に短縮しており、組織学的に EAT から左房心筋内への脂肪浸潤の程度が段階的に高値を示し、MetS-AF 群の心外膜側にその傾向が強く見られた。さらに脂肪浸潤の程度が左房・肺静脈の不応期の短縮に有意に相関していた。近年、EAT の AF への役割が議論されている。羊モデルでの実験で、9 カ月の高カロリー食を与えた肥満モデルにおいて、左房後壁に EAT からの脂肪

浸潤が組織学的にみられ、線維化も進行していたと報告されている。また、別の羊モデルでは、AF モデル(平均 6 ヶ月の rapid atrial pacing)群で、EAT からの脂肪浸潤の grade が有意に高いと報告された。本研究では MetS-AF 群で線維化は軽微みられているのみであるので、線維化への関与は認められなかったが、心房壁への脂肪浸潤が不応期の短縮に影響を及ぼしている可能性が示唆された。EAT は局所の心筋に炎症や線維化を惹起するサイトカインを分泌すると言われている。また、臨床的にも肥満患者では炎症性サイトカインが高値であり、さらに炎症は AF 発症に関与していることは広く知られている。従って、MetS-AF 群では炎症が全身で亢進している可能性がある。炎症は Angiotensin (AT) 2 を上昇させ AT1 受容体に結合し、G タンパクを介して細胞内 Ca<sup>2+</sup>過負荷を引き起こすと同時に、AT 2 は IKs を増加させ、有効不応期を短縮させると報告されている。AF が数週間維持すると、心房筋の肥大や線維化、細胞死、心房の拡大といった構造的リモデリングが生じる。この構造的変化は不可逆的に心房内の伝導障害を引き起こし、AF の持続に重要な役割を果たしている。しかしながら、本研究では 3 群において心房内伝導時間の相違はなく、組織学的には MetS-AF 群においてもわずかな線維化のみであった。したがって、MetS-AF 群で見られた電気生理学的変化は、心房における電気的リモデリングを主に反映していると考えられる。本研究では、EAT を増加させ、構造的リモデリング進行させるには、さらに長期にわたる高脂肪食の給与やペーシングを行う必要があると考える。血栓形成の機序に関しては、段階的に対照群、AF 群、MetS-AF 群で D-dimer が高値を示したが、左心耳血流に差はなかった。MetS-AF 群は血液凝固能の亢進が示唆されると、その機序解明には今後予定している分子生物学的解析による裏付けが必要である。

(2) 80 例中 40 例に reverse atrial remodeling (RAR)が見られた。RAR の欠如はもともとの左房容積の小さい事に加え(24.3 ± 7.6 vs. 30.6 ± 11.0 mL/m<sup>2</sup>, P < 0.01)、メタボリック症候群(60% vs. 32%, P = 0.01)やその表現型である EAT の厚さと関連があった(4.45 ± 1.11 vs. 3.44 ± 0.61 mm, P < 0.001)。そのほかの指標に差は認められなかった。メタボリック症候群や EAT は AF の促進因子としてさらされていることから、背景に存在する心房筋障害や炎症が RAR を阻止する素地となっていることが示唆された。術後再発に関しては、406 (386-464)日の観察期間において、80 例中 13 例(16.3%)が再発した。再発群は CHADS<sub>2</sub> score が有意に低値であったが(1 [0-1] vs. 1 [0-2], P = 0.02)、RAR、メタボリック症候群、RAR 左房容積、EAT 厚さとの関連性は認めなかった。さらに再発、非再発群ともに、体重はアブレーション前、12 か月後に差を認めなかったが、非再発群は EAT 厚さ

が有意に短縮した(非再発群 3.98±1.02 mm から 3.45±1.00 mm, P=0.0002; 再発群 3.77±1.08 mm から 3.55±0.92 mm, P=0.53)。本研究では再発群が少ない事から、有用な関連因子は認められなかったが、非再発群では EAT の厚さが術後 12 か月で縮小した。これは術後の患者の食生活などの生活習慣の改善が EAT に良い影響を及ぼした可能性もあるが、体重に有意な差が認められないことから、アブレーションの直接的な影響の可能性もあり興味ある所見と考えられる。

#### 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 4 件)

Okumura Y (1 番目). Cardiac Arrhythmia Due to Epicardial Fat: Is It a Modifiable Risk? Current Cardiovascular Risk Reports, 査読有, 11(8), 2017, 23.

Yamaguchi N, Okumura Y (他 10 名, 2 番目). Clinical implications of serum adiponectin on progression of atrial fibrillation. Journal of Arrhythmia, 査読有, 33(6), 2017, 608-612 .

Takahashi K, Okumura Y (他 13 名, 2 番目). Anatomical proximity between ganglionated plexi and epicardial adipose tissue in the left atrium: implication for 3D reconstructed epicardial adipose tissue-based ablation. J Interv Card Electrophysiol. 査読有, Nov;47(2), 2016, 203-212.

Okumura Y. Inflammatory biomarkers in atrial fibrillation: are they linked to future outcomes?, Heart. 査読有, Apr;102(7), 2016, 487-9.

[学会発表](計 3 件)

Arai M, Okumura Y (他 12 名, 2 番目). Influence of Obesity on the Progression of Electrical and Structural Remodeling in a Canine Atrial Fibrillation Model. Heart Rhythm Scientific Sessions 2018, Boston, USA, 2018, May 9-12.

Monno K, Okumura Y (他 8 名, 2 番目). Importance of Epicardial Adipose Tissue on Reverse Atrial Remodeling After Atrial Fibrillation Ablation. The 82nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2018 年 3 月

Monno K, Okumura Y (他 10 名, 2 番目). Impact of the body mass index on reverse

atrial remodeling after atrial fibrillation ablation. The 81st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2017 年, 3 月

[図書](計 0 件)

[産業財産権] なし

[その他]

ホームページ等なし

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥村 恭男 (OKUMURA, Yasuo)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号: 20624159

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者 なし