

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09109

研究課題名(和文) 拡張期心不全の病態生理の解明と前臨床試験を見据えた新しい実験モデルの開発

研究課題名(英文) Exploratory study for clinical pathophysiology of heart failure with preserved ejection (HFpEF) and development for experimental model of HFpEF.

研究代表者

高濱 博幸 (Takahama, Hiroyuki)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医師

研究者番号：10570301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：収縮性の保持された心不全患者について病理組織学的な解析やBNP関連のバイオマーカーによる方法を用いて病態の検討を行った。上記患者の心筋生検組織を用いた検討では良好な免疫染色結果が得られ、現在統計学的解析を行っている。またBNP代謝関連では上記患者ではBNPの代謝の程度が拡張期心不全患者と収縮性の低下した心不全患者では差異がある可能性が示唆される結果が得られ学会報告を行った。さらにマイクロクロスフェアを冠動脈塞栓による実験モデルを作成し血行動態的な変化の詳細を現在も解析中である。慢性期の実験系の確立については今後アンジオテンシン負荷なども加味し慢性期の実験系確立をさらに目指す予定である。

研究成果の概要(英文)：We performed the histological analysis and the study using biomarkers such as B-type natriuretic peptide (BNP) for patients with heart failure with preserved ejection fraction (EF)(HFpEF). Immuno-histological staining for microvascular endothelium was successful. We are now performing statistical analysis for the microvascular density. Additionally, we found that bioactive BNP ratio differ between patients with HFpEF and heart failure with reduced EF, and reported it. Then, we tested the hypothesis that microvascular embolization into coronary artery was associated with diastolic function, and found some relationships. But since only microvascular embolization is insufficient for elevation in diastolic stiffness, and will continue to develop this finding to experimental HFpEF model in canine.

研究分野：循環器内科学

キーワード：拡張期心不全 BNP

1. 研究開始当初の背景

近年、拡張期心不全の病態概念についてパラダイムシフトが生じつつある。拡張期心不全は高血圧、糖尿病や肥満などの併存疾患をもつ症例が多いことが明らかになっており、また予後は併存疾患に依存することが知られている。最近の研究報告ではこれらの併存疾患は全身的な前炎症状態 pro-inflammatory state を惹起し冠血管内皮細胞から reactive oxygen species (ROS) 産生に関与することが報告されている。血管内皮細胞で産生された ROS は血管内皮細胞の一酸化窒素 (NO) の availability の低下や心筋細胞での PKG の低下をもたらす心筋肥大や passive stiffness の増大をもたらす (Paulus et al, *J Am Coll Cardiol* 2013)。また最近の海外からの報告では拡張期心不全患者における心臓における冠微小血管の量的異常が指摘されている。申請者の留学先施設であるメイヨークリニック・Redfield 研究室では 228 名の病理解剖検体 (124 名拡張期心不全 (HFpEF) 患者、104 名コントロール) において冠微小血管の免疫染色方法を用いた定量的評価を行った。その結果、HFpEF 患者における冠毛細血管密度の低下、および心内膜線維化との関連性を明らかとした (右図)。つまり冠微小血管の量的異常が拡張期心不全進展と重要な因果関係をもつことが示唆されている。一方、冠毛細血管密度と拡張機能を含めた生理学的指標との関連性は明らかではなく、本研究では病理解剖検体データベースから同様の評価を行い冠微小血管密度と心エコー図評価による生理学的指標との関連性を明らかにする。

バイオマーカによる評価 (BNP) :

またバイオマーカ、特に脳性利尿ペプチド (BNP) については左室の拡大が軽微である本疾患患者では病態との関連性に不明な点が残されている。近年、心不全発症に

より BNP 代謝系の異常が生じることが報告されており (Vodovar et al, *Eur Heart J* 2014)、本研究では当センターで最近可能となった BNP 個別分子測定を通じて更に詳細な代謝系の検討を合わせて行い心不全発症と BNP 代謝系の関連性についても検討を行う。

拡張期心不全大動物モデル: 拡張期心不全の成因として左室の stiffness の上昇が考えられるが、従来仮説に加え本研究では 1) 冠微小血管の量的低下から心内膜下の線維化を惹起が左室の ESPVR 上昇へ関与するとの研究仮説の検証を行う。すなわち臨床研究の検証結果を踏まえ前臨床試験を見据えた最適な動物実験モデルを確立することを目標とする。

2. 研究の目的

上記研究背景から臨床研究として冠毛細血管密度や BNP 等のバイオマーカと拡張機能を含めた生理学的指標との関係は明らかではなく本研究では以下の項目の検討を研究目標としてあげる。1) 当センターの病理解剖検体データベースを用いた冠微小血管密度と心臓エコー図等における生理学的指標との関連性、2) 拡張期心不全患者における BNP や血管老化や心不全発症に伴う炎症や液性因子の賦活化と生理学的指標との関連性、3) 上記の検証結果を踏まえ前臨床試験を見据えた最適な大動物実験モデルを研究期間内に確立すること。

3. 研究の方法

拡張期心不全患者の病理組織学的検討: 当院の病理部データベースより過去 10 年間 (2006 年から 2016 年) に心筋生検を実施した症例を抽出、EF を 50%以上、年齢 50 歳以上をカットオフクライテリアとすると心不全患者 (HFpEF) が 42 例、非心不全患者 35 例が抽出された。

上記について血管内皮に対する免疫染色を実施した (CD31 抗体)。CD31 抗体による染色性は良好であった。次に新たに導入した病理解析システム (Definiens Tissue Studio (DTS), Definiens®) により解析を実施した。

バイオマーカーを用いた検討

当センターであらたに開発した活性型 BNP の前駆体 (proBNP) の測定系を利用した。急性心不全患者に対し前向きに 190 例の血液検査を実施した。ProBNP については chemiluminescent enzyme immunoassay 方法により測定した。

動物実験モデル

麻酔開胸犬に対し左冠動脈にカテーテルをエンゲージし塞栓子 (根上工業株式会社) の注入を行う。平均粒子径 19 μ m, 45 μ m, 110 μ m の冠注を行う。心尖部よりアドミッタンスカテーテルを挿入する。ペーシングレート (120ppm) にてペーシングを行う。下大静脈を剥離しオクルーダ-により緩徐に静脈を閉塞させることで前負荷軽減法により圧容量曲線を記録する (ADVantage 社製: ADV500)。かかる方法で心筋収縮末期・拡張末期スティフネスと冠微小毛細血管径との関連性を明らかとする。さらに心エコーを用いて心筋層別の収縮拡張特性についても評価を行う。右室自由壁、中隔についても同様の評価を行う。

4. 研究成果

拡張期心不全患者の病理組織学的検討: 上記の DTS による解析を完了し現在、画像の確認や統計学的解析を行っている。左記の解析を完了後、学術集会や医学論文に結果を報告予定である。

バイオマーカーを用いた検討

BNP の代謝の程度が拡張期心不全患者と収縮性の低下した心不全患者では差異がある可能性が示唆される結果が得られ、学会報告を行った。つまり拡張期心不全患者では入院時は BNP 前駆体である proBNP が全体の BNP に占める割合 (%proBNP) が低値であり活性型 BNP の上昇が示唆される結果であった。これに対し収縮能の低下した心不全患者ではこのような結果は得られなかった。また収縮性の指標である左室駆出率と BNP 前駆体の総 BNP に占める割合について有意な関連性を認め International Journal of Cardiology 誌に平成 30 年に論文報告を行った。

動物実験モデル

急性期実験の結果、最適なマイクロスフェアの冠動脈投与量を確定した。マイクロスフェアの投与により End-diastolic pressure volume regression: EDPVR) の右上方へのシフトを確認し得た。しかし急性期のマイクロスフェアの投与効果は一定ではなく、慢性期の実験系の確立にはなお検討を要する。心内膜下の虚血負荷のみでは拡張機能に与える影響が不十分である可能性もあり、今後アンジオテンシン負荷なども加味し慢性期の実験系確立をさらに目指す予定である。

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 3 件)

1. Takahama H, Takashio S, Nishikimi T, Hayashi T, Nagai-Okatani C, Nakagawa Y, Amaki M, Ohara T, Hasegawa T, Sugano Y, Kanzaki H, Yasuda S, Kangawa K, Minamino N, Anzai T.

Ratio of pro-B-type natriuretic peptide (BNP) to total BNP is decreased in mild, but not severe, acute decompensated heart failure patients: A novel compensatory mechanism for acute heart failure.

Int J Cardiol. 2018; 258: 165-171.

2. Imazu M, Takahama H, Amaki M, Sugano Y, Ohara T, Hasegawa T, Kanzaki H, Anzai T, Mochizuki N, Asanuma H, Asakura M, Kitakaze M.

Use of serum fibroblast growth factor 23 vs. plasma B-type natriuretic peptide levels in assessing the pathophysiology of patients with heart failure.

Hypertension Research.2017;40:181-188.

3. Takahama H, Kitakaze M.

Pathophysiology of cardiorenal syndrome in patients with heart failure: Potential therapeutic targets.

Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2017 Oct 1;313(4):H715-H721.

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Takahama H, et al.

Impact of continuous reduction in B-type natriuretic peptide bioactivity during hospitalization in patients with advanced heart failure.

American Heart Association(国際学会)2017年

2. Takahama H, et al.

Molar ratio of N-terminal fragment of pro-B-type natriuretic peptide (BNP) to proBNP predicts occurrence of acute kidney injury in patients with acute heart failure

American Heart Association(国際学会)2017年

3. Takahama H, et al.

Association of ratio of proBNP to total BNP with heart failure severity: A novel compensatory mechanism for acute heart Failure.

日本循環器学会 2018年

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者 高濱 博幸

(Takahama, Hiroyuki)

国立研究開発法人・国立循環器病研究センター・病院・医師

研究者番号: 10570301

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者 安斉俊久

(Anzai, Toshihisa)

北海道大学大学院・医学研究院・教授

研究者番号: 60232089

北風政史

(Kitakaze, Masafumi)

国立研究開発法人・国立循環器病研究センター・研究開発基盤センター・部長

研究者番号: 20294069

南野直人

(Minamino, Naoto)

国立研究開発法人・国立循環器病研究センター・その他・部長

研究者番号: 50124839

植田初江

(Ueda, Hatsue)

国立研究開発法人・国立循環器病研究センター・病院・部長

研究者番号: 40522983

(4)研究協力者

()

