

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K21245

研究課題名(和文) 高血圧及び糖尿病合併心房細動における心脾連関

研究課題名(英文) Cardio-splenic interaction in atrial fibrillation with hypertension and diabetes

研究代表者

近藤 秀和 (Kondo, Hidekazu)

大分大学・医学部・病院特任助教

研究者番号：90724170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：圧負荷により生じる心房の炎症・線維化及び心房細動受攻性亢進における脾臓の役割を検討するために脾臓摘出が圧負荷誘発性の炎症・線維化を増悪させると仮説をたて検証を行った。6週齢の雄SDラットを擬似手術(Sham)+Sham群、Sham+脾臓摘出(SPX)、腹部大動脈縮窄術(AAC)+Sham群、AAC+SPX群に分け2、4、14、28日目に各種評価を行った。結果、脾摘は圧負荷誘発性の炎症・線維化、心房細動受攻性亢進を増悪させることが示唆され、脾臓由来IL-10の消失が主原因と判明した。

研究成果の概要(英文)：The role of the spleen in inflammatory atrial fibrosis induced by pressure overload is unknown. We investigated whether splenectomy (SPX) attenuates or exacerbates pressure overload-induced atrial inflammatory fibrosis and vulnerability to atrial fibrillation (AF) in rats. Male Sprague Dawley rats (6 weeks old) were divided into Sham+Sham, Sham+SPX, abdominal aortic constriction (AAC)+Sham, and AAC+SPX groups, and were evaluated for inflammation, fibrosis, and AF on days 2, 4, 14, and 28. ( $P<0.05$ ). As a results, SPX exacerbates AAC-induced inflammatory atrial fibrosis and increases vulnerability to AF after 4 weeks, likely due to the depletion of spleen-derived IL-10.

研究分野：循環器内科

キーワード：心房細動 圧負荷 脾臓 インターロイキン10 線維化

1. 研究開始当初の背景

心房細動の重要な危険因子として知られる高血圧症は、心房筋に対する持続的な圧負荷やレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系を活性化させることで心房における心房細動基質を形成する。糖尿病においては、諸説あるものの、酸化ストレスの増加が原因である可能性がある。酸化ストレスの増加はミトコンドリアの障害を引き起こし、心筋細胞のアポトーシスを誘導して最終的に心筋線維化を引き起こしていると考えられる。申請者らはストレプトゾトシン投与により作成した1型糖尿病モデルラットを用いて高血糖により生じる酸化ストレスの増加は血糖変動により更に増強され、心房細動の易誘発性につながることを報告した(業績3)。また最近、急性炎症に対する脾臓の役割が解明されてきている。急性心筋梗塞モデルマウスにおいて脾臓が炎症初期の単球誘導に関与しているとの報告がなされ、急性心筋梗塞時の脾臓の役割が明らかになってきた。そこで我々は心房細動と脾臓の連関を明らかにすることが、今後心房細動に対する新しい治療法・予防法の開発につながる可能性があると考えた。まず、圧負荷モデルラットである腹部大動脈縮窄術施行(AAC)ラット及び1型糖尿病モデルマウスであるストレプトゾトシン(STZ)投与マウスを用いて、心臓電気生理検査を行いこれらのモデルで心房細動易誘発性が認められることを確認した。更に、これらのモデルに併せて脾臓摘出を行うと心房細動受攻性が更に亢進し、心房細動持続時間が低下することが判明した(未発表)。更に我々は各群間において血清中の様々なサイトカイン濃度を測定したところ、AAC単独群、STZ投与単独群と比較し脾臓摘出を併せて行った群において抗炎症性サイトカインであるIL-10が有意に低下していることが判明した。

2. 研究の目的

我々は高血圧症患者及び糖尿病患者では、脾臓由来の抗炎症性サイトカインIL-10が心房細動発症に関して抑制的に働くこと仮説を立て、動物実験で検証を行った。

3. 研究の方法

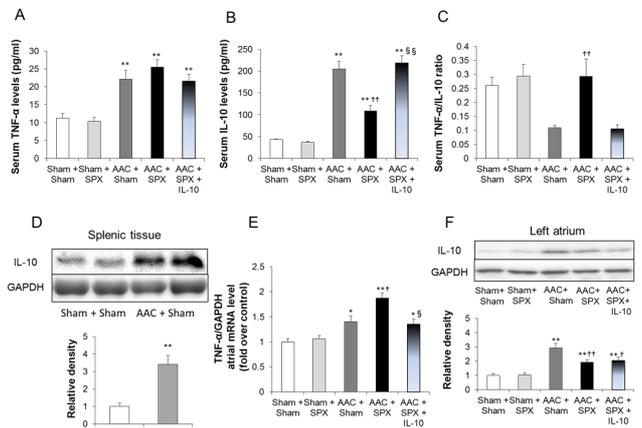
予備実験で得られた、AAC施行圧負荷モデルラット及びSTZ投与1型糖尿病モデルマウスに脾臓摘出を加えると心房細動易誘発性が更に亢進することの原因として、脾臓摘出により心房筋の構造的・電気生理学的変化が生じている可能性がある。そのため、心エコーによる心機能評価及びランゲンドルフ灌流装置を用いての摘出心での電気生理検査を行い、心房間伝導速度及び心房不応期を測定する。また、心房筋における炎症及び線維化の程度やコネキシンの発現の変化、不応期に関与するイオンチャネルの発現の変化を各種染色法、western blot法、PCR法を用いて解析する。血中のサイトカインレベルの変化もELISA法を用いて測定する。AACラット及

びSTZ投与マウスの脾臓を用いて各種免疫細胞の構成や活性をフローサイトメトリー法により解析する。また、予備実験で得られた結果をもとに、低下したIL-10の補充療法が脾臓摘出による生じる心房筋の変化を抑制するか検証する。

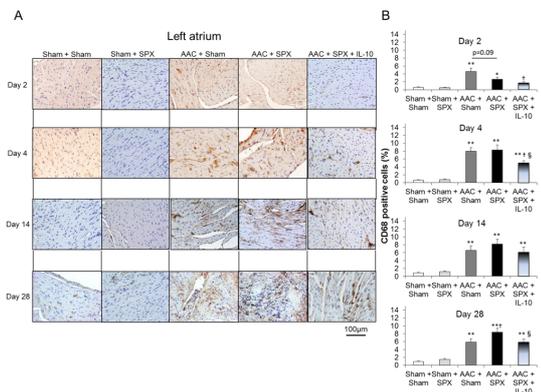
4. 研究成果

当初はSTZ投与マウスを用いた実験を行う予定であったが、AACラットを用いた実験の進行に時間がかかり、AACラットを用いた実験に集中して研究を行った。

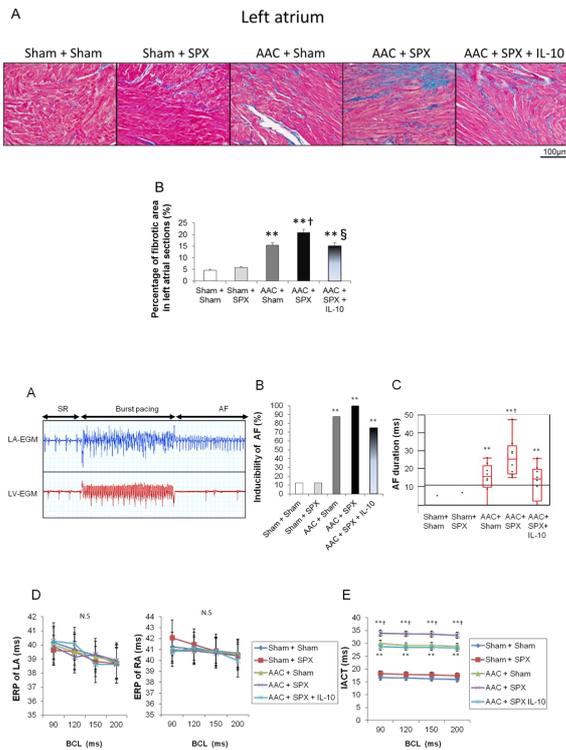
圧負荷4日目の時点で、疑似手術(Sham)+Sham群と比較しAAC+Sham群の方が脾臓、血中、左房組織におけるIL-10レベルは上昇した。しかし、脾摘(AAC+SPX)を併せて行うことで、血中及び左房組織のIL-10レベルは有意に低下した。



AACによる左房への総マクロファージ浸潤数は2日目の時点ではAAC+Sham群と比較しAAC+SPX群で抑制される傾向にあったが、28日目には逆に有意に増加していた。

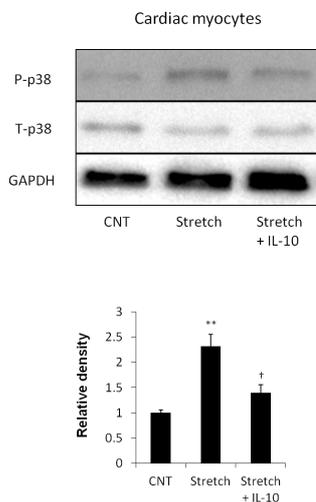


28 日目の時点において、AAC を施行した群で認められた左房間質の線維化及び心房細動誘発率・持続率は AAC+SPX 群で有意に増悪した。



AAC+SPX に IL-10 を投与した群では、AAC+SPX 群で認められた SPX による心臓への悪影響が有意に抑制されていた。

培養細胞へのストレッチ負荷では、心臓線維芽細胞において認められた  $\alpha$ -SMA・MCP-1 発現の亢進が IL-10 の投与で抑制された。心筋細胞においては p38-MAPK のリン酸化が IL-10 の投与で抑制された。



結論として脾摘は圧負荷誘発性の炎症・線維化、心房細動受攻性亢進を増悪させることが

示唆され、脾臓由来 IL-10 の消失が主原因と考えられた。

### 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 1 件)

Kondo H, Takahashi N, Gotoh K, Fukui A, Saito S, Aoki K, Kume O, Shinohara T, Teshima Y, Saikawa T. Splenectomy exacerbates atrial inflammatory fibrosis and vulnerability to atrial fibrillation induced by pressure overload in rats: Possible role of spleen-derived interleukin-10. **Heart Rhythm**. 2016 年 13 巻, 241-50, 査読有り  
doi: 10.1016/j.hrthm.2015.07.001

〔学会発表〕(計 1 件)

近藤 秀和, Splenectomy exacerbates atrial inflammatory fibrosis and vulnerability to atrial fibrillation induced by pressure-overload in rats - possible role of spleen-derived interleukin -10 -, 第 63 回日本不整脈心電学会学術総会, 2016 年 7 月 15 日, 札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 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 0 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

近藤 秀和 (Kondo Hidekazu)

大分大学・医学部・病院特任助教

研究者番号：90724170

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

( )