

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K09482

研究課題名(和文)再灌流障害抑制のためのヒート・コンディショニング法の開発

研究課題名(英文)Development of heat-conditioning method for suppressing reperfusion injury

研究代表者

竹内 利治 (Takeuchi, Toshiharu)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：10372278

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：急性心筋梗塞の再灌流療法時に、短時間の虚血と再灌流を繰り返すポストコンディショニングは梗塞サイズを縮小させ、その機序として熱ショック蛋白(HSP)の発現増強が関与していることを見出した。さらにHSP発現の増強がより期待できる温熱療法をポストコンディショニングに加えたヒート・コンディショニング法を開発して、心筋救済効果について検討した。初回急性心筋梗塞症例を対象にコントロール群とヒート・コンディショニング群の2群に無作為に割り付けた。ヒート・コンディショニング群では分離白血球中のHSP72発現量が増加し、心筋救済率は高く有効であ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

心筋梗塞の再灌流障害による致死性不整脈や重篤な微小循環障害が発生し、治療に難渋することは稀でない。ポストコンディショニングは再灌流障害の防止・梗塞サイズ縮小効果が期待でき、さらに温熱療法を組み合わせたヒート・コンディショニングは、技術的にシンプルであるため汎用性がある。またヒート・コンディショニングは新たなカテーテルデバイスや高価な薬剤を必要としないため、医療コストの抑制という観点からも優れている。本法の有効性が多数例で検証された場合、医療材料費の削減につながるものが期待され、本研究の臨床的意義は高いと考える。

研究成果の概要(英文)：We found that postconditioning with repeated brief ischemia and reperfusion during reperfusion therapy for acute myocardial infarction reduces infarct size, and that the enhanced expression of heat shock protein (HSP) is involved as a mechanism of this reduction. We further developed a heat conditioning method in which hyperthermia, which is expected to enhance HSP expression, is added to postconditioning, and investigated the effect of this method on myocardial salvage. Patients with first acute myocardial infarction were randomly assigned to two groups: a control group and a heat conditioning group. The heat-conditioning group showed increased HSP72 expression in isolated leukocytes, suggesting a high rate of myocardial salvage and possible efficacy.

研究分野：循環器内科学

キーワード：ヒートコンディショニング 再灌流障害 熱ショックタンパク 急性心筋梗塞 経皮的冠動脈インターベンション

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

急性心筋梗塞患者に対する再灌流療法は、予後改善のエビデンスが示され、現在広く行われている。しかし、その際に致死性不整脈や slow flow 現象を惹起してしまうことがあり、この再灌流障害抑制に対する問題は未解決のままである。臨床的プレコンディショニングである梗塞前狭心症は心筋傷害を軽減し、心機能保持に好影響をもたらすことが知られているが、われわれは梗塞前狭心症を有する患者でも、高血圧性肥大大心などの病的心では、心筋サルベージ効果が減弱することを報告した (Takeuchi T. *Circ J* 275: 1192-9, 2011)。これまでさまざまな薬理的プレコンディショニング (*Lancet*.27;370:1483-93, 2007)や、末梢保護・血栓吸引デバイス (*JAMA*. 293:9: 1063 -72, 2005)の有効性が検討されてきたが、いずれも再灌流障害抑制効果は認められず、決定打がないのが現状である。

動物実験において、長時間の冠閉塞後に短時間の虚血と再灌流を繰り返すポストコンディショニングは、強力な心保護効果をもたらすことが報告されている (*Am J Physiol*. 285:H579-88, 2003)。臨床では急性心筋梗塞患者のステント留置の際にポストコンディショニングを施行したところ、36%の梗塞サイズ縮小効果が認められた (*Circulation* 112:2143-48, 2005)。我々も同様の検討を行ったところ、CPK 総和値の低下、再灌流不整脈の減少を認め、これまで検討された“modified reperfusion”の中で最も有効な方法であることが示唆された。そして注目すべきことは、梗塞前狭心症を有する症例ではポストコンディショニングにより CPK 量が 42%低下し、慢性期の心筋サルベージ率は 26%増加した。これはプレコンディショニングの上乗せ効果と考えられた。

熱ショック蛋白(HSP)は、生体が熱刺激や低酸素などのストレスに曝されると合成される蛋白であり、特に HSP70s は心保護的に作用する。我々は心筋梗塞再灌流療法時の白血球中 HSP72 の発現量が CPK 量と逆相関し、遠隔期の左室駆出率(LVEF)と正相関することを見出した (図 3) (*Circulation* 104: II-651, 2001(abstract))。すなわち HSP72 は心筋虚血・再灌流障害に対する虚血耐性を上昇させ、梗塞サイズ縮小・心機能回復を促進させる機能を有している。

急性心筋梗塞の再灌流療法前後で白血球中の HSP72 の発現量を測定し、ポストコンディショニングの機序として HSP72 を介する心保護効果について検討した。梗塞前狭心症を有すると再灌流前より HSP72 の発現量が高値であったが、梗塞前狭心症を有さなくても、ポストコンディショニングを施行すると、HSP72 の発現量は再灌流前に比し 13.9 倍も著明な上昇を見せた。すなわち、ポストコンディショニングは HSP72 の発現を増加させ、再灌流障害抑制および心保護効果をもたらすことが示された。

2. 研究の目的

われわれはポストコンディショニングの心保護効果が HSP 発現の増強によるという新しい知見を得て、ポストコンディショニングに温熱療法を組み合わせた“ヒート・コンディショニング法”を考案した。本法は簡便ながら確実に強力な心保護効果が期待できるため、早急に標準的手法の確立が必要と考える。さらにヒート・コンディショニングによる梗塞サイズの縮小効果や心機能回復効果について HSP72, HSP73 との関連を検討し、その機序の解明にも努めたい。

ヒート・コンディショニング法が急性心筋梗塞患者の予後改善に優れた治療法となるように開発をすすめ、その機序を解明することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

① 対象: 当院に救急搬送された初回急性心筋梗塞症例で、発症 12 時間以内に冠動脈造影(CAG)およびカテーテルインターベンション治療を行う予定の症例を対象とする。急性心筋梗塞の診断は 30 分以上持続する胸痛、標準 12 誘導心電図にて隣接する 2 誘導以上で 1mm 以上の ST 上昇、正常上限の 2 倍以上の creatine kinase の上昇により判定する。心筋梗塞の既往、心原性ショック、冠動脈バイパス手術施行症例は除外する。これらの対象をコントロール群とヒート・コンディショニング群の 2 群に無作為に割り付けをする。

② ヒート・コンディショニングの方法:

(1) 温熱療法

カテーテル検査室に入室した時点より手技を開始する。両下腿～足部をスマーティレッグホット(フジカ社製)を用いて 40 分間加温(40～42℃)する。この間に、カテーテル検査の準備、消毒、シース挿入、冠動脈造影、カテーテル治療の手順で行い、再灌流治療の遅れがないように心がける。

(2) ポストコンディショニング

血栓吸引療法や血栓溶解療法は行わず、直接バルーンによる拡張を行い、その後 1 分以内(約 30 秒)の再灌流と 1 分間のバルーン拡張を 4 回繰り返し、最終的に適切なサイズのステントを留置する。

③ 評価方法

(1) 標準 12 誘導心電図(ST resolution): 来院時と再灌流 1 時間後と 24 時間後の標準 12 誘導心電図について、J 点から 20ms 後の ST 上昇の総和を測定し(前壁の場合: I, aVL, V1-6、非前壁の場合: II, III, aVF, V5-6)、ST レベル減少率を算出する。

(2) 生化学検査:

・creatine kinase(CK): 再灌流直後から 24 時間までは 4 時間毎、以後 72 時間まで 6 時間毎に CK を測定する。さらにこのデータをプロットし、CK 値曲線下面積(CK-AUC)を算出する。

・HSP72, HSP73 活性: 再灌流前、再灌流直後から 24 時間までは 4 時間毎、以後 72 時間まで採血を行い、分離白血球中の HSP72, HSP73 発現量を測定する。測定には HSP72, HSP73 抗体(DAKO 社 kit)およびフローサイトメトリー法を用いて定量的に評価をする。

(3) 冠動脈造影(CAG), 左室造影(LVG): 梗塞責任血管の血流は DICOM ビューワを用いて TIMI frame count を算出し、slow flow の程度を評価する。また van't Hof らの報告(*Circulation* 1998; 97; 2302-6)に基づき、再灌流後の CAG の心筋染影の程度によって評価する myocardial blush grade で心筋微小循環障害を評価する。4 週間後の亜急性期と 6 カ月後の慢性期 LVG を施行する。左心機能解析ソフトを用いて、左室駆出率(LVEF)は右前斜位 30° で area-length 法にて算出する。

(4) 心臓核医学(TL, BMIPP): 発症後 1 週間以内に 2 日以上の間隔をあけて、²⁰¹Tl (TL) SPECT と ¹²³I-BMIPP (BMIPP) SPECT を撮像し、さらに 6 か月後と 1 年後に TL を撮像する。得られた SPECT は短軸断層像および長軸断層像より 17 セグメントに分割し、TL の集積異常は視覚的に 0～3 の 4 段階でスコア化し(0; 正常、1; 軽度集積低下、2; 中等度集積低下、3; 高度集積低下または欠損)、各セグメントのスコアの総和を TL defect score とする。心筋救済率は risk area を BMIPP の集積低下領域と仮定し、その区域内における TL の集積度として次に示す計算式で算出する。さらに TL では QGS により、LVEF などの左心機能も評価する。

*心筋救済率= $\{1-(\text{TL defect score}/\text{BMIPP 集積低下区域数} \times 3)\} \times 100(\%)$

(5) 心臓 MRI: 発症後 14 日以内と 6 か月後にガドリニウム造影 MRI を施行する。遅延ガドリニウム造影 (LGE) 部位の分布を左室基部、中部、心尖部の各短軸像を、前壁・中隔・下壁・側壁に分割し、12 分画で LGE の壁内深度を 1~4 の 4 段階でスコア化し、各セグメントのスコアの総和を total LGE として算出する。

④ 評価項目

下記の評価項目に対し、コントロール群とヒート・コンディショニング群との比較検討を行う。

- (1) 梗塞サイズ: ①CK-AUC、②TL と BMIPP から算出した心筋救済率、③心臓 MRI の total LGE。
- (2) 左心機能: ①LVG より算出した LVEF と左室局所壁運動、②TL の QGS から算出した LVEF。
- (3) 再灌流障害: ①VT・Vf などの再灌流性不整脈の発生、②ST 再上昇。
- (4) 微小循環障害: ①TIMI flame count、②complete ST resolution、③myocardial blush grade。
- (5) 予後: ①全死亡、②心臓死、③急性冠症候群の発生、④心不全の発症、⑤血行再建術の施行。

⇒(1)~(5)の評価項目と HSP72、HSP73 発現量との関連を明らかにする。

4. 研究成果

患者背景はコントロール群とヒート・コンディショニング群の両群で差は認めなかった。再灌流療法前の白血球中の HSP72 および HSP73 発現量は、コントロール群とヒート・コンディショニング群の両群で差は認めなかったが、以前我々が報告した結果と同様に梗塞前狭心症を有する症例では、虚血プレコンディショニング効果により HSP72、HSP73 の発現量は有意な増加を示していた。また再灌流療法前後での HSP72、HSP73 発現量を比較した結果、再灌流前に比し再灌流後のピーク値は、ヒート・コンディショニングを施行することにより 7 倍に増加した。梗塞サイズ、左心機能、微小循環障害の各指標には両群で差を認めなかったが、電氣的除細動を要する VT・Vf といった再灌流不整脈の出現はハイブリッド・コンディショニング群では認めなかった。

ヒート・コンディショニング法は HSP72、HSP73 の発現を増加させ、再灌流障害抑制をもたらすことが示されたが、その方法には問題点もあり、ポストコンディショニング単独以上の有用性は示すことができず、今後更なる検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakagawa Naoki, Sato Nobuyuki, Saijo Yasuaki, Morimoto Hideo, Koyama Satoshi, Ogawa Yuji, Uekita Kazumi, Maruyama Junichi, Ohta Takafumi, Nakamura Yasuhiro, Takeuchi Toshiharu, Hasebe Naoyuki, the ASAHI AI investigators	4. 巻 22
2. 論文標題 Assessment of suitable antihypertensive therapies: Combination with high dose amlodipine/irbesartan vs triple combination with amlodipine/irbesartan/indapamide (ASAHI AI study)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Hypertension	6. 最初と最後の頁 1577 ~ 1584
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jch.13977	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakuma Hirofumi, Nakagawa Naoki, Horiuchi Kiwamu, Hayasaka Taiki, Maruyama Keisuke, Sawada Jun, Minoshima Akiho, Fujino Takayuki, Takeuchi Toshiharu, Sato Nobuyuki, Osanai Shinobu, Hasebe Naoyuki	4. 巻 22
2. 論文標題 Comparison between unattended automated office blood pressure and conventional office blood pressure under the environment of health checkup among Japanese general population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Hypertension	6. 最初と最後の頁 1800 ~ 1806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jch.14008	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawaguchi Satoshi, Hasebe Tomomi, Ohta Hisanobu, Kikuchi Asami, Asanome Akira, Nishiura Takeshi, Sakamoto Naka, Tanabe Yasuko, Takeuchi Toshiharu, Sato Nobuyuki, Kawamura Yuichiro, Hasebe Naoyuki	4. 巻 60
2. 論文標題 Acute Myocardial Infarction in a 17-year-old High-school Girl	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 259 ~ 263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.5437-20	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakagawa Naoki, Sawada Jun, Sakamoto Naka, Takeuchi Toshiharu, Takahashi Fumihiko, Maruyama Jun-ich, Momosaki Ken, Nakamura Kimitoshi, Endo Fumio, Hasebe Naoyuki	4. 巻 64
2. 論文標題 High-risk screening for Anderson?Fabry disease in patients with cardiac, renal, or neurological manifestations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 891 ~ 898
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-019-0633-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitani Yuya, Nakagawa Naoki, Sakamoto Naka, Takeuchi Toshiharu, Takahashi Fumihiko, Momosaki Ken, Nakamura Kimitoshi, Endo Fumio, Maruyama Hiroki, Hasebe Naoyuki	4. 巻 83
2. 論文標題 Unexpectedly High Prevalence of Coronary Spastic Angina in Patients With Anderson-Fabry Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 481 ~ 484
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-18-0734	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitani Yuya, Nakagawa Naoki, Sakamoto Naka, Takeuchi Toshiharu, Takahashi Fumihiko, Momosaki Ken, Nakamura Kimitoshi, Endo Fumio, Maruyama Hiroki, Hasebe Naoyuki	4. 巻 83
2. 論文標題 Unexpectedly High Prevalence of Coronary Spastic Angina in Patients With Anderson-Fabry Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 481 ~ 484
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-18-0734	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyake Keisuke, Kikuchi Shinsuke, Kitani Yuya, Koya Atsuhiko, Takeuchi Toshiharu, Hasebe Naoyuki, Sawa Yoshiki, Azuma Nobuyoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Successful Simultaneous Revascularization for Acute Limb Ischemia and Concomitant Acute Myocardial Infarction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Vascular Diseases	6. 最初と最後の頁 361 ~ 364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3400/avd.cr.18-00059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Tsukasa, Kawamura Yuichiro, Sato Nobuyuki, Sugiyama Eitaro, Okada Motoi, Takeuchi Toshiharu, Akasaka Kazumi, Hasebe Naoyuki	4. 巻 27
2. 論文標題 Cerebral Microbleeds Remain for Nine Years: A Prospective Study with Yearly Magnetic Resonance Imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 315 ~ 320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.09.001	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Tsukasa, Kawamura Yuichiro, Sato Nobuyuki, Sugiyama Eitaro, Okada Motoi, Takeuchi Toshiharu, Akasaka Kazumi, Hasebe Naoyuki	4. 巻 27
2. 論文標題 Cerebral Microbleeds Remain for Nine Years: A Prospective Study with Yearly Magnetic Resonance Imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 315 ~ 320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.09.001	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Takeuchi T, Kitani Y, Minoshima A, Hasebe N
2. 発表標題 Ischemic Post-conditioning Enhances Induction of Cardioprotective Heat Shock Protein 72 in Patients with Acute Myocardial Infarction
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2018 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	長谷部 直幸 (Hasebe Naoyuki) (30192272)	旭川医科大学・医学部・特任教授 (10107)	

6. 研究組織（つづき）

	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	藪島 暁帆 (Minoshima Akiho) (90645962)	旭川医科大学・医学部・助教 (10107)	
研究分担者	木谷 祐也 (Kitani Yuya) (10804809)	旭川医科大学・医学部・特任助教 (10107)	

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