

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09528

研究課題名(和文) 組織化学的視点からみた左室流出路狭窄を伴う大動脈弁狭窄に対するモロ一手術の有用性

研究課題名(英文) Septal myectomy for the patients with hypertrophic myocardium enhances improvement of focal cardiac function

研究代表者

桑木 賢次 (Kuwaki, Kenji)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90398313

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)：心筋症や大動脈弁疾患などに心室中隔の肥厚が合併し、流出路狭窄が高度の場合には切除の適応となる。切除後の心機能が予想以上に大きく改善することもありその機序を解明した。大動脈弁疾患に伴い、中隔切除併施群と非併施群を比較したところ、中隔切除群は有意に高齢かつ女性が多く、また高血圧の合併や術前左室機能が高い症例が多いことから、心筋への圧ストレスに加えて性差が関与している可能性が示唆された。組織学的解析では高度の線維化肥厚が見られた。さらに心臓超音波検査で術前後の心機能を比較したところ、切除群で中隔基部の局所の動きが改善しており、線維化した組織の切除による心機能改善効果が得られることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大動脈弁疾患は高齢化や動脈硬化性疾患の増加に伴い増加の一途である。これまで大動脈弁疾患に合併する左室流出路狭窄は、左室内圧較差が高度な場合にのみ切除の適応とされていた。今回の我々の研究では、肥厚した組織には高度の線維化組織がほぼ全例で認められており、この高架下組織が心機能障害につながっている可能性が示唆された。これを切除することによって組織の収縮性が回復することから、心筋切除の新たな治療適応の一指針となる可能性が示唆されるとともに、心不全への進展予防にもつながることが期待された。

研究成果の概要(英文)：The patients with severe left ventricular outflow tract obstruction, which occurred by hypertrophic cardiomyopathy or aortic valve disease was indication for septal myectomy (SEP). The cardiac function after myectomy showed often more improvement than expected. In or results, the patients who received SEP were significantly higher age and more women population. In addition, more preoperative history of hypertension and higher left ventricular ejection fraction, suggesting that hypertrophy was induced not only by the mechanical stress, but gender difference might also be related. By the histological analysis, the dissected myocardium involved severe fibrotic change on the surface of the endocardium. Echocardiogram revealed that better contraction recovery at the basal-septal area where myocardium was resected. These results indicated that removal of the fibrotic tissue by the myectomy enhanced the improvement of the cardiac function in the patients with hypertrophic myocardium.

研究分野：大動脈弁疾患

キーワード：心室中隔肥厚 線維化 中隔切除 大動脈弁狭窄

1. 研究開始当初の背景

動脈硬化性疾患は、メタボリック症候群や高齢化に伴い増加している。大動脈弁狭窄症も弁尖の石灰化などによる可動性障害が病態として多く、これらの患者数も増加の一途である。大動脈弁狭窄が進行すると心筋への圧負荷の増大から徐々に左室心筋が肥厚、重症例では流出路狭窄を来していることも稀ではない。有症状の重症大動脈弁狭窄に対しては弁置換手術が第一選択となるが、それに加えて左室壁肥厚による左室流出路狭窄が進行している症例では左室心筋の切除による狭窄解除が行われる。心筋切除症例では術後の心機能の改善が見られることが多く、これは狭窄解除による血行動動的な心筋負荷軽減効果が主因ではないかと考えられている。

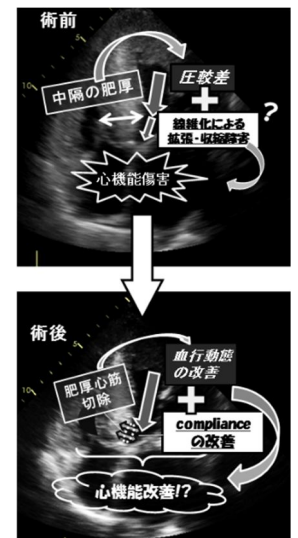
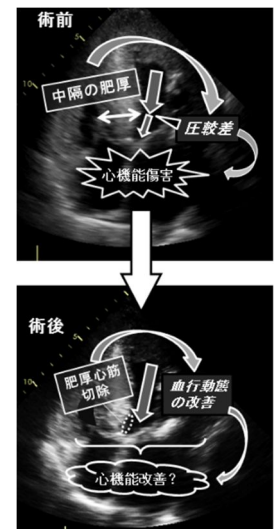
一方で切除した心筋組織はさほど大きくない症例においても、術後心機能が予想以上に改善するケースがみられる。このような症例では心エコー上、切除部位の動きの改善が顕著である。他方、同等に切除を行い術後の左室内圧較差が改善しても、心筋収縮能の改善があまり見られない症例もある一定数存在する。このことは、切除による心機能改善は単なる狭窄解除による血行動態の改善効果のみではなく、肥厚した心筋組織そのものにおける要因も含まれていることを示唆している。これらの事実から、流出路の肥厚心筋は単なる心筋細胞の肥大ではなく収縮障害を引き起こすような組織学的リモデリングも同時に起きているのではないかと考えた。すなわち、圧負荷による心筋細胞の肥大化に加え、内膜細胞の線維化および肥厚などの組織学的変化が起こり、これが心筋細胞のコンプライアンスを低下させ、局所からの心機能低下をひき起こしているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

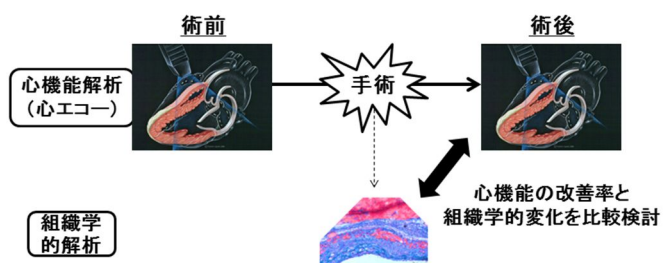
この仮説を証明するため、2つの比較検討を計画した。まずは (a) 心筋切除併施群において心エコーによる心機能評価と切除心筋の組織学的特徴との関連性を比較検討、(b) 中隔切除を行っていない群において同様に術前・術後の心機能 (LVEF) および中隔の動きの比較検討。

心筋切除群では、切除前と切除後の心機能 (局所心筋の収縮能) を心エコーによるストレイン解析法を用いて壁運動の改善率を定量化する。次に実際に削除された心筋組織を解析、その組織に含まれる線維化組織の割合を定量化する。これら2つの指標を比較検討することにより、組織の切除がどの程度術後の心筋収縮能の改善に寄与したかを評価する。

次いで左室切除を行っていない症例に対し同様に心エコーを施行。術前・術後を比較することにより、左心機能の改善や局所中隔の動きの改善が弁膜症の解除が主要因なのか、それとも肥厚 (線維化) 心筋の切除そのものがやはり一定の寄与をしているのかを明らかにする。



また、リモデリングをおこした心筋の組織学的変化を術前からエコーによって評価できるかどうかの可能性を探るため、心エコーによる輝度や組織ドプラーと繊維組織との関連性を検証し、術前における手術適応の新たな評価指標とすることを目標とする。これに加えて得られた心筋はどのような変化を起こしているのかを検討するためストレス応答タンパクを中心にこれを解析し、大動脈弁狭窄における心筋肥大の病態およびメカニズムの解明も試みる。



3. 研究の方法

これまでに大動脈弁置換術を施行された症例において、中隔切除を伴う群と伴わない群に分類する。これらの2群において患者背景を比較検討し、どのような症例が中隔肥厚を伴いやすいかを抽出する。

組織学的解析

術中に得られた組織は10%ホルマリン溶液に浸透させ病理に提出している。病理ですでに解析が終了したパラフィン切片を3μmの厚さで切り出し、マッソントリクローム染色を行った。染色後に内膜の厚さおよびそこに含まれる膠原繊維の割合を解析ソフトを用いて定量化する。

これらの値と心筋の肥厚とにどのような相関があるかを重回帰分析にて検討を行い、組織に影響する因子を特定する。

心機能解析

術前の直近に行った心エコーデータおよび術後3か月の心エコーデータを用いる。エコーデータを解析ソフトを用いて左室を心尖部、心基部、中間部の3領域についてそれぞれ前壁(A)、下壁(I)、側壁(L)、後壁(P)および中隔(S)領域についてストレイン解析を行い、術前・術後で比較検討を行う。

4. 研究成果

2010年から2019年の間に当院において開心術中に中隔切除を施行された症例(SEP群)は68例であった。これらを同時期に中隔切除を伴わない大動脈弁置換術を行った882例(AVR群)と比較した。なお両群とも僧帽弁や大動脈置換術、冠動脈バイパス術を含む複合手術を含んだ。平均年齢はAVR vs SEP = 70.5 ± 11.2 vs 74.9 ± 7.1[歳] (p < 0.01)、女性の割合はAVR vs SEP = 43.4% vs 75.0%, (p < 0.01)とSEP群で有意に高齢かつ女性が多かった。一方で平均BMIはAVR vs SEP = 23.0 ± 3.7 vs 23.2 ± 4.1 (p = 0.062)で差はなかった。体格に差は見られないことから、女性には心筋肥厚の原因となりやすい素因がある可能性が考えられた。術前合併症では高血圧: AVR vs SEP = 66.1% vs 77.9% (p < 0.05)、糖

尿病：AVR vs SEP = 24.5% vs 22.1% ($p = 0.769$)、脂質異常症：AVR vs SEP = 44.2% vs 66.2% ($p < 0.01$)と SEP 群で高血圧と脂質異常症が有意に多かった。これは SEP 群が高齢であるとともに、心筋肥厚を引き起こす要因として心筋への圧ストレスが大きく寄与している可能性が考えられた。術前の採血データの比較では白血球数：AVR vs SEP = 5491 ± 1582 vs 5306 ± 1308 [個/ μ L] ($p = 0.276$)、CRP 値：AVR vs SEP = 0.3 ± 0.7 vs 0.2 ± 0.3 [mg/dL] ($p = 0.522$)、ヘモグロビン：AVR vs SEP = 12.9 ± 1.8 vs 12.7 ± 1.6 [g/dL] ($p = 0.462$)、アルブミン：AVR vs SEP = 4.0 ± 0.4 vs 4.0 ± 0.4 [g/dL] ($p = 0.598$)と炎症、貧血や栄養状態に差はなかった。肝機能は AST：AVR vs SEP = 22.5 ± 11.0 vs 20.8 ± 6.1 [U/L] ($p = 0.193$)、ALT：AVR vs SEP = 18.3 ± 13.4 vs 15.8 ± 5.9 [U/L] ($p < 0.01$)、GTP：AVR vs SEP = 34.6 ± 36.5 vs 24.0 ± 16.1 [U/L] ($p < 0.01$)と AST には差はなかったものの ALT および GTP は AVR 群で有意に高かった。後述する心不全の指標などには差はなかったが、心不全の急性増悪症例などにおける肝うっ血などの影響が考えられる。術前からの血液透析導入症例の割合は AVR vs SEP = 12.0% vs 4.4% ($p = 0.102$)と有意差はないものの SEP 群で少ない傾向が見られ、血清クレアチニン値は AVR vs SEP = 1.8 ± 2.6 vs 1.2 ± 1.9 [mg/dL] ($p < 0.05$)と有意に SEP 群で低かった。血清クレアチニンキナーゼ：AVR vs SEP = 92.5 ± 66.8 vs 85.9 ± 58.0 [U/L] ($p = 0.434$)、LDH：AVR vs SEP = 207.5 ± 48.5 vs 213.3 ± 48.4 [U/L] ($p = 0.339$)と差は見られなかった。脂質代謝において総コレステロール：AVR vs SEP = 181.4 ± 33.0 vs 188.5 ± 30.2 [mg/dL] ($p = 0.090$)、HDL-c：AVR vs SEP = 55.2 ± 32.9 vs 57.5 ± 14.1 [mg/dL] ($p = 0.590$)、LDL-c：AVR vs SEP = 102.4 ± 28.0 vs 107.6 ± 28.8 [mg/dL] ($p = 0.151$)、中性脂肪：AVR vs SEP = 112.5 ± 63.3 vs 107.6 ± 28.8 [mg/dL] ($p = 0.542$)といずれにも差は見られなかった。甲状腺ホルモンでは TSH：AVR vs SEP = 2.89 ± 4.7 vs 2.4 ± 1.7 [μ U/mL] ($p = 0.710$)、fT3：AVR vs SEP = 2.7 ± 0.5 vs 2.6 ± 0.7 [pg/mL]、fT4：AVR vs SEP = 1.2 ± 0.2 vs 1.2 ± 0.2 [ng/dL]と両群間に差はなかった。また術前 NYHA：AVR vs SEP = 1.8 ± 0.7 vs 1.9 ± 0.6 ($p = 0.168$)、血清 BNP：AVR vs SEP = 356.4 ± 790.7 vs 320.4 ± 644.8 [pg/mL] ($p = 0.718$)と差はみられなかった。術前の収縮期血圧：AVR vs SEP = 121.6 ± 15.9 vs 118.3 ± 15.9 [mmHg] ($p = 0.105$)、拡張期血圧：AVR vs SEP = 64.1 ± 11.0 vs 62.1 ± 11.7 [mmHg] ($p = 0.151$)、心拍数：AVR vs SEP = 70.1 ± 10.0 vs 69.5 ± 10.8 [bpm] ($p = 0.626$)といずれも差はなかった。

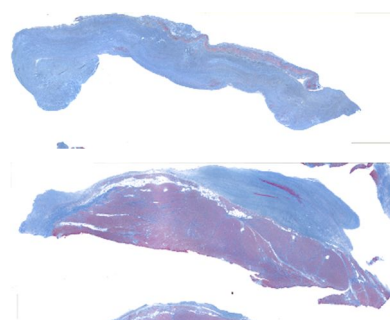
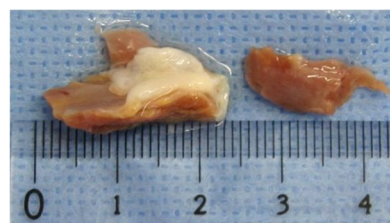
術前心機能の評価は経胸壁心臓超音波検査で行った。左室拡張末期径 (LVDD)：AVR vs SEP = 49.5 ± 7.8 vs 44.9 ± 7.0 [mm] ($p < 0.01$)、左室収縮末期径 (LVDs)：AVR vs SEP = 32.4 ± 8.3 vs 27.4 ± 6.9 [mm] ($p < 0.01$)、左室拡張末期容積 (LVEDV)：AVR vs SEP = 133.3 ± 57.5 vs 99.1 ± 38.8 [mL] ($p < 0.01$)、左室収縮末期容積 (LVESV)：AVR vs SEP = 59.3 ± 38.0 vs 35.9 ± 28.3 [mL] ($p < 0.01$)といずれの指標においても SEP 群で左室内腔は有意に小さかった。心室中隔壁厚 (IVST)：AVR vs SEP = 11.2 ± 2.1 vs 12.3 ± 2.4 [mm] ($p < 0.01$)、左室後壁厚 (PWT)：AVR vs SEP = 11.1 ± 2.0 vs 11.8 ± 1.8 [mm]

($p < 0.01$)、であり IVST、PWT とともに SEP 群での有意な肥厚が認められ、IVST がより顕著であった。左室駆出率 (LVEF) は AVR vs SEP = 62.9 ± 11.7 vs 68.6 ± 10.3 [%] ($p < 0.01$) と SEP 群で有意に高かった。なお中等度以上の大動脈弁狭窄の割合は AVR vs SEP = 74.4% vs 75.0% ($p = 0.910$) であり、大動脈弁閉鎖不全の割合は AVR vs SEP = 10.4% vs 8.8% ($p = 0.675$) と AVR 群でやや閉鎖不全症の合併が多いものの有意差は見られず、中隔の肥厚と内腔の狭窄が駆出率などにも影響を及ぼしている可能性が示唆された。

術前からの心房細動の合併は AVR vs SEP = 13.7% vs 5.9% ($p = 0.220$) と AVR で多い傾向だったが有意差はなかった。また右脚ブロックの合併は AVR vs SEP = 3.5% vs 10.3% ($p < 0.01$)、左脚ブロックの合併も AVR vs SEP = 0.7% vs 4.4% ($p < 0.012$) と有意に SEP 群で多く、肥厚などによる中隔のバンドル付近へのストレスの影響が考えられた。

手術時間は AVR vs SEP = 270.1 ± 99.0 vs 251.2 ± 92.3 [min] ($p = 0.129$) と有意差はなかったが人工心肺時間は AVR vs SEP = 137.3 ± 54.9 vs 123.3 ± 48.7 [min] ($p < 0.05$) と AVR 群で長い傾向が見られた。術後 ICU 滞在日数 : AVR vs SEP = 2.6 ± 4.8 vs 3.1 ± 3.44 [day] ($p = 0.473$)、在院日数 : AVR vs SEP = 15.8 ± 10.9 vs 15.9 ± 6.9 [day] ($p = 0.960$) と差は認めなかった。術後の合併症として心房細動 (一過性のものを含む) は AVR vs SEP = 38.4% vs 44.1% ($p = 0.497$)、一過性脳虚血やけいれん発作なども含む脳神経合併症は AVR vs SEP = 2.2% vs 1.5% ($p = 1.000$)、術前からの透析症例を含む術後の血液透析は AVR vs SEP = 14.2% vs 13.2% ($p = 0.857$) といずれにも有意差はなかった。

SEP 群 68 例中、33 例において組織学的解析を行った。切除組織の標本を図に示す。ほとんどの切片にて心筋の上に肥厚を伴う硬い線維化組織 (図の白色部分) が認められた。固定後にパラフィンに包埋し、マッソン・トリクローム染色を行ったところ、症例によって差異はあるものの、中隔は青色に染色される線維化でしめられていた。各症例において、線維化組織の厚みを測定して定量化したところ平均厚は $864 \mu\text{m}$ であった。切除した組織のストレインエコー解析では基部における各領域のストレインの差は前壁 = 2.61 vs 2.74、下壁 = 2.41 vs 3.52、側壁 = 0.60 vs -0.40、後壁 = -1.26 vs 3.27、中隔 = -0.55 vs -5.45 と中隔基部で AVR 群と SEP 群で大きな差が認められた。手術時に線維化した硬化組織を切除したことにより、左室中隔の局所運動が改善したことが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyazaki S, Kuwaki K, Kajimoto K, Matsushita S, Dohi S, Yamamoto T, Hata H, Amano A	4. 巻 82
2. 論文標題 Independent Effect of Low Flow on Outcomes in Patients Undergoing Aortic Valve Replacement for Severe Aortic Stenosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circ J	6. 最初と最後の頁 2199-2205
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-17-0900	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Machida Y, Kuwaki K, Endo D, Oishi A, Shimada A, Kajimoto K, Matsushita S, Dohi D, Yamamoto T, Hata H, Amano A	4. 巻 47
2. 論文標題 Early and Late Outcome Including Postoperative recovery of Patients Aged 80 Years and Older Undergoing Aortic Valve Replacement for Aortic Stenosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Juntendo Medical Journal	6. 最初と最後の頁 8-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Doi S, Kasai T, Yatsu S, Miyazaki S, Fujimoto S, Okazaki S, Dohi S, Kuwaki K, Amano A, Daida H.	4. 巻 21
2. 論文標題 Changes in polysomnographic findings following transcatheter aortic valve implantation in a patient with aortic stenosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Cardiol Cases	6. 最初と最後の頁 75-78
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jccase.2019.10.003.	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	松下 訓 (Matsushita Satoshi) (20407315)	順天堂大学・医学部・准教授 (32620)	

6. 研究組織（つづき）

	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	山本 平 (Yamamoto Taira) (70301504)	順天堂大学・医学部・先任准教授 (32620)	
研究 協力者	横山 典彦 (Yokoyama Norihiko)	順天堂大学・医学部 (32620)	
研究 協力者	庄司 弥生 (Shoji Yayoi)	順天堂大学・医学部 (32620)	