

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17608

研究課題名（和文）心房細動アブレーション後の心房リバースリモデリング機序解明

研究課題名（英文）The search of atrial reverse remodeling mechanisms in patients with atrial fibrillation undergoing catheter ablation.

研究代表者

波野 史典（Namino, Fuminori）

鹿児島大学・鹿児島大学病院・主任臨床検査技師

研究者番号：90838591

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は心房細動に対するカテーテルアブレーション治療後に認められる心房リバースリモデリングに着目し、そのメカニズムについて分子生物学的に解明を試みるものである。既存の保存検体を用いて、リバースリモデリングに関するマイクロRNA発現の網羅的解析により、7つへ絞り込んだ。その後、サンプル数を追加し、RT-PCRにて比較検討を行ったところmiR-184などのいくつかのmicroRNAが心房リバースリモデリングに関与している結果を得た。また左房ペントラキシン3は左房局所の炎症程度を鋭敏に反映しており、左房内の炎症と左房容積の増大との関連が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心房細動は加齢とともに有病率が増加し、心原性脳梗塞の原因となる。心房細動に対するアブレーション治療において、持続性心房細動などの心房リモデリングが進行した症例では、発作性心房細動と比較し長期的な洞調律維持率が低く、十分な治療効果が得られにくい現状がある。アブレーション治療にて洞調律を得ることにより、心房リモデリングからの回復（心房リバースリモデリング）が観察されることが知られており、その機序を解明することにより、新たな持続性心房細動に対する治療法の可能性があり、社会的意義は高いと言える。

研究成果の概要（英文）：The present study focuses on atrial reverse remodeling observed after catheter ablation for atrial fibrillation and attempts to elucidate the mechanism by molecular biology. Using existing stored samples, we comprehensively analyzed microRNA expression related to reverse remodeling and narrowed the number of samples to seven. Added more samples, compared by RT-PCR, and found that some microRNAs were involved in atrial reverse remodeling such as miR-184. In addition, left atrial pentraxin-3 sensitively reflected the degree of local inflammation, suggesting that inflammation in the left atrium is associated with an increase in left atrial volume.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心房細動 アブレーション リバースリモデリング microRNA MMP

1. 研究開始当初の背景

(1) 心房細動と心房リモデリングについて

現在、心房細動の潜在患者は増加の一途を辿っており、心原性脳梗塞の原因ともなることも多い為、早期発見・早期治療は非常に重要であるが、無症候性の場合もあり治療介入に遅れを生じる可能性がある。心房細動の発症と進展には心房の電気的リモデリングと心房筋の線維化による構造的リモデリングが大きく関わっていると考えられており、心房細動の持続自体が心房のリモデリングを進行させ、心房細動をより持続させやすくする⁽¹⁾。従って、心房細動からの洞調律化は極めて重要であり、薬物治療抵抗性の心房細動の治療にはカテーテルアブレーションによる肺静脈隔離術が推奨されている。しかしながら、肺静脈隔離術の成績は発作性心房細動で洞調律維持率 70%前後、持続性心房細動では 30%前後と報告されており、心房のリモデリングが進行している状態では治療が困難と考えられる⁽²⁾。

(2) 心房リバースリモデリングについて

カテーテルアブレーションによって心房細動を停止させ洞調律を維持することにより、心房の構造的変化の改善(リバースリモデリング)が観察されることもよく知られている⁽³⁾。しかしながら、この構造的リモデリングとリバースリモデリングの可逆的な変化について、組織学的な検討はあるが、分子生物学的な詳細についてはいまだ報告がなされていない。

2. 研究の目的

心房細動に対し、カテーテルアブレーション治療を施行する患者を対象とし、治療前後において心房の構造的リモデリングに関連する候補分子マーカーや microRNA を採血によって得られた血漿・血清を用いて測定し解析することにより、心房における構造的リモデリングとリバースリモデリングの機序を分子生物学レベルで解明する。

またアブレーション治療の結果と併せて解析することにより、アブレーション治療の予後予測やアブレーション治療効果の判定など、心電図検査のみでは判断が困難な場合に多元的に評価可能な新たなバイオマーカーとしての有用性を検証することを目的とし、以下の2点に注目し研究を進めた。

- (1) 心房の構造的リモデリングに関連する microRNA、分子マーカーの探索
- (2) 得られた microRNA、分子マーカーが治療効果判定困難時の心房細動再発の指標または治療前における予後予測の指標と成り得るかの検証

3. 研究の方法

(1) パイロットスタディ(後ろ向き研究)

心房細動アブレーション治療後に心房リバースリモデリングが観察された群と心房リバースリモデリングが観察されなかった群の数例の保存サンプルを用い、心房線維化と関連する microRNA を含む数百個の microRNA を搭載したマイクロアレイにて microRNA 発現の網羅的な解析を行った。

(2) 検体の選別と保存

心房細動に対し、カテーテルアブレーション治療を施行する患者、100 症例を対象とし、インフォームドコンセントにて同意を得る。アブレーション治療の前日、治療翌日、6 か月後の計 3 回の末梢採血と術直前、直後の左房採血を行い、得られた血清および血漿から、心房の構造的リモデリングと関連する候補分子マーカー、関連する microRNA の測定解析を行う準備をした。

血清、血漿分離：専用真空採血管を用いて全血を採取し、1,000 x g, 15 分で遠心分離し、直ちに -80 の冷凍庫にて凍結保存したものを使用した。

(3) 測定項目と解析

保存した採取検体(血清、血漿)で、以下の評価項目を測定する。統計解析については、microRNA、各種分子マーカーのアブレーション治療前後の変化量の比較検討を行い、互いの相関関係を確認した。

microRNA：マイクロアレイのデータをもとに、一定以上の変化(>2.0)が見られた miRNA を選択して、microRNA RT kit・Taqman microRNA assay (いずれも Applied Biosystem 社)を用いて qPCR を行った。実験対照には cel-miR-39 を用いた。

マトリックスメタロプロテアーゼ(matrix metalloproteinase; MMPs, tissue inhibitor of metalloproteinase; TIMPs)：Bio-Plex マルチプレックスシステム (BIO RAD 社)で MMPs・TIMPs の一群を測定。

Pentraxin-3、PAI-1、thrombomodulin、可溶性 P-selectin : ELISA 法にて測定。
TGF- β や VEGF などの増殖因子およびその可溶性受容体 (Flt-1 等) : ELISA 法にて測定。

4. 研究成果

各実験において一定の成果を得ることができた。この中で、測定と研究結果のまとめが終了した 2 つの成果を提示する。

(1) マイクロアレイについて

心房細動アブレーション治療前と治療 6 か月後の保存サンプルを用い 2 群に分け、心房線維化と関連する microRNA を含む数百個の microRNA を搭載したマイクロアレイにて microRNA 発現の網羅的な解析を行った。その結果、心房リバースリモデリングへの関連が推察される microRNA を 7 つへ絞り込んだ (図 1)。

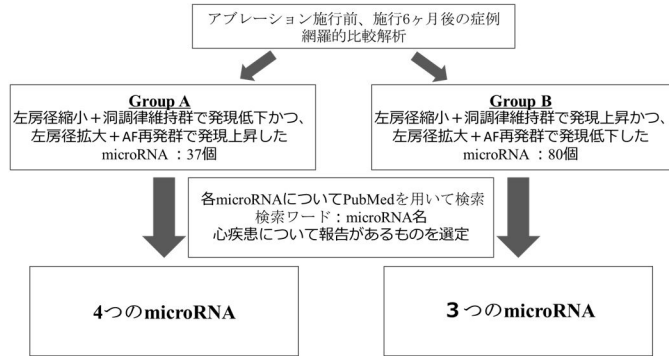


図 1 候補 microRNA の選定フロー

その後、サンプル数を追加し、RT-PCR にて治療前後また両群間の比較検討を行ったところ 3 種類の microRNA が心房リバースリモデリングに関与している結果を得た。

今後、前向きに採取した検体を用いて、サンプル数を追加し検討をしていく予定である。

(2) Pentraxin-3 について

Pentraxin-3 (PTX3) は Pentraxin family に属し、急性相反応蛋白として免疫や炎症において重要な役割を担う。血管内皮細胞やマクロファージなどの全身細胞より産生される局所的な感染や炎症に敏感に反応する。左房局所の炎症により心房線維化が惹起され心房リモデリングが進行すると考えられており、心房リモデリングの機序を解明する上で左房局所の炎症の程度を把握することは重要である。

前向きに採取した 38 症例の検体を用いて、アブレーション治療直前と直後の左房 PTX3 の変化を確認したところ、アブレーション治療後に有意な増加を認めた (図 2A)。また、治療前の末梢 PTX3 と左房 PTX3 を比較したところ、PTX3 は末梢血より左房血

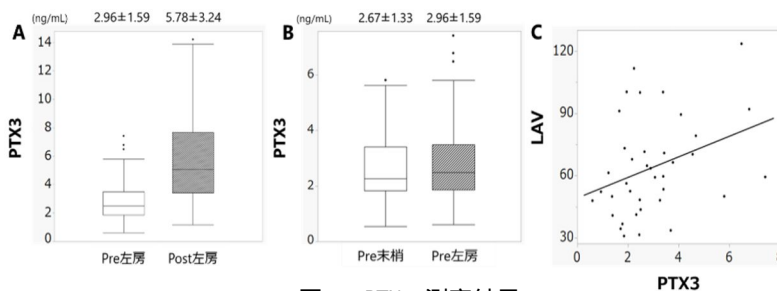


図 2 PTX3 測定結果

にて有意に高値であった (図 2B)。PTX3 と他因子との相関を確認したところ、治療前左房 PTX3 と、治療前心臓超音波検査より得られた左房容積 (LAV) との間に正相関傾向を認めた (図 2C)。

以上の結果より、左房 PTX3 は左房局所の炎症程度を鋭敏に反映しており、左房内の炎症と LAV の増大との関連が示唆された。

今後は、さらにサンプル数を追加し検討し、また他の測定項目の測定も終了させ、炎症・心房線維化の観点から心房リモデリングの機序解明を進めていく予定である。

参考文献

- (1) Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, Goette A. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal. *Physiol Rev.* 2011 Jan;91(1):265-325.
- (2) Oral H, Knight BP, Tada H, Ozaydin M, Chugh A, Hassan S, Scharf C, Lai SW, Greenstein R, Pelosi F Jr, Strickberger SA, Morady F. Pulmonary vein isolation for paroxysmal and persistent atrial fibrillation. *Circulation.* 2002 Mar 5;105(9):1077-81.

- (3) Thomas L, Abhayaratna WP. Left Atrial Reverse Remodeling: Mechanisms, Evaluation, and Clinical Significance. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017 Jan;10(1):65-77.

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 Yoshimoto Issei, Iriki Yasuhisa, Oketani Naoya, Okui Hideki, Ichiki Hitoshi, Maenosono Ryuichi, Namino Fuminori, Miyata Masaaki, Ohishi Mitsuru	4. 巻 Apr 21
2. 論文標題 A randomized comparison of two direct oral anticoagulants for patients undergoing cardiac ablation with a contemporary warfarin control arm	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10840-020-00732-y	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 Namino Fuminori, Yamakuchi Munekazu, Iriki Yasuhisa, Okui Hideki, Ichiki Hitoshi, Maenosono Ryuichi, Oketani Naoya, Masamoto Izumi, Miyata Masaaki, Horiuchi Masahisa, Hashiguchi Teruto, Ohishi Mitsuru, Maruyama Ikuro	4. 巻 25
2. 論文標題 Dynamics of Soluble Thrombomodulin and Circulating miRNAs in Patients with Atrial Fibrillation Undergoing Radiofrequency Catheter Ablation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1076029619851570	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 Maenosono Ryuichi, Mizukami Naoko, Ichiki Hitoshi, Oketani Naoya, Namino Fuminori, Masamoto Izumi, Yuasa Toshinori, Yamakuchi Munekazu, Ohishi Mitsuru, Hashiguchi Teruto	4. 巻 48
2. 論文標題 Total atrial conduction time as a possible predictor of atrial fibrillation recurrence after catheter ablation for paroxysmal atrial fibrillation: relationship between electrical atrial remodeling and structural atrial remodeling time courses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medical Ultrasonics	6. 最初と最後の頁 295 ~ 306
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10396-021-01090-6	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Fuminori Namino, Munekazu Yamakuchi, Yasuhisa Iriki, Yuichi Ninomiya, Hitoshi Ichiki, Ryuichi Maenosono, Izumi Masamoto, Teruto Hashiguchi, Mitsuru Ohishi, Ikuro Maruyama
2. 発表標題 The Impact of Soluble Thrombomodulin and Circulating miRNAs on Catheter Ablation in Patients with Atrial Fibrillation.
3. 学会等名 ISTH 2020 Virtual Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 波野 史典, 山口 宗一, 前之園 隆一, 入来 泰久, 二宮 雄一, 市来 仁志, 政元 いずみ, 橋口 照人, 堀内 正久, 大石 充, 丸山 征郎
2. 発表標題 高周波カテーテルアブレーション治療を施行した心房細動患者における可溶性トロンボモジュリンと循環 miRNA の動態
3. 学会等名 第66回 日本臨床検査医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 波野 真伍, 波野 史典, 小濱 祐行, 古城 剛, 前之園 隆一, 政元 いずみ, 山口 宗一, 橋口 照人
2. 発表標題 心房細動アブレーション治療における長期予後予測バイオマーカーの検討 血管内皮機能関連マーカーの可能性
3. 学会等名 第21回 日本検査血液学会学術集会
4. 発表年 2020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

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
---------	---------