

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20790547  
 研究課題名(和文)ポリクローナル免疫グロブリンG静脈内投与の心筋虚血再灌流傷害に対する効果  
 研究課題名(英文) Effect of intravenous administration of immunoglobulin on myocardial reperfusion injury.  
 研究代表者  
 上野 耕嗣 (UENO KOJI)  
 慶應義塾大学・医学部・助教  
 研究者番号：90348631

研究成果の概要(和文): 虚血再灌流刺激前の免疫グロブリン静脈内投与(IVIG)が微小循環障害や炎症反応を減弱し、左室リモデリングを軽減することを示した。IVIG は虚血再灌流刺激により惹起される一連の炎症カスケードの上流で重要な役割を担う補体系の活性化を阻害することにより、心筋虚血再灌流傷害に対する補助療法として有効である可能性がある。

研究成果の概要(英文): Intravenous administration of immunoglobulin (IVIG) pretreatment before ischemia/reperfusion (I/R) attenuated microcirculatory disturbance and inflammatory response, and preserved left ventricular function. IVIG may be effective as an adjunctive therapy to myocardial reperfusion injury, possibly through inhibition of complementary system that plays an important role during the early stage of inflammatory cascades in I/R.

## 交付決定額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2008年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 2009年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総計     | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：免疫グロブリン、虚血再灌流、接着因子、補体、好中球

## 1. 研究開始当初の背景

心筋再灌流傷害は、左室リモデリングの一因として知られ、虚血による心筋組織の浮腫、内皮細胞障害、好中球浸潤に加え、血流が再開することによるフリーラジカル産生と細胞内へのCa<sup>2+</sup>イオンの過負荷がトリガーとなる。これにより炎症性サイトカインの産生、

白血球、補体の活性化、細胞接着因子の過剰発現、自己免疫応答の増強など一連の炎症反応が惹起される。免疫グロブリン静注療法(IVIG)は詳細な作用機序は未だ不明だがこれまでの報告から免疫調節作用を有することが明らかにされている。既に肝臓、小腸などの再灌流傷害でIVIG療法の有効性が報告

されている。再灌流傷害の病態では多様で複雑な免疫機序が働いていることが推測されている。

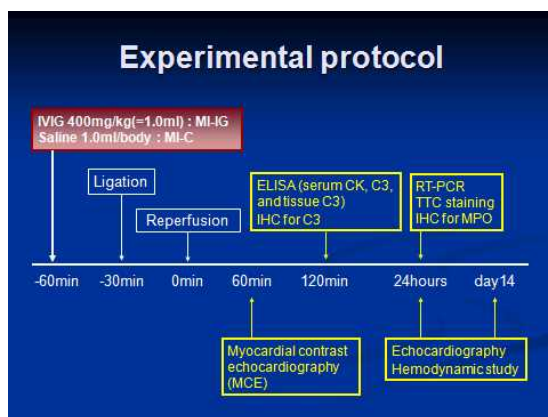
## 2. 研究の目的

早期再灌流療法の補助療法としての IVIG 療法の効果を明らかにし、心筋再灌流傷害の軽減、梗塞後リモデリングの抑制、心筋梗塞の慢性期予後を改善するための新たな治療法を開発することである。

## 3. 研究の方法

Wister rat (オス, 9-11 週齢) を腹腔内注射により麻酔し、気管内挿管してベンチレーターにつなぐ。前処置として IVIG (400mg/kg) を尾静脈内投与された群(MI-IG 群)と同体積の生理食塩水を投与された群(MI-C 群)に分ける。静注後 30 分の時点で開胸し、左冠動脈を 30 分間閉塞させ、その後再灌流させる。開胸し、冠動脈を閉塞させないで閉胸する Sham 群を作成する。再灌流 60 分後にレボピストを用いて心筋コントラストエコーを施行し、微小循環障害を評価する。再灌流 120 分後に補体 C3 フラグメントの血中濃度と心筋のリスクエリアにおける含有量を ELISA 法および免疫染色法で定量する。24 時間後には TTC 染色により梗塞サイズを評価し、またミエロペルオキシダーゼ(MPO)に対する免疫染色を行い、MPO 陽性細胞の定量を行う。リスクエリア心筋内での各種ケモカインや接着因子の mRNA 発現量を real time RT-PCR 法で検索する。経胸壁エコーや観血的血行動態評価を再灌流 24 時間後と 14 日後にそれぞれ施行する。プロトコルを図 1 に示す。

図 1



## 4. 研究成果

MI-IG 群は MI-C 群に比し、(1)再灌流 1 時間後のコントラストエコーにおいて有意に良好な再灌流が認められる(図 2)、(2)再灌流 24 時間後に梗塞サイズ縮小傾向が見られる ( $P=0.11$ )、(3)再灌流 24 時間後、14 日後の血行動態評価で有意に良好な心機能を示す(図 3~5)ことが確認された。またリスクエリア

心筋における各種炎症マーカーの解析では、(4)IL-1, ICAM-1 mRNA の有意な発現低下、MCP-1, MIP-1, iNOS の発現低下傾向を認め(図 6, 7)。リスクエリアの心筋抽出液の解析では、(5)補体 C3 発現量の有意な低下を認め(図 8)、免疫染色法で C3 量、ミエロペルオキシダーゼ陽性細胞の浸潤の軽減を確認した(図 9)。

これらの結果は IVIG の前投与が再灌流傷害を軽減し、慢性期の左室機能を改善することを意味している。その機序として虚血再灌流ストレスにより惹起される一連の炎症反応を制御している可能性が考えられた。

図 2

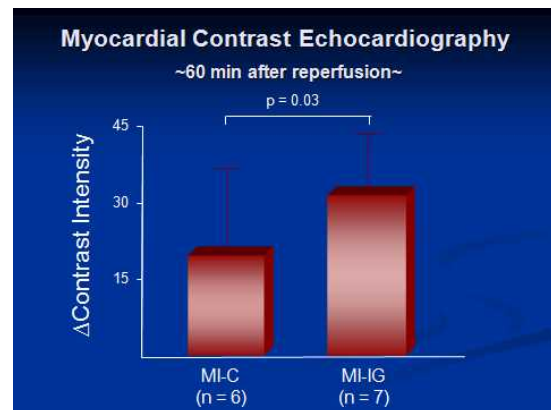


図 3

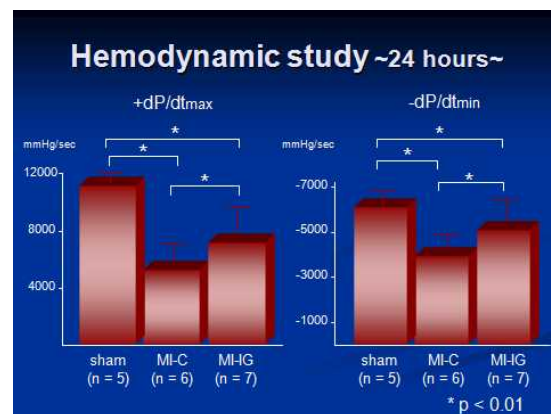


图 4

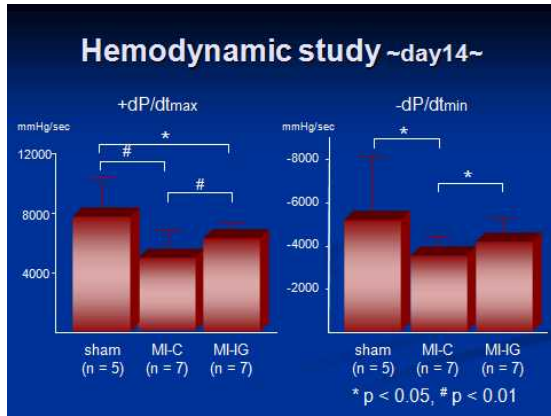


图 7

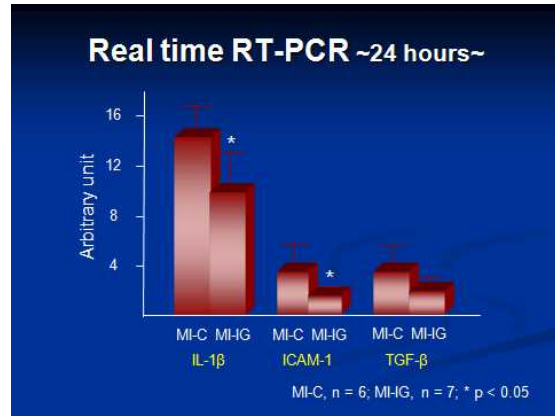


图 5

### Echocardiography

|           | 24 hours   |              |              | Day 14     |              |              |
|-----------|------------|--------------|--------------|------------|--------------|--------------|
|           | Sham (n=5) | MI-C (n=12)  | MI-IG (n=12) | Sham (n=6) | MI-C (n=13)  | MI-IG (n=15) |
| LVEDD, mm | 6.2 ± 0.3  | 6.3 ± 0.6    | 6.2 ± 0.4    | 6.0 ± 0.3  | 7.8 ± 0.7*   | 6.9 ± 0.6#   |
| LVESD, mm | 3.1 ± 0.3  | 4.8 ± 0.8*   | 4.4 ± 0.6*   | 3.2 ± 0.4  | 6.2 ± 0.9*   | 5.0 ± 0.9#   |
| FS, %     | 49.6 ± 0.6 | 25.2 ± 6.3*  | 29.6 ± 6.2*  | 46.0 ± 4.8 | 20.5 ± 6.0*  | 28.2 ± 7.2#  |
| EF, %     | 85.7 ± 0.5 | 55.2 ± 11.2* | 62.2 ± 9.7*  | 82.4 ± 4.6 | 46.5 ± 10.8* | 59.7 ± 11.3# |

\* p < 0.05 vs. sham, # p < 0.01 vs. sham, # p < 0.01 vs. MI-C

图 8

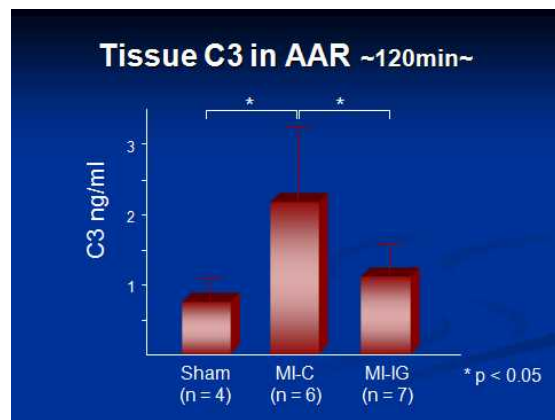


图 6

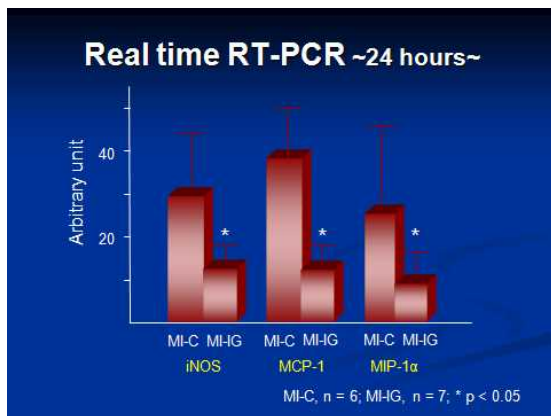
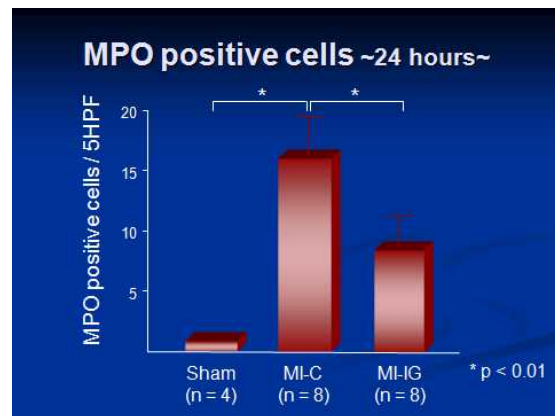


图 9



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 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

Koji Ueno et al., Intravenous Administration of Immunoglobulin Attenuates Myocardial Reperfusion Injury and Improves Left Ventricular Remodeling, ESC Congress 2009, Sep. 2. 2009, Barcelona, Spain.

〔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

上野 耕嗣 (UENO KOJI)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号：90348631

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし