

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K20225

研究課題名(和文) 難治性心房細動患者の血液成分を器官培養法に応用した線維化機序解明法の構築

研究課題名(英文) Revealing the mechanism of atrial fibrosis in atrial fibrillation patients using an organo-culture system

研究代表者

福井 暁 (Fukui, Akira)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：70631381

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)：左房低電位領域(左房線維化)の原因成分の特定を目的に研究を開始したが、これまでの実験結果から特定の成分を見出すことはできなかった。逆に、実験結果より、線維化と関連する血液成分が多岐にわたることが判明し、左房の低電位領域は特定の成分や原因によらないと考えた。このため、佐賀大学との共同研究より獲得した心房筋生検の技術を用いて、心房細動症例の右心房中隔側より検体を取得、ミトコンドリア形態異常と左房低電位領域に相関関係があるか検討した。しかし、これらの2つの因子に明らかな相関は認められなかった。以上の結果から、課題に対する成果は得られないと結論付けた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究結果より、線維化と関連する血液成分が多岐にわたることが判明し、左房の低電位領域は特定の成分や原因によらないことが明らかとなった。また、電子顕微鏡観察したヒト心房のミトコンドリア形態異常と左房低電位領域にも相関関係は認められなかった。心房線維化の原因が多岐にわたることが原因と考えられた。ネガティブな結果であったが、この結果が今後の同分野の研究の参考となればと考えている。

研究成果の概要(英文)：Although we started the analysis, there were no specific factor contributing with left atrial low voltage area (=atrial fibrosis) using the organo-culture system. Therefore, we examined the mitochondrial system of the right atrial human tissue using electronic microscope whether there is mitochondrial dysfunction in fibrotic atrium. However, there were no relation between atrial low voltage area and mitochondrial dysfunction. In conclusion, we failed to revealing a specific factor contributing in the pathogenesis of atrial fibrosis.

研究分野：循環器内科

キーワード：心房細動 心房線維化 心房低電位領域

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

心房細動は心不全や心原性脳梗塞を引き起こして生命予後を悪化させるが、超高齢化社会である本邦では、臨床で最も遭遇する不整脈 (=common disease) となっている。近年、カテーテルアブレーションの発達と共に心房細動も治る時代となってきたが、心房線維化が進行した症例の治療は未だに難しく、有効な方法は確立されていない。研究代表者らは、心房線維化を有する例はアブレーション後の再発が多いことを報告し、日本循環器不整脈非薬物療法ガイドラインにも引用され、その重要性がクローズアップされている。

これまで心房線維化の機序解明および治療法の確立を目的として様々な研究が行われてきたが、動物を用いた研究が大半であるため、ヒトに応用できる治療法はなく、breakthrough が望まれている。

### 2. 研究の目的

研究代表者はこれまでに当施設と国内留学先で合計 1000 例以上の心房細動アブレーションを施行してきた。その経験とデータから、心房線維化を有する例は治療に難渋するばかりでなく、治療に成功した例でも生活の質の改善までには至らないケースが多いことを経験し、『ヒト心房線維化の機序解明と治療方法の開発』の必要性を強く感じるようになった。また、研究代表者はこれまで心房線維化の基礎研究も行っており、大学院時代にはレプチンが心房線維化に必須のアディポサイトカインであることを発見して、日本心電学会学術奨励賞を受賞した。それ以降も研究を継続し、レプチンが肥満による心房線維化にも重要な役割を果たしていることを報告した。このように臨床および基礎研究の両方を行ってきたが、これまで発表されている心房線維化の機序に関する研究結果の恩恵が臨床の現場に届いてはいないことも痛感した。この最大の原因は、ほぼ全ての研究が動物実験のデータから得られたもので、必ずしもヒトに当てはまらないことにある。そのため、『臨床応用ができるようなヒト検体を用いた心房線維化の機序解明が必要である』と強く感じるようになった。

この問題は以前より当施設での研究課題の一つとして挙げられており、これを解決する方法として、「器官培養法」というヒト検体を用いた線維化機序解明法が開発され、研究代表者も共同研究者としてこれに参加した。器官培養法は、単離したラットの左心房に抽出したヒトの心外膜脂肪成分を滴下して線維化の過程を分析するという画期的な方法である。しかし、現時点では当施設で亡くなられて病理解剖が行われた献体が解析対象であったため、心房線維化のため治療に難渋する症例でないことが問題として残った。これを解決するため、アブレーション中に左房線維化が進行した症例と臨床背景が同一で左房線維化が認められない症例から採取した血漿成分を使用することで『ヒト心房線維化の機序解明と予防方法の開発』に挑戦しようとする本研究を計画した。

### 3. 研究の方法

実験 : ラットから単離した心房に得られた血漿成分を滴下して線維化効果を見る(器官培養)アブレーション中に左房線維化領域を認めた症例の冠静脈洞より血液を採取して、その血漿成分を単離する。得られた血漿成分を用意したラット左心房に連日滴下する。これまでのデータから、負荷を行ったラットの左心房は 2 日後から線維化が始まり、3~7 日かけて段階的に進行することが分かっている。このため、滴下 7 日目にマッソントリクローム染色を行って線維化の程度を評価する。また、同時に作成した 1, 3 目の組織も用いて線維化蛋白をウエスタンブロット法で定量する。解析する線維化蛋白として、現在のところはコラーゲン<sub>1</sub>、コラーゲン<sub>3</sub>、transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)、 $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) の 4 つを予定している(解析する線維化蛋白は結果などを踏まえて適宜変更することも想定している)。臨床背景がほぼ同一で左房に線維化が認められなかった症例の血漿成分を用いた同様の実験をコントロールとする。線維化進行群とコントロール群をそれぞれ 10 例ずつ解析して比較検討する。しかし、この時点では線維化を進行させる主成分が不明のままである。そこで実験<sub>1</sub>を行い、線維化を進行させる主成分を突き止める。

実験<sub>2</sub> : 得られた血漿成分のマイクロアレイを行い、線維化シグナルの主成分を突き止める。採取した血漿成分を使用し、線維化蛋白のマイクロアレイを行い、網羅的に線維化の主成分を突き止める。当施設ではこれまで BioRad 社製の Bio-Plex Pro を用いてこれまで解析を行ってきたことから、今回もこれを使用する。線維化群とコントロール群各 10 症例を比較し、特に発現が増加または低下が強かった成分の中で、これまで線維化効果が報告されている 3 つを抽出する予定である。

実験<sub>3</sub> : 特定されたシグナルを不活化することで、心房線維化が抑制できるか確認する。実験<sub>2</sub>のシステム(器官培養法)を用いて特定された線維化シグナルの拮抗薬を使用し、実験<sub>1</sub>で認められた線維化が抑制できるか確認する。拮抗薬は特注して作成する。特定された線維化シグナルの拮抗薬が心房線維化を抑制できれば、心房線維化に対する新たな治療法の確立に繋がる。

#### 4. 研究成果

左房低電位領域(左房線維化)の原因成分の特定を目的に研究を開始したが、これまでの実験結果から特定の成分を見出すことはできなかった。逆に、実験結果より、線維化と相関する血液成分が多岐にわたることが判明し、左房の低電位領域は特定の成分や原因によらないと考えた。このため、佐賀大学との共同研究より獲得した心房筋生検の技術を用いて、心房細動症例の右心房中隔側より検体を得て、ミトコンドリア形態異常と左房低電位領域に相関関係があるか検討した。しかし、これらの2つの因子に明らかな相関は認められなかった。以上の結果から、課題に対する成果は得られないと結論付けた。この結果は国内学会のシンポジウムで発表した。このため、ミトコンドリアの形態異常が左房低電位領域とは独立した心房細動アブレーション後の再発因子とならないか検討した。アブレーション後2年間、検体頂いた症例を追跡調査したが、ミトコンドリア形態異常と心房細動アブレーション後の再発にも関係は認められなかった。以上の結果から、課題に対する成果は得られないと結論付けた。その原因としては、途中で課題を変更したため、十分な症例数がエントリーできなかったこと(全部で30例を解析した)、エントリーした症例の患者背景に違いがあり、併存していた他の疾患によりミトコンドリア形態が変化していた可能性があること、解析方法自体に問題があったことなどが考えられた。今回の研究結果を現在論文にまとめて投稿する予定である。また、これからの研究はこの結果を踏まえて計画を立てる予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 廣田 慧, 福井 暁
2. 発表標題 Association between Interatrial Conduction Time and Left Atrial Low Voltage Area in Atrial Fibrillation Patients
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会（JCS2021）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 廣田 慧, 福井 暁
2. 発表標題 Interatrial Conduction Time Predicts the Outcome after Pulmonary Vein Antrum Isolation
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会（JCS2021）
4. 発表年 2021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
---------	---------