

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592059

研究課題名(和文) 肺動脈弁閉鎖不全による右心室機能低下の可逆性に関する研究

研究課題名(英文) The research of right ventricular dysfunction caused by pulmonary regurgitation

研究代表者

中田 朋宏 (NAKATA, TOMOHIRO)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：00559685

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：右心室はその解剖学的形態の複雑さから臨床的な右室機能の評価方法は確立されておらず、不可逆的となる時期について明らかにされていない。本研究では肺動脈弁閉鎖不全症の動物モデルを作成し、右心不全における継時的な心機能および組織学的変化についての検討を行った。イヌを用いた肺動脈弁逆流・右室拡大モデルを作成することに成功した。組織学的には右室心筋・左室心筋ともに、有意な変化は認められなかった。肺動脈逆流制御が不能であり右心機能の不可逆性の検討について目標に達せなかったが、本モデルは臨床条件に近い実験・観察および組織学的評価が可能であり、今後慢性的な肺動脈逆流および右心不全での病態解明に有用と考えられた。

研究成果の概要(英文)：The evaluation of right ventricular function is not fully established because of the anatomical complexity of the right ventricle. The aims of the present study are to establish an animal model of pulmonary regurgitation and to clarify the relationship between functional and histological changes of the right ventricle. We succeeded to induce significant pulmonary regurgitation in canine model by placing some stitches from outside of pulmonary root to fix the pulmonary valve. After 3 months of observation, significant right ventricular dilatation developed, whereas no significant changes were observed in histological examination. Although additional study with longer observation period is necessary, this animal model could be used in investigating therapeutic approaches to treat chronic right ventricular dysfunction

研究分野：外科学

キーワード：右心不全 肺動脈弁閉鎖不全 動物モデル

1. 研究開始当初の背景

先天性心疾患には、手術時に右心室流出路拡大が必要であるものが多いが、通常、その術後にはある程度の肺動脈弁閉鎖不全症を生じる。近年、肺動脈弁閉鎖不全による右心室拡大が、術後遠隔期の予後低下につながる事が指摘されているが、右心室はその解剖学的形態の複雑さから、臨床的な右室機能の評価方法は確立されておらず、どの時点で不可逆的となりうるかについて明らかにされていない。そのため、いつ肺動脈弁置換手術に踏み切るか、明確な判断基準は未だ示されていないのが現状である。

そのため、右心室機能の不可逆性を反映する他覚的検査所見やその時期、組織学的、分子生物学的マーカーを明確にすることで、手術介入の至適時期を知ることが可能となり、先天性領域に置けるさらなる生命予後改善が得られるものと考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、可逆的な肺動脈弁閉鎖不全症の動物モデルを作成し、経時的に心機能および心筋組織像の評価を行い、不可逆的な右心不全が生じるか時期を明らかにするとともに、その時点での組織学的、分子生物学的マーカーを確立することが目的である。

3. 研究の方法

肺動脈逆流モデルの作成

ハイブリッドビーグルを用い、人工心肺を使用せずに、右室流出路および主肺動脈を部分遮断し、それぞれに切開を加えたのち人工血管を吻合して右室 - 肺動脈間に弁の無い心外導管を作成する。これによって、右心室から肺動脈へ拍出された血液が、心外導管を通過して右心室へ逆流することとなり、肺動脈弁閉鎖不全と同等の右心室容量負荷が生じる。また、肺動脈基部外側から運針して肺動脈弁を肺動脈壁に縫着し肺動脈逆流を作成する方法、肺動脈基部に回収可能なステントを留置する方法の3通りの方法で肺動脈弁逆流モデルを作成し、モデルとしての再現性の確認を行った。また、肺動脈逆流モデル作成後一定期間経過時点で、導管の結紮、固定糸の切除、ステントの回収により肺動脈逆流を制御可能かどうかについて検討する。

非侵襲的右室機能評価方法の検討

肺動脈逆流モデルにおいて、心臓超音波、MRI、コンダクタンスカテーテル、Swan-Ganzカテーテルを用いて、右心室収縮能、右心室容量、拡張末期圧を評価する。これら複数の検査で得られた右心室容量の相関を調べるとともに、犠牲死させたのちに大動脈基部に

塩化カリウムを注入し、心筋が弛緩した状態で実際に右心室容量を測定し、どの検査が実際の値を最もよく反映しているかを検討する。また、肺動脈弁逆流による右室拡大が不可逆となる時点を突き止める

肺動脈弁逆流モデル作成後、2週間、4週間、6週間の時点で、再手術による肺動脈逆流を制御し、同時に右室心筋生検を行う。その後、上記の心機能評価を経時的に行い、右室機能の改善の有無を評価する。この検討により、右心室機能低下が不可逆となる時期を明らかにする。また、右室心筋組織を用いて、以下の病理組織学的および分子生物学的解析を行うことにより、右心室機能低下の可逆性を最もよく反映する組織学的、分子生物学的マーカーを明らかにする。

病理組織学的検討

1. 心筋細胞径：HE染色
2. 組織繊維化：Masson Trichrome染色
3. 心筋細胞アポトーシス：TUNEL染色

分子生物学的検討

心筋組織よりm-RNAを抽出し、RT-PCRにより以下の発現を検討する

1. 心不全関連蛋白：
BNP, SERCA-2a, Phospholamban
2. 心筋肥大、繊維化関連蛋白：
Chymase, ACE
3. アポトーシス関連蛋白：
bcl-2, Caspase

4. 研究成果

本研究では、ハイブリッドビーグルに対し、人工血管を用いて右室肺動脈バイパスを置く方法、肺動脈基部外側から運針して肺動脈弁を肺動脈壁に縫着する方法、肺動脈基部に回収可能なステントを留置する方法の3通りの方法で肺動脈弁逆流モデルを作り、右室拡大の様子を観察した。

およびの方法においては、肺動脈弁逆流と右室拡大を起こすことができたが、いずれの方法も修復手術によって肺動脈弁逆流を止めるに至らなかった。

一方、の方法を用いたモデルのうち1例で初回手術から2週間後に修復手術を行ったところ、肺動脈弁逆流が減少し、右室径・右室容量の減少を認めため、の方法により再現性の確認を行った。しかし、肺動脈逆流の修復において再現性は得られず、右室拡大モデルの作成に留まった。そのため、代替的な検討、評価として病理組織学的手法および生化学的アプローチによる右室心筋の不可逆性評価を行うこととした。病理組織学的検討として、心筋細胞径(HE染色)、組織繊維化(Masson Trichrome染色)、心筋細胞アポトーシス(TUNEL染色)による評価を行った。

9頭のビーグル犬(オス・体重13kg~15kg,

PI 群 6 頭・sham 群 3 頭) を用いた。全身麻酔下に左第 3 肋間で開胸、肺動脈基部に外膜側から肺動脈弁尖を拾うように運針しながら単結節縫合を行うことで、肺動脈弁逆流を作成した。術後 4 週、8 週、12 週で心臓超音波検査による心機能評価および、右室・左室の心筋生検による組織学的評価を行った。

術後の心臓超音波検査では、肺動脈逆流血流時間積分値(PIVTI); 術直後 21.5 ± 7.7 cm, 4 週後 26.1 ± 10.9 cm, 8 週後 35.5 ± 9.1 cm, 12 週後 32.75 ± 10.6 cm の PI が生じており、右室拡大 (RVd; 術前 vs 12 週後 = 18.85 ± 1.98 mm vs 23.76 ± 2.85 mm, $p=0.01$ 、12 週後の PI 群 vs sham 群 = 23.76 ± 2.85 mm vs 18.77 ± 1.56 mm, $p=0.02$) および左室径の縮小傾向 (LVd; 術前 vs 12 週後 = 24.83 ± 3.13 mm vs 20.93 ± 2.84 mm, $p=0.04$ 、12 週後の PI 群 vs sham 群 = 20.93 ± 2.84 mm vs 28.93 ± 2.49 , $p < 0.01$) を示した。PI 群で、術後 12 週の右室拡張末期容量は術前の 1.75 ± 0.58 倍に拡大していた。組織学的には、線維化の程度、心筋線維径は術前、術後で有意差はなかった。イヌを用いた、肺動脈弁逆流・右室拡大モデルを作成することに成功した。今回、右室容積は臨床的に PVR の適応とされる正常の 1.5 倍以上となったが、組織学的には右室心筋・左室心筋ともに、有意な変化は認められなかった。肺動脈逆流制御および不可逆性の検討について目標に達することはできなかったが、本肺動脈逆流モデルは臨床条件に近い実験・観察および組織学的評価が可能であり、今後慢性的な肺動脈逆流および右心不全での病態解明に有用と考えられた。

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 3 件)

Uehara K, Marui A, Nagata Y, Sato M, Takeda T, Ikeda T, Sakata R, Inoue K. A novel detachable filter to prevent thrombo-embolism during endovascular surgery. J Thorac Cardiovasc Surg. 144(6): 1399-403, 2012. (査読有)

Hirata T, Akagi K, Baba S, Tsurumi F, Nakata T, et al. Left pulmonary artery banding to repair ipsilateral diffuse pulmonary arteriovenous fistula. J Cardiothorac Surg. 7:77, 2012.(査読有)

Nakata T, Ikeda T, et al. Pulmonary atresia with ventricular septal defect with pulmonary sequestration. Asian Cardiovasc Thorac Ann. 21(4):460-3, 2013.(査読有)

[学会発表](計 4 件)

中田朋宏、池田 義、三和千里、山崎和裕、丸井 晃、南方謙二、武田崇秀、坂田隆造. 右肺上葉切除を同時施行した VSD の 1 例、第 55 回関西胸部外科学会学術集会(大阪) 2012.6.21-22

中田朋宏、池田 義、土井 拓、馬場志郎、平田拓也、三和千里、山崎和裕、丸井 晃、南方謙二、武田崇秀、坂田隆造. 先天性の他臓器疾患を合併した先天性心疾患に対する治療戦略、第 48 回日本小児循環器学会総会・学術集会(京都) 2012.7.5-7

Nakata T, Ikeda T, Doi H, Baba S, Hirata T, Sakata R. EXPERIENCE OF OK-432 FOR INTRACTABLE PLEURAL EFFUSION IN NEONATAL PATIENTS AFTER OPEN HEART SURGERY The 21st annual meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery(Kobe, Japan) 2013.4.4-4.7

高井文恵、池田義、肺動脈不全による右心機能低下の不可逆性に関する検討。第 67 回日本胸部外科学術集会(福岡) 2014.9.30-10.3

[図書](計 0 件)

なし

[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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://www.kyoto-cvs.jp/study/03/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

中田朋宏 (NAKATA TOMOHIRO)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：00559685

(2)研究分担者

池田 義 (IKEDA TADASHI)
京都大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：40281092
三和 千里 (MIWA SENRI)
京都大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：10359812

(3)連携研究者

()

研究者番号：