

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350588

研究課題名(和文) 心筋内中性脂肪測定法を用いた新規運動プログラム評価法の確立と臨床応用

研究課題名(英文) Evaluation and clinical application of exercise program by using a novel measuring method for myocardial triglyceride content

研究代表者

島田 和典 (Shimada, Kazunori)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・先任准教授

研究者番号：60327814

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、¹H-magnetic resonance spectroscopy (MRS) 法により心筋内中性脂肪(TG)量を測定し臨床応用することである。健康人の心筋TG量は平均0.85%であった。心筋TG量は、体脂肪率や血中TG値と正相関、嫌気性代謝閾値や左室収縮末期容積と負の相関を認めた。高血圧性心疾患の心筋TG量は、肥大型心筋症例に比し有意に高値であり、左室容積と高血圧性心疾患または肥大型心筋症の診断は心筋TG量の独立した因子であった。さらに、心臓リハビリテーションは心筋TG量を低下させる可能性が示唆された。以上より、MRS法による心筋TG量測定は有用であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) enables to assess ectopic fat. We evaluated myocardial triglyceride (MTG) content measured by 1H-MRS in apparently healthy subjects and patients with left ventricular (LV) hypertrophy. The mean MTG content was 0.85% in healthy subjects. The MTG content was significantly associated with the percent body fat and serum TG, anaerobic threshold, and LV end-systolic volume. The MTG content was significantly higher in the hypertensive heart disease (HHD) group than in the hypertrophic cardiomyopathy (HCM) group. In a multivariate analysis, LV mass volume and diagnosis of HCM or HHD were independent factors of the MTG content. Cardiac rehabilitation could reduce MTG content. 1H-MRS may be useful for assessing the associations between the MTG content and various clinical parameters, including those reflecting obesity, metabolic disorders, cardiac morphology and exercise capacity, noninvasively.

研究分野：循環器病学

キーワード：心筋内中性脂肪 異所性脂肪 心筋MRS法 心臓リハビリテーション

1. 研究開始当初の背景

(1) “心血管代謝症候群”の増加、その原因としての異所性脂肪蓄積の役割、治療の問題点：わが国における急速な高齢化、動物性脂質摂取量の増加や身体活動度低下を特徴とする生活習慣の変化は、心血管疾患を増加させ、その治療と予防法の確立は急務である。心血管疾患の発症や進展は、脂質代謝異常・糖代謝異常・慢性炎症等の代謝異常と密接に関連し“心血管代謝症候群”としての側面を有する。一方、異所性脂肪は、皮下脂肪・内臓脂肪に次ぐ第三の脂肪といわれ、その脂肪毒性が、糖尿病、脂質異常症、心血管疾患発症の原因として注目されている。心血管疾患に対する種々の薬物治療、カテーテル治療や外科手術の有用性は明らかであるが、運動習慣の実践を核とする生活習慣の改善は、“心血管代謝症候群”の予防や治療に必須である。しかしその実践は容易でなく、実際に、心臓リハビリテーション実施率は未だ低率である。

(2) 異所性脂肪蓄積の評価法、心筋¹H-MRS法の臨床的有用性：心筋細胞は脂肪酸をエネルギー源として利用し、その脂肪酸はグリセリンと結合し中性脂肪(TG)として主に脂肪組織に蓄積され、心筋内にも存在する。我々が本邦で初めて確立した¹H-MRS法を用いることにより、様々な心血管疾患の病態と心筋内TG量との関連、心臓リハビリテーションの中核である運動療法や栄養指導、薬物治療効果の判定が可能になると考えられる。

(3) 心臓リハビリテーションの臨床的重要性、その未解決の問題点：心臓リハビリテーションは、早期の離床や社会復帰、危険因子やQOLの改善、生命予後改善効果を有する。我々は、回復期心臓リハビリテーションが脚筋力や運動耐容能を増加させること、高齢冠動脈患者の維持期心臓リハビリテーションは、冠危険因子の是正、QOLの改善、長期予後の改善に有効であることを報告した。また、運動耐容能の改善と脚筋力の改善とは関連するが、糖尿病症例では非糖尿病例に比べ筋肉量や筋力が低値で、心臓リハビリテーション後の筋肉量の改善も低いことを報告した。しかし、心臓リハビリテーションにおける心筋内TG量測定の意義とその有用性は明らかではない。

(4) 心血管疾患における¹H-MRS法による心筋TG量測定、国内外における研究の動向：これまで、脳、肝臓、骨格筋における¹H-MRS法の有用性は報告され、腫瘍や組織の性状分析に応用されている。海外では、心筋¹H-MRS法を用いた動物モデルの研究や、心筋内の脂質蓄積と糖尿病との関連、左室収縮能や左室拡張能との関連等を数グループが報告している。本邦では¹H-MRS法による心筋内TG量測定の報告はなかった。我々は、アスリートの生理的心肥大すなわちスポーツ心臓では、健康人と比較して心筋内TG量は有意に低値であり、左室リモデリングと関連することを初めて報告した。一方、低脂肪

食摂取で心筋内TG量はむしろ増加することも報告されており、その臨床的な測定意義は十分に明らかにされていない。

(5) 心筋TG量測定と心血管代謝症候群の予防、新規心臓リハビリテーションプログラムの開発：日本人は、皮下脂肪の貯蔵能が遺伝的に低いため異所性脂肪が蓄積しやすい。現在、心筋、骨格筋、肝臓の¹H-MRS法によるTG量同時測定を行い、心血管代謝症候群における異所性脂肪蓄積の意義、新規運動プログラムの検討を進めている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、心血管疾患における¹H-MRS法を用いた心筋TG量測定の意義を基礎的・臨床的に検証し、異所性脂肪蓄積に対する新規評価法を運動プログラムも含めた治療介入の効果判定に応用することである。非侵襲的心筋TG量測定の臨床応用は、心血管疾患の発症や進展予防そして新規心臓リハビリテーションプログラムの開発にも役立つ。ひいては国民健康の維持増進、心臓リハビリテーションも含めた医療技術の向上にも貢献すると考えられる。

3. 研究の方法

(1) ¹H-MRS法を用いて心血管疾患における心筋TG量を測定し、臨床的意義を検討する：種々の心血管疾患(心筋梗塞、狭心症、高血圧性心疾患、肥大型心筋症、拡張型心筋症、大動脈弁狭窄症)における心筋内TG量、脂質・糖代謝関連指標、心機能(MRIによる心形態・収縮能・拡張能)、骨格筋量(インピーダンス法)、筋力(握力、Cybexによる下肢筋力)、運動耐容能(心肺運動負荷試験によるAT、VO₂max)、血管内皮機能との関連を解析する。さらに、種々の心血管疾患(心筋梗塞、狭心症、高血圧性心疾患、肥大型心筋症、拡張型心筋症、大動脈弁狭窄症)における心筋内TG量、骨格筋及び肝臓内TG量を同時測定し、上記の脂質・糖代謝関連指標、心機能、骨格筋量、筋力、運動耐容能との関連を横断的に解析する。また、心臓リハビリテーション施行症例において、心筋内TG量の測定を行う。

(2) 心筋TG量と心血管疾患との関連を基礎的に検討する：心筋梗塞による心筋リモデリングおよび代償性心肥大モデルを作成し、心肥大における心機能、炎症や酸化ストレスも含めた代謝系の変化、心筋TG量との関連を検討する。具体的には、C57BL/6雄マウスを用いて左前下行枝結紮による心筋梗塞モデルを作成し、偽手術を行ったコントロール群と、前、2週後、4週後に心機能(左室拡張末期径、左室収縮末期径、既出率、左室内腔短縮率)の測定、組織学的評価(梗塞範囲、梗塞部および梗塞周囲部の炎症性細胞浸潤、繊維化、心筋TG量)、遺伝子発現(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-27、TGF- β 1、TGF- β 2、Collagen I、Collagen III、connective tissue

growth factor: CTGF) 血中サイトカイン濃度 (TNF- α , IL-6) を測定、比較検討する。次に、上述のグループをそれぞれホイールケージによる自発的運動介入群と非介入群に分割し、上記指標を測定、比較検討する。また、C57BL/6 雄マウスに対してアンジオテンシン II または生理食塩水を浸透圧ポンプにより 4 週間投与し、心機能の変化、心筋や骨格筋の肥大または萎縮の形態変化、炎症や酸化ストレスさらに筋細胞の合成や分解に關与する種々の遺伝子やタンパク発現、心筋 TG 量との関連について比較検討する。

(3) 研究成果の発表・意見交換：研究成果について、国内外の研究者と意見交換を行う。得られた研究成果等は、随時、関連学会・学会誌等で積極的に発信する。

4. 研究成果

(1) 健常人における $^1\text{H-MRS}$ 法を用いた心筋 TG 量測定の意義：健常人 37 例を対象に、 $^1\text{H-MRS}$ 法を用いて心筋 TG 量を測定し、その臨床的意義を検討した。心筋 TG 量は $0.85 \pm 0.40\%$ であった。心筋 TG 量は、体脂肪率 ($r = 0.39, P = 0.02$) 血中 TG 値 ($r = 0.35, P = 0.001$) と有意な正相関、推定糸球体濾過率 ($r = -0.37, P = 0.02$) 嫌気性代謝閾値 ($r = -0.36, P = 0.02$) 最大酸素摂取量 ($r = -0.40, P = 0.01$) 左室収縮末期容積 ($r = -0.42, P = 0.01$) と有意な負の相関を認めた。血管機能 (Cardio-ankle vascular index: CAVI) ($r = 0.16, P = 0.37$) や身体活動量 (International Physical Activity Questionnaire: IPAQ) スコア ($r = -0.25, P = 0.14$) とは相関を認めなかった。心筋 TG 量と血中 TG 値は、年齢やインスリン抵抗性指標と関連することから、それらの因子を含めた多変量解析を行ったところ、左室収縮末期容積は、心筋 TG 量の独立した規定因子であった。以上より、 $^1\text{H-MRS}$ 法による心筋 TG 量は、肥満、種々の代謝異常、心臓の形態、運動耐容能と関連し、その有用性が示唆された。

(2) 左室肥大症例における $^1\text{H-MRS}$ 法を用いた心筋 TG 量測定の意義：肥大型心筋症 25 例、高血圧性心疾患 10 例に対し $^1\text{H-MRS}$ 法を用いて心筋 TG 量を測定し、その臨床的意義を検討した。肥大型心筋症例の心筋 TG 量は $1.09 \pm 0.72\%$ 、高血圧性心疾患例は $2.14 \pm 1.29\%$ であり、高血圧性心疾患例の心筋 TG 量は肥大型心筋症例に比較し有意に高値であった ($P < 0.001$)。高血圧性心疾患例では、ガドリニウム遅延造影 (LGE) は認めず、肥大型心筋症 5 例に LGE を認めた。肥大型心筋症例において、LGE 陽性と LGE 陰性とは心筋 TG 量に有意差を認めなかった ($1.22 \pm 0.72\%$ vs. $0.64 \pm 0.49\%$, $P = 0.20$)。肥大型心筋症例の心筋 TG 量は左室重量 ($r = -0.41, P < 0.04$)、高血圧性心疾患例の心筋 TG 量は左室駆出量 ($r = -0.64, P < 0.05$) と有意な負の相関を認めた。多変量解析では、左室容

積と肥大型心筋症または高血圧性心疾患の診断が心筋 TG 量を規定する独立した因子であった。以上より、肥大型心筋症や高血圧性心疾患例は共に左室肥大を呈する疾患であるが、心筋 TG 量は有意に異なり、心形態や心機能との関連も異なることから、心筋における脂肪酸代謝やその蓄積に疾患特異性が存在することが示唆された。

(3) 心臓リハビリテーション施行例における $^1\text{H-MRS}$ 法を用いた心筋 TG 量の変化：狭心症例、心筋梗塞例、肥大型心筋症例、大動脈弁狭窄症例、各種代謝性異常を有する心筋症例に対して $^1\text{H-MRS}$ 法を用いた心筋 TG 量測定を行った。心筋梗塞症例に対する心臓リハビリテーションにより心筋 TG 量が低下する傾向を認めた。大動脈弁狭窄症例では、心筋 TG 量が高値の傾向を認め、さらに心臓リハビリテーション後に心筋 TG 量が低下する可能性が示唆され、症例数を重ねて検討を継続する必要があると考えられた。また、一部の代謝性異常を有する心筋症例では心筋 TG 量は極めて高値であることを見出した。心筋 TG 量の蓄積に關与する代謝異常との関連も含めて、心臓リハビリテーション後の変化を経時的に検討する必要があると考えられ、測定を継続している。

(4) 健常人における $^1\text{H-MRS}$ 法を用いた心筋 TG 量、骨格筋 TG 量、肝臓内 TG 量とそれぞれの関連：健常人 39 例を対象に、 $^1\text{H-MRS}$ 法を用いて心筋 TG 量、骨格筋 TG 量、肝臓内 TG 量を測定し、それぞれの関連を検討した。心筋 TG 量、ヒラメ筋 TG 量、肝臓内 TG 量、皮下脂肪量とは有意な関連を認めなかった。しかし、心筋 TG 量は、血中 TG 値 ($r = 0.37, P < 0.05$)、HDL コレステロール値 ($r = -0.31, P < 0.05$)、75g 糖負荷試験時の 30 分インスリン値 ($r = 0.33, P < 0.05$)、60 分インスリン値 ($r = 0.32, P < 0.05$)、左室収縮末期容積 ($r = -0.42, P < 0.05$)、前脛骨筋 TG 量 ($r = 0.36, P < 0.05$) に有意な関連を認めた。前脛骨筋 TG 量は、体脂肪量 ($r = 0.30, P < 0.05$)、腹囲 ($r = 0.36, P < 0.05$)、アラニンアミノ基転移酵素 ($r = 0.41, P < 0.05$)、酸化 LDL 濃度 ($r = 0.37, P < 0.05$)、血中アディポネクチン値 ($r = 0.30, P < 0.05$)、内臓脂肪量 ($r = 0.31, P < 0.05$) と関連を認めた。前脛骨筋 TG 量により 3 群に分割し検討したところ、前脛骨筋 TG 量高値群においてアディポネクチン値と心筋 TG 量は有意に低値であった ($P < 0.05$)。以上より、心筋 TG 量は、前脛骨筋 TG 量やアディポネクチンと関連を認めたことから、アディポネクチンが心筋 TG 量や前脛骨筋 TG 量を規定する因子である可能性が示唆された。

(5) 心筋梗塞による心筋リモデリングおよび代償性心肥大モデルを用いた基礎的検討：C57BL/6 雄マウスを用いて左前下行枝結紮による心筋梗塞モデルを作成した。4 週間において、心筋梗塞群はコントロール群に比較し、左室拡張末期径と左室拡張末期径は有意

に高値で、左室駆出率は有意に低値であった。組織学的には、梗塞周辺部において Mac-3 陽性細胞数が有意に増加したが、CD3 陽性細胞数は両群間で有意差を認めなかった。梗塞部や梗塞周辺部における TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-27 の発現は高値であり、TGF- β 1、TGF- β 2、Collagen I、Collagen III、CTGF の発現も高値であった。梗塞部、梗塞周辺部における TG と TG を構成するリン脂質の組成および心筋リモデリングとの関連について現在詳細な解析を継続している。さらに、心筋梗塞モデルに対する自発的運動の効果を検討した。心筋梗塞群とコントロール群をホイールゲージによる自発運動群と非運動群に分割し、心筋リモデリングや組織学的変化や遺伝子発現を検討した。心筋梗塞+自発運動群は、心筋梗塞+非運動群に比較し、左室駆出率に有意な変化は認めなかったが、左室拡張末期径と左室収縮末期径は有意に低値であり、左室リモデリング抑制効果があると考えられた。心筋梗塞+自発運動群は、心筋梗塞+非運動群に比較し、梗塞周辺部における Mac-3 陽性細胞数が有意に低値、梗塞部や梗塞周辺部における TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-27 の発現も有意に低値、TGF- β 2、Collagen I、Collagen III、and CTGF の発現も有意に低値であった。これらの群における梗塞部、梗塞周辺部における TG と TG を構成するリン脂質の組成について現在詳細な解析を行っている。以上より、心筋梗塞に伴う左室リモデリング抑制効果は、抗炎症、抗線維化による機序が示唆された。

(6) アンジオテンシン II 投与による心肥大および骨格筋萎縮モデルマウスを用いた基礎的検討: C57BL/6 雄マウスにおいてアンジオテンシン II または生理食塩水を浸透圧ポンプにより 4 週間投与し、心筋および骨格筋形態、酸化ストレスを含む種々の遺伝子発現を検討した。アンジオテンシン II 投与群では、コントロール群に比較して、心肥大と骨格筋萎縮を認めた。アンジオテンシン II 投与群の骨格筋は、タンパク分解に働く muscle RING finger-1 (MuRF-1) や muscle atrophy F-box (atrogin-1) の発現が亢進していた。IL-6 や TNF- α 等の炎症性サイトカインレベルには有意差を認めなかった。現在、心筋における酸化ストレスや炎症レベル、TG や TG を構成するリン脂質の組成について詳細な解析を継続している。

(7) 研究成果の発表・意見交換: 以上の研究成果について、国内学会(日本循環器学会、日本心臓病学会、日本動脈硬化学会、日本心臓リハビリテーション学会等)、海外学会(American Heart Association、European Society of Cardiology、EuroPREVENT 等)に参加して、国内外の研究者と積極的に意見交換を行った。さらに、英文原著論文や英文総説、さらに和文総説として報告し、それらの結果を公表した。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計16件)

Sai E, Shimada K, Yokoyama T, Hiki M, Sato S, Hamasaki N, Maruyama M, Morimoto R, Miyazaki T, Fujimoto S, Tamura Y, Aoki S, Watada H, Kawamori R, Daida H. Myocardial triglyceride content in patients with left ventricular hypertrophy: Comparison between hypertensive heart disease and hypertrophic cardiomyopathy. *Heart Vessels*. 32 : 166-174;2017. (査読有) doi: 10.1007/s00380-016-0844-8.

Shimada K, Daida H. Are there any "ultimate" practices for preventing atherosclerotic diseases? *Juntendo Medical Journal*. 62:217-223;2016. (査読有) doi: 10.14789/jmj.62.217

Daida H, Nishitani-Yokoyama M, Shimada K. Current Status and Future Directions for Cardiac Rehabilitation in Japan. *Juntendo Medical Journal*. 62 (Supple 1):29-37;2016. (査読有) http://www.juntendo.ac.jp/albums/abm.php?f=abm00016159.pdf&n=p22-74_Lectures.pdf

Nishitani-Yokoyama M, Miyauchi K, Shimada K, Miyazaki T, Ogita M, Okazaki S, Shioya M, Koba S, Tsujita H, Kobayashi Y, Daida H. Effects of phase II comprehensive cardiac rehabilitation on coronary plaque volume after acute coronary syndrome. *Int Heart J*. 56:597-604.2015. (査読有) doi: 10.1536/ihj.15-049.

Sai E, Shimada K, Yokoyama T, Sato S, Nishizaki Y, Miyazaki T, Hiki M, Tamura Y, Aoki S, Watada H, Kawamori R, Daida H. Evaluation of myocardial triglyceride accumulation assessed by ¹H-magnetic resonance spectroscopy in apparently healthy Japanese subjects. *Intern Med*. 54:367-373;2015. (査読有) doi: 10.2169/internalmedicine.54.3024.

(学会発表)(計10件)

Yokoyama M, Shimada K, Hoshino Y, Takahashi S, Shiozawa T, Aikawa T, Ouchi S, Fukao K, Iwata H, Miyazaki T, Shimada A, Yamamoto T, Amano A, Daida H. The Validity of the "Kihon Check-list" as an Index of frailty and fatty Acids in Elderly Patients Participating Cardiac Rehabilitation. 81th Annual Meeting of JCS, 2017.3.18. Kanazawa

國本充洋, 島田和典, 横山美帆, 星野祐里子, 高橋秀平, 塩澤知之, 相川達郎, 深尾宏祐, 山田みき, 本澤晶雄, 代田浩之. 回復期心臓リハビリテーション患者における血管機能指標と運動耐容能との検討. 第 22 回日

本心臓リハビリテーション学会学術集会抄録集. P309. 平成 28 年 7 月 17 日 丸の内 東京

島田和典, 横山美帆, 蔡榮龍, 比企誠, 宮崎哲朗, 代田浩之. 糖尿病患者における心臓リハビリテーションの有効性とその課題. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 シンポジウム 19 運動療法の現在と未来. 平成 28 年 5 月 20 日 京都市

Sai E, Shimada K, Yokoyama T, Hiki M, Miyazak T, Fujimoto S, Daida H. Myocardial triglyceride content in patients with hypertensive heart disease and hypertrophic cardiomyopathy; assessed by 1H-Magnetic Resonance Spectroscopy. 79th Annual Meeting of JCS, 2015.4.26. Nakanoshima Osaka

横山美帆, 宮内克己, 島田和典, 蔡榮龍, 荻田学, 久米淳美, 深尾宏祐, 吉原琢磨, 岡崎真也, 塩谷みき, 代田浩之. 急性冠症候群患者の冠動脈プラーク退縮と体重変化との関連. 第 20 回日本心臓リハビリテーション学会学術集会. 平成 26 年 7 月 19 日 京都市

〔図書〕(計 10 件)

島田和典, 西崎祐史, 吉原琢磨, 塩澤知之, 相川達郎, 大内翔平, 門口智泰, Hamad Al Shahi, 喜多村健一, 高橋秀平, 宮崎哲朗, 代田浩之. 心血管疾患における DHA・EPA の臨床的有用性. 食品と開発. 52:33-35;2017.

島田和典, 西崎祐史, 吉原琢磨, 相川達郎, 大内翔平, 塩澤知之, 門口智泰, 高橋秀平, 住吉克彦, 宮崎哲朗, 代田浩之. 心血管疾患予防における多価不飽和脂肪酸の臨床的有用性. 成人病と生活習慣病. 45:539-544;2016.

島田和典. リハビリテーションのエビデンス構築に必要な点. 心不全患者に寄り添う包括的心臓リハビリテーションを極める. 文光堂. 東京. 28-31; 2016.

島田和典, 高橋秀平, 横山美帆. 糖尿病を合併した心臓外科術後患者のリハビリテーション. Journal of Clinical Rehabilitation. 24:1130-1137;2015.

島田和典, 門口智泰, Al Shahi, 塩澤知之. 炎症を標的とした介入のあり方. 呼吸と循環. 63:833-839;2015.

6. 研究組織

(1)研究代表者

島田 和典 (SHIMADA, Kazunori)
順天堂大学大学院 医学研究科 准教授
研究者番号: 60327814

(2)連携研究者

田村 好史 (TAMURA, Yoshifumi)
順天堂大学大学院 医学研究科 准教授
研究者番号: 80420834

(4)研究協力者

山下 晴世 (YAMASHITA, Haruyo)
順天堂大学大学院 医学研究科 助教
研究者番号: 90534892

蔡 榮龍 (SAI, Eiryu)
順天堂大学大学院 医学研究科 助教
研究者番号: 30747415