

### 虚血性心筋症に対する経皮的冠動脈形成術の実態調査 多施設共同後ろ向き研究

大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学  
中村 大輔

#### 背景

心不全入院患者数は 2015 年度から 2019 年度にかけて増加の一途をたどっており、そのうち虚血性心疾患が関わる心不全の割合は 40%から 50%といわれている。また、虚血性心筋症 (ICM) の患者の予後はこの 10 年でも全く改善しておらず、非虚血性心不全よりも予後が悪いと報告されている。

ICM 患者に対する治療選択として、冠動脈血行再建は薬物治療単独の場合と比較し、遠隔期生存率が高いことから有効であり、日本循環器学会ガイドラインでは推奨されている。しかしながら、至適な血行再建の方法については未だ議論がなされており、統一した治療方針は定まっていないのが現状である。

STICH trial は ICM に対する最初でかつ唯一の前向き無作為試験であり、LVEF35%以下の冠動脈疾患患者 1,212 例を対象に内科的治療群 (n=602) と内科的治療 + 冠動脈バイパス (CABG) 群 (n=610) を比較した。平均観察期間 5.1 年で、一次エンドポイントである総死亡は両群で有意差を認めなかったが 10 年の観察期間では死亡率において CABG 群で良好な経過を示した。

一方 ICM に対し、経皮的冠動脈形成術 (PCI) も広くおこなわれており、PCI 後一部の症例で心機能が回復する症例を経験するが、ICM に対する PCI 後の心機能推移、臨床予後への影響については十分には検証されていない。

#### 目的

ICM に対する PCI 後左室リバーズリモデリング (LVRR) に関連する因子を検証すること。また、LVRR が予後の改善につながるかを検証すること。

#### 対象

2016年1月より2018年12月末日までの間に、研究参加施設で安定冠動脈病変に対しPCIが施行された患者のうち、PCI前に左室駆出率50%未満でPCI後1年以内に超音波検査にてフォローされている391例を対象とした。

#### 研究の方法

本研究は後ろ向き多施設共同研究である。上記対象例のうち左室駆出率 50%未満の患者背景 (年齢・性別・併存疾患など)、臨床検査所見 (心電図・経胸壁心臓超音波検査・血液検査など)、

投薬情報、PCIに関する情報を収集した。

また、臨床予後として主要評価項目:MACE: Major Adverse Cardiac Event=全死亡、心不全再入院の複合エンドポイントを収集した。

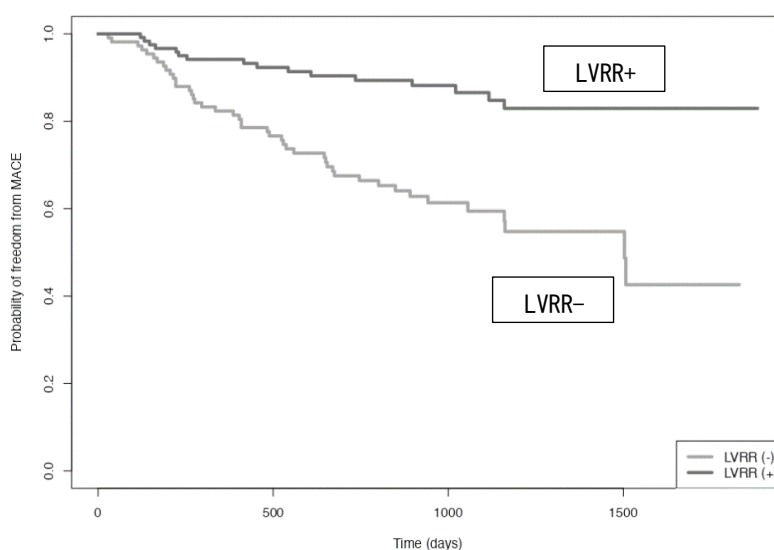
LVRRは術前より術後の心臓超音波検査の左室駆出率 (Ejection fraction: EF)が10%以上改善した症例と定義した。

## 結果

LVRRは391例のうち162例(41.4%)認めた。多変量解析の結果、下の表の通りLVRRはEFが低い、心筋梗塞の既往がない、入院時β遮断薬を内服していない症例で認めやすい傾向であった。

	Odds ratio	95% lower CI	95% upper CI	p_value
EF	4.98	3.11	8.17	< 0.001
年齢	1.01	0.99	1.03	0.31
男性	0.64	0.36	1.11	0.11
糖尿病	0.83	0.53	1.31	0.42
心筋梗塞既往	0.58	0.36	0.93	0.02
ACE-i/ARB	1.62	1.00	2.64	0.05
スタチン	0.99	0.59	1.69	0.98
β遮断薬	0.59	0.36	0.96	0.04
血液透析	0.65	0.31	1.32	0.24

また、下図の通りLVRRした症例の方が、MACEの率は有意に少なかった。



今後は、心電図、胸部Xp、心筋シンチグラフィ、心臓超音波検査等の画像収集を含めて、多施設にて前向きにICMレジストリーを計画している。

### マイトファジー制御分子 Bcl2-L-13 の機能解明による新規心不全治療開発への挑戦

大阪大学大学院医学系研究科 保健学専攻生体病態情報科学講座

(現：堺市立総合医療センター 循環器内科)

上田 宏達

心不全は未だ予後不良の疾患であり、新規治療標的も定まっていない。不全心では異常ミトコンドリアが蓄積しているが、そのメカニズムは不明である。我々はオートファジーに着目し、TLR9 阻害薬の心不全における治療効果や鉄代謝とオートファジーの関係につき明らかにしてきた (Ueda et al. JACC Basic Transl Sci. 2019, Ito et al. Elife 2021)。また、ミトコンドリア分解機構に着目し、マイトファジー関連タンパク質である Bcl2 like protein 13 (Bcl2-L-13) を同定した。

Bcl2-L-13 は、酵母におけるマイトファジー必須分子である Atg32 を欠失した酵母への導入によりマイトファジーを誘導することが可能であり、Bcl2-L-13 が Atg32 の哺乳類における機能的ホモログであることが強く示唆された。また、我々は Bcl2-L-13 が哺乳類細胞においてミトコンドリア分裂誘導とマイトファジー誘導の二つの機能を併せ持つことを明らかにした (Murakawa et al. Nature Comm. 2015)。

次に、我々は Bcl2-L-13 の心臓における機能を検討するために Bcl2-L-13 ノックアウトマウスを作成した。圧負荷に対する応答を検討するために横行大動脈結紮術 (TAC 手術) を施行したところ、術後 4 週で野生型マウスが心肥大を呈したものの左室短縮率 (FS) は保たれていたのに対し、Bcl2-L-13 ノックアウトマウスは FS の低下及び左室収縮末期径の増大を認めた。また、野生型マウスでは TAC 手術 4 週後で phospho-Bcl2-L-13 Ser272 のタンパク質レベルの上昇を認めた。以上より Bcl2-L-13 は心臓に対する圧負荷に対しリン酸化により活性化されており、圧負荷に対して心機能を維持するために重要な働きをしていることが示唆された。

今回、我々は以下の内容につき検討した。

- A. Bcl2-L-13 ノックアウトマウスが圧負荷により心機能低下を呈するメカニズムの検討
- B. Bcl2-L-13 のリン酸化キナーゼの同定

#### A.

前述のように Bcl2-L-13 はミトコンドリア分裂を誘導する分子であることから、Bcl2-L-13 のノックアウトが生体でミトコンドリア分裂に対して与える影響について検討した。透過型電子顕

微鏡を用いて 250nm 厚にスライスした左室心筋サンプルを 5000 倍で観察し、1 セクションにつき約 200 個の心筋線維間のミトコンドリアについて FIJI を用いて長径を計測し、度数分布に表して解析した(図 1)。

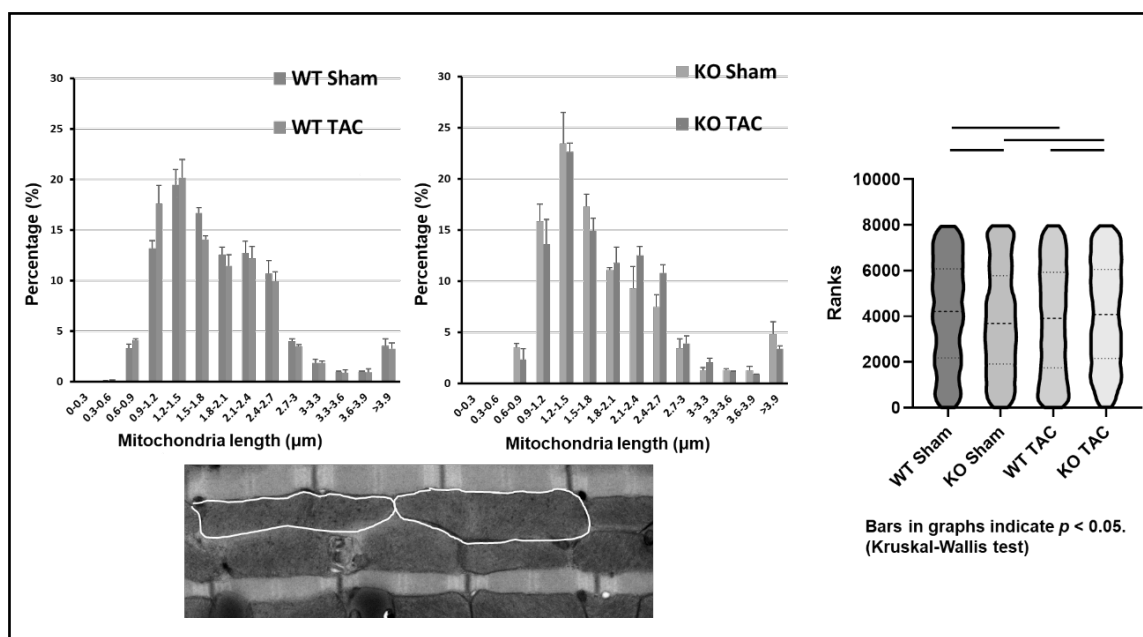


図 1

WT TAC 群は WT sham 群に比して短いミトコンドリアの分布が増加しており、圧負荷によりミトコンドリア分裂が誘導されたことを示している。一方、ノックアウトマウスでは TAC による短いミトコンドリアの分布の増加は認めず、むしろ比較的長いミトコンドリアの分布が増加していた。Bcl2-L-13 のノックアウトによりミトコンドリア分裂が阻害されており、心機能の低下の原因となっていることが示唆された。今後は、心筋細胞におけるミトコンドリア機能評価やリポーターマウスの使用による心筋細胞におけるマイトファジーの評価などの解析を行い、さらに解析を進めていく予定である。

## B.

Bcl2-L-13 Ser272 は前述のように圧負荷に対する心臓のストレス応答に重要な働きをしている可能性が示唆されており、このリン酸化部位の責任キナーゼを同定することは、マイトファジー制御による心不全への介入において重要であると考えられる。我々は、HA-Bcl2-L-13 恒常発現 HEK293 細胞において、脱共役剤である CCCP の投与により Bcl2-L-13 Ser272 のリン酸化が誘導されることを抗リン酸化 Bcl2-L-13 Ser272 抗体を用いた免疫染色により確認した。709 のリン酸化キナーゼに対する siRNA を含む Invitrogen Silencer Human Kinase siRNA Library を使用し、Bcl2-L-13 のリン酸化が抑制されるターゲットを検索した。96 well plate に播種した HA-Bcl2-L-13 恒常発現 HEK293 細胞に 30nM の siRNA を投与し、72 時間後に 15 μM CCCP により刺激した。CCCP 投与 4 時間後に抗リン酸化 Bcl2-L-13 Ser272 抗体を用いた蛍光免疫染色を行った。取得した画像から FIJI を用いてリン酸化 Bcl2-L-13 のシグナルを自動的にカウントした(図 2)。

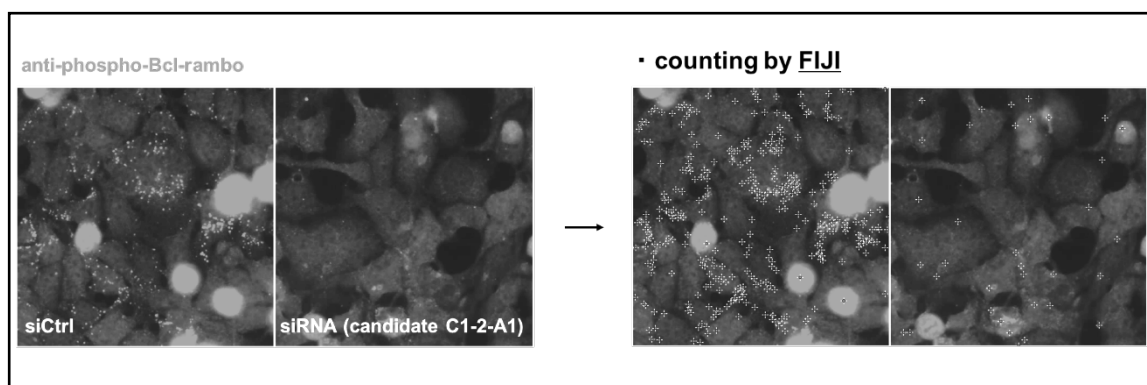


図 2

現在 1 次スクリーニングの途中であるが、さらに候補を絞るために追加のスクリーニングが必要と考えられる。2 次スクリーニングでは、Bcl2-L-13 過剰発現により誘導されるミトファジーをノックダウンにより抑制することができるものを候補分子とする予定である。

### 末梢血単核球細胞(PBMC)の AHR 発現量と AHR 活性を 元にした PAH の新規診断法および予後予測の開発

国立循環器病研究センター研究所 血管生理学部  
(現：りんくう総合医療センター 循環器内科)  
正木 豪

#### 【研究の背景】

肺動脈性肺高血圧症 (Pulmonary Arterial Hypertension: PAH) は肺小動脈に原因不明の血管リモデリング (狭窄や閉塞) をきたして肺動脈圧の上昇から右心不全に至る可能性のある予後不良の厚生労働省指定難病である。近年血管平滑筋の弛緩を機序とする治療薬が使用されているが、重症患者の予後は依然として不良であり、新規治療法の開発が望まれている。

PAH 発症・重症化には、遺伝性素因に加えて環境要因が重要と考えられている。しかしながら、これらの環境要因がどのように PAH の発症・重症化に関わっているのかは、不明な点が多く、この点を明らかにすることは、既存薬とは機序の異なる全く新しい治療薬の開発につながると考えられる。

研究代表者らは、炎症や環境要因への応答に重要である、芳香族炭化水素受容体 (Aryl hydrocarbon receptor: AHR) が PAH を発症・重症化させるメカニズムを明らかにし、PAH 患者血清の AHR 活性化能が PAH の重症度や予後予測因子となり得ることを示してきた (Masaki T et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021; 118 (11): e2023899118)。また、その後、末梢血単核球の AHR mRNA 発現が PAH の診断・治療の新しい指標になる可能性を見出した。

#### 【目的】

PAH 重症化に関わる AHR 発現制御機構を探究し、AHR 発現量と活性に着目した PAH の診断法の開発につなげることを目的とする。

#### 【方法】

末梢血単核球における AHR 発現量に違いが生じるメカニズムとして、まず、免疫細胞における mRNA 安定化制御に関わる分子に着目した。炎症性サイトカインに関わる mRNA の 3' UTR に結合して、転写後の mRNA の安定化に関わる分子のうち、Regnase-1 の発現は、AHR mRNA と弱く逆相関する傾向を示しており (Unpublish data)、AHR と同様に、PAH 患者及び健常者の PBMC における Regnase-1 の発現量を評価し、PAH の重症度や予後などとの関係を検証した。また、骨髄系細胞で特異的に Regnase-1 の発現を欠損させたマウス (CD11c Cre Zc3h12a Flox マウス) を作製し、肺高血圧症の表現型の検証を行った。

#### 【結果】

PBMC における Regnase-1 の発現は、PAH 患者では、健常者と比較して、有意に減少し、Kaplan-

Meier 法で無イベント（心不全入院、肺移植、死亡）生存率を検討したところ、Regnase-1 の発現が低い群では、予後不良であることが示された（図 1）。また、Regnase-1 と PAH 患者の臨床データの関係性を検討すると、mPAP（平均肺動脈圧）は Regnase-1 発現と逆相関する傾向が見られ、RVEF（右室駆出率）が低値群では、高値群に比べ Regnase-1 発現が有意に低かった。また、血中 BNP 値、尿酸値は Regnase-1 発現と有意に逆相関し、それらの傾向は CTD-PAH 群で顕著であった。

また、ミエロイド系細胞で特異的に Regnase-1 の発現を欠損させたマウス（CD11c Cre Zc3h12a Flox マウス）では、PAH が自然発症（図 2）し、Regnase-1 の発現が低下していた。さらに CD11c Cre Zc3h12a Flox マウスでは、一部肺静脈の閉塞も認められた（Yaku A, Masaki T(8/23), et. al. Circulation. 2022; 146: 1006-22）。以上の結果から、mRNA 分解酵素 Regnase-1 が PAH 病態形成の鍵を握ることが明らかになった。

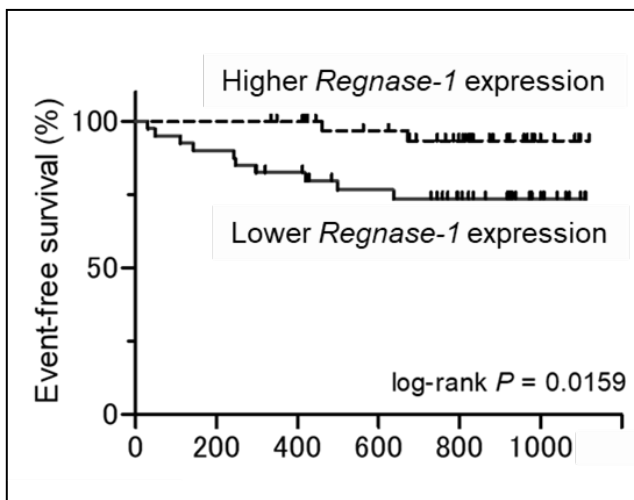


図 1

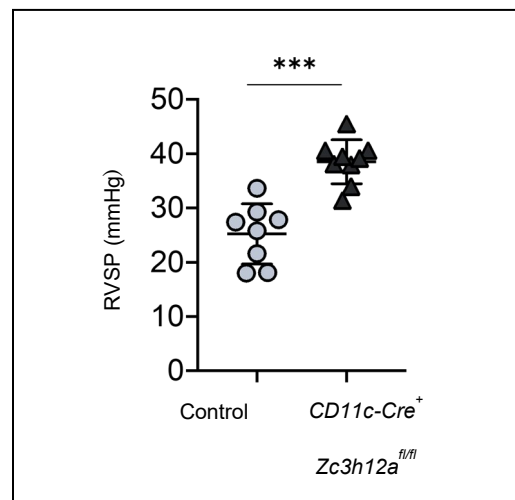


図 2

### 【考察】

AHR と同様に、免疫細胞の炎症性シグナル制御に関わる Regnase-1 の発現低下が、PAH 発症の原因となっている可能性が示唆された。今後さらなる AHR の発現制御機構の解明を進めることにより、コンパニオン診断法の開発を通して、治療の有効な患者群を効率的に抽出していくことが可能になることも期待される。