



Title	虚血性心筋症ラットモデルにおける左室形成術の左室壁応力および心筋リモデリングに対する効果に関する研究
Author(s)	浅井, 英嗣
Description	配架番号 : 2273
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12532号
Issue Date	2017-03-23
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k12532
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65880
Type	doctoral thesis
File Information	Hidetsugu_Asai.pdf



学位論文

虚血性心筋症ラットモデルにおける
左室形成術の左室壁応力および心筋
リモデリングに対する効果に関する研究

**(Effect of Left Ventricular Plication on Wall Stress and Myocardial
Remodeling in a Rat Model of Ischemic Cardiomyopathy)**

2017 年 3 月
北海道大学

浅井 英嗣

学位論文

虚血性心筋症ラットモデルにおける
左室形成術の左室壁応力および心筋
リモデリングに対する効果に関する研究

**(Effect of Left Ventricular Plication on Wall Stress and Myocardial
Remodeling in a Rat Model of Ischemic Cardiomyopathy)**

2017 年 3 月
北海道大学

浅井 英嗣

目次

発表論文目録および学会発表目録	1頁
緒言	2-4頁
略語表	5頁
実験方法	6-10頁
実験結果	11-16頁
考察	17-19頁
総括および結論	20頁
謝辞	21頁
引用文献	22-24 頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Hidetsugu Asai, Yasushige Shingu, Tomoji Yamakawa, Haruki Niwano, Satoru Wakasa, Tomonori Ooka, Hiroki Kato, Tsuyoshi Tachibana, Yoshiro Matsui.
Left Ventricular Plication Reduces Wall Stress and Cardiomyocyte Hypertrophy in A Rat Model of Ischemic Cardiomyopathy
雑誌名 : European Surgical Research
(Eur Surg Res. 2017;58(1-2):69-80. doi: 10.1159/000452682. PMID: 27884008)

本研究の一部は以下の学会で発表した。

1. Hidetsugu Asai, Yasushige Shingu, Tomoshi Yamakawa, Hiroki Niwano, Satoru Wakasa, Hiroki Kato, Tomonori Ooka, Tsuyoshi Tachibana, and Yoshiro Matsui
“Left Ventricular Wall Stress and Remodeling after Left Ventricular Volume Reduction Surgery for Ischemic Cardiomyopathy in Rat”
第 68 回胸部外科学会 2015 年 10 月 19 日 神戸
2. 浅井 英嗣、新宮 康栄、若狭 哲、加藤 裕貴、大岡 智学、橘 剛、松居 喜郎
「ラット虚血性心筋症における左室縮小術後の wall stress と心筋リモデリング」
第 69 回胸部外科学会 2016 年 9 月 29 日 岡山

緒言

① 論文の背景

心臓病は本邦においてがんが続く死因の第二位であり、人口の高齢化に伴い今後も増加することが予想される。なんらかの心臓病により心臓が全身の血液循環を十分に保てなくなった状態が心不全である。心不全には左室駆出率の保たれた心不全と、左室駆出率の低下した心不全がある。国内の報告では前者は主に高血圧が原因の高血圧性心筋症であり（25%）、後者の約半数は冠動脈疾患が原因の虚血性心筋症（40%）でその他の半数が冠動脈疾患以外の原因で駆出率が低下した拡張型心筋症（36%）である¹。拡張型心筋症はウィルスや免疫障害などの非遺伝的要因や細胞骨格蛋白質などの遺伝子突然変異が原因とされ^{2,3}、心内腔の拡大と収縮機能の低下を起こすとされる。一方、虚血性心筋症は心臓への栄養血管である冠動脈の血流不足から収縮機能の低下をきたし心内腔の拡大を起こすとされる。

あらゆる内科的、外科的治療に抵抗性の心筋症による重症心不全患者に対する最終的な治療は心臓移植である。しかしながら、国内におけるドナー（移植臓器提供者）は2016年までの5年間では27-55例/年と増加傾向にはあるが依然として少なく、2016年12月31日現在で556人の心臓移植待機患者が存在する（日本臓器移植ネットワークホームページより）。このため国内では心臓移植が拡張型心筋症や虚血性心筋症などによる末期の心不全患者における一般的な治療とは言い難い。なかでも虚血性心筋症による重症心不全患者には高齢者が多く、糖尿病や腎不全などの合併疾患も多様であり、何より65歳未満と規定されている移植適応となることは少ない。このため非移植外科治療として数十年前から左室形成術が施行され、その臨床効果が報告されてきた⁴。

虚血性心筋症では心筋梗塞が起これば梗塞部位で心筋収縮力不全が生じ、それを補うために健常心筋は過収縮を起こし壁応力（wall stress）が増大、心筋肥大から最終的に収縮不全、心拡大を来としさらに wall stress が上昇する悪循環におちいる。このような虚血性心筋症に対し、「左室形成術」は梗塞部位を排除することによりラプラスの法則から wall stress を低下させ（ラプラスの法則：球体の壁応力は内圧と内径に比例し、壁厚に反比例する）、左室形態の正常化、心収縮能の改善をもたらし心不全の悪循環を断ち切る働きがあるとされドール手術やオーバーラッピング手術を始め臨床的な有効性が示されて来た^{5,6}。しかしながら、2009年の *New England Journal of Medicine* に発表された大規模無作為抽出試験である STICH trial では左室形成術の有効性が否定されたため、依然その適応と意義に関しては議論が絶えない⁷。

② これまでにわかっていること・わかっていないこと

臨床研究でこれまでにわかっていることは左室形成術が急性期には拡張機能を障害する代わりに左室の wall stress を減弱、左室収縮能・効率を改善することである⁸。MRI を用いたシュミレーション研究でも左室形成術は特に梗塞と正常心筋の境界領域での wall stress を減弱するとされる⁹。一方、はじめての欧米を中心とした大規模臨床試験（2009 年 STICH trial⁷）では左室形成術の有効性（運動耐容能・心関連死亡および入院）が否定された。但しこの研究デザインでは従来左室形成術の適応外とされるような左室拡大の程度が軽い症例を多く含むという問題などが指摘されており左室形成術の適応や意義に関しては依然議論の余地がある。ある一定の左室拡大を来した症例群においては左室形成術の効果は十分にあるという研究報告は多々あるが^{10, 11}、臨床研究での問題点は左室形成術に弁修復術や冠動脈血行再建術を同時に施行している場合が多く、単独の左室形成術の効果が判定しにくいこと、心筋生存度（バイアビリティ）が患者ごとに異なる可能性があることなどがあげられる。

基礎研究でこれまでにわかっていることは少ない。ラットを用いた研究で左室形成術の効果（収縮能の改善や脳性ナトリウム利尿ペプチドの減少）は1週間程度認めるが4週間後の慢性期には消失するとする報告や、20週間程度は効果が持続するとする相反する報告がある^{12, 13}。び慢性の左室拡大を伴うモデルか「左室瘤」のような局所的な左室の拡大に対する左室形成術かによって大きく結果が変わってくると考えられる。また、これまでの基礎研究では左室形成術の効果判定として心臓エコーによる収縮能の評価や、脳性ナトリウム利尿ペプチドなどの心筋ストレスマーカーの推移、心臓エコー結果とカテーテル結果を合わせた wall stress、組織学的変化などがあり、一定していない。それぞれの評価方法により結果も様々であるが、心臓エコー評価とカテーテル評価から得られる wall stress と組織学変化（心筋のリモデリング：心筋細胞肥大と線維化）の関連性から左室形成術の効果判定を行った報告は過去にない。

以上より左室形成術は少なくとも急性期には左室 wall stress を減弱し左室収縮力を改善しうるが慢性期の臨床効果（生存率・心不全回避率など）は依然不明である。また、wall stress を低下させることが心筋リモデリング（心筋細胞肥大と線維化）を抑制しうるかどうかは不明な点である。

③ 本研究で明らかにしようとすること

本研究の目的はラットの虚血性心筋症モデルを用いて、左室縮小術による wall stress の低下が心筋リモデリング（心筋細胞肥大と線維化）の抑制につながっているかどうかを明らかにすることである。

④ 本研究で明らかになったこと

我々の実験結果では wall stress と心筋細胞肥大は MI/Sham②群に比較して左室形成術群では有意に抑制されており、wall stress と心筋細胞肥大には有意な正の相関が見られた。このことから左室形成術は wall stress を下げ、心筋細胞の肥大を抑制することで虚血性心筋症における心不全の悪循環を抑制する可能性が示唆された。

略語表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである。

ANF:	atrial natriuretic factor
Ao:	aorta
BNP:	brain natriuretic peptide
FS:	fractional shortening
HR:	heart rate
IVST:	interventricular septal thickness in diastole
LAA:	left atrial appendage
LV:	left ventricle
LVDd:	left ventricular end-diastolic dimension
LVDs:	left ventricular end-systolic dimension
LVEDP:	left ventricular end-diastolic pressure
LVP:	left ventricular plication
LVSP:	left ventricular peak systolic pressure
mABP:	mean arterial blood pressure
MI:	myocardial infarction
PA:	pulmonary artery
PWT:	left ventricular posterior wall thickness
RT-PCR:	real-time reverse transcription polymerase chain reaction
RV:	right ventricle
TTE:	transthoracic echocardiography

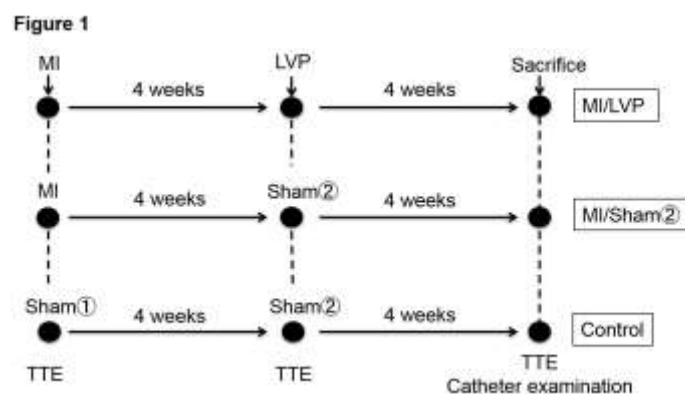
実験方法

① 使用動物

すべての実験は The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, published by the US National Institutes of Health (NIH publication No. 85-23, revised 1996)を遵守し、北海道大学の動物実験に関する規定に則り許可を受けたうえでおこなった。生後 10 週齢の Sprague-Dawley ラットの雄を使用した。室温 22.5 度、湿度 50%、12 時間毎の照明管理のもと水分食事を自由に摂取出来る環境下に飼育した。すべてのラットは実験開始日の 1 週間前に北海道大学大学院医学研究科附属動物実験施設にて管理された。

② 実験プロトコール

Fig. 1 に示すように 3 つの群に分けて実験を行った。まず初回手術では左室前壁の心筋梗塞 : Myocardial infarction(MI)を行う群と Sham①手術(左第 5 肋間開胸し閉鎖)のみを行う群に分けた。4 週後に MI 群は左室形成術 (LVP: Left Ventricular Plication) を行う群と Sham②手術(第 5 肋間胸骨横切開で開胸し癒着を剥離して閉鎖)を行う群に分け手術を施行した。初回手術が Sham①手術であった群は 4 週後に Sham②手術を施行した。二回目の手術の 4 週後に全ての群でカテーテルデータを取り、採血を行った上で犠牲死させた。全ての手術前に心臓エコー検査を行った。犠牲死させた個体から心室心筋を検体として採取し一部を液体窒素を使用して凍結保存し分子生物学的検査に備え、一部をホルマリン固定し組織学的検査に備えた。



実験プロトコール :

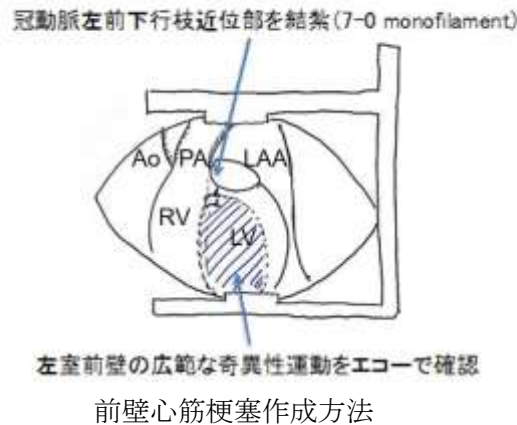
LVP, left ventricular plication; MI, myocardial infarction;

TTE, transthoracic echocardiography

③ 前壁心筋梗塞手術 (MI: myocardial infarction)

検査・手術開始前にケタミン (90 mg/kg) とキシラジン (10 mg/kg) を筋注、鎮静下に心エコー検査終了後に気管挿管し 10-15 ml/回の容量依存式人工呼吸を 80 回/min で行った。左記状況下に手術台にラットを固定し左第 5 肋間開胸下に左心耳と肺動脈間にあると想定される左前下行枝を 7-0 polypropylene (Ethicon, Somerville, New Jersey) で 2-3 針結紮し myocardial infarction を作成した (Fig. 2)。myocardial infarction が十分であるかどうかに関しては心臓表面の蒼白化と心エコーでの壁運動の消失で確認した。myocardial infarction が不十分な場合はさらに数針を追加した。閉創し術後自発呼吸が安定していることを確認し抜管しケージに戻した。術後はアスピリンの内服により鎮痛をはかった。

Figure 2



Ao, aorta; LAA, left atrial appendage; LV, left ventricle;

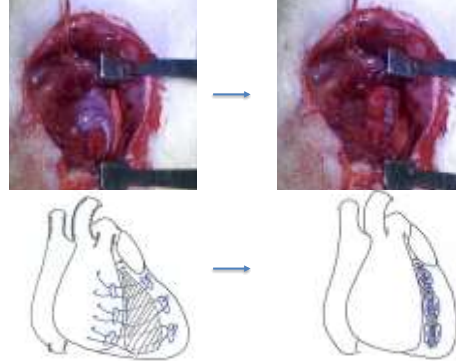
PA, pulmonary artery; RV, right ventricle

④ 左室形成術 (LVP: Left Ventricular Plication)

myocardial infarction 手術時と同様の麻酔管理で行った。Fig. 3 のごとく第 5 肋間胸骨横切開にて開胸し癒着を剥離しつつ視野を確保する。胸骨横切開の際に両側内胸動脈からの出血コントロールのために第 4、6 肋間の内胸動脈を結紮しておく工夫を行った。開胸し心臓を全面で癒着剥離した後に白色に変色し心筋壁が薄くなった梗塞部位を同定、プレジェット付きの 6-0 polypropylene 3 針でマットレス縫合しさらに縫合部位を同様の糸を使用し連続で縫合した。閉胸、閉創し術後自発呼吸が安定していることを確認しケージに戻した。術後はアスピリンの内服により鎮痛をはかった。

Figure 3□

梗塞巣を同定し6-0monofilament3針のマットレス縫合と連続縫合の追加にて左室縮小術を施行する□



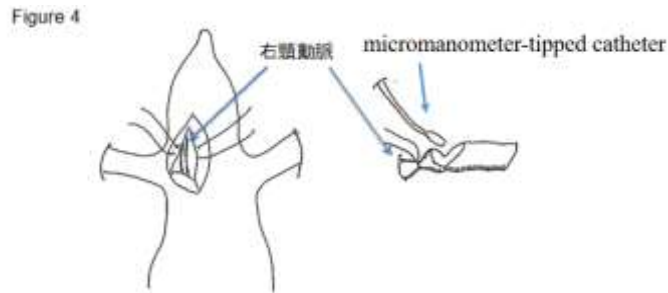
左室形成術 (LVP: Left Ventricular Plication)

⑤ 心臓エコー検査

ケタミン(90 mg/kg)とキシラジン(10 mg/kg)を筋注、鎮静下に 37 度の温熱板の上で仰臥位としエコー検査施行した。エコーは Sonos 5500 (Philips Medical Systems, Andover, Massachusetts)を使用、プローベは Pediatric Sector Probe (S12-MHz) (Philips Medical Systems, Andover, Massachusetts)を使用した。M モード長軸像で left ventricular end-diastolic dimension (LVDd), left ventricular end-systolic dimension (LVDs), fractional shortening (FS), interventricular septal thickness in diastole (IVST), left ventricular posterior wall thickness in systole (PWTs), left ventricular posterior wall thickness in diastole (PWTd), heart rate (HR)を計測した。また myocardial infarction 手術 4 週後の評価では短軸乳頭筋レベルでの梗塞部位(akinetic area)と左室全周径を計測し scar area (%)を算出し、心筋梗塞の広がり の指標とした。上記計測はすべて 3 回行い平均値を採用した。

⑥ 心臓カテーテル検査

犠牲死前に右頸動脈を露出し(Fig. 4) micromanometer-tipped catheter (Millar, Houston, Texas) を右頸動脈に挿入し上行大動脈、左室内腔へカテーテルを進めることで動脈圧、左室拡張末期圧、left ventricular maximum dp/dt, left ventricular minimum dpdt, 左室圧下降脚時定数 Tau を計測した。データ収録には PowerLab (ADInstruments, Dunedin, NZ)を、また波形解析には LabChart (ADInstrument)を使用した。



心臓カテーテル検査

⑦ 左室壁応力 (LV wall stress) の計測

エコー検査とカテーテル検査から計測されたデータより wall stress を下記計算式にて算出した¹⁴。

- Systolic wall stress: $0.333 \times \text{LVSP} \times \text{LVDs} / (\text{PWTs} [1 + \text{PWTs} / \text{LVDs}]) (\times 10^3 \text{ dynes/cm}^2)$
- Diastolic wall stress: $0.333 \times \text{LVEDP} \times \text{LVDd} / (\text{PWTd} [1 + \text{PWTd} / \text{LVDd}]) (\times 10^3 \text{ dynes/cm}^2)$

LVDd, LV end-diastolic dimension; LVDs, LV end-systolic dimension; LVEDP, LV end-diastolic pressure; LVSP, LV peak systolic pressure; PWTd, LV posterior wall thickness in diastole; PWTs, LV posterior wall thickness in systole.

⑧ wall stress marker (BNP/ANP)の計測

心筋ストレスマーカーとして brain natriuretic peptide (BNP)と atrial natriuretic factor (ANF)を計測した。犠牲死した個体から採取した心臓検体を液体窒素で凍結保存した心筋から High Pure RNA Tissue Kit (Roche, Penzberg, Germany)を用いて mRNA を抽出し、Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (Roche)を使用し cDNA を作成した。FastStart Essential DNA Probes Master (Roche)と以下の Real-time ready assay を用いて real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 法により遺伝子発現を定量した ; Roche Assay ID, 100102857 (ANF); 100102866 (BNP)。PCR 増幅は LightCycler Nano (Roche)を用いた。

⑨ 組織学的検査

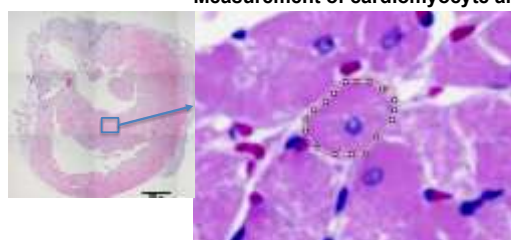
10%ホルマリン固定した標本をパラフィン固定し $5 \mu\text{m}$ の厚さに切ってヘマトキシリン・エオジン (HE)染色、マッソントリクローム染色し乳頭筋レベルで梗塞巣から離れた遠位部 (remote area) の組織部分を評価対象とした。心筋細胞肥大は HE 染色標本で行った。remote area から検者 1 (Y. S.) が無作為に 10 視野を選び、検者 2 (H. A.) が

1 視野毎に約 10 の核を含む紡錘形の心筋細胞を選び Image J software(<http://rsb.info.nih.gov/ij/>),(NIH, Bethesda, Maryland)で各細胞の大きさを計測し 1 標本につき約 100 個の細胞面積を計測しその平均を心筋細胞面積とした (Fig. 5A)。心筋線維化についてはマッソントリクローム染色標本を使用した。心筋細胞面積の評価同様に remote area より検者 1 が無作為に 10 視野を選び、検者 2 が各視野で Image J software を用いて繊維化の割合 (%) を算出した (Fig. 5B)。

Figure 5□

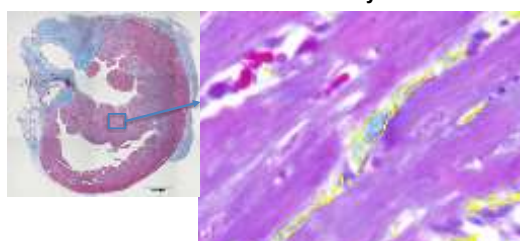
A: Hematoxylin-Eosin stain□

Measurement of cardiomyocyte area□



B: Masson's trichrome stain□

Measurement of myocardial fibrosis□



心筋細胞面積 (A) 心筋線維化面積 (B) 測定

⑩ 統計解析

データは平均値±標準誤差で提示した。群間比較は one-way analysis of variance (ANOVA)で行い、 post-hoc 比較は Tukey's test を用いた。有意差は P 値<0.05 とした。解析は SPSS (SPSS, Inc, Chicago, Illinois)で行った。

実験結果

① 実験動物の群分け

死亡率を想定して 86 匹のラットを MI/LVP, MI/sham②, Control (Sham①/Sham②) 群それぞれに 4:2:1 の割合で割り付けた。心筋梗塞 (MI) 後の死亡率は 38% (33/86) であった。残りの 53 匹のラットを MI/LVP 群 35 匹、MI/Sham②群 18 匹に分け、最終的に全 8 週間後の犠牲死までいたった 16 匹ずつを Control (Sham①/Sham②)群の 8 匹と比較した。

② 犠牲死前の体重、心臓重量、肺重量

Table.1 に示すように体重に有意差はなかったが心臓重量は MI/Sham②群で Control(Sham①/Sham②)群と比較して有意に重くなっていた。左室形成術を施行した LVP 群では形成術に使用したプレジェットとその周囲に付着した結合織の分だけ重量が重くなるがいずれも剥離不能なため解析から除外した。MI/Sham②群で Control(Sham①/Sham②)群と比較して肺重量が有意に重くなっていたのに対し、LVP 群では有意差が出なかった。心不全の臨床像として現れる肺水腫で肺重量は重くなると考えられるが左室形成術により肺水腫も抑制された可能性があった。

Table.1 Body, Heart, and Lung Weight at 4 weeks After LVP		
	Groups	At 4 weeks after LVP
Body weight, g	Control	489 ± 10
	MI/Sham②	456 ± 8.6
	MI/LVP	472 ± 16
Heart weight, mg	Control	1246 ± 42
	MI/Sham②	1659 ± 91*
	MI/LVP	NA
Heart / body weight	Control	2.5 ± 0.1
	MI/Sham②	3.7 ± 0.2*
	MI/LVP	NA
Lung weight, mg	Control	1542 ± 49
	MI/Sham②	2440 ± 182*
	MI/LVP	2184 ± 192
Lung / body weight	Control	3.2 ± 0.1
	MI/Sham②	5.4 ± 0.4*
	MI/LVP	4.7 ± 0.4
Values ± SEM. Animal numbers were 8, 16, and 16 in Sham/Sham, MI/Sham, and MI/LVP, respectively. NA, not applicable.		
*P<0.05 vs. Sham/Sham.		

③ 心臓エコー結果

初回手術前、MI4週間後、LVP4週間後の心臓エコー結果を Table.2 に示す。初回手術で心筋梗塞を形成した MI/Sham②群、MI/LVP 群では二回目手術前に有意な左室拡大を認めた。LVP4週間後の心臓エコーでは MI/Sham②群はさらに左室拡大が進んだのに対し、MI/LVP 群は MI/Sham②群に比較して左室拡大が抑制されていた。また左室短縮率は左室形成術後で MI/Sham②群に比較して有意に改善していた。MI/Sham②群と MI/LVP 群で二回目手術の心筋梗塞における梗塞範囲には有意差はなく同レベルの心筋梗塞モデルを作成できたと考えられた。以上より、左室形成術は左室拡大を抑制し、左室短縮率を改善させていた。

Table.2 Echocardiographic parameters at baseline, 4 weeks after MI, and 4weeks after LVP				
	Groups	Baseline	At 4 weeks after MI	At 4weeks after LVP
HR, bpm	Control	320±12	304±8.8	291±18
	MI/Sham②	317±8.5	282±7	277±6
	MI/LVP	306±6.7	298±11	300±14
LVDd, mm	Control	7.4±0.1	8.1±0.2	8.2±0.2
	MI/Sham②	7.8±0.1	10.5±0.1*	11.2±0.2*
	MI/LVP	7.6±0.1	10.1±0.4*	9.9±0.3*†
LVDs, mm	Control	4.7±0.2	5.4±0.4	5.0±0.1
	MI/Sham②	4.7±0.4	8.7±0.2*	9.4±0.3*
	MI/LVP	4.5±0.1	7.9±0.4*	7.5±0.4*†
FS, %	Control	39±1.7	36±2	39±1
	MI/Sham②	39±0.9	17±1*	15±1*
	MI/LVP	39±0.7	22±2*	25±2*†
IVST, mm	Control	2.1±0.05	2.0±0.1	2.5±0.2
	MI/Sham②	1.9±0.08	1.4±0.1*	1.5±0.1*
	MI/LVP	2.0±0.12	1.6±0.1*	2.1±0.1†
PWT, mm	Control	1.9±0.2	1.8±0.2	2.2±0.2
	MI/Sham②	1.7±0.1	1.7±0.1	2.0±0.1
	MI/LVP	1.9±0.2	1.9±0.1	2.0±0.1
scar length, %	Contol	NA	NA	NA
	MI/Sham②	NA	34±2	NA
	MI/LVP	NA	32±2	NA

Valuses±SEM. FS, fractional shortening; HR, heart rate; IVST, interventricular septal thickness; LVDd, left ventricular end-diastolic dimension; LVDs, left ventricular end-systolic dimension; PWT, left ventricular posterior wall thickness. Animal numbers were 8, 16, and 16 in Sham/Sham, MI/Sham, and MI/LVP, respectively. *P<0.05 vs. Sham/Sham, †P<0.05 vs. MI/Sham.

④ 心臓カテーテル結果

LVP 4 週間後の心臓カテーテル検査結果を Table.3 に示す。心臓カテーテル結果からは左室収縮能、拡張能を反映する dP/dt では MI/Sham②群、MI/LVP 群ともに Control 群と比較して低下しているという結果であった。左室拡張機能および左室充満圧を反映する左室拡張末期圧は MI/Sham②群でのみ Control 群と比較して有意に高値となっていた。時定数 Tau も同様の傾向であった。左室形成術では左室拡張機能を障害する可能性が指摘されているが、今回のデータではそれを示唆する所見は得られなかった。

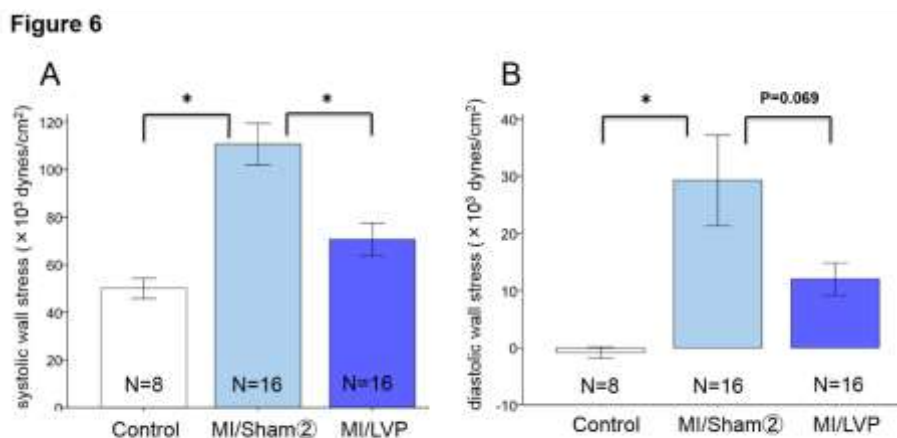
Table.3 Catheter examination 4 weeks after LVP

	Groups	At 4 weeks after LVP
mABP, mmHg	Control	98 ± 4
	MI/Sham②	94 ± 4
	MI/LVP	84 ± 4
dPdtmax ,mmHg/s	Control	10363 ± 432
	MI/Sham②	6855 ± 508*
	MI/LVP	6741 ± 513*
-dPdtmin, mmHg/s	Control	6980 ± 554
	MI/Sham②	4174 ± 386*
	MI/LVP	4117 ± 340*
LVEDP, mmHg	Control	-0.7 ± 0.8
	MI/Sham②	14.6 ± 3.0*
	MI/LVP	9.6 ± 2.7
Tau, ms	Control	7 ± 1
	MI/Sham②	13 ± 2*
	MI/LVP	10 ± 1

Values ± SEM. LVEDP, left ventricular end-diastolic pressure; mABP, mean arterial blood pressure. Animal numbers were 8, 14, and 16 in Sham/Sham, MI/Sham, and MI/LVP, respectively. *P<0.05 vs. Sham/Sham.

⑤ 左室 wall Stress

Fig.6 に左室の収縮期 (A) および拡張期 (B) の wall stress を示す。MI/LVP 群で収縮期 wall Stress は有意に抑制され、拡張期 wall stress は P 値 0.069 と抑制される傾向にあった。

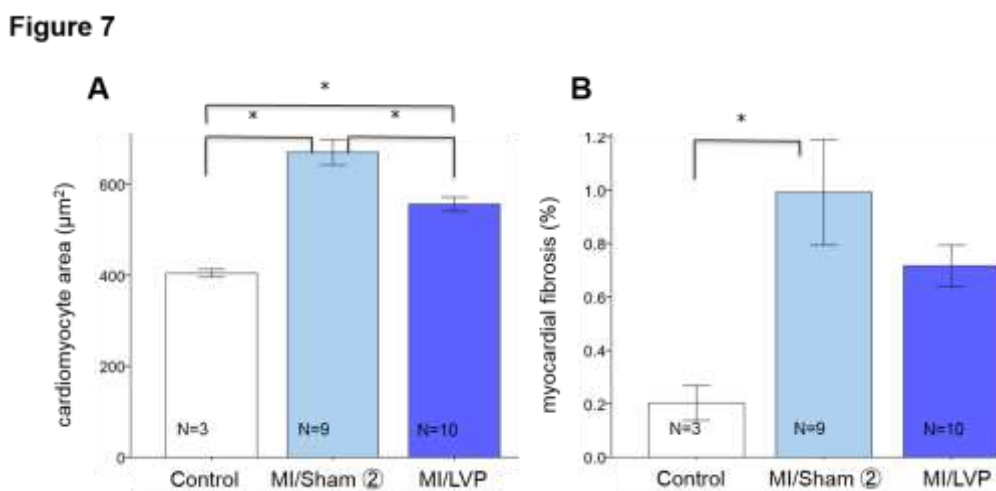


左室収縮期 (A) 壁応力および拡張期 (B) 壁応力

LVP, left ventricular plication; MI, myocardial infarction. *P<0.05

⑥ 心筋細胞面積および線維化

Fig.7A に示すように心筋細胞肥大は MI/LVP 群で有意に抑制された。一方で心筋線維化は MI/Sham②群と MI/LVP 群で有意な差をみとめなかった (Fig.7B)。



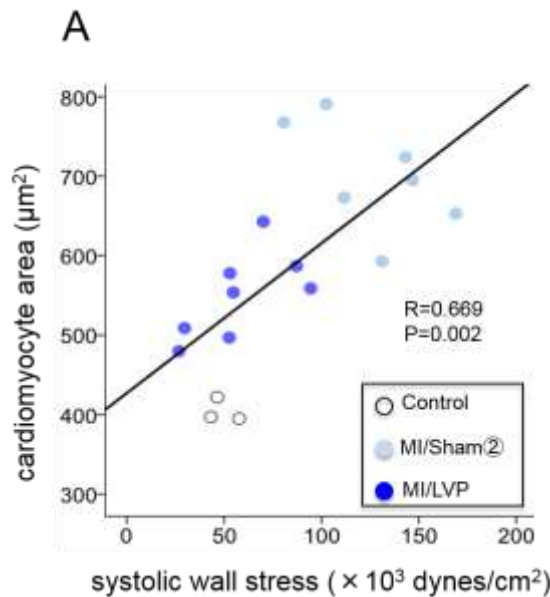
左室形成 4 週間後の心筋細胞面積 (A) と線維化 (B)

LVP, left ventricular plication; MI, myocardial infarction. *P<0.05.

⑦ 収縮期 wall stress と心筋肥大との相関

Fig.8 に収縮期 wall Stress と心筋細胞肥大の有意な相関を示す。このことは左室形成術が左室 wall stress を下げ、心筋細胞肥大を抑制する可能性があることを示唆する。

Figure 8



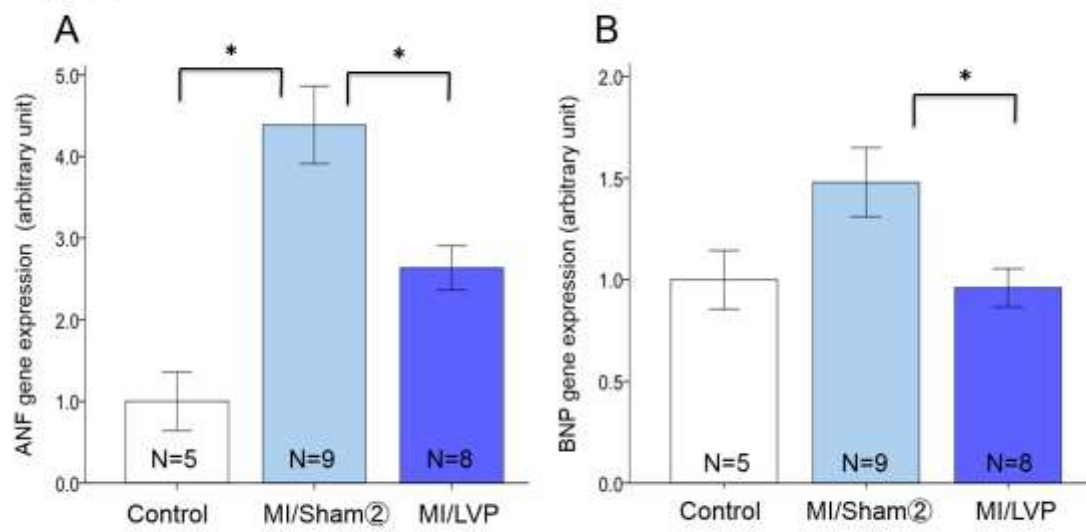
収縮期 wall Stress と心筋細胞肥大の有意な相関

LVP, left ventricular plication; MI, myocardial infarction.

⑧ wall stress marker (BNP/ANF)

Fig.9 に心筋ストレスマーカーである BNP と ANF の RNA 遺伝子発現を示す。ANF/BNP はともに左室形成群において MI/Sham 群と比較して有意に抑制されていた。さらに収縮期 wall stress と ANP に有意な正の相関を認めた($R=0.54$, $P=0.015$)。以上より、左室形成術における wall stress の低下が心筋ストレスマーカーの減少につながっていることが示唆された。

Figure 9



左室形成 4 週間後の心筋ストレスマーカーANF (A)と BNP (B)の遺伝子発現

ANF, atrial natriuretic factor; BNP, brain natriuretic peptide; LVP, left ventricular plication; MI, myocardial infarction. *P<0.05.

考察

本実験では虚血性心筋症による wall stress と心筋細胞肥大は左室形成術により抑制された。さらに wall stress と心筋細胞肥大には有意な相関が見られた。以上より、左室形成術は wall stress を下げることで、心筋細胞の肥大を抑制し虚血性心筋症における心不全の悪循環を抑制する可能性が示唆された。

虚血性心筋症の原因となる急性心筋梗塞を発症した患者さんにおいては、救急体制やカテーテル治療の発達、抗血小板療法や心不全治療薬の進歩により予後は改善しているものの、依然国内では心不全の原因疾患の第一位であり今後高齢化に伴いさらに増加することが予想される¹。心臓移植が一般的な治療でない現状において、末期虚血性心筋症患者に対する治療の選択肢としての左室形成術の意義の一部を本研究で明らかにできたと考える。これまでの報告との相違、臨床的意義に関して以下で議論し本研究の問題点についても考察を加える。

① ラットの心筋梗塞・左室形成術モデル

Nishina らの報告をはじめとする過去のラット心筋梗塞、左室形成術では左室形成術により左室径は縮小し、収縮力は改善する。ただしそれは術後早期に限られた効果であり遠隔期までは効果が持続しないとされていた^{12, 15, 16}。一方で Sakaguchi らは左室形成術の効果は術後 20 週（我々は術後 4 週）までの長期遠隔期においても持続すると報告している¹³。相反する報告がある中で、それぞれの著者らが使用しているラットの種類や虚血性心筋症の重症度（び慢性左室拡大または左室瘤）に違いがあり、かつ左室形成術の方法や観察期間も一定でない。この理由の一つとしては、ラット心筋梗塞モデルにおける心筋梗塞範囲の違いが関与している可能性がある。我々の実験では心筋梗塞後の死亡率が 38%であった。これは Sakaguchi らの報告と同等の結果ではあるが、Nishina らの報告では心筋梗塞後にほとんど死亡していない。これは Nishina らのモデルでは心筋梗塞(MI)が小さい可能性を示唆する。さらに、心筋梗塞範囲の違いは左室形成術による左室縮小率の違いにもつながる。我々の実験では平均 32%の梗塞範囲を左室形成するため、左室形成後には左室短軸面積で 50%とかなり大きな縮小率になる。左室形成術における縮小率は未だ臨床においても適正な値が示されていないが^{6, 17}、この縮小術の違いが実験結果の違いに影響している可能性がある。このように実験モデルのバラつきが存在する一方で、我々のように心筋細胞肥大と wall stress に着目し左室形成術の効果発現のメカニズムを検証した報告はない。

本実験結果では左室縮小術の効果は術後 4 週後の遠隔期においても、MI/sham@群に

比較して左室拡張末期径は拡大が抑制され左室短縮率も維持されていた。また、心不全兆候である肺水腫の程度を反映する肺重量においても MI/LVP 群では control 群との差が消失しており、左室縮小術が心不全による肺うっ血の抑制に効果があることが示唆された。

② 左室 wall stress と心筋リモデリング

心筋リモデリング（心筋細胞肥大と線維化）は心筋梗塞後に起こる圧負荷、容量負荷、虚血などの悪循環から発生する不可逆性の心筋の再構築であり、心筋梗塞後の組織学的変化として古くから知られており心不全の病態における共通した病理学的所見といえる^{18, 19}。

左室形成術の効果は wall stress の抑制、左室形態の改善、収縮同期性の改善にあるとされてきた^{8, 20, 21}。Tulner らや Zhong らは虚血性心筋症患者においてパッチによる左室形成術で wall stress が抑制され左室収縮力が改善したと報告している^{8, 20}。しかしながら、これらの臨床研究では左室形成術に加え僧帽弁形成術や冠動脈バイパス術を併用しているため左室形成術単独の効果かどうかは判定しがたい。また Walker らは羊の虚血性心筋症モデルで左室形成術を施行し wall stress の抑制を報告しているが心筋組織学的評価は行っていない⁹。

上記のように過去の報告では虚血性心筋症における左室形成術の効果は wall stress に注目し検討した臨床研究や基礎研究があるが、wall stress と心筋リモデリングとの関連性に注目し検討した報告は調べる限りこれまでに存在しない。本研究結果では左室形成術により wall stress は減少し心筋細胞肥大は抑制されていた。また wall stress と心筋細胞肥大は有意な正の相関を認めており、左室形成術の効果メカニズムの一つとして wall stress の減弱が関係することが示唆された。

③ 臨床的意味合い (clinical implications)

虚血性心筋症における左室形成術は STICH trial で臨床的意義が否定されたが⁷、それ以前には有効性を報告する文献は多い⁴⁻⁶。また、ドナー不足のため移植に頼ることの出来ない本邦における医療環境やコスト・血栓塞栓症の問題を抱える植込み型補助人工心臓は虚血性心筋症に対する第一治療選択枝にはなり難く、依然左室形成術は一定数行われているのが現状である。本邦における左室形成術 596 例の多施設共同研究の報告ではリスクをスコア化することで左室形成術の効果が高い確率で得られる症例群があることが示されている¹⁷。本実験結果から左室形成術単独の効果を少なからず示唆することが出来たが、僧帽弁逆流がないことや血行再建術を追加しないことなど臨床とは違った側面もあるためさらなる実験モデルの構築も必要と思われる。

近年 Wechsler ら²² が人工心肺を使用せず左室形成術を行える新しいデバイス

(Bioventrix Revivent Myocardial Anchoring System) の良好な手術成績を報告している。これは心機能の低下した重症例に対して、より低侵襲に左室形成を行おうとする試みであり新たな治療戦略として期待される。今後の長期成績の報告と本実験結果との比較は左室形成術の臨床的意義を検討するうえで有益と考えられる。

④ 本実験の問題点

1) 左室形成術後の再拡大：

今回検討した左室縮小術後 4 週目では MI/sham②群と比較すると左室縮小効果は継続していたが左室形成術直後から比較すると左室は再拡大傾向をみとめたことから左室形成術の効果持続期間に限界がある可能性がある。今後さらに長期の経過観察や生存率の評価が必要である。

2) 心筋線維化に有意差がなかった点：

心筋リモデリング要素の一つである線維化は左室形成によって有意には抑制されなかった。線維化自体の不可逆性やより長期のデータ検証の余地が残る。

3) 左室形成術の死亡率と左室縮小率：

左室形成術を施行した 35 匹中 19 匹 (54%) が経過中に死亡した。この死亡率は心筋梗塞(MI)の死亡率 38%よりも高かった。ほとんどの死亡は 48 時間以内であり手術関連死亡と考えられた。解剖により出血は認めないことから心不全あるいは不整脈死と考えられる。本実験モデルにおいて左室形成直前の短軸の瘢痕組織範囲は全周の 32%であり、左室形成後は短軸の面積で約 50%の減少となる。瘢痕組織をすべて排除する本実験モデルにおいては左室の過縫縮になっている可能性があり、臨床データと比較する場合にはこの点に注意を要する。

臨床では左室形成術の容積縮小率はおおむね 30%以上と報告されている (左室形成の効果が示されなかった STICH trial では 19%)²¹。本研究のような小動物の実験においては臨床よりも大きな縮小率になっている可能性が高く、術後の低心拍出症候群あるいは不整脈のため死亡率が高かったと推察する。ある程度の縮小率が得られないと今回示されたような左室形成術の意義が発揮されないが、一方で左室が過縫縮されると死亡率が上昇することが予想される。術前から左室容量を正確に把握したうえで最低限の左室容量を保つための適切なサイザーを手術中に使用したりすることで左室の過縫縮を防止することが必要であろうと考える。

結論

① 本研究から得られた新知見

- 1) 左室形成術は wall stress を減少する。
- 2) 左室形成術は心筋細胞肥大（心筋リモデリング）を抑制する。
- 3) 左室形成により低下した wall stress と心筋細胞肥大には正の相関がある。

② 新知見の意義

これまで明らかにされてこなかった左室形成術の効果のメカニズムの一端を明らかにした。2009 年の STICH trial⁷で左室形成の臨床的意義に疑問が投げかけられて以来、左室形成術の効果の是非が議論されてきた。本研究は動物実験ではあるが、冠動脈バイパスや僧帽弁手術を施行しない左室形成術単独でも wall stress と心筋肥大を抑制する効果があることが証明された意義は大きい。しかしながら、その効果の持続期間に関しては限定的である可能性があるため今後より長期のデータを慎重に検討する必要がある。

③ 新知見から展開する今後の研究

- 1) 本実験で明らかになった左室形成術後の心筋肥大の抑制が病的心筋肥大（胎児性遺伝子発現）の抑制につながっているかの検証を予定している。
- 2) 心不全の原因として近年注目を集めている「オートファジー」の活性化はアポトーシスを抑制したり病的心筋肥大を抑制したりすることが知られている。本実験チームではすでに左室形成術後のオートファジーと病的心筋肥大の関連を検討する予定を立てるなど、より多角的に左室形成術の効果メカニズムの解明を目指す研究を予定している。

④ 今後の課題

考察の最後にも述べたが心筋リモデリングの一要素である心筋の線維化では左室形成術の有意な効果は示せなかった。また、左室形成術後の左室再拡大の問題もあり左室形成術の効果発現期間の限界とその理由を検証する必要がある。

謝辞

本研究を指導していただいた松居教授、新宮助教をはじめ研究期間中に多大なるご迷惑をおかけした循環器呼吸器外科スタッフの皆様にご場をおかりして感謝の意を評します。また、エコー機器の技術的サポートをいただいた Philips Electronics Japan、心カテーテル検査の技術的サポートをいただいた Sapporo Medical Corporation にも深く感謝申し上げます。

引用文献

1. Tsuchihashi-Makaya, M., Hamaguchi, S., Kinugawa, S., Yokota, T., Goto, D., Yokoshiki, H., Kato, N., Takeshita, A., Tsutsui, H. & Investigators, J.-C. Characteristics and outcomes of hospitalized patients with heart failure and reduced vs preserved ejection fraction. Report from the Japanese Cardiac Registry of Heart Failure in Cardiology (JCARE-CARD). *Circ J* **73**, 1893-1900 (2009).
2. Morimoto, S. Sarcomeric proteins and inherited cardiomyopathies. *Cardiovasc Res* **77**, 659-666 (2008).
3. Fatkin, D. & Graham, R.M. Molecular mechanisms of inherited cardiomyopathies. *Physiol Rev* **82**, 945-980 (2002).
4. Athanasuleas, C.L., Buckberg, G.D., Stanley, A.W., Siler, W., Dor, V., Di Donato, M., Menicanti, L., Almeida de Oliveira, S., Beyersdorf, F., Kron, I.L., Suma, H., Kouchoukos, N.T., Moore, W., McCarthy, P.M., Oz, M.C., Fontan, F., Scott, M.L., Accola, K.A. & group, R. Surgical ventricular restoration in the treatment of congestive heart failure due to post-infarction ventricular dilation. *J Am Coll Cardiol* **44**, 1439-1445 (2004).
5. Dor, V., Sabatier, M., Di Donato, M., Maioli, M., Toso, A. & Montiglio, F. Late hemodynamic results after left ventricular patch repair associated with coronary grafting in patients with postinfarction akinetic or dyskinetic aneurysm of the left ventricle. *J Thorac Cardiovasc Surg* **110**, 1291-1299; discussion 1300-1291 (1995).
6. Matsui, Y., Fukada, Y., Naito, Y. & Sasaki, S. Integrated overlapping ventriculoplasty combined with papillary muscle plication for severely dilated heart failure. *J Thorac Cardiovasc Surg* **127**, 1221-1223 (2004).
7. Jones, R.H., Velazquez, E.J., Michler, R.E., Sopko, G., Oh, J.K., O'Connor, C.M., Hill, J.A., Menicanti, L., Sadowski, Z., Desvigne-Nickens, P., Rouleau, J.L., Lee, K.L. & Investigators, S.H. Coronary bypass surgery with or without surgical ventricular reconstruction. *N Engl J Med* **360**, 1705-1717 (2009).
8. Tulner, S.A., Steendijk, P., Klautz, R.J., Bax, J.J., Schalij, M.J., van der Wall, E.E. & Dion, R.A. Surgical ventricular restoration in patients with ischemic dilated cardiomyopathy: evaluation of systolic and diastolic ventricular function, wall stress, dyssynchrony, and mechanical efficiency by pressure-volume loops. *J Thorac Cardiovasc Surg* **132**, 610-620 (2006).

9. Walker, J.C., Ratcliffe, M.B., Zhang, P., Wallace, A.W., Hsu, E.W., Saloner, D.A. & Guccione, J.M. Magnetic resonance imaging-based finite element stress analysis after linear repair of left ventricular aneurysm. *J Thorac Cardiovasc Surg* **135**, 1094-1102, 1102 e1091-1092 (2008).
10. Yamaguchi, A., Ino, T., Adachi, H., Murata, S., Kamio, H., Okada, M. & Tsuboi, J. Left ventricular volume predicts postoperative course in patients with ischemic cardiomyopathy. *Ann Thorac Surg* **65**, 434-438 (1998).
11. Yamaguchi, A., Adachi, H., Kawahito, K., Murata, S. & Ino, T. Left ventricular reconstruction benefits patients with dilated ischemic cardiomyopathy. *Ann Thorac Surg* **79**, 456-461 (2005).
12. Nishina, T., Nishimura, K., Yuasa, S., Miwa, S., Nomoto, T., Sakakibara, Y., Handa, N., Hamanaka, I., Saito, Y. & Komeda, M. Initial effects of the left ventricular repair by plication may not last long in a rat ischemic cardiomyopathy model. *Circulation* **104**, I241-245 (2001).
13. Sakaguchi, G., Young, R.L., Komeda, M., Yamanaka, K., Buxton, B.F. & Louis, W.J. Left ventricular aneurysm repair in rats: structural, functional, and molecular consequences. *J Thorac Cardiovasc Surg* **121**, 750-761 (2001).
14. Reichek, N., Wilson, J., St John Sutton, M., Plappert, T.A., Goldberg, S. & Hirshfeld, J.W. Noninvasive determination of left ventricular end-systolic stress: validation of the method and initial application. *Circulation* **65**, 99-108 (1982).
15. Nomoto, T., Nishina, T., Miwa, S., Tsuneyoshi, H., Maruyama, I., Nishimura, K. & Komeda, M. Angiotensin-converting enzyme inhibitor helps prevent late remodeling after left ventricular aneurysm repair in rats. *Circulation* **106**, I115-119 (2002).
16. Tsuneyoshi, H., Nishina, T., Nomoto, T., Kanemitsu, H., Kawakami, R., Unimonh, O., Nishimura, K. & Komeda, M. Atrial natriuretic peptide helps prevent late remodeling after left ventricular aneurysm repair. *Circulation* **110**, II174-179 (2004).
17. Wakasa, S., Matsui, Y., Isomura, T., Takanashi, S., Yamaguchi, A., Komiya, T., Cho, Y., Kobayashi, J., Yaku, H., Kokaji, K., Arai, H. & Sawa, Y. Risk scores for predicting mortality after surgical ventricular reconstruction for ischemic cardiomyopathy: results of a Japanese multicenter study. *J Thorac Cardiovasc Surg* **147**, 1868-1874, 1874 e1861-1862 (2014).
18. Yoshikawa, E., Marui, A., Tsukashita, M., Nishina, T., Wang, J., Muranaka, H., Ikeda, T. & Komeda, M. Carvedilol may alleviate late cardiac remodelling following surgical ventricular restoration. *Eur J Cardiothorac Surg* **37**, 362-367 (2010).
19. Huo, L., Shi, W., Chong, L., Wang, J., Zhang, K. & Li, Y. Asiatic acid inhibits left

- ventricular remodeling and improves cardiac function in a rat model of myocardial infarction. *Exp Ther Med* **11**, 57-64 (2016).
20. Zhong, L., Su, Y., Gobeawan, L., Sola, S., Tan, R.S., Navia, J.L., Ghista, D.N., Chua, T., Guccione, J. & Kassab, G.S. Impact of surgical ventricular restoration on ventricular shape, wall stress, and function in heart failure patients. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **300**, H1653-1660 (2011).
 21. Buckberg, G.D., Athanasuleas, C.L., Wechsler, A.S., Beyersdorf, F., Conte, J.V. & Strobeck, J.E. The STICH trial unravelled. *Eur J Heart Fail* **12**, 1024-1027 (2010).
 22. Wechsler, A.S., Sadowski, J., Kapelak, B., Bartus, K., Kalinauskas, G., Rucinskas, K., Samalavicius, R. & Annest, L. Durability of epicardial ventricular restoration without ventriculotomy. *Eur J Cardiothorac Surg* **44**, e189-192; discussion e192 (2013).