

心房細動血栓塞栓症の新しい予知、予防戦略に関する研究

<研究の概要>

心房細動は単に循環器病の一つとして位置づけられるだけでなく、重症な脳梗塞の原因疾患として注目を集めている。2000年時点での心房細動罹患人口は約70万人と類推されているが、今後社会の高齢化に伴ってその人口が漸増するだけでなく、日本人すべての脳梗塞におけるこの不整脈のもつ意味も大きくなることは確実視されている。そして、これまで数多くなされた大規模臨床試験によれば、唯一存在するその予防法は抗凝固療法に限られるとされる。しかしこのような臨床的知見は徐々に集積されてはいるものの、その基礎的メカニズムの把握やそれに基づく新規の予防法開発は長らく放置されてきた状態といえる。このようなことから本研究では、血栓形成において古くから重要と考えられているVirchow' triadを出発点として、心房内血栓形成のメカニズム解明、新規リスクマーカーの探索、予防法の開発に取り組んだ。その結果、1) これまで疫学的に心房細動における脳梗塞リスク因子として知られてきた加齢、高血圧、糖尿病はいずれも心房内皮機能に影響を与える因子であり、正常な心房内皮細胞に発現する抗血栓分子(tissue factor pathway inhibitor, thrombomodulin, eNOS)の遺伝子発現をdifferentialに低下させることが明らかとなった。2) 同じように疫学的に報告されている心房細動発生、ならびに脳梗塞発生の性差に、性ホルモンのレニンアンジオテンシン系への影響が考えられると同時に、抗不整脈薬の一部に内皮機能を向上させる作用をもつものがあることが明らかにされた。3) 心房細動自身が心房内皮機能低下を招くことが知られているが、その低下には心房内ADMA濃度の増加が関与していた。4) 臨床的に、最近の心原性脳梗塞の原因として90%が心房細動であり、ますますその管理の重要性が増加していることが明白となった。5) 臨床的にD-dimerを用いた診断アルゴリズムが前向き調査で感度89%、特異度66%、陽性適中率50%、陰性適中率94%と極めて有用であり、さらに内皮障害マーカーの増加が左心房に関する超音波異常所見と相関があることを証明した。このような一連の結果は、心房細動例ではVirchowの3条件が存在して左房内で易血栓性が亢進し、これに様々な液性因子が影響を及ぼして血栓形成をさらに促していることを示唆するものであり、これらは心原性塞栓症の予知・予防を考慮するうえで重要な知見である。

- 山下 武志 心臓血管研究所 心房細動脳梗塞危険因子と心房内皮機能に関する基礎的検討
研究本部長
- 奥村 謙 弘前大学医学部 心房細動による心房内皮機能障害に関する基礎的研究
内科学第二講座教授
- 中島 敏明 東京大学医学部 心房内皮機能と心房筋機能および薬物の相互作用に関する基礎的検討
大学院虚血循環生理学客員教授
- 井上 博 富山大学医学部 心房細動血栓塞栓症の予知と予防に関する臨床的検討
内科学第二講座教授

研究報告

I 研究目的

心房細動は、今後社会の高齢化に伴いその罹患人口が増加する”Common Disease”の一つであり、その管理は重要な社会的ならびに経済的課題である。疫学的にこの不整脈は脳梗塞の発症率を4－5倍増加させ、本邦における全脳梗塞の基礎疾患として現在15－20%という大きな割合を占める。重症脳梗塞を減少させ社会的・経済的メリットの向上を図るためには、この心房細動による血栓塞栓症は予防すべき大きなターゲットの一つである。

臨床的には、この心房細動による塞栓症予防を図る戦略として二つの方法、つまり、1) 心房細動の根治、あるいは、2) 心房細動時の血栓形成の防止が考えられるが、AFFIRM study を代表とする欧米の大規模臨床試験は、心房細動のコントロールのみでは脳梗塞減少につながらないことを示し、抗凝固療法による心房細動時の血栓形成の防止のみが有効な方法とされている。しかし一方で、この抗凝固療法には、心房細動の大きな母集団を占める高齢者ほど出血性事故が多いという根本的な矛盾点が内在することも事実である。

基礎的にみると、心房細動時の血栓形成はVirchowの三要素から考えるべきであるが、これまで心房細動においては血液凝固因子や心房内血流の研究のみに焦点があてられてきており、血栓が付着する心房内皮の機能については不明の点が多く残されてきた。近年、申請者らの研究を中心として、この「心房内皮機能」という新たな視点からのアプローチが可能であることが明らかとなった。本研究は、このようにVirchowの三要素に立ち返り、左房内血栓形成機構を包括的に理解することで、心房細動による脳梗塞予防、予知の臨床的オプションを拡大することを目指した。実験的基礎研究により、心房細動に関連する心房内皮内在性抗血栓性分子の探索や、心房細動脳梗塞危険因子とこの抗血栓性分子の関連を把握すると同時に、臨床研究により心房細動による脳梗塞の現状把握、新たな予知方法の探索を行うことをその目的としている。

II 研究計画および材料と方法

(1) 脳梗塞危険因子と心房内皮機能の関連性に関する基礎的検討

心房細動による脳梗塞はすべての患者に同等に発生するわけではなく、ある特定の患者に発生しやすいことが疫学的に知られている。しかし、この疫学的知見の背景にあるメカニズムは未知のまま残され

ている。そこで、種々の脳梗塞危険因子を有するラットを用い、高頻度心房刺激によって心房細動擬似状態を作成し、各々のモデルラットにおける心房内皮機能を分子生物学的に検討する。脳梗塞危険因子を有するラットモデルとして、高齢、高血圧、糖尿病ラットを実験に使用し、心房内皮機能として thrombomodulin、TFPI、PAI-1 ならびに eNOS の産生を解析した。

(2) 性差ならびに薬物による心房筋、心房内皮機能に及ぼす影響の検討

オス、メスの WKY、高血圧自然発症ラット (SHR) などを用い、心房筋の電気的活動ならびに構造的リモデリングに及ぼす性差の影響につき検討した。WKY ラット (22 週令) のオス及びメス、週令をマッチさせた SHR ラットのオス及びメスを用い、病理学的、分子生物学的検討を行った。さらに、活動電位を左房より微小電極を用いて測定した。又、12 週令のオスの SHR ラットに対して、angiotensin 受容体拮抗薬 (ARB) である olmesartan (6mg/Kg) を 8 週間投与し検討した。病理学的には、Sirius Red 及び Mason 染色により左房の繊維化を検討するとともに、左房より total RNA を抽出し、定量的 RT-PCR 法により tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 mRNA, ACE (angiotensin converting enzyme), ACE2 mRNA を測定した。さらに、ラットの新生児心筋培養細胞を用いて、性ホルモンの ACE mRNA などに及ぼす作用などについても検討した。また、薬物に関しては、アミオダロンの内皮機能に及ぼす作用を検討するとともに、ラット新生児培養心筋細胞を用い、イオンチャンネルに対するサイトカインならびに心筋虚血の影響、さらに、電気刺激 (フィールド刺激) のチャンネル蛋白の mRNA 発現などに及ぼす影響につき検討した。

(3) 心房内皮機能低下に関するメカニズムの検討

完全房室ブロック作成後、540 回/分の心房頻回ペーシングを 10 週間持続することで作成したイヌ AF モデルを対象とし (AF モデル群)、血中 NOX 濃度を Griess 法で、ADMA 濃度を高速液体クロマトグラフィ法で測定した。コントロールとして、イヌに同様の処置を行い、シャムモデルを作成し比較検討した (シャム群)。さらに心房、心室の各組織で内因性 NO 合成酵素阻害物質 ADMA の産生酵素 protein arginine methyltransferase (PRMT-1) の遺伝子発現と分解酵素 dimethylarginine dimethylamino- hydrolase (DDAH-2) 遺伝子発現ならびに蛋白発現を PCR 法と Western blot 法で検討した。また、ADMA 分解酵素 DDAH-2 の心臓内局在について、組織免疫染色法で検討した。

(4) 脳梗塞病型と AF 合併頻度、心原性脳梗塞患者の機能予後の検討

弘前大学医学部の関連研究施設である弘前脳卒中センターに、2005 年 10 月から 2008 年 1 月までの期間に救急搬送された脳梗塞連続 868 例に対し、急性期 CT、MRI 検査により脳梗塞の病型別発生頻度を検討した。心原性脳塞栓に関しては、AF の合併率を把握するために、急性期に平均 5 日間の心電図連続モニターと亜急性期に 48 時間ホルター心電図検査を実施し、AF とくに発作性 AF 合併の頻度を検討した。心原性脳塞栓患者の中で AF を認めた例において、発症前のワルファリン療法の頻度を検討した。ワルファリン投与例においては脳梗塞発症直後に PT-INR を測定し、ワルファリンの効果と心原性脳塞栓発症の関連について検討した。

弘前脳卒中センターに入院した脳梗塞患者連続 768 例の退院時身体機能を修正 Rankin scale (mRS) を用いて評価し、各病型間で機能予後を比較検討した。対象はラクナ梗塞 215 例、アテローム血栓性脳梗塞 308 例、心原性脳塞栓 245 例で、mRS が 0~1 点 (社会生活復帰可能) を機能予後良好群、4~6 点 (4

点は援助なしで歩行不可、5点は寝たきり、6点は死亡)を機能予後不良群とし、3群間で比較検討した。

(5) 心原性塞栓症の予知因子としての凝血分子マーカーに関する臨床的検討

非弁膜症性心房細動、洞調律例、急性脳梗塞例を対象として

a) 509例の心房細動例(平均年齢66.6歳)と111例の洞調律例(68.0歳)で、心房細動の塞栓症危険因子の累積をCHADS2スコアで定量的に評価し、塞栓症の危険因子の累積と血栓準備状況との関係について検討した。凝血分子マーカーは、D-ダイマー、プロトロンビン・フラグメント1+2、血小板第4因子、 β トロンボグロブリンを測定した。

b) 2002年1月から2003年12月の2年間に入院した急性脳梗塞107例(平均71.6歳)を対象にして、救急来院時に脳梗塞の病型を明らかにするためのアルゴリズムを考案した。この診断基準の妥当性を2004年1月から2006年12月までの急性脳梗塞で入院した259例(平均71.9歳)を対象に検討した。

c) 515例の心房細動例(平均年齢67.5歳)で、塞栓症の危険因子の累積が経食道心エコー図で評価した左房機能低下(左房内モヤモヤエコー、左心耳血流速度)や動脈硬化度(胸部下行大動脈)とどのような関係にあるかについて検討した。

d) 非弁膜症性心房細動例で、血栓形成に関するVirchowの3条件が存在するか否かを左心耳血流速度、von Willebrand因子、フィブリノーゲン、D-ダイマーから検討した。また高分子量アディポネクチン(抗動脈硬化作用、抗凝固作用を有する)とチオレドキシシン(酸化ストレスの指標)を測定し、既知の塞栓症リスクのマーカーと対比した。

III 研究成果

1) 脳梗塞危険因子と心房内皮機能の関連性に関する基礎的検討

加齢、高血圧、糖尿病という脳梗塞危険因子はそれ自身が単独で心房内皮障害を生じさせることが判明した。その障害の内容は危険因子により異なり、加齢ではTM、TFPI、eNOSすべての抗血栓分子発現の低下が、高血圧ではTMのみの低下が、Type II型糖尿病ではeNOSの発現低下がもたらされた。また、いずれのモデルにおいても高頻度心房刺激はさらに内皮障害を増強し、TM、TFPI、eNOSの発現低下が増強する結果、脳梗塞危険因子と心房細動は相加的に心房内皮局所の凝固バランス異常をもたらした。これらのラット病態モデルでは、主にマクロファージを主体とする細胞浸潤が心房内皮より生じていることが判明し、心房内皮障害の生成に局所の炎症が関与している可能性が高く、実際にLPSによる全身性炎症は心房内および心房内皮に同様の現象を再現させた。

2) 性差ならびに薬物による心房筋、心房内皮機能に及ぼす影響の検討

オスのSHRでは、WKYならびにメスのSHRに比し、病理学的に著明な繊維化がみられるとともに、TIMP-1 mRNAの有意な発現の増加が見られた。ACE mRNAは、WKY、SHRともに、オスに比し、メスで、有意な発現の低下を認めるとともに、ACE2 mRNAは、とくにオスのSHRで低下していた。olmesartan投与では、繊維化の抑制、TIMP-1 mRNA発現の有意な低下を認めるとともに、心房でのACE mRNA発現の低下とACE2 mRNA発現の亢進がみられた。さらに、ラット新生児培養心筋細胞を用いて、性ホルモンの投与によるACE発現などに及ぼす効果につき検討し、 17β -estradiolは、心筋培養細胞におけるACE mRNA発現を有意に低下させ、性ホルモンが、ACEの転写を調節している可能性が示唆された。

アミオダロンは、内皮細胞において、endothelial nitric oxide synthase (eNOS)由来 NO 産生を亢進し、この作用は、desethylamiodarone でも見られた。ラット新生児培養心筋細胞において、低酸素刺激では、Kir6.2mRNA の発現をみとめるとともに、TNF α 投与では、細胞内 Ca²⁺動態と関係のある transient receptor potential (TRPC1) mRNA の発現を増加させた。この培養細胞にフィールド刺激を加えると多くは電氣的に収縮し、24 時間後では、Ca 過負荷を反映して、細胞数は著明に減少したが、心房細動刺激 (3Hz, random 刺激) では、従来報告されているように電位依存性 L 型 Ca チャネル遺伝子である Ca_v1.2 の mRNA の減少を認めた。

3) 心房内皮機能低下に関するメカニズムの検討

AF モデル群ではシャム群に比して血中 NOX 濃度は有意に減少し、ADMA の血中濃度が有意に上昇していた。ADMA 上昇の機序の検討では、AF モデル群においてシャム群に比し心房組織における ADMA の産生酵素 PRMT-1 の遺伝子発現の亢進と分解酵素 DDAH-2 の遺伝子・蛋白発現の低下を認めた。一方、心室組織では ADMA 産生酵素ならびに分解酵素の発現に両群間に有意な差は認めなかった。心房組織における DDAH-2 の局在を組織免疫染色で検討し、心内膜側で強く染色されることを確認した。

4) 脳梗塞病型と AF 合併頻度、心原性脳梗塞患者の機能予後の検討

脳梗塞 868 例中、ラクナ梗塞を 233 例 (27%)、アテローム血栓性脳梗塞を 338 例 (39%) 心原性脳梗塞を 262 例 (30%) に認め、33 例 (5%) はその他の病型であった。心原性脳梗塞 201 例中 142 例 (71%) において入院時に AF を認め、心電図モニターおよび 48 時間ホルター心電図により 38 例 (19%) に発作性 AF を認めた。残りの 21 例 (11%) では AF は検出されなかった。AF を認めた心原性脳梗塞 196 例中 157 例 (80%) ではワルファリンは投与されていなかった。39 例 (20%) では発症前にワルファリンが投与されていたが、発症直後の PT-INR を見ると、39 例中 27 例 (69%) では PT-INR が 1.5 以下とコントロール不良であった。残りの 12 例 (31%) では 1.6~2.0 であった。2.0 以上の例はなかった。ラクナ梗塞、アテローム血栓性脳梗塞、心原性脳梗塞患者における機能予後良好群はそれぞれ 64%、45%、31%であり、心原性脳梗塞は他病型に比して有意に少なかった。一方、機能予後不良群はそれぞれ 18%、37%、54%で、心原性脳梗塞は他病型に比して有意に多かった。

5) 心原性塞栓症の予知因子としての凝血分子マーカーに関する臨床的検討

a) コントロール (洞調律)、非弁膜症性心房細動例をそれぞれワルファリン投与例、非投与例の 3 群に分けて検討した。コントロールでは、塞栓症の危険 (低い群 CHADS₂ 0 点、中等度 1~2 点、高い群 3 点以上) が増しても、D-ダイマー値は有意な上昇を示さなかった。しかし非弁膜症性心房細動ではワルファリン投与の有無にかかわらず、危険の増大とともに D-ダイマー値は有意に増大した (ワルファリン非投与例 88 \pm 61、149.2 \pm 115.8、175.4 \pm 144、投与例 75.5 \pm 56.5、104.4 \pm 91.3、136 \pm 155.8ng/ml、いずれも p<0.05)。F1+2 も同様に危険が増すにつれ上昇 (p<0.05) したが、ワルファリン投与群では危険度によらず抑制されていた。一方、血小板機能 (第 4 因子、 β トロンボグロブリン) は 3 群とも危険因子の累積による増大は示さなかった。

b) 心房細動と D-ダイマー値 ($\geq 1.6 \mu\text{g/ml}$) を用いた診断アルゴリズムが心原性脳梗塞の早期診断に有用であることが後ろ向きの検索で示された (感度 97%、特異度 64%、陽性適中率 56%、陰性適中率 98%)。この組み合わせは前向きに検討した集団でも妥当であることが示された (感度 89%、特異度 66%、陽性

適中率 50%、陰性適中率 94%)。

c) CHADS2 スコアの増加に伴い、左房内モヤモヤエコーの強度は漸増した ($p<0.001$)。一方、左心耳血流速度は漸減した ($p<0.001$)。慢性心房細動 (268 例) と発作性心房細動 (検査時に心房細動発作中の 52 例) で、CHADS2 スコアによる危険度を揃えて比較すると、慢性心房細動例の方が左房内モヤモヤエコーの強度は大きく ($p<0.001$)、左心耳血流速度は低かった ($p<0.001$)。同時に評価した胸部下行大動脈壁の動脈硬化度は本スコアの増加に伴い漸増した ($p<0.001$)。

d-①) 非弁膜症性心房細動 95 例を von Willebrand 因子 (心房内膜の障害の指標) 正常群と上昇群に、左心耳血流速度 (血液うっ滞の指標) 正常群と低下群に分けると、両因子とも正常である群に比べ、両因子とも異常の群ではフィブリノーゲン値が有意に上昇していた。両因子とも異常の群では D-ダイマー値も有意に上昇していた。

d-②) 非弁膜症性慢性心房細動 50 例では、経食道心エコー所見から評価した塞栓症危険性とアディポネクチンレベルに相関はなかった。しかし、CHADS2 スコアから評価した高リスク例では低リスク例に比べてアディポネクチンレベルは有意に低下していた。

d-③) 非弁膜症性心房細動 139 例 (平均 67 歳) のうち 12 例 (8.6%) に左心耳内血栓が認められたが、血栓の有無ではチオレドキシシンレベルに差はなかった。チオレドキシシン ≥ 40 ng/ml と左房内高度モヤモヤエコーの存在の有無で 4 群に分けて検討すると、両指標 (+) の群では左心耳血栓が 29%に見られたが、その他の 3 群では有意に低頻度であった (2.0~6.7%、 $p<0.01$)。

IV 考察

心房細動による脳梗塞は重症な疾病であるにも関わらず、これまで十分な基礎的検討はなされず、主に疫学的な情報により治療方針が立てられてきた。したがって心房細動において左房内に血栓が出来るメカニズムやその背景にある神経体液性因子などの役割についてはほとんど未知の状態と言っても過言ではなかったが、本研究により一定の包括的な理解が得られるようになったと考える。

1) 心房細動はそれ単独で心原性脳梗塞を起こしやすいとは言えないことは種々の疫学的調査によって明らかになっている。実際に心原性脳梗塞を生じやすい患者背景として、加齢、高血圧、糖尿病などが挙げられている。このことは心房細動による心房内血流うっ滞のみが脳梗塞の原因ではないことを意味していると思われる。本研究では、すでに研究者らがいち早く注目してきた心房内皮機能に焦点をあて、そのメカニズムを検討した。心房細動はそれ単独で血流うっ滞を来すだけでなく、TM、TFPI、eNOS など正常な心房内皮に存在する抗血栓分子の遺伝子発現を低下させるが、その低下の程度は当然のことながら正常洞調律時の心房内皮機能に依存するのであろう。本研究では患者背景因子を有するラットモデルを用い、洞調律時に加齢、高血圧、糖尿病が独立して心房内皮機能障害を生じることを明らかにした。組織学的検索で、このような病態モデルではすべてマクロファージを主体とする白血球浸潤が心房内皮直下に顕著に認められることから、局所の炎症が心房内皮の抗血栓性を減弱しているものと思われる。興味深いことに、それぞれの脳梗塞危険因子は異なった局所の凝固バランス異常をもたらすことから、背景因子別に考え得る予防法が異なる可能性も指摘できよう。このように本研究結果は、これまでの疫学的情報に対して基礎的な理解を与えるだけでなく、今後の新しい予防法のあり方を提起したものとも考えている。

2) 心房細動は、心肥大、高血圧に多く合併するとともに、男性に多く見られることが知られる一方で、脳梗塞は女性に多いという一定の性差が観察されているが、このような性差の背景にあるメカニズムに

については長らく不明である。本研究では、SHR ラットにおける心房の電氣的及び構造的リモデリングに及ぼす性差の影響につき検討した結果、明らかな構造的リモデリングの性差が見られ、オスの SHR では、WKY ならびにメスの SHR に比し、病理学的に著明な線維化がみられるとともに、TIMP-1 mRNA の有意な発現の増加が観察された。Angiotensin II 受容体拮抗薬(ARB)である olmesartan 投与では、この線維化の明らかな抑制、TIMP-1 mRNA 発現の有意な低下を認め、線維化の性差には、angiotensin II の関与が示唆された。又、メスでは、ACE mRNA 発現の低下と ACE2 mRNA 発現の亢進をみとめることより、構造的リモデリングの性差には、ACE、ACE2 発現の性差が関与している可能性もある。実際、ラット新生児培養心筋細胞を用いて、性ホルモンの慢性投与による ACE、ACE2 発現に及ぼす効果につき検討したところ、 17β -estradiol は、心筋培養細胞における ACE mRNA 発現を有意に低下させ、性ホルモンが ACE の発現に影響すると考えられた。ACE2 は、angiotensin II を angiotensin-(1-7) [ANG-(1-7)]に変換し、この ANG-(1-7)は、心房細動の発症に対して抑制的に作用することが報告されている。したがって、olmesartan は、直接的に Ang II の作用を抑制するのみならず、この ACE2 の発現を亢進させ、心房細動の発症に対して抑制的に働く可能性も示唆された。このように、心房細動の発生の性差においては、性ホルモン、ことに女性ホルモンが発生に強く影響する可能性が示唆され、ARB のみならず、女性ホルモンの投与は、心房細動の発症に対して抑制的に作用する可能性がある。

現在のところ、脳梗塞予防に用いられる薬物はワルファリンのみであるが、その他の薬物も間接的に血栓易形成性に関与する可能性も排除できない。アミオダロンは、抗不整脈効果とともに心筋保護作用、リモデリング抑制作用などを有しているが、これには、サイトカインの産生抑制なども一部関与していることが報告されている。一方、心房細動では、心房内皮細胞での eNOS の発現が低下していること、さらに、アミオダロンは、内皮細胞の tissue factor の発現を抑制することが報告されているが、その機序については不明である。そこで、アミオダロンの内皮細胞に及ぼす作用につき検討したところ、アミオダロンには、endothelial nitric oxide synthase (eNOS) 由来の一酸化窒素 (nitric oxide, NO) の産生を著明に亢進することが明らかになった。NO は、強い血小板抑制作用を有するが、心房細動においては、eNOS 由来の NO 産生が抑制され、これが血栓の形成を助長することが示唆される。したがって、アミオダロンには、こうした NO 増加作用により血栓形成防止効果につながる可能性がある。今後、薬物の内皮機能への影響について、さらなる検討が必要と思われる。

3) AF における NO 産生低下の機序について、イヌ AF モデルを用いて検討したところ、AF モデル群ではシャム群に比して血中 NOX 濃度は低値を示し、その一方で内因性 NO 合成酵素阻害物質 ADMA の血中濃度は高値を示した。また、AF 心房組織において ADMA 産生酵素の発現は亢進し、ADMA 分解酵素の発現は低下した。これらの変化は心室組織で認められなかった。以上から、AF における NO 産生の低下は、心房組織での ADMA 濃度が増加し、それに起因している可能性が強く示唆された。

4) 臨床例における検討では、脳梗塞に占めるラクナ梗塞の頻度は 27%と以前より減少しているのに対し、アテローム血栓性脳梗塞と心原性脳梗塞の頻度は約 70%と高いことが明らかとなった。AF は高齢になるほど罹患率が増加することが明らかにされているが、わが国の人口の高齢化とともに AF 患者はさらに増加するものと考えられ、脳梗塞にしろ心原性脳梗塞の割合はさらに増加するものと考えられた。心原性脳梗塞の原因としての AF の合併頻度は従来の報告より高く 90%であった。これは連続心電図監視により発作性 AF を約 20%の例に認められたことが関係していると考えられる。心原性脳梗塞がラクナ梗塞、アテローム血栓性脳梗塞に比して重症であることより、AF 例、とくに血栓塞栓のリスクを有する例に対する抗凝固療法の重要性が改めて示された。

心原性脳梗塞発症前より予防的にワルファリンが投与されていたのは全体の20%と少なかったが、このワルファリン投与例のPT-INRを検討すると、1.5以下と低値であれば脳梗塞予防はできず、1.6~2.0であっても脳梗塞発症を認めた。PT-INRコントロールは2.0以上を目標とすべきかもしれない。出血性合併症との関連からわが国における至適コントロール域の確立が必要と考えられた。

5) 血管内で血栓が生じるには古典的なVirchowの3条件の存在が必要である。本研究の結果、①心房内膜機能の低下(von Willebrand 因子上昇)と②左房内血液うっ滞(血流速度低下)があると、③血液成分に変化(フィブリノーゲン上昇)が生じ、その結果D-ダイマーが有意に上昇していた。すなわち、心房細動例の心房内ではVirchowの3条件が成立し、易血栓性の状態にあり、結果として心原性塞栓症の発症が高まることが示された。臨床的にはCHADS2スコアが心房細動例の心原性塞栓症の危険層別化に有用とされている。今回の研究によって、このスコアで層別化した心原性塞栓症の危険が増すにつれ、①左房内うっ滞の程度(モヤモヤエコーの増強、左心耳血流速度低下)が増し、②易血栓性(D-ダイマー値)が増すことが示された。一方で、CHADS2スコアで評価した塞栓症の危険が増すにつれて、動脈硬化が増強することも示され、本スコア高値例では心原性塞栓症ばかりではなく、血栓性脳梗塞の危険性も高い可能性が示唆される。

これまで多くの研究で検討されてきた凝血分子マーカー以外に、本研究では新しいマーカーとして高分子量アディポネクチン(アディポネクチンのうち生理活性を持つもの)とチオレドキシン(様々な心疾患で上昇が認められている)を検討した。その結果、慢性心房細動例でも臨床的に塞栓症リスクが高い例では、アディポネクチンレベルが低下しており、これが凝固能亢進に一部関係していることが示唆された。一方、酸化ストレスは左房内血液うっ滞が存在すると、血栓形成を促すことが示唆された。

以上のような基礎的・臨床的知見は、心房細動に伴う脳梗塞予防という命題が、単に抗凝固療法の啓蒙活動を要するだけでなく、広範な病態生理学的な異常に基づくという認識の上に、他分野における知見を応用可能な追求分野であることを明らかにしたものと考えている。最後に本研究事業に貴重なご支援を賜りました、財団法人車両競技公益資金記念財団に対して深い感謝を申し上げたい。

V 研究成果の発表

1. Yamashita T. Molecular basis of thromboembolism in association with atrial fibrillation. *Circ J.* 71(Suppl A): A-40-44, 2007.
2. Yamashita T, Sekiguchi A, Kato T, Tsuneda T, Iwasaki Y, Sagara K, Inuma H, Sawada H, Aizawa T. Angiotensin type 1 receptor blockade prevents endocardial dysfunction of rapidly paced atria in rats. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 8:127-32, 2007.
3. Kato T, Yamashita T, Sekiguchi A, Tsuneda T, Sagara K, Takamura M, Kaneko S, Aizawa T, Fu LT. AGEs-RAGE System Mediates Atrial Structural Remodeling in the Diabetic Rat. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 19:415-420, 2008
4. Date T, Yamashita T, Sekiguchi A, Iwasaki Y, Aizawa T, Yamane T, Aramaki Y, Komukai K, Taniguchi I, Yoshimura M. Infiltration of macrophages through the atrial endocardium of inflammation-induced rats. *Circ J.* 73: 932-937, 2009.
5. Nishimura S, Kawai Y, Nakajima T, Hosoya Y, Fujita H, Katoh M, Yamashita H, Nagai R, Sugiura S : Membrane potential of rat ventricular myocytes responds to axial stretch in phase, amplitude and speed-dependent manners. *Cardiovasc Res.* 72: 403-411, 2006.

6. Ma J, Kishida S, Wang GQ, Meguro K, Imuta H, Oonuma H, Iida H, Jo T, Takano T, Morita T, Nagai R, Nakajima T. Comparative effects of azelnidipine and other Ca²⁺-channel blockers on the induction of inducible nitric oxide synthase in vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 47: 314-321, 2006.
7. Kishida S, Nakajima T, Ma J, Jo T, Imuta H, Oonuma H, Iida H, Takano H, Morita T, Nagai R. Amiodarone and N-desethylamiodarone enhance endothelial nitric oxide production in human endothelial cells. *Int Heart J.* 47: 85-93, 2006.
8. Sahara M, Takahashi T, Imai Y, Nakajima T, Yao A, Morita T, Hirata Y, Nagai R. New insights in the treatment strategy for pulmonary arterial hypertension. *Cardiovasc Drugs Ther.* 20: 377-386, 2006.
9. Iida H, Kurano M, Takano H, Kubota N, Morita T, Meguro K, Sato Y, Abe T, Yamazaki Y, Uno K, Takenaka K, Hirose K, Nakajima T. Hemodynamic and neurohumoral responses to the restriction of femoral blood flow by KAATSU in healthy subjects. *Eur J Appl Physiol* 100: 275-285, 2007.
10. Nakajima T, Jo T, Meguro K, Oonuma H, Ma J, Kubota N, Imuta H, Takano H, Iida H, Nagase T, Nagata T. Effect of dexamethasone on voltage-gated Na⁺ channel in cultured human bronchial smooth muscle cells. *Life Sci.* 82: 1210-1215, 2008.
11. Nakajima T, Iida H, Kurano M, Takano H, Morita T, Meguro K, Sato Y, Yamazaki Y, Kawashima S, Ohshima H, Tachibana S, Ishii N, Abe T. Hemodynamic responses to simulated weightlessness of 24-h head-down bed rest and KAATSU blood flow restriction. *Eur J Appl Physiol.* 104:727-737, 2008.
12. Meguro K, Iida H, Takano H, Morita T, Sata M, Nagai R, Nakajima T. Function and Role of Voltage-Gated Sodium Channel (Nav1.7) Expressed in Aortic Smooth Muscle Cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 296: H211-9, 2009.
13. Nakajima T, Kubota N, Tsutsumi T, Oguri A, Imuta H, Jo T, Oonuma H, Soma M, Meguro K, Takano H, Nagase T, Nagata T. Eicosapentaenoic acid inhibits voltage-gated sodium channels and invasiveness in prostate cancer cells. *Br J Pharmacol.* 156: 420-31, 2009.
14. Matsuyama N, Tsutsumi T, Kubota N, Nakajima T, Takeyama Y. Direct action of angiotensin II receptor blocker on angiotensin II-induced left atrial conduction delay in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension* (in press).
15. Kishida S, Meguro K, Oonuma H, Iida H, Ma J, Takano H, Imuta H, Iwasawa K, Jo T, Kubota N, Tsutsumi T, Hikiji H, Nagai R, Nakajima T. Amiodarone and N-Desethylamiodarone enhance endothelial nitric oxide production in human endothelial cells: Involvement of nonselective cation channels (submitted).
16. Kubota N, Tsutsumi T, Matsuyama N, Takeyama Y, Takano H, Iida H, Nakajima T. Gender differences of left atrial remodeling in spontaneously hypertensive rats (SHR): Possible involvement of ACE and ACE2 (submitted).
17. Ashikaga K, Kobayashi T, Kimura M, Owada S, Sasaki S, Iwasa A, Furukawa K, Motomura S, Okumura K. Effects of amiodarone on electrical and structural remodeling induced in a canine rapid pacing-induced persistent atrial fibrillation model. *Eur J Pharmacol.* 536:148-153, 2006.
18. Komatsu T, Sato Y, Tachibana H, Nakamura M, Horiuchi D, Okumura K. Randomized crossover study of the long-term effects of pilsicainide and cibenzoline in preventing recurrence of symptomatic paroxysmal atrial fibrillation: influence of the duration of arrhythmia before therapy. *Circ J.* 70:667-672, 2006.

19. Okumura K. Extracellular matrix remodeling as a cause of persistent atrial fibrillation: Another therapeutic target. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 18:1083-1085, 2007.
20. Komatsu T, Tachibana H, Sato Y, Ozawa M, Nakamura M, Okumura K. Efficacy of amiodarone for preventing the recurrence of symptomatic paroxysmal and persistent atrial fibrillation after cardioversion. *Circ J.* 71:46-51, 2007.
21. Yamada M, Kushibiki M, Osanai T, Tomita H, Okumura K. Vasoconstrictor effect of aldosterone via angiotensin II type 1 (AT1) receptor: possible role of AT1 receptor dimerization. *Cardiovasc Res.* 79:169-178, 2008.
22. Tomita H, Metoki N, Saitoh G, Ashitate T, Echizen T, Katoh T, Fukuda M, Yasujima M, Osanai T, Okumura K. Elevated plasma brain natriuretic peptide levels independent of heart disease in acute ischemic stroke: Correlation with stroke severity. *Hypertens Res.* 31:1695-1702, 2008.
23. Horiuchi D, Iwasa A, Sasaki S, Owada S, Kimura M, Sasaki K, Okumura K. Effect of pilsicainide on dominant frequency in the right and left atria and pulmonary veins during atrial fibrillation: Association with its atrial fibrillation terminating effect. *Eur J Pharmacol.* 608:54-61, 2009.
24. Osanai T, Tomita H, Kushibiki M, Yamada M, Tanaka M, Ashitate T, Echizen T, Katoh T, Magota K, Okumura K. Coupling factor 6 enhances Src-mediated responsiveness to angiotensin II in resistance arterioles and cells. *Cardiovasc Res.* 81:780-7, 2009.
25. 目時典文、奥村謙. 心原性脳梗塞の病態と重症度. *Heart View* 13:58-63, 2009.
26. Ohara K, Inoue H, Nozawa T, Hirai T, Iwasa A, Okumura K, Lee JD, Shimizu A, Hayano M, Yano K. Accumulation of risk factors enhances the prothrombotic state in atrial fibrillation. *International Journal of Cardiology* 126:316-321, 2008.
27. Dougu N, Takashima S, Sasahara E, Taguchi Y, Toyoda S, Hirai T, Nozawa T, Tanaka K, Inoue H. Differential diagnosis of cerebral infarction using an algorithm combining atrial fibrillation and D-dimer level. *European Journal of Neurology* 15:295-300, 2008.
28. Ohara K, Hirai T, Fukuta N, Sakurai K, Nakagawa K, Nozawa T, Inoue H: Relation of left atrial blood stasis to clinical risk factors in atrial fibrillation. *International Journal of Cardiology* 132:210-215, 2009.
29. 福田信之, 大原一将, 中川圭子, 平井忠和, 能澤 孝, 井上 博: 高分子量アディポネクチンは心房細動例における脳梗塞リスクと関連する. 第56回日本心臓病学会学術集会抄録集, 9, 8-9, 2008, 東京.