

主論文の要旨

**Increased  $^{99m}\text{Tc}$ -Sestamibi Washout Reflects Impaired  
Myocardial Contractile and Relaxation Reserve  
During Dobutamine Stress Due to Mitochondrial  
Dysfunction in Dilated Cardiomyopathy Patients**

〔 拡張型心筋症患者において、ミトコンドリア機能不全により  
ドブタミン負荷下で $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi washoutの亢進が  
心筋収縮能と弛緩能を反映する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻  
病態内科学講座 循環器内科学分野

(指導：室原 豊明 教授)

林 大介

## 【緒言】

拡張型心筋症( DCM )は心腔の拡大および心筋の収縮機能低下を呈する進行性の予後不良の疾患である。DCM 患者においては、心収縮予備能の低下した症例では予後不良であるとの報告が散見されている。

心筋細胞内のミトコンドリアは心筋のエネルギー源である ATP を産生し、ミトコンドリア機能障害の程度は、心機能障害と関連し、予後不良と関連しうる可能性がある。以前我々は肥大型心筋症患者において、 $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi (MIBI) washout rate(WR)の亢進が、心筋収縮および弛緩予備能の障害を予測しうること、 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI WR とミトコンドリア電子伝達系関連タンパクの遺伝子発現との間に逆相関の関係がみられることを報告した。しかし DCM 患者における  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI WR と心筋収縮弛緩との関係は明らかでない。

本研究において DCM 患者に対して、 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI WR が心筋収縮および弛緩予備能の障害を予測し得るかを検討した。さらに心筋のミトコンドリア電子伝達系関連タンパクの mRNA 定量解析を行い、電子顕微鏡でミトコンドリアの形態を観察し、 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI WR と比較し検討した。

## 【対象および方法】

洞調律の 20 人の DCM 患者で心エコー、両心カテーテル検査、心筋  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI シンチグラフィーを行った。安静時のデータを得た後で、ドブタミン負荷時の左室圧を測定した。ドブタミン負荷は  $5\Gamma(\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min})$  から開始し 5 分毎に  $5\Gamma$  ずつ  $15\Gamma$  まで増量し、各 dose における左室圧を測定した。安静時、ドブタミン負荷中の左室圧曲線から、心筋収縮の指標として LV  $\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$  を弛緩の指標として  $T_{1/2}$  を算出した。左室バイオプシー検体から RT-PCR 法を用いてミトコンドリア電子伝達系タンパクである  $\alpha$ -KGDH、NDUFV3、COX5B の mRNA 発現の程度を GAPDH との比として定量評価した。また電子顕微鏡で心筋内のミトコンドリアの数および形態を観察し、ミトコンドリア障害の程度を評価した。 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI シンチグラフィーでは、トレーサー投与 30 分後に初期像、3 時間後に後期像を撮像し、心筋  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI WR を算出した。患者は中央値 24.3% で亢進群 A(WR $\geq$ 24.3%) 10 人、非亢進群 B(WR $<$ 24.3%) 10 人の 2 群に分けて各指標を比較検討した。

## 【結果】

患者は平均年齢は  $53\pm 13$  才、平均 LVEF は  $33\pm 11\%$  で、BNP の上昇と norepinephrine (NE) の上昇がみられた(Table 1)。

ドブタミン  $15\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  負荷時 LV  $\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$  の%変化率において有意な逆相関が認められた( $r=0.59$ ,  $p=0.001$ : figure 1A)。またドブタミン  $15\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  負荷時  $T_{1/2}$  の%変化率において有意な逆相関が認められた( $r=0.57$ ,  $p=0.03$ : figure 1B)。

ドブタミン  $15\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  負荷時の最大 LV  $\text{dP}/\text{dt}_{\text{max}}$  は B 群 ( $1,757\pm 703\text{mmHg}/\text{sec}$ ) で A 群 ( $3,160\pm 1,238\text{mmHg}/\text{sec}$ ) に比して有意に低値だった ( $p=0.01$ )。その際の%変化率も

有意に低値であった( $p=0.02$ )。血清 NE 濃度は B 群 ( $862\pm 420\text{pg/dl}$ )で A 群 ( $457\pm 286\text{pg/dl}$ )に比して有意に高値だった ( $p = 0.03$ )。 (table 2)

ミトコンドリア電子伝達系に関連する補酵素の蛋白発現の mRNA 定量解析では  $\alpha$ -KGDH、NDUFB3、COX5B の mRNA 発現は B 群で有意に低下しており (figure 2)、 $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  と  $\alpha$ -KGDH、NDUFB3、COX5B の mRNA 発現との間に有意な負の相関がみられた (figure 3)。

6 症例 (A 群 4 例、B 群 2 例) で行った電子顕微鏡での検討では、一視野あたりの変性ミトコンドリアの割合から求めた Mitochondria damage index が、 $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  と正の相関がみられた ( $r=0.88$ ,  $P=0.048$ )が、ミトコンドリアの数との間には有意な関係は認められなかった (figure 4A)。ミトコンドリアの糖利用障害を示唆する間質のグリコーゲン沈着について  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  が亢進している症例ほど多かった。一方ミトコンドリア障害の程度の指標のひとつである脂肪滴の沈着では有意な関係は認められなかった (figure 4B)。

A 群の代表例を figure 5A、B 群の代表例を figure 5B に示す。A 群の症例は、ドブタミンに対する収縮特性反応も良好で、SPECT 像は前壁および心尖部でわずかに washout 亢進が見られる以外はほぼ正常であった。電顕像でミトコンドリアの大小不同はみられるが、空砲化やグリコーゲンの沈着はわずかで拡大像でクリステが確認でき、正常の形態に近いと考えられる。一方 B 群の症例は、収縮予備能が障害され、SPECT 像では  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI}$  の取り込みが低下し、前壁中隔～下壁にかけて広範に washout 亢進が認められた。電顕像では、ミトコンドリアの変性が高度にみられ、間質へのグリコーゲン沈着もみられた。

## 【考察】

本研究において  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  の亢進はドブタミン負荷中の心筋収縮弛緩予備能の障害とミトコンドリア電子伝達系に関連する補酵素の mRNA 発現およびミトコンドリアの形態異常と関連していた。

心筋血流製剤の  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI}$  は、脂溶性でプラスに帯電している。一方ミトコンドリアは心筋細胞内で強くマイナスに帯電しており、投与された  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI}$  は電気勾配にしたがって約 90%がミトコンドリア内にとどまる。種々の心疾患でミトコンドリアが障害をうけると、この電気勾配が浅くなり  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI}$  の取り込みが低下し washout が亢進する。 $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  の亢進はミトコンドリアの機能障害を反映する。

$^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  はミトコンドリア電子伝達系関連蛋白の mRNA 発現と逆相関した。ミトコンドリア酵素 mRNA 発現の減少はミトコンドリア膜内外電位差の減少と関係しており、ミトコンドリア機能に影響を及ぼす。また、それは  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  の亢進に起因している可能性がある。

電顕による検討で、心筋のミトコンドリアのクリステの変性の程度が  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  と相関していた。一方、ミトコンドリアの数と  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI WR}$  の間に相関はなかった。我々が以前報告した肥大型心筋症患者における検討では、心筋収縮または弛緩

予備能の障害を有する患者で、ミトコンドリアの数が増加し、大小不動が多くみられることを示した。しかし、本研究における DCM 患者での検討では、ミトコンドリアの数は関連なく、ミトコンドリアの微細構造異常の程度が心筋予備能の障害の程度を示した。本研究の患者群は比較的軽症の DCM であり、ミトコンドリアの数に差はないものと考えられる。さらに心機能障害が進行し重症化することによって、ミトコンドリア数が減少する可能性があるが、重症例での検討も必要である。またグリコーゲン沈着の増加はより進行した DCM 患者で観察され、<sup>99m</sup>Tc-MIBI WR と関連していた。グリコーゲン沈着増加は、高度に変性した不整なミトコンドリアの周辺でしばしば観察された。脂質代謝の異常を反映すると考えられる心筋内の脂肪滴沈着はすべての患者でしばしば観察されたが、<sup>99m</sup>Tc-MIBI WR と関連しなかった。

心臓超音波検査および心臓カテーテル検査のベースラインの指標は、<sup>99m</sup>Tc-MIBI WR と関連せず、%変化率が心筋収縮弛緩予備能と相関がみられた。さらに、心筋<sup>99m</sup>Tc-MIBI WR は、ドブタミン負荷下で、心筋収縮予備能と逆相関していた。<sup>99m</sup>Tc-MIBI WR はドブタミン負荷時の心予備能の障害を反映すると考えられた。

DCM 患者において心筋収縮予備能の障害は、しばしば予後の重要な予測因子であることが報告されている。心筋予備能の機能障害が、Ca<sup>2+</sup>ハンドリングの異常、またはミトコンドリア呼吸プロセスの障害と関連があると考えられる。

<sup>99m</sup>Tc-MIBI WR が心筋予備能とミトコンドリア機能不全または構造異常の障害の程度を反映しうることを示した今回の結果は、DCM の病態生理学的機序を解明する手掛かりとなる可能性がある。<sup>99m</sup>Tc-MIBI シンチグラフィーは、DCM 患者の予後の非侵襲的評価に役立つと考える。

## 【結論】

DCM 患者において、<sup>99m</sup>Tc-MIBI WR の亢進は心臓カテーテル検査における左室心筋収縮能および弛緩予備能の障害、ミトコンドリアの機能障害と mRNA 発現抑制と関連していた。心筋<sup>99m</sup>Tc-MIBI 心筋シンチグラフィーは DCM 患者において非侵襲的にミトコンドリア機能異常に伴う心収縮予備能を評価できる可能性がある。