

乳幼児心疾患におけるナトリウム利尿ペプチドの
免疫組織学的研究

研究課題番号 04670560

平成5年度文部省科学研究費補助金

一般研究(C)

研究成果報告書



平成6年3月

研究代表者 西川俊郎

(東京女子医科大学医学部助教授)

はしがき

心臓から分泌されるナトリウム利尿ペプチドには、心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）と脳性（またはB type）ナトリウム利尿ペプチド（BNP）があり、ナトリウム利尿による体液量の調節、あるいは血管拡張による血圧や末梢血管抵抗の調節などにより、心不全時の心負荷の軽減、心機能の改善に重要な役割を果たしている。両ペプチドとも心房での分泌が主体であり、心室ではほとんど産生されないが、心不全状態では心室でもさかんに分泌されるようになる。胎児期では正常でも心室で多量に分泌されていることから、この変化は心室心筋の胎児型への形質転換とされており、心不全心筋における研究が種々の方向からなされているが、必ずしも詳細がわかっている訳ではなく、とくに乳幼児心筋についての検討はほとんどない。本研究は、乳幼児期の心疾患とくに心筋疾患の心室筋におけるANPおよびBNPの存在・分布、心負荷の程度と分布量の関係、心室筋におけるmRNAの発現、細胞骨格との関連などについて検討することを目的とした。その結果、心内膜線維弾性症、拡張型心筋症および拡張相肥大型心筋症の心室心筋で、ANPおよびBNPの発現があることが免疫組織学的に証明された。両ペプチドの分布はほぼ同様で、同一心筋細胞から発現している所見も認められた。In situ hybridization法により、心内膜下や線維化巣に隣接する心筋にmRNAの発現が強いことが示され、免疫組織染色の結果と一致していた。さらに、細胞骨格の一つであるデスミンの増加とANP・BNP発現との関連が示され、個々の心筋に加わる負荷が、ANP・BNP発現と密接な関係があることが示唆された。

この研究で得られた結果は、不全心筋の代償機能や心室筋の形質転換に関する研究をすすめる上で、きわめて有用であると考えられた。

研究組織

研究代表者： 西川俊郎 （東京女子医科大学医学部助教授）

研究分担者： 笠島 武 （東京女子医科大学医学部教授）

川井三恵 （東京女子医科大学医学部助手）

安藤明子 （東京女子医科大学医学部助手）

研究経費

平成4年度 700千円

平成5年度 700千円

計 1400千円

研究発表

(1) 学会雑誌等

1. 西川俊郎、川井三恵、田中正人、安藤明子、笠島 武、成瀬光栄、成瀬清子、永田まこと、堀江俊伸、中沢 誠、門間和夫、広江道昭：小児の心筋疾患における心房性ナトリウム利尿ペプチドの免疫組織学的検討。心臓 24:908-913, 1992
2. 西川俊郎、堀江俊伸、川井三恵、田中正人、荷見源成、永田まこと、岳マチ子、中沢 誠、笠島 武：心内膜線維弾性症。循環器科、31:205-210, 1992
3. Toshio Nishikawa, Yukichi Tanaka, Yoshiro Sasaki, Motoyoshi Kawataki, Yoichiro Miyazawa, Seiyo Yasui, Masashi Takarada, Takeshi Kasajima: A case of pediatric cardiomyopathy with severely restrictive physiology. Heart Vessels 7(4):206-210, 1992
4. Shinichiro Morimoto, Shinya Hiramitsu, Kenji Yamada, Akihisa Uemura, Natsuko Kubo, Katsutomo Kimura, Yasushi Mizuno, Toshio Nishikawa, Motonari Hasumi, Morie Sekiguchi: Clinical and pathologic features of chronic myocarditis: Four autopsy cases presenting as dilated cardiomyopathy in life. Am J Cardiovasc Pathol 4(2):181-191, 1992
5. Mitsuhide Naruse, Kiyoko Naruse, Toshio Nishikawa, Izumi Yoshihara, Kazuoki Ohsumi, Nobuhiro Suzuki, Reiko Demura, Hiroshi Demura: Endothelin-3 immunoreactivity in gonadotrophs of the human anterior pituitary. J Clin Endocrinol Metab 74(5):968-972, 1992
6. Matsuoka R, Nishikawa T, Bruyere HJ, Opitz JM, Gilbert EF: Teratogenic effect of Tedral(theophylline, ephedrine, and phenobarbital) on cardiac development in chick embryos. Cong Anom 31:65-75, 1992
7. 田中道雄、内間久隆、武村民子、西川俊郎、笠島 武、堀江俊伸：心病変を伴う慢性関節リウマチ-完全房室ブロック・大動脈炎および僧帽弁閉鎖不全。循環器科 32(1):68-74, 1992
8. 瀬尾和宏、今井康晴、今村紳一郎、太田淑子、西川俊郎、松岡瑠美子、廣江道昭：新生児免疫寛容ならびに胸腺内ドナー細胞注入法を応用したラット心移植の試み。胸部外科 45(12):1067-1070, 1992

9. 田中祐吉、西川俊郎、佐々木佳郎、松村光芳、西平浩一、堀江俊伸：Anthra-cycline 系薬剤による心筋障害。循環器科 32(2):169-172, 1992
10. 西川俊郎、川井三恵、笠島 武、中島裕司、中沢 誠、門間和夫：小児期拡張型心筋症の心筋生検組織所見の分析。日小循環誌 9:275-279, 1993
11. 西川俊郎、石山茂、竹田和代、久木良平、関口守衛、堀江俊伸、笠島 武：心室中隔の異常肥厚を示す心疾患。循環器科 34:497-502, 1993
12. Mie Kawai, Toshio Nishikawa, Masato Tanaka, Akiko Andoh, Takeshi Kasajima, Takashi Higa, Tatsuya Tanikawa, Mizuo Kagawa, Kazuo Momma: An autopsied case of Williams syndrome complicated by moyamoya disease. Acta Paediatrica Japonica 35:63-67, 1993
13. Kazuhiro Seo, Shinichiro Imamura, Yoshiko Ohta, Toshio Nishikawa, Yasuharu Imai: Longer transplanted heart allograft survival in rats without immunosuppressants after intrathymic myocardial cell inoculation in the neonatal period. Heart Vessels 8:67-70, 1993
14. 川井三恵、西川俊郎：拡張型心筋症の心筋生検組織像の病理組織学的検討-組織像と病因との関連および年齢層による差異- 慈恵医大誌 108:775-89, 1993
15. Masato Tanaka, Michiaki Hiroe, Toshio Nishikawa, Tetsuji Sato, Hiroshi Ito, Susumu Adachi, Yukio Hirata, Fumiaki Marumo: Cellular localization and structural characterization of natriuretic peptide-expressing ventricular myocytes from patients with dilated cardiomyopathy. J Histochem Cytochem 42(accepted) 1994
16. Masato Tanaka, Hiroshi Ito, Susumu Adachi, Hajime Akimoto, Toshio Nishikawa, Takeshi Kasajima, Michiaki Hiroe: Hypoxia-induced apoptosis with enhanced expression of Fas antigen mRNA in cultured neonatal rat cardiomyocytes. Cir Res (submitted) 1994
17. Masato Tanaka, Michiaki Hiroe, Hiroshi Ito, Toshio Nishikawa, Susumu Adachi, Kazutaka Aonuma, Takeshi Kasajima, Fumiaki Marumo: Differential localization of atrial natriuretic peptide and skeletal α -actin mRNAs in left ventricular myocytes of patients with dilated cardiomyopathy. Am J Pathol (submitted) 1994

(2) 口頭発表

1. 田中正人 西川俊郎、川井三恵、笠島 武、堀江俊伸、広江道昭、丸茂文昭：
拡張型心筋症および急性心筋炎患者の心室におけるナトリウム利尿ペプチドフ
ァミリー発現の検討-陽性細胞の形態学的特徴よりみた発現の機序について-。
第56回日本循環器学会総会 1992年3月27日
2. Toshio Nishikawa, Masato Tanaka, Mie Kawai, Takeshi Kasajima, Kiyoko
Naruse, Mitsuhide Naruse, Megumi Nishikawa, Michiaki Hiroe: Expression
of brain natriuretic peptide in the ventricle of endocardial fibro-
elastosis: An immunohistochemical study. 76th Federation of American
Societies for Experimental Biology (FASEB). 1992年4月6日
3. 西川俊郎、田中正人、川井三恵、安藤明子、笠島 武：小児の心筋疾患、心内
膜心筋疾患における brain natriuretic peptide の免疫組織学的検討。
第81回日本病理学会総会 1992年5月14日
4. 西川俊郎、川井三恵、中島裕司、中沢 誠、門間和夫：乳幼児小児拡張型心筋
症の心筋生検所見の分析。第28回日本小児循環器学会 1992年7月4日
5. 川井三恵、西川俊郎、安藤明子、笠島 武：拡張型心筋症における心内膜心筋
生検の病理組織学的検討。第12回東京女子医大免疫談話会 1992年7月4日
6. Toshio Nishikawa, Mie Kawai, Masato Tanaka, Shigeru Ishiyama, Akiko
Andoh, Takeshi Kasajima, Makoto Nakazawa, Kazuo Momma, Michiaki Hiroe
Morie Sekiguchi: Dilated cardiomyopathy in infants and children:
Histopathologic aspects of endomyocardial biopsy. 3rd International
Symposium on Cardiomyopathy and Myocarditis. 1992年10月5日
7. Toshinobu Horie, Yuko Kawai, Sadamasa Ogasawara, Toshio Nishikawa,
Saichi Hosoda, Morie Sekiguchi: Selection of candidates for heart
transplantation in patients with dilated cardiomyopathy. 3rd
International Symposium on Cardiomyopathy & Myocarditis. 1992年10月6日
8. Masato Tanaka, Michiaki Hiroe, Toshio Nishikawa, Tetsuji Sato,
Fumiaki Marumo, Takeshi Kasajima: Inhomogeneous expression of natri-
uretic peptides family in the ventricular myocytes of failing heart:
Its relation to myocardial architecture. 3rd International Symposium
on Cardiomyopathy and Myocarditis. 1992年10月7日

9. 西川俊郎：小児期の心筋生検組織像。第1回関東小児心筋疾患研究会
1992年10月31日
10. 川井三恵、西川俊郎、笠島 武：拡張型心筋症における心筋生検組織像の検討。
第1回慈大循環器疾患研究会 1992年10月20日
11. 田中正人、西川俊郎、石山茂、笠島武、伊藤宏、安達進、広江道昭、丸茂文昭：
心筋生検標本におけるANP、BNP発現の局在-in situ hybridization法による
検討。第14回心筋生検研究会 1992年11月27日
12. 田中正人、西川俊郎、石山茂、川井三恵、安藤明子、増田昭博、笠島武、
伊藤宏、安達進、廣江道昭、丸茂文昭：拡張型心筋症の心室筋におけるナトリ
ウム利尿ペプチド(ANP、BNP)の発現について-in situ hybridization 法によ
る検討-。第11回東京女子医大病理談話会 1992年11月28日
13. 川井三恵、西川俊郎、田中正人、石山茂、笠島武、堀江俊伸、広江道昭：びま
ん性肥厚を示すHCMの生検組織所見。第14回心筋生検研究会 1992年11月28日
14. 田中正人、石山茂、西川俊郎、笠島 武、安達進、伊藤宏、広江道昭、丸茂
文昭：拡張型心筋症患者の左心室における α skeletal actin mRNAおよび ANP
mRNA の局在の差異- in situ hybridization 法による検討-。第57回日本循
環器学会 1993年3月27日
15. 西川俊郎、川井三恵、田中正人、石山茂、安藤明子、笠島 武：高血圧性心疾
患および肥大型心筋症の心筋生検組織像の検討。第82回日本病理学会総会
1993年4月6日
16. 西川俊郎、川井三恵、中島裕司、中沢 誠、門間和夫：小児期肥大型心筋症の
臨床病理学的検討-成人例との比較。第29回日本小児循環器学会 1993年
7月2日
17. 西川俊郎、石山茂、竹田和代、田中正人、笠島 武、廣江道昭：小児の不整脈
疾患における心内膜心筋生検の意義。シンポジウム。第2回関東小児心筋疾
患研究会 1993年10月23日
18. 田中正人、廣江道昭、石山茂、安達進、伊藤宏、丸茂文昭、西川俊郎、笠島
武：拡張型心筋症患者の左心室におけるskeletal α actin mRNA およびANP
mRNAの局在の差異-in situ hybridization 法による検討-。第15回心筋生検研
究会 1993年11月27日

研究成果

本研究ではナトリウム利尿ペプチド（ANPおよびBNP）の乳幼児心疾患の心室筋における発現について検討をおこなった。

1. 心内膜線維弾性症、拡張型心筋症および拡張相肥大型心筋症の剖検例の心室に、ANPおよびBNP免疫反応陽性心筋細胞を認めた。その分布は心内膜側により多く、さらに線維化巣に隣接する心筋細胞に陽性率が高かった。ANPとBNPの分布はほぼ同じであり、さらに同一心筋細胞で両者の発現が確認された。
2. 同一パラフィンブロックからの通常染色標本と免疫染色を対比すると、心筋肥大、心筋細胞の変性、間質線維化などの組織病変が強い心筋ほどANP・BNP陽性細胞の分布量が多いことが示された。
3. 左室心筋生検標本における免疫組織学的検討では、ANP・BNPの陽性細胞の分布量と、左室造影による左室拡張末期容積および左室駆出率の間にそれぞれ正および負の相関を認めた。
4. 電顕像では、心筋細胞内に直径250-400nmの均一な電子密度の顆粒が認められ、免疫電顕により同部位にANP-金コロイドの集積が確認された。また、同一顆粒に同時にBNP-金コロイドも集積する像が認められた。
5. ANP・BNPのcDNA probeを用いた in situ hybridization法による検討では、両ペプチドのmRNAは心内膜下や線維化周囲の心筋細胞に強く発現がみられ、蛋白レベルの免疫組織染色の結果と一致していた。
6. 細胞骨格の一つである中間径フィラメントのデスミンについて免疫組織染色をおこなった結果、デスミンが濃染する心筋細胞の分布と、ANP・BNP陽性細胞の分布がほぼ一致し、両者の関連が示唆された。

以上の結果から、乳幼児心筋疾患の心室筋におけるANP・BNPの分泌は、心室全体にかかる負荷により調節されるだけでなく、個々の細胞レベルで調節されていると考えられた。

この研究の内容とその関連した内容について既に刊行されている論文を以下に提示する。