

心原性塞栓症の第3の機序：心房細動における心肝連関

加藤武史* 八重樫貴紀

心房細動における左房内血栓形成の機序として、左房内血流うつ滞、左房内皮障害、血液凝固能亢進の3要素（Virchowの三徴）が知られているが、血液凝固能亢進の機序は不明である。われわれは、凝固関連分子の主要産生臓器である肝臓がこれに関与しているとの仮説を立て検討した。まず、肝生検を行った非アルコール性脂肪性肝炎症例から心房細動例と洞調律例を抽出し、DNAマイクロアレイ法を用いて肝組織の遺伝子発現プロファイルと比較検討した。ヒトの心房細動群と洞調律群の間で肝臓における遺伝子発現プロファイルは有意に異なり、BioCartaで定義されている354のパスウェイのうち、外因系凝固経路が最も著明に変化していた。次に、SDラットにおいて高頻度心房ペーシングを行う心房細動疑似モデルを作成し、その肝臓・末梢血球・左房・脾臓における遺伝子発現を検討した。その結果、高頻度心房ペーシングラットの肝臓においてfibrinogen, prothrombin, 凝固第X因子, antithrombin IIIの発現が増加していた。高頻度心房刺激による肝臓のfibrinogen産生亢進機序の一部は、末梢血および肝臓内でのIL-6/STAT3経路の活性化を介していた。これらの知見は、心房細動とそれに関連する塞栓症の病態形成において、心肝連関が存在することを示唆する。

（心電図，2018；38：257～268）

I. 心房細動における左房内血栓の形成機序

心房細動は脳梗塞の発生率を約5倍に増加させることが知られている^{1), 2)}。心房細動患者における脳

Keywords

- 心房細動
- 凝固第X因子
- フィブリノゲン
- 肝臓
- 脳梗塞

金沢大学大学院先進予防医学研究科システム生物学
(〒920-8641 石川県金沢市宝町13-1)

*は責任者を示す

梗塞の多くは、左房に形成された血栓による心原性塞栓である³⁾。心原性脳塞栓症の原因となる左房内血栓形成の機序として、左房内血流速度低下、左房内皮障害、血液凝固能亢進の3要素（Virchowの三徴）が知られている^{4), 5)}。左房内のいわゆる「もやもやエコー」は血流速度の低下によって見られ、左心耳内の血栓形成と塞栓症発症に関連していることが知られている⁶⁾。また、心房細動によって心房内のvon Willebrand因子, plasminogen activator inhibitor-1の発現が増加し, nitric oxideの発現が減少する^{7), 8)}。興味深いことに、ラットにおけるわずか8時間の高

The Third Mechanism of Cardiogenic Thromboembolism : Cardiohepatic Interaction in Atrial Fibrillation
Takeshi Kato, Takamori Yaegashi

2017年12月5日 原稿受領／2018年2月26日 掲載承認

表 1 心房細動患者の肝臓において著明に変化していた BioCarta パスウェイ

Gene and Frequent Pathway	LS permutation p-value
Extrinsic prothrombin activation pathway	0.00001
Overview of telomerase protein component gene hTert Transcriptional regulation	0.00001
Complement pathway	0.00016
p53 signaling pathway	0.00020
Hypoxia and p53 in the cardiovascular system	0.00027
CTCF: first multivalent nuclear factor	0.00040
Estrogen-responsive protein Efp controls cell cycle and breast tumors growth	0.00062
Acute myocardial infarction	0.00068
Apoptotic signaling in response to DNA damage	0.00088
Lectin-induced complement pathway	0.00098
Downregulated MTA-3 in ER-negative breast tumors	0.00173
ER-associated degradation (ERAD) pathway	0.00222
IL4 signaling pathway	0.00254
Basic mechanism of action of PPARa, PPARb (d) , and PPARg and effects on gene expression	0.00342
Activation of cAMP-dependent protein kinase, PKA	0.00364
Regulation of eIF4e and p70 S6 kinase	0.00373
Signaling pathway from G-protein families	0.00407

[文献 10) より引用]

頻度心房ペースングでさえ、心房内皮における tissue factor pathway inhibitor, thrombomodulin といった抗血栓分子の発現を低下させることが報告されている⁹⁾。これらの知見は心房細動における左房内血流速度低下と左房内皮障害を示唆するものであるが、Virchow の三徴における 3 番目の要素である血液の過凝固がどのように生じるかは、これまで不明であった。

肝臓は凝固因子および凝固関連分子の主要産生臓器である。そこで、われわれは心房細動における血栓形成において心肝連関が存在するとの仮説を立て、これを検討した¹⁰⁾。

II. 心房細動患者の肝臓における遺伝子発現プロファイルの検討

われわれはまず、当教室で肝生検を行った非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)の連続 465 症例から心房細動 3 例を抽出した。これらと年齢・性別・肝臓の組織学的ステージ(Brunt 分類)をマッチさせた洞調律の 3 例をコントロール群として、DNA マイク

ロアレイ法を用いて肝組織の遺伝子発現プロファイルと比較検討した。

その結果、アレイに含まれる 54674 のヒト遺伝子のうち、フィルターをかけた 4322 遺伝子が明確なクラスターを形成した。すなわち、ヒトにおいて心房細動群と洞調律群で、肝臓の遺伝子発現プロファイルが異なることが明らかとなった。さらにパスウェイ解析を行ったところ、BioCarta で定義されている 354 のパスウェイのうち外因系凝固経路が心房細動患者の肝臓において最も著明に変化していた(表 1)。

III. 心房細動モデルラットの作成

ヒトにおいて、心房細動群と洞調律群が異なる肝臓の遺伝子発現プロファイルを有することが明らかとなり、心房細動における心肝連関の存在が示唆された。しかしながら、心房細動そのものが肝臓の遺伝子発現を変化させるかどうかは不明であったため、次にわれわれは心房細動モデルラットの検討を行った。全身麻酔下に SD ラット(10 週齢)の右房内

表 2 実験動物の特徴

	Sham (n = 5)	4-h RAP (n = 5)	8-h RAP (n = 5)	12-h RAP (n = 5)
BW, g	410.2 ± 17.4	390.8 ± 23.5	390.4 ± 13.0	426.4 ± 31.6
LW/BW, × 10 ⁻²	3.90 ± 0.06	3.93 ± 0.21	4.21 ± 0.11	3.89 ± 0.25
動脈血液ガス				
pH	7.324 ± 0.008	7.389 ± 0.019	7.389 ± 0.015	7.365 ± 0.023
pCO ₂ , mmHg	53.4 ± 2.7	41.8 ± 3.5	45.3 ± 2.1	44.1 ± 6.0
pO ₂ , mmHg	73.1 ± 4.2	96.9 ± 8.4	84.3 ± 10.6	82.2 ± 7.7
HCO ₃ ⁻ , mmol/L	27.0 ± 1.1	24.4 ± 1.0	26.7 ± 0.9	24.4 ± 2.8
BE	0.44 ± 0.8	- 0.04 ± 0.56	1.74 ± 0.77	- 0.84 ± 2.37
Hb, g/dL	14.1 ± 0.6	14.4 ± 0.7	14.8 ± 0.6	14.4 ± 1.3
Lactate, mmol/L	2.62 ± 0.22	2.20 ± 0.23	2.18 ± 0.25	2.60 ± 0.30
血清肝酵素				
AST, U/L	72.2 ± 7.3	71.0 ± 7.4	71.4 ± 4.1	71.2 ± 3.3
ALT, U/L	34.4 ± 5.0	31.6 ± 1.6	35.6 ± 1.8	35.8 ± 2.2
ALP, U/L	497.6 ± 28.9	500.6 ± 27.8	573.2 ± 57.1	489.6 ± 46.3

値は平均 ± SEM. すべての項目において群間の有意差を認めなかった.

alkaline phosphatase : ALP, alanine aminotransferase : ALT, aspartate aminotransferase : AST,
base excess : BE, body weight : BW, hemoglobin : Hb, bicarbonate : HCO₃⁻, liver weight : LW,
partial pressure of carbon dioxide : pCO₂, partial pressure of oxygen : pO₂

へ内頸静脈から電極を挿入し, 1,200回/分の高頻度心房ペーシング(RAP)を12時間行い, 心房細動疑似モデルを作成した. 対照(sham)として右房に電極を挿入するが, 電気刺激を行わないSDラットを用いた. これら心房細動モデルラットの肝臓・末梢血球・左房・脾臓について遺伝子発現を比較検討し, 肝臓については組織学的検討を併せて行った.

RAPモデルにおいて1200回/分の心房刺激は2:1から3:1の心室応答をもたらし, 結果としてRAP群の心拍数は, sham群と比較して有意差を認めなかった. また, 肝臓重量や動脈血液ガス, 血中の肝酵素などの値についても, RAP群とsham群は同等であった(表2).

IV. RAPラットの肝臓における遺伝子発現プロファイルの検討

DNAマイクロアレイによる肝臓の遺伝子発現解析では, フィルター(fold change ≥ 1.2)で抽出された3737遺伝子において, 図1に示すとおり sham

群と12時間RAP群は明確にクラスターリングされた. すなわち, 12時間のRAPが肝臓における遺伝子発現プロファイルを有意に変化させることが示された. RT-PCR法ではRAPにより肝臓におけるfibrinogen α , β , γ 鎖 mRNA 発現が有意に亢進していた(図2A), かつ Western blot法にて fibrinogen 蛋白発現も有意に亢進していることを確認した(図2B). Prothrombin, 凝固第X因子, antithrombin III (AT III)についても同様に, 12時間のRAPにより mRNA (図2C)および蛋白発現(図2D)が亢進していた.

V. 心房高頻度興奮が肝臓の遺伝子発現を変化させる機序の検討

ここで, 高頻度心房興奮による肝臓での fibrinogen 産生亢進のメカニズムを明らかにするため, fibrinogen 産生調節に上流で関与しうる分子の発現を左房・脾臓・末梢血において検討した. その結果, 12時間RAPラットにおいて interleukin 6(IL-6)と

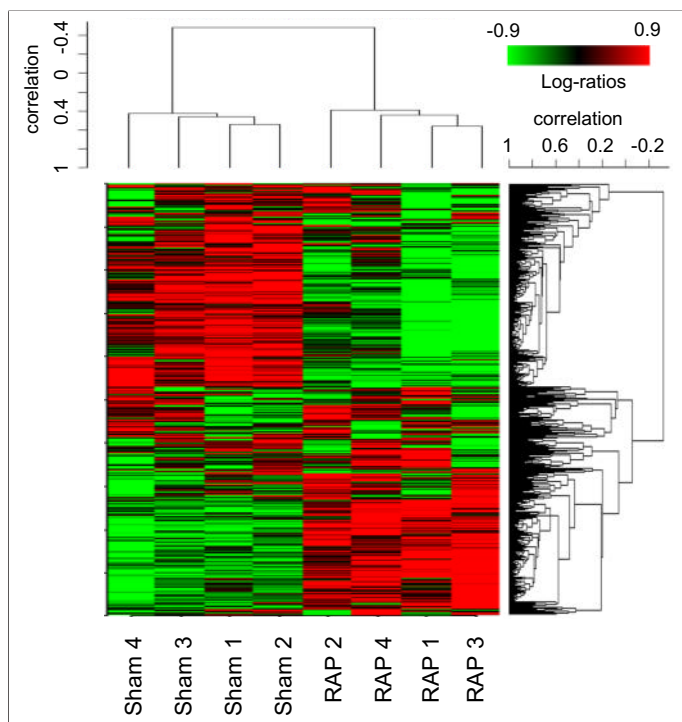


図 1

ラットの肝臓における遺伝子発現プロファイル

フィルター (fold change ≥ 1.2) で抽出された 3737 遺伝子についてのヒートマップと階層的クラスター分析を示す。高頻度心房ペースング (RAP) 群と sham 群は明確にクラスタリングされ、異なる遺伝子発現プロファイルを呈している。

〔文献 10) より引用〕

tumor necrosis factor α (TNF- α) の mRNA 発現亢進を末梢血球 (図 3A) で認めたが、左房 (図 3B) や脾臓では、これらの発現は変化しなかった。また RAP ラットの肝臓内では monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 発現が増加 (図 4A, B) するとともに、cluster of differentiation 11b (CD11b) 陽性細胞が増加した (図 4C, D)。免疫蛍光多重染色 (図 4E) を行ったところ、CD11b 陽性細胞は IL-6 を共発現しており、活性化された単球 / マクロファージが肝臓に浸潤していることが示唆された。そして、肝細胞核内において signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) のリン酸化が亢進していることが確認された (図 4C, D)。

RAP による肝臓での fibrinogen 産生における IL-6 の役割をさらに詳細に検討するため、RAP ラットに IL-6 中和抗体を事前投与する実験を行った。IL-6 中和抗体の投与により、RAP による肝臓の MCP-1 (図 5A, B) と CD11b (図 5C) の増加は若干抑制されたが、統計学的に有意ではなかった。RAP で生じる肝臓での STAT3 のリン酸化は IL-6

中和抗体により抑制され (図 5D)、その結果として fibrinogen 産生も抑制された (図 6A, B)。IL-6 中和抗体は、さらに RAP による肝臓での凝固第 X 因子の増加を抑制したが、AT Ⅲの発現は抑制しなかった (図 6C, D)。

VI. 実験結果の概括

以上のわれわれが行った実験結果¹⁰⁾をまとめると、以下の 4 点となる。①心房細動患者は洞調律の対照群と比較して、肝臓において異なる遺伝子発現プロファイルを有すること。②心房細動疑似モデルラットにおいて 12 時間の RAP が肝臓の遺伝子発現プロファイルを変化させ、fibrinogen, prothrombin, 凝固第 X 因子, AT Ⅲなどを増加させること。③RAP による肝臓での fibrinogen 増加は末梢血での IL-6 発現亢進を伴っており、肝臓では CD11b 陽性の単核球が浸潤し、肝細胞の核における STAT3 リン酸化が亢進すること。④RAP による STAT3 リン酸化と fibrinogen 産生亢進は、IL-6 中和抗体の前投与により抑制されること。

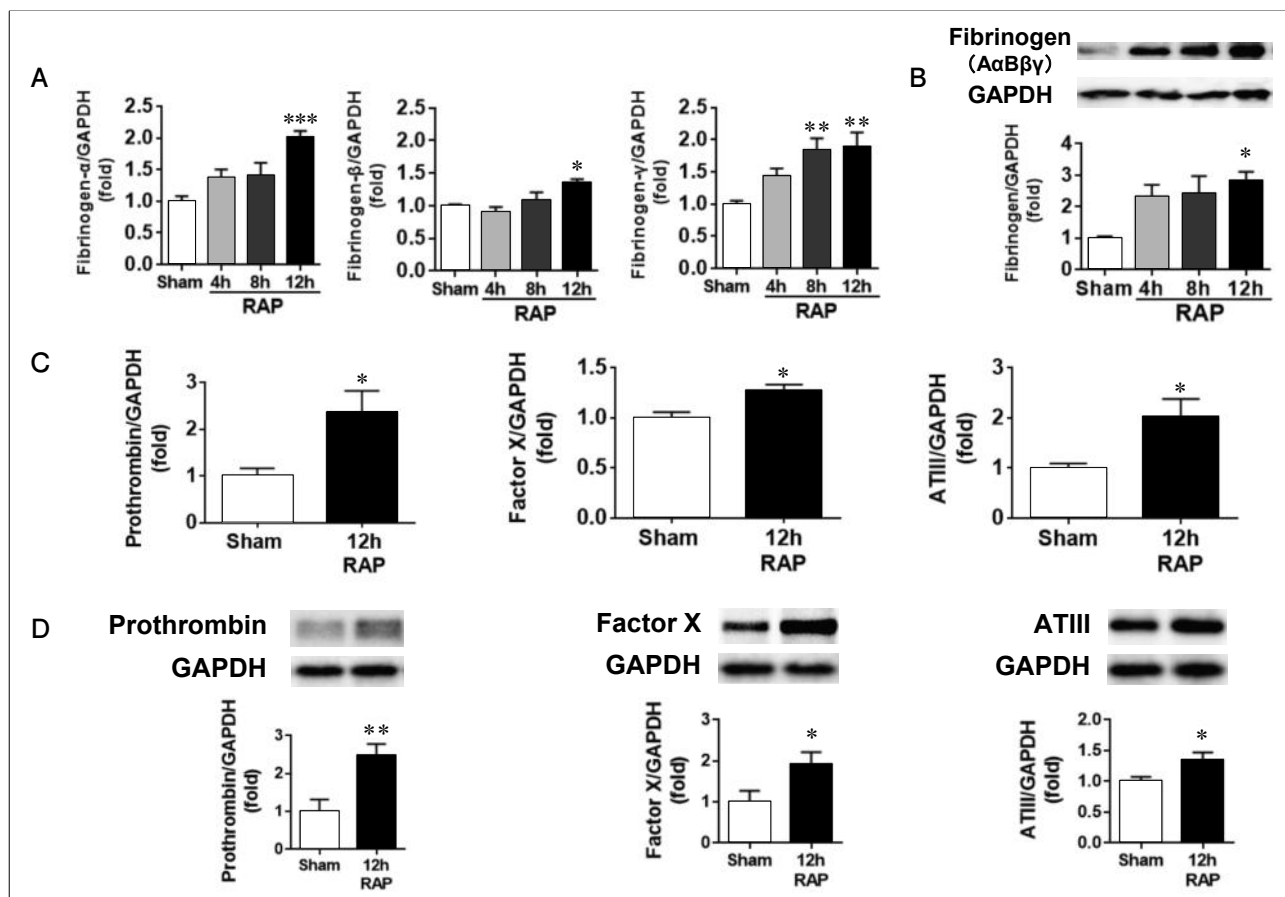


図2 高頻度心房ペースング(RAP)がラット肝臓における凝固因子の発現に及ぼす影響

A : fibrinogen 鎖の mRNA 発現, B : fibroinogen 蛋白の発現, C : prothrombin, 凝固第 X 因子, antithrombin III (AT III) の mRNA 発現, D : prothrombin, 凝固第 X 因子, AT III の蛋白発現.

*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001 vs. sham.

glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase : GAPDH

[文献 10) より引用]

Ⅶ. 全身の臓器とクロストークする肝臓

前述のとおり, 心房細動における血栓形成には血流速度の低下⁶⁾, 心房内皮障害⁷⁻⁹⁾, 凝固能亢進という, いわゆる Virchow の三徴が関与すると考えられている^{4), 5)}. 実際に, 心房細動患者では血漿中の thrombin-antithrombin complex (TAT) が増加し, 血液が過凝固状態にあることが報告されている^{11), 12)}. 特筆すべきことに, ヒトにおいて血漿の fibrinogen や D-dimer の値は心房細動発症から, わずか 12 時間で上昇する^{13), 14)}. しかしながら, 心房細動によ

り, なぜこのような血液の過凝固が生じるのかはこれまで不明であった.

肝臓はさまざまな生理活性蛋白の供給臓器であり, 急性炎症性蛋白や凝固因子などもここで合成される. 例えば, 急性腎障害は肝臓の炎症反応を惹起することが動物実験で示されており^{15), 16)}, 急性腎臓病における肝臓と腎臓のクロストークが存在すると考えられている. また, 急性冠症候群では全身の炎症反応や凝固系活性化を伴うことが知られており¹⁷⁾, 心肝連関の存在が示唆される. 実際に Ootsuji らは, マウスの心筋梗塞や虚血再灌流モデ

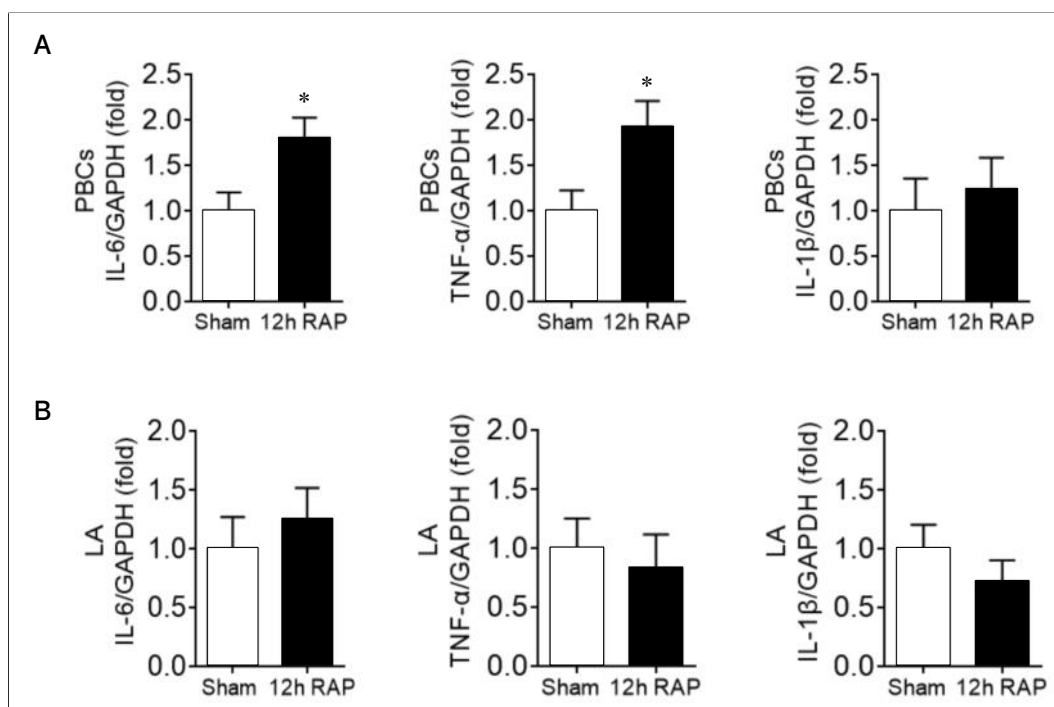


図3 Fibrinogen発現の上流調節因子

高頻度心房ペースング(RAP)が末梢血球(A)と左房(B)において, interleukin 6(IL-6), tumor necrosis factor α (TNF- α), IL-1 β の発現に及ぼす影響を示す. * $p < 0.05$ vs. sham.

glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase : GAPDH

[文献 10)より引用]

ルの肝臓において, 遺伝子発現プロファイルが著明に変化することを報告している¹⁸⁾. しかしながら, これまで心房細動に伴う肝臓の遺伝子発現変化については, 知見が存在しなかった. われわれは, 心房細動が遠隔臓器である肝臓の遺伝子発現を変化させること, なかでも外因系凝固パスウェイの変化が最も著明であることを初めて示した.

VIII. 急性期蛋白の調節機構としての IL-6/STAT3経路

Fibrinogenを含む急性期蛋白の調節機構として, IL-6に依存したSTAT3のリン酸化が関与していることが近年明らかとなった¹⁹⁾. IL-6は, 主に単球やマクロファージといった単核球から分泌される. 心房細動が心房内皮障害を引き起こすという過去の報告に基づき^{7)~9)}, われわれは当初左房が

RAPによるIL-6産生に関与するとの仮説をたてた. しかしながら, われわれのRAPモデルにおいては, IL-6mRNAの発現は末梢血球で増加しており, 左房では変化を認めなかった. 実際に, ヒトの心房細動においても末梢血でIL-6とTNF- α のmRNA発現亢進が報告されており²⁰⁾, われわれのラットモデルにおける知見と一致する. 急性に生じた心房細動は数分以内に血小板を活性化し, 血小板-単核球の相互作用が生じる²¹⁾. この現象が, 末梢血単核球のIL-6やTNF- α 産生に関与している可能性が想定される²²⁾.

亜急性心筋梗塞の動物モデルにおいて, 単核球は末梢血から移動し, 最も多く集積する臓器が肝臓, 続いてリンパ節や脾臓であることが知られている²²⁾. 単核球の肝臓への移動は, 主にKupffer細胞・肝星細胞といった非実質細胞や障害された肝細胞から分

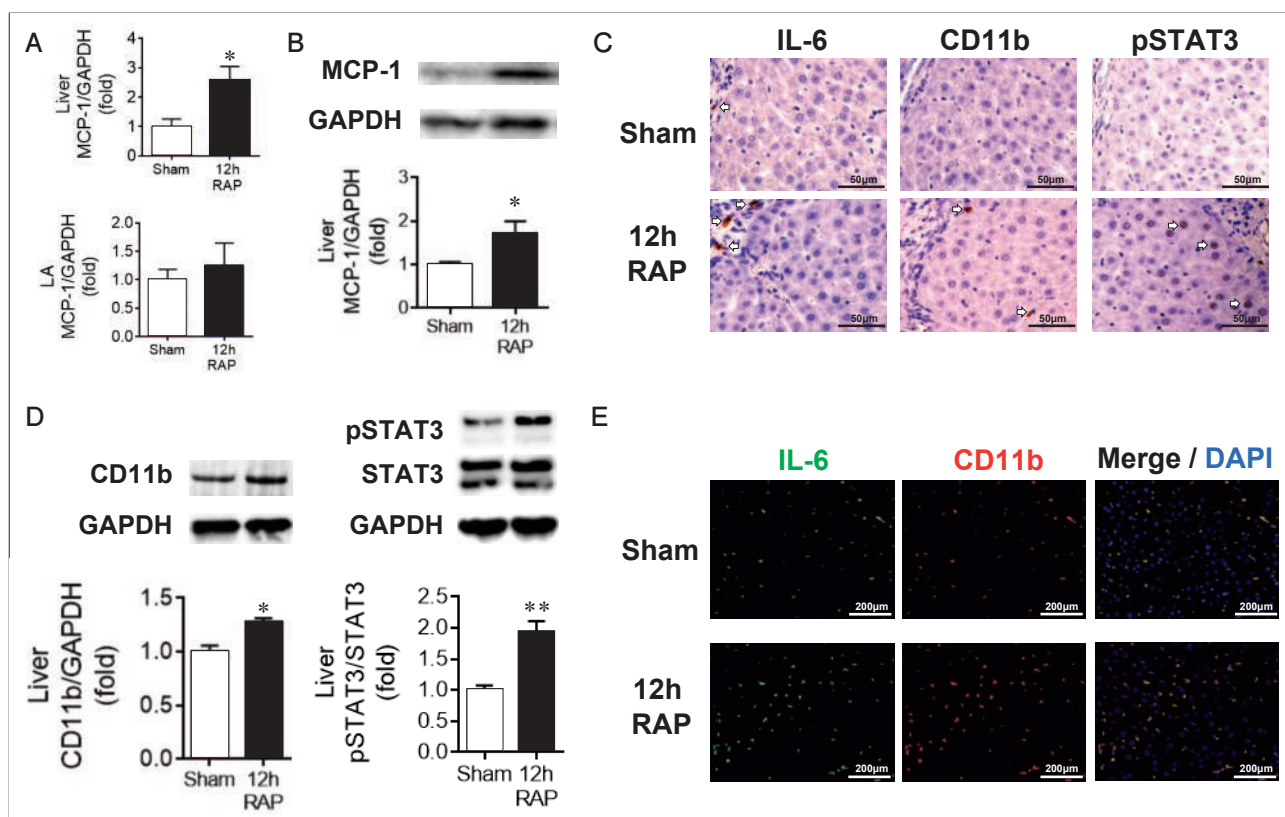


図4 高頻度心房ペースング(RAP)によって誘導される単球/マクロファージの肝臓への浸潤と interleukin 6 (IL-6) / signal transducer and activator of transcription 3 (STAT 3) 経路の活性化

A: 肝臓と左房(LA)における monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の mRNA 発現.

B: 肝臓組織の MCP-1 に関する Western blot 解析.

C: 肝臓における IL-6, cluster of differentiation 11b (CD11b), phospho-STAT3 (pSTAT3) の免疫組織染色. 12時間 RAP 後の肝臓において IL-6 と CD-11b による染色像 (茶色) が多く観察された. また, pSTAT3 蛋白 (茶色) は RAP 後の肝細胞の核に著明に分布していた.

D: 肝臓組織における CD11b と STAT3 リン酸化に関する Western blot 解析.

E: 免疫蛍光多重染色では, IL-6 (緑) と CD11b (赤) が肝臓において共発現していた.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ vs. sham.

glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase : GAPDH

泌される MCP-1 によって促進される^{23)~25)}. われわれの研究では, RAP が肝臓における MCP-1 発現を亢進させ, CD11b 陽性単核球を増加し, STAT3 のリン酸化を肝細胞の核内で促進することが判明した. さらに, RAP による STAT3 のリン酸化と fibrinogen 産生増加は, IL-6 中和抗体の前投与により抑制された. これらの所見は, 心房細動において活性化された末梢血単核球が肝臓に浸潤して IL-6 を分泌し, 肝細胞内の STAT3 リン酸化を促進する

ことにより, fibrinogen 産生を増加させることを示唆する.

凝固第 X 因子は凝固カスケードの中心的な役割を担う分子である. これは肝臓で生成され, そのプロモーター活性は GATA binding protein-4 (GATA-4) の発現により著しく増加する²⁶⁾. IL-6 刺激は GATA-4 と hepcidin antimicrobial peptide (HAMP) プロモーターとの結合を促進する²⁷⁾. われわれの研究では, RAP によって促進する凝固第 X 因子の産

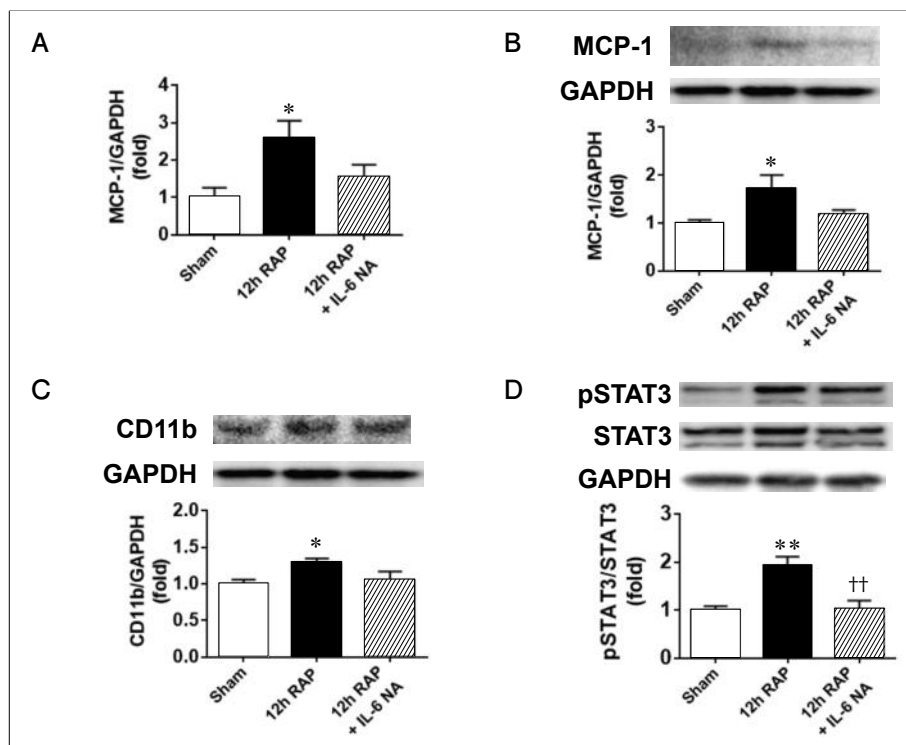


図5 心房高頻度ペーシング(RAP)によって誘導される単球/マクロファージの肝臓への浸潤と signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)リン酸化に対して、Interleukin 6(IL-6)中和抗体が及ぼす影響

A: 肝臓における monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)の mRNA 発現, B: 肝臓における MCP-1 の蛋白発現, C: 肝臓組織における cluster of differentiation 11b (CD11b) の Western blot 解析, D: STAT3 リン酸化に関する Western blot 解析.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ vs. sham, †† $p < 0.01$ vs. 12h RAP.

glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase : GAPDH

[文献 10) より引用]

生は、IL-6 中和抗体によって抑制されており、fibrinogen のみならず、凝固第 X 因子の産生にも IL-6 が関与していることが示唆される。

IX. 心房細動と IL-6 の臨床的関係

興味深いことに、血液中の IL-6 レベルは心房細動の発生と関連していることが複数の研究で報告されている^{28)~30)}。さらに、抗凝固療法が行われている心房細動患者を対象とした大規模なコホート研究において、血液中の IL-6 レベルは心血管イベントや死亡の独立した予測因子であり、CHA₂DS₂-VASc スコアに IL-6 の項目を加えることにより、予測能

が改善した³¹⁾。これらの臨床的な知見は、IL-6 が心房細動やこれに関連する塞栓症の病態形成に寄与するという考え方を、強く支持するものといえよう。

X. 結 論

心房細動患者、ならびに心房細動疑似モデルである高頻度心房刺激ラットモデルにおいて、肝臓の遺伝子発現プロファイルは有意に変化し、特に凝固因子の発現亢進を認めた。高頻度心房刺激による肝臓の fibrinogen 産生亢進機序の一部は、末梢血および肝臓内での IL-6/STAT3 経路の活性化を介していた。これらの知見は、心房細動およびこれに関連し

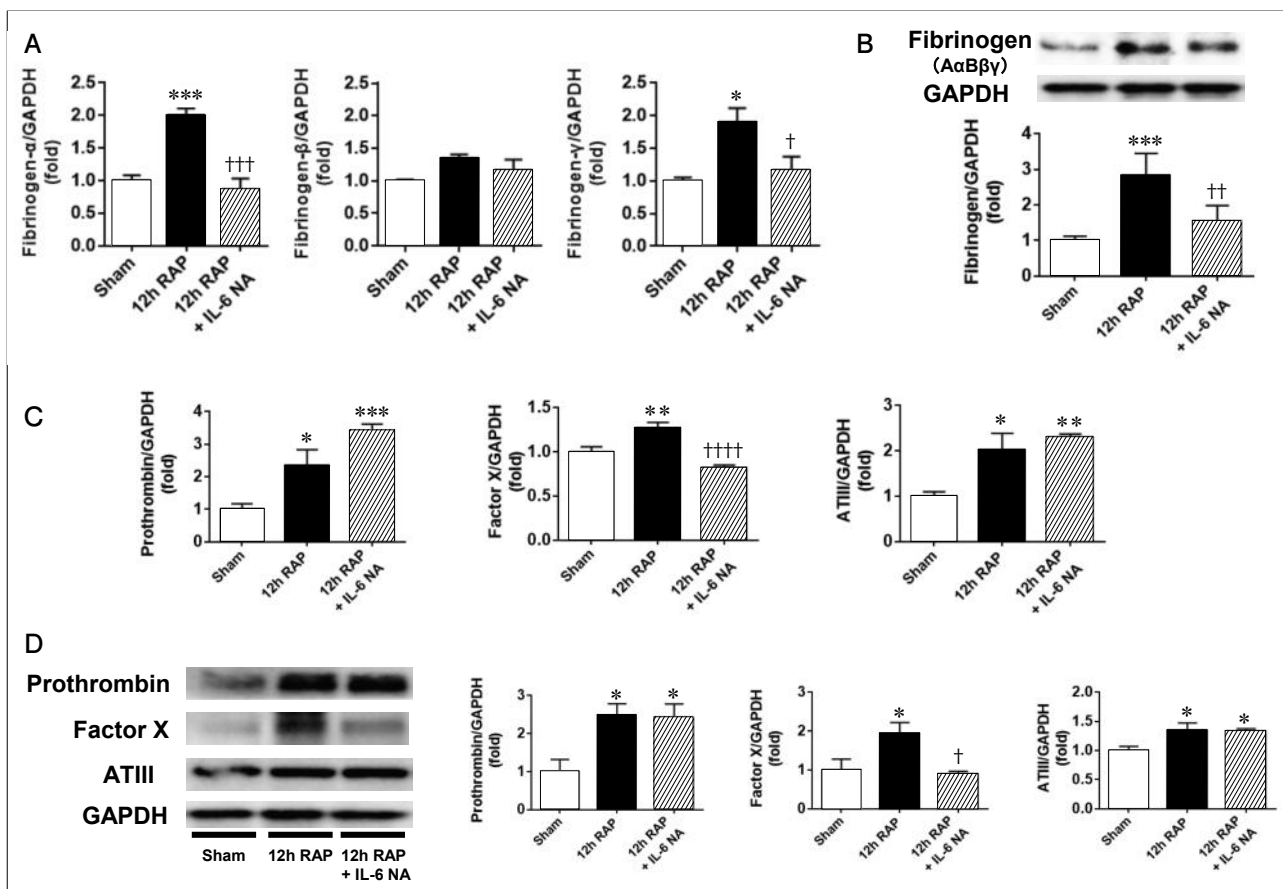


図6 高頻度心房ペースング(RAP)により肝臓で誘導される凝固因子産生に interleukin 6 (IL-6) 中和抗体が及ぼす影響

A : fibrinogen 鎖の mRNA 発現, B : fibrinogen の蛋白発現, C : prothrombin, 凝固第 X 因子, antithrombin III (AT III) の mRNA 発現, D : prothrombin, 凝固第 X 因子, AT III の蛋白発現.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ vs. sham, † $p < 0.05$; †† $p < 0.01$; ††† $p < 0.001$; †††† $p < 0.0001$ vs. 12h RAP.

glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase : GAPDH

[文献 10) より引用]

た塞栓症の病態において、心肝連関が存在することを強く示唆する。

謝辞

心房細動モデルラットの作成法について、財団法人心臓血管研究所の山下武志先生・関口昭子先生に多大なるご指導をいただいた。ヒトの肝生検サンプルは金沢大学大学院システム生物学の内分泌代謝グループ・消化器グループが収集したものを使用させていただいた。金沢大学大学院システム生物学の循

環器グループの皆様には実験の指導や日常の議論を通して多くの示唆をいただいた。これらすべての皆様に深甚なる謝意を表する。

付記

本稿は、第 17 回鈴木謙三記念医科学応用研究財団助成による日本不整脈心電学会論文賞を受賞した論文をもとに、総説としてまとめたものである。なお、図については、受賞論文より引用させていただいた。

受賞論文

Yaegashi T, Kato T, Usui S, Kanamori N, Furusho H, Takashima SI, Murai H, Kaneko S, Takamura M : Short-term rapid atrial pacing alters the gene expression profile of rat liver : Cardiohepatic interaction in atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, 2016 ; 13 : 2368 ~ 2376

〔文 献〕

- 1) Flegel KM, Shipley MJ, Rose G : Risk of stroke in non-rheumatic atrial fibrillation. *Lancet*, 1987 ; 1 : 526 ~ 529
- 2) Wolf PA, Abbott RD, Kannel WB : Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke : the Framingham Study. *Stroke*, 1991 ; 22 : 983 ~ 988
- 3) Manning WJ, Silverman DI, Waksmonski CA, Oettgen P, Douglas PS : Prevalence of residual left atrial thrombi among patients with acute thromboembolism and newly recognized atrial fibrillation. *Arch Intern Med*, 1995 ; 155 : 2193 ~ 2198
- 4) Virchow RR : Cellular pathology. Churchill, London, 1860
- 5) Yamashita T : Molecular basis of thromboembolism in association with atrial fibrillation. *Circ J*, 2007 ; 71 Suppl A : A40 ~ A44
- 6) Fatkin D, Kelly RP, Feneley MP : Relations between left atrial appendage blood flow velocity, spontaneous echocardiographic contrast and thromboembolic risk in vivo. *J Am Coll Cardiol*, 1994 ; 23 : 961 ~ 969
- 7) Fukuchi M, Watanabe J, Kumagai K, Katori Y, Baba S, Fukuda K, Yagi T, Iguchi A, Yokoyama H, Miura M, Kagaya Y, Sato S, Tabayashi K, Shirato K : Increased von Willebrand factor in the endocardium as a local predisposing factor for thrombogenesis in overloaded human atrial appendage. *J Am Coll Cardiol*, 2001 ; 37 : 1436 ~ 1442
- 8) Cai H, Li Z, Goette A, Mera F, Honeycutt C, Feterik K, Wilcox JN, Dudley SC Jr, Harrison DG, Langberg JJ : Downregulation of endocardial nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in atrial fibrillation : potential mechanisms for atrial thrombosis and stroke. *Circulation*, 2002 ; 106 : 2854 ~ 2858
- 9) Yamashita T, Sekiguchi A, Iwasaki YK, Sagara K, Hatano S, Iinuma H, Aizawa T, Fu LT : Thrombomodulin and tissue factor pathway inhibitor in endocardium of rapidly paced rat atria. *Circulation*, 2003 ; 108 : 2450 ~ 2452
- 10) Yaegashi T, Kato T, Usui S, Kanamori N, Furusho H, Takashima SI, Murai H, Kaneko S, Takamura M : Short-term rapid atrial pacing alters the gene expression profile of rat liver : Cardiohepatic interaction in atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, 2016 ; 13 : 2368 ~ 2376
- 11) Soncini M, Casazza F, Mattioli R, Bonfardecì C, Motta A, Cimminiello C : Hypercoagulability and chronic atrial fibrillation : the role of markers of thrombin generation. *Minerva Med*, 1997 ; 88 : 501 ~ 505
- 12) Topcuoglu MA, Haydari D, Ozturk S, Ozcebe OI, Saribas O : Plasma levels of coagulation and fibrinolysis markers in acute ischemic stroke patients with lone atrial fibrillation. *Neurol Sci*, 2000 ; 21 : 235 ~ 240
- 13) Lip GY, Lowe GD, Rumley A, Dunn FG : Fibrinogen and fibrin D-dimer levels in paroxysmal atrial fibrillation : evidence for intermediate elevated levels of intravascular thrombogenesis. *Am Heart J*, 1996 ; 131 : 724 ~ 730
- 14) Wang TL, Hung CR, Chang H : Evolution of plasma D-dimer and fibrinogen in witnessed onset of paroxysmal atrial fibrillation. *Cardiology*, 2004 ; 102 : 115 ~ 118
- 15) Park SW, Chen SW, Kim M, Brown KM, Kolls JK, D'Agati VD, Lee HT : Cytokines induce small intestine and liver injury after renal ischemia or nephrectomy. *Lab Invest*, 2011 ; 91 : 63 ~ 84
- 16) Fadillioglu E, Kurcer Z, Parlakpinar H, Iraz M, Gursul C : Melatonin treatment against remote organ injury induced by renal ischemia reperfusion injury in diabetes mellitus. *Arch Pharm Res*, 2008 ; 31 : 705 ~ 712
- 17) Fadillioglu E, Kurcer Z, Parlakpinar H, Iraz M, Gursul C : Melatonin treatment against remote organ injury induced by renal ischemia reperfusion injury in diabetes mellitus. *Arch Pharm Res*, 2008 ; 31 : 705 ~ 712
- 18) Ootsuji H, Honda M, Kaneko S, Usui S, Okajima M, Okada H, Sakai Y, Takamura T, Horimoto K, Takamura M : Altered hepatic gene expression profiles associated with myocardial ischemia. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010 ; 3 : 68 ~ 77
- 19) Amrani DL : Regulation of fibrinogen biosynthesis : glucocorticoid and interleukin-6 control. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1990 ; 1 : 443 ~ 446
- 20) Chen X, Bing Z, He J, Jiang L, Luo X, Su Y, Kan B, Huang D, Wei Y : Downregulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression in hypertensive atrial fibrillation. *Clin Cardiol*, 2009 ; 32 :

- 21) Hayashi M, Takeshita K, Inden Y, Ishii H, Cheng XW, Yamamoto K, Murohara T : Platelet activation and induction of tissue factor in acute and chronic atrial fibrillation : involvement of mononuclear cell-platelet interaction. *Thromb Res*, 2011 ; 128 : e113 ~ e118
- 22) Leuschner F, Rauch PJ, Ueno T, Gorbatov R, Marinelli B, Lee WW, Dutta P, Wei Y, Robbins C, Iwamoto Y, Sena B, Chudnovskiy A, Panizzi P, Keliher E, Higgins JM, Libby P, Moskowitz MA, Pittet MJ, Swirski FK, Weissleder R, Nahrendorf M : Rapid monocyte kinetics in acute myocardial infarction are sustained by extramedullary monocytopoiesis. *J Exp Med*, 2012 ; 209 : 123 ~ 137
- 23) Karlmark KR, Weiskirchen R, Zimmermann HW, Gassler N, Ginhoux F, Weber C, Merad M, Luedde T, Trautwein C, Tacke F : Hepatic recruitment of the inflammatory Gr1+ monocyte subset upon liver injury promotes hepatic fibrosis. *Hepatology*, 2009 ; 50 : 261 ~ 274
- 24) Dambach DM, Watson LM, Gray KR, Durham SK, Laskin DL : Role of CCR2 in macrophage migration into the liver during acetaminophen-induced hepatotoxicity in the mouse. *Hepatology*, 2002 ; 35 : 1093 ~ 1103
- 25) Marra F, DeFranco R, Grappone C, Milani S, Pastacaldi S, Pinzani M, Romanelli RG, Laffi G, Gentilini P : Increased expression of monocyte chemotactic protein-1 during active hepatic fibrogenesis : correlation with monocyte infiltration. *Am J Pathol*, 1998 ; 152 : 423 ~ 430
- 26) Hung HL, Pollak ES, Kudaravalli RD, Arruda V, Chu K, High KA : Regulation of human coagulation factor X gene expression by GATA-4 and the Sp family of transcription factors. *Blood*, 2001 ; 97 : 946 ~ 951
- 27) Bagu ET, Santos MM : Friend of GATA suppresses the GATA-induced transcription of hepcidin in hepatocytes through a GATA-regulatory element in the HAMP promoter. *J Mol Endocrinol*, 2011 ; 47 : 299 ~ 313
- 28) Marcus GM, Whooley MA, Glidden DV, Pawlikowska L, Zaroff JG, Olgin JE : Interleukin-6 and atrial fibrillation in patients with coronary artery disease : data from the Heart and Soul Study. *Am Heart J*, 2008 ; 155 : 303 ~ 309
- 29) Leftheriotis DI, Fountoulaki KT, Flevari PG, Parissis JT, Panou FK, Andreadou IT, Venetsanou KS, Iliodromitis EK, Kremastinos DT : The predictive value of inflammatory and oxidative markers following the successful cardioversion of persistent lone atrial fibrillation. *Int J Cardiol*, 2009 ; 135 : 361 ~ 369
- 30) Kaireviciute D, Blann AD, Balakrishnan B, Lane DA, Patel JV, Uzdavinyas G, Norkunas G, Kalinauskas G, Sirvydis V, Aidietis A, Lip GY : Characterisation and validity of inflammatory biomarkers in the prediction of post-operative atrial fibrillation in coronary artery disease patients. *Thromb Haemost*, 2010 ; 104 : 122 ~ 127
- 31) Roldán V, Marín F, Díaz J, Gallego P, Jover E, Romera M, Manzano-Fernández S, Casas T, Valdés M, Vicente V, Lip GY : High sensitivity cardiac troponin T and interleukin-6 predict adverse cardiovascular events and mortality in anticoagulated patients with atrial fibrillation. *J Thromb Haemost*, 2012 ; 10 : 1500 ~ 1507

The Third Mechanism of Cardiogenic Thromboembolism : Cardiohepatic Interaction in Atrial Fibrillation

Takeshi Kato, Takamori Yaegashi

Department of System Biology, Graduate School of Advanced Preventive Medical Sciences,
Kanazawa University

Most strokes in patients with atrial fibrillation (AF) are believed to be cardioembolic, caused by the embolism of left atrial thrombi. As shown by the well-known Virchow triad, thrombus formation in the left atrium (LA) can result from decreased blood flow, increased endocardial dysfunction in the LA, and enhanced blood coagulability. We examined whether short-term rapid atrial excitation affects gene expression remotely in the liver, which is a major source of prothrombotic molecules. DNA microarray analysis revealed marked changes in the gene expression profile of human liver of patients with AF. The extrinsic prothrombin activation pathway showed the most prominent change in 354 BioCarta pathways. Twelve hours of rapid atrial pacing (RAP) also markedly altered the gene expression profile of rat liver. RAP markedly augmented the hepatic messenger RNA expression of fibrinogen chains, prothrombin, coagulation factor X, and antithrombin III. The augmented fibrinogen production by RAP was accompanied by increased interleukin 6 (IL-6) messenger RNA expression in peripheral blood cells, enhanced monocyte chemoattractant protein-1 expression in the liver, infiltrated cluster of differentiation 11b-positive mononuclear cells in the liver, and enhanced signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) phosphorylation in the nuclei of hepatocytes. STAT3 phosphorylation and increased fibrinogen and coagulation factor X production by RAP were suppressed by IL-6 neutralizing antibody. These findings suggest the presence of cardiohepatic interaction mediated by the IL-6/STAT3 signaling pathway in AF and AF-related thromboembolism.

Keywords : Atrial fibrillation, Coagulation factor X, Fibrinogen, Liver, Stroke