

# 心外膜脂肪組織と心房細動の関連についての研究

安部一太郎<sup>1\*</sup> 宮本伸二<sup>2</sup> 高橋尚彦<sup>1</sup>

近年、心外膜脂肪組織(EAT)の量が、心房細動(AF)の発症や重症度に関連することが報告されている。そこでわれわれは、ヒト組織を用いて、EATに含まれる炎症性サイトカインとAF基質としての心房線維化の関連を調べた。対象は、開心術を受けた際に、左心耳切除術を施行されたAFを有する連続59症例(女性31名、73.5±7.8歳)である。切除された左心耳組織の組織学的検討から、EAT自体の線維化程度(severity of EAT fibrosis)に違いが存在した。EAT線維化の程度と心房線維化の程度には正の相関関係が認められ、線維化の強いEATではマクロファージ浸潤が顕著であった。生化学的検討からは、EAT中の多くの炎症性サイトカインやMMPと、線維化指標としての心房筋中のtotal collagenに正の相関関係を認めた。以上により、線維化の強いEATでは、そこから分泌される炎症性サイトカインやMMPが、隣接する心房筋に炎症と線維化を惹起し、AF基質を形成している可能性が示唆された。

(心電図, 2020, 40:149-157)

## I. はじめに

心房細動(AF)は临床上、遭遇する頻度の高い一般的な不整脈である<sup>1)</sup>。AFのトリガーは肺静脈からの異常興奮であるが、AFが成立するためには心房の線維化が必要である。近年、炎症とAFの関係が示されており、2001年にChungらは、血中の高

感度CRPが非AF患者に比しAF患者で上昇しており、持続性AF患者では発作性AF患者に比し、さらに高値であることを報告した<sup>2)</sup>。その後、2004年にConwayらは血中のインターロイキン(IL)-6が<sup>3)</sup>、また、Sataらは血中のtumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$ が<sup>4)</sup>、それぞれAF患者で上昇していることを報告した。われわれは最近、開心術により得られたAF患者の心房組織において、走査・透過電子顕微鏡を用いて、心房内皮に形成された孔からマクロファージが内皮下に浸潤していく様子を報告した<sup>5)</sup>。これらの知見から、ヒトにおいても、生化学的には全身性の炎症がAFと関連していること、また組織学的には心房筋への炎症細胞浸潤がAF発症と関連していることが示唆される。

**Keywords**

- 心外膜脂肪組織
- 心房細動
- 心房線維化
- 炎症

1大分大学医学部循環器内科・臨床検査診断学  
(〒879-5503 大分県由布市挾間町医大ヶ丘1丁目1番地)  
2大分大学医学部心臓血管外科  
\*は責任者を示す

Association Between Epicardial Adipose Tissue and Atrial Fibrillation  
Ichitaro Abe, Shinji Miyamoto, Naohiko Takahashi

2020年1月5日 原稿受領 / 2020年1月31日 掲載承認

最近, CTやMRIで計測された心外膜脂肪組織 (EAT) の量が, AFの発症やカテーテルアブレーション後の再発に関連することが報告されている<sup>6),7)</sup>. また, AFアブレーションの際に行われる心房電位測定において, 心房低電位領域と心外膜脂肪組織の付着部位がある程度一致するという報告もある<sup>8)</sup>. 心房低電位領域は心房線維化を反映することが知られており<sup>9),10)</sup>, これらの報告から, EATは局所的にAF基質としての心房線維化を惹起して, AF発症および進行に関与している可能性が示唆される. しかし, どのような機序でEATが心房線維化とAFに関与するのかについては明らかにされていない. そこでわれわれは, ヒト左心耳組織を用いて, 組織学および生化学的手法により, EATとAF基質としての心房線維化の関連を明らかにすることを目的とし, 研究を行った<sup>11)</sup>.

## II. 方 法

対象は, 2015年1月から2017年9月までに, 大分大学医学部附属病院心臓血管外科で開心術を受けた際に, 左心耳切除術を施行されたAFを有する連続59症例(女性31名, 73.5 ± 7.8歳)である. 切除された左心耳組織は, 一部を生化学検査に用い, 一部は組織学検査に用いた. また症例ごとの既往, 臨床検査データを収集し, 解析を行った. また, 年齢と性別, BMIをマッチさせたAFを有さない12症例の剖検心から, 左心耳組織を切除し, 組織学的検討のコントロールとして用いた.

## III. 結 果

### 1. 患者背景

AFを有する59症例の臨床的背景を表1に示す. 平均年齢は73.5 ± 7.8歳, 53%が女性であった. 46%が発作性AFであり, 残りの54%が持続性/永続性AFであった. 66%は弁置換/形成術を, 19%は冠動脈バイパス術と弁置換/形成術を受けていた. 平均のCHADS<sub>2</sub>スコアは2.7 ± 1.1であった.

表1 心房細動を有する59症例の臨床的背景

Age (years)	73.5 ± 7.8
Sex	
Male	28 (47)
Female	31 (53)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.5 ± 3.6
History of atrial fibrillation	
Paroxysmal AF	27 (46)
Persistent/permanent AF	32 (54)
Surgical procedure	
Valve replacement/repair	39 (66)
Aorta replacement	5 (8)
CABG	1 (2)
Combined (CABG and valve)	11 (19)
Combined (aorta and valve)	3 (5)
Ejection fraction (%)	62.2 ± 12.0
E/e'	23.6 ± 15.8
LVDd (mm)	52.3 ± 9.1
LAD (mm)	51.2 ± 10.8
MR	
None	4 (7)
I	15 (25)
II - III	40 (68)
Risk factors	
Hypertension	32 (54)
Diabetes mellitus	12 (20)
Dyslipidemia	24 (41)
Hyperuricemia	18 (31)
CHADS <sub>2</sub> score	2.7 ± 1.1

データは mean ± SD もしくは n (%) を示す.

AF: atrial fibrillation, BMI: body mass index, CABG: coronary artery bypass graft, LAD: left atrial diameter, LVDd: left ventricular end-diastolic diameter, MR: mitral regurgitation

[文献7より引用]

### 2. 組織学的検討

切除されたすべての左心耳組織において, 肉眼的にEATの付着が確認された(図1A). 組織学的検討からは, EATの心房筋への浸潤を認め(図1B), EATに接合する心房筋組織に著明な線維化を認めた(図1C). また, EAT領域に着目すると, EAT自体に非常に強く線維化が生じているものと, そうでないものが存在することが判明した(図2A). そこでわれわれは, EAT領域の線維化程度 severity of

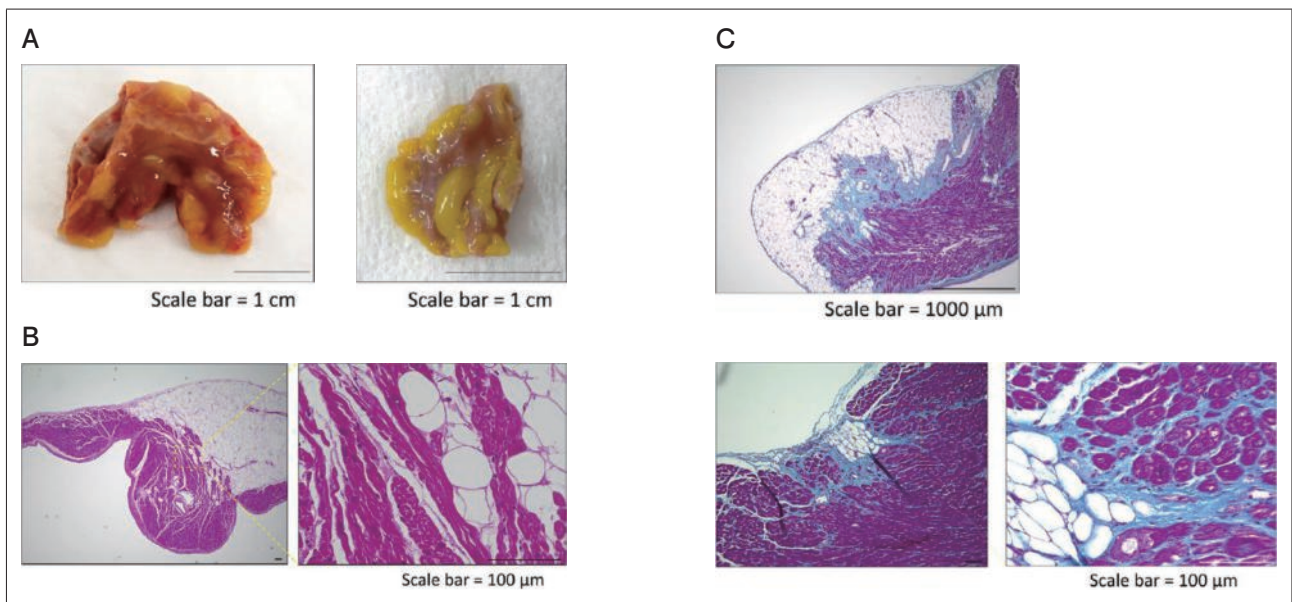


図1 切除された左心耳組織画像(A), 心外膜脂肪組織の心房筋への浸潤, HE染色画像(B), 心外膜脂肪組織と心房筋の接合部における線維化形成, マッソントリクローム染色画像(C)

[文献7より引用]

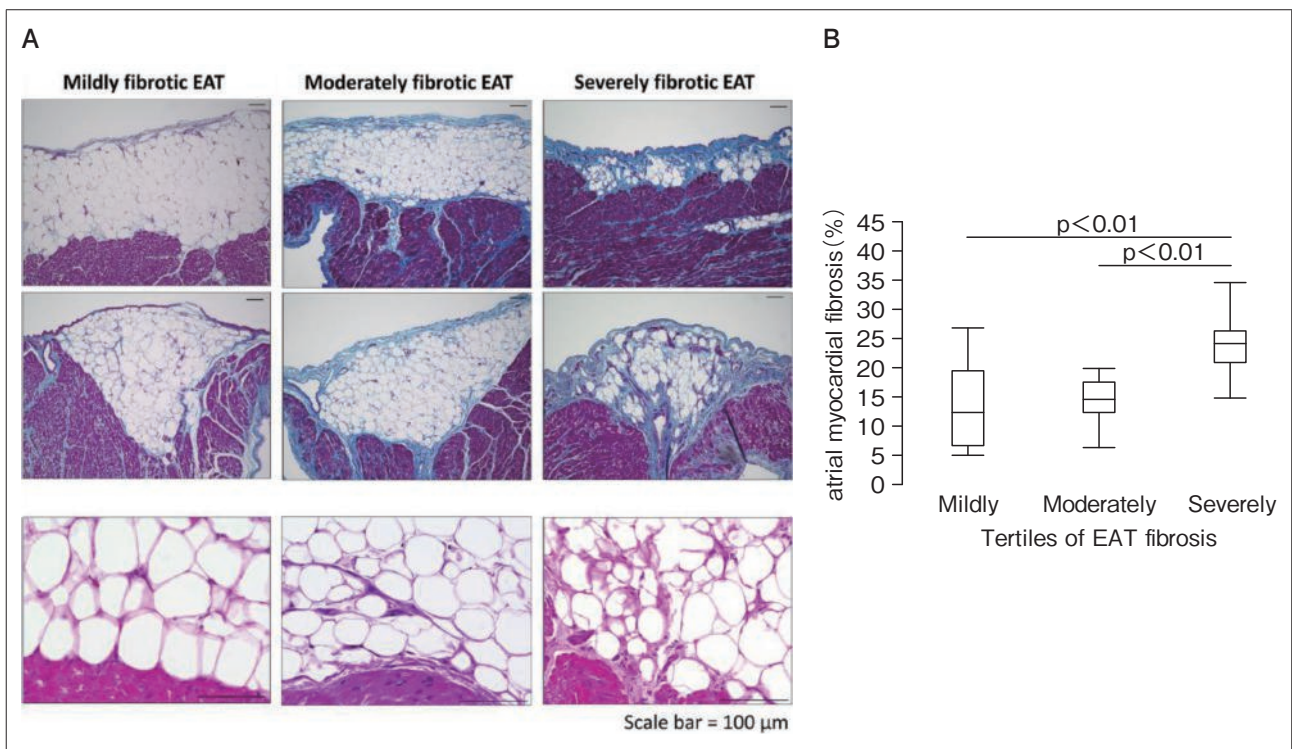


図2 EAT領域の線維化

A: Mildly, Moderately, Severely群の代表的なマッソントリクローム染色とHE染色画像。

B: EAT領域の線維化程度が強いほど, 心房線維化も強い。

[文献7より引用]

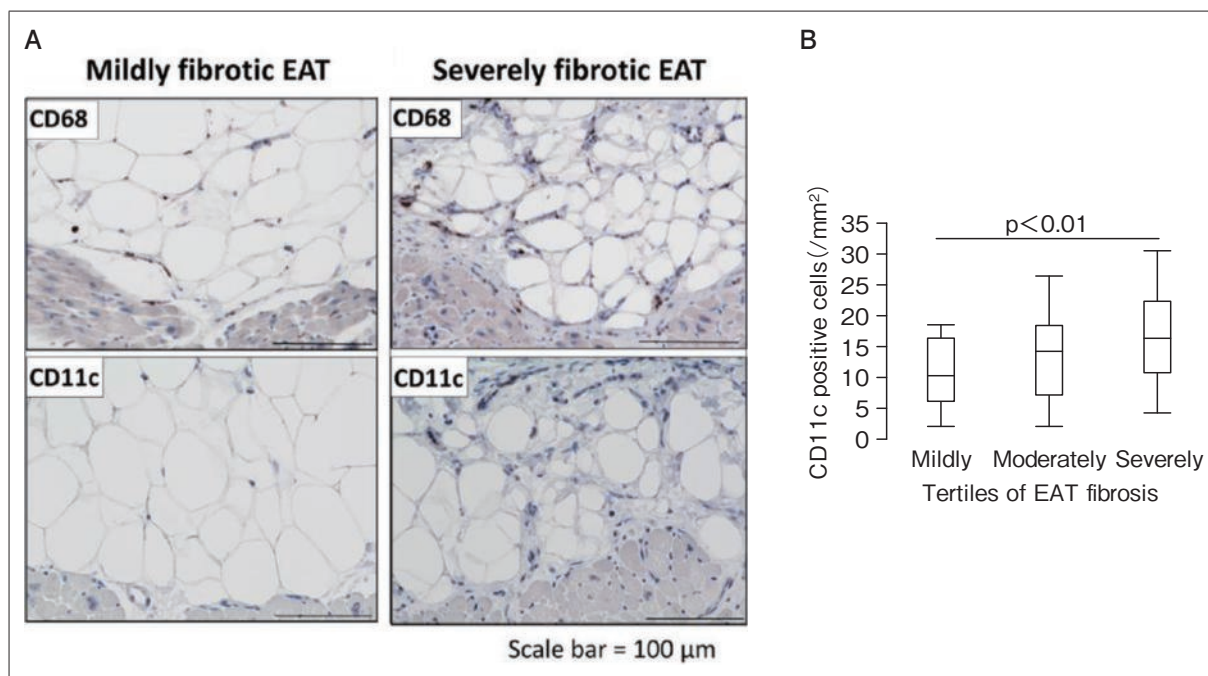


図3 EAT領域の炎症性細胞浸潤

A : Mildly, Severely群のCD68, CD11c抗体を用いた代表的な免疫組織染色画像。

B : EAT領域の線維化程度が強いほど、CD11c陽性マクロファージ浸潤が多い。

[文献7より引用]

EAT fibrosis)によって、3分位法を用いて59症例を3群(Mildly群, Moderately群, Severely群)に分けた。EAT領域の線維化程度は、AFを有する群で多く認められた。また、EAT領域の線維化程度と心房線維化の程度には相関関係が認められた(図2B)。さらに、線維化の強いEATでは、CD68やCD11c陽性マクロファージ浸潤が多く認められた(図3A)、EAT領域の線維化程度が強いほど、CD11c陽性マクロファージ浸潤が多いことが判明した(図3B)。透過型電子顕微鏡では、脂肪細胞と心房筋の間に、形態学的にマクロファージや筋線維芽細胞と同定できる細胞浸潤を認め(図4A)、EAT領域の線維化程度が強い群では、脂肪細胞と心房筋の間に強い膠原線維の増生が見られ、細胞浸潤が顕著であった。また、EAT領域の線維化程度が弱い群と比較して、隣接する心房筋細胞の筋原線維配列は明らかに乱れていた(図4B)。

これらの組織学的検討から、マクロファージや筋

線維芽細胞浸潤といったEAT領域における炎症やEATそのものの線維化が、心房線維化に参与している可能性が示唆された。

### 3. 生化学的検討

切除された左心耳組織を、EATと心房筋に分け、EAT中の炎症性サイトカイン/ケモカインタンパク濃度、MMP2, 9タンパク濃度を測定し、線維化指標としての心房筋中のtotal collagenタンパク濃度との関連を検討した。その結果、EAT中のMCP-1など多くの炎症性サイトカイン/ケモカインやMMP2, 9と、線維化指標としての心房筋中のtotal collagenに正の相関関係を認めた(表2, 図5)。興味深いことに、血清中の同様の炎症性サイトカイン/ケモカインは、心房筋中のtotal collagenと相関を示さなかった。これは、全身性の炎症よりも、EATと心房筋間の“局所”の炎症が心房線維化に強く影響を及ぼしていることを示唆する。

さらにわれわれは、EATにおける炎症と線維化

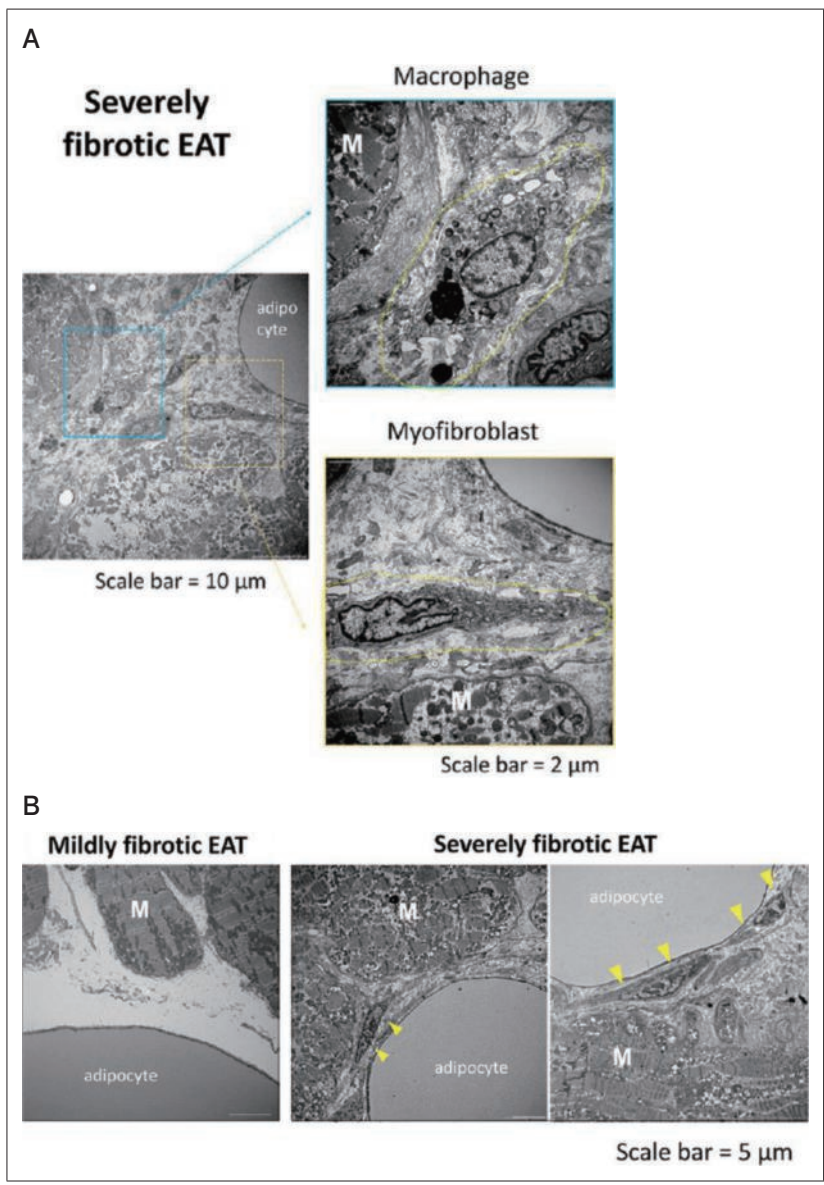


図 4  
透過電子顕微鏡による Severely 群(A), Mildly 群, Severely 群の観察(B)  
M：心筋細胞，黄色い矢印：筋線維芽細胞

[文献7より引用]

を促進する可能性のある因子として、アンジオポエチン様因子2(Angptl2)に着目した。ELISA法を用いて測定したEAT中のAngptl2タンパク濃度は、EAT中の様々な炎症性サイトカインやMMP2、9、心房筋中のtotal collagenと正の相関関係を示した(表3)。さらに、EAT中のAngptl2タンパク濃度が最も高い5例と最も低い5例のタンパク抽出液を用いて、Western blot法によりAngptl2の上流因子と下流因子について、タンパク発現の比較を行った(図6A)。その結果、EAT中のAngptl2タンパク濃

度が高い群では、Hif-1α、リン酸化IκBα、リン酸化p38 MAPKタンパク発現が有意に高かった。免疫組織染色では、線維化の強いEATにおいてHif-1αがより強く染色され、EATの炎症と線維化に低酸素が関与している可能性が示唆された(図6B)。

IV. 考 察

以下にわれわれが行った研究結果をまとめる<sup>11)</sup>。

・組織学的検討から、EAT領域の線維化程度は、

心房線維化程度と正の相関関係にあった。

・免疫組織染色と電子顕微鏡での観察により、EAT領域の線維化は、マクロファージや筋線維芽細胞浸潤と関連していた。

・EAT中の炎症性サイトカイン/ケモカインタンパク濃度と心房筋中の total collagen タンパク濃度は正の相関関係にあった。

・EAT中の MMP2, 9 タンパク濃度と心房筋中の total collagen タンパク濃度は正の相関関係にあった。

・EAT中の Angptl2 タンパク濃度と EAT中の炎症性サイトカイン/ケモカインタンパク濃度, EAT中の MMP2, 9 タンパク濃度と心房筋中の total collagen タンパク濃度は正の相関関係にあった。

・EAT中の Hif-1 $\alpha$ , リン酸化 I $\kappa$ B $\alpha$ , リン酸化 p38MAPK タンパク発現は, EAT中の Angptl2 タンパク濃度と関連しており, Hif-1 $\alpha$ は EAT領域における線維化程度が強い群でより強く発現していた。

以上により, 線維化の強い EATでは, マクロファージや筋線維芽細胞がより多く浸潤しており, そこから分泌される炎症性サイトカイン/ケモカインや MMP が, 隣接する心房筋に炎症と線維化を惹起し, AF 基質を形成している可能性が示唆された。さらに, そのような線維化の強い EATには, Angptl2 や Hif-1 $\alpha$ が多く発現しており, EATにおける炎症や線維化を惹起している可能性が示唆された。

これまで, 心外膜脂肪組織と冠動脈硬化との関連は多数報告されている。Hirataらは, 冠動脈周囲のヒト心外膜脂肪組織におけるマクロファージの極性 (M1, M2) が冠動脈硬化に関連していることを<sup>12)</sup>, また, Tianらは, 血管周囲の脂肪組織から放出される炎症性サイトカインによって動脈硬化が惹起されることを実験的に報告した<sup>13)</sup>。これらの報告は, われわれの結果を支持するものであると考えられる。大動物を用いた実験的研究も行われており, Mahajanらは, 高脂肪食を8ヵ月間負荷された羊の心房筋を用い, 左心房の容積は増加, 左心房圧は上昇, 左房電位は低下し, 心外膜脂肪組織の浸潤と心

表2 心外膜脂肪組織中のサイトカイン/ケモカインタンパク濃度と心房筋中の total collagen タンパク濃度の相関関係

Variable	Univariable analysis		
	Pearson r	r <sup>2</sup>	p value
IL-1 $\beta$ *	0.358	0.128	0.0079
IL-1Ra	0.148	0.0219	0.2864
IL-2 <sup>†</sup>	0.345	0.119	0.0423
IL-4	0.136	0.0185	0.3280
IL-5	-0.193	0.0372	0.2601
IL-6*	0.401	0.161	0.0027
IL-7*	0.438	0.192	0.0009
IL-8	0.172	0.0296	0.2139
IL-9 <sup>†</sup>	0.321	0.103	0.0179
IL-10 <sup>†</sup>	0.372	0.138	0.0234
IL-12 <sup>†</sup>	0.303	0.0918	0.0483
IL-13	0.207	0.0428	0.1331
IL-15	-0.164	0.0269	0.2443
IL-17	0.120	0.0144	0.3938
Eotaxin*	0.352	0.124	0.0090
Basic FGF	0.0119	0.000142	0.9320
G-CSF	0.0872	0.00760	0.5386
GM-CSF <sup>†</sup>	0.293	0.0858	0.0481
IFN- $\gamma$	0.0889	0.00790	0.5226
IP-10	0.221	0.0488	0.1083
MCP-1*	0.422	0.178	0.0015
MIP-1 $\alpha$	0.257	0.0660	0.0610
MIP-1 $\beta$ *	0.403	0.162	0.0025
PDGF-BB <sup>†</sup>	0.348	0.121	0.0100
RANTES <sup>†</sup>	0.319	0.102	0.0188
TNF- $\alpha$ *	0.452	0.204	0.0006
VEGF*	0.472	0.223	0.0006

FGF : fibroblast growth factor, G-CSF : granulocyte colony-stimulating factor, GM-CSF : granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, IFN : interferon, IL : interleukin, IP : interferon-inducible protein, MCP : monocyte chemoattractant protein, MIP : macrophage inflammatory protein, PDGF-BB : platelet derived growth factor-BB, TNF : tumor necrosis factor, VEGF : vascular endothelial growth factor.

\*p < 0.01, <sup>†</sup>p < 0.05.

[文献7より引用]

房線維化, そして TGF- $\beta$ 1 の発現上昇を認めたと報告している<sup>14)</sup>。われわれの報告と合わせて, 心外膜脂肪組織は AF 治療の新たなターゲットとして期

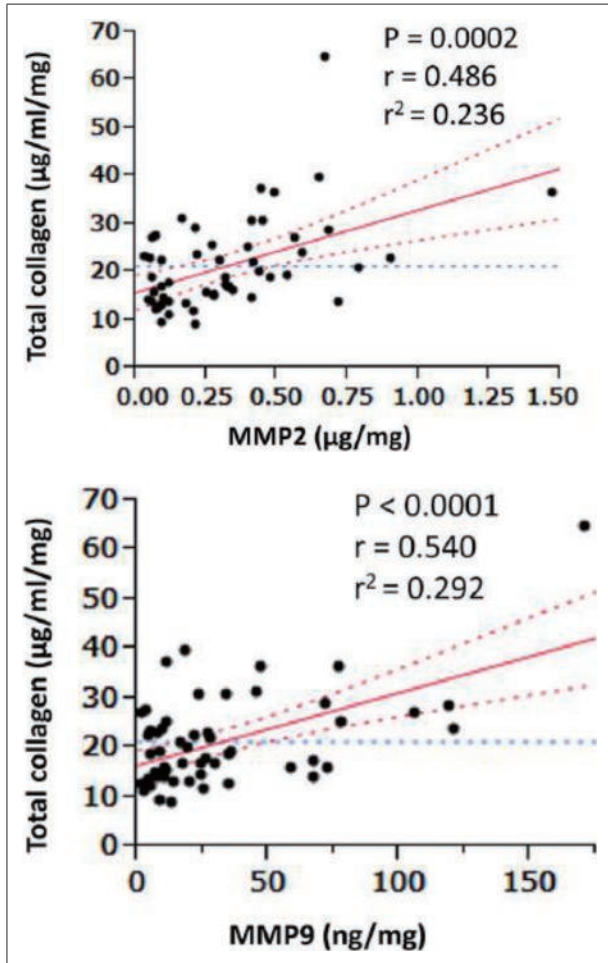


図5 EAT中のMMP2, 9タンパク濃度と心房筋中のtotal collagenタンパク濃度の相関関係

[文献7より引用]

待される。

## V. 結 語

ヒト左心耳組織を用いた検討で、EATに含まれる炎症性サイトカイン/ケモカイン、MMP、Angptl2の発現上昇といったEAT自体の「質的変化」が、心房線維化と密接に関与することが明らかになった。これまでの多くの報告と、われわれの検討から、EATによる局所的な心房線維化とこれらの制御はAF阻止の新たな治療戦略になりうると考えられた。今後は、より実験的かつ前向きな検討により、EATが心房線維化を惹起する機序について、

表3 心外膜脂肪組織中のサイトカイン/ケモカインタンパク濃度と心外膜脂肪組織中のAngptl2タンパク濃度の相関関係

Variable	Univariable analysis		
	Pearson r	r <sup>2</sup>	p value
IL-1β*	0.395	0.156	0.0032
IL-1Ra	0.196	0.0384	0.1549
IL-2 <sup>†</sup>	0.335	0.112	0.0489
IL-4	0.229	0.0524	0.0961
IL-5	-0.0596	0.00355	0.7300
IL-6*	0.459	0.211	0.0005
IL-7*	0.481	0.231	0.0002
IL-8	0.224	0.0502	0.1040
IL-9*	0.449	0.202	0.0007
IL-10*	0.619	0.383	< 0.0001
IL-12	0.245	0.0600	0.1129
IL-13	0.163	0.0266	0.2402
IL-15	-0.0516	0.00266	0.7166
IL-17	0.220	0.0484	0.1128
Eotaxin*	0.497	0.247	0.0001
Basic FGF	0.0386	0.00149	0.7817
G-CSF	0.156	0.0243	0.2696
GM-CSF <sup>†</sup>	0.352	0.124	0.0166
IFN-γ	0.138	0.0190	0.3187
IP-10*	0.428	0.183	0.0012
MCP-1*	0.502	0.252	0.0001
MIP-1α	0.239	0.0571	0.0813
MIP-1β*	0.409	0.167	0.0021
PDGF-BB	0.268	0.0718	0.0503
RANTES*	0.490	0.240	0.0002
TNF-α*	0.535	0.286	< 0.0001
VEGF*	0.720	0.518	< 0.0001

略語は表2と同様。

\*p < 0.01, †p < 0.05.

[文献7より引用]

詳細を明らかにしていきたい。

カテーテルアブレーション治療の飛躍的な精度・成績向上、一般化により、AFは根治できる疾患になってきた。しかし、リスクを有する患者の炎症を制御しAF新規発症を抑制することは、依然として重要であり、今後のさらなる展開に期待したい。

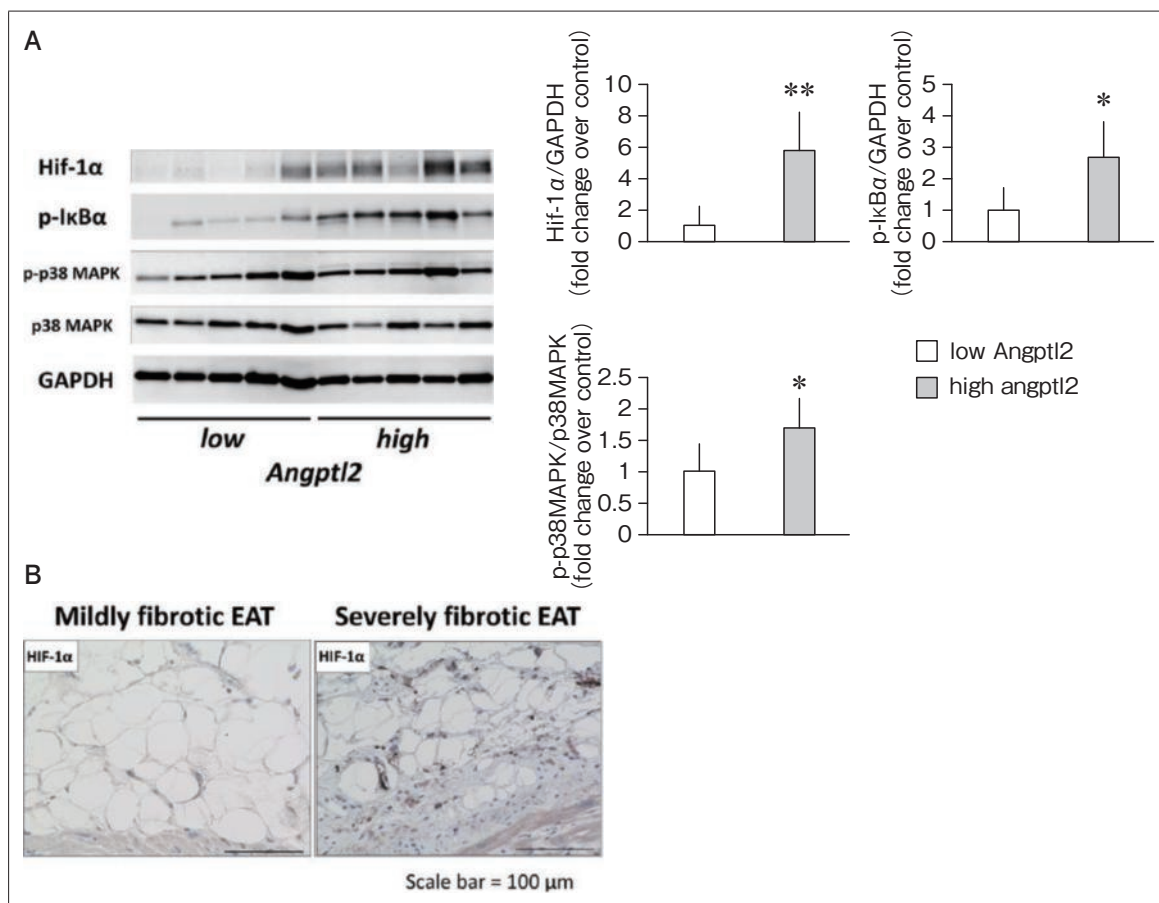


図6 EATにおけるAngptl2の上流・下流因子について

A : EAT中のAngptl2濃度が高い群と低い群における, EAT中のHif-1α, リン酸化IκBa, リン酸化p38MAPKタンパク発現.

B : Mildly群, Severely群のHif-1α抗体を用いた代表的な免疫組織染色画像.

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01.

[文献7より引用]

#### 付記

本稿は, 第24回日本不整脈心電学会学術奨励賞最優秀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, 図表については, 受賞論文より引用させていただいた.

remodeling and cytokines/chemokines content in epicardial adipose tissue with atrial myocardial fibrosis in patients with atrial fibrillation. Heart Rhythm, 2018, 15 : 1717-1727

#### 受賞論文

Abe I, Teshima Y, Kondo H, Kaku H, Kira S, Ikebe Y, Saito S, Fukui A, Shinohara T, Yufu K, Nakagawa M, Hijiya N, Moriyama M, Shimada T, Miyamoto S, Takahashi N. Association of fibrotic

#### [文 献]

1) Go AS, Hylek EM, Phillips KA, et al. : Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults : national implications for rhythm management and stroke prevention : the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. JAMA, 2001 ; 285 :



2370-2375

- 2) Chung MK, Martin DO, Sprecher D, et al. : C-reactive protein elevation in patients with atrial arrhythmias : inflammatory mechanisms and persistence of atrial fibrillation. *Circulation*, 2001 ; 104 : 2886-2891
- 3) Conway DS, Buggins P, Hughes E, et al. : Relationship of interleukin-6 and C-reactive protein to the prothrombotic state in chronic atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, 2004 ; 43 : 2075-2082
- 4) Sata N, Hamada N, Horinouchi T, et al. : C-reactive protein and atrial fibrillation. Is inflammation a consequence or a cause of atrial fibrillation? *Jpn Heart J*, 2004 ; 45 : 441-445
- 5) Sonoda Y, Teshima Y, Abe I, et al. : Macrophage Infiltration Into the Endothelium of Atrial Tissue in Atrial Fibrillation. *Circ J*. 2017 ; 25 ; 81 : 1742-1744
- 6) Wong CX, Abed HS, Molaee P, et al. Pericardial fat is associated with atrial fibrillation severity and ablation outcome. *J Am Coll Cardiol*, 2011 ; 57 : 1745-1751
- 7) Al Chekatie MO, Welles CC, Metoyer R, et al. : Pericardial fat is independently associated with human atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, 2010 ; 56 : 784-788.
- 8) Zghaib T, Ipek EG, Zahid S, et al. Association of left atrial epicardial adipose tissue with electrogram bipolar voltage and fractionation : Electrophysiologic substrates for atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, 2016 ; 13 : 2333-2339
- 9) Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, et al. : Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation : a translational appraisal. *Physiol Rev*, 2011 ; 91 : 265-325
- 10) Kostin S, Klein G, Szalay Z, et al. : Structural correlate of atrial fibrillation in human patients. *Cardiovasc Res*, 2002 ; 54 : 361-379
- 11) Abe I, Teshima Y, Kondo H, et al. : Association of fibrotic remodeling and cytokines/chemokines content in epicardial adipose tissue with atrial myocardial fibrosis in patients with atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, 2018 ; 15 : 1717-1727
- 12) Hirata Y, Tabata M, Kurobe H, et al. : Coronary atherosclerosis is associated with macrophage polarization in epicardial adipose tissue. *J Am Coll Cardiol*, 2011 ; 58 : 248-255
- 13) Tian Z, Miyata K, Tazume H, et al. : Perivascular adipose tissue-secreted angiopoietin-like protein 2 (Angptl2) accelerates neointimal hyperplasia after endovascular injury. *J Mol Cell Cardiol*, 2013 ; 57 : 1-12
- 14) Mahajan R, Lau DH, Brooks AG, et al. Electrophysiological, Electroanatomical, and Structural Remodeling of the Atria as Consequences of Sustained Obesity. *Journal of the American College of Cardiology*, 2015 ; 66 : 1-11

## Association Between Epicardial Adipose Tissue and Atrial Fibrillation

Ichitaro Abe<sup>1</sup>, Shinji Miyamoto<sup>2</sup>, Naohiko Takahashi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Cardiology and Clinical Examination, Oita University Faculty of Medicine

<sup>2</sup>Department of Cardiovascular Surgery, Oita University Faculty of Medicine

Several lines of evidence have shown that epicardial adipose tissue (EAT) is related to the presence, severity, and outcome of atrial fibrillation (AF). Mechanistically, studies have suggested that the effects of EAT may be mediated by local cytokines/chemokines, inflammation, and fatty infiltration. Here, we discuss the role of EAT, especially in its effect on atrial myocardial fibrosis. Prevention of qualitative alteration of EAT may be a novel therapeutic target for AF.

**Keywords :** Epicardial adipose tissue, Atrial fibrillation, Atrial myocardial fibrosis, Inflammation