

ミオシン軽鎖の経時的測定
による心筋梗塞治癒過程の
評価： 早期再灌流の影響

Evaluation of healing
process in myocardial
infarction by the time
course of serum myosin
light chain I: The effects
of early reperfusion

浅地 孝能
村上 暎二
竹越 襄

Takayoshi ASAJI
Eiji MURAKAMI
Noboru TAKEKOSHI

Summary

The effects of early reperfusion on the infarct area were evaluated by measuring the plasma creatine phosphokinase (CPK) activity and myosin light chain I (LCI) in 30 patients with acute myocardial infarction. Twenty of these patients underwent coronary angiography, of whom 9 had reperfusion with successful intracoronary thrombolysis, which revealed significant correlations between peak values of LCI and peak values of CPK or CPK-MB activity ($r=0.775$, $p<0.01$ or $r=0.783$, $p<0.01$). Similarly, peak value of LCI correlated with left ventricular ejection fraction ($r=-0.729$, $p<0.01$) and the infarct size which was estimated according to the extent and severity scores measured by Tl-201 myocardial SPECT (vs extent score, $r=0.439$, $p<0.05$; vs severity score, $r=0.429$, $p<0.05$). The time activity curves of plasma CPK activity and LCI differed in patients with and without reperfusion; in the former, mean peak values of CPK activity and LCI were $1,170\pm 321$ U/L (mean \pm SD) and 10.7 ± 3.5 ng/ml, respectively, while in the latter, they were $5,430\pm 3,315$ U/L and 25.2 ± 12.9 ng/ml, respectively. The times to peak values of LCI and CPK did not differ between these 2 patient groups.

We concluded that the early reperfusion suppresses the progressive extension of irreversible injury in the infarct area and significantly diminishes the infarct size.

Key words

Myocardial infarction Myosin light chain Reperfusion

はじめに

急性心筋梗塞に対する早期の血栓溶解療法は Rentrop らにより初めて報告され、以来、早期再

灌流の影響に対する数多くの *in vitro* および *in vivo* での検討が行なわれてきた^{1,2)}。心筋梗塞発症早期の病理学的知見によれば、急性冠閉塞による心筋壊死はわずか 20 分で心内膜下に生じ始め、

金沢医科大学 循環器内科
石川県河北郡内灘町字大学 1-1 (〒920-02)

Department of Cardiology, Kanazawa Medical University, Daigaku 1-1, Uchinada, Kahoku, Ishikawa 920-02

Received for publication February 8, 1991; accepted April 6, 1991 (Ref. No. 37-216)

数時間後には心外膜にまで及ぶことが確認されている。したがって、梗塞発症後3時間以内に再灌流が得られれば、虚血心筋への血流が再開され、border zone の心筋壊死の進行は阻止され、結果として左室機能の改善と死亡率の低下がもたらされることが示唆されている。しかし、その一方では、reperfusion injury として知られているように、再灌流によって、border zone の心筋細胞内で産生される free radical や no reflow phenomenon と呼ばれる循環障害により、心筋障害が引き起こされ、梗塞領域に収縮帯壊死や出血性梗塞などが認められるようになる。さらに border zone の電氣的不均一性が様々な不整脈を発生することも報告されている³⁻⁷⁾。ここ数年間、早期再灌流の是非やその時期についても詳しく検討されたが、いまだ早期再灌流が心筋梗塞巣の範囲を縮小し得るか否かについて、十分な解答は得られていない。心筋梗塞巣の範囲に及ぼすそのような影響を考慮する際、心筋梗塞巣の大きさを正確に測定することが重要であるが、最近、心筋構造タンパク質の一つであるミオシン軽鎖に対するモノクローナル抗体が作製され、これを用いて測定されたミオシン軽鎖の血中レベルが、梗塞巣を推定する上に、これまでの指標よりもより有用であることが示唆されるようになった⁸⁾。今回、我々はこの血中ミオシン軽鎖 I (以下 LCI) と creatine phosphokinase (以下 CPK) を経時的に測定し、その変動パターンを用いて、心筋梗塞に対する早期再灌流の影響について検討した。

対象ならびに方法

対象

急性心筋梗塞で CCU に入院した患者 30 名 (平均年齢 60.7±14.8 歳, 男女比 25:5) を対象として、このうち急性期に冠動脈造影を施行され、既に再疎通しているか、もしくは経皮的冠動脈血栓溶解療法 (PTCR) にて再疎通を認めた群を「再灌流群」、PTCR や経皮的冠動脈形成術 (PTCA) 施行後も完全閉塞が改善されなかった群を「非再

灌流群」とした。

方法

血中 CPK 値, CPK-MB 分画値ならびにミオシン軽鎖値の測定

血中 CPK 値ならびに CPK-MB 値は入室後 3 日間は 3 時間毎に、それ以後は 6~12 時間毎に測定した。ミオシン軽鎖は入院後 1 週間は 12 時間毎に、その後は 24 時間毎に測定した。CPK 値および CPK-MB 値の測定には、紫外部吸光度分析法 (UV 法) および免疫阻止 -UV 法, セルロースアセテート膜電気泳動法による蛍光発色法を用いた。ミオシン軽鎖はミオシン軽鎖 I 「ヤマサ」を用いて radioimmunoassay 法で測定した。

TI-201 心筋 SPECT 像からの extent score, severity score の算出法

発症約 1 ヶ月後の患者に塩化タリウムを静注後、多段階式自転車エルゴメーターによる運動負荷の直後と 3~4 時間後に撮像し、体軸横断像より短軸断層像 (SPECT) を再構成し、さらに極座標マップ (bull's eye 表示) を作成した。得られた SPECT 短軸像において正常心筋と残存心筋の辺縁をトレースし、それぞれの面積を心尖部より心基部まで (8~10 スライス) 合計し、残存心筋の割合 (百分率) を心筋梗塞範囲の指標とした (extent score)。この bull's eye 表示で mean-2SD の部分を black out 表示し、この領域内の平均カウントを最大カウントに対する百分率で表示し、心筋障害度の指標とした (severity score)。

心ブールスキャン法による左室駆出率 (LVEF) の算出法

発症約 1 ヶ月後の患者から ^{99m}Tc-in vivo 赤血球標識を用い、マルチゲート法にて心拍同期下に数百心拍を重ね合わせて算出した。

検討項目

全症例を対象とし、血中 CPK 最高値や CPK-MB 最高値とミオシン軽鎖最高値の相関性を調べた。心筋梗塞巣の大きさの指標として、発症 1 ヶ月後に計測された TI-201 心筋 SPECT bull's eye 表示からの extent score や severity score

を用い、これらとミオシン軽鎖の相関性を調べた。慢性期の左室駆出率とミオシン軽鎖の関連についても同様に検討した。

統計学的検討

ミオシン軽鎖と他の項目 (CPK, CPK-MB, extent score, severity score, LVEF) 間との相間には最小自乗法による linear regression analysis を用いた。再灌流群と非再灌流群間の比較には unpaired t-test を用いた。その他の検討には Student's t-test を用い、結果は数値を mean±SD で示し、 $p < 0.05$ をもって有意とした。

結 果

1. 再灌流群, 非再灌流の背景 (Table 1)

再灌流群の平均年齢は 55.2 ± 11.1 歳で全例男性であった。責任冠動脈病変は4例に前下行枝で、5例に回旋枝または右冠動脈で認められた。Forrester 分類は全例 I 群であった。一方、非再灌流群は平均年齢 53.2 ± 8.5 歳で、同様に全例男性であった。5例に前下行枝病変を、6例に回旋枝もしくは右冠動脈病変を認めた。Forrester I 群6例, II 群3例, III 群0例, IV 群2例であった。

Table 1. Comparison of profiles of patients with and without reperfusion

	Reperfusion (-) n=11	Reperfusion (+) n=9
Age (yrs)	53.2 ± 8.5	55.2 ± 11.1
Male/female	11 / 0	9 / 0
No. of patients with a recanalized artery		
LAD occlusion	5	4
LCX/RCA occlusion	6	5
Forrester's classification		
Class I	6	9
II	3	0
III	0	0
IV	2	0

LAD=left anterior descending artery; LCX=left circumflex artery; RCA=right coronary artery.

再灌流群, 非再灌流群の間に年齢や性別, 責任冠動脈病変などにおいて有意な差は認めなかった。

2. 心筋梗塞全症例におけるミオシン軽鎖値と他の指標との関連

ミオシン軽鎖最高値は CPK 最高値ならびに CPK-MB 最高値と各々有意な正の相関 ($r = 0.775, p < 0.01, n = 30$; $r = 0.783, p < 0.01, n = 17$) を示した (Fig. 1)。またミオシン軽鎖最高値は extent score と severity score はともに有意な正の相関 ($r = 0.439, p < 0.05, n = 23$; $r = 0.429, p < 0.05, n = 23$) を示した (Fig. 2)。一方、LVEF とは極めて高い負の相関 ($r = -0.729, p < 0.01, n = 25$) を示した (Fig. 3)。

3. 心筋梗塞巣に対する早期再灌流の影響

再灌流群, 非再灌流群における CPK ならびにミオシン軽鎖の経時的変動パターンでは、それらの最高値は、ともに再灌流群の方が非再灌流群よりも明らかに低い値を示したが、それらの最高値への到達時間については、ともに有意な差は認めなかった (Fig. 4, Table 2)。また発症10日目では再灌流群は全例が測定感度以下になったが、非再灌流では約60%の症例は依然として高値を示していた。

考 按

1. ミオシン軽鎖による心筋梗塞巣の評価

従来の成績では、心筋梗塞急性期死亡の原因の多くは心不全やショックなど、ポンプ失調によることが示唆されている。ポンプ失調は心筋梗塞巣の大きさと非常に深く関連しており、梗塞巣が大きいほど、これらの合併症の頻度も高いことが知られている。これまでに梗塞巣を縮小させるために様々な試みが行なわれてきたが、中でも責任冠動脈に対する血栓溶解療法などによる早期再灌流療法は、発症から再灌流が得られるまでの時間が短いほど、再開通後に梗塞巣を縮小させ、急性期の血行動態を改善させて、ポンプ失調の減少をもたらすことが期待されるようになった。その反面、早期再灌流により border zone における心筋

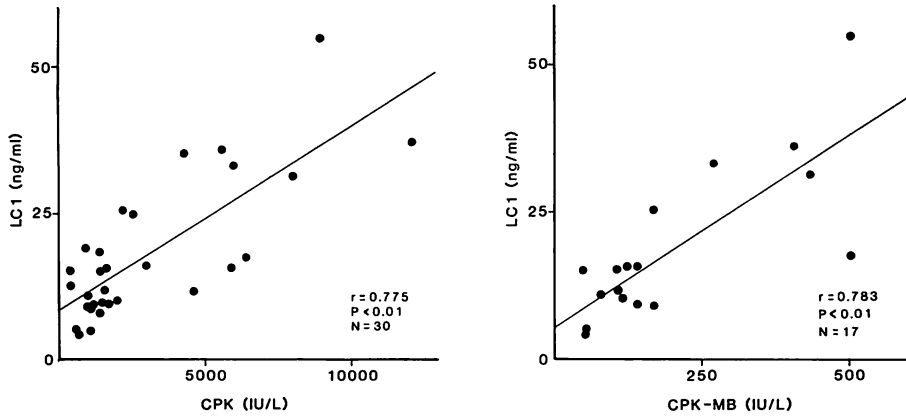


Fig. 1. Correlations between peak values of myosin light chain I (LC1) and peak values of creatine phosphokinase (CPK) (left) and its MB isozyme (CPK-MB) (right).

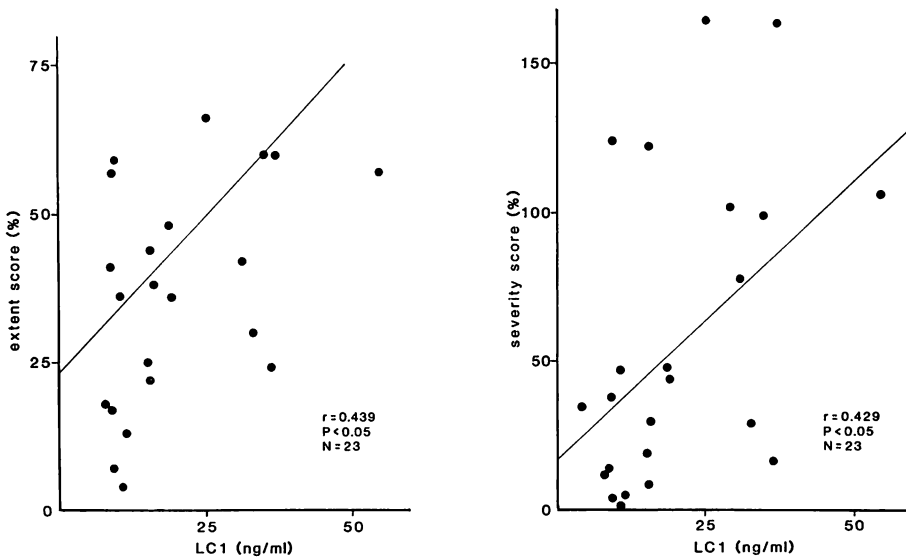


Fig. 2. Correlations between peak values of myosin light chain I (LC1) and the infarct size estimated by TI-201 myocardial image.

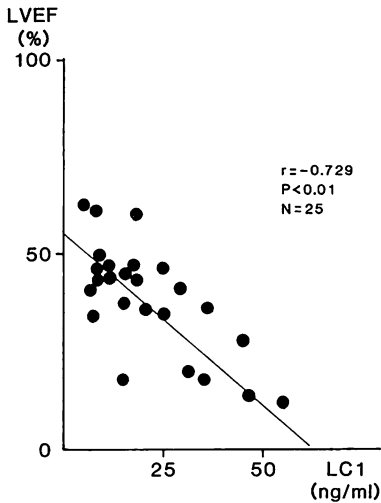


Fig. 3. Correlation between peak value of myosin light chain I (LC1) and left ventricular ejection fraction (LVEF).

細胞の破壊も指摘されてきた。

臨床的には、早期再灌流の梗塞巣への影響（梗塞サイズの縮小もしくは拡大）を検討する場合、心筋梗塞巣の範囲を正確に測定することが必要となる。これに関しては、これまでに心筋細胞からの逸脱酵素である CPK や CPK-MB などから、梗塞巣の大きさを推測する方法が検討されてきたが⁹⁻¹³⁾、これらの方法に関しては、再灌流の影響など、いくつかの問題点が指摘されている¹⁴⁻¹⁸⁾。一方、心筋ミオシンは2つの重鎖と4つの軽鎖からなる主要な構造蛋白の一つであり、心筋壊死後筋原線維の崩壊により、最初は細胞質の非結合性のミオシンが血中に流出し、その後、結合成分のミオシンが流出することが報告されている。このミオシン軽鎖に対して作製されたモノクローナル抗体を用いた臨床的検討が、最近相次いで報告されている。今回我々の教室に入院した急性心筋梗塞30症例を対象とした検討では、ミオシン軽鎖の最高値は CPK や CPK-MB 最高値と非常に相関を示した。しかし、中には CPK の顕著な増加にもかかわらず、ミオシン軽鎖の上昇がわ

ずかに留まる症例や、逆に CPK の上昇が軽度にもかかわらず、ミオシン軽鎖は著明な増加を示した症例も認められた。このような CPK とミオシン軽鎖の解離が生じた原因としては、発症後ごく早期に生じ得る再灌流の影響、不完全な冠閉塞によって繰り返される再開塞と再開通の影響や、良好な側副血行路の存在などが推察された。一方、ミオシン軽鎖の最高値は慢性期の左室駆出率と有意な負の相関を、TI-201 心筋 SPECT より求めた梗塞巣の大きさと正の相関を示した。これらの結果は、既に報告されている Nagai ら¹⁹⁾ や Isobe ら²⁰⁾ の研究結果と非常に類似していた。彼らは、1) 急性心筋梗塞の診断において、血中ミオシン軽鎖の測定は CPK や CPK-MB 値と同様に有用であること、2) 急性心筋梗塞症では、ミオシン軽鎖は梗塞部心筋の筋原線維の崩壊により持続的に血中に流出してくること、3) ミオシン軽鎖の最高値が、心筋梗塞巣の大きさや左室運動障害の重症度と相関すること、4) ミオシン軽鎖は冠血管の再開通による再灌流の影響を受けないこと、などを報告している。ミオシン軽鎖の測定は、骨格筋障害や腎機能障害が存在する場合にも上昇するなど、いくつかの問題点を有しているが、経時的変化をみることにより鑑別することも可能であり、また梗塞部の治癒状態の推定や、リハビリテーションの開始時期およびその進行に対する有用な情報をも提供し得る可能性を示唆し、これらの点に関しては、さらに多くの臨床面での検討が待たれる。

2. 心筋梗塞巣に対する早期再灌流の影響

本研究において梗塞心筋量 (TI-201 心筋 SPECT よりみた大きさ) とミオシン軽鎖最高値との相関性が示されたため、我々はこれを指標に用い、早期再灌流の影響について検討した。早期再灌流を認めた再灌流群と持続的に完全閉塞を示した非再灌流群の間では、CPK 最高値は明らかに前者で低い値を示していたが、最高値出現時間については両群間に有意な差は認められなかった。この結果は、既に報告されている CPK の動

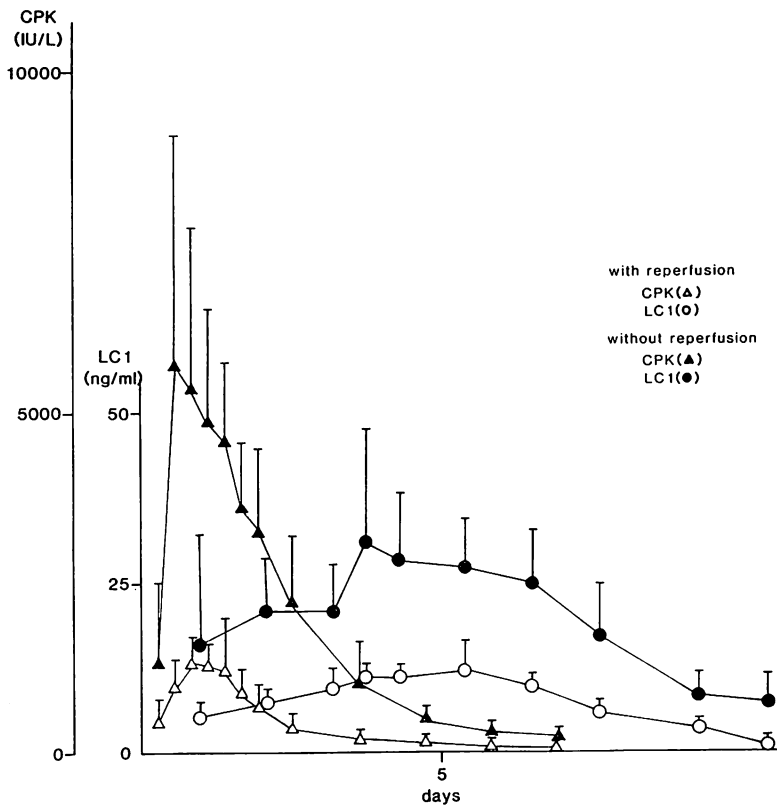


Fig. 4. Comparison of the time activity curves of myosin light chain I (LC1) and creatine phosphokinase (CPK) between the patients with and without reperfusion.

Table 2. Comparison of peak values and the times to peak values of myosin light chain I (LCI) and creatine phosphokinase (CPK) between the patients with and without reperfusion

	Peak CPK (U/L)	Time to peak value (hr)	Peak LCI (ng/ml)	Time to peak value (hr)
Reperfusion (-)	5,430±3,315	21.3±9.1	25.2±12.9	105.4±16.5
Reperfusion (+)	1,170± 321	21.4±6.3	10.7± 3.5	106.8±15.7

態と異なっていた。一般的には再灌流により血中 CPK の最高値出現時間は短くなり、CPK 最高値は梗塞巣の広さの割には高値となることが示唆されている。これは CPK が非常に不安定な酵素で、大部分は梗塞巣で失活し、残りのわずかな部

分がリンパや血中に流出してくるが、再灌流を受けると血中に流出する CPK の量が著しく増えることにより説明されている(再灌流の CPK に対する washout 効果)。本症例のように、両群間で有意な差を認めなかった理由としては、再灌流群

の症例の中には発症後より再開通と再開塞を繰り返しながら、最終的には PTCR により再開通が維持され得たと考えられた症例や、発症 6 時間を過ぎてから PTCR を施行し、成功した症例などが含まれているためと考えられる。発症 3~4 時間以内に再開通を認め得た症例や、冠動脈造影施行時既に再開通を認めた症例では、やはり血中の CPK 最高値は梗塞発症早期に認められた。

次に血中ミオシン軽鎖の動態について比較検討したところ、再灌流群では非再灌流群よりも、ミオシン軽鎖の最高値が非常に低いことが示された。再灌流により border zone の心筋細胞の一部が壊死に陥った可能性は否定できないが、少なくとも border zone の虚血心筋細胞の多くは salvage されたためと考えられる。一方、ミオシン軽鎖最高値出現時間については、再灌流群でわずかに早い傾向が認められたが、全体としては両群間で有意な差を認めなかった。またミオシンが正常値に戻るまでの時間は、非再灌流群の約 60% が発症 10 日になっても高値を示していたにもかかわらず、再灌流群の方は全例が正常値に戻っており、再灌流による壊死心筋量の減少が示唆された。いずれにしても、ミオシン軽鎖の血中流出動態が再灌流の影響を受けないことより、ミオシン軽鎖の総流出量は梗塞巣の大きさそのものを良く反映すると考えられる。したがって、ミオシン軽鎖値の経時的パターンより、早期再灌流は梗塞巣の進展を抑制し、心筋梗塞巣の拡大阻止効果を有することが示唆された。

結 語

急性心筋梗塞症における血中 CPK 値ならびにミオシン軽鎖 I 値の経時的変動パターンを検討した。

1. 血中ミオシン軽鎖 I 最高値は CPK や CPK-MB の最高値と有意な正の相関を示した。

2. 血中ミオシン軽鎖 I 最高値は心筋梗塞巣の大きさ (extent score, severity score) とも有意な正の相関を示した。

3. 血中ミオシン軽鎖 I 最高値は慢性期の左室駆出率とは有意な負の相関を示した。

4. 再灌流群は非再灌流群よりも血中ミオシン軽鎖 I や CPK 最高値はともに低かったが、各々の因子の最高値到達時間については、両群間で有意な相違を示さなかった。

5. 再灌流群は非再灌流群よりも梗塞巣の大きさが非常に小さいことなどから、心筋梗塞巣への再灌流により、壊死範囲の拡大が阻止される可能性が示唆された。

要 約

急性心筋梗塞患者 30 名の血中 CPK とミオシン軽鎖 I (LCI) を経時的に測定することより、梗塞巣への再灌流の影響を検討した。30 例中 20 例では冠血管造影検査を施行し、その中 9 例では血栓溶解療法により再灌流を認めた。

LCI のピーク値は、CPK および CPK-MB 活性のピーク値と有意な正相関を示した ($r=0.775$, $p<0.01$ および $r=0.783$, $p<0.01$)。また LCI のピーク値は左室駆出率と負相関 ($r=-0.729$, $p<0.01$)、Tl-201 心筋シンチグラフィより得られた extent score および severity score と良好な相関を示した ($r=0.439$, $p<0.05$ および $r=0.429$, $p<0.05$)。

一方、血中 CPK と LCI の経時的パターンより再灌流を認めた患者 (再灌流群) と認めなかった患者 (非再灌流群) とでは、明らかな相違がみられた。すなわち前者では CPK および LCI のピーク値は $1,170 \pm 321$ U/L (mean \pm SD) および 10.7 ± 3.5 ng/ml であったのに対し、後者ではそれぞれ $5,430 \pm 3,315$ U/L および 25.2 ± 12.9 ng/ml で、前者に比し有意に高値を示した。しかし CPK や LCI がピーク値に到達するまでの時間に有意差は認められなかった。

したがって再灌流は梗塞巣の不可逆的な障害の進展を抑制し、梗塞サイズを有意に減少させることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに当り御指導, 御鞭達いただいた東京大学第三内科矢崎義雄教授に深甚なる謝意を表するとともに, 御協力いただいた本学総合医学研究所松井 忍教授ならびに金沢医科大学循環器内科の各医局員に深謝いたします。

文 献

- 1) National Heart Foundation of Australia Coronary Thrombolysis Group: Coronary thrombolysis and myocardial salvage by tissue plasminogen activator given up to 4 hours after onset of myocardial infarction. *Lancet* **1**: 203-207, 1988
- 2) Rentrop KP, Feit F, Blanke H, Stegy P, Schneider R, Rey M, Horowitz S, Goldman M, Karsch K, Meilman H, Cohen M, Siegel S, Sanger J, Slater J, Gorlin R, Fox A, Fagerstrom R, Calhoun WF: Effects of intracoronary streptokinase and intracoronary nitroglycerin infusion on coronary angiographic patterns and mortality in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* **311**: 1457-1463, 1984
- 3) Manning AS, Hearse DJ: Reperfusion-induced arrhythmias: Mechanisms and protection. *J Mol Cell Cardiol* **14**: 497-518, 1984
- 4) Schmidt SB, Varghese PJ, Bloom S, Yackee JM, Ross AM: The influence of residual coronary stenosis on size of infarction after reperfusion in a canine preparation. *Circulation* **73**: 1354-1359, 1986
- 5) Fujiwara H, Ashraf M, Sato S, Millard RW: Transmural cellular damage and blood flow distribution in early ischemia in pig hearts. *Circ Res* **51**: 683-693, 1982
- 6) Higginson LAJ, Beanlands DS, Nair RC, Temple V, Sheldrick K: The time course and characterization of myocardial hemorrhage after coronary reperfusion in the anesthetized dog. *Circulation* **67**: 1024-1031, 1983
- 7) Corr PB, Witkowski FX: Potential electrophysiologic mechanisms responsible for dysarrhythmias associated with reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation* **68** (Suppl): I-16-I-24, 1983
- 8) Yazaki Y, Nagai R, Ueda S: Estimation of the extent of myocardial damage from serum cardiac myosin light chain I in acute myocardial infarction. *Circulation* **61** (Suppl): III-216, 1980 (abstr)
- 9) Shell WE, Kjekshus JK, Sobel BE: Quantitative assessment of the extent of myocardial infarction in the conscious dog by means of analysis of serial changes in serum creatine phosphokinase activity. *J Clin Invest* **50**: 2614-2625, 1971
- 10) Sobel BE, Bresnahan GF, Shell WE, Yoder RD: Estimation of infarct size in man and its relations to prognosis. *Circulation* **46**: 640-648, 1972
- 11) Norris RM, Whitlock RML, Barratt-Boyes C, Small CW: Clinical measurement of myocardial infarct size: Modification of a method for the estimation of total creatine phosphokinase release after myocardial infarction. *Circulation* **51**: 614-620, 1975
- 12) Roberts R, Henry PD, Sobel BE: An improved basis for enzymatic estimation of infarct size. *Circulation* **52**: 743-754, 1975
- 13) Honda Y, Katayama T: Detection of myocardial infarction extension or reattack by serum myoglobin radioimmunoassay. *Int J Cardiol* **6**: 325, 1984
- 14) Maroko PR, Kjekshus JK, Sobel BE, Watanabe T, Covell JW, Ross J Jr, Braunwald E: Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions. *Circulation* **43**: 67-82, 1971
- 15) Tamaki S, Murakami T, Kadota K, Kambara H, Yui Y, Nakajima H, Suzuki Y, Nohara R, Takatsu Y, Kawai C, Tamaki N, Mukai T, Torizuka K: Effects of coronary artery reperfusion on relation between creatine kinase MB release and infarct size estimated by myocardial emission tomography with thallium-201 in man. *J Am Coll Cardiol* **2**: 1039-1045, 1983
- 16) Jarmakani JM, Limbird L, Graham TC, Marks RA: Effect of reperfusion on myocardial infarction and the accuracy of estimating infarct size from serum creatine phosphokinase in the dog. *Cardiovasc Res* **10**: 245-253, 1976
- 17) Vatner SF, Baig H, Manders WT, Maroko PR: Effects of coronary artery reperfusion on myocardial infarct size calculated from creatine kinase. *J Clin Invest* **61**: 1048-1058, 1978
- 18) Lewis BS, Ganz W, Laramée P, Cercek B, Hod H, Shah PK, Lew AS: Usefulness of a rapid initial increase in plasma creatine kinase activity as a marker of reperfusion during thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* **62**: 20-24, 1988
- 19) Nagai R, Yazaki Y: Assessment of myocardial infarct size by serial changes in serum cardiac myosin light chain II in dogs. *Jpn Circ J* **45**: 661-671, 1981

20) Isobe M, Nagai R, Nakaoka H, Yazaki Y: Quantitative assessment of the effects of coronary re-perfusion by serum cardiac myosin light chain

in closed-chest conscious dogs. *Circulation* **74** (Suppl): II-1040, 1986 (abstr)