

表 たこつぼ心筋障害心筋生検組織所見

年齢性	基礎疾患	誘因	先行感染 症状	症状	CK値	WBC	LDH	生検	心筋組織所見	染色LCA	Macrophage	
1	71歳	バセドウ病、遊業腫瘍摘出、慢性肝炎、肝硬変、肝癌（根治術2回）、OPL、PVC、HT（β遮断薬）	S字結腸術後、脱水、β遮断薬中止	なし	胸痛	132		1日	巣状線維症、心筋脱落、細胞浸潤	(-)	(-)	
2	60歳	高血圧、疲労時一過性の低血圧、突発的咳	なし	なし	咳嗽、呼吸困難、presnack	84	10500	369	15日	巣状線維症、間質浮腫	(-)	(-)
3	68歳	PaC、HT、AP、ARIII度	なし	あり(咳)	失神、咳嗽	129	9700	586	12日	陳旧性線維症、軽度細胞浸潤	(-)	(-)
4	59歳	高血圧、高脂血症	祖母の法事	なし	胸痛	162	9500	323	17日	巣状心筋脱落、細胞浸潤、幼若線維症	(-)	(-)
5	53歳 男性	酒癖多飲、急性腎不全	血液透析後低血圧、ドパミン、連日の透析	なし	急性動水腫	528	10500	1462	26日	斑状線維症、心筋脱落、細胞浸潤	(+)	(-)
6	63歳	脊椎カリエス、骨盤カリエス、高血圧、狭心症	心労（録入院義弟蒸発、入院費滞納、大酒乱、施設に預けた程が来る）	なし	動悸、呼吸困難、胸背部痛	201	10700	325	10日	筋束性、巣状線維症、心筋脱落、線維細胞増生	(+)	(-)
7	64歳	肺線維症	（息子の借金を否にし）自殺企図、溺水	なし	呼吸困難	271	8030	358	4日	細胞浸潤、繊維脂肪変性（左室心尖部）	(-)	(-)
8	70歳	糖尿病	なし（救急常用）	なし	呼吸困難	438		22日	巣状心筋脱落、細胞成分に富む置換性線維症	(+)	(-)	
9	82歳	子宮筋腫、子宮摘出後、咳下痢重、神経症？	なし	なし	食思不振、咽頭違和感	759	8100	744	1日	若い結合織の程度増加、円形細胞浸潤（多核白血球含む）、心筋障害像	(+)	(+)
10	74歳	肺結核	半年に渡る隣人との口論（精神的ダメージ）	なし（2月前より感冒様症状）	突然の胸痛	49	6200	342	28日	心筋細胞周囲型線維症、心筋空胞変性、筋線維異常、わずかな細胞数増加	(+)	(+)
11	46歳 男性	高血圧（Ca拮抗薬）	なし（自動車販売）	なし	突然の胸痛（カテ中の右胸痛）	128	16900	147	5日 30日	巣状心筋脱落・反応性細胞浸潤、線維化	(+)	(-)
12	75歳	慢性腎炎、腎移植後、低蛋白血症、貧血、甲状腺機能低下症	なし	あり(咳)発熱なし	呼吸苦、胸部不快感	312	16980	613	5日	間質は疎、数カ所の心筋細胞障害後脱落像、リンパ球を含む軽度の細胞浸潤、僅かな間質線維症。	(+)	(+)
13	57歳	サルコイドーシス、高脂血症、	夜間、近人に怒鳴られる	なし	胸痛	376	9100	457	20日	僅かな筋束間線維症、軽度の浮腫、わずかな遊走細胞	(+)	(+)
14	76歳	乳癌術後、白内障術後	夫入院、本人、癌邪点滴などのストレス（帰途途中の発症）	感冒	胸部絞扼感	564	11900	715	23日	陳旧性血管周囲性線維症、軽度の細胞浸潤	(+)	(+)



図 a

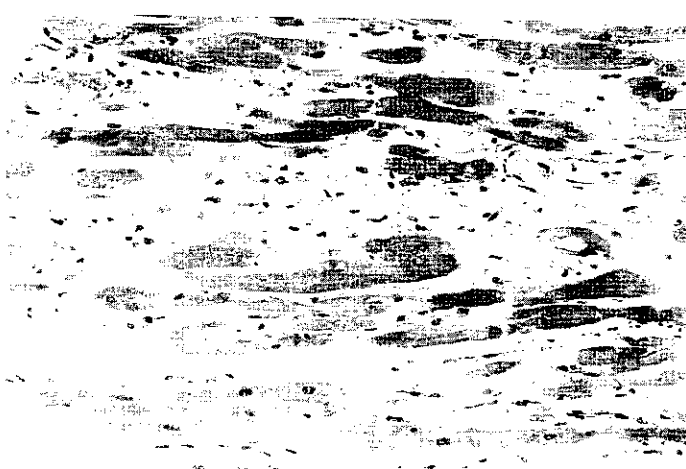


図 b

図：激症心筋炎を疑われた83歳女性剖検例。

過収縮域に対応する心基部左心室中間層（図a）では心筋細胞索の分節化が著明であり、無収縮域の心尖部（図b）では、障害を受けた細胞が萎縮融解を起こしている像が見られる。病変は右室でも同じで、心基部外層では脂肪織内にある疎な心筋細胞ですら分節化が見られ、右室心尖部側では分節化に加え、心筋細胞傷害・融解、間質細胞浸潤が著明である。左心室心尖部の心外膜側も同様で、外膜側よりの心筋細胞の障害と心外膜への細胞浸潤が見られる。心筋織像。HE染色、200倍。

河合祥雄：たこつぼ. 心エコー 2(6):478-4789,2001

河合祥雄：“タコツボ”型心筋炎とはどういう疾患か--“タコツボ”型心筋障害炎症説の検討--。心エコー 2(10):860-865,2001

安田正之、河合祥雄：刺激伝導系の基礎と心電図波形の成り立ち。Medical Technology 29(9):925-928,2001

河合祥雄：急性心筋炎、「心血管疾患：緊急時のアプローチ」。西山信一郎編集、Medicalview社、2001年9月1日、東京、72-83

河合祥雄、久岡英彦：水泳・潜水に対するメディカルチェック -防水型ホルター心電計と簡易潜水反射-。水と健康医学研究会誌 4:29-34,2001.

河合祥雄、馬渡耕史：たこつぼ型心筋障害-致死性例・肺水腫症例の存在-月刊「救急・集中治療」編集委員会編集「救急・集中治療key word」、2001年12月、98-102.

河合祥雄、韋 晴明、五十嵐弘一、小泉憲司、坂井建雄：心房細動の病理。Therapeutic Research 23(1):61-72,2002

河合祥雄：タコツボ形心筋障害の成因。心臓 34(3):217-220,2002.

河合祥雄：激症心筋炎における心不全、高野照夫、清野精彦編集「実地診療に即した心不全・診療マニュアル」医薬ジャーナル社、大坂、2002年5月25日、120-127.

河合祥雄：診断基準と疾患概念、心臓 34(3):583-586,2002.

心筋組織リモデリングにおけるテネインファミリーの意義

－ 心筋疾患の診断と治療への応用

三重大学医学部病理 今中-吉田恭子、吉田利通

国立国際医療センター 廣江道昭、矢崎義雄

テネインファミリーは細胞外マトリックス糖タンパクのひとつで、ほ乳類では、現在、テネイン-C、テネイン-R、テネイン-Xの3つが知られている。このうち、テネイン-Rは中枢神経系に限局して発現し、テネイン-Xは心筋、骨格筋などを始めとする種々の組織に発現し、特に心臓では、冠状動脈の発生に重要な役割を演ずる。テネイン-C (TNC)は最初に発見された分子で、胎児期の形態形成、癌浸潤、創傷治癒、組織再生など組織構造の改築にもなって限られた場所に一過性に発現する。多彩な機能を持つが、一般には、ファイブロネクチンと拮抗して反接着作用を持ち、細胞運動を促進すると考えられている。

心臓では、発生初期に心筋細胞分化、冠動脈前駆細胞の遊走に関連して一過性に発現するが、正常成体ではほとんど発現せず、様々な病的状態で組織リモデリングに伴って再発現する。

この発現様式を利用して、我々は、まず、TNCの発現による心筋疾患の活動性を評価することを試みた。ウイルス性および自己免疫性心筋炎マウスモデルではTNCは、病変初期から障害心筋周囲に限局して発現、炎症活動期には持続し、線維化瘢痕巣を形成する治癒期には消失し、TNCの発現レベルは炎症の程度と強い相関を示した(1)。さらに、心筋炎急性期の患者から得られた生検組織でTNCの強い発現がみられ、臨床的に心筋炎患者の疾患活動性の指標として有用であると考えられた(2)。

一方、我々は、心筋梗塞モデルでTNCが、急性期に梗塞巣と健常部位の境界領域に限局して一過性に現れるという極めて特徴的な発現様式を示すことを見だし、心筋構築改変におけるTNCの重要な役割が示唆された(3)。そこで、TNCノックアウトマウスを用いて心筋梗塞モデルを作成したが、組織修復や心室リモデリングの程度に野生型マウスと明らかな差を認めなかった。しかし、詳細に検討すると、梗塞巣の肉芽組織内に筋線維芽細胞の出現するのが正常より遅れることが明らかになった。筋線維芽細胞は、線維芽細胞と平滑筋の中間の性格を持ち、組織修復の際、間質の線維芽細胞から分化して膠原線維を産生し、またそれ自身が強い収縮力を発生し、瘢痕治癒の主役を演じる重要な細胞である。さらに、培養細胞を用いた機能解析で、TNCが線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化促進、増殖には影響を与えないが遊走を促進するなど、心筋組織修復過程で、一つには筋線維芽細胞の動態を制御することがあきらかになった(4)。

本研究では、さらに、心筋組織構築リモデリングにおけるTNCの他の機能を明らかにすることを試みた。特に、心筋細胞を配列や形態変化が最も活発におこる残存心筋の端に限局して発現することから、一般に反接着蛋白といわれるTNCが、心筋細胞の接着を抑制するのではないかと予想し、心筋細胞のと結合織の接着に対する影響、および、マトリックス分解酵素MMPの発現に対する影響について検討した。

<方法>

心筋細胞とラミニンの接着に対する TNC の影響

カバーガラス(24 x 18 mm)を、ラミニン、ラミニンと TNC、ラミニンとファイブロネクチン、ラミニンとファイブロネクチンと TNC のいずれかでコートして 35mm のペトリ皿に入れ、それぞれに 12 週令の Wistar Rat から分離した心筋細胞を 10%ウシ胎児血清入り DMED で 37°C 24 時間培養した。カバーガラス上の細胞を 4% パラフォルムアルデヒドで 15 分固定し、50% glycerol でマウントして 40 倍の対物レンズを用いて、位相差像を観察し、1 視野あたりの総細胞数を数えた。次に、細胞接着部位を反射干渉顕微鏡(IRM)で観察した。この顕微鏡を用いると、細胞膜と基質との距離が 10 to 15 nm と最も接近している部分は黒く見え、いわゆる dark contact とよばれ、細胞膜と基質との距離が 30 nm 程度の部分は灰色に、100 nm 以上はなれている部分は白く観察される。心筋細胞は、細胞内の Z 帯に対応する部分でコストメア接着とよばれる規則的な縞状に分布する dark contacts を形成することができる (5)。それぞれの心筋細胞の接着部位を(IRM)で観察し、コストメア接着を形成しているかどうか観察した。4 種類の基質でコートしたカバーガラスのそれぞれ 10 視野について評価し、1 視野あたりの平均値を計算した。

線維芽細胞による MMP 産生に対する TNC の効果

一般に線維芽細胞細胞は、培養系で TNC を産生するため、実験には、TNC ノックアウトマウス由来の細胞を用いた。8 週令のマウス心臓からコラゲナーゼを用いて、線維芽細胞を分離培養した。0.1%牛胎児血清を含む DMEM 培地で 48 時間培養した後、培養液中に TNC を加え、16 時間後に ISOGEN (ニッポンジーン) を用いて RNA を分離した。それぞれ 1 µg の RNA から、oligodT をプライマーとして AMV Reverse transcriptase, (Roche)によって cDNA を作成し、それをテンプレートとして Taqman system(Perkin Elmer Biosystem)により AMI PRISM 7700 Sequence Detection System をもちい、リアルタイム定量的 RT-PCR によって matrix metalloproteinase 2,3,9,13 の遺伝子発現レベルを評価した。

<結果および考察>

TNC による心筋細胞と結合織の接着の制御

一般に線維芽細胞などの接着部位を反射干渉顕微鏡で観察すると、接着の強さは dark, gray, white の 3 段階にわけられ、細胞は actin fiber 両端の黒い矢印状の dark contact,いわゆる接着斑で最も強く接着し、そこにビンキュリンなどの接着蛋白が局在する。

心筋細胞ではビンキュリンは、Z-line のところに一致する縞状分布を示し、この部分で心筋細胞は細胞外マトリックスと強く接着する (図 1 a)。ビンキュリンの縞状分布は心筋細胞の肋骨のように見えるためコストメアとよばれる。心筋細胞はコストメアにビンキュリン/テーリン/インテグリン $\alpha 6 \beta 1$ からなる接着複合体を構成し、基底膜のラミニンに固定されている。コストメア接着は、正常では心筋細胞が結合織の間を滑ることなく収縮時に、細胞内で発生した収縮力を細胞外に伝達し、心臓が1つのポンプとして効率良く働くために役立つと考えられる (5)。成体から分離した心筋細胞をラミニン上にプレートすると24時間以内にコストメア接着を形成する(図 1 b)。その後、細胞は活発に細胞骨格のリモデリングをおこし細胞形態を変化させるが、その際、コストメア接着は一時消失し、細胞はゆるい **gray contact** だけで基質に接着し、リモデリングが完了すると、再びコストメア接着が形成される(6)。すなわち、強い接着はリモデリングのための細胞の自由な動きを阻害していると理解される。

心筋梗塞巣に接する残存心筋の端では心筋細胞の配列や形態変化が最も活発におこるはずであり、心筋細胞は強いコストメア接着をゆるめる必要がある。一般にTNCは反接着作用を持つと考えられているため、残存心筋断端の心筋細胞周囲に局限して発現するTNCが細胞の接着抑制しているのではないかと予想した。しかし、実際 *in vitro* ではTNCは心筋細胞接着抑制効果は示さず、むしろ、接着細胞総数は増加した。しかし、細胞接着部位をIRMで詳細に観察すると、TNCを添加した群ではコストメア接着している細胞がコントロールにくらべて有意に少なく、**gray** コンタクトで基質面とゆるく接着している細胞数が有意に多かった(図 2)。すなわち、TNCは、正常でみられる強いコストメア接着の形成を抑制し、リモデリング中の細胞を一時的にゆるく接着することが明らかになった。しかしながら、TNCを安定したコストメア接着に作用させても、変化はみられなかった。

TNC による MMP 産生の制御

mRNA レベルで、MMP2 についてはほとんど影響が見られなかったが、MMP3, 9, 13 は TNC の濃度依存性に発現が誘導されることが明らかになった。

心筋組織リモデリングにおける TNC の役割

心筋梗塞境界領域の間質細胞によって産生されたTNCは間質細胞に作用してMMPの産生を誘導し、結合織を分解して心筋細胞と結合織の接着をゆるめ残存心筋の再配置を容易にするとともに、TNC自身は収縮弛緩の物理的ストレス下で心筋細胞がはずれてしまわないよう、仮どめ接着のりの役割をしていると考えられる。

治療への応用

現在までにわれわれが明らかにした心臓におけるTNCの生物作用を図3にまとめた。接着をゆるめる、あるいはMMPの発現を誘導するのは組織構築改変のために必要な機能であると同時に、組織を脆弱化し、拡張をきたす。一方、強い収縮力を発生し癒痕治癒を促進する筋線維芽細

胞を動員するという拡張防止機能も持つ。すなわち、TNCは生体にとって、有利な作用と不利な作用の両面性をもつことになる。TNCはひとつの分子の中に、複数の生物活性部位をもち、さらに複数のレセプター結合部位を持つことが知られている。それぞれの機能ドメインの特定およびそのレセプターの同定をおこなうことにより、病態に応じて、多機能遺伝子の一部の機能だけを特異的に増強するというオーダーメイド遺伝子治療に応用可能であると思われる。

参考文献

- (1) Imanaka-Yoshida, K., Hiroe, M., Yasutomi, Y., Toyozaki, T., Tsuchiya, T., Noda, N., Maki, T., Nishikawa, T., Sakakura, T. and Yoshida, T. Tenascin-C is a Useful Marker for Disease Activity in Myocarditis. *J Pathol* 197: 387-394, 2002
- (2) 豊崎哲也、大和田英美、廣江道昭、吉田（今中）恭子、吉田利通。厚生省特定疾患 特発性心筋症調査研究班 平成12年度研究報告書 132-133, 2001
- (3) Imanaka-Yoshida, K., Hiroe, M., Nishikawa, T., Ishiyama, S., Shimojo, T., Ohta, Y., Sakakura, T., and Yoshida, T. Tenascin-C modulates adhesion of cardiomyocytes to extracellular matrix during tissue remodeling after myocardial infarction. *Lab Invest* 81:1015-1024, 2001
- (4) 吉田（今中）恭子、吉田利通、鈴木宏昌、廣江道昭。心筋組織リモデリングにおける間質の動態と生物機能。厚生省特定疾患 特発性心筋症調査研究班 平成12年度研究報告書 127-131, 2001
- (5) K.Imanaka-Yoshida. The transmission of contractility through cell adhesion. *Prog Mol Subcell Biol* 25: 21-30, 2000
- (6) K. Imanaka-Yoshida, B.A.Danowski, J.M.Sanger, and J.W.Sanger. Living adult rat cardiomyocytes in culture: Evidence for dissociation of costameric distribution of vinculin from costameric distributions of attachment. *Cell Motil. Cytoskel.* 33, 263-275, 1996.

図の説明

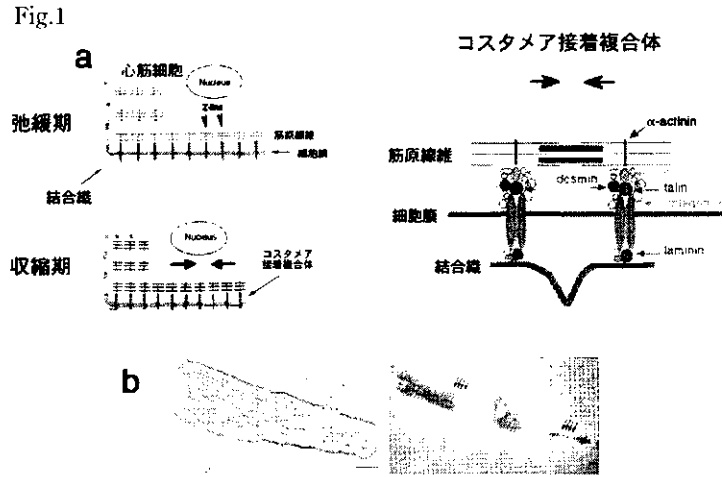


Fig.1 a. 心筋細胞と結合織のコスタメア接着複合体とそれを構成する分子群
 b. 成熱ラットから分離した心筋細胞は、Z-line に一致して縞状の dark contact を形成する (矢印)

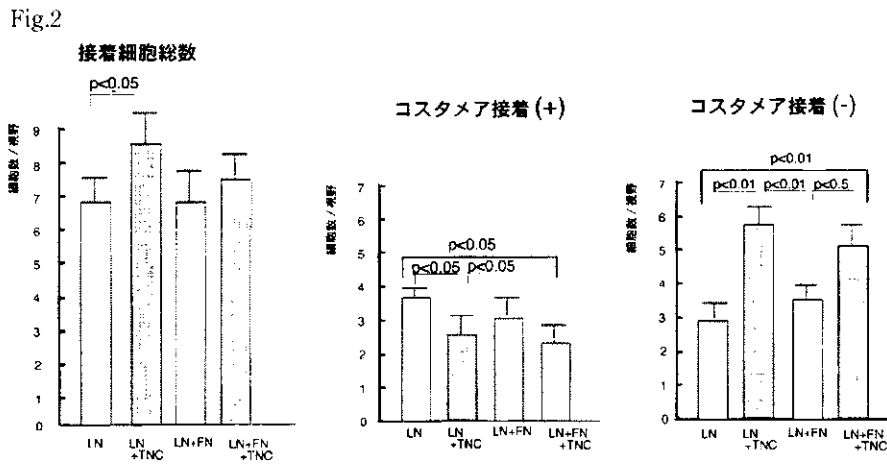


Fig.2 成熱ラット心筋細胞のそれぞれの細胞外基質に対する接着性
 LN:ラミニン、FN: ファイブロネクチン、TNC:テネイシンC

Fig.3 心臓組織リモデリングにおける TNC の機能

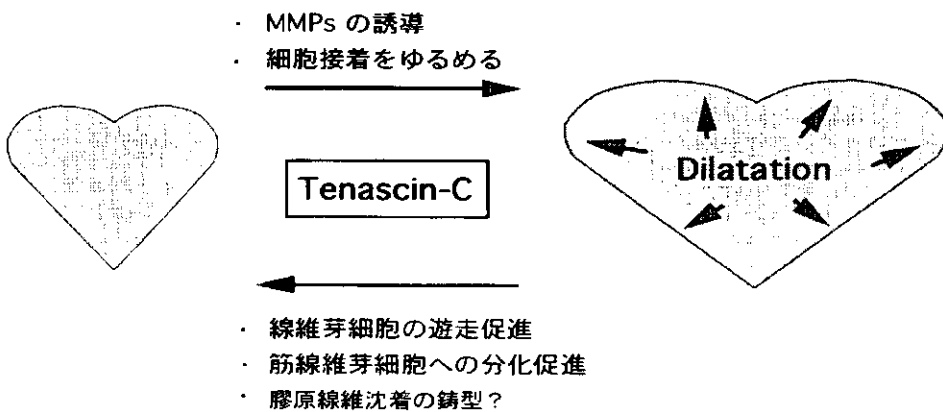


Fig.3 TNC は生体にとって、有利な作用と不利な作用の両面性をもつ

特発性心筋症調査研究班
平成13年度 第1回 特発性心筋症班会議
研究報告書

家族性肥大型心筋症の病因となる心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子変異の
日本人における特徴

新村英士、阿南隆一郎、皆越眞一、鄭 忠和
鹿児島大学医学部 第一内科

緒 言

家族性肥大型心筋症は常染色体性優性遺伝を呈する心筋疾患であり、心筋の肥大、拡張能の低下、突然死などを特徴とする。家族性肥大型心筋症の病因として心筋の収縮単位であるサルコメアを構成する蛋白の異常が指摘されており、これまで少なくとも8種類のサルコメア蛋白遺伝子の変異が家族性肥大型心筋症の病因となることが報告されている¹⁻⁹⁾。我々は心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子の変異による家族性肥大型心筋症は、遅発性で比較的予後が良いことが特徴であることを報告してきた¹⁰⁾。現在までに心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子の変異は30種類報告されており、うち24種類は挿入、欠失、あるいはスプライス部位の変異であり、ミスセンス変異は6種類報告されている^{7, 10-15)}。

心筋βミオシン重鎖遺伝子、心筋トロポニンT遺伝子など他の肥大型心筋症病因遺伝子における変異はその多くがミスセンス変異である。それに対し心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子の変異は、ミスセンス変異が比較的少ないというのが特徴である^{1, 3, 16-19)}。

本研究の目的は、新たな家族性肥大型心筋症患者の遺伝子を解析することにより家族性肥大型心筋症の病因となる心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子変異の日本人における特徴を明らかにすることである。

対象と方法

家族性肥大型心筋症の発端者39名（男性21名、女性18名、平均年齢52 ± 18歳）を対象とした。肥大型心筋症の診断は左室最大壁厚が心エコー検査で12mmを越え、高血圧、弁膜症など心肥大の原因がないものとした。

インフォームド・コンセントを得た後に家族性肥大型心筋症発端者より採血を施行した。リンパ球よりDNAを抽出し、心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子を既報の方法で直接シーケンス法により解析した¹⁰⁾。

結 果

肥大型心筋症の発端者39人中7人において7種類の新たな心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子変異を見いだした。これらはミスセンス変異 5種類と欠失変異2種類である(表1)。ミスセンス変異は家系KRではcodon 160のCGGがTGGに変異する事によりアルギニンがトリプトファンに変異(図1)、家系KPではcodon 334のGAGがAAGに変異することによりグルタミンがリジンに変異、家系KSではGGGがAGGに変異することによりcodon 507のグリシンがアルギニンに変異、家系KSではcodon 762のGTCがGACに変異することによりバリンがアスパラギン酸に変異、家系KTではACGがATGに変異することによりcodon 1046のスレオニンがメチオニンに変わる変異の計5種類である。欠失変異は家系KQではcodon 129をコードするGAAのアデニンの1塩基欠失、家系KMではcodon 945をコードするCGGのシトシンおよびグアニンの2塩基の欠失(図2)の計2種類である。

図3に、今回新たに見出した変異を既知の変異とともにミオシン結合蛋白-C遺伝子の模式図上に配置した。上段にミスセンス変異を、下段に挿入、欠失、スプライス部位、複製、ナンセンス変異を示す。挿入、欠失、スプライス部位、複製およびナンセンス変異は全てフレームシフトをおこし、早期に終了コドンが出現し、その結果正常より短縮した蛋

白が生成されるため、これらをまとめてTruncation変異とする。今回見つかったミスセンス変異はミオシン結合蛋白C遺伝子の5'末端から3'末端まで特に偏り無く存在している。今回我々が見いだした欠失変異は一つは5'末端に近く、もう一つは3'末端に近い部位に存在した。既知の変異ではTruncation変異は比較的3'末端寄りに多い傾向がある。

考 察

現在まで報告されている心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子の変異において、24種類は挿入、欠失、あるいはスプライス部位の変異であり、ミスセンス変異は6種類のみ(20% (6/30))である^{7,10-15)}。このうち22種類は欧米からの報告であり、2種類の日本からの報告もミスセンス以外の変異である⁷⁾。Truncation変異はフレームシフトを引き起こし、結果として3'末端が欠けた正常の蛋白より短い蛋白をコードする事が予想されている。ミオシン結合蛋白-Cの3'末端部分にはミオシン結合部位およびタイチン結合部位が存在し、これらの部位が欠失した短い蛋白はサルコメアの形成時にサルコメア内に組み込まれないことが報告されている¹²⁾。これに対し、ミスセンス変異は1アミノ酸の置換のみであり、3'末端の構造には影響がない変異もあると考えられる。この場合ミスセンス変異によりコードされて出来た蛋白はそのままサルコメアに組み込まれ、異常な蛋白としてサルコメアの収縮に対し何らかの影響を与える(poison peptide)事により肥大型心筋症の発症にかかわっている可能性がある。

今回、我々が行った日本人における検索ではミスセンス変異が71% (5/7)と高率に見つかった。日本人と欧米人では家族性肥大型心筋症の病因となる心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子変異の特徴が異なっている可能性が示唆され今後さらなる検討が必要である。

結 論

家族性肥大型心筋症の病因である7種類の新たな心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子変異を見いだした。心筋ミオシン結合蛋白-C遺伝子変異の特徴が日本人と欧米人とでは異なっている可能性が示唆された。

引用文献

1. Geisterfer-Lowrance AA, Kass S, Tanigawa G, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell* 1990; 62: 999-1006
2. Tanigawa G, Jarcho JA, Kass S, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: an alpha/beta cardiac myosin heavy chain hybrid gene. *Cell* 1990; 62: 991-8
3. Thierfelder L, Watkins H, MacRae C, et al. Alpha-tropomyosin and cardiac troponin T mutations cause familial hypertrophic cardiomyopathy: a disease of the sarcomere. *Cell* 1994; 77: 701-12
4. Watkins H, Conner D, Thierfelder L, et al. Mutations in the cardiac myosin binding protein-C gene on chromosome 11 cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 1995; 11: 434-7
5. Bonne G, Carrier L, Bercovici J, et al. Cardiac myosin binding protein-C gene splice acceptor site mutation is associated with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 1995; 11: 438-40
6. Poetter K, Jiang H, Hassanzadeh S, et al. Mutations in either the essential or regulatory light chains of myosin are associated with a rare myopathy in human heart and skeletal muscle. *Nat Genet* 1996; 13: 63-9
7. Kimura A, Harada H, Park JE, et al. Mutations in the cardiac troponin I gene associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Nat Genet* 1997; 16: 379-82
8. Mogensen J, Klausen IC, Pedersen AK, et al. Alpha-cardiac actin is a novel disease gene in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1999; 103: R39-43
9. Satoh M, Takahashi M, Sakamoto T, et al. Structural analysis of the titin gene in hypertrophic cardiomyopathy: identification of a novel disease gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 262: 411-7
10. Niimura H, Bachinski LL, Sangwatanaroj S, et al. Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998; 338: 1248-57
11. Carrier L, Bonne G, Bahrend E, et al. Organization and sequence of human cardiac myosin binding protein C gene (MYBPC3) and identification of mutations predicted to produce truncated proteins in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 1997; 80: 427-34
12. Rottbauer W, Gautel M, Zehelein J, et al. Novel splice donor site mutation in the cardiac myosin-binding protein-C gene in familial hypertrophic cardiomyopathy. Characterization Of cardiac transcript and protein. *J Clin Invest* 1997; 100: 475-82
13. Yu B, French JA, Carrier L, et al. Molecular pathology of familial hypertrophic cardiomyopathy caused by mutations in the cardiac myosin binding protein C gene. *J Med Genet* 1998; 35: 205-10
14. Moolman-Smook JC, Mayosi B, Brink P, et al. Identification of a new missense

- mutation in MyBP-C associated with hypertrophic cardiomyopathy. *J Med Genet* 1998; 35: 253-4
15. Richard P, Isnard R, Carrier L, et al. Double heterozygosity for mutations in the beta-myosin heavy chain and in the cardiac myosin binding protein C genes in a family with hypertrophic cardiomyopathy. *J Med Genet* 1999; 36: 542-5
 16. Watkins H, Rosenzweig A, Hwang DS, et al. Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1992; 326: 1108-14
 17. Watkins H, Thierfelder L, Hwang DS, et al. Sporadic hypertrophic cardiomyopathy due to de novo myosin mutations. *J Clin Invest* 1992; 90: 1666-71
 18. Anan R, Greve G, Thierfelder L, et al. Prognostic implications of novel beta cardiac myosin heavy chain gene mutations that cause familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1994; 93: 280-5
 19. Watkins H, McKenna WJ, Thierfelder L, et al. Mutations in the genes for cardiac troponin T and alpha-tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1995; 332: 1058-64
 20. Gautel M. Phosphorylation switches specific for the cardiac isoform of myosin binding protein-C: a modulator of cardiac contraction? *EMBO J* 1995; 14: 1952-60.

表1. 新たな心筋ミオシン結合蛋白-C 遺伝子変異

家系	変異	コドン	塩基変化	アミノ酸変化
KR	Arg160Trp	160	C510T	アルギニン→トリプトファン
KP	Glu334Lys	334	G1032A	グルタミン酸→リジン
KS	Gly507Arg	507	G1551A	グリシン→アルギニン
KU	Val762Asp	762	T2317A	バリン→アスパラギン酸
KT	Thr1046Met	1046	C3169T	スレオニン→メチオニン
KQ	del.A129	129	A418 の欠失	早期に読みとり終了
KM	del.CG945	945	C2865 & G2866 の欠失	早期に読みとり終了

塩基配列はcDNA map (X84075) による²⁰⁾。

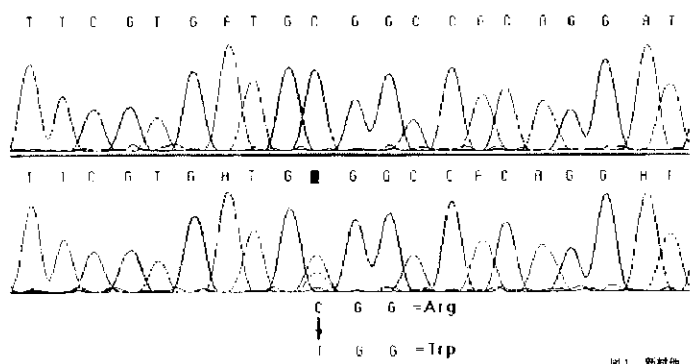


図1 新発見

図1 家系KRにおけるミスセンス変異

上段は正常コントロールのシークエンス、下段が家系KRの発端者のシークエンスである。家系KRの発端者においてはコドン160の最初のシトシンがチミンに置換しておりこれに伴ってコドン160のアルギニンがトリプトファンに置換する。

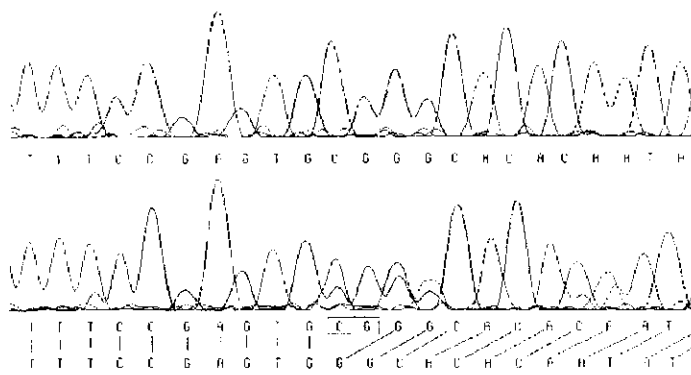
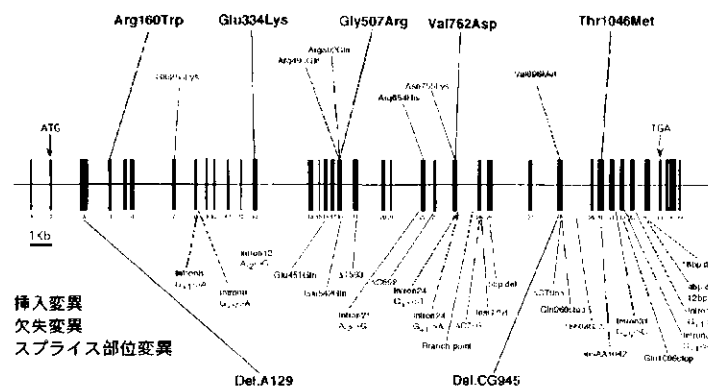


図2 新発見

図2 家系KMにおける欠失変異

上段は正常コントロールのシークエンス、下段が家系KMの発端者のシークエンスである。家系KRの発端者においては一方のアリルでコドン945のシトシン、グアニンの2塩基が欠失しておりこのためフレームシフトをおこし早期に読み取りが終了し短い蛋白をコードすることになる。

ミスセンス変異



挿入変異
欠失変異
スプライス部位変異

図3 新発見

図3 心筋ミオシン結合蛋白-C 遺伝子の構造と変異
遺伝子構造の上段にミスセンス変異を、下段に挿入、欠失、スプライス部位変異を示す¹⁹⁾。太字で示したものが今回の検索で新たに発見された変異である。

特発性心筋症調査研究班
平成13年度 第2回 特発性心筋症班会議
研究報告書

心 Fabry 病の5剖検例

竹中俊宏¹⁾、寺口博幸¹⁾、吉玉隆¹⁾、田口周平²⁾、二宮謙次郎²⁾、
吉田愛知²⁾、吉田浩己²⁾、堀之内道子³⁾、米澤 傑³⁾、鄭 忠和¹⁾

¹⁾ 鹿児島大学医学部第一内科、²⁾ 同第一病理、³⁾ 同第二病理

緒 言

Fabry 病は、リソソーム水解酵素の一つである α -galactosidase A (α -gal A) の遺伝的欠損により生ずる X 染色体劣性のスフィンゴ糖脂質代謝異常症である¹⁾。本症では、 α -gal A 活性欠損により血管の内皮細胞や平滑筋細胞をはじめ、全身臓器の細胞のリソソームに本酵素の基質であるスフィンゴ糖脂質、特に ceramidetrihexoside (CTH) が進行性に蓄積する¹⁾。典型的 Fabry 病男性患者では、幼少時から被角血管腫、四肢末端痛、低汗症、角膜混濁などの症状が出現し、さらに年齢が進むと腎臓、脳、心臓の障害を生じて死亡する¹⁾。

これに対し最近、心障害、特に左室肥大を主症状とし、典型的な症状を欠く Fabry 病男性患者が報告されている²⁻⁵⁾。これらの非典型的 Fabry 病男性患者では、心筋細胞内へのスフィンゴ糖脂質の過剰蓄積により生じた左室肥大が主症状となっている。我々は、左室肥大を有する男性患者 230 例中 7 例 (約 3%) に Fabry 病が存在したことを報告した⁶⁾。それらは全例、正常の 4-14% の血漿 α -gal A 活性が残存し、典型的 Fabry 病で認められる被角血管腫、四肢末端痛、低汗症、角膜混濁などの症状を欠く、左室肥大を主症状とする非典型的 Fabry 病であった。我々は、このような Fabry 病を心 Fabry 病と命名し、新たな疾患概念として提唱した⁷⁾。

本研究の目的は、我々の施設で剖検を施行した 5 例の心 Fabry 病の心臓および他臓器の病理学的所見を評価し、心 Fabry 病の概念の妥当性を検討することである。

対象と方法

1992 年 3 月から 2001 年 9 月までの間に当科入院中に死亡した心 Fabry 病男性患者連続 7 例のうち、剖検を施行し得た 5 例を対象とした。

家族の同意を得た後、各症例に剖検を行い、心臓、腎臓、皮膚、肝臓、

肺、脾臓、膵臓、副腎を採取し病理学的検索を行った。心臓に関しては、全例の組織を 10%ホルマリンと 2%パラフォルムアルデヒドにて固定し、切片に Hematoxyline-eosin (H.E.) 染色を行った。また、3%グルタルアルデヒド及び 2%パラフォルムアルデヒドを用いて固定した全例の電顕ブロックの厚切り切片に osmium 付加 toluidine blue (T.B.) 染色を行い評価した。さらに、同電顕ブロックをエタノールにて脱水後、プロピレンオキシドとエポキシ樹脂で包埋し、超薄切片を作成、酢酸ウラニル染色と鉛染色を行い、電顕での評価を行った。腎臓、皮膚、肝臓、肺、脾臓、膵臓、副腎については、全例 H.E.染色により評価した。

結 果

臨床所見

5 例の臨床像を表 1 に示す。5 例の死亡時年齢は 63-68 歳であり、血縁関係は認めなかった。全例が心臓死であり、症例 1 は不整脈死、残る 4 例は心不全死であった。血漿 α -gal A 活性は 0.4-1.3 nmol/hr/ml で、正常コントロール値の 5-15%と低値であった。5 例ともに最大左室壁厚 16-20 mm の左室肥大を認め、冠動脈造影所見は正常であった。蛋白尿は認めず、血清クレアチニン値は正常であった。5 例ともに典型的 Fabry 病で認める被角血管腫、四肢末端痛、低汗症、角膜混濁は認めなかった。

心臓の病理所見

5 例の心重量はそれぞれ 575 g、520 g、760 g、655 g、720 g と増加していた。両心室の肥大を認め、特に左室の肥大が著明であった。5 例ともに肉眼的に心筋内に半透明白色調の物質がびまん性に沈着しており、症例 2、3、4、5 では左室後壁心基部に限局した菲薄化を認めた (図 1)。5 例ともに冠動脈には器質的狭窄を認めなかった。

H.E.染色では、5 例ともに特に左室において心筋細胞核周囲空胞化像、心筋細胞の脱落、脂肪浸潤および間質のびまん性の線維化を認めた (図 2)。

同様の所見は右室、左房および右房でも認められたが、左室に比べ軽度であった。症例 2、3、4、5 で認めた左室後壁心基部の菲薄化部分は線維化が著明で心筋はほとんど認めず、わずかな残存心筋には高度の空胞化を認めた (図 2)。

T.B.染色では H.E.染色で認めた空胞化部分にオスミウム親和性強陽性物質の蓄積を認め、Fabry 病で蓄積する CTH の染色性と一致した (図 2)。また蓄積の程度は部位により差を認め、左心系の方が右心系に比較して高度であった。

電顕では、5 例ともに心筋細胞の細胞質に Fabry 病に特徴的な年輪状封入体の蓄積を認めた (図 3)。

我々が検索した限りにおいて、H.E.染色での空胞化は冠動脈や心筋内細動脈には認めず、さらに電顕にて心筋内毛細血管内皮細胞への年輪状封入体の蓄積は認めなかった (図 4)。

他臓器の病理所見

腎臓においては、肉眼的所見で両側腎の硬化及び萎縮が全例に認められ、左心不全からの末梢循環不全によると考えられた。組織学的には 5 例ともに、腎糸球体の血管内皮やメサングウム細胞、尿細管いずれの成分にも H.E.染色での空胞化は認めなかった。

皮膚においては 5 例ともに、表皮、真皮の汗腺分泌上皮、血管内皮細胞、線維芽細胞のいずれの成分にも空胞化は認めなかった。

肝臓における肉眼所見では、いわゆる "にくづく肝" 様のうっ血と硬化像を全例に認めた。組織学的には、5 例ともに肝細胞、類洞内皮細胞、クッパー細胞いずれにも空胞化は認めなかった。

肺においては全例に両側肺の重量増加と、肉眼所見でのうっ血と一部出血を認めた。組織学的には肺胞腔の虚脱と出血、ヘモジデリン貪食細胞の肺胞内浸潤等の肺うっ血を示す所見は著明であったが、5 例ともに Fabry 病に特徴的な空胞化は認めなかった。

脾臓、膵臓、副腎についても検索を行ったが、そのいずれにも空胞化は

認めなかった。

考 察

左室肥大について、これまでに報告された心 Fabry 病男性患者はいずれも左室肥大を呈していた^{2,5)}。典型的 Fabry 病男性患者では、Bass ら⁸⁾が左室肥大の多数例を、Colucci ら⁹⁾は非対称性中隔肥大、左室流出路狭窄を認めた 1 例を報告している。本研究の心 Fabry 病 5 例では、これまでの報告と同様に中等度から高度の左室肥大を認めた。Fabry 病では心筋細胞にスフィンゴ糖脂質が蓄積している¹⁾。この蓄積は進行性と考えられており、その結果左室肥大が生じると推測されている^{8, 10, 11)}。本研究の心 Fabry 病でも、心筋細胞に蓄積が認められており、この蓄積により左室肥大が生じたものと考えられる。

本研究の心 Fabry 病 5 例中 4 例に、剖検で肉眼的に確認された左室後壁心基部の局所的な菲薄化を認めた。これまでに心 Fabry 病を含む Fabry 病で左室後壁心基部の局所的な菲薄化を認めたとする報告はない。病理学的には、同部位においては心筋細胞の脱落と著明な線維化を認めた。この機序として、全例で冠動脈に有意狭窄は認めず、さらに冠動脈や心筋内毛細血管内皮細胞に蓄積を認めなかったことから、心筋虚血によるものとは考えにくい。同様の左室後壁心基部に限局する菲薄化の所見は Duchenne 型筋ジストロフィーでも報告されている¹²⁾。この機序として Cziner ら¹²⁾は心筋の構築が左室壁の部位により異なるためであるとしている。すなわち、心筋線維の走行が前壁側はネット状であるのに対して後壁心基部は平行状になっており、この心筋の構築上の違いにより後壁心基部が圧負荷、容量負荷に対して脆弱となり、同部位の器質的変化を来すと推定している。本研究の心 Fabry 病においても、同様の機序で左室後壁心基部に局所的な菲薄化が生じた可能性がある。

これまでの心 Fabry 病のうち、3 例の心臓の病理学的検討では、冠動脈または心筋内の毛細血管内皮細胞への蓄積は認めていない^{2, 3, 5)}。これに対

し、典型的 Fabry 病では冠動脈、心筋内細動脈の内皮細胞や平滑筋細胞、毛細血管内皮細胞への蓄積を認めることが報告されている^{9, 13-17)}。本研究の心 Fabry 病 5 例では、冠動脈造影および冠動脈の肉眼病理所見において狭窄は認めなかった。さらに我々が検索した限りでは、これまでの心 Fabry 病での報告と同様に光顕で冠動脈や心筋内細動脈に蓄積所見はなく、また電顕で心筋内毛細血管内皮細胞への蓄積も認めなかった。さらに、我々が検索した限りにおいては腎臓、皮膚、肝臓、肺、脾臓、膵臓、副腎にも蓄積は認めなかった。

我々は、臨床的に心障害、特に左室肥大を主症状とし、典型的な症状を欠く Fabry 病を心 Fabry 病として提唱した⁷⁾。本研究により、心 Fabry 病においてスフィンゴ糖脂質の蓄積は心臓では心筋細胞にのみ認め、冠動脈、心筋内細動脈、心筋内毛細血管内皮細胞には認めず、さらに他臓器にも蓄積を認めなかったことから、心 Fabry 病の疾患概念の妥当性が病理学的にも明らかとなった。

引用文献

1. Desnick RJ, Ioannou YA, Eng CM. α -galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 3733-74.
2. Elleder M, Bradova V, Smid F, Budesinsky M, Harzer K, Kustermann-Kuhn B, et al. Cardiocyte storage and hypertrophy as a sole manifestation of Fabry s disease: report on a case simulating hypertrophic non-obstructive cardiomyopathy. *Virchow Arch A Pathol Anat Histopathol* 1990; 417: 449-55.
3. Ogawa K, Sugamata K, Funamoto N, Abe T, Sato T, Nagashima K, et al. Restricted accumulation of globotriaosylceramide in the hearts of atypical cases of Fabry s disease. *Hum Pathol* 1990; 21: 1067-73.
4. Nagao Y, Nakashima H, Fukuhara Y, Shimmoto M, Oshima A, Ikari Y, et al. Hypertrophic cardiomyopathy in late-onset variant of Fabry disease with high residual activity of α -galactosidase A. *Clin Genet* 1991; 39: 233-7.
5. von Scheidt W, Eng CM, Fitzmaurice TF, Erdmann E, Hubner G, Olsen EGJ, et al. An atypical variant of Fabry s disease with manifestations confined to the myocardium. *N Engl J Med* 1991; 324: 395-9.
6. Nakao S, Takenaka T, Maeda M, Kodama C, Tanaka A, Tahara M, et al. An atypical variant of Fabry s disease in men with left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1995; 333: 288-93.
7. Yoshitama T, Nakao S, Takenaka T, Teraguchi T, Sasaki T, Kadama C, Tanaka A, Kisanuki A, Tei C. Molecular genetic, biochemical and clinical studies in three families with cardiac Fabry disease. *Am J Cardiol* 2001; 87: 71-5.
8. Bass JL, Shrivastava S, Grabowski GA, Desnick RJ, Moller JH. The M-mode echocardiogram in Fabry s disease. *Am Heart J* 1980; 100: 807-12.
9. Colucci WS, Lorell BH, Schoen FJ, Warhol MJ, Grossman W. Hypertrophic obstructive cardiomyopathy due to Fabry s disease. *N Engl J Med* 1982; 307: 926-8.
10. Goldman ME, Cantor R, Schwartz MF, Baker M, Desnick RJ.