

- ischemia. 2008 La Jolla-Rome-Yamaguchi-Seoul Conference on Cardiovascular Research -Frontiers in Cardiovascular Cellular and Molecular Therapeutics-, October 24-26, 2008, Seoul, Korea
- Mizoguchi M, Tahara N, Yasukawa H, Yamagishi S, Ishibashi M, Imaizumi T: Factors for inflammation of carotid plaque may be different from those for carotid plaque formation. The American Heart Association, The 81<sup>th</sup> Scientific Sessions, November 8-12, 2008, New Orleans, USA
  - Futamata N, Yasukawa N, Oba T, Mawatari K, Nagata T, Fukui D, Hoshijima M, Imaizumi T: Cardiac-specific SOCS3 deficient mice shows resistance to lipopolysaccharide-induced left ventricular dysfunction. The American Heart Association, The 81<sup>th</sup> Scientific Sessions, November 8-12, 2008, New Orleans, USA
  - Oba T, Yasukawa H, Sasaki K, Futamata N, Mawatari K, Fukui D, Sugi Y, Hoshijima M, Yajima T, Knowlton KU, Imaizumi T: Cardiac-specific deletion of SOCS3 improved cardiac function and survival after acute myocardial infarction in mice. The American Heart Association, The 81<sup>th</sup> Scientific Sessions, November 8-12, 2008, New Orleans, USA
  - Nagamoto Y, Yoshida T, Inage T, Gondo T, Fukuda Y, Takii E, Imaizumi T: The superiority of atrioventricular node ablation for patients with brady-tachy syndrome and paroxysmal atrial fibrillation who are necessary to undergo PMI for QOL and cardiac function compared with antiarrhythmic drugs. 1st Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, November 27-29, 2008, Singapore, Singapore
  - 今泉 勉: 高齢者心不全の診断と治療. 第37回日本内科学会九州支部生涯教育講演会(2008年1月26日: 福岡)
  - Suga T, Iso T, Shimizu T, Tanaka T, Yamagishi S, Arai M, Imaizumi T, Kurabayashi M: Receptor for advanced-glycation end products (RAGE) induces Notch-Msx2-dependent osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: Future Research Session 06 'Novel Mechanisms in Atherosclerosis' (2008年3月28-30日: 福岡)
  - Matsubara H, Matoba S, Imaizumi T, Murohara T, Saito Y, Fukushima M, TACT Investigators: Therapeutic angiogenesis for patients with chronic limb ischemia by autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells -3-year results of the TACT Trial, long term prognosis, efficacy and safety-. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: Late Breaking Clinical Trials I(2008年3月28-30日: 福岡)
  - Enomoto M, Adachi H, Satoh A, Fukami A, Otsuka M, Kumagai S, Furuki K, Nanjoh Y, Imaizumi T: Inflammatory markers and all-cause death in a general population. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: 一般演題(2008年3月28-30日: 福岡)
  - Fukami A, Adachi H, Nanjo Y, Furuki K, Kumagai S, Otsuka M, Satoh A, Enomoto M, Imaizumi T: MCP-1 may be a key factor for cardio-renal syndrome. Cross sectional study in a general cohort. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: 一般演題(2008年3月28-0日: 福岡)
  - Nanjo Y, Adachi H, Furuki K, Kumagai S, Otsuka M, Fukami A, Satoh A, Enomoto M, Imaizumi T: Fasting plasma ghrelin levels are inversely associated with the metabolic syndrome and PAI-1 in a general population. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: 一般演題(2008年3月28-30日: 福岡)
  - Nagamoto Y, Yoshida T, Inage T, Takeuchi T, Gondoh T, Fukuda Y, Imaizumi T: Atrial electrical activity is abnormal in Brugada syndrome. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: 一般演題(2008年3月28-30日: 福岡)
  - Gondo T, Yoshida T, Inage T, Takeuchi T, Nagamoto Y, Fukuda Y, Imaizumi T: How to avoid development of AV block during radio-frequency catheter ablation. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: 一般演題(2008年3月28-30日: 福岡)
  - Fukuda Y, Yoshida T, Inage T, Takeuchi T, Nagamoto Y, Gondoh T, Imaizumi T: Long-term results of maze procedure on cardiac function after mitral valve repair. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: 一般演題(2008年3月28-30日: 福岡)
  - Kudo H, Kai H, Takayama N, Mori T, Takemiya K, Kajimoto H, Ikeda A, Yasuoka S, Hirooka Y, Imaizumi T: Large blood pressure variability superimposed on sustained hypertension aggravates cardiac remodeling and function via angiotensin II-mediated inflammation. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: 一般演題(2008年3月28-30日: 福岡)
  - Kajimoto H, Nakanishi T, Kai H, Imaizumi T, Archer S: Immaturity of mitochondria-derived reactive oxygen species generation and Rho-kinase activation in preterm rabbit ductus arteriosus. 第72回日本循環器学会総会・学術集会: 一般演題(2008年3月28-30日: 福岡)
  - Yasuoka S, Kai H, Koga M, Ikeda A, Kajimoto H, Imaizumi T: Postnatal blocking of interferon- $\gamma$  regresses and destabilizes advanced plaque by inhibiting CD40/CD40 ligand pathway and



- inflammation in apoE-knockout mice. 第72回日本循環器学会総会・学術集会：一般演題(2008年3月28?30日：福岡)
- Takayama N, Kai H, Kudoh H, Mori T, Fukui D, Takemiya K, Ikeda A, Kajimoto H, Koga M, Imaizumi T : Simvastatin attenuates large blood pressure variability-induced aggravation of cardiac hypertrophy by inhibiting ERK and Rho A pathways. 第72回日本循環器学会総会・学術集会：一般演題(2008年3月28-30日：福岡)
  - Mizuta Y, Kai H, Tahara N, Osada K, Mizoguchi M, Imaizumi T : Valsartan attenuated myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in hypertensive patients, preferentially those with greater myocardial fibrosis. 第72回日本循環器学会総会・学術集会：一般演題(2008年3月28-30日：福岡)
  - Katsuki Y, Sasaki K, Katsuda Y, Toyama Y, Ohtsuka M, Koiwaya H, Imaizumi T : Neovascularization capacity of endothelial progenitor cells (EPC) in patients with buerger's disease. 第72回日本循環器学会総会・学術集会：一般演題(2008年3月28-30日：福岡)
  - Matsui T, Yamagishi S, Nakamura K, Imaizumi T : Administration of PEDF could improve insulin resistance in OLETF rats. 第72回日本循環器学会総会・学術集会：一般演題(2008年3月28-0日：福岡)
  - 榎本美佳, 足達 寿, 今泉 勉 : 全死亡と炎症指標との関係—一般住民における縦断研究から—。第105回日本内科学会講演会：一般演題(2008年4月11~13日：東京)
  - 中村実生, 武宮清子, 稲毛智仁, 杉 雄介, 鬼塚一郎, 甲斐久史, 今泉 勉 : 偽腔開存型腹部大動脈解離を合併した大動脈炎症候群の一例。第281回日本内科学会九州地方会：一般演題(2008年5月10日：宮崎)
  - 稲毛智仁, 吉田輝久, 永元康嗣, 榎藤健樹, 福田裕次郎, 今泉 勉 : 心臓再同期療法後の心室性不整脈に関する検討。第23回日本不整脈学会学術大会：一般演題(2008年5月31日~6月2日：横浜)
  - 福田裕次郎, 吉田輝久, 稲毛智仁, 竹内智宏, 永元康嗣, 榎藤健樹, 今泉 勉 : HERG遺伝子に新たなミスセンス変異が発見された先天性QT延長症候群の1家系。第23回日本不整脈学会学術大会：一般演題(2008年5月31日~6月2日：横浜)
  - 松本 学, 大賀雅信, 稲毛智仁, 今泉 勉 : 予防的ICD植込み後5年目で初めて心室細動に対して作動した家族性拡張型心筋症の1例。第23回日本不整脈学会学術大会：一般演題(2008年5月31日~6月2日：横浜)
  - Katsuki Y, Sasaki K, Katsuda Y, Toyama Y, Ohtsuka M, Koiwaya H, Imaizumi T : Neovascularization capacity of endothelial progenitor cells (EPC) in patients with Buerger's disease. 第104回日本循環器学会九州地方会：一般演題(2008年6月28日：鹿児島)
  - 甲斐久史, 田原宣広, 今泉 勉 : 動脈硬化ブレーク活動性の新しい評価法?FDG-PET/CT法による検討。第17回日本心血管インターベンション学会学術集会：シンポジウム2“急性冠症候群に対する予防的診断体系の構築に向けて(招待)”(2008年7月3-5日：名古屋)
  - 翁 徳仁, 佐藤 晃, 藤山友樹, 大村治也, 新田良和, 足達 寿, 竹内智宏, 大内田昌直, 今泉 勉, 坂本照夫 : 急性冠症候群との鑑別が困難であった急性胆嚢炎の一例。第18回日本集中治療学会九州地方会：一般演題(2008年7月5日：熊本)
  - 藤山友樹, 佐藤 晃, 翁 徳仁, 大村治也, 新田良和, 坂本照夫, 今泉 勉 : 高度左心機能不全を合併し急速な転帰をたどった多発性骨髄腫の1症例。第282回日本内科学会九州地方会：一般演題(2008年8月23日：沖縄)
  - 新田良和, 武宮清子, 永田 剛, 外山康之, 大塚昌紀, 小岩屋宏, 青木良裕, 澤田健太郎, 甲斐久史, 今泉 勉 : 急速に壊死が進行し、救済しえなかったCalciphylaxisの一例。第282回日本内科学会九州地方会：一般演題(2008年8月23日：沖縄)
  - 外山康之, 横山晋二, 光武良亮, 仲吉孝晴, 大塚昌紀, 小岩屋宏, 香月与志夫, 佐々木健一郎, 上野高史, 今泉 勉 : 小血管の急性心筋梗塞に対する治療成績はBare metal stentで十分か?第5回日本心血管カテーテル治療学会九州地方会・第15回日本心血管インターベンション学会九州地方会平成20年度九州合同地方会：一般演題(2008年8月29~30日：佐世保)
  - 仲吉孝晴, 佐々木健一郎, 金谷誠司, 横山晋二, 香月与志夫, 外山康之, 大塚昌紀, 小岩屋宏, 光武良亮, 上野高史, 今泉 勉 : 閉塞した人工血管のPTAにより加療したASOの一例。第5回日本心血管カテーテル治療学会九州地方会・第15回日本心血管インターベンション学会九州地方会平成20年度九州合同地方会：一般演題(2008年8月29~30日：佐世保)
  - 甲斐久史, 今泉 勉 : バルサルタン長期投与は高血圧心の線維化を減少させ拡張能を改善する—心エコー法を用いた検討—。第56回日本心臓病学会学術集会：一般演題(2008年9月8-10日：東京)
  - 武宮清子, 甲斐久史, 安川秀雄, 今泉 勉 : 肺高血圧モデルラットにおける間葉系幹細胞をベクターとしたプロスタサイクリン遺伝子治療。第56回日本心臓病学会学術集会：一般演題(2008年9月8?10日：東京)
  - 水田吉彦, 甲斐久史, 溝口ミノリ, 今泉 勉 :

- バルサルタン長期投与は高血圧心における心筋線維化を減弱し拡張能を改善する—心エコー法を用いた検討—。第31回日本高血圧学会総会：一般演題(2008年10月9—11日：札幌)
- ・池田理望, 甲斐久史, 安岡 逸, 梶本英美, 今泉 勉：レーザーマイクロダイセクション法を用いた心筋構成細胞の選択的遺伝子発現解析法の開発。第31回日本高血圧学会総会：一般演題(2008年10月9—11日：札幌)
  - ・翁 徳仁, 佐藤 晃, 藤山友樹, 大村治也, 新田良和, 足達 寿, 竹内智宏, 大内田昌直, 坂本照夫, 今泉 勉：血圧コントロールによる保存的加療を行なった急性大動脈解離において、CRP測定は入院中の心血管イベントの予測因子となり得るか？第31回日本高血圧学会総会：一般演題(2008年10月9—11日：札幌)
  - ・榎本美佳, 足達 寿, 佐藤 晃, 深水亜子, 大塚麻樹, 熊谷俊一, 古木久美子, 南條泰輝, 今泉 勉：LDL-C/HDL-C比は動脈硬化進展の精密な予知因子である—一般住民検診における8年間におよぶ縦断研究から—。第31回日本高血圧学会総会：一般演題(2008年10月9—11日：札幌)
  - ・深水亜子, 足達 寿, 榎本美佳, 熊谷俊一, 大塚麻樹, 佐藤 晃, 古木久美子, 南條泰輝, 今泉 勉：血清High Mobility Group-1 B Box (HMGB1)は、subclinical atherosclerosisに関連するか？—一般住民を対象とした疫学的検討—。第31回日本高血圧学会総会：一般演題(2008年10月9—11日：札幌)
  - ・熊谷俊一, 足達 寿, 榎本美佳, 深水亜子, 大塚麻樹, 佐藤 晃, 古木久美子, 南條泰輝, 今泉 勉：血漿エンドセリン-1は高血圧進展の予知因子となりうるか？—7年間の追跡研究の結果より—。第31回日本高血圧学会総会：一般演題(2008年10月9—11日：札幌)
  - ・南條泰輝, 足達 寿, 榎本美佳, 深水亜子, 大塚麻樹, 熊谷俊一, 佐藤 晃, 古木久美子, 今泉 勉：血漿グレリン値はインスリン抵抗性と関連するか？—一般住民検診における疫学的検討—。第31回日本高血圧学会総会：一般演題(2008年10月9—11日：札幌)
  - ・翁 徳仁, 佐藤 晃, 藤山友樹, 大村治也, 新田良和, 足達 寿, 竹内智宏, 大内田昌直, 今

泉 勉, 坂本照夫：急性大動脈解離のCRPは入院中の心血管イベントの予測因子となり得るか？第36回日本救急医学会総会：一般演題(2008年10月13—15日：札幌)

- ・Yasukawa H, Imaizumi T: Negative regulation of JAK signaling and heart failure. 第12回日本心不全学会学術集会：Symposium2 “炎症と免疫からみた心不全”(2008年10月16—18日：東京)
- ・Mizuta Y, Kai H, Mizoguchi M, Imaizumi T: Long-term treatment with valsartan attenuates myocardial fibrosis and improves diastolic dysfunction in hypertensive patients—The echocardiographic assessment—. 第12回日本心不全学会学術集会：一般演題(2008年10月16—18日：東京)
- ・大淵 綾, 工藤博司, 堀 賢介, 本多亮博, 福井大介, 香月与志夫, 上田集宣, 金谷誠司, 甲斐久史, 今泉 勉：著明な心嚢液をきっかけに診断された若年性全身性エリトマトーデス(SLE)の一例。第283回日本内科学会九州地方会：一般演題(2008年11月16日：熊本)
- ・Toyama Y, Yokoyama S, Nakayoshi T, Mitsutake Y, Koiwaya H, Ootsuka M, Katsuki Y, Sasaki K, Kanaya S, Ueno T, Imaizumi T: Bare metal stent implantation for small vessel in patients with acute myocardial infarction. 第8回日本心血管カテーテル治療学会：一般演題(2008年11月24日：京都)
- ・徳永泰行, 香月与志夫, 上田集宣, 佐々木健一郎, 横山晋二, 金谷誠司, 甲斐久史, 上野高史, 新山修平, 今泉 勉：急性心筋梗塞を合併した感染性心内膜炎の2症例。第105回日本循環器学会九州地方会：一般演題(2008年12月6日：熊本)
- ・吉村彩子, 金谷誠司, 香月与志夫, 上田集宣, 熊谷俊一, 溝口ミノリ, 姉川敬裕, 三池太郎, 甲斐久史, 福永周司, 青柳成明, 今泉 勉：高血圧治療経過中に偶然発覚した右室原発粘液種の一例。第105回日本循環器学会九州地方会：一般演題(2008年12月6日：熊本)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。



## 特発性心筋症に関する調査研究

—慢性腎不全合併心不全(心腎連関)モデルの作成と解析:その病態メカニズムと治療法の解明にむけて—  
研究分担者: 砂川 賢二(九州大学大学院医学研究院循環器内科学教授)

＜研究要旨＞心筋症は、最新の医療・医学を駆使しても依然循環器疾患における予後不良な疾患群である。心筋症の病態は、分子生物学や家系解析などによる遺伝解析の進展により、心筋細胞を構成する構造蛋白、チャネル蛋白、Caハンドリング蛋白などによる機能低下に起因することが一部明らかになってきたが、未だその病態には、まだ不明な点が多々あるのが現状である。本研究班においては、(1)全体研究、(2)サブグループ研究、(3)個別研究という3段階のレベルで研究を進めていくこととした。(1)全体研究は、前班研究の調査研究であるCCMM研究を引き続き進め、現時点における心筋症の現状を調査することとした。(2)サブグループ研究としては、本研究班を心筋症・心不全ネットワークとして捉え、心筋症における新たな課題に対して、サブグループを構成し、研究を進める体制を新たに構築した。(3)個別研究は、心筋症に関する各班員の先端的臨床・基礎研究を進めていくこととした。これらの複合的研究をもとに、心筋症に対する新たな診断・治療法の開発を目指す。

### A. 研究目的(図1)

Stage 3以降の慢性腎不全(CKD)患者のうち、300万人以上が心腎連関に関与する心腎連関症例あるいはその予備軍と考えられ、CKD患者の中でも特に再入院率、透析以降率が高くなる原因である。これまで、慢性腎不全単独・慢性心不全単独については、それぞれの発症、病態増悪に関して種々の観点から研究が進められており、その分子メカニズムが明らかにさせつつあるが、心腎連関については、これまで適切なモデル動物がないことが原因で、それぞれの重症度に応じて臨床の現場で心臓、腎臓に関するこれまでのエビデンスに基づいて治療が行われてきているのが現状である。本研究では、慢性腎不全合併心不全マウスを作成し、その病態解析を行うことを目的とした。



図1

### B. 研究方法

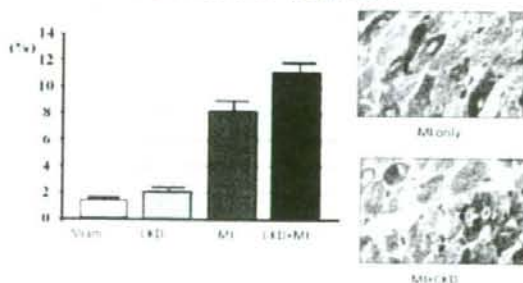
マウスに5/6腎摘を作成し、慢性腎不全モデルを作成した。4週間経過したのちに心筋梗塞を作成し、さらに4週間経過したものをCKD-HFマウスと

し、Sham-sham(Sham)、CKD-sham(CKD)、Sham-HF(HF)、CKD-HFマウスの4群において解析を行った(各n=16)。

### C. 研究結果

4群間で血圧、脈拍に有意差を認めなかった。CKD群は、Sham群と比し有意なBUN、Crの上昇および貧血を有し、(BUN:  $41.7 \pm 2.3$  vs  $74.3 \pm 6.4$  mg/dL,  $P < 0.01$ , Cr:  $0.12 \pm 0.03$  vs  $0.34 \pm 0.04$  mg/dL,  $P < 0.01$ , Hb  $13.6 \pm 0.3$  vs  $11.2 \pm 0.3$  g/dL,  $P < 0.05$ )。CKD-HF群およびHF群においては、血圧、脈拍および心エコー上のLVDdに有意差なかった。HF群に比してCKD-HF群では、HF群と比し、非梗塞部心重量の増加( $4.1 \pm 0.1$  vs  $5.4 \pm 0.2$  mg/g BW,  $P < 0.01$ )、左室拡張末期圧のさらなる上昇( $10.2 \pm 1.0$  vs  $15.4 \pm 1.8$  mmHg,  $P < 0.05$ )、組織学的なコラーゲン分画の増加( $8.1 \pm 0.8$  vs  $11.1 \pm 0.1$  %,  $P < 0.05$ )、心筋細胞の肥大( $320 \pm 8$  vs  $354 \pm 11$   $\mu\text{m}^2$ ,  $P < 0.05$ )を有意にみとめた。CKD合併により、心不全の予後は不良であった(図2)。

図2. 非梗塞部心筋の繊維化(コラーゲン)は、腎不全合併でより顕著となる



#### D. 考察・結論(図3)

CKDの存在により、心筋梗塞後の心不全において血行動態ならびに心収縮力は不変であったが、リモデリングを促進し、拡張能が低下し、死亡率が増加することが示された。本モデルは、これまでに示唆されている、腎不全に伴う体液量増大、それに伴う圧・容量負荷が原因の心不全増悪というより、何らかの神経液性因子による左室リモデリングの促進が示唆される。今後、既存および新規の薬剤を用いて治療的介入を行うことで、メカニズムの解明と治療法の確立が可能となると考えられる。

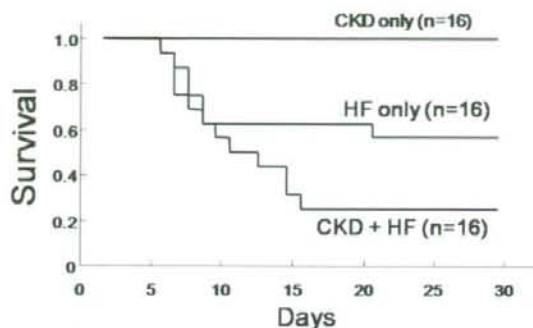


図 3

#### E. 健康危険情報

なし。

#### F. 研究発表

##### 1) 論文発表

- 井手友美, 砂川賢二. 透析患者におけるレドックス制御. 第3回透析医のための血管障害研究会, 平成20年10月21日, 福岡
  - 井上敬測, 井手友美, 田中敬士, 藤崎毅一郎, 鶴谷和彦, 砂川賢二. 心腎連関モデルの作成; その病態メカニズムと治療法の解明にむけて. 第30回心筋生研研究会, 平成20年11月28日-29日, 三重大学
  - American Heart Association Annual Meeting 2008, November 8-12, 2008, New Orleans, Louisiana
  - Ide T, Yamato M, Inoue T, Yoshida M, Tsutsui H, Kang D, Sunagawa K. Mitochondrial DNA as a regulator of cellular redox systems. The International Symposium on Lipid Peroxidation. Nov. 15-17, 2008, Karuizawa, Nagano
  - Tomomi Ide, Takahiro Inoue, Masayoshi Yoshida, Dongchon Kan, Anu Suomalainen, Hiroyuki Tsutsui, Kenji Sunagawa. A novel strategy for the treatment of cardiac remodeling by modulating mitochondrial DNA. 第25回ISHR日本部会, Dec. 5-6, 2008, Yokohama
- ##### 2) 学会発表
- Kimura S, Egashira K, Chen L, Nakano K, Iwata E,

Miyagawa M, Tsujimoto H, Hara K, Morishita R, Sueishi K, Tominaga R, Sunagawa K. Nanoparticle-Mediated Delivery of Nuclear Factor  $\kappa$ B Decoy Into Lungs Ameliorates Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension. Hypertension, 2009 (in press)

- Ito K, Hirooka Y, Sunagawa K. Acquisition of Brain Na Sensitivity Contributes to Salt-Induced Sympathoexcitation and Cardiac Dysfunction in Mice With Pressure Overload. Circ Res, 2009 (in press)
- Tian Q, Miyazaki R, Ichiki T, Imayama I, Inanaga K, Ohtsubo H, Yano K, Takeda K, Sunagawa K. Inhibition of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ -Induced Interleukin-6 Expression by Telmisartan Through Cross-Talk of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  With Nuclear Factor  $\kappa$ B and CCAAT/Enhancer-Binding Protein- $\beta$ . Hypertension, 2009 (in press)
- Hiasa K, Takemoto M, Matsukawa R, Matoba T, Kuga T, Sunagawa K. Chest pain without significant coronary stenosis after implantation of sirolimus-eluting stents. Intern Med 48: 213-7, 2009
- Koga J, Matoba T, Egashira K, Kubo M, Miyagawa M, Iwata E, Sueishi K, Shibuya M, Sunagawa K. Soluble Flt-1 gene transfer ameliorates neointima formation after wire injury in flt-1 tyrosine kinase-deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 29: 458-64, 2009.
- Inoue T, Ide T, Yamato M, Yoshida M, Tsutsumi T, Andou M, Utsumi H, Tsutsui H, Sunagawa K. Time-dependent changes of myocardial and systemic oxidative stress are dissociated after myocardial infarction. Free Radic Res 43:37-46, 2009
- Koga Y, Hirooka Y, Araki S, Nozoe M, Kishi T, Sunagawa K. High salt intake enhances blood pressure increase during development of hypertension via oxidative stress in rostral ventrolateral medulla of spontaneously hypertensive rats. Hypertens Res 31(11): 2075-83, 2008
- Konno S, Hirooka Y, Araki S, Koga Y, Kishi T, Sunagawa K. Azelnidipine decreases sympathetic nerve activity via antioxidant effect in the rostral ventrolateral medulla of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol 52(6):555-60, 2008
- Koga J, Egashira K, Matoba T, Kubo M, Ihara Y, Iwai M, Horiuchi M, Sunagawa K. Essential role of angiotensin II type 1a receptors in the host vascular wall, but not the bone marrow, in the pathogenesis of angiotensin II-induced atherosclerosis. Hypertens Res 31:1791-800, 2008
- Nozoe M, Hirooka Y, Koga Y, Araki S, Konno S,



- Kishi T, Ide T, Sunagawa K. Mitochondria-derived reactive oxygen species mediate sympathoexcitation induced by angiotensin II in the rostral ventrolateral medulla. *J Hypertens* 26:2176-84, 2008
- Kimura S, Egashira K, Nakano K, Iwata E, Miyagawa M, Tsujimoto H, Hara K, Kawashima Y, Tominaga R, Sunagawa K. Local delivery of imatinib mesylate (STI571)-incorporated nanoparticle ex vivo suppresses vein graft neointima formation. *Circulation* 118:S65-70, 2008
  - Ito K, Kimura Y, Hirooka Y, Sagara Y, Sunagawa K. Activation of Rho-kinase in the brainstem enhances sympathetic drive in mice with heart failure. *Auton Neurosci* 142:77-81, 2008
  - Hayashi Y, Yoshida M, Yamato M, Ide T, Wu Z, Ochi-Shindou M, Kanki T, Kang D, Sunagawa K, Tsutsui H, Nakanishi H. Reverse of age-dependent memory impairment and mitochondrial DNA damage in microglia by an overexpression of human mitochondrial transcription factor a in mice. *J Neurosci* 28:8624-34, 2008
  - Nishi J, Minamino T, Miyauchi H, Nojima A, Tateno K, Okada S, Orimo M, Moriya J, Fong GH, Sunagawa K, Shibuya M, Komuro I. Vascular endothelial growth factor receptor-1 regulates postnatal angiogenesis through inhibition of the excessive activation of Akt. *Circ Res* 103:261-8, 2008
  - Imayama I, Ichiki T, Patton D, Inanaga K, Miyazaki R, Ohtsubo H, Tian Q, Yano K, Sunagawa K. Liver X receptor activator downregulates angiotensin II type 1 receptor expression through dephosphorylation of Sp1. *Hypertension* 51:1631-6, 2008
  - Hirooka Y, Kimura Y, Sagara Y, Ito K, Sunagawa K. Effects of valsartan or amlodipine on endothelial function and oxidative stress after one year follow-up in patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 30:267-76, 2008
  - Miyazaki R, Ichiki T, Hashimoto T, Inanaga K, Imayama I, Sadoshima J, Sunagawa K. SIRT1, a longevity gene, downregulates angiotensin II type 1 receptor expression in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28:1263-9, 2008
  - Tsutsumi T, Ide T, Yamato M, Andou M, Shiba T, Utsumi H, Sunagawa K. Effect of anaesthesia-induced alterations in haemodynamics on in vivo kinetics of nitroxyl probes in electron spin resonance spectroscopy. *Free Radic Res* 42:305-11, 2008
  - Kishi T, Hirooka Y, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Atorvastatin reduces oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens* 30:3-11, 2008
  - Ohtsubo H, Ichiki T, Imayama I, Ono H, Fukuyama K, Hashiguchi Y, Sadoshima J, Sunagawa K. Involvement of Mst1 in tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 367:474-80, 2008
  - Tsutsumi T, Ide T, Yamato M, Kudou W, Andou M, Hirooka Y, Utsumi H, Tsutsui H, Sunagawa K. Modulation of the myocardial redox state by vagal nerve stimulation after experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 77:713-21, 2008
  - Nakano K, Egashira K, Ohtani K, Gang Z, Iwata E, Miyagawa M, Sunagawa K. Azelnidipine has anti-atherosclerotic effects independent of its blood pressure-lowering actions in monkeys and mice. *Atherosclerosis* 196(1):172-9, 2008
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。
- <研究協力者>  
井手 友美(九州大学大学院医学研究院循環器内科学)

## 特発性心筋症に関する調査研究

—心不全に対する和温療法の有用性：多施設共同研究の結果—

研究分担者： 鄭 忠和(鹿児島大学大学院循環器・呼吸器・代謝内科学教授)

＜研究要旨＞心筋症は、最新の医療・医学を駆使しても依然循環器疾患における予後不良な疾患群である。心筋症の病態は、分子生物学や家系解析などによる遺伝解析の進展により、心筋細胞を構成する構造蛋白、チャネル蛋白、Caハンドリング蛋白などによる機能低下に起因することが一部明らかになってきたが、未だその病態には、まだ不明な点が多々あるのが現状である。本研究班においては、(1)全体研究、(2)サブグループ研究、(3)個別研究という3段階のレベルで研究を進めていくこととした。(1)全体研究は、前班研究の調査研究であるCCMM研究を引き続き進め、現時点における心筋症の現状を調査することとした。(2)サブグループ研究としては、本研究班を心筋症・心不全ネットワークとして捉え、心筋症における新たな課題に対して、サブグループを構成し、研究を進める体制を新たに構築した。(3)個別研究は、心筋症に関する各班員の先端的臨床・基礎研究を進めていくこととした。これらの複合的研究をもとに、心筋症に対する新たな診断・治療法の開発を目指す。

### A. 研究目的

「和温療法」は心不全に対する新しい治療法として、1989年、我々が開発してきた全身療法であり、「温熱療法」として啓蒙してきた。しかし、癌に対する高温での局所療法などと区別し、これまで取り組んできた温熱療法の正しい理解を得るために、「心地よく心身をリフレッシュさせるぬくもり」の意味を込めて、「なごむ・ぬくもり」から造語し、2007年4月、「和温療法」と命名した。これまで我々は、慢性心不全患者における和温療法の効果を多方面から検討し、心不全症状の改善のみならず心機能・末梢血管機能・神経体液性因子の改善効果を明らかにしてきた。さらに、和温療法を広く普及させる目的で、従来の遠赤外線均等低温乾式サウナ治療室と同等の効果を有する移動可能な坐位式の小型和温装置を開発した。

今回、小型和温装置を用い、和温療法の心不全に対する安全性と臨床的有用性を確認することを目的とした前向き多施設共同研究を行った。

### B. 研究方法

参加施設は、鹿児島大学、北里大学、山口大学、虎の門病院、東京女子医科大学、順天堂大学、榎原記念病院、済生会熊本病院、東住吉森本病院、藤元早鈴病院の国内10施設である。NYHA分類Ⅱ度以上の慢性心不全患者188名を対象として、入院後通常的心不全治療を行い最低1週間の観察期間の後に、通常的心不全治療を継続するコントロール群(76例)と通常的心不全治療に和温療法を併用する和温療法群(112例)に分類した。和温療法群は、小型の遠赤外線均等温装置を用いた和温療法(60℃・15分間の和温浴と出浴後30分間の安静保温)を2週間施行した。観察期間終了後の試験

開始時とその後2週間目に胸部レントゲン撮影、心エコー検査、脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)測定を施行した。

#### (倫理面への配慮)

研究プロトコールは、鹿児島大学病院臨床研究倫理委員会及び各施設の倫理委員会の承認を得た。また、それぞれの症例には、書面にて研究参加への承諾を得た。

### C. 研究結果

NYHA心機能分類は、両群とも2週間の治療により有意に改善した。胸部レントゲン写真の心胸郭比も両群において有意な低下を認めた(和温療法群:  $57.2 \pm 8.0\% \rightarrow 55.2 \pm 8.0\%$ ,  $p < 0.0001$ ; コントロール群:  $57.0 \pm 7.7\% \rightarrow 56.0 \pm 7.1\%$ ,  $p < 0.05$ )。心エコー所見は、和温療法群では、左室拡張末期径(LVDd)と左房径(LAD)の有意な縮小と左室駆出率(EF)の有意な増加を認めたが(LVDd:  $60.6 \pm 7.6 \text{ mm} \rightarrow 59.1 \pm 8.4 \text{ mm}$ ,  $p < 0.0001$ ; LAD:  $45.4 \pm 9.3 \text{ mm} \rightarrow 44.1 \pm 9.4 \text{ mm}$ ,  $p < 0.05$ ; EF:  $31.6 \pm 10.4\% \rightarrow 34.6 \pm 10.6\%$ ,  $p < 0.0001$ )、コントロール群ではこれらの指標に有意な変化を認めなかった(LVDd:  $58.4 \pm 10.3 \text{ mm} \rightarrow 57.9 \pm 10.4 \text{ mm}$ ; LAD:  $46.3 \pm 9.7 \text{ mm} \rightarrow 46.2 \pm 10.1 \text{ mm}$ ; EF:  $36.6 \pm 14.1\% \rightarrow 37.3 \pm 14.0\%$ )。また、血漿BNP濃度も和温療法群で2週間後に有意に低下したが、コントロール群では有意な変化を認めなかった(和温療法群:  $542 \pm 508 \text{ pg/ml} \rightarrow 394 \pm 410 \text{ pg/ml}$ ,  $p < 0.001$ ; コントロール群:  $440 \pm 377 \text{ pg/ml} \rightarrow 358 \pm 382 \text{ pg/ml}$ )。

### D. 考察

これまででは、和温療法に関して鹿児島大学一施設からの報告であったが、今回、国内10施設での



共同研究において慢性心不全に対する和温療法の安全性と有効性が確認されたことは、今後の和温療法の普及にとって大きな意義がある。

#### E. 結論

小型均等和温装置を用いた多施設共同研究により、心不全に対する和温療法の安全性と有用性を確認した。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1) 論文発表

- Takenaka T, Teraguchi H, Yoshida A, Taguchi S, Ninomiya K, Umekita Y, Yoshida H, Horinouchi M, Tabata K, Yonezawa S, Yoshimitsu M, Higuchi K, Nakao S, Anan R, Minagoe S, Tei C. Terminal stage cardiac findings in patients with cardiac Fabry disease: An electrocardiographic, echocardiographic, and autopsy study. *J Cardiol* 51: 50-59, 2008
- Umehara M, Yamaguchi A, Itakura S, Suenaga M, Sakaki Y, Nakashiki K, Miyata M, Tei C. Repeated waon therapy improves pulmonary hypertension during exercise in patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *J Cardiol* 51: 106-113, 2008
- Miyata M, Kihara T, Kubozono T, Ikeda Y, Shinsato T, Izumi T, Matsuzaki M, Yamaguchi T, Kasanuki H, Daida H, Nagayama M, Nishigami K, Hirata K, Kihara K, Tei C. Beneficial effects of Waon therapy on patients with chronic heart failure: Results of a prospective multicenter study. *J Cardiol* 2008; 52: 79-85.

##### 2) 学会発表

- Ikeda Y, Miyata M, Kihara T, Tei C. Soothing warm therapy improves the prognosis in patients with chronic heart failure. 57th Annual Scientific Session of the American College of Cardiology, 2008年3月, Chicago, USA
- Higuchi K, Yoshimitsu M, Takenaka T, Medin JA, Tei C. Enzymatic correction in heart of Fabry mice by neonatal injection of a recombinant lentiviral vector that engineers expression of alpha-galactosidase A. 57th Annual Scientific Session of the American College of Cardiology, 2008年3月, Chicago, USA
- Tei C, Miyata M, Kihara T, Kubozono T, Ikeda Y, Shinsato T, Fujita S, Kuwahata S, Hamasaki S.

Beneficial effects of Waon therapy on patients with chronic heart failure: results of a multicenter study. 81st American Heart Association's Scientific Sessions 2008, 2008年11月, New Orleans, USA

- Anan R, Tei C. Molecular genetic basis and clinical features of cardiomyopathy. 第72回日本循環器学会総会・学術集会Symposium: Update in cardiomyopathy -novel approach; novel targets-, 2008年3月, 福岡
- Miyata M, Kihara T, Tei C. Thermal therapy (Waon therapy) for severe heart failure. 第72回日本循環器学会総会・学術集会Symposium: New strategies for management of severe heart failure with new devices and surgery, 2008年3月, 福岡
- Kihara T, Miyata M, Tei C. Waon therapy: a new strategy for cardiac rehabilitation in patients with chronic heart failure. 第72回日本循環器学会総会・学術集会Symposium: Cardiac rehabilitation: innovative approach to improve patient care, 2008年3月, 福岡
- Higuchi K, Yoshimitsu M, Takenaka M, Tei C. Novel mutations in alpha-galactosidase a gene detected in Fabry patients with left ventricular hypertrophy. 第72回日本循環器学会総会・学術集会, 2008年3月, 福岡
- 吉満 誠, 樋口公嗣, 竹中俊宏, 鄭 忠和. 左室肥大を呈するFabry病患者で同定された新たなα-galactosidase A遺伝子異常. 第105日本内科学会総会, 2008年4月, 東京
- 窪菌琢郎, 木原貴士, 宮田昌明, 福留 剛, 池田義之, 新里拓郎, 桑波田 聡, 藤田祥次, 濱崎秀一, 鄭 忠和. 和温療法は慢性心不全患者の予後を改善する. 第14回日本心臓リハビリテーション学会, 2008年7月, 大阪
- 木原貴士, 宮田昌明, 鄭 忠和. 重症心不全に対する和温療法. 第56回日本心臓病学会学術集会 パネルディスカッション: 「重症心不全の非薬物療法」, 2008年9月, 東京
- 樋口公嗣, 吉満 誠, 竹中俊宏, Medin JA, 鄭 忠和. 心Fabry病の遺伝子治療: 新生児Fabryマウスを用いた検討. 第56回日本心臓病学会学術集会, 2008年9月, 東京
- Kihara T, Miyata M, Tei C. Waon therapy in patients with chronic heart failure. 第12回日本心不全学会学術集会 Symposium, 2008年10月, 東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。



## 特発性心筋症に関する調査研究

—心筋症の遺伝子診断における網羅的解析の重要性: 拡張相を伴う肥大型心筋症の病因解析を一例として—  
研究協力者: 豊岡 照彦(北里大学循環器内科客員大学院教授)

〈研究要旨〉心筋症は、最新の医療・医学を駆使しても依然循環器疾患における予後不良な疾患群である。心筋症の病態は、分子生物学や家系解析などによる遺伝解析の進展により、心筋細胞を構成する構造蛋白、チャネル蛋白、Caハンドリング蛋白などによる機能低下に起因することが一部明らかになってきたが、未だその病態には、まだ不明な点が多々あるのが現状である。本研究班においては、(1)全体研究、(2)サブグループ研究、(3)個別研究という3段階のレベルで研究を進めていくこととした。(1)全体研究は、前班研究の調査研究であるCCMM研究を引き続き進め、現時点における心筋症の現状を調査することとした。(2)サブグループ研究としては、本研究班を心筋症・心不全ネットワークとして捉え、心筋症における新たな課題に対して、サブグループを構成し、研究を進める体制を新たに構築した。(3)個別研究は、心筋症に関する各班員の先端的臨床・基礎研究を進めていくこととした。これらの複合的研究をもとに、心筋症に対する新たな診断・治療法の開発を目指す。

### A. 研究目的

心不全は先進国の主要死因の一つであり、急性心筋梗塞の予後はCCUやPCIの発達で飛躍的に改善した。この成果から米国循環器学会(AHA, ACC)は今後の制圧筆頭目標に心不全を掲げ、新たな予防策と治療開発を挙げた(*Circulation*, 2005; *JACC*, 2005)。また、心不全の病態は外来で対処可能な軽症例、入院を繰り返す中等度患者から心移植以外に救命不能な逼迫した重症例まで多様であるが、症状と予後の相関は比較的乏しい。更に重症心不全の死因は不整脈による突然死と低心拍出状態によるポンプ失調死に大別されるが、両者の予測も難しい現状である。治療方針に関しても心移植症例の適応、LVAD等の補助循環や症例に即した薬剤治療の選択は高額医療の有効活用、保健スタッフの適切な配備・教育も含め、今後の医療経済上も極めて重要である。

この隘路を越える手段として、人工心臓、遺伝子治療や再生医療等の先進医療の早急な実現が期待される。これらの遺伝子治療や再生医療を実践する際に、責任遺伝子を正確に診断する事は治療を有効なものにする為に臨床に、必須のプロセスと筆者は認識する。近年のヒトゲノム研究の成果として、肥大型心筋症がsarcomereを形成する収縮タンパクの遺伝子変異による事が報告されて依頼、現在1000以上の遺伝子変異が報告されたが、臨床に更に重篤な拡張型心筋症(DCM)の解析は非常に遅れて細胞骨格タンパクやミトコンドリア遺伝子変異が報告されているに過ぎない。

今回は従来原因が不明とされた拡張相を伴う肥大型心筋症(HCM)の病因を明らかにする目的で家族性に突然死を呈し、本病形を示した家系について、従来の核内遺伝子に加えて、心機能上重要な位置を占めるミトコンドリアの遺伝子解析を加え

て網羅的な検討を行った結果、重複遺伝子変異による病態を見出したので、ここに報告する。

### B. 研究方法

遺伝子解析に了解を頂いたDCM患者の核内とミトコンドリア内のgenomic DNAの精製は各々既に報告した(Kato et al., *Lancet*, 1997, Shin et al., *Am.J.Hum.Genet.*, 2000)。

#### (倫理面への配慮)

今回の企画に関する先端医療を社会還元する際に患者自身、家族(遺伝子診断の場合には係累も含む)の人権とプライバシー保護の両面で当然regulatory scienceが求められる。SNPや病因遺伝子解析の研究は国内では筆者が東大在籍時代から遺伝子診断に関する関連8学界の答申を遵守し、学内の倫理委員会と当時の文部大臣許可を頂いて遺伝子診断を実施した。

### C. 研究結果

#### 1)核内遺伝子変異について

ヒト心筋b-myosin重鎖遺伝子は14番常染色体上に位置し、その遺伝子型の変異により肥大型心筋症(HCM)を来す。事実、筆者らも心筋b-myosin重鎖遺伝子の中でC12332T変異により、N末から731番目のアミノ酸がPro→Leuに変換してHCMを来す事を報告した(Kato et al., *Lancet*, 1997)。図1上段の責任遺伝子のdirect sequencingに示すように、C/T変換(矢印)によるヘテロ接合体でHCMを呈する事は常染色体性優性遺伝を示す。

#### 2)ミトコンドリア遺伝子変異について

更に、この症例はミトコンドリア遺伝子の解析の結果、図2(矢印)に示したようにMt-12192遺伝子の中のHis-tRNAにもG→A変異を有する重複遺伝だった。なお、同一のミトコンドリア遺伝子の変異のみ

CCATCC(C/T)TGAGGG

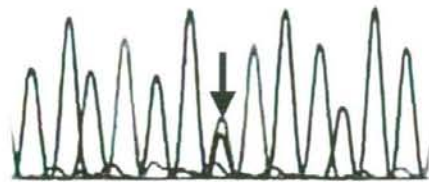


図 1

GCTTACAACCCCT

100

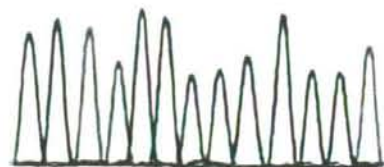


図 2

ではDCMを示す事も判明し、従来肥大相を経過するDCMが核内遺伝子変異でHCMを示し、ミトコンドリア遺伝子変異でDCMに至る新たな疾患概念も示唆する(Toyooka *et al.*, The 2<sup>nd</sup> Mendel Symposium, Praha 2008)。更に、ミトコンドリア遺伝子変異の大きな特徴として全ミトコンドリアが同一変異(homoplasmy)を示すとは限らず、一部のミトコンドリアのみ変異を示すheteroplasmyも存在する。特に1心筋細胞にはエネルギー供給の必要性から2,000~5,000個ものミトコンドリアが共存する事から、コピー数も含めた遺伝子解析の重要性が理解される。

次に、重症心不全患者の中で特に拡張型心筋症が我国に多発する理由を探る目的でCaucasianと日本人DCM患者のミトコンドリア遺伝子の全配列を約30例で決定した(図3)。その結果、

- ①従来、単一源性遺伝子(monogenic)疾患と予想されたHCMやミトコンドリアを含めると多彩

な多源性遺伝子(monogenic)疾患であり、網羅的な解析が病態把握に必須であった。

- ②その変異部位はdiffuseに存在するSNPと異なり、5つ程のclusterを形成している(赤丸内)。
- ③各clusterはMELAS等、脳筋症の原因遺伝子(青丸内)とも一致しない。
- ④同一遺伝子内でも異なるヌクレオチドをコードし、特に日本人(赤字)と白人(青字)の間で2分された。これは古代の民族移動で白人と東洋人がコーカサス地域で分岐し、更に日本人が韓国、中国人からも分離後に、このDCM遺伝子の変異が起きた事を示唆す(図4)。これは米国人類学会に登録された。

#### D. 考察

ミトコンドリアの研究は以下の多くの理由で心不全研究に極めて重要で、る。①cytochrome Cの細

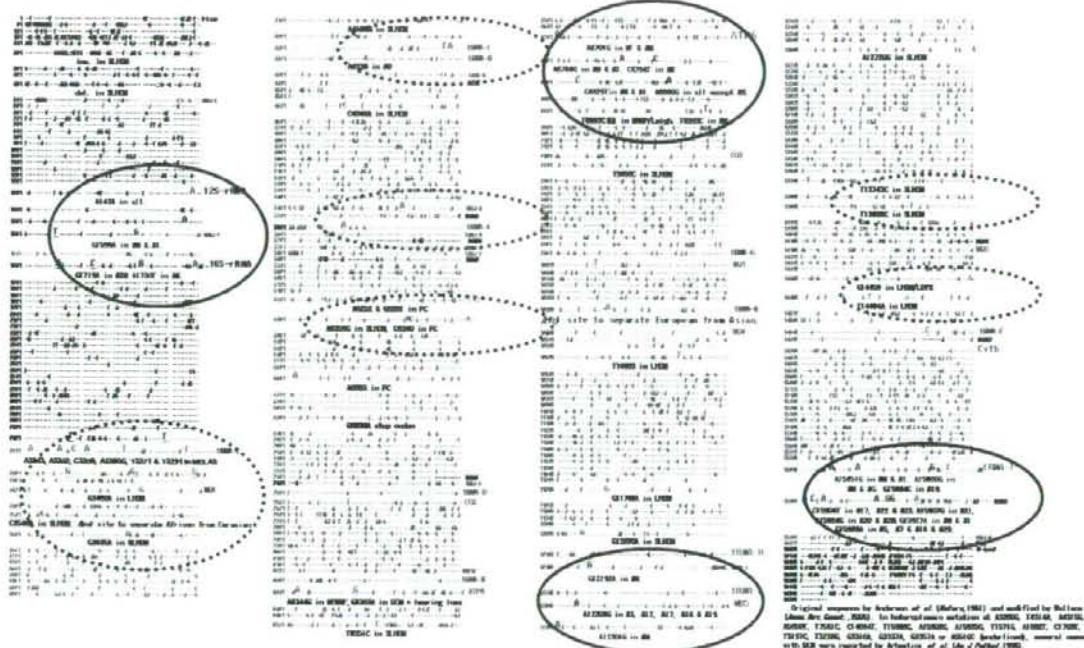


図 3



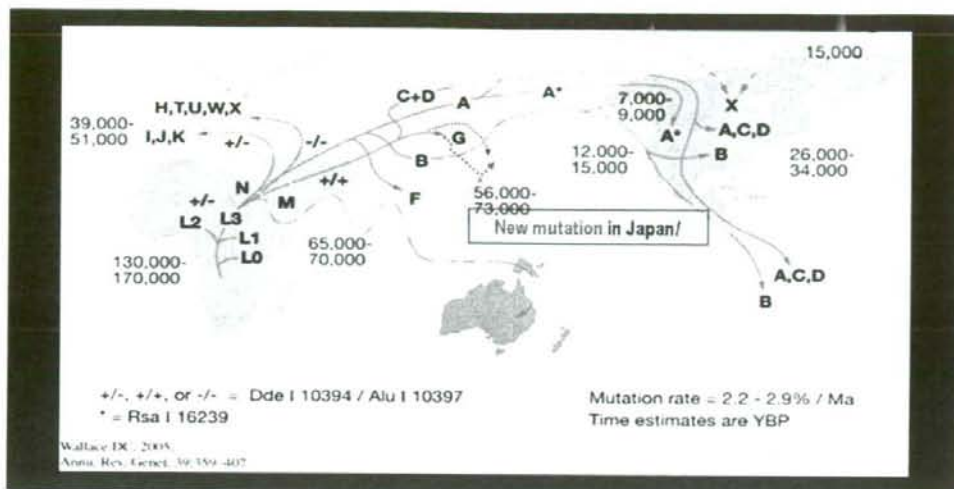


図4. Diagram outlining the migratory history of human mtDNA haplogroups

胞質への放出がapoptosisを起こす。②ミトコンドリアの遺伝子構造は核内DNAと異なり、大部分がexonから構成され、変異が疾患に直結し易い。③ミトコンドリアの主要機能の酸化的リン酸化により多種のfree radicalを生産するが、核酸をミトコンドリア内で産生された保護の核タンパクが皆無で、④これらradicalからの攻撃からミトコンドリア遺伝子を守るMnSODやCu/Zn-SODが充分機能しない場合に遺伝子変異が後天的にも作られる。

#### E. 結論

従来原因が不明とされた拡張相を伴う肥大型心筋症の病因として家族性突然死を呈し、本病形を示した家系について、従来の核内遺伝子に加えて、心機能上重要な位置を占めるミトコンドリアの遺伝子解析を加えて網羅的な検討を行った。その結果、両者の重複遺伝子変異によることが判明した。この遺伝子探索に当たり、ミトコンドリアの遺伝子の網羅的な解析が奏功した。今後、ミトコンドリアが病態を修飾するmodifier geneを持つ事が示され、核内遺伝子に捉われない遺伝子の総合的な解析が望まれる。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1) 論文発表

- Honda M, Masui F, Kanzawa N, Tsuchiya T, Toyo-oka T. Specific knockdown of m-calpain blocks myogenesis with cDNA deduced from the corresponding RNAi. *Am J Physiol (Cell Physiol)* 294; C957-65, 2008.
- Karino S, Okuda T, Uehara Y, Toyo-oka T. Breastfeeding and prevalence of allergic diseases in Japanese university students. *Ann Allergy Asthma Immunol* 101; 153-9, 2008.

- Aoyagi T, Nakamura F, Tomaru T, Toyo-oka T. Beneficial effects of pitavastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, on cardiac function in ischemic and nonischemic heart failure. *Int Heart J* 49; 49-58, 2008.
- Tezuka A, Kawada T, Nakazawa M, Masui F, Konno S, Nitta S, Toyo-oka T. Which skeletal myoblasts and how to be transplanted for cardiac repair? *Biochem Biophys Res Commun* 369; 270-6, 2008.
- 豊岡 照彦, 降圧療法の有効性に影響する遺伝子多型. *メディカルジャーナル*, 解説: 2008年6月号
- 2) 学会発表
- Toyo-oka T, Hatakeyama H, Kostin S, Schaper J. A unique clinical, genetic and morphological features in human mitochondrial cardiomyopathy (Invited Lecture). The 14th World Congress on Heart Disease International Academy of Cardiology, Annual Scientific Sessions, July 27, 2008, Toronto, Canada.
- Toyo-oka T. HCM with the dilated phase by the cumulative effect of two genes responsible for HCM and DCM with different course. The Second Mendel's Symposium, Sep. 26, 2008, Praha, Check Republic.
- 豊岡照彦. 循環器疾患の先端医療とTranslational Research, 座長および講演. 第72回日本循環器学会総会学術集, 2008年3月29日, 福岡.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

#### < 研究協力者 >

畠山華子(東北大学先進医工学研究機構)

Kostin, Sawa

(Abteil. der exp. Kardiol., Max-Planck Inst.)

Schaper, Jutt

(Abteil. der exp. Kardiol., Max-Planck Inst.)

## 特発性心筋症に関する調査研究

—心筋細胞内脂質代謝とGq蛋白共役型受容体シグナルの制御—

研究協力者： 竹石 恭知(福島県立医科大学内科学第一講座教授)

＜研究要旨＞心筋症は、最新の医療・医学を駆使しても依然循環器疾患における予後不良な疾患群である。心筋症の病態は、分子生物学や家系解析などによる遺伝解析の進展により、心筋細胞を構成する構造蛋白、チャネル蛋白、Caハンドリング蛋白などによる機能低下に起因することが一部明らかになってきたが、未だその病態には、まだ不明な点が多々あるのが現状である。本研究班においては、(1)全体研究、(2)サブグループ研究、(3)個別研究という3段階のレベルで研究を進めていくこととした。(1)全体研究は、前班研究の調査研究であるCCMM研究を引き続き進め、現時点における心筋症の現状を調査することとした。(2)サブグループ研究としては、本研究班を心筋症・心不全ネットワークとして捉え、心筋症における新たな課題に対して、サブグループを構成し、研究を進める体制を新たに構築した。(3)個別研究は、心筋症に関する各班員の先端的臨床・基礎研究を進めていくこととした。これらの複合的研究をもとに、心筋症に対する新たな診断・治療法の開発を目指す。

### A. 研究目的

Gq蛋白共役型受容体シグナルの過剰な活性化が心肥大と心不全の発症に深く関与している。ジアシルグリセロールキナーゼ(DGK)は、ジアシルグリセロール(DAG)をリン酸化(不活性化)してホスファチジン酸へ変換し、細胞内DAG量を調節することで、protein kinase C(PKC)活性を制御しようと考えられている。DGKz遺伝子を心臓にのみ選択的に発現したトランスジェニックマウス(DGKz-TG)では、アンジオテンシンⅡとフェニレフリンの持続投与によるDAGの細胞内蓄積、PKCの活性化、atrial natriuretic factor(ANF)遺伝子の発現、心筋細胞肥大が抑制された。また、DGKzは大動脈狭窄手術による圧負荷心肥大、心筋梗塞後の左室リモデリングを抑制した。心筋細胞にはDGKz isoformのほかe isoformも存在するが、DGKeに関しては、これまで全く検討されていない。

Gq蛋白の $\alpha$ サブユニット活性化型変異体を心臓に選択的に発現したトランスジェニックマウス(Gaq-TG)は、生後10~12週でうっ血性心不全に陥り、死亡する。このGaq-TGでは心房細動を含む心房性不整脈が高頻度に認められた。

本研究の目的は、1)DGKeの心筋細胞での機能をin vivoで明らかにする、2)DGKzがGaq-TGマウスにおける心房性不整脈を抑制するか検討することである。

### B. 研究方法

a-myosin heavy chain promoterを用いて、心臓にのみ選択的にDGKe遺伝子を発現したトランスジェニックマウス(DGKe-TG)を作成した。このDGKe-TGマウスと野生型(WT)マウス(コントロール)に大動脈狭窄手術を行った。術後4週に心臓超音

波検査を行い、左室壁厚、左室内径、左室壁運動を評価した。また、右内頸動脈からマイクロメータカテーテルを逆行性に左室へ挿入し、左室圧を測定した。検査後サクリファイスし、心臓を摘出し、重量を測定後、病理組織標本を作成した。また、心筋から蛋白とRNAを抽出し、細胞内シグナルと遺伝子の発現を検討した。

Gaq-TGとDGKz-TGマウスを掛け合わせ、ダブルトランスジェニックマウス(Gaq/DGKz-TG)を作成した。12週後に心臓超音波検査を行い、左房径を測定した。検査後心臓を摘出し、ランゲンドルフ法で灌流し、optical mapping法で不整脈を評価した。

#### (倫理面への配慮)

研究プロトコルは遺伝子組み換え実験安全委員会、動物実験委員会にて承認され、研究は遺伝子組み換え実験安全管理規則および動物実験指針に従って行われた。

### C. 研究結果

大動脈狭窄手術4週後において、WTマウスでは圧負荷による心室壁厚の増加(左室肥大)と左室重量の増加を認めた。しかし、DGKe-TGマウスでは圧負荷による左室肥大は抑制された。WTマウスで認められた圧負荷による心筋細胞内DAGの蓄積、PKCの活性化、ANF遺伝子の発現、心筋細胞肥大、左室拡張末期圧の上昇は、いずれもDGKe-TGマウスでは抑制された(Am J Physiol Heart Circ Physiol 295: H245-255, 2008)。

Gaq-TGマウスでは著明な左房拡大と線維化を認めたが、Gaq/DGKz-TGマウスではこれらの変化は抑制された。また、Gaq-TGマウスでは心房内に血栓形成が認められたが、Gaq/DGKz-TGマウスでは



血栓は1例も見られなかった。Gαq-TGマウスの摘出灌流心ではプログラム刺激によって心房細動や心房頻拍が高頻度に誘発されたが、Gαq/DGKζ-TGマウスでは心房性不整脈は抑制された(Heart Rhythm 6: 78-84, 2009)。

#### D. 考察

DGKεは細胞内脂質代謝とシグナル伝達を制御することで、圧負荷による心肥大と心不全への進展を抑制した。これは心臓におけるDGKεの機能に関する最初の報告である。また、DGKζはGαq-TGマウスの心房リモデリングと心房性不整脈の発生を抑制した。これらの結果は、Gq蛋白共役型受容体シグナルの過剰な活性化が心肥大・心不全の発症と進展、不整脈の発生に重要な役割を果たしており、DGKがこのシグナルを制御していることを示唆している。心房性不整脈が心不全の病態を増悪することは臨床的にもしばしば経験する。本研究はDGKが不全心の心房リモデリングと不整脈を抑制することを示した最初の報告であり、意義のあるものと考えられる。

#### E. 結論

DGKはGq蛋白共役型受容体シグナルと細胞内脂質代謝の調節因子として機能し、心肥大と心不全への進展、心房性不整脈の発生を抑制した。DGKε isoform、ζ isoformは心不全治療の標的分子となる可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1) 論文発表

・ Niizeki T, Takeishi Y, Ishino M, Kitahara T, Arimoto T, Koyama Y, Bilim O, Suzuki S, Sasaki T, Nakajima O, Walsh RA, Goto K, Kubota I: Diacylglycerol kinase-ε preserves cardiac function under chronic pressure overload: A new specific

regulator of Gαq signaling cascade. Am J Physiol Heart Circ Physiol 295: H245-255, 2008

・ Hirose M, Takeishi Y, Niizeki T, Shimojo H, Nakada T, Kubota I, Nakayama J, Mende U, Yamada M: Diacylglycerol kinase ζ prevents Gαq-induced atrial arrhythmias in transgenic mice. Heart Rhythm 6: 78-84, 2009

##### 2) 学会発表

・ Takeishi Y: Diacylglycerol kinase prevents cardiac hypertrophy and progression to heart failure: A new regulator of GPCR signaling. Yamagata International Symposium on Cardiac Regulatory Mechanisms, Yamagata, May 2008

・ Kaneshiro T, Saitoh S, Yamaguchi O, Ishibashi T, Takeishi Y: Metabolic control in the coronary vascular tone: role of hydrogen peroxide, ADP, and angiotensin. Scientific Sessions of American Heart Association, New Orleans, November 2008

・ Uekita H, Ishibashi T, Shiomi M, Sugimoto K, Ohkawara H, Kamioka M, Yamagishi S, Takeishi Y: Receptor for advanced glycation end products (RAGE) plays an integral role in non-diabetic atherosclerosis and oxidized LDL stimulation. Scientific Sessions of American Heart Association, New Orleans, November 2008

3) Kitahara T, Takeishi Y, Shishido T, Suzuki S, Kato S, Sasaki T, Bilim O, Ishino M, Kubota I: High-mobility group box 1 restores cardiac dysfunction after myocardial infarction in transgenic mice. Scientific Sessions of American Heart Association, New Orleans, November 2008

・ Takeishi Y: Immunological modulation in developing cardiac remodeling. International Society for Heart Research (ISHR) The 25th Annual Meeting of ISHR Japanese Section, Yokohama, December 2008 (symposium)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

## 特発性心筋症に関する調査研究

—拡張型心筋症患者において心臓MRIの遅延造影は心イベントを示唆する—  
研究協力者：川名 正敏(東京女子医科大学附属青山病院循環器内科教授)

＜研究要旨＞心筋症は、最新の医療・医学を駆使しても依然循環器疾患における予後不良な疾患群である。心筋症の病態は、分子生物学や家系解析などによる遺伝解析の進展により、心筋細胞を構成する構造蛋白、チャネル蛋白、Caハンドリング蛋白などによる機能低下に起因することが一部明らかになってきたが、未だその病態には、まだ不明な点が多々あるのが現状である。本研究班においては、(1)全体研究、(2)サブグループ研究、(3)個別研究という3段階のレベルで研究を進めていくこととした。(1)全体研究は、前班研究の調査研究であるCCMM研究を引き続き進め、現時点における心筋症の現状を調査することとした。(2)サブグループ研究としては、本研究班を心筋症・心不全ネットワークとして捉え、心筋症における新たな課題に対して、サブグループを構成し、研究を進める体制を新たに構築した。(3)個別研究は、心筋症に関する各班員の先端的臨床・基礎研究を進めていくこととした。これらの複合的研究をもとに、心筋症に対する新たな診断・治療法の開発を目指す。

### A. 研究目的

本研究の目的は、拡張型心筋症患者において、MRIの遅延造影の有無と心イベントとの関連を明らかにすることである。

### B. 研究方法

#### 1) 対象

対象は2003年8月～2006年7月に心臓MRIを施行した左室駆出率(LVEF)40%以下のDCM患者49例である。

DCMの診断は、WHOの基準に従い、虚血性心疾患を心臓カテーテル検査、心筋シンチグラム等で否定し、臨床的に二次性の心筋症を除外できたものとした。

#### 2) 方法

①MRI撮影sequenceは以下の通りである。

Phillips社製 1.5T Gyroscan Intera  
Cine MRI：左室短軸(心基部から心尖部)  
Balanced fast field echo  
TR=3msec, TE=1.6msec

遅延造影相：左室短軸(心基部から心尖部)  
Gd-DTPA総量20ml静注15分後に2Dで撮像  
測定断面：

左室短軸の心基部から心尖部の8断面  
2D-TFE：TR=9.4msec, TE=4.6msec,  
TI：look locker sequenceで決定

②心臓MRIの遅延造影像(DE)により2群に分類した。

DE(+)群：遅延造影がみられる群

DE(-)群：遅延造影のみられない群

③心臓MRI施行日をday0とし、2008年3月までfollow upを行った。

i) この間に生じた以下の心イベントにつき両群

間で検討を行った。

- (a) 死亡
- (b) 心不全入院
- (c) 持続性心室頻拍(sustained VT: susVT)
- ii) この間に行った以下の治療につき両群間で比較した。

- (a) ICD植え込み及び作動
- (b) CRT
- (c) CRTD植え込み及び作動
- (d) LVAD, RVAD植え込み

平均 follow up 期間は1037.3±334.7日であった。

### C. 研究結果

1) 遅延造影像は21例(43%)に見られた。

2) 表に示すように、MRI撮像時、2群間で左室駆出率、左室径、血漿BNPに差はみられなかった。

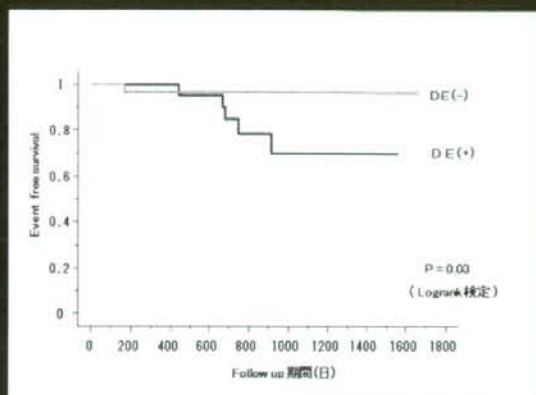
表 患者背景 (1)

	全体	DE+	DE-
n 例	49	21 (43%)	28
年齢 歳	54.1 ± 12.1	57.3 ± 11.4	51.8 ± 12.2 0.12
性別 男性 例	40	17	23
NYHA分類 I 例	9	2	7
II 例	33	15	18
III 例	7	4	3
Atrial fibrillation	11	4	7
BNP (pg/ml)	383.2 ± 531.1	417.8 ± 562.8	357.3 ± 515.0 0.70
S-Cre (mg/dl)	0.95 ± 0.36	0.99 ± 0.39	0.94 ± 0.34 0.60
CRP (mg/dl)	0.15 ± 0.22	0.20 ± 0.21	0.17 ± 0.23 0.60
LAD (mm)	43.6 ± 8.8	45.4 ± 8.4	42.1 ± 8.6 0.19
LVDd (mm)	69.0 ± 9.6	65.1 ± 10.9	66.7 ± 8.5 0.58
LVDs (mm)	56.6 ± 10.4	56.0 ± 11.3	57.0 ± 9.8 0.77
FS	0.15 ± 0.06	0.15 ± 0.06	0.15 ± 0.06 0.88

経過観察中、5例が心不全を発症し、5例が心臓再同期療法を受けた。心不全発症または心臓再同



## DEの有無と心イベント(死亡または心不全入院)



図

期療法を受けた例は、全例遅延造影像がみられた症例であった。また心不全は遅延造影がみられた群で、見られなかった群より有意に多く発症していた( $p<0.05$ )。

持続性心室頻拍は9例に生じ、そのうち4例に遅延造影像を認めた。経過観察中、4例の死亡(突然死および心不全死)がみられた。持続性心室頻拍と突然死については両群間に差はみられなかった。

死亡または心不全入院を複合エンドポイントとすると、遅延造影(+)群は(-)群に比べて有意にイベントが多かった(図)。

### D. 考察

MRIの遅延造影像は、心筋梗塞症例の梗塞領域を描出し、心筋のviability評価に利用されている(Kim RJ, et al. NEJM 343:1445, 2000)。肥大型心筋症患者のMRIの遅延造影像は、心筋の線維化を反映しており、突然死のrisk factorとの関連がいられている(Moon JCC, et al. JACC 41:1561, 2003)。拡張型心筋症の遅延造影像については、midwallとfibrosisについての報告がある(Assomull RG, et al. JACC 48:1977, 2006)が、DCM患者のMRIの造影遅延像と予後については明らかでなかった。今回の検討により、MRIの遅延造影陽性例では心不全+心不全入院が陰性例に比べて有意に多いことが明らかになり、これらの例での心筋障害の進展が示

唆される。

### E. 結論

拡張型心筋症患者において、MRIの造影遅延像が見られることは、心イベントを発生する可能性を示唆する。

### F. 健康危険情報

なし。

### G. 研究発表

- 1)論文発表  
なし。
- 2)学会発表  
・2008年JCS総会  
・2008年ISFC学術集会

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

### <研究協力者>

渡邊絵里

(東京女子医大附属成人医学センター循環器内科)

中島崇智(東京女子医科大学病院循環器内科)

坂井晶子(東京女子医大附属青山病院循環器内科)

萩原誠久(東京女子医科大学病院循環器内科)

## 特発性心筋症に関する調査研究

—拡張型心筋症における血清テネイシンCの意義：病態との関連から—

研究協力者： 廣江 道昭(国立国際医療センター戸山病院循環器科部長)

＜研究要旨＞心筋症は、最新の医療・医学を駆使しても依然循環器疾患における予後不良な疾患群である。心筋症の病態は、分子生物学や家系解析などによる遺伝解析の進展により、心筋細胞を構成する構造蛋白、チャネル蛋白、Caハンドリング蛋白などによる機能低下に起因することが一部明らかになってきたが、未だその病態には、まだ不明な点が多々あるのが現状である。本研究班においては、(1)全体研究、(2)サブグループ研究、(3)個別研究という3段階のレベルで研究を進めていくこととした。(1)全体研究は、前班研究の調査研究であるCCMM研究を引き続き進め、現時点における心筋症の現状を調査することとした。(2)サブグループ研究としては、本研究班を心筋症・心不全ネットワークとして捉え、心筋症における新たな課題に対して、サブグループを構成し、研究を進める体制を新たに構築した。(3)個別研究は、心筋症に関する各班員の先端的臨床・基礎研究を進めていくこととした。これらの複合的研究をもとに、心筋症に対する新たな診断・治療法の開発を目指す。

### A. 研究目的

ヒトに最も近縁な霊長類の大規模繁殖コロニーにおいて、家系性の拡張型心筋症モデル構築の確立とその診断マーカーの開発を目的とする。特に血中テネイシンCはヒト心筋炎や心不全症例において診断バイオマーカーとして有効であることが示唆されているため霊長類心筋症モデルの家系における血中テネイシンC濃度測定を行い、大規模スクリーニングを試み、テネイシンCの診断意義について検討した。

### B. 研究方法

独立行政法人医薬基盤研究所において飼育している1500頭規模のカニクイザル繁殖コロニーより心エコー図、心電図、胸部レントゲン、MRI、拡張型心筋症と診断された個体を抽出する。血中BNP、ANP、テネイシンCは動物用に開発したELISAキットにて測定する。さらに心不全で死亡例の心臓組織の病理的および免疫組織学的に検討した。

#### (倫理面での配慮)

本研究における手技、動物の管理は法律第105号「動物の愛護および管理に関する法律」、日本学術会議「動物実験の赤誠心実施に向けたガイドライン」を遵守し、「独立行政法人医薬基盤研究所動物実験指針」及び日本霊長類学会動物実験指針の「サルを用いる実験遂行のための基本原則」に従う。

### C. 研究結果

1) ヒトに近縁なカニクイザルの繁殖コロニー内に心不全症状を呈する家系的に発症する拡張型心筋症を呈するが存在することが確認された。

2) 心電図、レントゲン検査、エコー図、MRIな

ど生理的検査により本疾患がヒト病態を反映することが判明した。

3) 病理学的検索では種々の病期に対応して、心筋細胞の肥大・変性・脱落および間質の広範な線維化などヒトの拡張型心筋症に類似した病理所見が観察された。免疫染色法によって心筋組織の活動性病変周囲や心筋内小血管平滑筋細胞にテネイシンCの発現が認められた。

4) 血中BNP、ANPおよびテネイシンC濃度が上昇している事が確認された。さらに拡張型心筋症家系の大規模スクリーニングによって血中テネイシンC濃度と病態との相関が認められる固体が存在した。

### D. 考察

今回、独立行政法人医薬基盤研究所において飼育している1500頭規模のカニクイザル繁殖コロニー内に家系性の拡張型心筋症が存在し、その血中テネイシンC濃度を大規模スクリーニングした結果、病態と相関していることが認められることを明確にした。ECMに属するテネイシンはラット・マウスなど齧歯類から霊長類、ヒトにまで哺乳類に共通した分子構造・活性を保ち、バイオマーカーとしても研究、臨床応用に最適であることが判明し、今後分子イメージングなど画像化も検討したい。

### E. 結論

テネイシンCは霊長類の心筋症モデルにおいてもBNP、ANPと同様にバイオマーカーとして有用である事が示唆された。ヒト病態を反映する霊長類の本モデルは拡張型心筋症の新規診断・治療法の開発研究に多くの知見を与えるものと思われる。



## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

- Tsukada B, Terasaki F, Shimomura H, Otsuka K, Otsuka K, Katashima T, Fujita S, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Hiroe M, Kitaura Y. High prevalence of chronic myocarditis in dilated cardiomyopathy referred for left ventriculoplasty: Expression of tenascin-C as a possible marker for inflammation. *Human Pathol* (in press)
- Odaka K, Uehara T, Arano Y, Adachi S, Tadokoro H, Yoshida K, Hasegawa H, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Hiroe M, Irie T, Tanada S, Komuro I. Noninvasive detection of cardiac repair after acute myocardial infarction in rats by 111 In Fab fragment of monoclonal antibody specific for tenascin-C. *Int Heart J* 49:481-92 (2008)
- Sekiguchi M, Hasegawa A, Hiroe M, Morimoto S, Nishikawa T. Inclusion of electric disturbance type cardiomyopathy in the classification of cardiomyopathy: A current review. *J Cardiol* 51:81-88 (2008)
- Sato A, Hiroe M, Tamura M, Ohigashi H, Nozato T, Hikita H, Takahashi A, Aonuma K, Isobe M. Quantitative measures of coronary stenosis severity by 64-Slice CT angiography and relation to physiologic significance of perfusion in nonobese patients: comparison with stress myocardial perfusion imaging. *J Nucl Med* 49:564-572 (2008)
- Sato A, Hiroe M, Nozato T, Hikita H, Ito Y, Ohigashi H, Tamura M, Takahashi A, Isobe M, Aonuma K. Early validation study of 64-slice multidetector computed tomography for the assessment of myocardial viability and the prediction of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 29:490-498 (2008)
- Sato A, Aonuma K, Nozato T, Sekiguchi Y, Okazaki O, Kubota K, Hiroe M. Stunned myocardium in transient left ventricular apical ballooning: a serial study of dual I-123 BMIPP and Tl-201 SPECT. *J Nucl Cardiol* 15:671-679 (2008)
- 廣江道昭, 岡崎 修, 門脇 拓, 窪田和雄, 心

筋症とMDCT, CMR, SPECT・PET所見から診る. *内科* 103: 485-493(2009)

廣江道昭, 北浦 泰(司会)/岡田了三, 関口守衛, 油谷親夫(演者). 鼎談-心筋疾患を語る. *J Cardiol Jpn Ed* 3: 78-88(2009)

• 廣江道昭, 岡崎 修, 佐藤 明. 核医学検査で心不全を診る. *CIRCULATION Up-to-date* 2: 30-42(2008)

• 廣江道昭, 岡崎 修, 窪田和雄. 心筋症の臨床2) CT, MRI, 核医学(SPECT, PET). *治療学* 42: 405-411(2008)

• 廣江道昭, 今中(吉田)恭子, 吉田利通. テネイシンCの心臓リモデリングにおける有用性. *医学の歩み* 224: 408-413(2008)

• 今中恭子, 廣江道昭, 吉田利通. テネイシンC. *Heart View* 8: 124-129(2008)

### 2) 学会発表

• Hiroe M, Onishi K, Fujimoto N, Sato A, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K. Incremental value of tenascin-C and BNP levels for predicting prognosis in patients with dilated cardiomyopathy and decompensated heart failure. *Basic Cardiovascular Science Conference 2008, July 28-31, 2008, Keystone, Colorado, USA*

• Imanaka-Yoshida K, Nishioka T, Onishi K, Tsutsui H, Yoshida T, Hiroe M. Deletion of Tenascin-C prevents left ventricular remodeling and cardiac failure after myocardial infarction. *Basic Cardiovascular Science Conference 2008, July 28-31, 2008, Keystone, Colorado, USA*

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

### < 研究協力者 >

揚山直英

(医薬基盤研究所 長類医科学研究センター)

保富康宏

(医薬基盤研究所 長類医科学研究センター)

今中恭子

(三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学)

吉田利通

(三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学)

## 特発性心筋症におけるフクチン変異の解析

研究協力者 木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授

**研究要旨** 特発性心筋症の一部には明らかな家族歴が認められ、そのような症例についての解析から、これまでに種々の原因遺伝子が報告されている。それらの原因遺伝子の多くはサルコメアあるいはZ帯の構成タンパクをコードしており、それらの原因遺伝子の異なる変異が肥大型心筋症、拡張型心筋症、筋ジストロフィー症などを引き起こす。すなわち、心筋症や筋ジストロフィー症には原因遺伝子上のオーバーラップが存在する。最近、拡張型心筋症、骨格筋異常、高CK血症を呈する複数の症例に福山型筋ジストロフィーの原因遺伝子であるフクチン遺伝子(FKTN)の変異が報告された。そこで本研究では、明らかな骨格筋症状を呈さない肥大型心筋症および拡張型心筋症の症例についてFKTN変異を検索した。その結果、拡張型心筋症の1例に3kb挿入変異とCys101Phe変異の複合ヘテロ接合変異を見出した。当該症例は若年時より原因不明の高CK血症として経過観察中に心機能が低下したものであり、過去に報告された症例のいずれもが高CK血症を呈していたことを考え合わせると、拡張型心筋症に持続する高CK血症を伴う症例ではFKTN変異を検索する必要があると考えられた。

### A. 研究目的

これまでの研究で特発性心筋症、特に肥大型心筋症(HCM)や拡張型心筋症(DCM)では、心筋サルコメアないしZ帯構成要素の遺伝子異常が病因となることが明らかになっている。これまでにHCMでは15種、DCMでは20種を超える原因遺伝子が同定されているが、それらの原因遺伝子の大半は筋ジストロフィー患者においても病因変異が見出されるため、特発性心筋症と筋ジストロフィーには原因遺伝子上のオーバーラップが存在する。筋ジストロフィーのうち福山型筋ジストロフィーは、フクチン遺伝子(FKTN)変異に起因する常染色体性劣性遺伝形式をとり、わが国ではデュシャンヌ型筋ジストロフィーに次いで頻度が高い骨格筋疾患であるが、通常重度の筋症状に加えて精神発達遅滞を伴う。最近、精神発達異常を伴わず、軽度の筋症状とDCMを呈する症例にFKTN変異が見出されることが報告された。そこで、筋症状のない家族性HCM症例およびDCM症例を対象としてFKTN変異を検索することで、特発性心筋症におけるFKTN変異の寄与度および特徴所見を明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

1) DCM症例172名(72名は家族性DCMであり、うち4名は同胞発症例の発端者、68名は同胞発症以外の家族性DCMの発端者、100名は孤発例)、家族性HCM症例144名、健常対照384名を対象

として、PCR法によりFKTN遺伝子内3kb挿入変異を検索した。また、3kb挿入変異を認めた例を含めて72例の家族性DCM症例全員を対象としてFKTN遺伝子の全エクソンおよび周辺イントロンをダイレクトシーケンシング法により解析した。

2) FKTN変異によるDCM症例の筋生検標本はHE染色および免疫組織染色によって病理像を検討した。免疫組織染色にはVIA-4-1抗体(糖鎖付加 $\alpha$ ディストログリカン)および43DAG1/8D5抗体( $\beta$ ディストログリカン)を用いた。

### 【倫理面への配慮】

本研究に関連したヒト遺伝子解析研究は、ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守することとし、東京医科歯科大学難治疾患研究所倫理審査委員会の承認を受けている。[研究課題「肥大型心筋症の病因と病態形成機構の究明に関わる研究」(平成16年4月23日研究計画承認)、「拡張型心筋症の病因と病態形成機構の究明に関わる研究」(平成16年4月23日研究計画承認)、「難治性動脈炎の病因と病態形成機構の究明に関わる研究」(平成16年4月23日研究計画承認)、「心筋梗塞の病因と病態形成機構の究明に関わる研究」(平成16年4月23日研究計画承認)]

### C. 研究結果

1) FKTN遺伝子3kb挿入変異の検索  
家族性DCM症例72名、孤発性DCM症例100



名、家族性 HCM 症例 144 名、健常対照 384 名について、PCR 法による 3kb 挿入変異を検索したところ(図1)、孤発性 DCM 症例 3 名および健常対照 3 名に挿入変異が検出された。

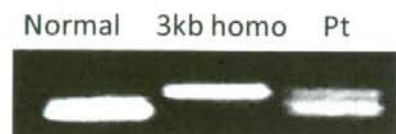


図1. 3kb 挿入変異の検索  
左;正常、中央;福山型筋ジストロフィー患者、  
右;孤発性 DCM 患者

## 2) FKTN 遺伝子のダイレクトシーケンス解析

3kb 挿入変異が検出された 3 名の孤発性 DCM 患者および 3 名の健常対照、また 72 名の家族性 DCM 患者(いずれも 3kb 挿入変異はない)を対象として、FKTN 遺伝子全域についてダイレクトシーケンス法による変異検索を実施したところ、1 名の孤発性 DCM 症例に Cys101Phe 変異(c.302G>T)が見出された(図2)。

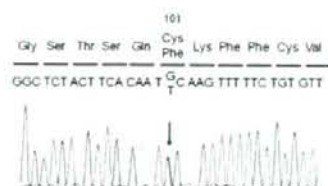


図2. FKTN ミスセンス変異(Cys110Phe)  
↓は変異の位置を示す。上段には塩基配列および  
推定されるアミノ酸配列を示す。

ミスセンス変異が検出された症例(19歳女性)は17歳時より原因不明の高CK血症(6,570 IU/L)を呈していたが、18歳時よりびまん性の左室収縮機能低下(LVEF=38%)を来した症例である。19歳時より心不全症状が出ており、心機能低下(LVEF=41%、LVEDD=53mm、LVESD=43mm、%FS=20%、図3)、骨格筋アトロフィーと持続する高CK血症(2,485 IU/L)が認められている。

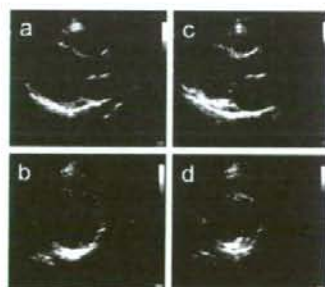


図3. FKTN ミスセンス変異例の心エコー所見

また、骨格筋バイオプシーでは、軽度のジストロフィー所見と著しいαジストログリカンの染色低下が観察された。

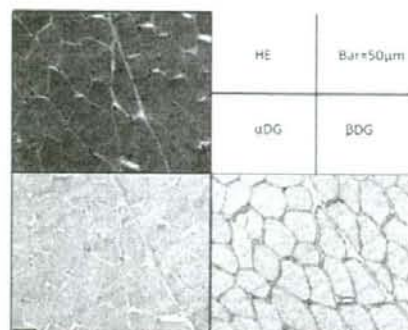


図4. FKTN ミスセンス変異の筋生検所見

一方、家族性 DCM 症例のうち 7 名に exon5 変異(c.608G > A, p.Arg203Gln)あるいは exon8 変異(c.1026C > A, p.Leu342Leu)が検出されたが、これらは既にデータベースに登録されている多型(rs34787999とrs17309806)であった。

## D. 考察

本研究で孤発性 DCM 症例の 1 例が FKTN 遺伝子の 3kb 挿入変異とミスセンス変異(Cys101Phe)の複合ヘテロ接合体であることを見出した。一般的に福山型筋ジストロフィーは精神発達遅滞と乳児期発症の先天性筋ジストロフィーを主徴とし、大半の症例は FKTN 遺伝子 3kb 挿入変異のホモ接合体であるが、一部の重症例は 3kb 挿入変異とミスセンス変異の複合ヘテロ接合体であることが報告されている。最近、精神発達遅滞がなく、軽度の筋ジストロフィーを伴う DCM 症例でも複合ヘテロ接合体変異が報告されている。本研究で見出された症例も先行研究と同様に、精神発達遅滞がない、軽度の筋ジストロフィーを伴う DCM 症例であったが、この症例に見出されたミスセンス変異はこれまでに報告されたものとは異なっていた。また、本症例は原因不明の持続する高CK血症で初発しているが、先行研究の症例も高CK血症を呈していたことから、持続する高CK血症を伴う DCM 症例では FKTN 変異を検索することが必要であると考えられた。

本研究では DCM 症例の一部および健常対照の一部に 3kb 挿入変異が検出されたが、これらはいずれも挿入変異のヘテロ接合体であり、その他の変異は見いだされなかった。先行研究においても、一般日本人集団には 3kb 挿入変異のヘテロ接合体が 0.5%-0.9%程度存在すると報告されていることと一致する所見であった。このことから、FKTN 変異のヘテロ接合体のみでは DCM の原因とはならないと考えられる。

## E. 結論

FKTN 遺伝子複合ヘテロ接合変異は持続する高CK血症を伴う拡張型心筋症の原因となる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Shichi D, Matsumori A, Naruse TK, Inoko H, Kimura A: HLA-DP beta chain may confer the susceptibility to hepatitis C virus-associated hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Immunogenet* 2008; 35(1): 37-43.

2) Hinohara K, Nakajima T, Takahashi M, Hohda S, Sasaoka T, Nakahara K, Chida K, Sawabe M, Arimura T, Sato A, Lee BS, Ban J, Yasunami M, Park JE, Izumi T, Kimura A: Replication of association between a chromosome 9p21 polymorphism with coronary artery disease in Japanese and Korean populations. *J Hum Genet* 2008; 53(4): 357-359.

3) Kimura A: Molecular etiology and pathogenesis of hereditary cardiomyopathy. *Circ J* 2008; 72(Suppl A): A38-48.

4) Arimura T, Hayashi YK, Murakami T, Oya Y, Funabe S, Hirasawa EA, Hattori N, Nishino I, Kimura A: Mutational analysis of fukutin gene in dilated cardiomyopathy and hypertrophic cardiomyopathy. *Circ J* 2009; 73(1): 158-161.

5) Arimura T, Bos MJ, Sato A, Kubo T, Okamoto H, Nishi H, Harada H, Koga Y, Moulik M, Doi YL, Towbin JA, Ackerman MJ, Kimura A: Cardiac ankyrin repeat protein gene (ANKRD1) mutations in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. In Press

6) Kominami S, Tanabe N, Ota M, Naruse T, Katsuyama Y, Nakanishi N, Tomoike H, Sakuma M, Shirato K, Takahashi M, Shibata H, Yasunami M, Chen Z, Kasahara Y, Tatsumi K, Kuriyama T, Kimura A: HLA-DPB1 and NFKBIL1 may confer the susceptibility to chronic thromboembolic pulmonary hypertension in the absence of deep vein thrombosis. *J Hum Genet*, In Press

7) Ueda K, Hirano Y, Higashiuesato Y, Aizawa Y, Hayashi T, Inagaki N, Tana T, Ohya Y, Takishita S, Muratani H, Hiraoka M, Kimura A: Role of HCN4 channel in preventing ventricular arrhythmia. *J Hum Genet*, In Press

### 2. 学会発表

1) Kimura A: Overview: Molecular Pathogenesis of Hereditary Cardiomyopathy. 11<sup>th</sup> Cardiovascular Genomics and Atherosclerosis Symposium. Seoul, Nov.2008.

## G. 知的所有権の出願・登録状況

該当なし