

による評価では、RT dispersion について心疾患による違いは認めなかったが、Tpeak-Tend dispersion について肥大型心筋症では他の心疾患に比して有意に大であった。(表1)

表1. 高分解能心電図によるRT, Tpeak-Tend (Tp-e) dispersion

	n	RT dispersion (msec)	Tp-e dispersion (msec)
HCM	48	78±28	71±26
DCM	147	77±26	54±25**
ARVC	9	59±28	31±22**
他の心筋症	52	75±25	55±26*
虚血性心疾患	92	82±33	59±25**

\*p<0.05, \*\*P<0.01 vs HCM

一方、加算化平均心電図による評価では、他の心疾患に伴うハイリスク患者と異なり、肥大型心筋症では心室遅延電位 (Late potential) の存在が明確には示されなかった。(表2)

表2. 加算化平均心電図によるLate potential

	n	f-QRS (msec)	RMS 40 (μV)	LAS 40 (msec)
HCM	48	131±31	53±56	30±15
DCM	147	164±45**	24±24**	48±55**
ARVC	9	193±49**	13±12**	58±30*
他の心筋症	52	204±255**	29±32**	44±31*
虚血性心疾患	92	158±45**	26±24**	45±28**

\*p<0.05, \*\*P<0.001 vs HCM

#### D. 考察

突然死のリスクを有する患者において、基礎心疾患により不整脈基質が異なる可能性がある。肥大型心筋症では、貫壁性再分極時間のばらつきが指摘されていたが、臨床で使用可能な指標が乏しく、なかなかリスク層別化にこの問題は応用されてこなかった。今回、高分解能心電図にて肥大型心筋症ではTpeak-Tend dispersionが有意に大であったことから貫壁性再分極時間のばらつきを基質とするリエントリーが示唆された。また、肥大型心筋症の新たなリスク指標として高分解能心電図による Tpeak-Tend dispersion のさらなる検討が望まれる。

#### E. 結論

突然死ハイリスクの肥大型心筋症患者における心室性不整脈機序として貫壁性再分極時間のばらつきを基質と

するリエントリーが示唆される。

(参考文献)

- 1) 肥大型心筋症の診療に関するガイドライン (2012年改訂版). 日本循環器学会ホームページ公開, 2012
- 2) Yi G, Poloniecki J, Dickie S, et al. Is QT dispersion associated with sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy? *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2001;6: 209-15
- 3) Uchiyama K, Hayashi K, Fujino N, et al. Impact of QT variables on clinical outcome of genotyped hypertrophic cardiomyopathy. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2009;14:65-71
- 4) Yi G, Poloniecki J, Dickie S, et al. Can the assessment of dynamic QT dispersion on exercise electrocardiogram predict sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy? *Pacing Clin Electrophysiol* 2000;23:1953-6
- 5) Shimizu M, Ito H, Okeie K, et al. T-peak to T-end interval may be a better predictor of high-risk patients with hypertrophic cardiomyopathy associated with a cardiac troponin I mutation than QT dispersion. *Clin Cardiol* 2002;25:335-9
- 6) Suzuki A, Shiga T, Nakai K, et al. Interlead difference between T-peak to T-end intervals in resynchronization patients with an implantable cardioverter-defibrillator. *J Electrocardiol* 2010;43:706-12

研究協力者：鈴木 敦、萩原誠久

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Hattori H, Minami Y, Mizuno M, Yumino D, Hoshi H, Arashi H, Nuki T, Sashida Y, Higashitani M, Seizawa N, Yamada N, Yamaguchi J, Mori F, Shiga T, Hagiwara N. Differences in hemodynamic responses between intravenous carperitide and nicorandil in patients with acute heart failure syndromes. *Heart Vessels* 2012 in press
2. Nagashima M, Hagiwara N, Koyanagi R, Yamaguchi J, Takagi A, Kawada-Watanabe E, Shiga T, Ogawa H. Chronic kidney disease and long-term outcomes of myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2012 in press

3. Ushijima K, Maekawa T, Ishikawa-Kobayashi E, Ando H, Shiga T, Fujimura A. Influence of beta-blockers on the myocardial mRNA expressions of circadian clock- and metabolism-related genes. J Am Soc Hypertens 2013 in press

## 2. 学会発表

1. 矢崎恭一郎, 鈴木敦, 志賀剛, 八代文, 江島浩一郎, 鈴木豪, 眞中哲之, 庄田守男, 萩原誠久. Impact of Heart Rate on the Occurrence of Life-Threatening Arrhythmia in Heart Failure Patients with Cardiac Resynchronization Therapy. 第77回日本循環器学会学術集会 2013.03.15
2. 小木曾正隆, 鈴木敦, 志賀剛, 八代文, 江島浩一郎, 鈴木豪, 眞中哲之, 庄田守男, 中居賢司, 笠貫宏, 萩原誠久. Effect of Intravenous Amiodarone on Transmural Heterogeneity of Ventricular Repolarization in Non-ischemic Heart Failure Patients with Cardiac Resynchronization Therapy. 第77回日本循環器学会学術集会 2013.03.15
3. 鈴木敦, 志賀剛, 八代文, 江島浩一郎, 鈴木豪, 眞中哲之, 庄田守男, 中居賢司, 笠貫宏, 萩原誠久. Long-term Effect of Cardiac Resynchronization Therapy on T peak to T end intervals in Patients with Cardiac Resynchronization Therapy Device. 第77回日本循環器学会学術集会 2013.03.15
4. 志賀剛, 鈴木敦, 庄田守男, 萩原誠久. Treatment target to prevent the occurrence of life-threatening arrhythmia in patients with impaired left ventricular function. 第77回日本循環器学会学術集会 2013.03.15
5. 鈴木敦, 志賀剛, 江島浩一郎, 眞中哲之, 庄田守男, 中居賢司, 笠貫宏, 萩原誠久. 除細動器付き両室ペーシング治療を行った非虚血性心疾患患者における再分極異常と致死性不整脈との関連性. 第60回日本心臓病学会学術集会 2012.09.15

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））  
分担研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

一心筋症および不整脈における SLMAP 遺伝子解析：SLMAP 変異は Brugada 症候群の原因となる一

研究協力者：木村 彰方（東京医科歯科大学 難治疾患研究所）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来の個別研究に加え、サブグループ研究班の計画および遂行を進めた。前年度に引き続き、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の解析準備などを進めた。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者を含む心不全患者を対象にした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

心筋症や不整脈の一部は遺伝子変異に起因することが知られているが、それぞれの疾患の病因となる原因遺伝子の全貌は不明である。我々はこれまでに、肥大型心筋症および拡張型心筋症の原因遺伝子を多数発見して来ており、現時点での原因遺伝子数は、肥大型で25種を超え、拡張型では30種を超えている。しかしながら、我々の体系的解析の結果では、明らかな家族歴を認める症例に限っていても、肥大型心筋症では約60%、拡張型心筋症では約20%で病因変異が発見されるに過ぎず、これら以外にも未知の原因遺伝子が多数存在すると考えられる。一方で、心筋症には不整脈が合併することがよく知られており、その一部は遺伝子変異に起因する。例えば、我々が最近報告したように、ZASP変異に起因する拡張型心筋症には心室性不整脈が合併するが、その分子機序としてNav1.5チャネルの機能異常を報告している。一方、右側胸部誘導のST上昇所見を呈し、時に心室性不整脈による突然死を来すブルガダ症候群でも、病因としての遺伝子異常の関与が知られており、SCN5A(Nav1.5チャネル)を始めとする12種の原因遺伝子が報告されている。しかしながら、それらの原因遺伝子に変異が見出される症例は約30%程度に過ぎず、不整脈についても新たな原因遺伝子の探索が必要である。そこで本研究では、候補遺伝子アプローチによる新規の心筋症あるいは不整脈原因遺伝子の同定を目的とした。

B. 研究方法

1. 対象患者：心筋症については、明らかな家族性があり、かつこれまでに原因となる遺伝子変異を認めない日本人肥大型心筋症患者96名、拡張型心筋症患者72名を対象とした。不整脈については、これまでに変異が見出されていない日本人QT延長症候群患者55名と、SCA5A変異陰性のブルガダ症候群患者190名（日本人85名、韓国人3名、欧米人102名）を対象とした。

2. 候補遺伝子解析：機能不明なサルコレンマタンパクをコードするSLMAP遺伝子の全コーディング領域の変異を、ダイレクトシーケンシング法により検索した。見出された変異については、健常者集団（380名）における有無を確認するとともに、種々の動物についてSLMAPのアミノ酸配列を当該領域について比較することで、進化上保存されている部位の変異かどうかを検討した。

3. 機能解析：変異遺伝子をSCA5A遺伝子と共にHEK293、H9c2、tsA-201細胞に導入し、Nav1.5の細胞内局在の変化および電気生理学的機能を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究には、心筋症あるいは不整脈の患者と血縁者を対象とした遺伝子解析研究が含まれるが、それらはヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針に従って遂行することとして、東京医科歯科大学難治疾患研究所倫理審査委員

会に研究計画を提出し、その承認を受けている(「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(研究代表者:木村彰方)」、「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(研究代表者:木村彰方)」、「難治性不整脈の病因と病態形成機構の究明に関わる研究(研究代表者:木村彰方)」いずれも平成21年4月9日付承認)。また、本研究に関連する組換えDNA実験「難治性疾患の病因と病態形成機構の究明に関する研究(研究代表者:木村彰方、承認番号2008-13、平成20年5月2日付承認)」および動物実験「循環器病・難治性疾患の発症・進展に関わる遺伝学的研究(研究代表者:木村彰方、承認番号10040、平成21年9月3日付承認)」についても、それぞれ学内委員会による承認を受けている。

### C. 研究結果

1. SLMAP 遺伝子変異の検索: SLMAP 遺伝子の全域(全25エクソン)についてダイレクトシーケンシングによる変異検索を行ったところ、肥大型心筋症、拡張型心筋症およびQT延長症候群の患者には、健常者集団にも存在する遺伝的多型は認めるものの、病因となる変異は見出されなかった。一方、Brugada 症候群については、健常者集団には存在しない2種類のミスセンス変異(Val269Ile および Glu710Ala; 以後 V269I および E710A と表記)がそれぞれ1名ずつの日本人患者に見出された(図1)。

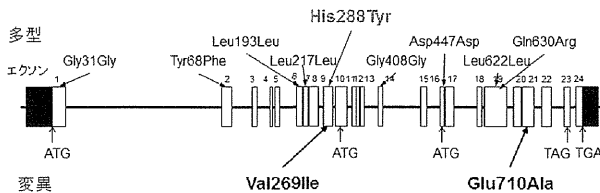


図1 SLMAP 遺伝子構造と検出された変異

これらの変異はいずれも SLMAP の進化上よく保存されたアミノ酸の置換を伴うものであり(図2)、データベース登録されていず、PolyPhen-2 による予測で damaged change と判定されたため、病因変異であると考えられた。

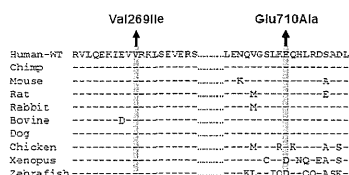


図2 SLMAP 配列の種間比較と変異

2. SLMAP 変異の機能解析: SLMAP 変異はいずれも Brugada 症候群患者に見出されたこと、Brugada 症候群では Nav1.5 チャネルの機能低下が報告されている。また、SLMAP には複数のアイソフォームがあるが、ことに C 末の膜貫通ドメインに2種類(TM1 および TM2)があり、C 末ドメインの違いでミトコンドリアへの分布が異なることが報告されている。そこで、TM1、TM2 それぞれのドメインを有する SLMAP3(full-length form) を作製し、Nav1.5 をコードする SCN5A とともに HEK293 細胞に遺伝子導入した。これらのコンストラクトでは、SLMAP、Nav1.5 にそれぞれ標識をつけており、細胞内および細胞表面での分布を検討した。その結果、V269I、E710A のいずれともが、TM1、TM2 ドメイン構造によらず、Nav1.5 の細胞質内での貯留をもたらし、細胞表面での発現を減弱させた(図3)。

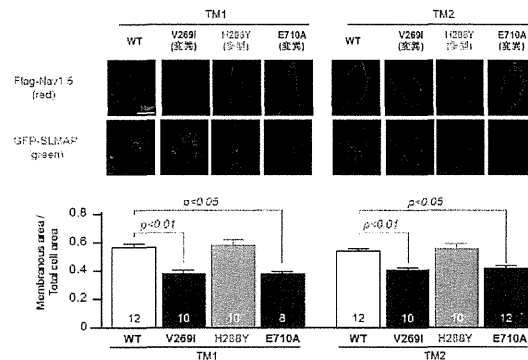


図3 SLMAP 変異による Nav1.5 細胞内輸送障害

ついで、siRNA を用いた SLMAP 発現抑制を行った上で、上記の実験を実施した。その結果、変異 SLMAP を抑制すると、Nav1.5 の細胞表面の発現が回復した(図4)。このことは、Nav1.5 の細胞内輸送障害が SLMAP 変異によるものであることを示す。

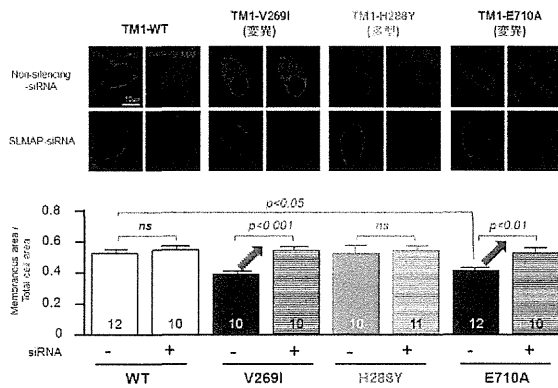


図4 siRNA による SLMAP 発現抑制の効果

さらに、SLMAP 変異による Nav1.5 チャネル機能阻害を電気生理学的に確認した。正常もしくは変異 SLMAP を SCN5A とともに tsA-20 細胞 (HEK293 由来の細胞株) に導入し、パッチクランプ法によって内向き Na 電流 ( $I_{Na}$ ) を測定したところ、予想どおり、変異 SLMAP は  $I_{Na}$  を低下させた (図 5)。

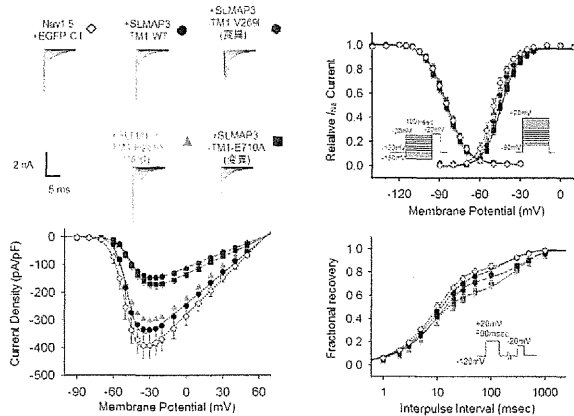


図 5. SLMAP 変異の電気生理学的機能解析

#### D. 考察

本研究は Brugada 症候群の第 13 番目の原因遺伝子を同定したものである。本研究によって、これまで機能が不明であった SLMAP が Nav1.5 の細胞内輸送に関わること、SLMAP 変異が Nav1.5 の細胞内輸送障害を来し、結果として  $I_{Na}$  を低下させることで Brugada 症候群の原因となることを明らかにした。SLMAP 変異がいかなる分子機序で Nav1.5 の細胞内輸送障害をもたらすかについては、不明な点が多い。我々は SLMAP と Nav1.5 との間に直接の結合はないことを見出しており、これらの分子の相互作用を仲介する分子が存在することが示唆される。我々は ZASP 変異が Nav1.5 の機能低下をもたらすことをごく最近に報告したが、ZASP と Nav1.5 との間にも直接の結合はなく、大きな複合体を構成しているものと考えられるため、SLMAP もこの複合体の構成要素であることが示唆される。

SLMAP 変異は日本人患者の 85 名中 2 名 (2.4%) に見出されたが、白人患者 102 名中には変異陽性者がいなかった。この知見は原因遺伝子変異の分布に人種差があることを示すが、日本人における Brugada 症候群の有病率が白人の約 5~10 倍にも上ることと合わせて考えると極めて興味深いものである。

#### E. 結論

新規の Brugada 症候群原因遺伝子として SLMAP 変異を同定した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Xi Y, Ai T, De Lange E, Li Z, Wu G, Brunelli L, Kyle WB, Cheng J, Ackerman MJ, Kimura A, Weiss JN, Qu Z, Kim JJ, Faulkner G, Vatta M. Loss-of-function of hNav1.5 by ZASP1-D117N associated with intraventricular conduction disturbances in left ventricular noncompaction. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 5(5): 1017-1026, 2012.
- 2) Sato A, Sakamoto N, Ando K, Kaneshiro T, Uekita H, Sugimoto K, Yamaki T, Kunii H, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh S, Sato M, Tamagawa K, Arimura T, Kimura A, Takeishi Y. Dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy caused by two different sarcomere mutations, treated with surgical left ventricular reconstruction and cardiac resynchronization therapy with a defibrillator. *Intern Med.* 51(18): 2559-2564, 2012.
- 3) Ishikawa T, Sato A, Marcou CA, Tester DJ, Ackerman MJ, Crotti L, Schwartz PJ, On YK, Park JE, Nakamura K, Hiraoka M, Nakazawa K, Sakurada H, Arimura T, \*Makita N, Kimura A. A novel disease gene for Brugada syndrome: sarcolemmal membrane-associated protein gene mutations impair intracellular trafficking of hNav1.5. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 5(6): 1098-1107, 2012.
- 4) Ishikawa T, Takahashi N, Ohno S, Sakurada H, Nakamura K, On YK, Park JE, Makiyama T, Horie M, Arimura T, Makita N, Kimura A. Novel SCN3B mutation associated with Brugada syndrome affects intracellular trafficking and function of Nav1.5. *Circ J.* 77(4): 959-967, 2013.

##### 2. 学会発表

- 1) Arimura T, Bonne G, Kimura A: Impact of testosterone on progression of dilated cardiomyopathy in a Lmna-mutation knock-in mouse model. The 9th Japanese-French Symposium for "Muscular Dystrophy", September 8, 2012, Tokyo, Japan.
- 2) 有村卓朗, 石川泰輔, 木村彰方: 肥大型心筋症および拡張型心筋症におけるタイチン A/M 帯変異の意義. 第 57

回日本人類遺伝学会, 2012年10月26日, 東京.

3)石川泰輔, 佐藤光希, 有村卓朗, 蒔田直昌, 木村彰方: ブルガダ症候群患者に見出されたSLMAP変異とその機能解析. 第57回日本人類遺伝学会, 2012年10月26日, 東京.

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））  
分担研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

—選択的筋小胞体 Ca 取り込み能修飾の筋小胞体 Ca リークへの影響—

研究協力者：吉村 道博（東京慈恵会医科大学 循環器内科）

研究要旨

心筋収縮力調節に重要な細胞内 Ca 濃度変化は、筋小胞体内 Ca 貯蔵量に依存している。筋小胞体内 Ca 貯蔵量は、筋小胞体への Ca 取り込みと筋小胞体からの Ca リークとのバランスにより成り立っている。Ca 取り込みには Ca 取り込みポンプ（SERCA）活性が、Ca リークには Ca 放出チャネル（RyR）機能が重要であるが、両者の直接的な影響についてはこれまで明らかにされていない。本研究では、選択的に SERCA 機能を修飾した遺伝子改変マウスを用いて、SERCA 機能と Ca リークとの関連につき検討した。SERCA 機能を心臓特異的に亢進または減弱したモデルマウスにおいて、筋小胞体からの Ca リークには有意な変化は認めず、選択的 SERCA 機能修飾は Ca リークには影響を与えないことが明らかとなった。

A. 研究目的

心筋収縮に重要な細胞内 Ca 濃度調節に、細胞内 Ca 貯蔵所である筋小胞体からの Ca 放出が重要な役割を果たしている。筋小胞体内の Ca 貯蔵量の調節は、筋小胞体への Ca 取り込みと筋小胞体からの Ca リークとのバランスにより成り立っている。Ca 取り込みには Ca 取り込みポンプである SERCA の活性が、Ca リークには Ca 放出チャネルであるリアノジン受容体（RyR）の機能が重要であるが、両者の直接的な影響については不明な点が多い。本研究では、界面活性剤であるサポニンを用いた左室多細胞標本に適用したスキンド標本による筋小胞体機能測定法と、遺伝子改変により選択的に SERCA 機能を修飾したトランスジェニックマウスを用いて、SERCA 機能修飾の Ca リークへの直接的な影響につき検討を行った。

B. 研究方法

SERCA 機能を選択的に亢進するモデルとして心臓特異的 SERCA 過剰発現マウス（SERCA-TG）を、選択的に減弱するモデルとして心臓特異的 SERCA 機能抑制蛋白サルコリピン（SLN）過剰発現マウス（SLN-TG）を用いて実験を行った。筋小胞体機能評価には、マウス左室より細い乳頭筋または肉柱を摘出し、界面活性剤サポニンにより細胞表層膜のみを除去し、細胞内膜系を温存したサポニンスキンド標本を用いた。細胞内 Ca 濃度と収縮張力の同時

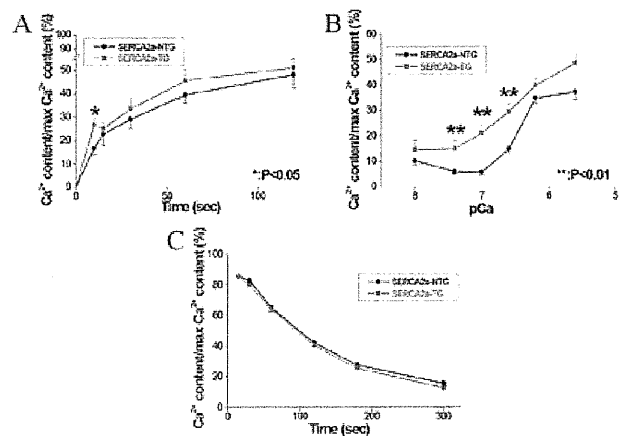
測定には、左室乳頭筋標本に発光蛋白エクオリン法を適用した。

（倫理面への配慮）

本研究は、東京慈恵会医科大学動物実験委員会の承認を得た上で、学内および NIH 発行の動物実験ガイドラインに遵守して行った。

C. 研究結果

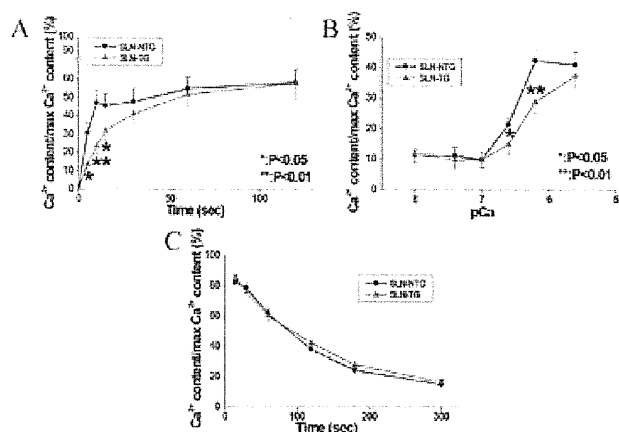
エクオリン法による実験では、SERCA-TG マウス心筋で、左室乳頭筋標本における細胞内 Ca 濃度変化と収縮張力に有意なピークの増大と時間経過の短縮が認められた。



筋小胞体機能評価の実験では、筋小胞体への Ca 取り込みの有意な亢進が確認されたが（上図 A、B）、筋小胞体か

らの Ca リークについては、SERCA-TG とコントロールマウスとの間で有意な差は認められなかった（上図 C）。

一方、SLN-TG マウス心筋では、細胞内 Ca 濃度変化と収縮張力には有意な減少及び時間経過の延長が認められた。



筋小胞体への Ca 取り込みには有意な低下が認められたが（上図 A、B）、Ca リークについては、SLN-TG でもコントロールとの間に有意な差は認めなかった（上図 C）。

#### D. 考察

本研究結果より、選択的 SERCA 機能修飾は、細胞内 Ca 濃度変化を介して収縮張力を調節しているが、これには筋小胞体からの Ca リークは関与していないことが明らかとなった。

#### E. 結論

選択的 SERCA 機能修飾は筋小胞体からの Ca リークには影響を与えない。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Anzawa R, Seki S, Nagoshi T, Taniguchi I, Feuvray D, Yoshimura M. The role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger in Ca<sup>2+</sup> overload and ischemic myocardial damage in hearts from type 2 diabetic db/db mice. *Cardiovasc Diabetol* 2012;11(1):33.
- 2) Ito K, Kawai M, Nakane T, Narui R, Hioki M, Tanigawa SI, Yamashita S, Inada K, Matsuo S, Date T, Yamane T, Yoshimura M. Serial measurements associated with an amelioration of acute heart failure: an analysis of repeated quantification of plasma BNP

levels. *Eur Heart J: Acute Cardiovascular Care* 2012;1(3):240-7.

3) Nagoshi T, Date T, Fujisaki M, Yoshino T, Sekiyama H, Ogawa K, Kayama Y, Minai K, Komukai K, Ogawa T, Yoshimura M. Biphasic action of aldosterone on Akt signaling in cardiomyocytes. *Horm Metab Res* 2012;44(13):931-7.

4) Sekiyama H, Nagoshi T, Komukai K, Matsushima M, Katoh D, Ogawa K, Minai K, Ogawa T, Yoshimura M. Transient decrease in serum potassium level during ischemic attack of acute coronary syndrome: Paradoxical contribution of plasma glucose level and glycohemoglobin. *Cardiovasc Diabetol* 2013;12(1):4

5) Kawai M, Yoshimura M, Harada M, Mizuno Y, Hiramitsu S, Shimizu M, Shoda T, Kuwahara K, Miyagishima K, Ueshima K, Nakao K. Determination of the B-type natriuretic peptide level as a criterion for abnormalities in Japanese individuals in routine clinical practice: The J-ABS Multi-Center Study (Japan Abnormal BNP Standard). *Intern Med* 2013;52(2):171-7.

6) Ito K, Date T, Ogawa K, Arase S, Minai K, Komukai K, Yagi H, Kawai M, Aoyama N, Taniguchi I, Narui R, Hioki M, Tanigawa SI, Yamashita S, Inada K, Matsuo S, Yamane T, Yoshimura M. Transient increase in blood pressure after the Great East Japan Earthquake in patients with hypertension living around Tokyo. *Int J Cardiol* 2013;162(3):258-60.

#### 2. 学会発表

1) Morimoto S, Hongo K, Kusakari Y, Komukai K, Kawai M, Yoshimura M, Kurihara S. Selective modulation of SERCA did not affect Ca<sup>2+</sup> leak from sarcoplasmic reticulum in transgenic mouse models. American Heart Association Scientific Sessions 2012.

#### G. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

特に無し。

##### 2. 実用新案登録

特に無し。

##### 3. その他

特に無し。

<研究協力者>本郷賢一、森本 智



# 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）） 分担研究報告書

## 特発性心筋症に関する調査研究

—潜在的左室流出路狭窄が確認された肥大型心筋症の予後調査研究—

研究協力者：平山 篤志（日本大学医学部 内科学系 循環器内科学分野）

### 研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来の個別研究に加え、サブグループ研究班の設立に向けて、計画を進めた。具体的には、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の状況などを検討する予定である。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者及び家族に対するセミナーを開催した。

### A. 研究目的

肥大型心筋症の中には、労作あるいは左室容量が減少するような条件が加わったときにのみ左室流出路狭窄を呈する症例があることが知られている。この潜在性左室流出路狭窄を呈する肥大型心筋症は、常時狭窄が認められる閉塞性肥大型心筋症と同様に、薬物治療もしくは経皮的心室中隔焼灼術などの非薬物治療により積極的に左室流出路の圧較差を軽減するべきかどうか十分なエビデンスはなく、いまだ議論がなされているところである。また、潜在性左室流出路狭窄を呈する肥大型心筋症の予後について、閉塞性もしくは非閉塞性肥大型心筋症と比較したデータは少なく、治療方針の統一化がなされていない一因となっている。

### B. 研究方法

2010年4月1日以降、当科を受診した肥大型心筋症患者で、本研究の趣旨に賛同され、同意書が取得できた全患者を登録する。登録後、経胸壁心臓超音波検査、ドプタミン負荷心臓超音波検査、およびGadolinium造影心臓MRIを施行する。心臓超音波検査は左室収縮機能、拡張機能、不均等な心筋肥大の評価、僧帽弁機構の収縮期前方運動（SAM）、左室流出路における左室駆出血流速波形を記録し、最大血流速度、最大圧較差を計測した。心臓MRIではGadoliniumにより心筋の造影を行い、特に遅延相にお

ける心筋組織の線維化を評価する。

統計学的解析方法は、登録された患者の基本情報、診断、背景、現症および検査をもとに記述統計量を算出する。連続データは正規性を仮定できる場合には平均値（標準偏差）で、正規性を仮定できない場合には中央値（四分位範囲）で要約する。非連続データは頻度で要約する。また、母平均、母中央値、母比率の区間推定（95%）を行う。

また、患者情報は匿名化し個人の特定につながらないように配慮する。

### C. 研究結果

2012年12月31日までに96名の登録を行った。うち非閉塞性肥大型心筋症64名中38名(59.4%)で潜在的左室流出路狭窄が確認された。負荷試験による左室流出路の圧較差増大を既定する予測因子は、安静時における胸部圧迫感の出現、意識消失の既往、および形態的には不完全なSAMであった。また、心臓MRI検査ではGadoliniumによる造影の遅延相(LGE)を認め、心筋の線維化が示唆され、肥大型心筋症の拡張相への移行期と判断される症例が全体で25名おり、負荷をかけても左室流出路狭窄が誘発されない症例の中には13名認めた。予後については2013年4月現在経過観察中であり、3年間の経過を観察する予定である。

## D. 考察

これまで肥大型心筋症においては左室流出路狭窄が予後不良因子とされており、逆に非閉塞性肥大型心筋症の予後は比較的良好であると考えられてきた。しかし、そのような症例の中には負荷をかけてはじめて左室流出路に狭窄を認める潜在性左室流出路狭窄を呈する肥大型心筋症が少なからず存在することが判明した。これらの症例は何かの症状を訴える頻度が高く、その予後についても閉塞性肥大型心筋症と同等である可能性がある。

また、一方で、顕在性もしくは潜在性の左室流出路狭窄を認めない症例の中に、Gadolinium 造影心臓 MRI により肥大型心筋症の拡張相に移行しつつある症例が混在していることが判明した。つまり、肥大型心筋症の予後は、顕在性もしくは潜在性の流出路狭窄がなくとも、心筋の線維化による拡張相への移行期である場合には不良である可能性がある。

2013年3月31日で登録期間が終了したため、今後はこれらのコホートにつき、その予後調査を行う。

## E. 結論

非閉塞性肥大型心筋症の約 60%で潜在性左室流出路狭窄が観察された。また、心臓 MRI により拡張相への移行期である症例も見つかり、これらは流出路狭窄がなくともその予後は不良であると推測される。今後は、このコホートを追跡調査し、心臓の形態的特徴および心筋の性状などと、予後の関連について調査していく。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

現時点で報告はしていない。

### 2. 学会発表

現時点で報告はしていない。

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

特許の申請はしていない。

### 2. 実用新案登録

実用新案登録はしていない。

### 3. その他

特記事項はない。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））  
分担研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

—心室リモデリングの分子メカニズムの解明と治療—

研究協力者：今中 恭子

（三重大学大学院医学系研究科 修復再生病理学・三重大学 マトリックスバイオロジー研究センター）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来の個別研究に加え、サブグループ研究班の計画および遂行を進めた。前年度に引き続き、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の解析準備などを進めた。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者を含む心不全患者を対象にした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は心室リモデリングを抑制するが、その詳細な作用メカニズムは不明である。リモデリンをおこした心筋の病理組織は心筋細胞肥大と間質の線維化を特徴とするが学的変化、線維化の進展には renin-AngiotensinII(Ang II)-aldosterin 系(RAAS)を介した炎症が関与することが知られている。そこで、炎症・線維化を制御する鍵分子の一つ、tenascin-C (TN-C) に注目し、AngII 投与ラットモデルを用いて ANP の効果とその作用機序について検討し、線維化進展の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

① *in vivo* 実験

8週齢の Wistar-Kyoto ラットを Group1: 薬物非投与コントロール(N=10)、 Group2: 浸透圧ミニポンプにより Ang II(1 $\mu$ g/kg/min) 14日間投与 (AngII 投与群、N=10)、 Group3: 浸透圧ミニポンプにより Ang II(1 $\mu$ g/kg/min) + 持続的経静脈的に ANP 0.1 $\mu$ g/kg/min 14日間投与 (AngII+ANP 投与群、N=10)、 Group4: 持続的経静脈的に ANP のみ 0.1 $\mu$ g/kg/min 14日間投与 (ANP 投与群、N=5) の4群に分け、収縮期血圧、体重の測定 (day 0、3、6、10、14)、心エコー (day 0、14) を行い、day 14

に犠牲剖検し、心臓を採取してパラフィン標本を作製し、心筋細胞横径の計測)、 Sirius Red 染色標本を Scion image による線維化率の算出および、CD68 (マクロファージ)、 Tenascin-C (TN-C) の免疫染色を行った。同時に、RNA を抽出し、定量 RT-PCR により、CollagenI、III、TGF $\beta$  1、MCP-1、TNC、BNP、ANP、ET-1 の発現変化を検討した。

② *in vitro* 実験

8週齢の Wistar-Kyoto ラットから心臓線維芽細胞を分離培養し、Ang II による Tenascin-C の発現を定量 RT-PCR により評価し、それに対する、ANP, endotehilinI(ET-1), endotehilin 受容体拮抗剤作用させ、シグナルカスケードについて検討した。

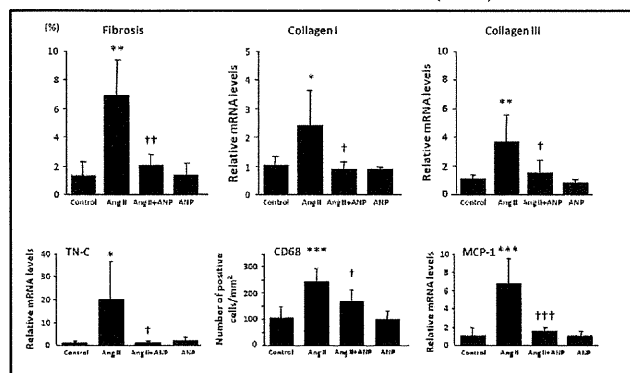
(倫理面への配慮)

本研究の実験計画書は三重大学動物実験審査等委員会に提出し承認を得た。

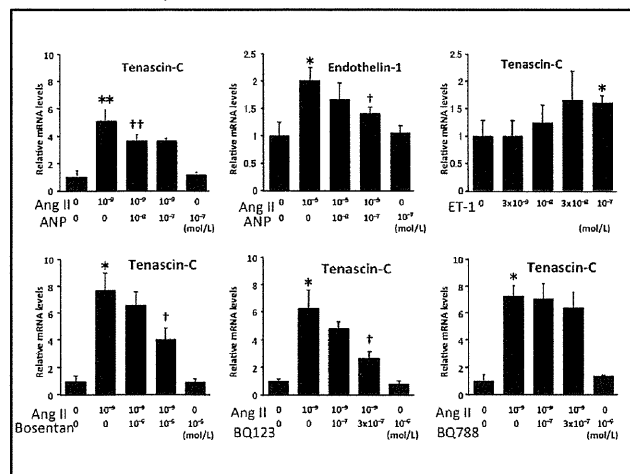
C. 研究結果

AngII 投与により、血圧の上昇が認められたが、AngII 群と AngII+ANP 群で血圧の差はなかった。心エコーでは AngII 投与により左室壁肥厚、左室拡張能の有意な低下が認められ、ANP 投与によりそれらの改善傾向が認められ

た。また組織学的検討では AngII 投与による有意な線維化率の増加、炎症を反映する CD-68 陽性細胞数の増加、心筋細胞の肥大が認められ、これらは ANP 投与により有意に抑制された。また、AngII 投与により TN-C の染色性が高まり、ANP 投与により低下した。RT-PCR による検討では、線維化関連分子 Collagen I、III、TGFB1、TNC、ET-1 の発現が増加し、ANP 投与により低下した。また、AngII により炎症の指標となる MCP-1、TN-C の発現が増加し、ANP 投与により有意に低下した(下図)。



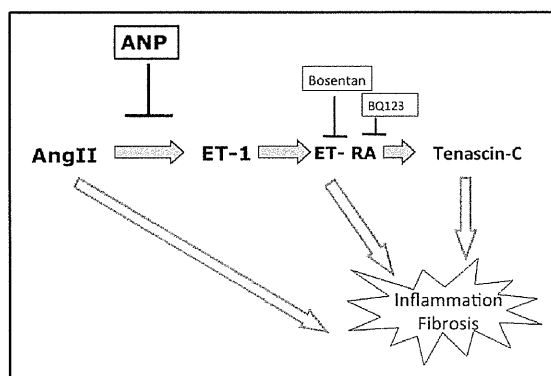
培養系で、AngII は、TN-C の産生を増加させ、ANP はそれを有意に抑制した。ANP は AngII による ET-1 の発現誘導を抑制し、ET-1 は TN-C の産生を増加させ、AngII による TN-C の発現誘導は、ET-I 受容体阻害剤(Bosentan), ET-I A 型受容体阻害剤 (BQ123) で抑制され、B 型受容体阻害剤 (BQ788) では変化が見られなかった。(下図)



#### D. 考察

Ang II 投与により、ラット心臓に心筋細胞肥大と間質コラーゲン量の増加とともに、TN-C 発現、マクロファージ浸潤が惹起された。ANP は Ang II 負荷による心筋細胞肥大、線維化、ならびに炎症反応を抑制し、心機能を改善した。線維化は炎症と連続した組織修復反応のひとつであり、

多彩なマトリックス分子が次々と産生、沈着、分解を繰り返す多段階反応である。その中の一つ、TN-C は、炎症特異的に一過性に発現し、活動性炎症のマーカーになるだけでなく、多彩な機能を持ち、マクロファージの遊走やサイトカイン産生を増強するなど炎症の制御に関わることが明らかになっている。そこで、本研究では炎症増強因子 TN-C の発現制御に注目した。Ang II は、培養系で心臓線維芽細胞の TN-C 発現を増加させ、ANP はそれを抑制した。Ang II は、肥大因子、線維化促進因子で、最近、炎症制御因子として注目されている ET-1 の産生を促進し、ANP はそれを抑制することが以前の報告で明らかになっているため、Ang II の下流にある候補分子として ET-1 の関与を予測した。ET-1 は、線維芽細胞の TN-C 発現を増加させ、Ang II による TN-C 発現は、ET-1 受容体阻害剤、ET-I A 型受容体阻害剤 (BQ123) で抑制されたが、B 型受容体阻害剤では変化が見られなかったため、AngII の下流で ET-1 は ET-IA 型受容体を介して TN-C 産生をあげることにより、炎症・線維化反応を増強し、ANP は少なくとも一つには ET-1 産生をおさえることにより、炎症線維化をおさえ、心臓保護作用を示す可能性が示唆された(下図)。



#### E. 結論

ANP は ET-1/ETR-A/TN-C を抑制することにより、心室リモデリングモデルを抑制すると考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Fujita, S., Shimojo, N., Terasaki, F., Otsuka, K., Hosotani, N., Kohda, Y., Tanaka, T., Nishioka, T., Yoshida, T., Hiroe, M., Kitaura, Y., Ishizaka, N., and Imanaka-Yoshida, K. *Atrial natriuretic peptide exerts protective action against angiotensin*

*II-induced cardiac remodeling by attenuating inflammation via endothelin-1/endothelin receptor A cascade.* *Heart Vessels.* 2013 (Epub ahead of print)

- 2) Nakajima, Y., Imanaka-Yoshida, K. *New insights into developmental mechanisms of coronary vessels and epicardium.* *Int Rev Cell Mol Biol.* 303; 263-317, 2013
- 3) Taki, J., Wakabayashi, H., Inaki, A., Imanaka-Yoshida, K., Hiroe, M., Ogawa, K., Morooka, M., Kubota, K., Shiba, K., Yoshida, T., and Kinuya, S. *14C-Methionine Uptake as a Potential Marker of Inflammatory Processes After Myocardial Ischemia and Reperfusion.* *J Nucl Med.* 54: 431-6, 2013
- 4) Sato, A., Hiroe, M., Akiyama, D., Hikita, H., Nozato, T., Hoshi, T., Kimura, T., Wang, Z., Sakai, S., Imanaka-Yoshida, K., Yoshida, T., and Aonuma, K. *Prognostic value of serum tenascin-C levels on long-term outcome after acute myocardial infarction.* *J Card Fail.* 18: 480-6, 2012
- 5) Imanaka-Yoshida, K. *Tenascin-C in cardiovascular tissue remodeling.* *Circ J.* 76: 2513-20, 2012
- 6) Okamoto, H. and Imanaka-Yoshida, K. *Matricellular proteins: new molecular targets to prevent heart failure.* *Cardiovasc Ther.* 30: e198-209, 2012
- 7) Tajiri, K., Imanaka-Yoshida, K., Matsubara, A., Tsujimura, Y., Hiroe, M., Naka, T., Shimojo, N., Sakai, S., Aonuma, K., and Yasutomi, Y. *Suppressor of cytokine signaling 1 DNA administration inhibits inflammatory and pathogenic responses in autoimmune myocarditis.* *J Immunol.* 189: 2043-53, 2012]

## 2. 学会発表

- 1) Machino-Ohtsuka T, Tajiri K, Hiroe M, Yasutomi Y, Aonuma K, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K. Tenascin-C aggravates myocardial inflammation in experimental autoimmune myocarditis in mice. American Society for Cell Biology Meeting 52th Annual Meeting. 2012年12月15-19日, San Francisco
- 2) Shimojo N, Hashizume R, Nishioka T, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K. Knockout of tenascin-C relieves cardiovascular fibrosis induced by angiotensin II and suppresses macrophage infiltration in mice. The 29th annual meeting of the international society for heart research Japanese section. 2012年10月26-27日, Fukuoka
- 3) Hiroe M, Ageyama N, Yasutomi Y, Kurosaw H, Fujimoto O, Arano Y, Imanaka-Yoshida K. Inflammation imaging in the primate heart using

111In-labeled anti-tenascin-C antibody. Basic Cardiovascular Science Conference 2012, New Orleans, 2012年7月23-26日 USA

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

特願2012-102732

【発明の名称】核医学診断装置の制御方法、核医学診断装置、診断剤キット、および標識抗テネascin-C s c F v フラグメント

特願2012-168018

【発明の名称】炎症性動脈瘤の診断方法

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））  
分担研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

—サルコイドーシス患者における心エコー所見の推移に関する再検討—

研究協力者：石坂 信和（大阪医科大学 循環器内科）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来個別研究に加え、サブグループ研究班の計画および遂行を進めた。前年度に引き続き、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の解析準備などを進めた。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者を含む心不全患者を対象にした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

サルコイドーシス（サ症）は原因不明の全身性多臓器疾患で非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を特徴とする。我が国では心臓サルコイドーシス（心サ症）の頻度が高く、重症心不全や致死的不整脈により死因として重要である。また、心サ症は特発性心筋症の鑑別診断として重要な心筋疾患である。心サ症の治療と予後においては早期診断が重要であるが、とくに心臓以外の臓器病変が明らかでない場合、その診断は困難で、心臓手術の後や死後剖検で明らかになることも稀ではない。

心サ症の診断に際して、心エコー検査が有用であることは明確である。しかし、サ症患者全体、とくに心臓病変が明らかでない非心サ症患者における心エコー所見の推移については明らかにされていない。前年度は心サ症（13例）、非心サ症（41例）における心エコー所見の推移を後ろ向きに検討した。その結果、経過中（平均観察期間 39月）非心サ症群 41例の内 2例に心臓病変が出現し心サ症と診断された。2例とも、心エコー検査で左室駆出率（LVEF）の低下を認め、とくに1例では、短期間に急速に心拡大と心機能低下が進行した。

一連の研究の目標は、非心サ症群において、心サ症進展群では、LVEFの低下の速度が速いかどうか、即ち、LVEFの低下の速度は心サ症進展のプレディクタとなるかどうかを明らかにすることにある。非心サ症から、心サ症に進

展する症例は多くないが、一方、剖検では、心臓へのサルコイドの浸潤は稀な現象ではない。そこで、今回、非心サ症症例において、LVEFが比較的低い症例で、「(真の)心臓 involvement」が、LVEFが高い症例よりも、より高率である、との仮定の下で検討を行った。

B. 研究方法

対象：

2002年から2012年に、大阪医科大学附属病院を受診、または同施設に入院したサルコイドーシス患者の内、経時的に心エコー検査が施行された非心サ症症例 46例を対象とし、心エコー所見の経時的推移を検討した。

方法：

最終心エコーにおける左室駆出率 (latest LVEF) により 3群に分割 [ (low latest LVEF (n=15)、middle latest LVEF (n=15)、high latest LVEF (n=16) ] して、以下の 8項目について、実測値および、各々の年間変化率 ( $\Delta$ ) を後ろ向きに検討した。① LVEF、② 左室拡張末期径 (LVDd)、③ 左室収縮末期径 (LVDs)、④ 心室中隔径 (IVST)、⑤ 左室後壁厚 (PWT)、⑥ 左房径 (LAD)、⑦ 左室流入早期ピーク血流速/心房収縮期ピーク血流速 (E/A)、⑧ E波減速時間 (DeT)。

統計解析は SPSS Statistics 21 を用いて行い、3群間の検定は ANOVA 法および Kruskal-Wallis 法により行われ

た。P<0.05 を統計学的有意とした。

サ症の診断は、「サルコイドーシスの診断基準と診断の手引き- 2006」(日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会)に従って行われた。

### (倫理面への配慮)

介入を伴わない臨床研究として、大阪医科大学の倫理委員会の審査を経て承認されている。患者の個人情報保護は保護される。また、利益相反の問題は無い。

## C. 研究結果

low、middle、および high latest LVEF の3群で、年齢(歳: 56、58、63)、性別(男:8、5、2)、観察期間(月: 26.2、46.2、33.4)、サ症罹患臓器の内訳、内服薬に関して3群間に有意差は無かった。

### 1) 最終心エコー所見:

latest LVEF: 3群間に差をみとめ、平均値は低い方から60%、69%、76%(P<0.001)であった。

### 2) 初回心エコー所見:

初回のLVEFはlow latest LVEF群で低く、high latest LVEF群で高かった(P=0.02)。また、初回のLVDsはlow latest LVEF群で高値であった(P=0.013)。その他のパラメータに有意差を認めなかった。

### 3) 心エコー所見の経時的変化(年間変化率):

LVEFの年間変化率( $\Delta$ LVEF)はlow latest LVEF群で低く(負の変化率が多い; 減少傾向がある。)、high latest LVEF群で高かった(P=0.001)。また、LVDsの年間変化率( $\Delta$ LVDs)はlow latest LVEF群で高く(正の変化率が多い; 増大傾向がある。)、high latest LVEF群で低値であった(P=0.001)(図1)。

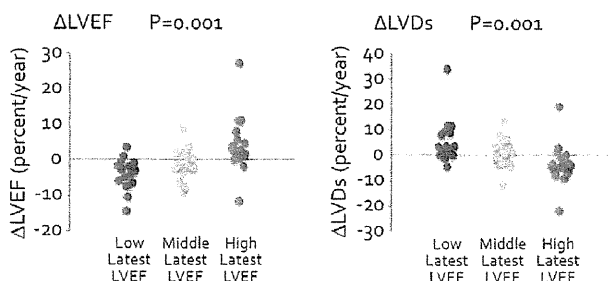


図 1

LVDd を含めて、その他のパラメータの変化率には有意差を認めなかった。

### 4) 多変量解析:

low latest LVEF に対して、年齢、性別、観察期間、初回 LVEF、 $\Delta$ LVEF を独立変数として多変量解析を行ったところ初回 LVEF (オッズ比 0.36) と  $\Delta$ LVEF (オッズ比 0.23) のみが有意な予測因子であった。

## D. 考察および

## E. 結論

非心サ症において、最終心エコーの LVEF は全例平均 60%以上であったが、中でも、最終 LVEF が低い群ほど、初回心エコー時の LVEF が低値で、単位期間あたりの LVEF の低下速度が速いこと明らかとなり(図2)、また、その原因として LVDs の拡大速度が速いことが推定された。

心サ症の心エコー診断に際しては、局所的な壁厚異常や壁運動異常などの所見が重要であることが知られている。非心サ症においては、それらに加えて、グローバルな心機能(LVEF)が現時点で相対的に低値であること、また、LVEF の経時的な低下速度が速いことが心サ症発症の予測因子になる可能性がある。最終心エコーにおける LVEF 低値群で心サ症への進展が多いか否か、今後継続して観察する必要がある(図2)。

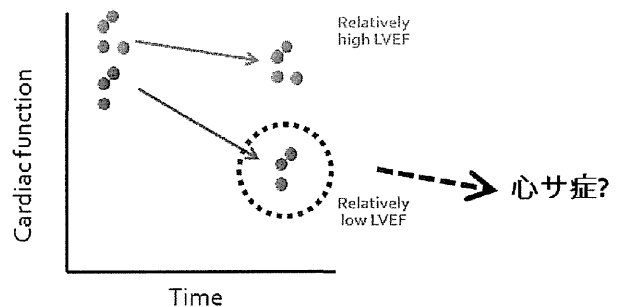


図 2

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Teramoto K, Shimamoto S, Terasaki F, Kanzaki Y, Tamaya M, Goto I, Ishizaka N. Temporal changes in echocardiographic findings in cardiac and non-cardiac sarcoidosis patients. Intern Med 51:

3001-3007, 2012

- 2) Terasaki F, Ozeki M, Ishizaka N, et al. Relationship between left ventricular ejection fraction and preceding changes in echocardiographic parameters among systemic sarcoidosis patients. (投稿中)
- 3) 寺崎文生、神崎裕美子、石坂信和. サルコイドーシス. 心エコー 14(No.3): 270-278, 2013

## 2. 学会発表

- 1) Teramoto K, Terasaki F, Ishizaka N, et al: Temporal changes in echocardiographic findings in cardiac and non-cardiac sarcoidosis patients.  
第77回日本循環器学会学術集会, 2013年3月15日,  
東京

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし。

### 2. 実用新案登録

なし。

### 3. その他

なし。



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））  
分担研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

—拡張型心筋症の線維化病変の特徴と臨床像の関連 -両心室短軸断面組織標本による解析—

研究協力者：植田 初江（国立循環器病研究センター 病理部）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、歴代の研究者により疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行われてきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。現行の本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来の個別研究に加え、サブグループ研究班の計画および遂行を進めた。前年度に引き続き、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の解析準備などを進めた。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者を含む心不全患者を対象にした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

拡張型心筋症(DCM)は特発性とは言えその定義である両心腔の拡大と心室壁の菲薄化は肉眼的形態を示しているのみで、その実態はheterogeneousな疾患であり、DCMでみられる心筋の組織学的な線維化のパターンや程度は症例により様々である。今回、移植摘出心および剖検心の両心室短軸断面の大組織切片を作製評価し、DCM症例の線維化のパターンとその臨床像の特徴の関連を解析した。

B. 研究方法

1998年から2012年までに当センターで心臓移植または病理解剖を施行しDCMと病理学的に診断した44症例(男性33例、女性11例、平均年齢40.7才)。ホルマリン固定後の乳頭筋レベルの両心室短軸断面をそのままパラフィン包埋して薄切し、H&EおよびMasson染色を施行して、左室の心筋線維化の分布を観察。両心室一面の線維化パターンを、左室壁の全層にびまん性に間質線維化(diffuse interstitial fibrosis)が広がる群(A群)と置換性の線維化(replacement fibrosis)を主体とした群(B群)に分類し、それぞれの臨床経過(家族歴、心不全発症年齢、心不全発症から移植または死亡に至る期間、致死性不整脈の有無)や炎症との関連を比較検討した。

(倫理面への配慮)

倫理面に関しては病理解剖依頼時に疾病原因究明のため、また医学研究のための解剖であるとの同意書を患者家族より得ている。また、組織病理学的研究はあくまでも病理診断の詳細であり、本研究は臨床研究としての疫学指針に従っている。

C. 研究結果

対象症例はA群19例、B群25例に分類された。この2群間で家族歴はA群では7例(36.8%)認めしたが、B群では3例(12.0%)認めるのみであった( $p=0.05$ )。炎症の関与に関連して、リンパ球浸潤を認めたものはA群では6例(35.3%)であったが、B群では14例(58.3%)と有意差はなかったがB群に多い傾向がみられた( $p=0.15$ )。また、心不全発症年齢、心不全発症から移植または死亡に至る期間に有意な差はなく、臨床経過で致死性不整脈(心室頻拍/細動)が問題となる症例数にも差はなかった。

D. 考察

DCMの全周性の線維化のパターンはびまん性の間質性パターンと置換性パターンに大別することができるが、線維化のパターンで心不全の進行の速さに有意な差はなかった。間質性線維化パターンでは家族歴を有するものが

わずかに多く、遺伝的要素が関与するものが多い可能性が考えられる。また、置換性線維化を示すものでは、線維化周囲にややリンパ球浸潤を伴うものが多く、炎症の関与する可能性も示唆された。

## E. 結論

DCM では原因が遺伝子異常によるものも多いが、形態変化として組織学的には置換性の線維化を示すものでは炎症が関与するものが多い可能性が示唆された。心臓MRI検査では線維化病変を明瞭に評価できるようになりつつあり、その基礎データとなるためにも今後さらにDCMの原因とその組織学的表現型としての線維化のパターンの解析をすすめる必要がある。

研究協力者：松山高明

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Matsuyama T, Ishibashi-Ueda H, Ikeda Y, Nagatsuka K, Miyashita K, Amaki M, Kanzaki H, Kitakaze M. Critical multi-organ emboli originating from collapsed, vulnerable caseous mitral annular calcification. *Pathol Int.* 62(7):496-9,2012
- 2) Matsuyama TA, Ho SY, McCarthy KP, Ueda A, Makimoto H, Satomi K, Kamakura S, Inoue S, Ishibashi-Ueda H. Anatomic assessment of variations in myocardial approaches to the atrioventricular node. *J Cardiovasc Electrophysiol* 23(4):398-403,2012

### 2. 学会発表

- 1) 松山高明, 田中秀央, 足達哲也, 姜艶, 植田初江, 高松哲郎 健康ラット心房における内在性不整脈基質に関する検討. 第101回日本病理学会総会 2012,4 東京
- 2) 松山高明, 植田初江, 上田明子, McCarthy KP, Ho SY, 牧元久樹, 里見和浩, 鎌倉史郎, 井上紳 房室結節周囲筋束の組織学的検討 -心房中隔および冠静脈洞筋束の分布と多様性- 第27回日本不整脈学会学術大会 2012, 横浜
- 3) 松山高明, 橋村宏美, 大郷恵子, 池田善彦, 植田初江, 宮本康二, 山田優子, 岡村英夫, 野田崇, 里見和浩, 相庭武司, 鎌倉史郎, 清水渉 心室頻拍に対しカテーテルアブレーション治療を行った二次性心筋症の2剖検例 第27回日本不整脈学会学術大会 2012, 横浜

- 4) Matsuyama TA, Tanaka H, Adachi T, Jiang Y, Ishibashi-Ueda H, Takamatsu T. Intrinsic histological basis for the preferential reentrant excitation of atrial fibrillation/flutter in rat hearts -Combined analysis of optical mapping and histology- 14<sup>th</sup> International Congress of Histochemistry and Cytochemistry 2012, Kyoto
- 5) 松山高明, 植田初江. 心臓病理組織から不整脈源性を考える -刺激伝導系周囲の構造と心筋症の線維化を中心に- 第60回日本心臓病学会学術集会 2012,9 金沢
- 6) 松山高明, 橋村宏美, 大郷恵子, 池田善彦, 植田初江, 宮本康二, 里見和浩, 鎌倉史郎, 清水渉, 小島史好 Wolff-Parkinson-White (WPW) 症候群の副伝導路を検索した3剖検例 第58回日本病理学会秋期特別総会 2012, 名古屋
- 7) 和田悠子, 相庭武司, 松山高明, 池田善彦, 神崎秀明, 安齊俊久, 清水 渉, 植田初江. 心筋生検における間質の線維化と肥大型心筋症患者の予後予測について. 第34回心筋生検研究会 2012, 長野

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

特記事項なし

### 2. 実用新案登録

特記事項なし

### 3. その他

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））  
分担研究報告書

特発性心筋症に関する調査研究

—心不全のバイオマーカー—

研究協力者：野出 孝一（佐賀大学医学部 循環器内科学）

研究要旨

本研究班は、1974年に旧厚生省特定疾患調査研究班として設立されて以来、疫学的・基礎的・臨床的研究を継続して行ってきた。分子生物学や遺伝学の進歩のもと、特発性心筋症に関する新たなエビデンスが蓄積されてきた一方、これらのエビデンスを臨床に還元できていないのが現状である。本研究班では、蓄積されたエビデンスを分析し、診療技術に還元することを大目標とする。従来の個別研究に加え、サブグループ研究班の計画および遂行を進めた。前年度に引き続き、心臓MRI検査の心筋症診断への有用性、サルコイドーシスの診断、肥大型心筋症の我が国全体の遺伝子変異の解析準備などを進めた。また、研究成果の社会への還元として、心筋症患者を含む心不全患者を対象にした市民公開講座を開催した。

A. 研究目的

慢性心不全と炎症の関与が注目されており、心不全の炎症の状態を正確に反映するバイオマーカーが必要とされている。Pentraxin3 (PTX3)は、CRPと同じ pentraxin family に属する急性期反応性物質であり、CRPと比べ、より局所の血管炎症を反映する可能性が示唆されている。我々は血中 PTX3 値が虚血性心疾患や慢性心不全の予後予測マーカーであることを報告している。今回 PTX3 の炎症細胞での作用について検討した。

B. 研究方法

THP-1由来マクロファージの培養細胞系において、リコンビナント PTX3 を処理し、MCP-1 と TGF- $\beta$  の蛋白量を測定した。また、PTX3 の active TGF- $\beta$  と latent TGF- $\beta$  の結合を評価するとともに、Smad AKT のリン酸化に対するリコンビナント PTX3 の作用を検討した。

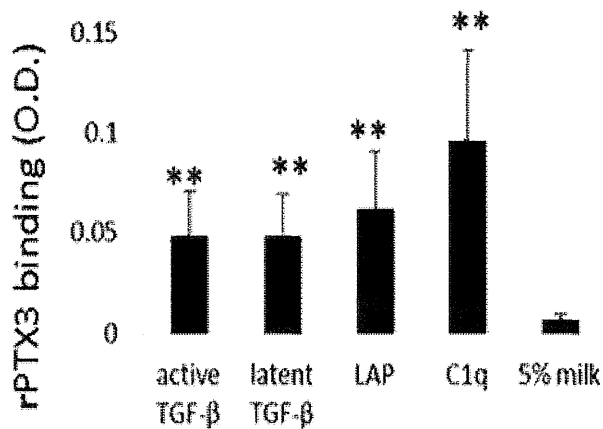
（倫理面への配慮）

問題なし。

C. 研究結果

THP-1由来マクロファージにおいてリコンビナント PTX3 は MCP-1 産生を抑制し、TGF- $\beta$  を活性化させた。PTX3 は active TGF- $\beta$  に結合し、リコンビナント PTX3

は P-Smad2、P-Smad3 と P-AKT レベルを増加させたが、リコンビナント PTX3 の P-AKT 増加作用は TGF- $\beta$  抗体で抑制された。



D. 考察

PTX3 は TGF $\beta$  を介し、Smad と TGF $\beta$  をリン酸化し MCP-1 の抑制等の抗炎症作用を有することが示唆された。

E. 結論

PTX3 が TGF- $\beta$  の活性化因子であり、抗炎症作用を有する。

F. 研究発表

1. 論文発表

特になし。

2. 学会発表

特になし。

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。