

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）
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル： 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

お名前・ご施設名： 加藤真帆人、國本 聡、田野絢子、笠巻祐二、小船達也、
中井俊子、渡邊一郎、廣 高史、平山篤志
日本大学医学部内科学系循環器内科学分野

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おり、この肥大型心筋症は、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い。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いことが一因となっている。

本研究はドブタミン負荷心臓超音波検査にて潜在性左室流出路狭窄が確認できた肥大型心筋症について、その心臓の構造と心筋の性状を観察し、閉塞性肥大型心筋症および非閉塞性肥大型心筋症と比較し、それぞれの予後調査を行うことである。

2011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した。登録後、経胸壁心臓超音波検査、ドブタミン負荷心臓超音波検査、および Gadolinium 造影心臓 MRI を施行した。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した。

2012年8月31日までに登録を行った非閉塞性肥大型心筋症 61 名 38 名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、負荷をかけても左室流出路狭窄が誘発されない 23 症例の中に、Gadolinium による造影の遅延相で、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 12 症例認められた。

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）
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 心不全患者における心筋生検サンプルを用いた
新たな重症化因子同定のための取り組み

お名前・ご施設名： 井手友美、砂川賢二
九州大学 循環器内科

近年、重症化症例が増加する傾向にある当院では、年間約 60 例の心筋生検を行っている。心筋生検ならびに移植心筋サンプルから mRNA を採取し、36 例の DCM を含めた患者生検マイクロアレイを用いて、新たな心機能増悪因子の検索ならびに新規診断マーカー候補の探索的研究を行っている。この中で、最も LVEF、左室径と発現に相関を認めた因子について検討を行ったところ、いくつかの候補が挙げられ、中でも、デヒドロゲナーゼ活性を有すると思われる蛋白 X は、骨格筋と心筋にのみ発現し、重症度に逆相関してその発現変動を認めた ($p < 0.01$, $r = 0.71$)。トロポニン T 変異マウスや心筋梗塞後不全心マウスでもその発現が有意に低下することが明らかとなり、新たな重症化因子である可能性が示唆される。

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）
 北風班 特発性心筋症に関する調査研究
 平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：生体吸収性パッチ implantation は、虚血イベント後の
 左室リモデリングを抑制する

お名前・ご施設名：橋詰令太郎^{1),2)}、下條尚志¹⁾、吉田利通¹⁾、
 William R. Wagner²⁾、今中恭子¹⁾

1) 三重大学修復再生病理学

2) Dept. of Surgery, University of Pittsburgh

心筋症に伴う左室形態の変化は、左室ポンプ機能の悪化に直結する。左室腔拡大は、短期的には stroke volume を代償的に増加せしめる生体反応であるが、左室壁の浅薄化は Laplace の法則に基づき左室の fiber stress を増加せしめ、長期的には左室の dysfunction を招来し、advanced stages of cardiac failure へと進行させる。実際、拡張末期左室径は、疫学上心筋梗塞後の生存率の独立因子であることが報告されている。さらに、心不全時の薬物療法 (e.g. ACE inhibitor, β -blocker) も左室腔拡大抑制を通じて生存率向上に寄与しているとされる。さて、左室腔拡大を抑制する目的で、non-elastic かつ non-biodegradable なメッシュで心室全体を被覆する外科的治療 (e.g. CorCap®) が臨床的に行われており、リモデリング抑制という観点からは一定の効果を得ている。しかしながらこれら non-elastic かつ non-biodegradable な素材は、左室拡張能や冠灌流の障害、永久的異物としてのリスクを自ずと孕んでいる。我々はこれらの問題を軽減するために、生体吸収性の elastomer を用いた左室自由壁に対する patch-plasty を発案し、基礎的研究を行った。

小動物および大動物の虚血性心疾患モデルを使用した in vivo study では、1) 生体吸収性の素材, poly(ester urethane)urea (PEUU), による patch-plasty が、冠動脈結紮後 2 週のラット慢性心筋梗塞モデルの左室リモデリングを抑制し (end-diastolic area (EDA), $p < 0.05$, patch vs control group)、2) 同素材による patch-plasty は大動物モデル (ブタ) においても左室リモデリング抑制作用 (EDA, $p < 0.05$) と左室機能保全効果 (fractional area change, $p < 0.05$) があることが示された。また、至適な生体吸収速度の調査研究では、3) 吸収速度の異なる 3 種類の素材の比較実験から、中等度の分解吸収速度を有する素材 (poly(ester carbonate urethane)urea; PECUU) が、最も心機能保全に適切であることが示された。

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）

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 性ホルモンによる拡張型心筋症の病態修飾機構

お名前・ご施設名： 木村彰方、有村卓朗

東京医科歯科大学・難治疾患研究所

【目的】拡張型心筋症（DCM）は男性に多く発症し、また心不全は男性の方が重症であることが知られているが、そのメカニズムは明らかではない。我々は筋ジストロフィーと DCM を合併した患者に見出されたラミン A/C 遺伝子ミスセンス変異をノックインしたマウス（*Lmna*^{H222P/H222P}）が DCM 病態を呈し、雄の方がより重症であるなど、DCM 病態を解析するよい動物モデルであることを以前に報告している。本研究では、このモデルマウスを用いて、性ホルモンによる DCM の病態修飾機構を検討した。

【対象と方法】*Lmna*^{H222P/H222P} マウスおよび正常マウスについて、雄の去勢、雌の卵巣摘出、テストステロン投与およびアンドロゲンレセプター（AR）阻害薬（フルタミド）投与によって、心機能、生存曲線、心筋病理像、線維化、リモデリング関連遺伝子群発現を検討した。また、心筋および骨格筋における AR の細胞内局在ならびに SRF、FHL2 発現を検討すると共に、細胞モデルを用いて、AR、SRF、FHL2 の発現性を検討した。

【結果と考察】雄 *Lmna*^{H222P/H222P} マウスの去勢は、DCM 病態の軽減、生存曲線の延長、心筋線維化の抑制、リモデリング遺伝子の発現亢進の抑制をもたらしたが、雌 *Lmna*^{H222P/H222P} マウスの卵巣摘出による影響は小さかった。また、テストステロン投与は、去勢 *Lmna*^{H222P/H222P} マウスおよび雌 *Lmna*^{H222P/H222P} マウスの DCM を悪化し、フルタミド投与は雄 *Lmna*^{H222P/H222P} マウスの DCM を軽減した。*Lmna*^{H222P/H222P} マウスでは心筋細胞での AR 発現が増加しており、これにテストステロンが存在すると FHL2 依存性に SRF と AR が核内移行することが判明した。これらのことから、心筋での AR 発現亢進、心筋特異的に発現する FHL2 およびリモデリング遺伝子群の発現制御を担う SRF の 3 者複合体が、テストステロンによる DCM 病態悪化の要因であると考えられた。

【結論】DCM 病態の性差は男性ホルモンによる DCM 病態修飾による。

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）
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル： 心サルコイドーシスの活動性を評価する新しい心筋
酸化ストレスマーカーに関する検討

お名前・ご施設名： 矢野雅文
山口大学大学院 器管病態内科学

【目的】心サルコイドーシスの活動性の評価に心筋酸化ストレスバイオマーカーが有用かどうかについて検討した。

【方法】心サルコイドーシス診断基準にそって診断した32症例を対象に、以下について検討した。

- 1) 冠静脈洞と大動脈から血液サンプリングし、8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine(8-OHdG)が心臓から産生されているか
- 2) 尿中8-OdG濃度を測定し、¹⁸F-FDG PETの心臓への集積の程度と相関するか
- 3) 活動性のあるサルコイドーシス患者にステロイド治療を行い、治療前後の尿中8-OdG濃度および¹⁸F-FDG PETの変化が相関するかどうか

【結果】

- 1) 活動性のある心サルコイドーシス患者においては、血清の8-OHdG濃度は大動脈よりも冠静脈洞で有意に高値であった。
- 2) 活動性のある心サルコイドーシスでは活動性のない心サルコイドーシスと比較して尿中8-OHdGの濃度は有意に高値であった。
- 3) ステロイド治療前後で、尿中8-OHdGと¹⁸F-FDG PETの変化は有意に相関した。

【総括】尿中8-OHdG濃度が、心サルコイドーシスの活動性の評価やステロイド治療の効果判定に有用と思われた。

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）
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：重症急性心不全入院患者における血清ナトリウム値と
予後の検討

お名前・ご施設名：篠岡太郎・磯部光章
東京医科歯科大学 医学部附属病院
循環器内科

<背景・方法>

心筋症患者などの心不全患者における入院時の低ナトリウム血症は予後不良の 1 つの因子として知られているが、入院治療経過における低ナトリウム血症の出現がどのような影響を及ぼすのかはあまり知られていない。そのため今回当院で急性心不全で入院した NYHA3 度もしくは 4 度の患者計 634 名について後ろ向きに解析した。

<結果>

入院時 531 名のナトリウム値は正常($\text{Na} \geq 135$ and ≤ 145 mmol/L)であった。これらの患者を退院時にも正常であった群 (455 名) と低ナトリウム血症を来たした群 (76 名) に分けたところ、心事故非発生率は低ナトリウム血症群で有意の差をもち低かった (22% vs. 71%; $p < 0.0001$)。また、退院時の LVEF や BNP 値には差は認められなかったにも関わらず、心事故発生群は尿中 Na 排泄率や利尿剤の投与量が非発生群よりも有意な差を持って高かった。

<結論>

入院時低 Na 血症と同様に、入院中の低 Na 血症の進行が、重症心不全入院患者の予後増悪因子であることが示唆された。血清 Na 値を低下させやすい利尿剤の高用量・併用療法よりも、血清 Na 値に影響を与えにくい利尿剤を用いた管理の方が、有益である可能性が考えられた。

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）
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：解糖系酵素ホスホグリセリン酸ムターゼの強発現が
心臓の代謝プロファイルに与える影響

お名前・ご施設名：奥田淳司、塩井哲雄、木村 剛
京都大学大学院医学研究科 循環器内科学

【目的】心不全の発症と進展は心臓エネルギー代謝の変化を伴う。特に、心不全の進展に伴い心臓の糖代謝が亢進することが分かっており、心不全の病態生理に重要な役割を果たしていると考えられている。そこで、我々は解糖系酵素であるホスホグリセリン酸ムターゼの強発現が心臓のエネルギー代謝と機能に及ぼす影響を検討した。

【方法】心臓特異的にホスホグリセリン酸ムターゼ (Pgam2) を強発現するマウスを作製し、心臓エネルギー代謝と心機能を検討した。

【結果】糖取り込み及び脂肪酸取り込みをそれぞれ ^{18}FDG 及び $^{125}\text{I-9MPA}$ を用いて検討したが、過剰発現による変化はみられなかった。心臓エネルギー予備能の指標であるリン酸クレアチン/ β ATP 比にも変化がみられなかった。心エコーでは過剰発現による安静時心機能の変化を認めなかった。一方で、CE-TOFMS による定量的メタボローム解析を行ったところ、解糖系、TCA 回路、アミノ酸、などの代謝産物量に変化がみられた。単離ミトコンドリアにおける検討では、呼吸能の低下と活性酸素種の増加がみられた。心臓カテーテル検査ではドブタミン負荷による反応性の低下がみられ、また大動脈縮窄術による圧負荷に対して心収縮能低下がみられた。

【結論】ホスホグリセリン酸ムターゼの強発現は心臓エネルギー代謝を変化させ、ドブタミン負荷や圧負荷により心機能低下をもたらした。

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）

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 拡張不全心に対するインクレチンの役割

お名前・ご施設名： 坂東泰子、奥村貴裕、室原豊明

名古屋大学大学院医学系研究科循環器内科学

【背景】インクレチンが収縮不全を呈する虚血心において、心収縮能改善作用を有することが報告されているが、脂肪心による拡張不全心における病態意義は不明である。

【目的】拡張不全心モデル動物を用いて、DPP4 の心線維化に対する影響を解析する。

【方法】雄 10 週令 2 型糖尿病マウス（KKAy-veh）と同一週令の GLP-1 受容体アゴニスト Exendin-4（KKAy-Ex4）群を作成し、各心筋組織標本に対して、①抗 CD31 抗体及び抗 dystrophin 抗体を用いた免疫二重染色による心筋毛細血管密度・心筋細胞サイズ変化、②in situ および in vitro での oil-red-O 染色③ピクロシリウスレッドによる膠原線維染色④DHE 染色による酸化ストレス評価⑤左心臓カテーテル及び心エコーによる心機能解析を解析した。

【結果】KKAy-veh 群は心筋間質線維化、心臓内脂肪蓄積、酸化ストレスの増強を認めた。KKAy-ex4 群ではこれら心筋間質線維化及び脂肪蓄積、酸化ストレスの増強が消失していた。左心臓カテーテル及び心エコーによる心機能解析により、KKAy-veh 群で認められた心機能障害は、KKAy-Ex4 群において改善していた。

【結論】本研究から、インクレチン GLP-1 は、心臓への脂肪蓄積を改善して、心酸化ストレス軽減と心機能改善を制御する可能性が示唆された。

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）

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル： ヒト iPS 細胞を用いた疾患モデルの構築

お名前・ご施設名： 湯浅慎介、福田恵一

慶應義塾大学医学部循環器内科

ヒト iPS 細胞は患者から容易に作成可能な多能性幹細胞である。ヒト iPS 細胞を用いることにより各種遺伝性疾患の疾患モデルの構築が可能であることが示唆されている。我々は本邦における致死性循環器疾患患者から、ヒト iPS 細胞を作製し、*in vitro* 疾患モデル構築による、病態解明と新規治療方法の開発を試みている。

運動時若年心臓突然死の原因となる基礎疾患として最も多い肥大型心筋症は、様々な遺伝子変異を基盤として発症することが知られている。様々なサルコメア構造蛋白の変異により肥大型心筋症は発症するが、その多くの遺伝子変異が原因にもかかわらず、病気の表現形としては同一の形態をとる。また小児期・若年期には全く表現形を認めないにもかかわらず、成人後に表現形が顕在化することも多く認められる。これらのことから肥大型心筋症の発症には、遺伝的背景に加えて疾患発症・顕在化に環境要因が加わることが予想される。本研究においては肥大型心筋症患者より iPS 細胞を樹立し心筋細胞分化誘導をすることにより、疾患発症・顕在化の分子機序を解明していく。

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）

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

平成 24 年度 第 1 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 肺高血圧 - 右心不全に関係する新しい遺伝子の探索お名前・ご施設名： 齋藤能彦奈良県立医科大学 第 1 内科

肺高血圧症は難治性右心不全を発症する。しかし、肺循環の制御に関わり右心不全の発症・進展に特異的に関与する分子に関しては未だ不明な点が多い。そこで我々はモノクロータリン投与による肺高血圧/右心不全ラットの右室で増減する遺伝子を網羅的に探索した。それらのうち右心不全の右室で左室に比べ選択的に発現が亢進しており、かつコントロールの野生型ラットの右室で左室に比してベースの発現が高い新規遺伝子 *TMEM100* (transmembrane protein 100)に着目し実験を進めてきた。

TMEM100 蛋白は 2 回膜貫通ドメインを有し、脊椎動物間でそのアミノ酸配列が強く保存されているが、その機能に関する報告はない。興味深いことに、*Tmem100* の成体における発現は正常の体内分布では肺（血管内皮）と心臓（特に右室心筋）に発現が認められた。また、肺高血圧モデル動物（モノクロータリン投与や慢性低酸素刺激モデル）の肺でその発現が低下していた。それら発現パターンの変化からも、肺高血圧や右心不全の病態に何らかの関与があると推察された。

我々は培養細胞を用いた実験から $TGF\beta$ スーパーファミリーのリガンドである *BMP9* や *BMP10* が *ALK1/BMPR2* 受容体複合体を通じて *TMEM100* 発現を調節していることを見出した。また、その *TMEM100* の内在性の機能を調べるために *TMEM100* KO マウスを作製したところ血管新生、動脈分化障害および動静脈シャント形成の表現型を呈し胎生 E11.0 日齢前後で胎生致死した。現在、成体での肺高血圧症と右心不全における *TMEM100* の機能的意義を解明するために Cre-loxP システムを用いた *TMEM100* flox マウスを作製し、様々なタイプの Cre マウスと交配させる。出生後に薬剤（タモキシフェン）で全身 *TMEM100* を欠損したり、血管内皮や心筋細胞で特異的に *TMEM100* 遺伝子欠損できるマウスを作製しそれらの表現型の解析を行っている。

平成 24 年度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)

特発性心筋症に関する調査研究

第 2 回北風班 総会・研究報告会

日時: 2 月 18 日(月)10:15~15:45

場所: 東京大学

平成24年度第2回北風班・研究報告会

日時：2013年2月18日（月）10:15～15:45予定

場所：東京大学病院 入院棟A 15F大会議室

		10:15	開会のご挨拶		北風政史(5分)
セッション	座長	時間	お名前	ご所属	タイトル
1	磯部 光章	10:20	山岸 正和	金沢大学	ゼブラフィッシュモデルを用いた肥大型心筋症の病態解明
		10:28	野出 孝一	佐賀大学	心不全のバイオマーカー
		10:36	吉村 道博	東京慈恵会医科大学	選択的SERCA機能修飾下におけるβ受容体刺激の効果
		10:44	木村 彰方	東京医科歯科大学	ブルガダ症候群の新規原因遺伝子の同定：SLMAP変異
		10:52	北風 政史	国立循環器病研究センター	慢性心不全の病態と治療効果の数式化とその妥当性に関する臨床研究
		11:00	後藤 雄一	国立精神・神経医療研究センター	TON PGM™を用いたミトコンドリアDNAのrare variants検出方法の確立と課題
		11:08～11:20	休憩		
		11:20～11:50	疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究の説明：厚生労働省(6分：中尾先生), 文部科学省(6分：中村先生), 班代表(6分：小室先生), 質疑		
2	吉村 道博	11:50	久保田 功	山形大学	左室収縮機能の保持された心不全症例における潜在性心筋傷害の臨床的意義
		11:58	磯部 光章	東京医科歯科大学大学院	マウス心腎連関モデルを用いた腎不全による心不全悪化の機構の検討
		12:06	竹石 恭知	福島県立医科大学	Senescence marker protein 30はdoxorubicinによる心機能低下を抑制する
		12:14	今中 恭子	三重大学大学院	テネイシンCによる心筋炎の制御
		12:22	豊岡 照彦	北里大学	心不全関連遺伝子の網羅的解析(III) 代謝性症候群(MetS)に共通する我国固有の心不全遺伝子について
		12:30	今泉 勉	久留米大学	サイトカイン機能調節因子SOCSと心筋保護機構
		12:40～13:20	総会・昼食		
3	石坂 信和	13:20	小室 一成	東京大学大学院	iPS細胞を用いた心筋症の病態解析
		13:28	福田 恵一	慶應義塾大学	ヒトESおよびiPS細胞由来心筋細胞における代謝の特性を利用した大量精製法の確立
		13:36	中谷 武嗣	国立循環器病研究センター	LVAS装着患者における脳血管イベントに関する検討
		13:44	下川 宏明	東北大学大学院	特発性心筋症症例の症例背景と予後 -CHART2研究からの報告-
		13:52	石坂 信和	大阪医科大学	心サ症, 非心サ症における心エコー所見の推移 (第3報)
		14:00	志賀 剛	東京女子医科大学	肥大型心筋症と不整脈基質：貫壁性再分極時間のばらつき
		14:08	矢野 雅文	山口大学	急性重症心不全に対するミルリノンと低用量β1遮断薬の併用療法—低用量β1遮断薬の心筋筋小胞体からのCa ²⁺ 漏出抑制作用—
		14:20～14:35	休憩		
4	志賀 剛	14:35	斎藤 能彦	奈良県立医科大学	ALK1シグナル下流で働くTMEM100の意義に関する研究
		14:43	平山 篤志	日本大学	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
		14:51	木村 剛	京都大学大学院	肥大心におけるテクネチウムセスタミビの保持についての検討
		14:59	永井 良三	自治医科大学/東京大学大学院	炎症細胞による心機能調節機構
		15:07	筒井 裕之	北海道大学大学院	虚血性心疾患におけるナチュラルキラーT細胞の役割
		15:15	砂川 賢二	九州大学大学院	ミトコンドリアDNAにおける心筋リモデリングにおよぼす作用とその機序の解明
		15:23	室原 豊明	名古屋大学大学院	拡張型心筋症における心収縮予備能の測定意義
		15:35	閉会のご挨拶		北風政史
		抄録ご寄稿	植田初江	国立循環器病研究センター	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—

(敬称略)

タイトル： ゼブラフィッシュモデルを用いた肥大型心筋症の病態解明

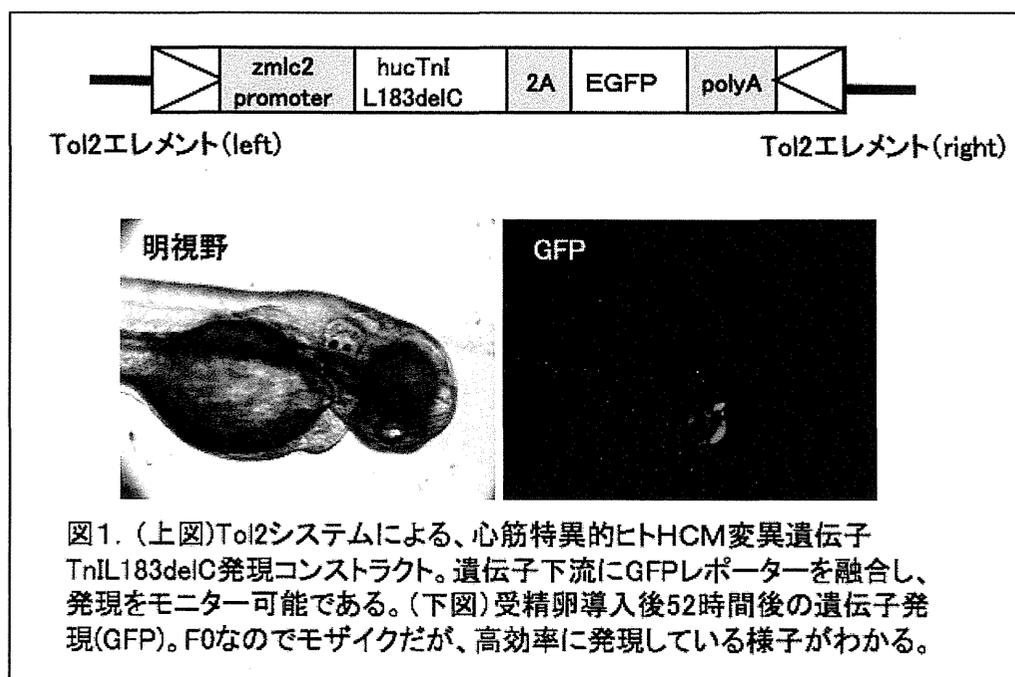
お名前・ご施設名： 宝達明彦・今野哲雄・山岸正和

【背景】心筋トロポニンIはサルコメア蛋白の一つであり、その遺伝子 (*TNNI3*) 変異は肥大型心筋症 (HCM) を引き起こす。我々は以前、HCM 大家系において *TNNI3* 遺伝子 Lys183del 変異を同定し、変異保因者は40歳以降に左室収縮不全が進行することを報告したが、その機序は不明であった。*TNNI3* 遺伝子変異マウスを作成することは機序解明の一助となる可能性があるが、マウスは HCM 発症までに約1年と長期間を要する。一方、小型魚であるゼブラフィッシュでは、受精卵への遺伝子導入後72時間以内に心臓の表現型を直接顕微鏡下に観察し得る。

【目的】本研究の目的は、(1) *TNNI3* 遺伝子 Lys183del 変異を導入した HCM ゼブラフィッシュモデルを確立し、(2) それを用いて HCM における左室収縮不全進展の新しい機序を解明することである。

【方法と結果】心臓特異的トロポニンI蛋白 (cTnI) 発現および蛍光蛋白による cTnI 発現検出を目的として、MLC-2 プロモーター下流に cTnI-GFP を組み込んだコンストラクトを作成した (図1上)。遺伝子導入システムは *Tol2* 転移システムを用い、野生型または変異型 cTnI コンストラクトとともに *Tol2* mRNA をマイクロインジェクション法により受精卵に導入した。導入48-72時間の時点で、F0 ゼブラフィッシュにおいて心臓に高効率に cTnI が発現するラインが確認された (図1下)。

【結語】野生型および変異型 *TNNI3* (Lys183del) ゼブラフィッシュを作成し、心臓への cTnI 発現が確認された。今後、蛍光心機能解析装置を用いて *in vivo* での HCM 発症過程の観察を行う。更に、ゼブラフィッシュモデルの受精卵にアンチセンス・モルフォリーノオリゴを用いた標的遺伝子ノックダウンを行い、HCM や心不全発症機序の解明を目指す。



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）

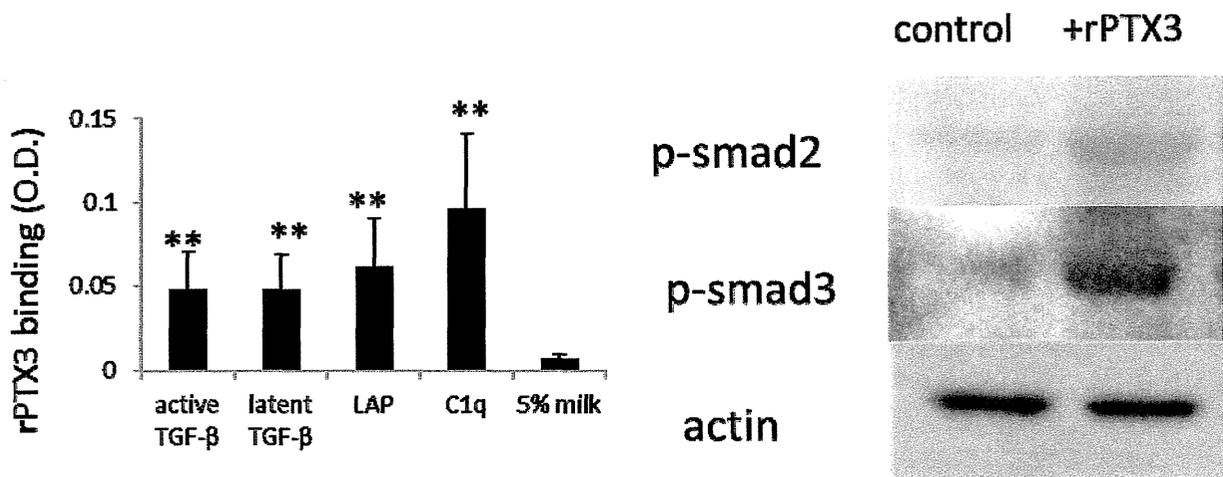
北風班 特発性心筋症に関する調査研究

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 心不全のバイオマーカー

お名前・ご施設名： 野出孝一・佐賀大学医学部循環器内科

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。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- β を活性化させた。PTX3 は active TGF β 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 β 抗体で抑制された。PTX3 が TGF- β の活性化因子であり、抗炎症作用を有することが示唆された。



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）
北風班 特発性心筋症に関する調査研究
平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル： 選択的 SERCA 機能修飾下における β 受容体刺激の効果

お名前・ご施設名： 本郷 賢一、吉村 道博

東京慈恵会医科大学循環器内科

心筋収縮調節において細胞内 Ca 濃度変化は中心的な役割を果たしており、中でも細胞内 Ca 貯蔵所である筋小胞体からの Ca 放出量が重要である。筋小胞体内 Ca 量は Ca 取り込みポンプである SERCA 機能に依存しており、本年度第 1 回報告会では、この SERCA 機能を選択的に修飾した動物モデルを用いて、細胞内 Ca 濃度変化と心筋収縮力に対する効果につき報告した。今回、選択的 SERCA 機能修飾動物を用いて、交感神経 β 受容体刺激の効果につき検討した結果につき報告する。選択的 SERCA 機能亢進モデルである心臓特異的 SERCA 過剰発現マウス (SERCA-TG) 心筋では、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増大と時間経過の短縮が認められたが、 β 受容体刺激薬であるイソプロテレノールを作用させても Ca 濃度変化と収縮張力の大きさ及び時間経過には有意な変化は認めなかった。一方、選択的 SERCA 機能減弱モデルである心臓特異的サルコリピン過剰発現マウス (SLN-TG) では、細胞内 Ca 濃度変化と張力の有意な減少及び時間経過の延長が認められていたが、イソプロテレノールの作用により、Ca 濃度変化と収縮張力にはピークの増大及び時間経過の短縮効果が認められた。本研究結果より、SERCA 機能を直接的に修飾した場合と、修飾蛋白質を介して間接的に修飾した場合では、 β 受容体を介した調節機構に差が生じることが示唆された。

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）

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： ブルガダ症候群の新規原因遺伝子の同定：SLMAP 変異

お名前・ご施設名： 木村彰方、石川泰輔、佐藤光希、有村卓朗（東京医
歯大・難治研・分子病態）、蒔田直昌（長崎大・医・
一生理）

【目的】我々は最近、ある種の 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 チャン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は、遺伝子異常の関与が知られており、SCN5A(Nav1.5 チャンネル)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、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、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、ブルガダ症候群の新規原因遺伝子の同定と、その変異による Nav1.5 チャンネル機能異常を検討した。

【方法】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）について、機能不明なサルコレンマト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し、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。

【結果と考察】日本人患者 85 名中 2 名（2.4%）に SLMAP 変異（Val291Ile、Glu710Ala）が見出された。これらは SLMAP で進化的によく保存されたアミノ酸の置換を伴い、健常者には見出されなかった。また、1 名の患者に His288Tyr 変異を認めたが、これは健常者集団にも存在する稀な変異であった。ついで、Val291Ile、Glu710Ala および His288Tyr 変異による機能異常を検討したところ、Val291Ile および Glu710Ala は Nav1.5 の細胞内輸送障害を来した。また、siRNA を用いたノックダウン実験から、この障害は変異 SLMAP に特異的な現象であった。さらに、電気生理学的解析でも、これらの変異による Nav1.5 の機能抑制が確認された。一方、His288Tyr にはそのような機能異常は観察されなかった。

【結論】 SLMAP 変異はブルガダ症候群の原因となる。

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)

北風班 特発性心筋症に関する調査研究
平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：慢性心不全の病態と治療効果の数式化とその妥当性に関する

臨床研究

お名前・ご施設名：北風政史

国立循環器病研究センター 臨床研究部・心臓血管内科

慢性心不全は、あらゆる循環器疾患の共通最終像として、その診断・治療方法が希求されているが、いまだ十分ではない。特に、慢性心不全の病態とその治療は、個体差が大きく規格化されておらず、大まかなエビデンスをもとに各医療従事者の経験と勘によって行っているのが現状である。このことが、慢性心不全の治療を困難にしており、さらに平均在院日数を増加させ、医療費の抑制を妨げているものと考えられる。これは、慢性心不全の病態と治療が数式化・定量化されておらず、また、その因子により慢性心不全の病態を数式化できないことが大きな原因である。しかしながら、他の応用科学の分野では、多くの現象は数式化されている。たとえば、工学において、エンジンや飛行機の翼などすべての製造物は企画化・数式化できているため、これらの制作・修理は、規格化・定量化されているこの工学の概念を医学にとりいれて、慢性心不全において、その病態と治療を数式化することを本研究の目的とした。

2006年5月1日から2009年12月31日までに、心不全増悪の診断にて国立循環器研究センター心不全部門に入院した患者約483名のうち、心不全増悪にて再入院をした連続151名を対象(重複患者は除く)に、高度推計理論の応用により検討を行った。入院歴からY(目的変数)を退院後心不全増悪にて再入院または死亡するまでの日数、上記に示す検査データ219項目、治療内容183項目の計402項目の説明変数を使用することにより関数 $Y=F(X)$ をもとめた。またかかる関数よりYをもとめ、実測値との比較を行い、Yに影響を及ぼす因子を定量的に算出した。その結果、最終的に関数は線形方程式として求められた。次に、再入院確率がポアソン分布にしたがうという仮定を、再入院までの日数のヒストグラムが指数分布を示すことを証明することにより立証した。さらに、関数式よりもとめた再入院までの日数の推定値 398 ± 381 (日)に対し、実測値 388 ± 377 (日)、と非常に精度良好な結果が得られた。また、正則化手法により、402項目のうち252項目が選択され、Y(心不全再入院までの日数)に影響を及ぼした因子が数値化された。したがって、入院中の全てのパラメータを用いて、自動的にイベント発生に影響を及ぼす因子を選択し、各個人の心不全再入院(死亡)までの日数を予測する推定式が得られたことは、極めて画期的であると考えられた。さらにBNP時系列データを用いて、心不全退院後、再入院までの期間のBNP変化パターンあるいは、パターン変化からのクラスタリングによる回帰式作成を試みた。再入院までの日数(Y)と血中BNP値(X)の回帰曲線の検討を行ったところ、通常予測とは異なり、原点に近い症例(BNP低値かつ心不全再入院までの日数が短い)が数十例含まれることが明らかとなった。原点近い症例の特徴を精査したところ、それ以外の症例と比較すると、有意に心機能が良く、心腔サイズは小さく左房径が大きい傾向を示した。これらの結果よりBNP値が低いにも関わらず、再入院までの日数が短い症例は、拡張障害を認める心不全の可能性が疑われた。

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)

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル: ION PGM™ を用いた ミトコンドリア DNA の rare variants

検出方法の確立と課題

お名前・ご施設名: 後藤雄一、澤野芳枝

国立精神・神経医療研究センター

ミトコンドリア DNA は 1 細胞内に数千コピー存在し、病気の原因となる変異型は野生型と共存する場合 (ヘテロプラスミー) と、すべてが野生型もしくは変異型になる場合 (ホモプラスミー) が知られている。ヘテロプラスミー変異は、MELAS、慢性進行性外眼筋麻痺をはじめとする代表的な病型で認められ、変異率がある一定のレベル以上にならないと細胞障害が出現しないこと (閾値効果) が知られている。したがって、ミトコンドリア DNA を調べる場合に、どのような変異か (質の検査) とどの程度存在するか (量の検査) の両者を必要とする。ミトコンドリア DNA 全周 (16568 塩基) の中に、200 種以上の病的変異と 1000 近くの多型が報告されている。次世代シーケンサー法によって、これら塩基置換の質と量の検査を一気に行うことが可能となった。

我々は、Ion PGM™法を用いた解析法を確立したので、その有用性と問題点を報告する。また、変異率が低い rare variants をどのように解釈するかについて、文献的考察を加えて報告する。

タ イ ト ル： 左室収縮機能の保持された心不全症例における潜在性心筋傷害の
臨床的意義

お名前・ご施設名： 宍戸 哲郎 沓澤 大輔 久保田 功

慢性心不全は、種々の原因から生じる慢性の心筋障害により心機能が低下した状態であり、生命予後のきわめて悪い、終末的な病態です。近年、慢性心不全症例のうち、収縮機能が保持された心不全（HF-PEF）の存在が注目されるようになりました。過去の報告では、全体の 4 割強を HF-PEF が占めています。これまで、心筋傷害マーカーの一つである H-FABP と troponin T と収縮力の低下した心不全に関する報告がなされていますが、HF-PEF と心筋障害の連関に関しては明らかではありませんでした。そこで、本研究では HF-PEF と心筋傷害の関連を明らかにすることを目的としました。当院に入院した慢性心不全患者、連続 350 例のうち、III 度以上の弁膜症, 3 か月以内の ACS の既往, 血清クレアチニン値 2.0 mg/dl 以上の患者を除外した 313 例のなかで、収縮機能が保持された心不全は 151 例を検討しました。エンドポイントは、心血管死もしくは心不全悪化による再入院とし、観察期間の中央値は 694 日でした HFABP を 3 分位にわけて、 Kaplan-Meier 解析を行うと HFABP が上昇するごとに、心血管イベントの発症率が高いことがわかりました。H-FABP を用いて心血管イベントに関する ROC カーブを作成すると、カットオフ値は 4.3 ng/ml (AUC 0.70、感度 0.71、特異度 0.68) で、年齢, BNP, 左房径に比べて感度特異度とも優れていました。多変量解析において、心筋膜障害 H-FABP は独立した危険因子 (hazard ratio 1.165 per 1 ng/mL increase, 95% confidence interval 1.034-1.314, p=0.012) でした。これらのことから、収縮機能が保持された心不全にも潜在性心筋傷害が存在し、HFABP は収縮機能が保持された心不全においてもその予後を予測する独立した因子であることが明らかとなりました。

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）

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

平成 24 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル：マウス心腎連関モデルを用いた腎不全による心不全悪化
の機構の検討

お名前・ご施設名：磯部光章・東京医科歯科大学循環制御内科学講座

背景：腎不全により重度の心不全を引き起こすことや治療効果の低下が問題点である。この病態は心腎連関とよばれている。この機序解析に適切な心腎連関モデルの作製し、病態解析を行った。

方法：マウス腎不全合併心筋梗塞モデルを作成した。左腎の腎動脈の上端と下端を結紮。1 週間経過観察を行った後、右腎を完全に摘出させ腎臓垂全摘モデルを作成した。さらに 4 週後に冠動脈前下降枝の血流を遮断することにより心筋梗塞モデルを作成した。このモデルの血圧、心拍数、心エコーにて生理学的指標を計測し、RT-PCR やコラーゲン定量により心不全の程度を非腎不全動物と比較検討した。

結果：腎不全の誘導により血圧、クレアチニン、血漿のレニン活性の上昇が確認でき、心筋梗塞と腎不全との合併より心機能の悪化や梗塞層の進展と菲薄化が認められた。心臓ではコラーゲンの発現、MCP-1、NOX2 や NOX4 などの酸化ストレスが有意に高いことが分った。これらが腎不全の合併時に心筋梗塞後の心筋リモデリングが助長することが確認できた。腎不全によるこれらの変化におけるレニン活性の上昇の関与を検討するため、レニン阻害剤であるアリスキレンを投与した。アリスキレンおよびヒドララジンは同等の血圧の低下を示したが、ヒドララジン投与群では心機能の改善が見られなかったが、アリスキレン投与群では心機能の改善、コラーゲンの発現の減少および酸化ストレスの減少が認められた。また NOX の阻害剤であるアポサイニンを投与した群も作製したところ、腎不全合併による心筋リモデリングの改善が認められた。これらの結果から腎不全によるレニンの活性が酸化ストレスを誘導し、心不全悪化を誘導したと考えられた。

結論

心腎連関モデルにおいて、心臓のコラーゲンの増加、酸化ストレスの悪化が生じている。。また腎不全との合併による心不全の悪化にはレニンの活性の増加が重要である。