

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

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：本邦の慢性心不全症例における性差—CHART-2 研究からの報告—

お名前・ご施設名：坂田泰彦・宮田敏・後岡幸太郎・三浦正暢・高田剛史

但木壮一郎・牛込亮一・山内毅・高橋潤・下川宏明

東北大学大学院医学系研究科・循環器内科学分野

【背景】本邦の慢性心不全における性差に関する検討は少ない。

【方法・結果】

東北慢性心不全登録研究（CHART-2 研究、N=10,219）に登録された Stage C/D の慢性心不全症例（N=4,736、平均 69 歳）の背景、治療、予後における性差を検討した。男性（N=3,234）と比較して女性（N=1,502）は高齢（68 vs 72 歳, $p<0.001$ ）で、虚血性心疾患（54 vs 32%, $p<0.001$ ）、糖尿病（36 vs 32%, $p=0.002$ ）、心筋梗塞既往（40 vs 20%, $p<0.001$ ）の頻度は少なく、左室駆出率は比較的保たれていた（56 vs 60%, $p<0.001$ ）が、NYHA 分類クラス I の症例は少なく（26 vs 17%, $p<0.001$ ）、BNP 値（185 vs 220 pg/mL, $p<0.001$ ）は高かった。また女性ではβ遮断薬、スタチンの処方頻度は少なく、利尿薬が多く使用されていた。中央値 3.1 年の観察期間において粗死亡率に有意差を認めなかった（52.4 vs 47.3 /1000 人・年, $p=0.225$ ）が、多変量 Cox 回帰解析では女性の死亡リスクが低かった（adjusted HR 0.79, $p=0.031$ ）。

【結論】

本邦の女性慢性心不全症例の背景は男性に比較して重症であり、エビデンスに基づく治療は不十分で、症例背景補正後の女性症例の生存率は男性に比較して良好であったが、粗死亡率は男性と変わらなかった。

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
2013 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル： PDE3 が持つ心筋保護効果について

お名前・ご施設名： 及川雅啓・竹石恭知

福島県立医科大学 循環器・血液内科学講座

PDE3 は心筋細胞において、cAMP の分解を司ることで PKA を介した強心作用を制御している。PDE3 阻害薬は急性心不全治療薬として臨床現場で使用されているが、その長期使用は予後を悪化させ、その機序の一つとして、PDE3 機能の低下が、Inducible cAMP early repressor (ICER)の発現を上昇させ、心筋アポトーシスを引き起こす事が知られている。そこで我々は、心臓特異的 PDE3A 過剰発現マウス(TG)を作成し、抗アポトーシス機序による PDE3 の心筋保護効果を検証した。TG マウスでは野生型(WT)マウスと比較し、PDE3A の高発現により、左室内腔拡大、左室駆出率の低下が認められた。単離心筋細胞において、イソプロテレノール刺激によるサルコメア短縮が抑制されていたが、いずれもミルリノンの投与により改善を示した。TG マウスの自然予後は WT マウスと同等であった。虚血再灌流障害モデルを作成したところ、TG マウスでは、アポトーシス細胞数の低下、心筋梗塞サイズの縮小が認められたが、WT マウスで認められた ICER の発現上昇は抑制されていた。単離心筋細胞に対して、低酸素刺激、過酸化水素水刺激を行ったところ、アポトーシス細胞数は TG マウスで少なく、心筋細胞そのものが抗アポトーシス効果を持つことが示された。これらの結果より、PDE3A の高発現は抗アポトーシス作用を介した心筋保護効果を示し、今後の心不全治療戦略を構築する上で興味深い結果と考えられた。

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
2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 国立循環器病研究センターで経験した50例の心臓移植症例
の病理学的検討

お名前・ご施設名： 植田初江・松山高明
国立循環器病研究センター 病理部

1997年の臓器移植法制定2年後の第1例から2012年8月まで国内で脳死心臓移植は139例施行された。うち国立循環器病研究センターでの50例のレシピエント心および移植後の心筋生検について検討した。レシピエントは平均37歳、男性39例(78%)。原疾患はDCM33例(66%), HCM7例(14%), RCM1例, ARVC1例, 2次性心筋症8例(16%)であった。左室補助心臓装着44例(88%)、平均装着期間30ヵ月。死亡例は移植4年後の骨髄異形性症候群と術後8ヶ月の循環不全の2例。術後急性期の心機能低下は7例で影響因子はドナー心サイズ、低左室収縮率、高濃度のカテコラミンであった。急性細胞性拒絶は中等度以上が6例(12%)、抗体関連拒絶は3例(6%)であった。日本の心臓移植数は欧米に比べ少ないが10年生存率は95%と世界のトップレベルである。これにはドナー判定、レシピエント選定、周術期の医療、術後の定期的な心筋生検を主軸とした拒絶反応の判定など、きめ細かな診断・治療が貢献している。

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

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：心不全におけるアルドステロン作用の二面性について

お名前・ご施設名：吉村道博

東京慈恵会医科大学内科学講座循環器内科

RAA系における Angiotensin II の重要性は云うまでもないが、Aldosterone もまた極めて重要な意義を持つ。Aldosterone は副腎皮質にて合成・分泌され、腎臓に作用して体内へのナトリウム貯留を引き起こすホルモンである。しかしながら食塩摂取過多や心不全ではその作用は過剰となり有害事象をもたらすことが知られている。よって、臨床では抗アルドステロン薬が有効であり、大規模臨床試験でもそれが裏付けられている。つまり、アルドステロンの作用面では、その長期に亘るゲノム作用は抑制する方が好ましい。一方で、非ゲノム作用に関しては不明な点が数多く、心保護的な作用も想定されている。

我々の検討では、仔ラット心筋細胞培養系におけるアルドステロンの短時間投与は、酸化ストレス刺激の MTS assay にて有意な心保護効果を示した。このシグナル伝達には、aldosterone - NHE1 - PI3K - Akt pathway が関与することが判明した。さらにランゲンドルフ灌流心を用いた実験において虚血再灌流時における心筋障害を Aldosterone は軽減させることが示された。そこには p38 の動態が絡むことも示された。

以上より、アルドステロンの短期作用と長期作用に関して、前者は主に非ゲノム作用で後者は主にゲノム作用であると想定され、それぞれ細胞保護と障害に関して二面性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

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：植込型 LVAS による心臓移植へのブリッジ

お名前・ご施設名：国立循環器病研究センター

佐藤琢真、中谷武嗣、諏訪秀明、瀬口理、角南春樹、

村田欣洋、築瀬正伸、秦広樹、藤田知之

1. 目的

当院において無拍動流植込型左心補助人工心臓（LVAS）が保険償還下に使用可能となった2011年5月以降心臓移植へのブリッジとしては、原則として植込型 LVAS 装着を行ってきた。今回その早期成績を検討する。

2. 対象・方法

2011年5月から心臓移植へのブリッジ目的で非拍動流植込型 LVAS LVAS 装着を行った39例。また、同時期の体外設置型 LVAS 装着例12例で検討する。

3. 結果

装着の検討において、循環動態が INTERMACS Level 2 - 3 の33例では直接植込型を選択した。また、PCPSを必要とするなどの INTERMACS Level 1 6例に対しては体外設置型を装着し、その後循環動態が安定してから植込型への移行を行なった。初期の症例における皮膚刺入部ドライブ感染は、体外設置型における送血・脱血管部と著明な差はなく、また、脳血管障害も同程度であった。生存率は大きな差はなく、両者とも良好であった。しかし、機種によっては体格の小さい患者への装着も可能となり、既に29例において在宅管理を行なっている。

4. 考察ならびに結語

植込型 LVAS の選択できる機種が増加し、体格の小さい症例に対する適応も可能となり、植込型 LVAS による在宅管理を行なう状況になってきた。しかし、LVAS における問題点としての脳血管障害、皮膚刺入部感染および機器トラブルについては、今後も検討を続ける必要がある。

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
2013 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル： 肥大型心筋症の突然死リスク
— 一次予防 ICD 植込み例からの検討 —

お名前・ご施設名： 志賀 剛、鈴木 敦、矢崎恭一郎、萩原誠久
東京女子医科大学循環器内科

背景：肥大型心筋症患者において心臓突然死の予知・予防は生命予後の改善に必要である。植込み型除細動器はハイリスクの肥大型心筋症患者の突然死予防として有用ではあるが、一次予防を目的としたリスク層別化はまだ十分でない。われわれは肥大型心筋症において左室流出路のみならず左室内圧較差の存在が予後に関連することを示した。今回、従来の大リスクとともに左室内圧較差が肥大型心筋症に伴う致死性心室性不整脈発現に関係するか検討した。

方法：植込み型除細動器を突然死一次予防として植え込んだハイリスクの肥大型心筋症連続 43 例（年齢 56 ± 17 歳、男性 30 例）を対象とした。拡張相肥大型心筋症は除外した。従来の大リスク因子なしが 2 例、1 つが 15 例、2 つ以上が 26 例であった。これら大リスク因子と左室内圧較差を含めた臨床背景因子と除細動器適切作動の関係を調べた。

結果：平均観察期間 6 年で、7 例に適切作動を認めた。32 例が大リスク因子である非持続性心室頻拍を有していた。多変量解析を行ったところ、各因子単独では有意とならなかったものの非持続性心室頻拍に左室内圧較差（心臓超音波検査にて 30mmHg 以上）を加えると適切作動のリスクが有意となった。（ハザード比 30.4、95%CI 1.28-724.4、 $P=0.035$ ）

結論：肥大型心筋症の心臓突然死リスク因子として左室内圧較差の存在が重要であるかもしれない。この件についてはさらに詳細な検討を続けたい。

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）

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 迷走神経による心不全治療の現状

お名前・ご施設名： 井手友美

砂川賢二

九州大学循環器内科

慢性心不全において、交感神経の亢進がその病態形成と増悪に重要な役割を果たしていることが知られている。迷走神経刺激は心筋梗塞後ラットの心筋リモデリング、予後を改善することが報告され、現在ではその効果はすでに慢性心不全患者を対象に行った臨床研究で、NYHAの改善、左室駆出率の改善が報告されている。しかしながら、このVNSが慢性心不全に有効であることのメカニズムは依然不明であり、刺激強度依存性にその効果が得られるのか、心拍数減少と関連があるのか、など明らかにすべき点が多い。同時に、迷走神経刺激はその強度依存性に副作用が出現することがわかっており、臨床上の課題である。

我々は、刺激強度、周波数、duty cycleを可変可能な小動物用植え込み型刺激装置を開発し、最も適切な刺激条件の探索を行っている。心筋梗塞作成後4週間経過し、刺激装置、テレメトリー植え込みを行ったラットに迷走神経刺激を4週間実施し、左室心重量、血行動態、BNPについて検討した。刺激強度について、従来10%程度の心拍数低下を目安に刺激を継続していたが、最も左室重量を抑制し、血行動態が良好であったのは、心拍数低下が認められる閾値の約50%の低強度であった。また同時に、心筋リモデリングに対する迷走神経刺激効果は心拍数低下作用を介したものではないと考えられた。

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

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：テネイシン C による心筋炎の制御

お名前・ご施設名：田尻和子¹⁾, 町野智子¹⁾, 保富康宏²⁾, 青沼和隆¹⁾,

吉田利通³⁾⁴⁾, 今中恭子³⁾⁴⁾

1)筑波大学医学医療系循環器内科

2)医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター

3)三重大学大学院医学系研究科修復再生病理学

4)三重大学マトリックスバイオロジー研究センター

細胞-マトリックス相互作用のメディエーターとして機能する特別な細胞外マトリックス分子として、**matricellular** 蛋白の存在が注目されている。テネイシン C (TN-C) は、典型的な **matricellular** 蛋白で、活動性炎症に伴って一過性に発現し、その発現レベルは心筋炎/心筋症の疾患活動性と相関を示すため、病態診断指標として用いることができるが、その詳細な分子機能は未だ明らかではない。今回は、マウス自己免疫性心筋炎モデルを用いて TN-C による炎症の制御メカニズムを明らかにすることを目的とした。マウス自己免疫性心筋炎において、心臓組織中の TN-C は炎症細胞の浸潤に一致して発現し、炎症細胞の消退に伴って消失していた。次に TN-C 欠損 (KO) マウスに心筋炎を誘導したところ、WT と比べて心筋炎が軽減した。特に、KO 心筋炎マウスでは心筋に浸潤する Th17 細胞の減少、制御性 T 細胞の増加を認め、ヘルパー T 細胞の分化に TN-C が影響を及ぼして心筋炎を抑制している可能性が示唆された。そこで次に、ヘルパー T 細胞の分化に重要な樹状細胞への TN-C の作用を検討した。骨髄細胞より作成した樹状細胞に TN-C を添加すると、Th17 細胞への分化に必要な IL-6 産生の増加を容量依存性に認め、ナイーブ T 細胞との共培養実験では Th17 細胞への分化を促進し、制御性 T 細胞への分化を阻害することが明らかとなった。またこれらの反応は TLR4 シグナルを阻害することによりキャンセルされることより、TLR4 シグナルを介した TNC のシグナルが樹状細胞からの IL-6 産生を促してい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
2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 熱ショック蛋白の発現制御を介した HMGB1 の心筋細胞障害
抑制機序の解明

お名前・ご施設名： 宍戸哲郎・成味太郎・久保田功

山形大学医学部内科学第一講座

Heat shock protein (HSP)は、虚血、熱など種々のストレスの負荷により細胞に発現が誘導され、分子シャペロンとして細胞保護作用を有しています。しかしながら、心筋内での HSP 発現制御機構は不明な点も多いことから、制御機構の解明は心不全の新規治療法の解明に重要な役割を持つと考えられます。High Mobility Group Box 1 (HMGB1) は生体内の細胞に豊富に存在する非ヒストン核蛋白です。我々は、HMGB1 が壊死心筋細胞から放出されることで血管新生を促したり、細胞内での胎児型遺伝子発現を抑制することで心筋保護作用を有していることを報告しましたが、HSP 発現調節への関与は明らかではありませんでした。培養心筋細胞にドキシソルビシン刺激を行うと HSP27 の発現が亢進しましたが、SiRNA-HMGB1 により発現は優位に抑制されました。逆に、HSP27 の発現は、HMGB1 の transfection によってさらに亢進し、ドキシソルビシン刺激による心筋細胞 apoptosis が優位に抑制されました。この現象は、SiRNA-HSP27 と HMGB1 の co-transfection により、優位に抑制されていました。生体での HMGB1 の機能を明らかにするために心臓特異的 HMGB1 過剰発現マウスと野生型マウスにドキシソルビシン投与を行うと、HMGB1-TG マウスで優位に心機能が保たれていました。培養実験と同様に、HMGB1-Tg マウスでは、ドキシソルビシン投与後の HSP27 発現が亢進しており、異常ミトコンドリアの出現が抑制され、心筋細胞の apoptosis が優位に抑制されていました。これらのことから、ストレス刺激下での HSP27 発現は、核内の HMGB1 による制御を一部受けており、HMGB1 の機能調節が、新規の心不全治療の開発につながる可能性が示唆されました。

タイトル： 自己免疫性心筋炎における NF- κ B の役割

お名前・ご施設名： 渡邊 亮・磯部 光章

東京医科歯科大学 循環制御内科学

免疫反応を制御する転写因子 NF- κ B は炎症を誘導することで種々の心血管疾患の進行に関与しており、心筋炎の進行においても重要な役割を果たす可能性が考えられる。そこで本研究では、NF- κ B 活性化の阻害が自己免疫性心筋炎の病態を改善させるか調査した。

実験方法として、ラット自己免疫性心筋炎モデルに対し NF- κ B を活性化させる I κ B キナーゼ (IKK) の特異的阻害剤である IMD-0354 (15mg/kg/day n=13) もしくは溶媒 (無治療群 n=18) を腹腔内投与し、21 日目に心臓および脾臓を摘出して比較検討を行った。また、無治療群の脾臓より単離した細胞をミオシンで刺激し、T 細胞の増殖および Th1 サイトカイン (インターフェロン- γ およびインターロイキン-2) の産生に対する IKK 阻害剤の効果を検証した。

結果として、無治療群では心重量の増加や心筋組織に広範囲に及ぶ炎症細胞の浸潤が観察されたが、IKK 阻害剤群ではこのような組織の傷害が軽減された。無治療群においては、NF- κ B の活性化が脾臓および心筋組織中に浸潤している CD4 陽性 T 細胞において観察された。IKK 阻害剤の投与により、心臓における NF- κ B の活性および Th1 サイトカインの遺伝子発現が低下した。さらに培養脾細胞において、ミオシンの刺激によって誘導された T 細胞増殖と培養上清中の Th1 サイトカインレベルの上昇が IKK 阻害剤の投与によって抑制された。

以上のことから、IKK 阻害剤による NF- κ B 活性化の阻害が T 細胞の活性化を抑制して心筋炎の病態を改善することが明らかになった。結論として、T 細胞における NF- κ B の活性化が自己免疫性心筋炎の進行で重要な役割を果たすことが示唆された。

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

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 肥大型心筋症における冠動脈病変の評価

-心臓 CT を用いた検討-

お名前・ご施設名： 岡山悟志・齋藤能彦

奈良県立医科大学 第1内科

背景) 肥大型心筋症患者 (HCM) の多くは予後が良好であるが、少数とはいえ無視できない数の患者は心臓突然死、心不全、および心房細動を発症し予後が不良である。冠動脈疾患 (CAD) は心臓突然死や心不全の重要な原因の1つであり、心臓カテーター検査を用いた研究では HCM 患者の予後に悪影響を与えることが報告されている。しかしながら、HCM に合併する CAD の罹患率やその予測因子はこれまでに十分検討されていない。

目的) HCM 患者を対象に心臓 CT を用いて冠動脈病変を評価し、HCM 患者における CAD の罹患率とその予測因子を明らかにする。

対象と方法)

対象は HCM 患者 51 例 (68.6 ± 11.8 歳, 男性 31 例, 女性 20 例) である。冠危険因子として年齢、性別、高血圧、脂質代謝異常、糖尿病および現在の喫煙習慣を評価した。さらに、心臓 CT を用いて Agatston score、冠動脈狭窄、石灰化プラーク、非石灰化プラーク、および混合性プラークの有無を評価した。

結果) Agatston score は 198.8 ± 312.0 であり冠危険因子数と正の相関を示した ($r = 0.32$, $p < 0.05$)。何らかの冠動脈狭窄が 42 例 (82.4%) に、50%以上の有意狭窄が 8 例 (15.7%) に認められた。非石灰化プラークと混合性プラークはそれぞれ 14 例 (27.5%) と 11 例 (21.6%) に認められた。多変量解析では糖尿病が 50%以上の有意狭窄の独立した予測因子であった。

結語) 肥大型心筋患者において冠動脈疾患の合併は稀ではなかった。50%以上の冠動脈狭窄の独立した予測因子は糖尿病であった。糖尿病合併肥大型心筋症例では冠動脈疾患の精査が必要である。

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

2013 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 直接リプログラミングによる心臓再生法の開発

お名前・ご施設名： 家田真樹、福田恵一

慶應義塾大学医学部・循環器内科

心臓はさまざまな細胞から構成され心筋以外にも多数の心臓線維芽細胞が存在している。心筋細胞は再生能力を持たないため、心不全など心臓病では線維芽細胞の増殖と線維化により障害部位が置換される。これまで心筋のマスター遺伝子は長い間発見されていなかったが、複数の遺伝子の組み合わせにより心筋誘導できるという仮説のもと遺伝子探索を開始した。その結果、*in vitro* の検討でマウス心臓線維芽細胞から心筋様細胞への分化転換に必要な遺伝子群として、心臓特異的な 3 つの転写因子(Gata4, Mef2c, Tbx5) の同定に成功した(Ieda et al, Cell, 2010)。また急性心筋梗塞モデルマウスを用いた *in vivo* の研究では心臓に Gata4, Mef2c, Tbx5 を直接導入して内在性心臓線維芽細胞を心筋様細胞に生体内で転換することに成功した(Inagawa et al, Circ Res, 2012)。さらにヒト線維芽細胞の心筋誘導には Gata4, Mef2c, Tbx5 にさらに心臓特異的な 2 因子 (Myocd, Mesp1) を加えた 5 因子が必要であることを見出した (Wada et al, PNAS, 2013)。本会では最近の国内外の心筋リプログラミング研究の進展と今後の展望について報告する。

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
 2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル: 心不全関連遺伝子の網羅的解析(III) BWAS (Bigenome Wide Association Study)の重要性

お名前・ご施設名: 豊岡照彦¹、中島敏明²、Sawa Kostin³、豊岡理人⁴、
 木下修⁵、許俊鋭⁶、Jutta Schaper³、小野稔⁵
 和泉徹¹、徳永勝士⁴

1)北里大・循環器内科・2)東大 心筋虚血治療部門

3)Dept.Exp.Cardiol., Max-Planck Inst.

4)東大 人類遺伝学教室・5)東大 心臓外科

6)健康長寿医療センター

[序] 最近 DCM の頻度予想以上に遺伝的負荷が強く (Hershberger *et al.*, *Nature Review Cardiol*, 2013)、DCM に代表される心不全(HF)は他の common disease と同様、複数遺伝子の組合せが病態を修飾すると考えられる。更に、関連遺伝子として、心不全は核遺伝子に加え、ミトコンドリア(mt)遺伝子が直接 ATP 合成と、間接的に apoptosis を介して心機能に影響する。更に発症率が白人と異なる DCM は ethnicity を反映する mt-haplogroup に依存する事から (Shin *et al.*, *Am J Hum Genet*, 2000)、核と mt の両ゲム(bigenome)の解析が重要となる (Toyo-oka *et al.*, *PNAS*, 2004)。

[方法および結果] AHA/ACC と日循の診断基準を満たす心不全患者の血液由来の genomic DNA(n=175) と、mtゲムが心不全時に著増する free radical で後天的にも変異する可能性を考え、LVAD 装着時、心移植時または死後 4 時間以内の autopsy 時の試料 (n=95)から whole genomic DNA を単離・精製した。また、家族性変性神経諸疾患の網羅的 exom 解析でアミノ酸変異は 1/4 程度と限定的 (Smith *et al.*, *N Engl J Med*, 2013) だった点から、我々は intron, miR, ncRNA、等の non-sense 変異と CNV を合わせて Affymetrix SNP microarray v6.0 で、又 mt 全配列を決定し、同時解析した(下図)。その結果、①HF 関連変異の発現率は染色体(Chr)間の差が大きく、Chr の長さで補正後、20>8> 12>・・・>11>Y-Chr の順だった。②mtゲムは特に変異が多く、人種差を反映する haplogroup の関与が示唆された、③各 Chr 上のアミノ酸変異数と gene 数は強い相関を示したが、他指数との相関は少なかった。④一部は親子間の解析が可能だった。その結果、de novo 変異が散見されたが、アミノ酸が変化することは稀で、進化過程で淘汰された可能性が

BWAS (bigenome-wide association study), summary of heart failure (HF)-related genes in each chromosome and mitochondrion

Chr.#	gene #	approx. length (Mbp)	sequenced length	HF-related allele #	HF/chr length (Mbp)	total missense aa	nonsyn/ ORF	total stop + ncRNA	total iSNP	total synonymy	total CNV
1	>3000	240	90%	45885	191	458	15.3%	228	39084	483	18213
2	>2500	240	95%	56452	232	218	8.7%	175	40375	372	15969
3	1900	200	95%	12579	64	30	1.6%	66	16773	59	3209
4	1600	190	95%	26712	141	75	4.7%	49	11364	119	14375
5	1700	180	> 95%	56291	313	193	11.4%	151	36541	304	4013
6	1900	170	> 95%	48149	198	203	10.7%	218	13493	326	18213
7	1800	150	> 95%	20389	136	97	5.4%	89	8989	181	11873
8	1400	140	> 95%	48527	347	28	2.0%	197	19211	0	13431
9	>1400	130	> 85%	41451	319	94	6.7%	148	3983	208	10653
10	>1400	130	> 95%	25083	193	70	5.0%	122	9960	65	6899
11	2000	130	> 95%	1480	110	12	0.6%	7	1141	20	379
12	1600	130	> 95%	42750	329	206	12.9%	159	17312	415	10170
13	800	110	> 80%	34063	310	76	9.5%	112	18242	139	9042
14	1200	100	> 80%	27849	278	127	10.6%	116	14150	206	8341
15	1200	100	> 80%	26121	261	122	10.2%	155	21528	261	8396
16	1300	90	> 85%	23237	258	46	3.5%	119	21166	251	7259
17	1600	80	> 95%	9513	119	146	9.1%	105	8611	174	2295
18	800	70	> 95%	11191	160	65	10.8%	31	6473	67	2636
19	>1700	60	> 85%	7624	127	195	11.5%	106	5565	227	3391
20	900	60	> 90%	22807	360	179	19.9%	118	17587	217	6041
21	400	40	> 70%	12537	313	57	14.3%	91	12340	88	3277
22	800	40	70%	11411	285	142	17.8%	121	10803	161	2925
X	>1400	150	95%	42323	282	220	15.7%	110	31142	313	9301
Y	>366	50	50%	366	7	0	0.0%	1	81	1	?
mt	37	0.0166	complete	119	150602	25	150802.0%	2	0	63	5
Sum	35000	2.93 Gbp	50~100%	2683800		3084		22794	2385931	24718	188106
r vs missense	0.891	0.199		0.49				0.541	0.515	0.842	0.334

示された。⑤核遺伝子の他に、mt 遺伝子も加えると、両ゲムが独立して変異すれば、その組合せは膨大に見えるが、現実には両ゲム間の連鎖を示唆する所見も認められ、実体は遙かに低下する可能性が有る。実際、核と mtゲムは長い進化過程で相互に空間的に移動した NUMT 現象が認められ、pseudogene の一部も説明される。[結語] 時間が許せば、今回の班会議では、上記結果と変異の医学・生物学的意義を議論したい。

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）

北風班 特発性心筋症に関する調査研究

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：肥大型心筋症の病因となる ANKRD1 遺伝子変異による
心筋収縮機能への影響

お名前・ご施設名：木村彰方¹、有村卓朗¹、Claudia Crocini²、

Thomas Eschenhagen²、Lucie Carrier²

1 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野

2 University Medical Center Hamburg Eppendorf

我々は以前に、家族性肥大型心筋症患者に CARP タンパクをコードする ANKRD1 遺伝子の3種類のミスセンス変異（Pro52Ala, Thr123Met, Ile280Val）を発見し、いずれの変異とも変異 CARP タンパクとタイチン N2-A 領域への結合性を増強すること及び変異 CARP タンパクが成熟分化した心筋細胞でも核内にとどまることを報告したが、CARP 変異による心筋収縮機能の変化は明らかではなかった。そこで、ラット心筋細胞による *in vitro* での組織再構築系を用いて、AAV ベクターによって正常ないし変異 ANKRD1 遺伝子を導入した心筋組織における収縮パラメーターの変化を検討した。その結果、Thr123Met 変異は収縮力、収縮速度、弛緩速度の亢進をもたらすことが判明した。一方、Pro52Ala 変異や Ile280Val 変異を有する CARP タンパクは心筋細胞内での分解が進み不安定であった。ついで、プロテアゾーム阻害剤（エポキシミド）の存在下で収縮パラメーターを測定したところ、Pro52Ala 変異は有意な変化をもたらさなかったが、Ile280Val 変異は弛緩速度を有意に延長させた。以上のことから、肥大型心筋症関連 ANKRD1 変異による心筋収縮力への影響は変異ごとに異なることが示された。

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
2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：心不全モデルにおけるマクロファージの関与と炎症を
コントロールする長鎖ノンコーディング RNA の検討

お名前・ご施設名：中山幸輝¹，藤生克仁¹，真鍋一郎¹，永井良三^{1,2}

1 東京大学循環器内科，2 自治医科大学

心不全の発症には、様々な免疫細胞と、それらが産出する炎症性サイトカインが関与していると考えられている。一方で、単独のサイトカインを抑制する治療が奏功する報告は乏しく、マウスの心不全モデルでマクロファージを除去することで更なる心不全増悪を引き起こすことが分かった。誘導される免疫細胞と炎症性サイトカインはホメオスタシスを制御する一方、遷延する炎症が増悪因子になっていると考えられる。そこで、免疫細胞におけるサイトカイン制御に介入することを治療戦略とする。そこで、転写制御を担う因子として近年報告される長鎖ノンコーディング RNA (lncRNA) が、心臓マクロファージにおいても重要な役割を担っていると仮定した。まずはマウスの *in vitro* モデルの炎症性マクロファージの RNA シーケンスを行なうことで、発現する lncRNA を同定した。さらに刺激で発現が増加する lncRNA の内で、心不全モデルの心臓に誘導されるマクロファージにも発現している lncRNA に注目した。*in vitro* モデルにおいて介入することで炎症性サイトカインの制御への関与が示唆されたものに関して、今後はノックアウトマウスを作製して表現型を観察していく。

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
2013 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル： 次世代シーケンサーおよび疾患特異的 iPS 細胞を用いた
難治性循環器疾患研究 update

お名前・ご施設名： 内藤篤彦¹⁾・小室一成²⁾

1) 東京大学医学部附属病院循環器内科/

大阪大学医学部心血管再生医学

2) 東京大学医学部附属病院循環器内科/

大阪大学未来戦略機構

心筋症患者のゲノム解析を通じて変異遺伝子を同定するとともに体細胞から iPS 細胞を樹立し、そこから分化させた心筋細胞の表現型を解析することで遺伝子変異と患者の表現型をつなぐ心筋細胞の異常が明らかになり、その異常を是正する化合物をスクリーニングすることで新しい治療薬が開発可能になる可能性がある。

我々は平成 24 年度より「疾患特異的 iPS 細胞を用いた難病研究」の拠点機関として心筋症症例のゲノム解析と iPS 細胞樹立を進めている。ゲノム解析に関しては Agilent 社 Haloplex 疾患リサーチパネルをカスタムで編集し、心筋症との因果関係が報告されている 95 遺伝子の 99.43% をカバーするパネルを作成した。興味深い症例について既知の遺伝子変異を探索するためのツールとして心筋症研究班において活用していただければと考えている。iPS 細胞に関しては研究代表者の異動もあり、研究体制の構築に難航していたが、複数施設から iPS 細胞作成依頼を受けることができる体制が整ったので是非ご活用いただきたい。現在までに複数の肥大型心筋症、拡張型心筋症症例から iPS 細胞を樹立し、分化誘導した心筋細胞の表現型解析を進めている。症例をご紹介いただく心筋症研究班員の研究施設において（解析機器さえあれば）容易に再現することができる解析系を用いて表現型探索を進めており、本日はその中から肥大型心筋症 iPS 由来心筋細胞の細胞形態に関する解析結果および拡張型心筋症 iPS 由来心筋細胞の収縮・拡張に関する解析結果を御紹介する。

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

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：ダントロレンによるリアノジン受容体を分子標的とした

新しい心不全・不整脈治療

お名前・ご施設名：小林 茂樹、矢野 雅文

山口大学大学院医学系研究科 器官病態内科学

悪性高熱症、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍症(Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia:CPVT)や心不全においては、リアノジン受容体(骨格筋型：RyR1, 心筋型：RyR2)内のドメイン連関障害が、リアノジン受容体からの Ca^{2+} 漏出の原因と考えられている。われわれは、悪性高熱症の治療薬であるダントロレンは、RyR1 に結合し、RyR1 内のドメイン連関障害を是正することによって RyR1 からの Ca^{2+} 漏出を抑制することを提唱した。同様に、イヌ心不全モデルや CPVT 型 knock-in マウスにおいてもダントロレンは、RyR2 に結合し、RyR2 からの Ca^{2+} 漏出を抑制し、心不全の進展や CPVT を抑制することを報告した。最近、我々は、臨床試験において、心不全を合併した持続性心室頻拍の症例で、ダントロレンの投与により、心室頻拍が抑制された症例を経験した。このように、ダントロレンは RyR2 を分子標的とした新しい心不全・不整脈治療薬となることが期待される。

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

2013 年度 第 2 回総会・研究報告会 抄録

タ イ ト ル： 肥大型心筋症における Force-Frequency Relation 評価の意義お名前・ご施設名： 奥村貴裕・坂東泰子・室原豊明名古屋大学大学院 医学系研究科 循環器内科学

われわれは、第 1 回総会・研究報告会にて、収縮能の保たれた肥大型心筋症(HCM)患者の収縮頻度連関(force-frequency relation: FFR) Biphasic パターンが予後と関連することを報告した。症例数の増加にともない解析が進み、心筋検体における mRNA 発現量の解析結果が得られたので、併せて報告する。

【方法】左室駆出率が 50%以上に保たれた NYHA 分類 I あるいは II 度の HCM 患者 81 例を対象とした。左室内に 6Fr マイクロマノメータ付きピッグテールカテーテルを留置し、10 拍/分きざみで 80 拍/分から 140 拍/分まで心房ペーシング負荷を行い、LVdP/dt_{max} を測定した。刺激頻度に対する左室応答パターンにより、Monophasic pattern (M 群：59 例) と Biphasic pattern (B 群：22 例) に分類し、予後追跡調査を行った。【結果】平均年齢は 57.5 歳、BNP 値は 131.5pg/mL、左室駆出率は 71%であった。家族歴および NYHA 分類において、両群間に有意な差を認めなかった。B 群では M 群に比べ、β 遮断薬の服用は有意に多く、ベースライン心拍数は有意に低いものの(M 群 69.3 vs B 群 62.3 [bpm])、BNP 値は有意に高値であり(M 群 45.0 vs B 群 129.9 [pg/mL], p=0.003)、左室重量係数は有意に高かった(M 群 141.5 vs B 群 168.5 [g/m²], p=0.02)。観察期間中に突然死 3 例、致死性不整脈 3 例、心不全増悪による入院 2 例を経験した。予後解析では、複合心イベントは B 群で有意に多く(p=0.001)、Cox 比例ハザード解析では、FFR における Biphasic pattern は独立した予後予測因子であった(HR=8.35, p=0.009)。2 相性 FFR の原因として、心筋構成蛋白の潜在性変化があるか否かを、各群患者心筋検体のウェスタンブロットにより評価実施した。SERCA2A 発現量は B 群で有意に低下していたが(p=0.017)、Phospholamban 発現量には有意な差は認めなかった(p=0.14)。Troponin I 発現量も B 群で有意に低下していたが、Troponin T 発現量には変化を認めなかった。また、肥大関連シグナル(リン酸化 Akt, リン酸化 mTOR, リン酸化 ERK)およびミトコンドリア関連蛋白(PGC1alpha, Mfn-1, Mfn-2)には変化を認めなかった。【結論】収縮能が保たれた無～軽症状の HCM 患者において、心房ペーシングによる左室収縮応答の 2 相性変化は、心イベントの予後不良の指標となりうる。その病因として、収縮制御蛋白 SERCA2A および Troponin I の発現低下の関与が示唆された。

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

2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル： 心不全における脳由来神経成長因子（BDNF）の役割

お名前・ご施設名： 絹川真太郎・筒井裕之

北海道大学大学院医学研究科・循環病態内科学

背景：脳由来神経栄養因子（BDNF）は主に海馬に発現しており、神経細胞の成長、維持、修復に働いている。うつ病患者ではBDNFの発現が低下していることが知られている。一方、骨格筋にも発現しており、脂肪酸酸化の制御にも関わっていることが知られている。我々は、心不全患者では血中BDNFが低下し、運動耐容能と関連し、心不全患者の予後と密接に関連していると仮説を立て、検討した。

方法：心不全患者43名（平均年齢58歳，NYHA 1-3度）の血中BDNFを測定し、運動耐容能を含む臨床情報収集とともに、心血管イベントによる全死亡または心不全による再入院をend-point（心事故）として追跡調査した。健常者27名（平均年齢52歳）を対照群とした。

結果：血中BDNFは健常者と比較して心不全患者で有意に低下した（ 24.6 ± 5.8 vs. 17.5 ± 4.9 ng/mL, $P < 0.001$ ）。単変量解析の結果、最大酸素摂取量（ $r = 0.372$, $p = 0.016$ ）や嫌気性代謝閾値（ $r = 0.324$, $p = 0.043$ ）とBDNFは有意な相関関係があった。一方、心機能やうつ症状とは関連がなかった。また、多変量解析の結果で、BDNFは最大酸素摂取量の独立した規定因子であった（ β -coefficient=5, 95% 信頼区間 1.64-8.42, $p = 0.004$ ）。平均14ヶ月の追跡で心不全患者18名（死亡8名，心不全入院10名）の心事故が発生した。血中BDNFのROC曲線では心事故予測因子としての至適カットオフ値が17.5 ng/mLで感度77%、特異度71%であった。Kaplan-Meier分析よりBDNF < 17.5 ng/mLの群は心事故回避率が低値であった（ $p < 0.01$ ）。Cox比例ハザードモデルによる多変量解析では年齢、BNP > 中央値、男性、NYHA 3度、左室駆出率、推定糸球体濾過量 < 中央値、血中BDNF < 17.5 ng/mLのうちBDNFのみが独立した心事故予測因子であった（ハザード比 3.23, 95%信頼区間 1.03-12.5, $p = 0.04$ ）。

結論：心不全において血中BDNFは低下しており、密接に運動耐容能と関連していた。また、BDNFは心不全の予後予測因子として有用である。

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
2013年度 第2回総会・研究報告会 抄録

タイトル：尿酸値と心肥大との関連

—副甲状腺ホルモン、FGF23 との関連から

名前・施設名： 藤田修一、寺崎文生、宗宮浩一、星賀正明、石坂信和

大阪医科大学 循環器内科

FGF23 は、骨から分泌されるタンパクであり、尿細管に作用し、近位尿細管におけるリンの再吸収抑制に働く。FGF23 は腎機能低下に伴う、血清リン値の上昇に反応して上昇するとされている。血清 FGF23 と心肥大の関連が、いくつかの検討で示唆されており、FGF23 が、CKD と心臓イベントを介在する因子の可能性もある。前回、われわれは、循環器症例において、血清 FGF23 が高値の症例では心肥大、心機能低下を認める頻度が高いこと、この関連は eGFR や血清インタクト PTH とは独立していることを報告した。

血清尿酸値は、腎機能低下時には上昇するが、尿酸値と心肥大の関連についても、いくつかのスタディにより、指摘されている。新たな尿酸合成阻害薬の出現などもあり、尿酸降下療法による心肥大抑制作用については、近年、再び脚光を浴びており、本邦や欧米で、いくつか臨床研究が行われている。また、キサランチンオキシダーゼ阻害薬が心肥大を抑制した、という結果も、すでに一部で得られてきている(Givertz MM. *Circ Heart Fail.* 2013;6(4):862-8; Szwejkowski BR. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(24):2284)。尿酸も、CKD と心臓リモデリングを介在する因子の可能性はある。

興味深いことに、副甲状腺機能亢進症には、その clearance の低下から尿酸値が上昇し、副甲状腺摘除で正常化することも知られているため、尿酸値は、腎機能のみならず、カルシウム・リン代謝にも影響を受けると考えられる。

このような状況を鑑みて、循環器症例を対象として、血清尿酸値と心肥大の関連について検討を行い、その関連の FGF23、インタクト PTH との独立性についても考察を加えた。なお尿酸値は、性差が大きいことから、今回の検討では、男性のみを対象とした。