

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を用いた新規心不全関連遺伝子の探索

お名前・ご施設名：北風政史、朝倉正紀、進藤一紘

国立循環器病研究センター 臨床研究部

網羅的遺伝子発現解析として、2000年以降マイクロアレイを用いた手法が普及してきた。近年、次世代シーケンサーによるRNA Sequence(RNAseq)という新たな手法が登場し、低発現遺伝子の検出に優れていることなどから、新たな疾患関連遺伝子の網羅的探索法として期待されている。我々は大動脈縮窄による圧負荷心における遺伝子発現の変化をマイクロアレイとRNAseqを用いて解析することから、マイクロアレイとRNAseqによる心不全関連遺伝子変化の検出における違いを検討した。方法として、Transverse Aortic Constriction (TAC)による圧負荷心不全モデルマウスを作製し、TAC4週後に心不全になっていることを確認した。圧負荷による心臓からRNAを抽出し、RNAseqおよびマイクロアレイ(GeneChip)を用いて網羅的遺伝子発現解析を行った。結果だが、TAC群においてSham群の2倍以上(Fold Change (FC) 2以上)の発現変化を示した遺伝子数は、マイクロアレイで282遺伝子であったのに対し、RNAseqでは781遺伝子であった。それらの遺伝子の中で、137遺伝子が両手法で変化が検出できた。マイクロアレイで遺伝子レベルが変化した上位20遺伝子は、RNAseqにおいてもすべて検出できた。一方、RNAseqで遺伝子レベルが変化した上位20遺伝子のうち、8遺伝子はマイクロアレイでは検出できなかった。これら8遺伝子は、比較的発現レベルが低いことが影響しているように思われた。次世代シーケンスによるRNAseqを用いた解析は、従来マイクロアレイでは検出できなかった疾患関連遺伝子を同定することが期待でき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：心室頻拍とCMRによるDelayed Enhancementの関連についての研究お名前・ご施設名：園田和正、渡辺一郎、奥村恭男、加藤真帆人、國本聡、平山篤志日本大学医学部内科学系 循環器内科学分野

【背景】心室頻拍は依然として心臓突然死の主な原因のひとつであり、これを予測し事前に予防することは生命予後改善という見地から重要な臨床的課題である。しかし心室頻拍を予測する因子としては電気生理学的研究が多くなされてはいるが、組織学的特徴との比較検討を行った報告は少ない。これまで心筋の組織学的調査については剖検でしか手段が無かったが、近年の非侵襲的画像診断学、とくに **Magnetic Resonance Imaging (MRI)** の技術進歩により非侵襲的にその組織学的な特徴を調べるのが可能となった。今回、我々は心疾患を有する症例に対して電気生理学的検査所見と **Cardiac-MRI (CMR)** で得られた画像所見を比較検討し、心室頻拍の誘発性の程度と心筋組織の線維化の関連について調査した。

【方法】対象症例は、過去に心室頻拍が報告され電気生理学的検査を行った症例で、CMRにより心筋の組織的検査が施行された連続 38 症例とし、後ろ向きに調査を行った。電気生理学的検査においては全例プログラム刺激による心室頻拍の誘発を行った。また、CMRは **Gadolinium** を用いて造影し、遅延造影効果；**Delayed Enhancement** を検討した。心筋の線維化の程度については **Q-Mass® MR software (Medis medical imaging system)** を用い、**signal-index (SI) > 6 standard deviation (SD)** の部位を線維化中心領域、**6 SD > SI > 2 SD** の部位を線維化境界領域とし癒痕組織の不均一性を可視化した。電気的生理学的検査にて得られた心室頻拍の誘発の有無により、症例を 2 群に分類し、心筋組織の線維化、癒痕組織の不均一性、また、その解剖学的部位について比較検討した。

【結果】症例の平均年齢は 62.0 ± 15.0 歳、男性 21 例 (78%)、基礎心疾患は虚血性心疾患 18 例 (47%)、拡張型心筋症 1 例 (0.02%)、肥大型心筋症 6 例 (16%)、不整脈源性右室心筋症 2 例 (0.05%)、その他 11 例 (29%) であった。心臓超音波所見では平均左室駆出率 $46.9 \pm 16.1\%$ であった。電気生理学検査による心室頻拍の誘発が認められた 27 症例 (平均年齢 62.2 ± 15.9 歳、左室駆出率 $47.6 \pm 15.6\%$) と誘発されなかった 11 症例 (平均年齢 61.6 ± 13.4 歳、左室駆出率 $45.1 \pm 18.0\%$) を比較したところ、心室頻拍が誘発された群にて有為に線維化境界領域の割合がより大きかった。

【結論】CMRによる **Delayed Enhancement** 効果により評価された心筋の線維化境界領域が大きいほど心室頻拍は誘発されやすい傾向があった。CMRによる **Delayed Enhancement** による心筋の性状評価は、心室頻拍発症を予測する上で有用な検査となり得る。

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：心不全モデルの代謝プロフィール

お名前・ご施設名：塩井哲雄・棚田洋平・木村 剛

京都大学大学院医学研究科 循環器内科学

【背景】心不全の発症には、心臓だけでなく、神経系、骨格筋、呼吸器、腎臓、肝臓や脂肪組織などの代謝臓器、などの非心臓組織が重要な役割を果たすと推定されている。また、心不全患者はインスリン抵抗性や悪液質など全身性の代謝異常を伴う。しかし、心不全に伴う代謝異常の発症機序および病態進展における意義は明かでない。

【目的】心不全における心臓、骨格筋、腎臓、の代謝変化を検討する。

【方法と結果】心不全モデルとして高血圧性心不全モデルであるダール食塩感受性ラットを用いた。ラットより心臓、骨格筋、腎臓を摘出し、メタボローム解析で代謝産物量を測定し、ミトコンドリア機能を中心としたエネルギー代謝関連遺伝子の発現をPCR法で測定した。

- ①骨格筋における代謝産物量の変化は心臓に比較すると軽度であった。
- ②腎臓において、TCA回路の代謝産物の蓄積がみられ、TCA回路の酵素の遺伝子発現低下をともなった。
- ③3つの臓器に共通して見られた代謝産物量の変化はカルニチンの低下であった。

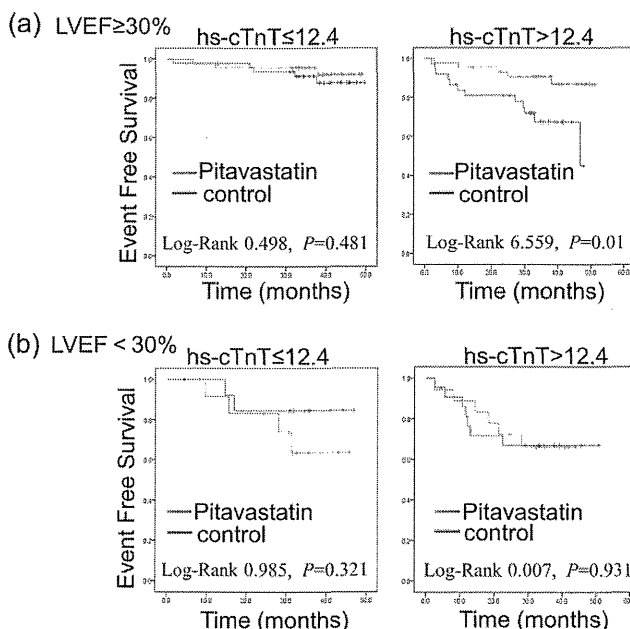
【結論】心不全モデルにおいて、骨格筋、腎臓など非心臓組織においても代謝変化がみられ、診断・治療上の標的となりうると考えられた。

タイトル： 慢性心不全治療におけるバイオマーカー

お名前・ご施設名： 野出孝一

佐賀大学医学部循環器内科

慢性心不全におけるスタチンの介入研究である PEARL 試験の症例において、心筋障害のマーカーである高感度トロポニン T 値によるスタチンの治療効果の検証を行った。主解析で登録された NYHA II か III の左室駆出率(LVEF)が 40%以下の慢性心不全患者 574 例のうち高感度トロポニン T を測定した 242 例において、試験開始時に LVEF が 30%以上か未満、高感度トロポニン T が中央値の 12.4ng/L 以上か未満の 4 群に分類し、一次エンドポイントである心血管死と心不全による入院のイベント発症に対するピタバスタチンの効果を比較検証した。対象群とピタバスタチン群では、ベースラインの心不全重症度、年齢、性別、内服薬等は差がなかった。PEARL 研究の主解析と同様、LVEF が 30%以上の症例では、ピタバスタチン群が対象群に比較して、心イベントを有意に低下させた。ベースラインの高感度トロポニン T が 12.4ng/L 以上の症例はそれ未満の症例に比較すると心イベント発症が有意に多かったが、LVEF が 30%未満では高感度トロポニン値による差はなかった。LVEF が 30%以上で、かつ高感度トロポニン T 値が 12.4ng/L 以上の症例で、スタチンの心血管死と心不全入院抑制効果が認められた。3 か月間のスタチン投与で高感度トロポニン T が低下する傾向が認められた。慢性心不全におけるスタチンの心イベント抑制作用を予知する指標として、LVEF とともに、高感度トロポニン T が有用であることが示唆された。



(図) LVEF≥30%(a) と LVEF<30%(b)の患者におけるピタバスタチンの効果。

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： ミトコンドリア病患者における核遺伝子病因検索-その2

お名前・ご施設名： 坂井千香・後藤雄一

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

ミトコンドリア病の病因遺伝子はミトコンドリア DNA (mtDNA) と核 DNA コードの遺伝子に大別される。ミトコンドリア病患者の約 60% において病因となっている核遺伝子変異は特定されていない。これまでに研究で、1500 個余りのミトコンドリア関連タンパク質をコードする遺伝子の中で、病的変異が報告されているのは 200 個程度にとどまる。以上よりミトコンドリア病患者の核遺伝子病因変異を網羅的に探索することは臨床的、研究的に意義が大きいと考えられる。

近年様々な遺伝性疾患の病因変異探索において次世代シーケンサーを用いたエクソーム配列解析が行われているが、コストが高く得られる情報量が膨大である。見出された数多くの塩基配列変化から病因変異を絞り込むのは困難であることが多かった。そこで、本研究では、次世代ゲノムシーケンスを効率的かつ低コストで行うために、シーケンスキャプチャー技術によって全ゲノム中で対象領域を選択的に抽出する方法を用いた。具体的には約 800 のミトコンドリア関連タンパク質をコードする遺伝子配列を調べるために、7368 箇所エクソン領域をキャプチャーする Haloplex ターゲットエンリッチシステムを用いて解析を行った。さらに、病因変異の絞り込みを迅速かつ合理的に行うために、解析に用いる検体をミトコンドリア呼吸鎖酵素の生化学的解析の結果によって選定した。

本研究では mtDNA 翻訳異常を呈し、複数のミトコンドリア呼吸鎖酵素活性の低下が認められた 2 検体について、一連の解析を行った結果を報告する。それぞれに病因の可能性の高い遺伝子変異が見いだされ、病因確定のために表現系回復実験を行い、1 検体はほぼ病因と確定できた。この方法を用いて、さらに病因検索を進めている。

市民公開講座

心臓突然死から身を守る：心筋症を理解しよう

日 時：平成26年2月16日（日曜）14:00～15:40

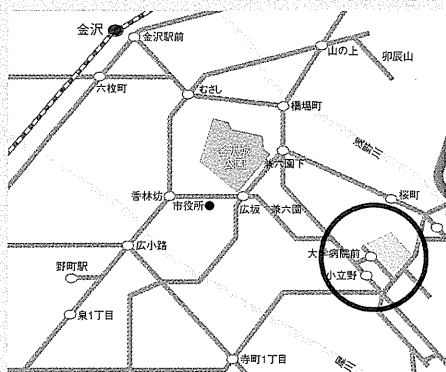
場 所：金沢大学附属病院4階宝ホール
金沢市宝町13-1

参加費：無料 事前予約ご不要

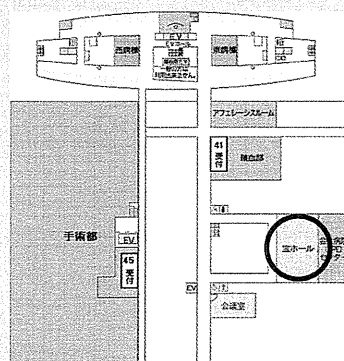
プログラム

14:00～14:05	開催のご挨拶	北風政史（国立循環器病研究センター）
14:05～14:25	心臓突然死の原因となる心臓病：心筋症とは？	斎藤能彦（奈良県立医科大学）
14:25～14:45	子供も無縁じゃない！心臓突然死	市田落子（富山大学）
14:45～15:05	心臓突然死を予防する！不整脈治療の最前線	多田 浩（福井大学）
15:05～15:35	パネルディスカッション	
15:35～15:40	閉会のご挨拶	山岸正和（金沢大学）

●金沢大学附属病院



●金沢大学附属病院4階見取り



【金沢駅から】

バス：

金沢駅東口⑥番乗場（香林坊経由）から
「小立野（北陸銀行前）」下車

金沢駅東口③番乗場（橋場町経由）から
「小立野（北陸銀行前）」下車

タクシー：所要時間約15分～20分

主 催 厚生労働科学研究費補助金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班」
日本循環器学会北陸支部
金沢大学病院 循環器内科
後 援 石川県医師会・金沢市医師会

お問い合わせ 金沢大学循環器内科 TEL: 076-265-2254（直通）

〒920-8640 金沢市宝町13-1

国立循環器病研究センター北風部長室 TEL: 06-6833-5012（内線2225）

〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1

