

特発性心筋症に関する調査研究

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、特発性心筋症の疫学・病因・診断・治療を明らかにすべく設立され、その後約40年間継続して本領域での進歩・発展に大きく貢献してきた。本研究は、心筋症の実態を把握し、日本循環器学会、日本心不全学会と連携し診断基準や診療ガイドラインの確立をめざし、研究成果を広く診療へ普及し、医療水準の向上を図ることを目的とした。研究班による全国規模での心筋症のレジストリー、特定疾患登録システムの確立を推進準備し、心筋症をターゲットとした登録観察研究であるサブグループ研究を開始し、登録をすすめた。また、研究成果の社会への還元として、ホームページ公開や市民公開講座を行った

A. 研究目的

サルコイドーシスなど炎症を基盤とした心筋症が特発性心筋症と診断されている症例の中には少なからず含まれている。とりわけ、心臓限局性心サルコイドーシス症（心サ症）には、臨床的特徴が明らかではないこと、拡張型心筋症との鑑別を行うためには心筋生検による組織診断が得られないと困難であるという問題点を抱えている。上述の問題点から心サルコイドーシスの新規バイオマーカーの開発が重要であると考え、その候補としてマイクロRNA (miRNA)に着目した。miRNAは、18~26塩基で構成されたnon-coding RNAであり、相補的な配列のmRNA配列に結合して翻訳反応の阻害やmRNAの分解を引き起こし、標的遺伝子のタンパク産生を抑制する。近年になりmiRNAは細胞内で発現するだけでなく、細胞外小胞exosomeに内包された状態で細胞外に分泌され、分解されることなく他の細胞に伝達されることがわかってきた(Loyer X et al. *Circ Res.* 2014)。ストレスを受けた細胞ではこのexosomeの分泌が増加し、患者と健常者ではexosome中のmiRNAの組成が異なることが報告されている(Taylor DD et al. *Gynecol Oncol.* 2008)。そのため、このようなmiRNAが種々の疾患の新たなバイオマーカーとして注目されている。過去の研究では肺サルコイドーシス患者において、その気管支肺胞洗浄液中のexosome濃度の増加がみられたことや(Qazi KR et al. *Thorax.* 2010)、肺組織中で特定のmiRNAの発現量が変化していたこと(Crouser ED et al. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012)が報告されている。このことから、心サルコイドーシスにおいても疾患特異的なmiRNAがexosomeに内包されて分泌されている可能性があり、それが同定されれば新たなバイオマーカーとして期待できる。さらに、本研究では心サルコイドーシスに特異的な遺伝子変異の探索も行う。心サルコイドーシスの原因またはその感受性を左右する遺伝的要因を解明することによって、簡便かつ速やかに実用可能なバイオマーカーおよび検査法の開発を目指す。

B. 研究方法

東京医科歯科大学循環器内科に通院している心サルコイドーシスと診断されている患者20名と対照群としての健常者10名よりそれぞれ同意を取得の上、血清を採取した。この血清からexosome分画を単離し、このexosome試料液からDNAおよびmiRNAを含むsmall RNAの抽出を行った。抽出され

た核酸からシーケンス用サンプルを調製したうえで次世代シーケンサIon Protonシステムを用いてシーケンスを行った。そして、得られたシーケンスデータをデータベースから取得したヒトゲノムリファレンス配列にマッピングし、遺伝子の変異検出および発現解析を行い、結果をコントロールと比較した。

(倫理面への配慮)

本研究を立案して施行するにあたり、本学の医学部遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会に諮り、平成28年10月25日付けで承認を受けた(G2016-004-01番)。本研究はこの申請して承認された内容に基づいて患者本人からのインフォームド・コンセントを取得した上で施行しており、研究対象者となる患者が研究参加を拒否できるように十分配慮している。いずれの段階でも拒否でき、拒否による不利益はないものとする。このように、本研究を遂行するにあたり、倫理面で十分な配慮がなされているものとする。

C. 研究結果

これまでの検討では、患者群と対照群の間に有意な差を持ったmiRNAの存在は確認できていない。

D. 考察

上述の通り、現時点では心サルコイドーシスのバイオマーカーになり得るmiRNAの存在が確認できていない。この原因として、血清からのexosome分画の単離が不十分である可能性や、exosome由来のmiRNAのみに標的を絞っていたために疾患特異的なバイオマーカーを見逃している可能性などが挙げられる。次年度はこれらの反省を踏まえて、まずはスクリーニング段階にて患者群と対照群の間に有意な差を持った核酸バイオマーカーの探索を目指す。その上で、ダイレクトシーケンス・リアルタイムRT-PCRといった手法で次世代シーケンスにより得られた結果の再現性の確認を行うこととする。

E. 結論

心サルコイドーシスの核酸バイオマーカーは今のところ同定されていないが、引き続き探索を検討する。

F. 健康危険情報

なし

G. 学会発表

1. 論文発表

1. Tezuka D, Kosuge H, Terashima M, Koyama N, Kishida T, Tada Y, Suzuki JI, Sasano T, Ashikaga T, Hirao K, Isobe M. Myocardial perfusion reserve quantified by cardiac magnetic resonance imaging is associated with late gadolinium enhancement in hypertrophic cardiomyopathy. *Heart Vessels*. 2017 [In press]
2. Hirasawa K, Izumo M, Sasaoka T, Ashikaga T, Suzuki K, Harada T, Isobe M, Akashi YJ. Effect of aortic regurgitant jet direction on mitral valve leaflet remodeling: a real-time three-dimensional transesophageal echocardiography study. *Sci Rep*. 7(1):8884, 2017.
3. Nomoto H, Satoh Y, Kamiyama M, Yabe K, Masumura M, Sakakibara A, Yamashita S, Suzuki M, Sugiyama T, Oumi T, Ohno M, Takahashi Y, Isobe M. Mechanisms of Diuresis for Acute Decompensated Heart Failure by Tolvaptan. *Int Heart J*. 58(4):593-600, 2017.
4. Kagiya N, Toki M, Hayashida A, Ohara M, Hirohata A, Yamamoto K, Totsugawa T, Sakaguchi T, Yoshida K, Isobe M. Prolapse volume to prolapse height ratio for differentiating Barlow's disease from fibroelastic deficiency. *Circ J*. 81(11):1730-1735, 2017.
5. Inaba O, Satoh Y, Isobe M, Yamamoto T, Nagao K, Takayama M. Factors and values at admission that predict a fulminant course of acute myocarditis: data from Tokyo CCU network database. *Heart Vessels*. 32(8):952-959, 2017.
6. Fukushima N, Ono M, Saiki Y, Sawa Y, Nunoda S, Isobe M. Registry Report on

Heart Transplantation in Japan (June 2016). *Circ J*. 81(3):298-303, 2017.

7. Suzuki JI, Sato H, Kaneko M, Yoshida A, Aoyama N, Akimoto S, Wakayama K, Kumagai H, Ikeda Y, Akazawa H, Izumi Y, Isobe M, Komuro I. Periodontitis and myocardial hypertrophy. *Hypertens Res*. 2017 0(4):324-328, 2017.

2. 学会発表

1. 篠岡太郎, 前嶋康浩, 磯部光章. 心肺同時移植適応検討の現況. 第35回日本心臓移植研究会学術集会, 札幌, 2017年10月.
2. 小西正則, 磯部光章. 急性心不全患者における入院後早期血圧低下が予後に与える影響の検討. 第40回日本高血圧学会総会, 松山, 2017年10月.
3. 小川翔, 長友祐司, 歌野原祐子, 井口信雄, 寺岡邦彦, 高山守正, 友池仁暢, 磯部光章, 吉川勉. 心アミロイドーシスにおける予後規定因子の検討. 第65回日本心臓病学会学術集会, 東京, 2017年9月.
4. 前嶋康浩, 白井康大, 篠岡太郎, 小西正則, 柳下敦彦, 秦野雄, 梅本朋幸, 前田真吾, 吉川俊治, 佐々木毅, 山本貴信, 川端美穂子, 合屋雅彦, 足利貴志, 平尾見三, 磯部光章. 心室頻拍のコントロールに難渋した肢帯型筋ジストロフィーに伴う心筋症の一例. 第3回日本心筋症研究会, 岐阜, 2017年4月.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

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