

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 K R et al. *Thorax.* 2010)、肺組織中で特定のmiRNAの発現量に変化していたこと (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考えられる。

C. 研究結果

これまでの検討の結果、3種類のmiRNAの発現が患者群の血中エクソソームで有意に増加していた。本研究により、特定のエクソソームmiRNAが心サルコイドーシスのバイオマーカーとして有用である可能性が示された。

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3種類確認された。次年度はこれらのバイオマーカー候補を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候補として3種類のmiRNAを見出した。今後はこれらの候補が心サルコイドーシスの診断に対して本当に有用かどうかについて検討していく。

F. 健康危険情報

なし

G. 学会発表

1. 論文発表

Kato N, Shibayama K, Noguchi M, Makihara Y, Okumura H, Obunai K, Isobe M, Hirao K, Watanabe H. Superiority of novel automated assessment of a

ortic annulus by intraoperative three-dimensional transesophageal echocardiography in patients with severe aortic stenosis: Comparison with conventional cross-sectional assessment. *J Cardiol* 2018;72(4):321-327.

Iguchi N, Utanohara Y, Suzuki Y, Suzuki M, Hagiya K, Higuchi R, Takamisawa I, Tobaru T, Sumiyoshi T, Isobe M. Myocardial flow reserve derived by dynamic perfusion single-photon emission computed tomography reflects the severity of coronary atherosclerosis. *Int J Cardiovasc Imaging* 2018 Sep;34(9):1493-1501.

Higuchi R, Tobaru T, Hagiya K, Saji M, Takamisawa I, Shimizu J, Iguchi N, Takanashi S, Takayama M, Isobe M. Outcomes of patients requiring extracorporeal membrane oxygenation in transcatheter aortic valve implantation: a clinical case series. *Heart Vessels* 2018;33(11):1343-1349.

Ito Y, Maejima Y, Tamura N, Shiheido-Watanabe Y, Konishi M, Ashikaga T, Hirao K, Isobe M. Synergistic effects of HMG-CoA reductase inhibitor and angiotensin II receptor blocker on load-induced heart failure. *FEBS Open Bio* 2018;8(5):799-816.

Aoyama N, Suzuki JI, Kobayashi N, Hanatani T, Ashigaki N, Yoshida A, Shiheido Y, Sato H, Izumi Y, Isobe M. Increased Oral Porphyromonas gingivalis Prevalence in Cardiovascular Patients with Uncontrolled Diabetes Mellitus. *Int Heart J* 2018;59(4):802-807.

加藤真帆人、磯部光章. 心不全（第2版）上-最新の基礎・臨床研究の進歩- 診断 心不全診断の変遷・進歩:総論. *日本臨床* 2018;76(9):501-510.

磯部光章. 心不全のすべて-分子生物学から緩和ケアまで:beyondガイドライン 心不全パンデミックとは何か-心不全の現状を知り将来を考える 超高齢社会における心不全診療提供体制の展望. *医学のあゆみ* 2018;266(13):1036-1042.

磯部光章. 「隠れ心不全」の病態と診断. *心臓* 2018;50(8):953-956.

佐地真育、磯部光章. 心不全をめぐる医療の現在と今後の展望 心不全の定義とステージ. *Progress in Medicine* 2018;38(6):559-563.

和田遼、井上完起、高見澤格、高山守正、梅村純、磯部光章、高梨秀一郎. S-ICD植込み4ヵ月後に心筋切除術を施行したところ完全左脚ブロックに変化したS-ICDのセンシングに影響しなかったHOCMの1例. *Therapeutic Research* 2018;39(3):214-217.

磯部光章、他. 2016年版 心臓移植に関する提言. *日本心臓血管外科学会雑誌* 2018;47(1):1-61.

2. 学会発表

渡邊亮、前嶋康浩、磯部光章、田中敏博. 血中エクソソーム由来マイクロRNAの発現解析による心サルコイドーシスの新規バイオマーカーの探索. 第38回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会、東京、2018年11月.

渡邊亮、前嶋康浩、磯部光章、田中敏博. Identification of biomarkers for sarcoidosis by expression analysis of circulating exosomal microRNAs. 日本人類遺伝学会第63回大会、横浜、2018年10月.

寺崎 智志、磯部 光章、他. 心臓限局性サルコイドーシスの臨床像 全国アンケート2015からの検討. 第38回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会総会、東京、2018年11月.

磯部光章. 「高齢化社会における心不全治療と心移植の在り方」 超高齢化時代の心不全の診療体制の構築に向けて. 第54回日本移植学会総会、東京、2018年10月.

石黒まや、磯部光章、他. ATTR アミロイドーシスに対する Tl-201/Tc-99m HMDP dual SPECT の検討. 第58回日本核医学会学術総会、沖縄、2018年11月.

前嶋康浩、磯部光章、他. SGLT2 inhibitor directly protects oxidative stress-mediated cardiomyocyte injury by suppressing mitochondrial damage-mediated apoptosis. 第22回日本心不全学会学術集会、東京、2018年10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