

別紙1

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等政策研究事業

乳児特発性僧帽弁腱索断裂の多彩な病因に基づいた  
治療法の確立に向けた研究

平成29年度 総合研究報告書

研究代表者 白石 公  
国立循環器病研究センター・教育推進部

平成30（2018）年 5月

目 次

I. 総合研究報告		
乳児特発性僧帽弁腱索断裂の多彩な病因に基づいた治療法の確立に向けた研究	-----	1
白石資料1 全国調査結果 (Circulation. 2014;130:1053-61)	-----	8
白石資料2 小児科診療 2018;81:355-356.	-----	9
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	12

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

総合研究報告書

「乳児特発性僧帽弁腱索断裂の多彩な病因に基づいた治療法の確立に向けた研究」

（H28-難治等（難）-一般-009）

研究代表者 白石 公

国立循環器病研究センター 小児循環器部

研究要旨：

[背景] 生来健康である乳児に、数日の感冒様症状に引き続き突然に僧帽弁の腱索が断裂し、急速に呼吸循環不全に陥る疾患が存在する。本疾患は原因が不明で、過去の報告例のほとんどが日本人であるという特徴をもつ。発症早期に的確に診断され、専門施設で適切な外科治療がなされないと、急性左心不全により短期間に死に至る。また外科手術により救命し得た場合も人工弁置換術を余儀なくされるもしくは神経学的後遺症を残すなど、子どもたちの生涯にわたる重篤な続発症をきたす。これまでの我々の調査 (*Shiraishi et al., Circulation. 2014;130:1053-61*) の結果、僧帽弁腱索が断裂する原因として、ウイルス感染（心内膜心筋炎）、母体から移行した血中自己抗体（抗SSA抗体）、川崎病（回復期以降）などが明らかになっており、これら何らかの感染症や免疫学的異常が僧帽弁腱索断裂の引き金になると考えられているが、各々の病態の詳細は不明である。

[方法] 本研究では、大阪大学微生物病研究所生命情報科学において、僧帽弁組織や咽頭ぬぐい液、血液からメタゲノム解析により原因と考える微生物の検索を行うとともに、国立循環器病研究センター創薬オミックス解析センターにおいて、過去のホルマリン固定パラフィン包埋切片（FFPE）を用いてRNAトランスクリプトーム解析を行った。次世代シーケンサを用いた網羅的トランスクリプトーム解析により、感染による炎症反応性の遺伝子発現変化、断裂時の遺伝子発現変動を詳細に解析することにより、感染の可能性、断裂を引き起こした原因を明らかにする試みを行った。

[結果] 1) 新たに発症した1乳児症例において、僧帽弁組織および血液のメタゲノム解析およびウイルスゲノムの検索を行なった。原因と考えられる明らかなウイルスは検出されなかった。2) 過去の僧帽弁組織6症例のサンプルを用いて、NextSeq500を用いて詳細なRNA-seq解析を行った。本研究により、FFPE組織から抽出した微量で低品質なtotal RNAでもRNA-seq解析が可能であることが示された。シーケンスリード数を大幅に増やすことにより、網羅的な遺伝子発現解析ができるだけでなく、ヒトゲノムにマッピングされなかったRNA配列をもとに、感染源の探索も可能と考えられる。

[結論および考察] ウイルスゲノムの網羅的解析による病因解析、同じく組織からのRNAトランスクリプトーム解析による病態解明が可能であることが判明した。今後は、本疾患の診断および治療法の確立に向けて研究を発展させる予定である。今後は、新鮮組織からの網羅的RNA-seq解析も行い、その結果との整合性も確認する予定である。

## A. 研究目的

生来健康である乳児に、数日の感冒様症状に引き続き突然に僧帽弁の腱索が断裂し、急速に呼吸循環不全に陥る疾患が存在する。本疾患は原因が不明で、過去の報告例のほとんどが日本人であるという特徴をもつ。発症早期に的確に診断され、専門施設で適切な外科治療がなされないと、急性左心不全により短期間に死に至る。また外科手術により救命し得た場合も人工弁置換術を余儀なくされるもしくは神経学的後遺症を残すなど、子どもたちの生涯にわたる重篤な続発症をきたす。しかしながら本疾患は国内外の小児科の教科書に独立した疾患として記載されておらず、多くの小児科医は本疾患の存在を認識していない。またその急激な臨床経過の特徴から、過去の死亡例は「乳児突然死症候群」と統計処理された可能性があり、実際の発症はさらに多いと考えられる。これまでの我々の調査の結果（*Shiraishi et al., Circulation, 2014;130:1053-61*）、僧帽弁腱索が断裂する原因として、ウイルス感染（心内膜心筋炎）、母体から移行した血中自己抗体（抗SSA抗体）、川崎病（回復期以降）、などが明らかになっており、これら何らかの感染症や免疫学的異常が僧帽弁腱索断裂の引き金になると考えられているが、各々の病態の詳細は不明である。また最近数年間、国内での症例報告が増加しており、早期の実態調査、早期発見の啓蒙、診断治療方針の確立が急務である。

## B. 研究方法

本研究では、大阪大学微生物病研究所生命情報科学において、僧帽弁組織や咽頭ぬぐい液、血液からメタゲノム解析により原因と考える微生物の検索を行うとともに、国立循環器病研究センター創薬オミックス解析センターにおいて、過去のホルマリン固定パラフィン包埋切片（FFPE）を用いてRNAトランスクリプトーム解析を行った。次世代シーケンサを用いた網羅的トランスクリプトーム解析により、感染による炎症反応性の遺伝子発現変化、断裂時の遺伝子発現変動を詳細に解析することにより、感染の可能性、断裂を引き起こした原因を明らかにする試みを行った。

手術による弁置換が必要で僧帽弁及び腱索組織が採取できた症例において、病理解析のためにホルマリン固定パラフィン包埋された（Formalin Fixed Paraffin Embedding, FFPE）、僧帽弁、腱索からtotal RNAの抽出を行った。FFPE組織から得られるRNAは微量で低品質なため、タカラ社のSMARTer技術を用いてcDNAライブラリーを作成し、国立循環器病研究所創薬オミックス解析センター設置のNextSeq500を用いて詳細なRNA-seq解析を

行った。

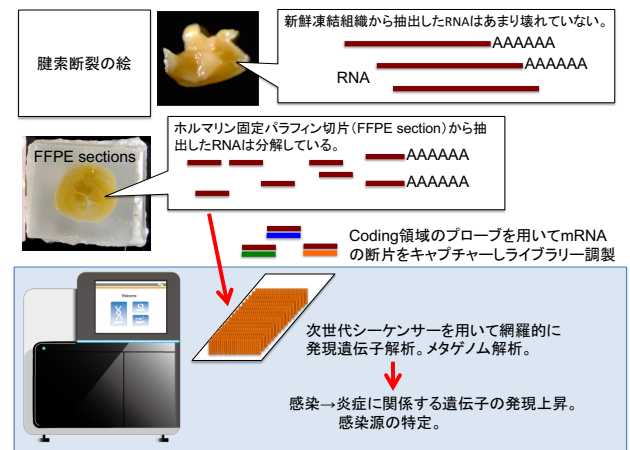


図1：FFPEからのRNA抽出とRNAトランスクリプトーム解析

## 倫理面での配慮

本研究における患者情報や血液および組織の収集に関しては、各医療機関の倫理委員会の承認を得ることを原則とする。病名や病歴情報の収集は、対象患者もしくは代諾者の承諾が得られた場合のみ行うこととする。国立循環器病研究センター倫理委員会の研究承認は既に得られている。

研究では患者の人権に十分に配慮し、病歴、検査所見などの臨床データ、血液や摘出組織などのサンプルは、検査実施者には匿名化番号で通知し、提供者のいかなる個人情報も漏出しないように細心の注意を払う。またこれらの病歴やサンプルは、国立循環器病研究センターにおいて施錠した状態で厳重に管理する。

研究結果や成果を学会発表する際には、個人が特定できない配慮を（連結可能匿名化）行い、提供者のプライバシーを守る。また共同研究機関に遺伝子解析を依頼する場合は、すべて匿名化されたサンプル番号のみを用いて情報の提供を行う。情報をパソコンで管理する際には、ネットワークから隔離された状態で管理する。連結表は国立循環器病研究センター・教育推進部部長室において、責任者白石公のもとで、施錠された状態で保管する。

## C. 研究結果

### 1) 全国調査で明らかとなった臨床像：

本疾患は生後4～6ヶ月の乳児に好発する。ただし母親由来のSSA抗体陽性患者では生後1～2ヶ月以内に発症することがある。数日の発熱、咳嗽、嘔吐などの感冒様の前駆症状に続き、突然に僧帽弁腱索が断裂する。重度の僧帽弁閉鎖不全により心拍出量の低下および著しい肺うっ血をきたし、短時間に多呼吸、陥没呼吸、呼吸困難、顔面蒼白、頻

脈、ショック状態に陥る。少数で三尖弁の腱索断裂を合併することがある。複数の腱索が断裂すると、人工弁置換術を余儀なくされることがある。術後に別の腱索次々と断裂し、数日後に人工弁置換が必要となる症例も散見される。乳児時期に人工弁置換を行った場合は、生涯にわたる抗凝固剤の内服が必要であるとともに、再弁置換もしくは再々弁置換術が必要となる。また女児では成人期に達した際、抗凝固薬の内服は妊娠や出産において大きな障害となる。

通常、胸骨左縁第 III 肋間から心尖部にかけて収縮期逆流性心雑音が聴取される。心雑音の指摘のない乳児が急速に呼吸循環不全に陥り、新たな心雑音が聴取された場合には、本疾患を疑う。ただし急性左心不全による肺水腫のため、肺野に全体に湿性ラ音が聴取されて心雑音が聴き取りにくい場合があるので注意が必要である。また急速な経過のために心拡大が顕著でなく、心疾患として認識されず、肺炎と初期診断する可能性があるので注意を要する。

典型的な症例を 1 例示す。図 2 は生後 4 ヶ月の乳児に発症した僧帽弁腱索断裂である。2 日間の発熱の後、顔面蒼白のショック症状を呈した。二次救急病院での初期診断は肺炎であったが、心雑音に気づかれて心エコーを行ったところ、重度の僧帽弁逸脱および僧帽弁腱索断裂に気付かれ、三次救急病院に搬送された。強心利尿薬による内科的治療で循環不全が改善できなかったため、速やかに外科手術が執り行われた。搬送当初、ショック状態で人工呼吸を必要とし、速やかに外科手術が行われ、人工腱索による腱索修復と僧帽弁縫縮術が行われた。術後経過は順調で、軽度の僧帽弁閉鎖不全を遺残するのみで、現在外来で内服治療もなく良好に経過している。

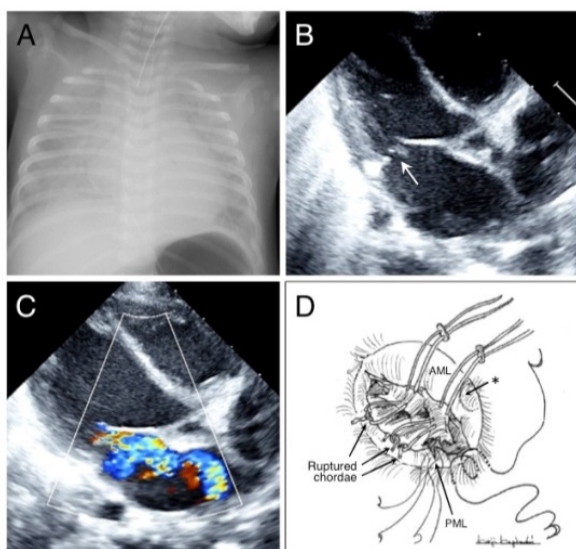


図 2：生後 4 ヶ月の乳児に発症した僧帽弁腱索断裂 (A:胸部 Xp 所見、B:断層心エコー所見、C:ドプラー断層所見、D:手術所見)

全国調査の結果、過去 16 年間に発症した 95 例の臨床データを得た。発症は生後 4~6 ヶ月に集中した(85%, 図 3)。性別では、やや男児に多かった(図 4)。季節別では、春から夏の頻度が高かった(66%, 図 5)。

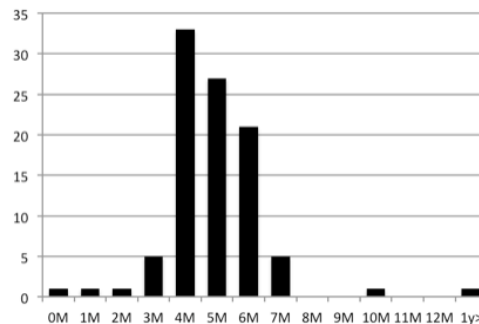


図 3：発症月例の分布

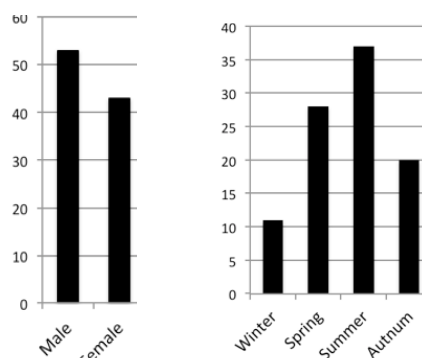


図 4：男女分布 図 5：発症の季節分布

また、2012 年 (平成 24 年) に行った全国調査以降の発症症例数を明らかにする目的で、日本小児循環器学会の希少疾患疫学調査のデータを元に、最近の発症症例を再調査した。平成 24 年以降 27 年末までに 33 症例の発症が記述されていた。表 1 に示すように、各年によるばらつきが非常に大きく、地域による集積性も見られないことが明らかになった。

乳児僧帽弁腱索断裂 (H23~27)		H23	H24	H25	H26	H27
手稲深仁会病院	1	群馬県立小児医療センター	1	九州大学病院	1	福島県立医科大学附属病院
北海道大学病院	1	断層小児総合医療センター	1		1	千葉県こども病院
北海道立子ども総合医療センター	2	東京女子医科大学病院	1		1	東京成徳聖堂病院
自治医科大学附属・とちぎ子ども医療センター	1	国立成育医療センター病院	2		1	東京大学医学部附属病院
埼玉県立小児医療センター	1	聖マリアナ医科大学病院	1		1	昭和大学横浜市北部病院
福井愛育病院	1	新潟大学医学部総合病院	1		1	天室医院
和歌山県立医科大学	1	福井循環器病院	1		2	名古屋第二赤十字病院
茨城県立中央病院	1	静岡県立こども病院	1		1	山崎中野病院
		聖隷浜松病院	1		1	福井循環器病院
		岐阜県総合医療センター	1		1	関西医科大学附属秋方病院
		あいち小児保健医療総合センター	1		1	大阪市立総合センター
		国立循環器病研究センター	2		1	兵庫県立尼崎総合医療センター
		徳島大学医学部・歯学部附属病院	1		1	広島市民病院循環器小児科
		九州大学病院	1		1	鹿児島大学医学部・歯学部附属病院
		熊本赤十字病院	1			
		熊本市民立熊本市民病院	1			
			計 9	計 18	計 1	計 8
						計 14

表 1：平成 23 年から平成 27 年までの発症数

基礎疾患として、川崎病 10 例、抗 SSA 抗体陽性



は調べた 12 例中 2 例に、細菌性心内膜炎 1 例が認められた (表 2)。

**Table 1. Clinical Characteristics of the 95 Patients**

Clinical Findings	
Age at onset (months)	5 (4–6)*
Body weight at onset (kg)	6.83 (6.14–7.51)*
Gestational weeks	39 (38–40)*
Body weight at birth (kg)	2.97 (2.70–3.28)*
History of Kawasaki disease	10 cases; Acute and convalescent stage (day ≤ 30), 3 cases Beyond convalescent stage (day > 30), 7 cases
Anti-SSA antibody-positive (12 cases examined)	2 cases; 0 and 5 mo
Prodromal symptoms	88 cases; fever 37, cough 16, vomit 14, others 21
Cardiogenic shock after initial prodromes	2 (1–7)*

\*Data are presented as median (interquartile range).

表 2 : 95 例の臨床所見

血液生化学所見では、急性循環不全によるショックから白血球数は中等度の増加 (全国調査での中央値 15,440/uL) がみられるが、一般に CRP は軽度の上昇に留まる (中央値 1.60mg/dL)。トランスアミナーゼ値は心不全の強い症例では上昇するが多くは正常範囲で (AST, ALT 中央値 44, 21(IU/L))、心筋逸脱酵素、とくに CPK-MB や心筋トロポニン T の上昇は見られない。ほとんどの症例で BNP 値は高度に上昇する (中央値 1,450pg/mL) (表 3)。

胸部 X 線所見では、急速に心不全が進行するため心拡大は軽度 (心胸郭比中央値 56%) にとどまるが、多くの症例 (75%) において両肺野にうっ血像が認められる (図 2)。一部の僧帽弁閉鎖不全の経過が長い症例では心拡大が明らかとなる。心電図では特徴的な所見は少なく、急性左心不全による左胸部誘導で T 波の平定化や陰転が見られることがある。僧帽弁腱索断裂の診断は、断層心エコー検査で確定可能である。左室長軸断面および心尖部四腔断面像において、僧帽弁尖の逸脱および翻転、断裂により遊離した腱索、ドプラー断層で大量の僧帽弁逆流シグナルが確認できる。僧帽弁閉鎖不全の程度は、全国調査では高度 70 例 (73%)、中等度 22 例 (23%)、軽度 4 例 (4%) であった。しかしながら、急性心不全のために左室腔の拡大は明らかでなく (左室拡張末期径 z value 中央値 1.47)、左室短縮率は高度な僧帽弁閉鎖不全のため軽度亢進する (中央値 0.41)。全国調査では、断層心エコーで特徴的な所見として乳頭筋頂部の腱索付着部位にエコー輝度の亢進が 8 例 (8.4%) に認められた。粘液変性と考えられる僧帽弁尖の有意な肥厚は 9 例 (9.5%) に認められた。全国調査では僧帽弁前尖の断裂が 28 例、後尖の断裂が 33 例、両者の断裂が 22 例に認められた。まれに三尖弁の腱索断裂

を伴う症例も存在し (6 例)、心不全が重篤になるので注意が必要である。

**Table 2. Laboratory Findings of the 95 Patients**

Examinations	On Admission	At Discharge	P Value
WBC (/uL)	15440 (11990–21650)	9160 (7330–11100)	<0.0001
Hb (g/dL)	10.2 (8.9–11.1)	11.8 (10.9–13.0)	<0.0001
PLT ( $\times 10^3$ /uL)	501 (338–600)	368 (302–439)	0.0003
CRP (mg/dL)	1.60 (1.97–3.15)	0.11 (0.16–0.31)	<0.0001
AST (IU/L)	44 (30–105)	36 (29–44)	0.0003
ALT (IU/L)	21 (13–135)	22 (16–36)	0.0160
LDH (IU/L)	421(267–763)	332 (264–484)	0.0046
CPK (IU/L)	119 (77–247)	76 (45–123)	0.0002
CPK-MB (U/L)	27 (12–91)	31 (20–42)	0.0749
BNP (pg/mL)	1,450 (839–2545)	72 (32–114)	0.0007
cTnT (n=22, ng/mL)	0.027 (0–0.132)	—	—

Data are presented as median (interquartile range). ALT indicates alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BNP, brain natriuretic protein; CPK, creatine phosphokinase; CRP, C reactive protein; cTnT, cardiac troponin T; Hb, hemoglobin; LDH, lactate dehydrogenase; MB, myocardial band; PLT, platelets; and WBC, white blood cells.

表 3 : 95 例の血液生化学所見

生来健康で心雑音が指摘されることがない生後 4~6 ヶ月の乳児に、数日の感冒要症状に引き続き、突然の多呼吸、陥没呼吸、顔面蒼白、ショック症状がみられ、聴診で収縮期の逆流性心雑音が聴取された場合、本疾患を疑う。断層心エコーにより診断がつき次第、可及的に乳児の開心術が行える小児循環器専門施設に紹介する。必要な治療としては、診断がつき次第まず呼吸循環動態の改善に努める。全身蒼白のショック状態で呼吸困難が強い場合には、鎮静下に気管内挿管による人工呼吸管理を行い、動脈ラインおよび中心静脈ラインの確保による集中治療管理を開始し、アシドーシスの補正、強心薬の持続静脈投与、利尿薬の静脈内投与により、左心不全および肺うっ血の改善を試みる。診断がついた後も、内科的治療により経過観察している間に次々と新たな腱索が断裂する可能性があるため、これらの集中治療によっても呼吸管理および循環動態が維持できない場合は、時期を逃さず外科手術に踏み切ることが重要である。

手術は一般に人工腱索を用いた僧帽弁腱索形成術を行う。僧帽弁輪が拡大した症例では弁輪縫縮術も併用する。ただし複数の腱索が断裂した症例や、断裂が前尖と後尖の広範囲にわたり、人工腱索だけでは修復不可能と判断される場合は、機械弁置換術を行う。好発年齢である生後 4~6 ヶ月の乳児では、通常 16mm の機械弁を挿入する。

今回の調査では、外科治療は、最終的に腱索形成もしくは弁輪縫縮が 52 例 (55%)、機械弁置換が 26 例 (27%) に行われた。死亡例は 8 例 (8.4%) であった。中枢神経系後遺症は 10 例 (11%) 認められた。全体では 35 例 (40%) が何らかの後遺症/続発症を残し、本疾患の罹病率は極めて高い。(図 6)。

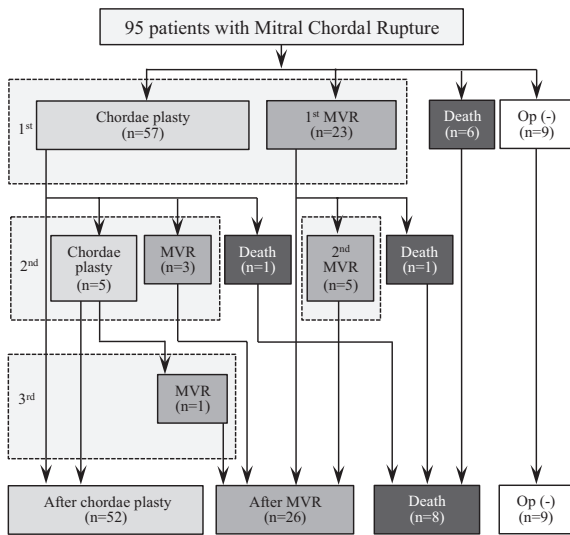


図6：95例の外科的治療内容

腱索の病理組織（21例）では、単核球を主体（とする心内膜下の炎症細胞浸潤が18例（64%）に認められた。多核白血球の浸潤はごく少数のみ認められた。断裂部位は線維性組織で置換され癒痕化していた。粘液様変成が11例（39%）に認められた。急性炎症のマーカーであるテネイシンCは腱索全体にわたり陽性であった（図7）。

免疫組織科学では、浸潤した単核球は、CD3陽性Tリンパ球およびCD68陽性マクロファージであった。剖検のえられた2症例では、他の内臓臓器に腱索と同様な炎症所見は認められなかった。

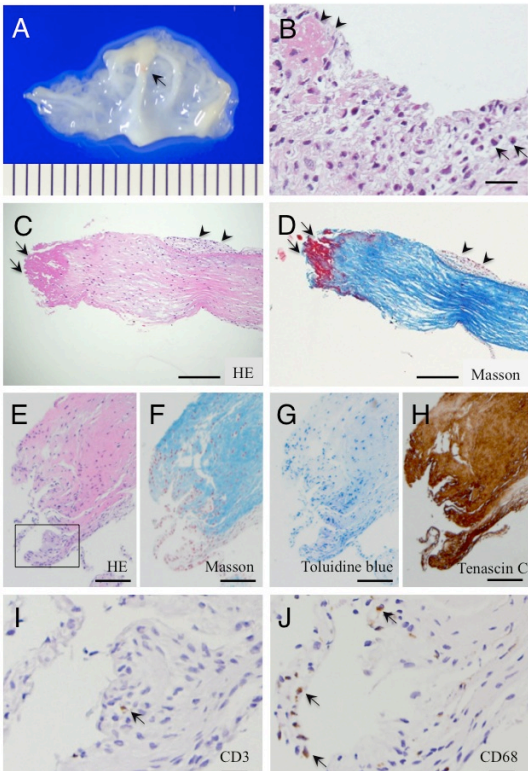


図7：断裂した腱索の病理組織所見

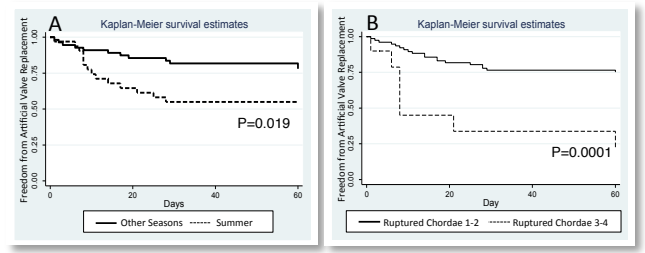


図8：A：発症季節から見た機械弁置換術回避のKaplan-Meier survival、夏に発症した患者の回避率が他の季節に比べて有意に低い。

B：断裂した腱索数から見た機械弁置換から回避のKaplan-Meier survival。断裂部位が3-4箇所患者は1-2箇所の患者に比べて人工弁回避率が低い。

2) メタゲノム、RNA トランスクリプトーム解析：  
a.新たに発症した1乳児症例において、僧帽弁組織および血液のメタゲノム解析およびウイルスゲノムの検索を行なった。原因と考えられる明らかなウイルスは検出されなかった（図9）。  
b.過去の僧帽弁組織6症例のサンプルを用いて、NextSeq500を用いて詳細なRNA-seq解析を行った。FFPE組織から得られるRNAは微量で低品質なため、RNA-seq解析は、6,000万クラスター/検体を目標に行った。今回用いた6検体中、2検体のコントロール、2検体の患者において詳細に解析を行った結果、コントロール、患者検体間で遺伝子発現が大きく変化していた。また、当初予想された、炎症反応性の遺伝子発現変化も確認された。

Type	#reads	Human	Bacteria	Viruses	Fungi	Protozoan Parasites	Archaea	Other	Nohit
negative control	4,889,549	4,834,386	388	127	333	429	0	36,187	17,699
僧帽弁	4,782,392	4,719,591	647	141	341	689	1	40,394	20,588
Throat swab	5,432,816	5,239,724	40,570	129	438	599	6	57,665	93,685
urine	6,909,679	6,782,589	1,340	194	523	776	2	94,512	29,743
stool	4,232,813	4,150,268	2,861	109	345	425	0	60,832	17,973

	バクテリア (リード数)					真菌類: バクテリアリード数/全リード ≧ 0.01% (≧500 reads) のトップ5					
	Top1	Top2	Top3	Top4	Top5	Top1	Top2	Top3	Top4	Top5	
対照											
僧帽弁											
咽喉	Rothia mucilaginosa	16,228	Streptococcus parvaanginis	3,933	Haemophilus parainfluenzae	3,154	Veillonella parvula	2,984	Streptococcus	Other	870
尿											
便	Eggerthella lenta	595									

図9：メタゲノム解析結果

考察

本疾患の原因は現時点では明らかではないが、今回の研究から、川崎病の回復期、母親由来の抗SSA抗体、僧帽弁および腱索組織の粘液変成、ウイルス感染などが引き金になって発症することが明らかになった。

川崎病が10症例において病歴があり、川崎病に

よる心内膜炎が僧帽弁尖や腱索組織に波及して、細胞浸潤から線維化、癒痕化をきたして腱索断裂に導いた可能性がある。今後川崎病は、僧帽弁腱索断裂の一因として認識しておく必要がある。

母親由来の抗 SSA 抗体は、症例数は2例であるとはいえ見逃すことのできない原因であると考えられる。抗 SSA 抗体は、胎盤を通過して、胎児の心筋細胞、とくに刺激伝導系細胞に結合してアポトーシスから炎症細胞の浸潤をきたし、抗 SSA 抗体陽性の母親の約1%に完全房室ブロックを起こす。詳細は明らかではないが、同様な機序で心内膜細胞にも結合して胎児期に炎症を引き起こし、腱索部分が癒痕化して、出生後のある特定の時期に断裂することが想定される。しかしこの機序に関するエビデンスはないので、今後 SSA 抗体と胎児心内膜組織、弁組織、腱索組織を用いた *in vivo* の実験が必要になる。一部の症例で僧帽弁乳頭筋頂部の腱索への移行部にエコー輝度の高い所見が認められた。非特異的所見であり、**echogenic intracardiac focus (EIF)**と区別されなければならないが、今後症例を重ねて、これらの所見を抗 SSA 抗体陽性の母親から生まれた児に対する腱索断裂の早期診断につなげてゆく必要がある。

弁および腱索組織の粘液様変成も比較的高率(39%)に求められた。元々弁および腱索に脆弱性のある児に何らかの炎症もしくは物理的要因が加わり発症した可能性が示唆される。

直接的なエビデンスは現時点でないが、CRP が上昇しないこと、腱索組織から単核球を主体とする炎症細胞浸潤が高率(69%)に見られたこと、感冒様の症状が高率(88例)に認められたこと、母親からのIgG抗体が低下する生後4ヶ月を筆頭に、生後4ヶ月をヶ月に高率に発症する、季節的に春から夏に多発する、これは心筋炎を引き起こすエンテロ系ウイルスの好発時期に一致するが、これらの所見から、何らかのウイルス感染が腱索に炎症を引き起こし断裂に導いた可能性が高く示唆された。今後患者の血液、尿、心臓のサンプル(弁置換を行った症例)からウイルス分離やウイルスゲノムの検索を行う必要がある。残念ながら本年度は血液のウイルス分離を2例で行ったが、いずれも陰性であった。今後研究を継続して、早期発見および的確な治療法を早急に確立する予定である。とくに採取した弁組織からのウイルスDNAの検索、トランスクリプトーム検索によるRNAの解析を行い、病院解明に向けて研究を進展させる予定である。

近年、DNA, RNAを劣化させない固定液PaxGeneが発売され、様々な保存組織から損傷の少ない良質のDNA, RNAが抽出できるようになり、このような保存組織から次世代シーケンサーを用いたDNA, RNAの網羅的解析を行うことが可能となった。本疾患の病因を明らかにするためには、臨床

経過や臨床検査所見から、既知の原因の中から考えられる病因を特定してゆくアプローチのみならず、遺伝子や転写産物の網羅的解析のデータから、これまで知られていなかった未知の病因に迫るアプローチも不可欠である。

そこで、本疾患の直接的な病因研究に取り組むことを目的として、DNA, RNAの網羅的解析を含む新たな研究計画を国立循環器病研究センター倫理委員会に提出し、承諾された(M25-097-2)。本疾患で僧帽弁置換術を余儀なくされた症例において、患者代諾者から同意書を得た上で、得られた組織をPaxGeneで固定し、そこからDNA, RNAを回収して、大阪大学附属微生物病研究所において、ウイルスゲノムの検索およびRNAトランスクリプトーム解析を行った。明らかな病原体は検出されなかったが、今後さらに症例を重ねて、研究を継続する予定である。

また同様に過去に僧帽弁置換術を行った4例においても両親から同意書による承諾を得て、ホルマリン固定パラフィン切片(FFPE)からRNA, DNAを回収して、ウイルスゲノムの検索およびRNAトランスクリプトーム解析を行った。本疾患にウイルス感染が関与しているのか、病理組織学的には多くの症例で軽度のリンパ球浸潤を主体とする非特異的炎症所見が見られるが、まずウイルスDNA, RNA解析により、本疾患のような弁や腱索を主体とする心内膜炎を引き起こすことがこれまで考えてこられなかったウイルスが、新たに見つかる可能性がある。そうすれば、本疾患予防のための抗体やワクチンの作成にもつながる。また、RNAトランスクリプトーム解析を用いてどのような炎症シグナルカスケードが亢進しているかを明らかにできれば、本疾患における腱索断裂にいたる分子細胞生物学的なメカニズムを明らかにすることができ、本疾患の治療薬の開発につなげる可能性が出てくる。

実際に今回行った研究により、FFPE組織から抽出した乳児の僧帽弁という、細胞数が少ない微量で低品質なtotal RNAでもRNA-seq解析が可能であることが示された。シーケンスリード数を大幅に増やすことにより、網羅的な遺伝子発現解析ができるだけでなく、ヒトゲノムにマッピングされなかったRNA配列をもとに、感染源の探索も可能と考えられる。今後、他のFFPE組織を用いてRNA-seq解析を行うことでデータを蓄積するとともに、新鮮組織からの網羅的RNA-seq解析も行い、その結果との整合性も確認する必要がある。

## E. 結論

弁形成もしくは弁置換により外科手術が成功すれば、左室の収縮機能は比較的短期間に改善する。また症例によっては、腱索形成術後に別の腱索が新



たに断裂することがあり、術後も断層心エコーおよびドプラー断層により僧帽弁閉鎖不全の増悪に十分留意する必要がある。ショック状態で搬送された症例では、低血圧もしくは低酸素による中枢神経系障害を合併することがあるので、術直後より頭部エコー検査や頭部CT検査を実施して、脳浮腫や頭蓋内出血などの中枢神経系障害の出現に留意する。

死亡例が8名(8.4%)、人工弁置換症例が26例(27.3%)、呼吸循環不全に伴い発症した中枢神経系後遺症が10例(10.5%)に認められ、生来健康な乳児に発症する急性疾患として見逃すことのできない疾患である。病因を明らかにし適切な治療法を確立することが急務である。

一方、今回行ったRNAトランスクリプトーム解析において、FFPE組織から抽出されたRNAでも網羅的なRNA-seq解析が可能となり、年に数例程度しか得られない症例だけではなく、過去に保存された検体を用いることで原因の解明を行える可能性が示された。今後、より多くの症例を積み重ねることにより、原因の究明が進むと考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 白石 公. 僧帽弁閉鎖不全. 小児科診療「小児の治療指針」2017;81:355-356.

### 2. 学会発表

- 1) 白石 公. 「乳児特発性僧帽弁腱索断裂の臨床的特徴」第24回日本SIDS・乳幼児突然死予防学会学術集会、特別講演. 2018. 2. 24. 京都

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## Acute Rupture of Chordae Tendineae of the Mitral Valve in Infants

### A Nationwide Survey in Japan Exploring a New Syndrome

Isao Shiraishi, MD, PhD; Kunihiro Nishimura, MD, PhD; Heima Sakaguchi, MD, PhD;  
Tadaaki Abe, MD, PhD; Masataka Kitano, MD; Kenichi Kurosaki, MD;  
Hitoshi Kato, MD, PhD; Toshio Nakanishi, MD, PhD; Hiroyuki Yamagishi, MD, PhD;  
Koichi Sagawa, MD; Yoshihiko Ikeda, MD; Takayuki Morisaki, MD, PhD;  
Takaya Hoashi, MD, PhD; Koji Kagisaki, MD; Hajime Ichikawa, MD, PhD

**Background**—Recently, infant cases of acute heart failure attributable to rupture of the mitral chordae tendineae have been reported. However, little is known about the pathogenesis and clinical course of this condition.

**Methods and Results**—Ninety-five children with rupture of mitral chordae tendineae were identified in nationwide surveys of Japan diagnosed from 1995 to 2013. The clinical manifestations, management strategies, and prognosis were investigated. Eighty-one (85%) patients were between 4 and 6 months (median, 5 months) of age. In 63 (66%) patients, rupture occurred during the spring or summer. The underlying conditions before rupture included Kawasaki disease (10 cases), maternally derived anti-SSA antibodies (2 cases), and infective endocarditis (1 case). Surgery was performed in 80 patients (94 operations), and the final operations included plasty of mitral chordae in 52 cases and mechanical valve replacement in 26 cases. The histopathologic examinations of the mitral valves and chordae (n=28) revealed inflammatory reactions with predominant mononuclear cell infiltration in 18 cases (64%) and increased fibrous and myxoid tissue in 11 cases (39%), suggesting that nonbacterial infectious or autoimmune endocarditis and myxoid changes are involved in the pathogenesis. Eight patients (8.4%) died before (n=6) and shortly after (n=2) the operation, and significant neurological complications persisted in 10 cases (11%).

**Conclusions**—Acute heart failure attributable to rupture of the mitral chordae tendineae in infants is a unique disease resulting from diverse causes. This condition should be recognized as a significant cardiovascular disorder that may cause sudden onset of cardiogenic shock and death in infants. (*Circulation*. 2014;130:1053-1061.)

**Key Words:** heart failure ■ mitral regurgitation ■ pathology, surgical ■ pediatrics

Acute massive mitral regurgitation attributable to rupture of the chordae tendineae is a serious condition in which the patient experiences the sudden onset of circulatory and respiratory failure.<sup>1-3</sup> This disease generally occurs in older children, adolescents, and adults, and the underlying conditions are diverse<sup>2,3</sup>; for example, myxomatous change of the mitral valve,<sup>3</sup> systemic connective tissue disorders such as Marfan syndrome or Ehlers-Danlos syndrome,<sup>2,4,5</sup> infectious endocarditis,<sup>2,6,7</sup> rheumatic fever,<sup>2,3,8,9</sup> hypertension,<sup>10,11</sup> labor and delivery,<sup>12</sup> blunt chest trauma,<sup>2,13</sup> and abnormalities of mitral apparatus such as single papillary muscle or double orifice mitral valve.<sup>14,15</sup>

#### Clinical Perspective on p 1061

Until recently, rupture of the mitral chordae tendineae was thought to be rare in young children. However, several child cases without congenital malformations of mitral valve apparatus have been reported in Japan, with the majority of cases, interestingly, being in infants.<sup>16-22</sup> According to the literature, the prognosis of affected patients is, in general, unsatisfactory, as a number of patients were treated with mechanical valve replacement and several patients died of cardiogenic shock.<sup>19,20</sup> To make matters worse, the clinical entities and criteria of the disease have not been described in any textbook

Received January 3, 2014; accepted July 17, 2014.

From the Department of Pediatric Cardiology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan (I.S., H.S., T.A., M.K., K. Kurosaki); the Department of Preventive Cardiology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan (K.N.); the Department of Cardiology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan (H.K.); the Department of Pediatric Cardiology, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan (T.N.); the Department of Pediatrics, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan (H.Y.); the Department of Cardiology, Fukuoka Children's Hospital, Fukuoka, Japan (K.S.); the Department of Clinical Pathology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan (Y.I.); the Department of Bioscience and Genetics, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan (T.M.); and the Department of Pediatric Cardiac Surgery, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan (T.H., K. Kagisaki, H.I.).

Correspondence to Isao Shiraishi, MD, PhD, Department of Pediatric Cardiology, National Cerebral and Cardiovascular Center, 5-7-1, Fujishirodai, Suita, Osaka, Japan 565-8565. E-mail shiraishi.isao.hp@ncvc.go.jp

© 2014 American Heart Association, Inc.

*Circulation* is available at <http://circ.ahajournals.org>

DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.008592

## 要旨

僧帽弁の逆流により左室左房の容量負荷が生じ、進行すると心拍出量の低下および肺うっ血をきたす疾患。小児期の病因としては、先天性心疾患に見られる僧帽弁および弁下組織の異常とともに、Marfan 症候群などの結合織疾患、僧帽弁逸脱症、感染性心内膜炎、乳児特発性僧帽弁腱索断裂、リウマチ熱などの要因により発症する 1)。

## 診断のポイント

先天性、後天性にかかわらず、断層心エコーおよびドプラ断層で確定診断を行う。左室長軸断面で、弁尖の形態、弁尖逸脱の有無、弁尖の接合 (coaptation) の状態、乳頭筋や腱索など弁下組織の形態、弁尖とくに後尖の繫留 (tethering) の有無、左室および左房径、そしてドプラ断層では逆流の程度と広がりを観察する。また僧帽弁レベルの短軸像では、弁尖の形態、弁尖裂隙 (cleft) の有無を確認し、ドプラ断層により逆流部位を同定する。また乳頭筋レベルの短軸像では、乳頭筋の構造異常の有無、乳頭筋間の距離などを確認する。弁下組織の複雑な異常を伴う先天僧帽弁閉鎖不全の症例では、リアルタイム 3 次元心エコーにより有力な情報が得られる。年長児で外科手術の適応を検討する症例では、経食道エコー検査を実施して上記の異常を詳細に検査する。

## 重症度評価

ドプラ断層による逆流シグナルの到達度により、trivial, slight, moderate, severe の 4 段階に分けられる。また左室造影所見では Sellers の分類により、I, II, III, IV 度に分類される。

## 基本病態 (基本事項)

僧帽弁閉鎖不全の原因となる疾患を表に示す。病態としては、僧帽弁を往復する血流により、左室と左房に容量負荷が生じ各々が拡大する。進行すると心拍出量の低下、肺うっ血および肺高血圧をきたす。発症様式により急性と慢性の経過をたどる。感染性心内膜炎による弁組織の破壊や乳児特発性僧帽弁腱索断裂などでは、通常病状が急速に進行する。明らかな心拡大を伴うことなく、低心拍出症候群 (全身蒼白、四肢冷感、血圧低下、尿量減少) および重度の肺うっ血 (呼吸困難、泡沫状血痰) をきたす。先天性の弁/弁下組織の構造異常などで病像が徐々に進行する場合、左室拡大による代償機転が働く間は症状が顕著ではないが、代償が効かなくなると低心拍出および肺うっ血の症状をきたす。重症左心不全に合併する機能的僧帽弁閉鎖不全では、僧帽弁の弁輪が拡大して弁尖の接合 (coaptation) が不十分になるとともに、弁尖とくに後尖の腱索が足かせとなり (tethering)、両弁尖の閉鎖機転が悪くなり発症する。

## 治療の実際

急性経過の治療：大量の僧帽弁逆流により左心不全が進行する場合、動脈圧や中心静脈圧をモニターしてカテコラミン類などの強心薬を投与するとともに、動脈圧に注意しながら必要により末梢血管拡張薬および利尿薬の経静脈投与を行う。呼吸困難が強い場合は、気管内挿管により人工呼吸を行う。これらの内科的治療に十分に反応せず左心不全と肺うっ血が進行する場合には、外科手術により弁および弁下組織の形成を行う。弁形成が不可能と判断された場合は機械弁置換術を行う。

慢性経過の治療：アンギオテンシン変換酵素阻害薬などの内服により末梢血管抵抗を低下させ心拍出量を維持し、易疲労などの症状を伴う症例では利尿薬を投与して肺うっ血を予防する。これらの内科的治療で心不全症状が改善しない症例では、外科治療を行う。

## 私の治療方針（管理方針）

重症の僧帽弁閉鎖不全に遭遇した際には、まず原因の同定が重要である。先に診断のポイントで示したように、経胸壁断層心エコーで弁および弁下組織の形態を精査する。急性の経過をたどる症例では、集中治療室で呼吸循環管理を行うとともに、外科手術のタイミングを逸しないように心がける。学童期以降での症例では可能な限り経食道心エコー検査を実施し、僧帽弁及び弁下組織の形態と逆流機転をあらゆる角度から観察し、外科治療に情報供与する。

## 最新のエビデンス

乳児を含む小児期の重症僧帽弁閉鎖不全に対する外科治療成績は、人工腱索を用いた僧帽弁形成術により概ね良好と報告されている<sup>2)3)</sup>。

## 近年のトピックス

近年問題となっている乳児特発性僧帽弁腱索断裂では、厚生労働省科学研究班全国態調査により、以下の特徴が明らかとなっている<sup>4)</sup>。

1. 生来健康な4～6ヶ月の乳児に、数日の感冒様症状に引き続き重篤な呼吸循環不全が発症する。日本人乳児に好発し、年間約10～20例発症する。
2. 原因として、ウイルス感染、川崎病後、母親由来の抗SSA抗体、僧帽弁の粘液様変性などが示唆されるが、詳細は不明である。
3. CRPなどの血液炎症反応は軽度の上昇にとどまるが、心不全マーカーであるBNP値は著増する。病理組織検査では、腱索心内膜に単核球を主体とする細胞浸潤が軽度認められる。
4. 適切な診断と早期の外科治療が実施されないと、死亡例(8.4%)や人工弁置換例(27%)、急性循環不全による中枢神経系の障害例(11%)が存在し、生来健康な乳児に発症する急性心不全として看過できない疾患である。

## ピットフォールと対策

急性に発症する僧帽弁閉鎖不全では、病初期より顔面蒼白や尿量減少などの低心拍出症状や肺うっ血による

強い呼吸困難を呈する反面、胸部 Xp で心拡大は目立たない。一方、慢性的に経過する僧帽弁閉鎖不全では、臨床症状には乏しく左心室の駆出率は比較的良好に保たれるが、胸部 Xp で明らかな心拡大がみられる。いずれの場合も臨床症状と検査所見を総合的に判断し、適切な手術治療時期を逸さない注意が必要である。

#### 文献

1. Mackie AS and Smallhorn JF. Anatomical and functional mitral valve abnormalities in the pediatric population. In Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescents Including the Fetus and Young Adult. 8<sup>th</sup> edition, Lippincott Williams and Wilkins. pp1003-22.
2. Murashita T, Hoashi T, Kagisaki K, et al. Long-term results of mitral valve repair for severe mitral regurgitation in infants: fate of artificial chordae. Ann Thorac Surg. 2012;94:581-6.
3. Oda S, Nakano T, Tatewaki H, et al. A 17-year experience with mitral valve repair with artificial chordae in infants and children. Eur J Cardiothorac Surg. 2013;44:e40-5.
4. Shiraishi I, Nishimura K, Sakaguchi H, et al. Acute rupture of chordae tendineae of the mitral valve in infants: a nationwide survey in Japan exploring a new syndrome. Circulation. 2014;130:1053-61.

#### 小児期にみられる僧帽弁閉鎖不全の原因疾患

- 
1. 弁尖および弁下組織の先天性構造異常  
弁尖の異常  
僧帽弁裂隙（不完全型房室中隔欠損に見られる cleft）  
重複僧帽弁口、僧帽弁副組織  
先天性心疾患術後（完全型房室中隔欠損術後）  
乳頭筋および腱索の構造異常  
乳頭筋の位置異常、過長及び過小腱索、異常乳頭筋下架橋、  
Hammock 弁、Parachute 弁
  2. 結合織疾患、先天代謝異常/蓄積病  
僧帽弁逸脱症、Marfan 症候群などの結合織疾患
  3. 感染/炎症/免疫学的異常が原因と考えられるもの  
感染性心内膜炎、川崎病に伴う心内膜炎、乳児特発性僧帽弁腱索断裂、  
リウマチ熱
  4. 乳頭筋への血流障害  
BWG 症候群、川崎病による冠動脈障害、心筋梗塞
  5. 物理的な原因が考えられるもの  
高血圧、外傷など
  6. 左室拡大による機能的僧帽弁閉鎖不全  
拡張型心筋症、著しい左室拡大を伴う重症心不全
-



別紙4

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
該当なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
白石 公	僧帽弁閉鎖不全	小児科診療	81	355-356.	2018