

平成 22 年 4 月 4 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19590807
 研究課題名（和文）肥大型及び拡張型心筋症の病態解明：分子遺伝学的、臨床機能解析的、両アプローチから
 研究課題名（英文）Research of the hypertrophic and dilated cardiomyopathy: From both approaches of the molecular genetics and the clinical functional analysis
 研究代表者
 藤野 陽 (FUJINO NOBORU)
 金沢大学・保健学系・准教授
 研究者番号：40361993

研究成果の概要（和文）：548 の心筋症家系（肥大型心筋症 400 家系、拡張型心筋症 148 家系）に関して、発端者ならびにその家族の臨床所見および遺伝子変異を解析した。肥大型心筋症の遺伝子変異保因者臨床像について特に左室収縮機能に着目した所、ミオシン群 75 例（心筋ベータミオシン重鎖遺伝子およびミオシン結合蛋白 C 遺伝子）とトロポニン群 75 例（心筋トロポニン T 遺伝子および心筋トロポニン I 遺伝子）では、収縮不全（左室駆出率 50%未満）の合併に違いが認められた。40 歳以上の症例における収縮不全発症率について、トロポニン群ではミオシン群と比較して有意に発症率が高いことが示された。

研究成果の概要（英文）： We screened for mutations in 400 hypertrophic cardiomyopathy (HCM) and 148 dilated cardiomyopathy probands. We detected 150 HCM subjects with sarcomere gene mutations. We compared echocardiographic parameters and frequency of the development to systolic dysfunction with left ventricular ejection fraction <50% between myosin-group and troponin-group mutation carriers. There were 75 HCM subjects in the myosin-group and 75 in the troponin-group. Interestingly in the subjects > 40 years of age, the frequency of developing to systolic dysfunction was higher in the troponin-group than in the myosin-group (P < 0.05).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：心筋症

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：心臓病態学、遺伝学、遺伝子、心筋症

1. 研究開始当初の背景

肥大型心筋症は、幼小児期より心臓突然死

を発症する特発性心疾患であり、若年者の突然死の原因として最も頻度が高い。従って、その早期発見は突然死を予防する上で重要

な課題である。1990年に肥大型心筋症の原因遺伝子：心筋ベータミオシン重鎖遺伝子を世界に先駆けて報告したハーバード大学医学部遺伝学部門サイドマン研究室をはじめとして、世界中で肥大型心筋症の原因遺伝子が検索され、心筋サルコメア構成蛋白をコードする10種以上の遺伝子の変異が病因として報告されてきた。申請者らも心筋トロポニンI遺伝子変異による肥大型心筋症の大家系を見出し、その臨床像を世界で初めて明らかにした。また心筋トロポニンT遺伝子変異による肥大型心筋症は、中年以降に収縮不全をきたして拡張型心筋症と類似の病態をとり、心不全に陥りやすいことが判明した。これらサルコメア遺伝子変異が肥大型心筋症患者の約60%の原因であると報告されているが、残り40%の肥大型心筋症患者では原因が不明である。それらの患者家系における遺伝子変異保因者の早期発見、早期治療のために、新たな原因遺伝子検索が急務の課題である。また、拡張型心筋症は重症心不全をきたす特発性心疾患であり、予後不良である。進行例は心臓移植の適応となるが、国内で心臓移植を受けられる機会は未だ少なく、早期診断、治療が重要な課題である。近年、サルコメア遺伝子変異を導入したマウスでは、心筋内カルシウム調節蛋白である心筋リアノジン受容体蛋白や、カルシクエストリン蛋白発現に異常があることが報告されており、この結果、カルシウム関連遺伝子の変異が肥大型心筋症の原因となることが判明した。2003年にはカルシウム関連蛋白の一つであるフォスホランパンの遺伝子変異(Arg9CysとLeu39Stop)が、それぞれ拡張型心筋症の原因となることが報告された。申請者の施設では、2003年の時点で360例を超す肥大型心筋症例、及び130例を超す拡張型心筋症例を患者として把握していた。上記の知見をふまえ、申請者は平成16年度若手研究(B)に研究課題「肥大型、及び拡張型心筋症におけるフォスホランパン、FKBP12.6遺伝子解析」を申請し、認められた(若手研究(B), 2004~2006年度)。研究成果として、新たに関連の認められない肥大型心筋症患者(発端者)20名、拡張型心筋症患者(発端者)10名を検出し、総計肥大型心筋症380家系、拡張型心筋症140家系を同定した。これら合計520家系における遺伝子検索の結果、肥大型心筋症2家系にフォスホランパン遺伝子変異:Ile38ThrとIle45Valを、拡張型心筋症1家系にフォスホランパン遺伝子変異:Arg14 delを検出した。

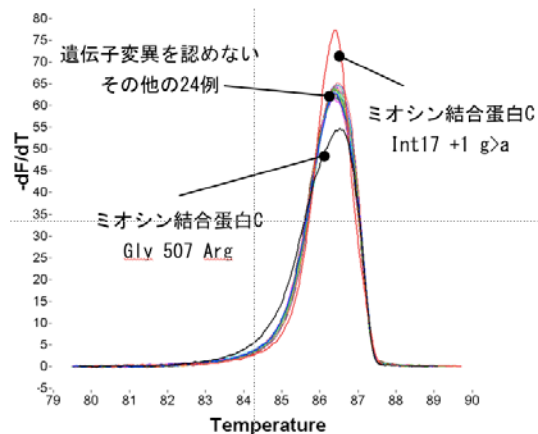
2. 研究の目的

本研究の目的は、これまでに集積した肥大型・拡張型心筋症例の臨床病態を追跡調査してデータベースを構築し、臨床病態の変化に

関与する因子を解明すること、である。

3. 研究の方法

遺伝子解析の概要は以下のとおりである。白血球よりDNA extractor 341 Nucleic Acid Purification System (GENEPURE, PE Biosystems Corporation Ltd., Foster City, California)を用いてDNAを抽出し、PCR (polymerase chain reaction)法にて遺伝子の増幅を行う。その後の手順だが、2007年には、これまで通りSingle Strand Conformation Polymorphism(SSCP)という「ポリアクリルアミドゲルでの電気泳動」を用いた時間と手間のかかる方法で遺伝子変異をスクリーニングした。2008年からは、高分解融解曲線分析(Hi-Res Melting: HR-1)を用いて、ヘテロデュプレックスと野生型の融解曲線のわずかな違いを検出することにより、変異の有無を確認した。「下図」は、ミオシン結合蛋白Cにおける変異検出の一例である。

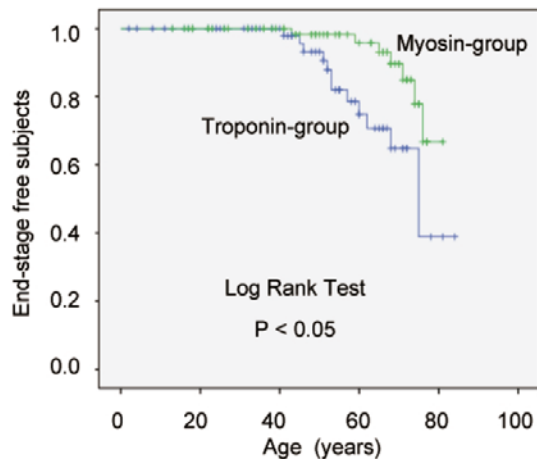


融解曲線の違いにより、2つの変異(Int17+1 g>aとGly507Arg)が、その他の例と比較して明確に区別される。専用のガラスキャピラリーでPCRを行い、このガラスキャピラリーをHR-1の装置に入れるだけで、ポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動を行うことなく、解析は可能である(所要時間は、1検体当たり2~3分)。このようにして遺伝子変異が検出された心筋症患者において、原因遺伝子の差異による臨床像の違いを検討した。

4. 研究成果

新たにミオシン結合蛋白C遺伝子の変異:p. Gln969Stopを検出した。さらに、これまで既に検出していた遺伝子変異についても、より多くの心筋症例において検出することができた。遺伝子変異保因者の臨床像について特に左室収縮機能に着目した所、ミオシン群75例(心筋ベータミ

オシン重鎖遺伝子およびミオシン結合蛋白C遺伝子)とトロポニン群75例(心筋トロポニンT遺伝子および心筋トロポニンI遺伝子)では、収縮不全(左室駆出率50%未満)の合併の仕方に違いが認められた。ミオシン群では主に60歳代から収縮不全が認められ始めたのに対して、トロポニン群では40歳代から収縮不全が認められ始めた(Kaplan-Meier法、下図)。



40歳代以上の症例における収縮不全発症率についても、トロポニン群ではミオシン群と比較して、有意に発症率が高いことが示された。この内容の一部は、2009年11月に米国オーランドで開催された American Heart Association's scientific sessions 2009 で発表して大きな反響が得られた。今後、さらに多くの症例で遺伝子変異を検出することにより、より詳細な遺伝子変異-臨床病型連関を明らかにして心筋症患者管理に役立てられることが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

1. Tsubokawa T, Yagi K, Nakanishi C, Zuka M, Nohara A, Ino H, Fujino N, Konno T, Kawashiri M, Ishibashi-Ueda H, Nagaya N, Yamagishi M: Impact of anti-apoptotic and -oxidative effects of bone marrow mesenchymal stem cells with transient overexpression of heme oxygenase-1 on myocardial ischemia. American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology, 2010 (in press) (査読有)

2. 藤野 陽、今野哲雄、井野秀一、山岸正

和. 循環器疾患発症の分子機序(心筋症-1、肥大型心筋症). 循環器疾患のサイエンス. 105-110 頁. 2010 年 (査読無)

3. Hayashi K, Fujino N, Uchiyama K, Ino H, Sakata K, Konno T, Masuta E, Funada A, Sakamoto Y, Tsubokawa T, Nakashima K, Liu L, Higashida H, Hiramaru Y, Shimizu M, Yamagishi M. Long QT syndrome and associated gene mutation carriers in Japanese children: results from ECG screening examinations. Clin Sci (Lond) 117: 415-424. 2009. (査読有)

4. Uchiyama K, Hayashi K, Fujino N, Konno T, Sakamoto Y, Sakata K, Kawashiri MA, Ino H, Yamagishi M. Impact of QT variables on clinical outcome of genotyped hypertrophic cardiomyopathy. Ann Noninvasive Electrocardiol 14: 65-71, 2009. (査読有)

5. Sakata K, Ino H, Fujino N, Nagata M, Uchiyama K, Hayashi K, Konno T, Inoue M, Kato H, Sakamoto Y, Tsubokawa T, Yamagishi M. Exercise-induced systolic dysfunction in patients with non-obstructive hypertrophic cardiomyopathy and mutations in the cardiac troponin genes. Heart 94: 1282-1287, 2008. (査読有)

6. Oe K, Mori K, Otsuji M, Konno T, Fujino N, Yamagishi M. Takotsubo cardiomyopathy with marked ST-segment elevation and electrical alternans complicated with hyperglycemic hyperosmolar state. Int Heart J 49: 629-35, 2008. (査読有)

7. Kaneda T, Naruse C, Kawashima A, Fujino N, Oshima T, Namura M, Nunoda S, Mori S, Konno T, Ino H, Yamagishi M, Asano M. A novel beta-myosin heavy chain gene mutation, p.Met531Arg, identified in isolated left ventricular non-compaction in humans, results in left ventricular hypertrophy that progresses to dilation in a mouse model. Clin Sci (Lond) 114: 431-40, 2008. (査読有)

[学会発表] (計 37 件)

1. Fujino N, Ino H, Hayashi H, Uchiyama K, Masuta E, Sakamoto Y, Tsubokawa T, Funada A, Muramoto A, Yokawa J, Yamagishi M 会長特別企画: フォーカスセッション2 「家族性心疾患」: Genetic Analysis and Hypertrophic

Cardiomyopathy: Case Presentation. 第 73 回日本循環器学会総会・学術集会 Mar. 5-7, 2010, 国立京都国際会館, グランドプリンスホテル京都 (京都府)

2. Fujino N, Ino H, Hayashi H, Uchiyama K, Masuta E, Sakamoto Y, Tsubokawa T, Funada A, Muramoto A, Yokawa J, Yamagishi M. Significance of Genetic Analysis in Hypertrophic Cardiomyopathy: Comparison of Development to End-Stage Phase in Thick and Thin Filament Mutations Carriers. 第 73 回日本循環器学会総会・学術集会 Mar. 5-7, 2010, 国立京都国際会館, グランドプリンスホテル京都 (京都府)

3. Fujino N, Ino H, Hayashi H, Uchiyama K, Masuta E, Sakamoto Y, Tsubokawa T, Funada A, Muramoto A, Yokawa J, Yamagishi M. Impact of Genetic Screening on the Development to End-Stage Phase in Hypertrophic Cardiomyopathy: From the Comparison of Clinical Course in Carriers with Thick Filament Mutations and Thin Filament Mutations. American Heart Association's scientific sessions 2009, Nov. 14-18, 2009, オーランドコンベンションセンター, ハーバード大学医学部遺伝学部門 (USA)

4. 藤野 陽、井野秀一、舟田 晃、舛田英一、村本明彦、山岸正和. シンポジウム 8「慢性心不全のガイドラインを検証する」S-8-6 「心筋症に伴う慢性心不全の予後: Genotyped 症例での検討」. 第 57 回日本心臓病学会学術集会 Sep. 18-20, 2009, ロイトン札幌, ウェルシティ札幌 (北海道)

5. Fujino N, Ino H, Hayashi K, Uchiyama K, Masuta E, Sakamoto Y, Tsubokawa T, Funada A, Muramoto A, Yamagishi M. Comparison of phenotype of hypertrophic cardiomyopathy associated with a calcium regulating gene and a sarcomere gene. 第 73 回日本循環器学会総会・学術集会 Mar. 19-20, 2009, 大阪国際会議場, リーガロイヤルホテル大阪 (大阪府)

6. Hayashi K, Sakamoto Y, Fujino N, Uchiyama K, Ino H, Masuta E, Funada A, Tsubokawa T, Muramoto A, Yamagishi M. Symposium 7 Proarrhythmic risk of drugs and their evaluation: Impact of combined risk factors on reduction of repolarization reserve associated with drug-induced abnormal QT prolongation and Torsade de Pointes. 第 73 回日本循環器学

会総会・学術集会 Mar. 19-20, 2009, 大阪国際会議場, リーガロイヤルホテル大阪 (大阪府)

7. Fujino N, Ino H, Nakajima K, Yamagishi M. Impact of 123I-BMIPP on prognosis of nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy: from 10 years follow-up data. American Society of Nuclear Cardiology, 2008, Sep. 11-14, 2008, John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center (USA).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤野 陽 (FUJINO NOBORU)
金沢大学・保健学系・准教授
研究者番号: 40361993