

機関番号：16401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20790533

研究課題名 (和文) 同一病因遺伝子変異を持つ肥大型心筋症患者における病態修飾因子の検討

研究課題名 (英文) Investigation into modifying factors in patients with hypertrophic cardiomyopathy caused by an identical disease-causing mutation

研究代表者

久保 亨 (KUBO TORU)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：80325422

研究成果の概要 (和文)：肥大型心筋症における遺伝型と表現型 (臨床病型) の関連性を検討した。遺伝型の評価では、心筋ミオシン結合蛋白遺伝子を中心に解析を行い、新規遺伝子変異も含めて同定しその臨床像とともに報告した。特に、本邦では初めての報告となる重複遺伝子変異については学会発表を行った。表現型の評価では、本症の左室リモデリングに焦点をあていくつかの研究を行った。また、血液バイオマーカーを用いた病態評価と予後予測についても解析を行い英文医学雑誌に報告した。

研究成果の概要 (英文)：I investigated the genotype-phenotype correlations in hypertrophic cardiomyopathy (HCM). In genetic analysis, I reported some mutations associated with HCM, particularly mutations in cardiac myosin-binding protein C gene. In the studies of clinical phenotype in HCM, I focused on the left ventricular remodeling of this disease and reported several results including the usefulness of biomarkers for predicting the prognosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：医歯薬学

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：臨床心血管病態学

1. 研究開始当初の背景

肥大型心筋症は患者の50%前後に病因遺伝子変異が同定され、早期診断、突然死の予防という観点で遺伝子解析が注目されている。現在、遺伝型と表現型の関連性 (Genotype-Phenotype correlation) の研究

が盛んに行われているが、その結果については未だ確定したものは得られていない。また、同一遺伝子変異を有する異なる家系間さらには同一の家系内においても、同じ変異を持つにもかかわらず、異なる表現型・臨床病型を呈することがわかっている。肥大型心筋症は

単一遺伝子疾患と考えられるが、表現型を決定するには病因変異以外の修飾因子の存在が考えられている。

研究代表者は、肥大型心筋症の臨床像の検討だけではなく、心筋症患者の遺伝子解析方法の開発や遺伝型と表現型の関連性に関する研究を行ってきた。さらに、研究代表者は最近、同一の心筋ミオシン結合蛋白C変異をもつお互いに面識のない15家系の遺伝型と表現型の関連性を報告した。これらの家系のハプロタイプ解析を行ったところ、共通の祖先から伝わったこと（創設者効果）が確認された。また、これらの家系は全く同じ遺伝子変異をもつにもかかわらず経過とともに異なる臨床病型を示す部分も認められ、病因変異以外の修飾因子の存在が強く示唆されるものであった。このように同一遺伝子変異を有する多家系が存在し臨床病型を評価できるという状況は世界でも類を見ないことであり、病因変異以外の表現型を決定する修飾因子（遺伝的因子・環境的因子）の検討が可能な状況にある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、単一遺伝子疾患である肥大型心筋症において、臨床像の検討を行うとともに病因遺伝子解析を行い、遺伝型と表現型の関連性を検討する。さらに、同一病因遺伝子変異を有する多家系を用いることにより、その遺伝的原因を一定にしたうえで、病因変異以外に表現型を決定する修飾因子（遺伝的因子・環境的因子）を解析し明らかにする。

3. 研究の方法

肥大型心筋症の臨床病型を評価するとともに遺伝子解析を行い病因遺伝子変異の同定を行う。肥大型心筋症患者の表現型の評価については、一般的な診察・心電図に加えて、心臓超音波検査やエルゴメーターを用いた心肺運動負荷検査を中心に心機能の評価を行う。また、血液マーカーによる病態評価も施行する。遺伝型の評価では、研究代表者専用の遺伝子解析システム（PCR機器、Sequence機器など）を用いて、遺伝子解析（サルコメア蛋白遺伝子を中心とした遺伝子スクリーニング）を行う。具体的な病因変異スクリーニングの方法は、末梢血液からDNAを採取し、各遺伝子のcoding領域に対してPCRを行う。PCR産物は精製を行い、続いてダイレクトシーケンシングを行っていく（Applied Biosystems 3100-Avant Genetic Analyzer）。さらに、同一遺伝子変異を有する家系・患者において、その臨床病型を詳細に評価し、病因変異以外で表現型を決定する修飾因子

（遺伝的因子・環境的因子）を解析する。

4. 研究成果

肥大型心筋症における表現型の評価では、本症の左室リモデリングに焦点をあていくつかの研究を行った。まず初めに、リモデリング過程を詳細に検討し、左室壁運動異常の出現順序や異常の程度などを明らかにした（Hayato K, et al. J Cardiol 2008;51:92-105）。さらに、リモデリングの最終像である拡張相肥大型心筋症と、同様に左室収縮不全を来す拡張型心筋症について、その臨床像の比較を行った。拡張相肥大型心筋症では、左室収縮能低下の程度が拡張型心筋症よりも軽いにもかかわらず、はるかに予後が不良であることなどを報告した（Hamada T, et al. Clin Cardiol 2010;33:E24-E28）。今回の研究成果の重要なものの一つとして、欧米と比較すると我が国に多い心尖部肥大型心筋症に関して、その分類について新たな概念を提案したことが挙げられる。我が国で見られる心尖部肥大型心筋症と欧米からの報告ではその臨床像が異なる点が多く、この原因として心尖部肥大型心筋症の定義がそれぞれに異なることが分かっている。このため、心尖部肥大型心筋症を形態的に2つに分類することを提唱した（pure-apical formとdistal-dominant form）。distal-dominant form群では、pure-apical form群よりも家族歴が多く、心血管イベントも発症しやすいことが判明し、区別して対応する必要があることを報告した（Kubo T, et al. Circ J 2009;73:2330-6）。また、肥大型心筋症の我が国における地域登録調査を行った。この理由として、本症のこれまでの研究は高度専門施設からの報告に偏った傾向があり、一般臨床の場で一般医が遭遇する患者群を想定しその臨床像を知っておく必要があると考えられたためである。この登録調査からは、中年～高齢患者においては心房細動の出現が臨床経過の重要な起点となっていることが判明した（Kubo T, et al. Circ J 2009; 73: 1599-605）。次に、本症において従来あまり検討されていなかった部分として、血液バイオマーカーの有用性の評価が挙げられる。循環器疾患の領域では、いかに簡便に病態を評価するかが大変重要になってきており、本症以外の循環器疾患では血液マーカーを用いた研究が盛んに行われるようになってきた。今回新たな試みとして、本症における心筋傷害の評価を行うにあたり血清心筋トロポニンI値について検討した。この血液マーカーは、左室最大壁厚との関連性が強く、心筋傷害・

左室リモデリングのメカニズム解明のキーとなるマーカーである可能性があることが分かった (Kubo T, et al. Clin Cardiol 2010; 33:E1-7)。すなわち、心肥大に伴う相対的な虚血状態が心筋の線維化を進展させ、左室リモデリングを進める可能性があることが推察された。さらに、血清心筋トロポニンI値を心室負荷の状態をあらわす脳性ナトリウム利尿ペプチド値と組み合わせることで、本症の心血管イベントの予測に有用であることを報告した。両バイオマーカーがともに高値の群では、いずれも低値の群と比較して、心血管イベントの発症が11.7倍高率に起こることを示した (Kubo T, et al. Circ J 2010;75:919-26)。

病因遺伝子変異スクリーニングでは、新たな遺伝子変異として心筋ミオシン結合蛋白C遺伝子のナンセンス変異 (S297X) について論文発表を行った (Hirota T, et al. J Cardiol 2010;56:59-65)。また、肥大型心筋症における左室収縮不全に関連していると思われる心筋ミオシン結合蛋白C遺伝子変異についても報告を行った (Hitomi N, et al. J Cardiol 2010; 56: 189-96)。さらに、肥大型心筋症例 93 家系の遺伝子解析を 5 つのサルコメア蛋白遺伝子 (*MYBPC3*, *MYH7*, *TNNI2*, *TNNI3*, *TPM1*) について施行したところ、28 家系に 14 種類の遺伝子変異を同定した。そのうち 2 家系の発端者は本邦では初となる multiple mutations (double heterozygotes) を有していたことが判明した (第 73 回日本循環器学会総会・学術集会発表)。

病態修飾因子の検討では、肥大型心筋症例約 200 家系の遺伝子解析を行い、合計 23 家系から 50 例の同一遺伝子変異 (心筋ミオシン結合蛋白C遺伝子変異 (V593fs)) 陽性者を対象に病態修飾因子の同定を試みた。遺伝的要因について確定的な修飾因子は現時点では得られなかったが、家系ごとに臨床病型に類似点があることが分かった。すなわち、遺伝的背景が似ているものほど同様の臨床病型をたどる傾向にあることが判明し、何らかの遺伝的因子が病態形成に大きく関与していることが推察された。また、肥大型心筋症の臨床像の差異をきたす要因の一つとして性差に注目したところ、女性患者では発症年齢がより高齢であり、さらに症状が重篤で、閉塞性肥大型心筋症が多い、などの知見を得た (Kubo T, et al. J Cardiol 2010;56:314-9)。

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. Kubo T, Kitaoka H, Matsumura Y, 他9名、Combined measurements of cardiac troponin I and brain natriuretic peptide are useful for predicting adverse outcome in hypertrophic cardiomyopathy. Circ J 2011;75:919-26、査読有
2. Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, 他6名、Gender-specific differences in the clinical features of hypertrophic cardiomyopathy in a community-based Japanese population: results from Kochi RYOMA study. J Cardiol 2010;56:314-9、査読有
3. Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, Nishinaga M, Doi YL, Hypertrophic cardiomyopathy in the elderly. Geriatr Gerontol Int 2010;10:9-16、査読有
4. Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, 他9名、Serum cardiac troponin I is related to increased left ventricular wall thickness, left ventricular dysfunction, and male gender in hypertrophic cardiomyopathy. Clin Cardiol 2010;33:E1-7、査読有
5. Kubo T, Kitaoka H, Terauchi Y, 他5名、Hemolytic anemia in a patient with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. J Cardiol 2010;55:125-9、査読有
6. Kitaoka H, Kubo T, Okawa M, 他4名、Impact of metalloproteinases on left ventricular remodeling and heart failure events in patients with hypertrophic cardiomyopathy. Circ J;74:1191-6、査読有
7. Kitaoka H, Kubo T, Okawa M, 他4名、Plasma adiponectin levels and left ventricular remodeling in hypertrophic cardiomyopathy. Int Heart J 2010;51:51-5、査読有
8. Hamada T, Kubo T, Kitaoka H, 他10名、Clinical features of the dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy in comparison with those of dilated cardiomyopathy. Clin Cardiol 2010; 33:E24-8、査読有
9. Hitomi N, Kubo T, Kitaoka H, 他7名、A frameshift deletion mutation in the cardiac myosin-binding protein C gene associated with dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. J Cardiol 2010;56:189-96、査読有
10. Hirota T, Kubo T, Kitaoka H, 他8名、A novel cardiac myosin-binding prote

in C S297X mutation in hypertrophic cardiomyopathy. J Cardiol 2010;56:59-65、査読有

11. Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, 他7名、Clinical impact of atrial fibrillation in patients with hypertrophic cardiomyopathy. Results from Kochi RYOMA Study, Circ J 2009;73:1599-160、査読有
12. Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, 他9名、Clinical profiles of hypertrophic cardiomyopathy with apical phenotype - comparison of pure-apical form and distal-dominant form. Circ J 2009;73:2330-6、査読有
13. Arimura T, Bos JM, Sato A, Kubo T, 他9名、Cardiac ankyrin repeat protein gene (ANKRD1) mutations in hypertrophy cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 2009;54:334-42、査読有
14. Kitaoka H, Kubo T, Okawa M, 他5名、Utility of tissue Doppler imaging to predict exercise capacity in hypertrophic cardiomyopathy: comparison with B-type natriuretic peptide. J Cardiol 2009;53:361-7、査読有
15. Hayato K, Okawa M, Matsumura Y, Kitaoka H, Kubo T, 他7名、Hypertrophic cardiomyopathy with mild left ventricular remodeling: echocardiographic assessment using left ventricular wall motion score. J Cardiol 2008;51:92-105、査読有

[学会発表] (計9件)

1. Kubo T, Combined measurements of cardiac troponin I and brain natriuretic peptide are useful for predicting adverse outcomes in hypertrophic cardiomyopathy, ESC CONGRESS 2010、2010年8月30日、Stockholm, Sweden
2. Kubo T, Combined measurements of cardiac troponin I and brain natriuretic peptide are useful for predicting adverse outcomes in hypertrophic cardiomyopathy, 第74回日本循環器学会総会・学術集会、2010年3月22日、京都
3. 久保亨, Gender differences in the clinical features of hypertrophic cardiomyopathy in an unselected regional Japanese population: Results from Kochi RYOMA study, 第13回日本心不全学会学術集会、2009年10月30日、福岡
4. 久保亨, 肥大型心筋症患者の病因遺伝子スクリーニング: 重複遺伝子変異とその

臨床的意義、第54回日本人類遺伝学会学術集会、2009年9月24日、東京

5. 久保亨, 地域在住高齢心筋症患者の病態に関する検討、第51回日本老年医学会学術集会、2009年6月20日、神奈川
6. Kubo T, Cardiac troponin I is related to increased left ventricular wall thickness, left ventricular dysfunction and male gender in hypertrophic Cardiomyopathy, 17th Asian Pacific Congress of Cardiology, 2009年5月20日、京都
7. Kubo T, Impact of atrial fibrillation in elderly patients with hypertrophic cardiomyopathy, 17th Asian Pacific Congress of Cardiology, 2009年5月20日、京都
8. 久保亨, Clinical profiles of hypertrophic cardiomyopathy with apical phenotype: comparison of pure-apical form and distal-dominant form, 第73回日本循環器学会総会・学術集会、2009年3月22日、大阪
9. 久保亨, Genetic screening and compound mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy, 第73回日本循環器学会総会・学術集会、2009年3月22日、大阪

[図書] (計4件)

1. 久保亨, 土居義典, 他、南江堂、循環器疾患 最新の治療 2010-2011、2010年、186-190頁
2. 久保亨, 大川真理、北岡裕章、土居義典, 他、西村書店、循環器病学 基礎と臨床、2010年、976-993頁
3. 久保亨, 北岡裕章、土居義典, 他、最新医学社、新しい診断と治療のABC 心筋症、2008年、280-282頁
4. 久保亨, 土居義典, 他、科学評論社、循環器科 循環器疾患の発症・増悪関連遺伝子 最近の話題、2008年、543-547頁

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保亨 (KUBO TORU)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号: 80325422