

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591571

研究課題名(和文) 心筋緻密化障害におけるサルコメア遺伝子変異と機能異常の網羅的解析

研究課題名(英文) Genetic analysis of sarcomere in left ventricular noncompaction

研究代表者

市田 路子 (Ichida, Fukiko)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号：30223100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：左室心筋緻密化障害(LVNC)においてサルコメア遺伝子の解析を行い、遺伝子変異の臨床的意義を検討した。日本人LVNC患者80名中23名(28%)で、5遺伝子(MYH7、MYBPC3、TNNC1、TPM1、ACTC1)に24変異が検出され、そのうち新規は17変異(71%)と高率であった。変異はMYH7(11)とMYBPC3(7)で全体の75%を占め、遺伝子変異の有無では予後に有意差は認められなかったが、複数変異あるいは稀なTNNC1、TPM1、ACTC1遺伝子変異は予後不良因子であった。LVNC患者のサルコメア遺伝子の解析が、予後の予測および適切な治療介入の一助となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated 80 Japanese patients with a clinical diagnosis of LVNC, and identified 27 sarcomeric gene mutations in 25 patients (28%). MYH7 and MYBPC3 were the most prevalent disease genes and accounts for 75% of cases with mutation. Of note, 3 infantile cases and 2 juvenile cases were compound or double heterozygotes for 2 different mutations, and showed the most severe phenotypes including heart transplantation, death or cardiopulmonary arrest. Patients with single mutations in TPM1 and ACTC1 showed similar poor prognosis. Comparing sarcomere mutation-positive and mutation-negative LVNC probands showed no significant differences with respect to clinical characteristics at baseline and mortality during follow up. Mutations in sarcomere genes account for a significant proportion of cases of LVNC in this cohort. The presence of a mutation in TPM1 or ACTC1, or compound heterozygosity for mutations in other sarcomere genes in LVNC are associated with the most severe clinical phenotype.

研究分野：小児循環器学

キーワード：心筋症 遺伝子異常 サルコメア遺伝子 心筋発達 心筋緻密化障害

1. 研究開始当初の背景

心筋緻密化障害 (noncompaction of ventricular myocardium) は、心室壁の過剰な網目状の肉柱形成と深い間隙を特徴とした心筋症で、典型例は新生児期に心不全のため死亡し、心移植の対象になっている疾患である。近年、年長児や成人の報告例も増え、全国で1年間に約40例の小児期発症例が報告され、それほど稀な疾患ではないことが明らかになった。我々は、本邦で初めて心筋緻密化障害の症例を報告し [市田 露子、他。日本小児科学会雑誌 1996.]、さらに全国調査を行い、その臨床像が心不全、不整脈や塞栓症など極めて多彩であることを報告した [Ichida et al. Am J Coll Cardiol 1999]。また、心筋緻密化障害には遺伝的多様性があり、その発症には、Barth 症候群に見られる G4.5 (TAZ) 遺伝子の他 [Chen et al, Mol Genet Metab, 2002]、Dystrobrevin 遺伝子 (DTNA) 変異 [Ichida et al. Circulation 2001]、や細胞骨格蛋白関連遺伝子である cypher/ZASP (LDB3) など数多くの遺伝子が関与していることを明らかにした [Xing et al, Mol Genet Metab, 2002]。しかしながら、これらの既知の遺伝子異常が認められる例は、10%未満に過ぎず、他にも多数の遺伝子が原因となっている可能性が高い [Ichida. Circ J 2009]。

2. 研究の目的

心筋緻密化障害 noncompaction of ventricular myocardium は、心室壁の過剰な網目状の肉柱形成と深い間隙を特徴とした心筋症で、難治性心不全や突然死の原因となる疾患である。2006年のAHA分類でも遺伝的要素の強い primary cardiomyopathy として分類されているが、これまでの我々の研究では、既知の TAZ, LDB3 や DTNA の遺伝子変異が認められる割合は 10%未満で

あり、他の多数の遺伝子の関与が強く疑われた。そこで、肥大型心筋症や拡張型心筋症にみられるサルコメア遺伝子異常に着目した。本研究の目的は、心筋緻密化障害の臨床遺伝学的研究の集大成として、サルコメア遺伝子の網羅的解析を行い、発症への関与を明らかにすることである。そして、遺伝子異常が、他の心筋症とは異なるサルコメア蛋白の機能異常を引き起こし、特異な病態を引き起こしていることを立証することである。

最近、成人を中心とした心筋緻密化障害の遺伝子解析では、これまで肥大型心筋症や拡張型心筋症の原因遺伝子と考えられていたサルコメア蛋白の遺伝子異常が報告され、サルコメア蛋白が胎児心筋の発達過程で重要な役割を果たしている可能性が示唆された [Klaassen S, et al. Circulation 2008]。心筋緻密化障害の成人例では、サルコメア遺伝子異常が主体で、TAZ, LDB3 などの小児でみられる遺伝子変異はまれで、原因遺伝子に差が見られる。著者らは、最近、小児の運動時突然死の家系の検索で、TPM1 遺伝子変異のある心筋緻密化障害の一家系を報告し、サルコメア遺伝子は、小児においても重要な原因遺伝子であることを明らかにした [Chang B, et al. Mol Genet Metab 2011]。これまで、サルコメア遺伝子異常は、肥大型心筋症では、10種の遺伝子に550種の遺伝子変異が、拡張型心筋症では10種の遺伝子に52種の遺伝子変異、心筋緻密化障害では4種の遺伝子に17種の遺伝子変異が報告されている。同様のしかし同一ではないサルコメア遺伝子異常が異なる心筋症 phenotype の原因となっていることは、これらの心筋症の発生学的な連続性を示唆している可能性がある。実際に、肥大型心筋症と心筋緻密化障害の overlapping phenotype も報告されている [Kelley-Hedgepeth A, et al. Circ 2009]。また、

これらの異なるサルコメア遺伝子異常は、異なるサルコメア機能異常をきたし、異なる病態の心筋症を発症するメカニズムが推測されている [Kimura A, et al. J Hum Genet 2010]. そこで、我々は、心筋緻密化障害において、サルコメア遺伝子異常が、肥大型心筋症や拡張型心筋症と異なるサルコメアの機能異常をきたし、特異な病態を引き起こしているかと仮定した。

3. 研究の方法

心筋緻密化障害の発症におけるサルコメア遺伝子の網羅的解析を行い、発症への関与を明らかにすることである。そして、遺伝子異常が関与する心筋細胞の伸展性や Ca 感受性などの機能異常を検討する。そして、他の心筋症とは異なるサルコメア蛋白の機能異常を引き起こし、特異な病態を引き起こしていることを立証することで

- 1) 大規模な全国調査を行い、小児期発症の心筋緻密化障害の臨床像、他の心筋症を含めた家族歴について検討を行う。
- 2) 承諾が得られた症例では、サルコメア遺伝子変異に関しスクリーニングを行う。対象となる遺伝子は、*MYH7*; β -myosin heavy chain, *ACTC*; α -cardiac actin, *MYBPC*; myosin binding protein C, *TPM1*; α -Tropomyosin, *TNNT2*; cardiac troponin T, *TNNI3*; troponinI である。特に、これまで肥大型心筋症や拡張型心筋症で報告されている遺伝子変異の頻度、種類に関し比較検討を行う。また、正常対照 500 例での遺伝子多型のスクリーニングを行い、心筋緻密化障害患者との比較検討を行う。
- 3) 心筋緻密化障害では、同一家族内でも表現型に差が見られることから、承諾が得られた場合には、家族に関してもサルコメア遺伝子異常に関しスクリーニングを行う。
- 4) サルコメア遺伝子変異のある群とない群で、心筋緻密化障害の重症度や臨床経過

の比較を行う。

5) 発見されたサルコメア遺伝子変異が、サルコメア蛋白の機能にどのような影響を与えているか、心筋細胞の伸展性やCa感受性などを検討し、他の心筋症での機能異常と比較検討する。

6) 米国シンシナチ小児病院、Jeffrey A Towbin 小児科教授との共同研究を進め、米国と本邦の臨床像および遺伝子解析結果の人種による差異について明らかにする。

4. 研究成果

これまでの我々の研究では、既知の TAZ, LDB3 や DTNA の遺伝子変異が認められる割合は 10%未満であり、他の多数の遺伝子の関与が強く疑われた。そこで、肥大型心筋症や拡張型心筋症にみられるサルコメア遺伝子異常に着目した。本研究の目的は、心筋緻密化障害の臨床遺伝学的研究の集大成として、サルコメア遺伝子の網羅的解析を行い、発症への関与を明らかにすることである。そして、遺伝子異常が、他の心筋症とは異なるサルコメア蛋白の機能異常を引き起こし、特異な病態を引き起こしていることを立証することである。日本人 LVNC 患者 82 名を対象に、サルコメア遺伝子 7 種 (*MYH7*, *MYBPC3*, *TNNI3*, *TNNT2*, *TNNC1*, *TPM1*, *ACTC1*) を direct sequence 法で解析し、遺伝子変異の臨床的意義を検討した。82 名中 23 名 (28%) で、5 遺伝子 (*MYH7*, *MYBPC3*, *TNNC1*, *TPM1*, *ACTC1*) に 24 変異が検出され、そのうち新規は 17 変異 (71%) と高率であった。変異は *MYH7* (11) と *MYBPC3* (7) で全体の 75% を占め、*TNNC1* (1), *TPM1* (3), *ACTC1* (2) では少数であった。遺伝子変異の有無では予後に有意差は認められなかったが、複数変異あるいは稀な *TNNC1*, *TPM1*, *ACTC1* 遺伝子変異は予後不良因子であった。LVNC 患者のサルコメア遺伝子の解析が、予後の予測お

よび適切な治療介入の一助となる可能性が示唆された。

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 9件)

- 1) Hata Y, Mori H, Tanaka A, Fujita Y, Shimomura T, Tabata T, Kinoshita K, Yamaguchi Y, Ichida F, Kominato Y, Ikeda N, Nishida N. Identification and characterization of a novel genetic mutation with prolonged QT syndrome in an unexplained postoperative death *Int J Legal Med* 2014;128:105-15
- 2) Horie A, Ishida K, Shibata K, Taguchi M, Ozawa A, Hirono K, Ichida F, Hashimoto Y. Pharmacokinetic variability of flecainide in younger Japanese patients and mechanisms for renal excretion and intestinal absorption *Biopharm Drug Dispos.* 2014;35:145-53.
- 3) Hirono K, Sekine M, Shiba N, Hayashi S, Nakaoka H, Ibuki K, Saito K, Watanabe, K, Ozawa S, Higuma T, Yoshimura N, Kitajima I, Ichida F. N-terminal pro-Brain Natriuretic Peptide as a Predictor of Reoperation in Children With Surgically Corrected Tetralogy of Fallot *Circ J* 2014;78:693-700
- 4) Yamaguchi Y, Nishide K, Kato M, Hata Y, Mizumaki K, Kinoshita K, Nonobe Y, Tabata T, Sakamoto T, Kataoka N, Nakatani Y, Ichida F, Mori H, Fukurotani K, Inoue H, Nishida N. Glycine/serine polymorphism at position 38 influences KCNE1 subunit's modulatory actions on rapid and slow delayed rectifier K⁺ currents *Circ J.* 2014;78:610-8
- 5) Kinoshita K, Komatsu T, Nishide K, Hata Y, Hisajima N, Takahashi H, Kimoto K, Aonuma K, Tsushima E, Tabata T, Yoshida T, Mori H, Nishida K, Yamaguchi Y, Ichida F, Fukurotani K, Inoue H, Nishida N. A590T mutation in KCNQ1 C-terminal helix D decreases IKs channel trafficking and function but not Yotiao interaction. *J Mol Cell Cardiol.* 2014;72:273-80
- 6) Neil E. Bowles, Cammon B. Arrington, Yin Shen Wee, Keiichi Hirono, Tsuneyuki Nakamura, Fukiko Ichida, John H. Weis. Kawasaki disease-patients homozygous for the rs12252-C variant of Interferon-induced transmembrane protein-3 are significantly more likely to develop coronary artery lesions *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 2014;2:356-61
- 7) Yukiko Hata, Koshi Kinoshita, Kazushi Miya, Keiichi Hirono, Fukiko Ichida, Koji Yoshida, Naoki Nishida. An autopsy case of infantile-onset vanishing white matter disease related to an *EIF2B2* mutation (V85E) in a hemizygous region *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7:3355-62
- 8) Kohno H, Ichida F, Hirono K, Ozawa S, Yoshimura N, Nakamura T, Akita C, Ishida K, and Taguchi M. Plasma Concentrations of Tadal

afil in Children With Pulmonary Arterial Hypertension. *Ther Drug Monit* 2014;36:576-83

- 9) Hirono K, Hata Y, Nakaoka H, Ibuki K, Ozawa S, Yoshida T, Aoki M, Higuma T, Yoshimura N, Nishida N, Ichida F. Familial Ebstein Anomaly, Left Ventricular Noncompaction, and Ventricular Septal Defect Associated With a MYH7 Mutation. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2014 Nov;148(5):e223-6.

〔学会発表〕(計 8 件)

1. Ichida F. Invited Lecture. Insights into etiology and pathogenesis of childhood cardiomyopathy. The 5th Congress of the Asia Pacific Pediatric Cardiology Society Mar7-9, 2014, New Delhi
2. Ichida F. Invited Lecture. Genetic Abnormalities in Myocardial Development&Ventricular Noncompaction. The Korean Cardiology-Related Societies Joint Scientific Congress. April 18-19, 2014, Gwangju, Korea
3. Ichida F. Invited Lecture. Pulmonary Hypertension in Adult Congenital Heart Disease. The Korean Cardiology-Related Societies Joint Scientific Congress. April 18-19, 2014, Gwangju, Korea
4. Neil E. Bowles, Cammon B. Arrington, Yin Shen Wee, Keiichi Hirono, Tsuneyuki Nakamura, Fukiko Ichida, John H. Weis. The rs12252-C Variant of Interferon-Induced

Transmembrane Protein-3 Is Associated With Coronary Artery Lesions in Patients With Kawasaki Disease. PAS/ASPR 2014, May 4, 2014, Vancouver

5. Ookuma Y, Ichida F. Serum tenascin-C is a potential marker for active inflammation in patients with Kawasaki disease 2014 PAS/ASPR Joint Meeting Vancouver, Canada May 3-6, 2014
6. Hirono K, Nakaoka H, Ibuki K, Ozawa S, Ichida F. BMP10 involved in the induction of left ventricular noncompaction via BMP receptors. 10th International BMP Conference, Berlin, 2014.9.18
7. Asami Takasaki, Yukiko Hata, Keiichi Hirono, Hideyuki Nakaoka, Keiji Ibuki, Sayaka Ozawa, Naoki Yoshimura, Naoki Nishida, Fukiko Ichida. Sarcomere gene mutations in left ventricular noncompaction. The 87th Scientific sessions of AHA 2014, Chicago, 2014.11
8. Hashimoto I, Watanabe K, Ibuki K, Ichida F. Feasibility of single beat three-dimensional echocardiography for analysis of right ventricular systolic function in neonatal heart. The 87th Scientific sessions of AHA 2014, Chicago, 2014.11

〔図書〕(計 11 件)

- 1) 市田 路子：先天性心疾患の低酸素発作 『今日の治療指針 2014 年版』 医学書院, 東京 2014, p1246-1247
- 2) 市田 路子：先天性心疾患（内科） 『今日の治療指針 2014 年版』 医学書院, 東京 2014, p411-412

- 3) 市田蒞子: パリビズマブ投与の意義 小児循環器科の立場から 楠田 聡編『RSウイルス感染症×パリビズマブ Data Book』 2014, p50-51 メディカルビュー社 大阪
- 4) 市田蒞子: 肥大型心筋症 小児の治療指針 井田博幸編『小児科診療 増刊号』 診断と治療社、東京 2014, p369-370
- 5) 市田蒞子: 拡張型心筋症 小児の治療指針 井田博幸編『小児科診療 増刊号』 診断と治療社、東京 2014, p371-372
- 6) 市田蒞子: 拡張型心筋症 『先天性心疾患』 中澤誠編、メディカルビュー社、東京 2014, p378-384
- 7) 市田蒞子: 肥大型心筋症 『先天性心疾患』 中澤誠編、メディカルビュー社、東京 2014, p385-396
- 8) 市田蒞子: 心筋緻密化障害 『先天性心疾患』 中澤誠編、メディカルビュー社、東京 2014, p397-403
- 9) 市田蒞子: 心筋緻密化障害 『小児内科増刊号 病態生理 I』 五十嵐隆他編、東京医学社、東京 2014, p 432-437
- 10) 市田蒞子: 遺伝子異常、染色体異常『成人先天性心疾患』 丹羽公一郎編 メディカルビュー社、東京 2014, p8-12
- 11) 廣野恵一、市田蒞子 インフリキシマブ療法. 『川崎病のすべて』石井正浩編、中山書店、東京 2014, p112-115

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)
取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

市田蒞子 (Ichida, Fukiko)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
准教授
研究者番号: 30223100

(2) 研究分担者

小澤綾佳 (Ozawa, Sayaka)
富山大学・大学病院・診療助手
研究者番号: 40596540

(3) 研究分担者

斉藤和由 (Saito, Kazuyoshi)
富山大学・大学病院・助教
研究者番号: 30566097

(4) 研究分担者

畑 由紀子 (Hata, Yukiko)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
助教
研究者番号: 30311674

(5) 研究分担者

西田 尚樹 (Nishida, Naoki)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
教授
研究者番号: 10315088

(3) 連携研究者 なし