

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461073

研究課題名(和文) 拡張型心筋症の診断における心内膜心筋生検の有用性の検討

研究課題名(英文) Usefulness of endomyocardial biopsy for the diagnosis of dilated cardiomyopathy

研究代表者

河野 浩章 (KAWANO, Hiroaki)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・准教授

研究者番号：30325659

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：拡張型心筋症は、難治性疾患で、その原因も多様であり正確な診断は容易ではない。その診断における心内膜心筋生検による病理診断の有用性と、治療選択への応用の可能性について、光学顕微鏡、免疫染色、電子顕微鏡および遺伝子解析も含め検討した。

通常の染色に加え、心筋蛋白の異常を免疫染色で評価することにより、不整脈原性右室心筋症などの診断をより正確に行うことができる。また、電子顕微鏡により心筋サルコメアの微細な傷害を確認することで、拡張型心筋症の病態を解明できる。また、これらの所見と臨床像から必要な遺伝子解析を行うことで、ラミン心筋症などの診断も可能となる。これらのデータが今後の治療選択に有用である。

研究成果の概要(英文)：Dilated cardiomyopathy (DCM) is a refractory disease whose diagnosis is not easy because its causes are various. We studied about usefulness of endomyocardial biopsy for the diagnosis of dilated cardiomyopathy. Immunostaining of myocardial structural proteins makes the diagnosis of specific cardiomyopathy such as arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. We are able to investigate the pathogenesis of DCM by evaluation of sarcomere structure using electron microscopy. Moreover, necessary gene analysis in addition to pathological diagnosis and clinical characteristics allows us to diagnosis lamin cardiomyopathy. Finally, those data is useful for the selection of therapy for several type of DCM.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心筋症 心筋生検 免疫染色 電子顕微鏡

1. 研究開始当初の背景

(1) 臨床的に心室が拡大し収縮能低下を生じ拡張型心筋症と診断される症例が多くみられるが、その原因は多岐にわたり、病理組織所見も非特異的であり、病理診断での拡張型心筋症の正確な診断には限界がある。また、MRIなどの画像診断も進歩し、侵襲的な生検による病理診断の必要性も変化してきている。しかし、近年、分子生物学的手法の進歩に伴い、新しい心血管病の診断が可能となり、拡張型心筋症のいくつかの病態が明らかになってきている。すなわち、サルコメアタンパクの異常以外に、細胞膜タンパクの異常(ジストロフィン)、核膜タンパクの異常(Lamin A/C)、デスモゾームタンパクの異常(プラコグロビン)などが拡張型心筋症病態の原因であることがわかってきた。これに伴い、ヨーロッパ心臓血管病理協会より、これらの病理診断を含め心内膜心筋生検のコンセンサスが発表された。これに基づいて、免疫染色などを使用した場合に、過去の症例を含め、どれくらいの頻度で見られるかを検討し、これらの手法を施行した場合の心内膜心筋生検の有用性について検討する。

(2) また、薬物治療抵抗性の心不全に対する治療として、心室再同期療法、左室形成術および僧帽弁形成術などの手術などが施行されるようになってきたが、これらの治療法が、すべての症例に有効であるとは限らず、最終的には心移植に頼らざるを得ない状況もある。しかし、心移植は年齢制

限やドナーの数による制限などがあるため、すべての重症心不全患者に適応することは不可能である。近年、植え込み型を含め小型化し外出や帰宅を可能にした補助人工心臓も開発されたことにより、今後、心室再同期療法や心不全に対する前述の外科手術を施行することなく直接補助人工心臓を使用することも考慮される。この場合、どの症例にどのような治療がよいかを科学的に評価するはっきりとした基準がない。このため、各治療後の予後調査を新たに行い、心内膜心筋生検による所見を評価し、病理学的指標が治療選択に対し有用であるかについて検討する。

2. 研究の目的

(1) 診断についての検討：拡張型心筋症は、難治性疾患であり、その原因も多様であり、正確な診断は容易ではない。病理診断の心内膜心筋生検の拡張型心筋症の診断についての有用性

(2) 薬物治療抵抗性の拡張型心筋症に対する治療選択についての有用性の検討：治療選択への応用の可能性について検討することとした。

3. 研究の方法

(1) 診断についての検討

対象は、拡張型心筋症と臨床的に診断し、心内膜心筋生検を施行し、心筋炎やサルコイドーシスなど特異的疾患の診断がされず、拡張型心筋症と診断された症例100例。方法：これらの症例について、病歴・経過の検討を施行。切片作成を追加し、ヨ

ヨーロッパ心臓血管病理協会より心内膜心筋生検のコンセンサスに基づいて以下の疾患を検討するために、それぞれの抗体を使用して免疫染色を施行（ジストロフィン心筋症、ジストロフィン染色；ミトコンドリア心筋症、凍結切片において succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase 染色；ラミン A/C 関連心筋症、ラミン A/C 染色；不整脈源性右室心筋症の左室病変、プラコグロビン染色）。これらの疾患とそうでない拡張型心筋症での組織学的相違を光学顕微鏡的および電子顕微鏡的に比較検討。また、これらの病理学的検討で、ジストロフィン心筋症、ラミン A/C 関連心筋症、不整脈源性右室心筋症などが疑われた場合は、可能であれば遺伝子検査で確定診断。

(2) 薬物治療抵抗性の拡張型心筋症に対する治療選択についての有用性の検討：心臓再同期療法症例での検討；対象は当科で、薬物治療を施行しても心不全がコントロールできず、心臓再同期療法を施行し、2年以上経過観察できた症例40例。その後心不全が改善したレスポナー例と、効果に乏しかったノンレスポナー例に分けて、診断時に施行されている心内膜心筋生検標本を用いて、病理所見を比較検討。さらに上記免疫染色を施行し、特定できる疾患が含まれている頻度を検討。心臓再同期療法の治療選択について、病理検査の有用性について検討。左室形成術や僧帽弁形成術症例での検討；対象は当院心臓血管外科で、薬物治療を施行しても心不全がコントロールできず、左室形成術または僧帽弁形成術を施行した症例10例。方法；その後心不全が改善した例と、効果に乏しかった例に

分けて、診断時に施行されている心内膜心筋生検標本および手術での切除標本を用いて、病理所見を比較検討。さらに上記免疫染色を施行し、特定できる疾患が含まれている頻度を検討。左室形成術や僧帽弁形成術の治療選択について病理検査の有用性について検討した。

4. 研究成果

(1) 診断についての検討

ジストロフィン心筋症およびミトコンドリア心筋症は症例がなく検討できなかった。不整脈源性右室心筋症(ARVC)については、心筋のプラコグロビンの発現はコントロール群の発現と比較し有意に低下していた(図1)。さらに、プラコグロビンとコネキシン43の発現により、Type A(ともに正常)、Type B(プラコグロビンのみ低下)、Type C(ともに低下)に分けられ(図2)、ARVCの診断に有用であるが、完全なマーカーにはならないことが判明した。また、ARVCではプラコグロビンとコネキシン43の発現低下が、心筋の線維脂肪変性ではなく持続性心室頻拍と関連があった(表1)。このことより、心筋生検標本を用いたプラコグロビンとコネキシン43の免疫染色は、ARVCの診断の補助と病態の把握に有用であると思われる。

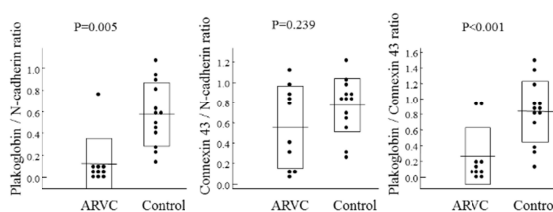


図1 ARVC とコントロールでのプラコグロビンとコネキシン43の発現の比較

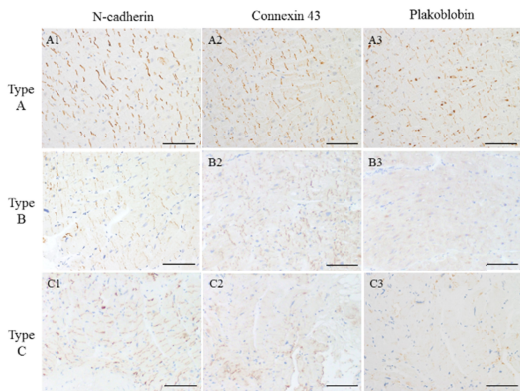


図 2 心筋でのプラコグロビンとコネクシン 43 発現のタイプ

	Type B (n=4)	Type C (n=5)	P values
Sustained VT	1 (25%)	5 (100%)	0.048
Fibrofatty replacement	2 (50%)	2 (40%)	0.643

VT, ventricular tachycardia.

表 1 ARVC での心筋線維脂肪変性と持続性心室頻拍と心筋でのプラコグロビンとコネクシン 43 発現低下の関係

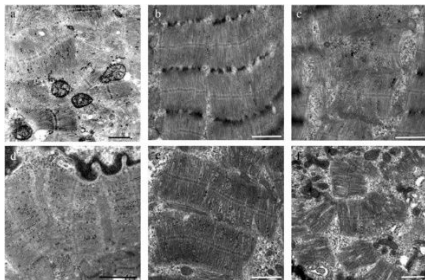


図 3 Noonan 症候群の心筋電顕写真

肥大型心筋症病態を呈し Noonan 症候群の拡張相肥大型心筋症に移行した 1 症例についての心筋生検および病理解剖の光学顕微鏡および電子顕微鏡による検討より、心筋サルコメアの Z 帯の異常が錯綜配列形成に関与し (図 3)、Z 帯の断裂によるサルコメアの断片化が拡張相に移行するのではないかと思われる (図 4)。現在、通常の拡張相

肥大型心筋症でこの所見が見られるかを検討中である。

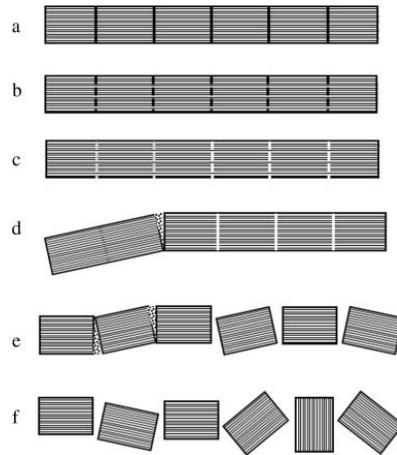


図 4 z 帯の断裂によるサルコメアの断片化

また、拡張型心筋症の中から、遺伝子診断によりラミン心筋症 4 例 (3 家系) を診断できた。これらの症例では、心筋生検の光学顕微鏡による検討で、心筋細胞核の変形がみられ、電子顕微鏡では、心筋細胞の核膜に形態異常を認めたことより、形態学的にある程度の診断は可能と思われるが、光学顕微鏡での所見は、ラミン心筋症以外の拡張型心筋でもある程度心筋細胞の核の形態異常がみられ、それだけで完全に診断するのは難しいと思われた。このため、そのうち、1 家系は新規の遺伝子異常の兄弟例であり、不整脈が主体で発症しその後拡張型心筋症に変化していく病態を呈した。

さらに、拡張型心筋症の病態を呈する疾患に、カテコラミン心筋症がある。今回、そのような症例を 1 例経験したが、心筋細胞の変性とそれに伴う細胞浸潤を認め、拡張型心筋症とは異なる病理所見であった。

(2) 薬物治療抵抗性の拡張型心筋症に対

する治療選択についての有用性の検討

心臓再同期療法症例での検討では、その治療が有用であった症例はそうでない症例より心筋傷害の程度が軽い傾向がみられ、特に線維症の程度に差がみられ、現在詳細に検討中である。このことより、心筋生検は、その治療の有用性を予測するのに有用な評価方法の一つである可能性がある。また、左室形成術や僧帽弁形成術症例での検討においても、その有効性は、心筋傷害の程度や原疾患によることが大きく影響していることが推定された。

以上より、心筋生検は、拡張型心筋症の診断、病態解明および、治療選択に有用である可能性が示唆された。

< 引用文献 >

Leone O, Veinot JP, Angelini A, Baandrup UT, Basso C, Berry G, Bruneval P, Burke M, Butany J, Calabrese F, d'Amati G, Edwards WD, Fallon JT, Fishbein MC, Gallagher PJ, Halushka MK, McManus B, Pucci A, Rodriguez ER, Saffitz JE, Sheppard MN, Steenbergen C, Stone JR, Tan C, Thiene G, van der Wal AC, Winters GL. 2011 consensus statement on endomyocardial biopsy from the Association for European Cardiovascular Pathology and the Society for Cardiovascular Pathology. *Cardiovasc Pathol* 2012; 21: 245-274

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

Miura M, Kawano H, Yoshida T, Yamagata Y, Nakata T, Koga S, Ikeda S, Kageyama K, Abe K, Maemura K. Histological Features of

Biopsied Myocardium in a Patient with the Acute Phase of Reversible Catecholamine-induced Cardiomyopathy due to Pheochromocytoma. *Internal Med.* 査読有、2017;56:665-671

DOI: 10.2169/internalmedicine.56.7454

Kawano H, Kawamura K, Ishijima M, Hayashi T, Abe K, Kawai K, Maemura K. Myocardial fragmentation associated with disruption of the Z-band in hypertrophic cardiomyopathy in Noonan syndrome. *Cardiovasc Pathol.* 査読有、2016 ;25:329-332

DOI:10.1016/j.carpath.2016.05.001

Yoshida T, Kawano H, Kusumoto S, Fukae S, Koga S, Ikeda S, Koide Y, Abe K, Hayashi T, Maemura K. Relationships between clinical characteristics and decreased plakoglobin and connexin 43 expressions in myocardial biopsies from patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Int Heart J.* 査読有、2015 ;56:626-631.

DOI: 10.1536/ihj.15-144

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他] なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

河野 浩章 (KAWANO, Hiroaki)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)

准教授

研究者番号 30325659

(2) 研究分担者

蒔田 直昌 (MAKITA, Naomasa)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学

系) ・教授

研究者番号 00312356

(3) 連携研究者

前村 浩二 (MAEMURA, Koji)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学

系) ・教授

研究者番号 90282649

福岡 順也 (FUKUOKA, Junya)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系) ・

教授

研究者番号 00324575

安倍 邦子 (ABE, Kuniko)

長崎大学・病院 (医学系) ・准教授

研究者番号 00253641

江石 清行 (EISHI, Kiyoyuki)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系) ・教授

研究者番号 20167290