

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08493

研究課題名(和文)"心臓側の沈着促進因子"同定による、心アミロイドーシスの新規治療法開発

研究課題名(英文)Development of novel therapy for cardiac amyloidosis by identifying transthyretin-derived amyloid fibril deposition promoting factor

研究代表者

泉家 康宏(Izumiya, Yasuhiro)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：10515414

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):トランスサイレチン型アミロイドーシス患者において心臓病変の発症機序は不明である。本研究では心臓自体にトランスサイレチンの沈着を促進する変化があるのではないかと仮説を立て、心筋生検サンプルを網羅的に解析することでアミロイド沈着促進因子の同定を試みた。肥大型心筋症患者の心筋生検サンプルをコントロールとして遺伝子発現レベルを次世代シーケンサーで検出した。392個の遺伝子がトランスサイレチン型心アミロイドーシスで2倍以上に増加し、309個の遺伝子が2倍以上に低下していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全の基礎疾患として野生型トランスサイレチンアミロイドーシス(wild-type transthyretin amyloidosis: ATTRwt)が予想以上に多いことが明らかになってきた。これまでのATTRwtに対する治療法は、沈着物質となるトランスサイレチンを標的とするものが多く、沈着臓器である心臓側から見た治療法の開発は皆無であった。本研究により、トランスサイレチン由来のアミロイド線維が沈着しやすい心臓の遺伝子発現が明らかとなった。これらの遺伝子の機能解析を進めることで、新しい側面から見たATTRwtの治療法の開発に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文):The mechanism of the onset and progression of transthyretin cardiac amyloidosis (ATTR-CA) is still unknown. In this study, we compared gene expression profile in endomyocardial biopsy samples obtained from patients with ATTR-CA and hypertrophic cardiomyopathy (HCM) by next-generation sequencing. There were 392 genes, including adhesion molecules, were upregulated in endomyocardial biopsy samples derived from ATTR-CA compared with HCM. On the other hand, there were 309 genes, including inflammatory cytokine receptor heat shock proteins, were downregulated in cardiac sample derived from ATTR-CA compared with HCM. These alteration in gene expression might involved in the onset and progression of ATTR-CA.

研究分野：循環器内科

キーワード：心アミロイドーシス 遺伝子発現 心筋生検

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会へ突き進む我が国において、心不全患者は今後も増加することが予想され、昨今その現象は「心不全パンデミック」と称されている。高齢者心不全患者の約半数は、左室駆出率が維持された心不全 (Heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF) であることが明らかとなってきた。現在のところ HFpEF の予後を改善する事が証明された薬剤は極めて限定されている。HFpEF の基礎疾患には高血圧性心疾患、心筋症、弁膜症など様々な要因が混在しており、画一的な薬物療法が HFpEF 全体の予後を改善できる可能性は低いと考えられる。HFpEF の予後改善には基礎疾患の正確な鑑別と、それぞれに対する適切な介入が必須である。

近年、HFpEF の基礎疾患としてこれまで希少疾患と考えられていた心アミロイドーシス、その中でも特に従来“老人性アミロイドーシス”と呼ばれてきた野生型トランスサイレチンアミロイドーシスの占める割合が予想以上に多いことが明らかになってきた。HFpEF 患者、連続 120 症例に対しトランスサイレチン (TTR) に親和性が高いカルシウムを検出する 99mTc-DPD シンチを施行したところ、驚くべきことに 13% がトランスサイレチン型心アミロイドーシスによる心アミロイドーシスが基礎疾患であることがわかった。トランスサイレチン型心アミロイドーシスによる心アミロイドーシスの予後は、多発性骨髄腫のような血液疾患に続発する AL アミロイドーシスと比較して良好であると言われてきたが、患者の半数は診断から 3.5 年で死亡すると報告されており、対症療法のみならず、原因療法の開発が求められてきた。

TTR は 4 量体を形成し血中に存在するが、この 4 量体が解離・重合しアミロイド線維を形成し臓器に沈着する。トランスサイレチン型心アミロイドーシスは加齢に伴い解離した TTR が臓器に沈着し発症する。これまでトランスサイレチン型心アミロイドーシスは原因治療法の無い疾患であったが、近年トランスサイレチン安定化剤など新規治療薬の開発が進み、トランスサイレチン型心アミロイドーシス患者の予後を改善できる可能性が示されている。これまでのトランスサイレチン型心アミロイドーシスに対する治療法の開発は、TTR を治療標的とするものが主であり、受け手側である心臓の環境因子に関する研究は皆無である。“アミロイドーシス診療ガイドライン”を参照しても、現時点ではトランスサイレチン型心アミロイドーシスの原因は“組織の老化がアミロイド沈着を促進する”と記載があるのみである。どのような心臓にトランスサイレチン型心アミロイドーシスが沈着しやすいのか？沈着を促進する心臓側の因子は何なのか？その因子は制御可能なのか？という問いを明らかにすることができれば、患者の早期発見や病態進行の予測のみならず、全く新しい側面から見たトランスサイレチン型心アミロイドーシスによる心アミロイドーシスの治療介入へ繋がると考えられる。

2. 研究の目的

トランスサイレチン由来アミロイド線維の“心臓側の沈着促進因子”を同定しその制御によるトランスサイレチン型心アミロイドーシスの新規治療法を探索すること。

3. 研究の方法

大阪市立大学循環器内科では左室肥大があり心筋症を疑われた患者は、心臓カテーテル検査時に全例心筋生検を施行している。どのような心臓に TTR が沈着しやすいのか？TTR 沈着を促進する心臓側の因子は何なのか？という本研究課題の核心をなす学術的「問い」を明らかにするため、心筋生検組織の mRNA 発現を次世代シーケンサーにて網羅的に解析した。年齢をマッチ

させたトランスサイレチン型心アミロイドーシス群と非トランスサイレチン型心アミロイドーシス群（肥大型心筋症患者群）で比較検討を行った。

4. 研究成果

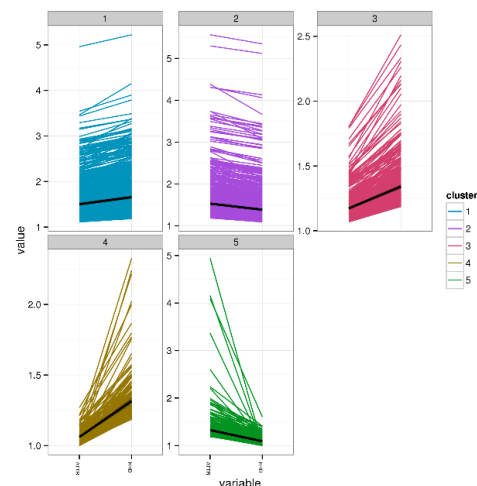
2019年度～2021年度の間到大阪市立大学医学部附属病院に心筋症疑いで入院となった患者のうち、心筋生検を施行し27例の心アミロイドーシス患者の確定診断に至った。確定診断はコンゴレッド染色のみならず、TTR免疫染色とTTR遺伝子検査を併用して行った。患者の平均年齢は80.6歳、BMIは23.7kg/m²であった。心不全マーカーであるBNPは217.0 pg/mL、高感度トロポニンTは0.073 ng/mlと上昇を認めた。心エコーでは左室拡張/収縮末期径は44.3/30.6 mm、左室駆出率は50.6%と保持されていたが、拡張能の指標であるE/e'は27.5と著明な上昇を呈し、左心房容積係数は39.8ml/m²と上昇を認めた。心肺運動負荷試験では嫌気性代謝閾値は11.9 ml/kg/min、最大酸素摂取量は16.2 ml/kg/minと運動耐容能の低下を認め、VE/VC02 slopeは33.8と上昇を認め換気血流不均等が示唆された。

これらの確定診断されたトランスサイレチン型心アミロイドーシス患者と年齢・性別を合わせたコントロール群として肥大型心筋症患者の心筋生検サンプルからmRNAを抽出した。抽出したmRNA検体は、濃度、量、質に問題が無いことを確認しLibrary調製のステップに進んだ。グループ間で発現レベルに差のある遺伝子を次世代シーケンサーで検出を行った。

これらの遺伝子発現データをもとに、クラスタリング解析とGO解析を行った（右図）。トランスサイレチン型心アミロイドーシス群で発現が増加したCluster 2では32個（Biological processes: 20、Cellular components: 6、Molecular functions: 6）のGO termが、Cluster 5では12個（Biological processes: 6、Cellular components: 3、Molecular functions: 3）のGO termがリストアップされた。

発現量が解析可能レベル以上に保持された遺伝子のうち、392個の遺伝子がトランスサイレチン型心アミロイドーシスで2倍以上に増加していた。ストレス状態において心筋細胞で活性化される転写因子であるankyrin repeat domain 1の発現が最も上昇しており（11.8倍）、心筋細胞の構成成分であるtroponin I type 1も約5倍の上昇を認めた。TGF- β との相互作用を介してコラーゲンの恒常性維持に寄与するThrombospondin 1もトランスサイレチン型心アミロイドーシス群で3.2倍上昇を認めた。一方、炎症性サイトカイン受容体やヒートショックプロテインなどを含む309個の遺伝子が2倍以上に低下していた。抗腫瘍作用を有する分泌タンパクであるMAM domain containing 2の発現はトランスサイレチン型心アミロイドーシス群で肥大型心筋症群の19%に、Connective tissue growth factorは33%に低下していた。

トランスサイレチン型心アミロイドーシス群で有意に発現が亢進していたThrombospondin 1は小胞体ストレスのエフェクターであるPERKと結合しオートファジーを促進し、病的負荷亢進時の心肥大制御に関与することが報告されている（Nat Commun. 2021）。今後、Thrombospondin 1の心筋組織での局在や血中濃度などを評価し、心エコーや心臓MRIなどの臨床データとの相関を検討し、トランスサイレチン型心アミロイドーシスの病態形成におけるThrombospondin 1の関与を明らかにする予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Ichikawa Y, Izumiya Y, Tamita K, Hayashi H, Ishikawa H, Shibata A, Yamamuro A, Yoshiyama M.	4. 巻 In press
2. 論文標題 Severe Obstructive Sleep Apnea is Associated with Coronary Microvascular Dysfunction and Obstruction in Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Izumiya Y, Hayashi H, Ishikawa H, Shibata A, Yoshiyama M	4. 巻 60
2. 論文標題 How to Identify Transthyretin Cardiac Amyloidosis at an Early Stage.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi T, Izumiya Y, Hayashi H, Ichikawa Y, Ishikawa H, Shibata A, Yamazaki T, Yoshiyama M.	4. 巻 In press
2. 論文標題 Successful treatment for a patient with chronic thromboembolic pulmonary hypertension comorbid with essential thrombocythemia with the JAK2 V617F mutation by balloon pulmonary angioplasty.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Respir Med Case Rep.	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa H, Izumiya Y, Shibata A, Ichikawa Y, Yamaguchi T, Yamaguchi Y, Kitada R, Iwata S, Ehara S, Tomita S, Hanatani A, Yoshiyama M.	4. 巻 35
2. 論文標題 Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor represents exercise tolerance and predicts adverse cardiac events in patients with heart failure.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heart Vessels.	6. 最初と最後の頁 681-688
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00380-019-01538-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Katayama H, Shibata A, Doi A, Ishikawa H, Tamura S, Yamaguchi Y, Matsuo M, Yoshiyama T, Tatsumi H, Iwata S, Ehara S, Izumiya Y, Yoshiyama M.	4. 巻 75
2. 論文標題 Successful catheter ablation improves exercise tolerance in persistent atrial fibrillation patients, especially those with reduced ventricular contraction, preserved atrial function, or a high CHADS2 score.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cardiol.	6. 最初と最後の頁 529-536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2019.10.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oda S, Nakaura T, Utsunomiya D, Hirakawa K, Takashio S, Izumiya Y, Tsujita K, Kawano Y, Okuno Y, Hata H, Matsuoka M, Yamashita T, Ueda M, Ando Y, Yamashita Y.	4. 巻 26
2. 論文標題 Clinical potential of dual-energy cardiac CT in cardiac amyloidosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Amyloid.	6. 最初と最後の頁 91-92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13506129.2019.1582021.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Marume K, Takashio S, Nishi M, Hirakawa K, Yamamoto M, Hanatani S, Oda S, Utsunomiya D, Shiraishi S, Ueda M, Yamashita T, Sakamoto K, Yamamoto E, Kaikita K, Izumiya Y, Yamashita Y, Ando Y, Tsujita K.	4. 巻 83
2. 論文標題 Combination of Commonly Examined Parameters Is a Useful Predictor of Positive 99 mTc-Labeled Pyrophosphate Scintigraphy Findings in Elderly Patients With Suspected Transthyretin Cardiac Amyloidosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ J.	6. 最初と最後の頁 1698-1708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-19-0255.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shibata A, Izumiya Y, Yamaguchi Y, Kitada R, Iwata S, Ehara S, Izumi Y, Hanatani A, Yoshiyama M.	4. 巻 8
2. 論文標題 Increased oxidative stress during exercise predicts poor prognosis in patients with acute decompensated heart failure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ESC Heart Fail.	6. 最初と最後の頁 3885-3893
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ehf2.13538.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida T, Shibata A, Tanihata A, Hayashi H, Yamaguchi Y, Kitada R, Ehara S, Izumiya Y, Yoshiyama M.	4. 巻 169
2. 論文標題 Thigh Intramuscular Fat on Prognosis of Patients With Nonischemic Cardiomyopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Am J Cardiol.	6. 最初と最後の頁 113-119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amjcard.2021.12.059.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Y, Shibata A, Yoshida T, Tanihata A, Hayashi H, Kitada R, Ehara S, Izumiya Y, Fukuda D	4. 巻 356
2. 論文標題 Epicardial adipose tissue volume is an independent predictor of left ventricular reverse remodeling in patients with non-ischemic cardiomyopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Cardiol.	6. 最初と最後の頁 60-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2022.03.051.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 心アミロイドーシスの心エコーによる早期診断
3. 学会等名 日本心エコー図学会第31回学術集会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 トランスサイレチン型心アミロイドーシスの最新の治療
3. 学会等名 第6回日本心筋症研究会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 ATTRwt心アミロイドーシスの最新の治療
3. 学会等名 第24回日本心不全学会学術集会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 心筋シンチグラフィによるトランスサイレチン型心アミロイドーシスの抽出
3. 学会等名 第24回日本心不全学会学術集会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 トランスサイレチン型心アミロイドーシスの的確な診断と最新の治療
3. 学会等名 日本心臓病学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 Guidelines in A New Era for Cardiac Amyloidosis
3. 学会等名 2021 TSOC Annual Scientific Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 Current diagnosis and treatment of Cardiac Amyloidosis in Japan
3. 学会等名 2021 TSOC Annual Scientific Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 アミロイドーシスにおける タファミジスメグルミンの是非
3. 学会等名 第69回 日本心臓病学会学術集会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 アミロイドーシスの診断と治療 up to date
3. 学会等名 第25回 日本心不全学会学術集会 教育講演 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 泉家康宏
2. 発表標題 Guideline on Diagnosis and Treatment of Cardiac Amyloidosis in Japan
3. 学会等名 2021 Annual Meeting of Society of Nuclear Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 泉家康宏	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 3
3. 書名 今日の治療指針	

1. 著者名 泉家康宏	4. 発行年 2021年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 6
3. 書名 心エコー	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------