

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17562

研究課題名(和文)冠微小血管障害に基づく新規拡張相肥大型心筋症診断指標の探索

研究課題名(英文) Exploratory research on a new histological diagnostic marker of end-stage hypertrophic cardiomyopathy

研究代表者

宮脇 大 (MIYAWAKI, HIROSHI)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：00838956

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：拡張相肥大型心筋症を、拡張型心筋症と鑑別することは、診断後の治療方針を決定する上で重要であるが、臨床的に困難な場合が多い。本研究では左室補助人工心臓植え込み時に採取された心筋病理検体を解析し冠微小血管障害の評価を行った。冠微小血管障害の程度は、両者で異なり、有用な鑑別指標となりうることを示された。血中トロポニンT値との関連も認められたことから、不明な点が多い拡張相肥大型心筋症の病態解明につながる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

拡張相肥大型心筋症は、診断後の予後が悪く、心臓移植治療を必要とする重症心不全の原因疾患の一つであるため早期に移植治療を見据えた治療方針をたてることが重要となるが、臨床現場では拡張型心筋症との鑑別が困難な場合も多い。今回、心筋病理を用いた新たな評価項目が鑑別診断につながる可能性が示されたことで、予後改善につながる適切な治療選択に寄与する可能性と、病理学的知見に基づく新たな病態解明につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Differentiating end-stage hypertrophic cardiomyopathy (ES-HCM) from dilated cardiomyopathy (DCM) is often difficult in clinical settings, in spite of its importance. We analyzed left ventricle specimens in ES-HCM and DCM patients who implanted a left ventricular assist device, making a quantitative assessment of coronary microvascular density. We found the difference of coronary microvascular rarefaction between ES-HCM and DCM, indicating the clinical utility as a possible clue in the differential diagnosis. Coronary microvascular rarefaction was also associated with serum levels of troponin T. These results will contribute to the next researches for the pathophysiology of ES-HCM.

研究分野：循環器

キーワード：拡張相肥大型心筋症 拡張型心筋症 重症心不全 冠微小血管障害

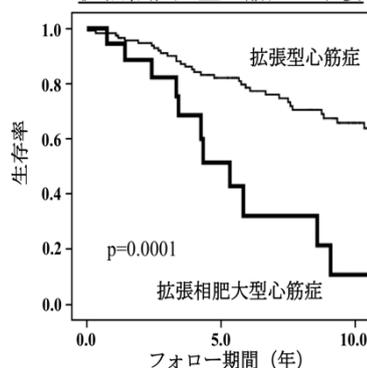
科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

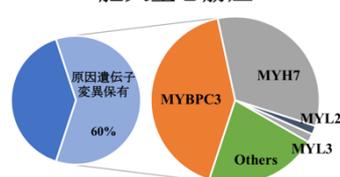
拡張相肥大型心筋症は、心臓移植治療を必要とする重症心不全の原因疾患の一つであり、本邦で心臓移植にいたった基礎疾患の12%が拡張相肥大型心筋症と報告されている (Circ J. 2016;80(1):44-50)。また、拡張型心筋症と比較して予後が悪いことが報告されており (Clin Cardiol. 2010 Jul;33(7):E24-8)、拡張相肥大型心筋症はその診断に至った時点で、早期に心臓移植を見据えた治療方針をたてる必要がある。しかしながら、現在の拡張相肥大型心筋症の確定診断には、過去の肥大型を画像的に捉えていることが必要であるため、確定診断に至らない症例が数多く見受けられる。拡張相肥大型心筋症の原因遺伝子変異は未だ確立されたものではなく、右図のように、肥大型心筋症と拡張型心筋症には原因遺伝子変異の保有率が異なると報告されている (Circ Res. 2017;121:749-770)。そこで、肥大型心筋症の原因遺伝子変異の検出が、拡張相肥大型心筋症の鑑別診断に有用であることを予備的検討にて示した。しかし、既知の原因遺伝子変異を保有しない症例については鑑別が困難であった。そこで、近年研究が進んでいる冠微小血管リモデリングによる冠微小血管障害に着目した。収縮能の保たれた心不全では、収縮能の低下した心不全と同様に、冠微小血管密度が低下しており (Circulation. 2015;131:550-559)、遺伝子変異の有無により冠微小血管障害の程度に差がある (Heart. 2014;100:806-813) との報告から、冠微小血管障害は過去の肥大型の存在を示している可能性があり、鑑別診断に有用な指標となる可能性が考えられた。また、各遺伝子変異が、どのような病理組織学的特徴と関連するのかを明らかにすることで、拡張相肥大型心筋症の病態解明につながるものと考えられた。

そこで、本研究では、冠微小血管障害に着目した病理組織学的指標は、拡張相肥大型心筋症と拡張型心筋症との鑑別に有用であり、遺伝子変異 (ジェノタイプ) と従来と異なる視点のフェノタイプである冠微小血管リモデリングとは関連しているとの仮説を立て、研究を行った。

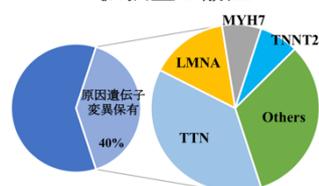
拡張相肥大型心筋症の予後



肥大型心筋症



拡張型心筋症



2. 研究の目的

- (1) 拡張相肥大型心筋症と拡張型心筋症の遺伝的背景に基づいた予後の検討。
- (2) 拡張相肥大型心筋症と拡張型心筋症を鑑別する、冠微小血管に着目した指標の探索。
- (3) 心筋症原因遺伝子変異と冠微小血管リモデリングの関連性の解明。

3. 研究の方法

(1) 2010年1月から2019年12月までに大阪大学医学部附属病院に入院し、全エクソーム解析を行った非虚血性心筋症 (左室駆出率 EF<50%) のうち、不整脈原性右室心筋症および二次性心筋症を除外した275例を研究対象とした。過去に左室最大壁厚15mm以上を心エコー図検査にて確認できた症例を、拡張相肥大型心筋症とした。予備的検討にて拡張相肥大型心筋症と拡張型心筋症との鑑別に有用と考えられたThick filamentに関連したHCMに特異的な遺伝子変異グループ (HCM genotype: MYH7 遺伝子のS1領域における変異、MYBPC3 遺伝子の truncating 変異、MYL2 遺伝子および MYL3 遺伝子の変異) に着目し、予後の検討を行った。予後に関しては、左室補助人工心臓 (LVAD) 装着、心臓移植術、心血管死亡の複合エンドポイントについて検討した。

(2) (3) 上記の研究対象症例のうち、LVAD 装着に至った症例を研究対象とした。冠微小血管障害の評価時期、および心筋における病理組織検体の取得位置により微小血管障害の程度における差異が生じる可能性を考慮し、LVAD 装着手術時に取得した、左室心尖部心筋検体を冠微小血管障害の評価対象とした。

【定義：冠微小血管障害】

血管内皮細胞で発現する CD31 に着目し、左室心尖部心筋組織検体を抗 31 抗体で免疫染色を行い、定量評価した。発色部位のうち、過去の報告に基づき血管エリアが 10~78.5 μm² の範囲にあるものを微小血管と定義した。また、心筋細胞自体の大きさが多様で、冠微小血管のオリエンテーションも多様であり、冠微小血管障害の分析血管の正確性に影響を及ぼすため、血管の横切りになっている円形の冠微小血管を評価した。評価心筋面積あたりの冠微小血管数を冠微小血管障害の程度として定義した。

【定義：ジェノタイプ】

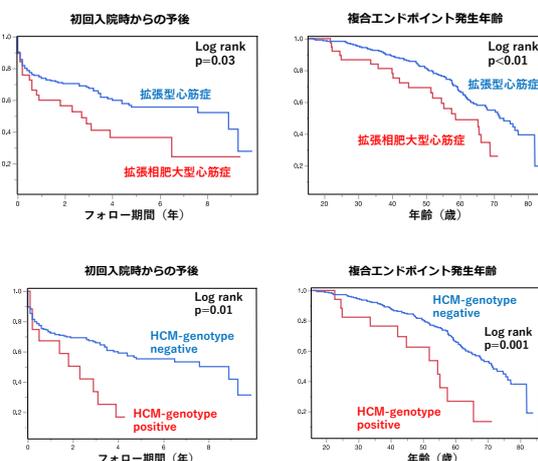
過去の解析により得られた、HCM genotypeに加え、拡張型心筋症においては、拡張型心筋症に多いとされる TTN 遺伝子を含む 23 遺伝子の変異グループを DCM-genotype とした。

【評価項目】

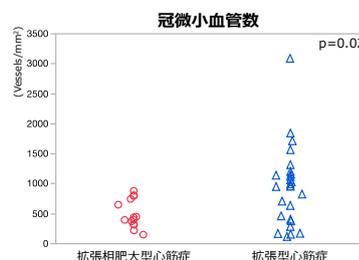
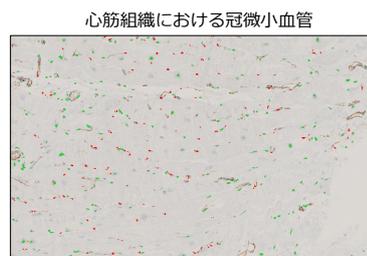
(1) 拡張相肥大型心筋症と拡張型心筋症における冠微小血管障害の程度について、比較検討し、両者の鑑別の有用性について検討し、冠微小血管障害と相関する臨床指標（血液検査データ、心エコー図指標）についても検討を行った。(2) 心筋症原因遺伝子変異と冠微小血管障害との関連について検討した。

4. 研究成果

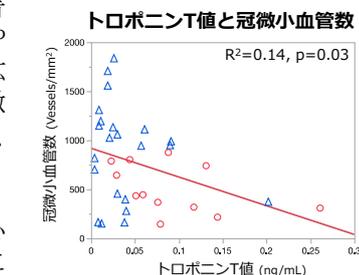
(1) 275 症例のうち、38 例 (14%) が拡張相肥大型心筋症と診断に至った。38 例のうち、16 例 (42%) は HCM-genotype positive であり、拡張型心筋症と診断した症例のうち 1 例 (0.4%) が HCM-genotype positive であった。臨床的指標に基づき診断した拡張相肥大型心筋症は、拡張型心筋症と比較し、初回入院後の予後が悪く ($p=0.03$)、複合エンドポイントを迎える年齢が早いことが示された ($p<0.01$)。同様に、遺伝的指標に基づいた HCM genotype positive 群は、negative 群と比較し、初回入院後の予後が悪く ($p=0.01$)、複合エンドポイントを迎える年齢が早いことが示された ($p=0.001$)。



(2) (3) 拡張相肥大型心筋症 14 例、拡張型心筋症 26 例で解析が可能であった。年齢、性別に差は認めなく、拡張相肥大型心筋症は拡張型心筋症と比べ、LVAD 装着前の左室拡張末期径は小さく (中央値 [25-75%]: 57mm [50-70] vs 80mm [63-84], $p<0.001$)、左室駆出率は保たれていたが (33% [27-34] vs 18% [14-24], $p<0.001$)、左室質量に差は認めなかった (196g [150-251] vs 214g [159-245], $p=0.61$)。評価心筋組織面積あたりの冠微小血管数は、拡張相肥大型心筋症において、拡張型心筋症と比べ有意に少なく、冠微小血管障害が強いと考えられた (416/mm² [316-753] vs 950/mm² [389-1159], $p=0.02$)。



genotype positive 群は negative 群と比較し、微小血管障害の程度に差は認められなかったが (545/mm² [262-1045] vs 845/mm² [439-1076], $p=0.20$)、HCM-genotype positive 群は、negative 群と比較し、冠微小血管障害が強い傾向にあった (407/mm² [239-763] vs 803/mm² [392-1126], $p=0.06$)。冠微小血管障害の程度は、左室の心エコー図指標である、左室拡張末期径、心室中隔壁厚、左室後壁厚、左室駆出率、左室心筋質量と相関を認めなかった。冠微小血管障害と、LVAD 装着術前の BNP 値およびトロポニン T 値とは相関を認めた (logBNP 値; $R^2=0.11$, $p=0.04$ 、トロポニン T 値; $R^2=0.14$, $p=0.03$)。拡張相肥大型心筋症と拡張型心筋症の鑑別診断において、冠微小血管障害は有用な指標であったが (AUC 値; 0.73, $p=0.02$)、既存の左室形態指標と診断能の差は認められなかった。



以上より、過去の報告の通り、臨床診断である拡張相肥大型心筋症は拡張型心筋症と比較し予後が悪いことが示され、仮に過去の肥大型が画像的に捉えられていない場合でも、HCM-genotype positive である場合には予後が不良であることから、早期に心臓移植を念頭においた治療方針を立てることが必要と考えられた。心肥大が起こる過程で、相対的に微小血管数が少なくなり、相対的虚血の状態となることで、心筋障害が進行すると考えられたが、左室心筋質量と冠微小血管障害の間に相関は認められなかった。過去の報告では心筋症遺伝子変異を有する症例において、有意に冠微小血管障害が認められていたが、本研究においては認められておらず、Thick filament に関連する肥大型心筋症に特異的な遺伝子変異群においては、冠微小血管障害が強い傾向が認められており、心筋症の遺伝子変異の有無という大きな分類ではなく、心筋症原因遺伝子における、Thick filament に関連したサルコメア関連遺伝子変異といった、サブグループに分けて検討することが重要である可能性が示唆された。拡張相肥大型心筋症は、拡張型心筋症と比べ冠微小血管障害が強いことが示され、冠微小血管障害がトロポニン T 値と正の相関

を示すことは、拡張相肥大型心筋症が予後不良であることを関連しており、今後拡張相肥大型心筋症の病態解明にも結びつく結果であると考えられた。今回、冠微小血管障害の程度によって拡張相肥大型心筋症と拡張型心筋症とを鑑別することは、可能であったが、既存の指標を上回るものではなかった。今回評価した検体はLVAD手術時の検体であり、確定診断指標としては、心内膜下生検で得られる検体において、同様の結果が得られるかどうか重要であると考えられ、今後の検討課題と思われた。また、遺伝的背景と冠微小血管障害の程度についての相関関係について十分な結果が得られたなかった一因は症例数によるものも考えられ、今後症例を増やして更なる検討が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮脇大
2. 発表標題 非虚血性心筋症患者における血中トロポニン値と心筋症関連遺伝子変異との関連性の検討
3. 学会等名 第5回 日本心筋症研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮脇大
2. 発表標題 Genetic Backgrounds of Arrhythmia Induced Cardiomyopathy
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------