

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17140

研究課題名（和文）特発性拡張型心筋症の遺伝子異常と心エコー表現型を用いた機械学習による分類法の創出

研究課題名（英文）Association of Genotypes and Change in Cardiac Function in Patients with Idiopathic Cardiomyopathy

研究代表者

山本 昌良（Yamamoto, Masayoshi）

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：20730386

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）：合計123名の特発性心筋症患者に対して心筋症に関連した遺伝子解析を行った。また、包括的な心エコー図検査を行い、データベースの作成を行った。結果、123例中、40例（33%）の患者において心筋症の発症に関連すると考えられる遺伝子変異を認めた。内訳は、ラミンA/C遺伝子変異が16例、タイチン遺伝子変異が7例、それ以外の心筋症関連遺伝子変異が17例であった。タイチン遺伝子変異を伴う患者は登録時の左心機能は低下しているが、治療に対する良好な反応が認められた。ラミンA/C遺伝子変異を伴う患者は治療に対する左心機能の改善を認めず、右心拡大と三尖弁逆流の増悪を認め、右心不全の進行を来す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

心筋症における遺伝子診断は近年、国内外のガイドラインにも推奨されるようになり、その重要性が高まっている。一方で本邦においては心筋症の遺伝子診断は十分に普及しているとはいえ、そのデータも不足している。さらには各遺伝子変異毎の治療に対する反応性、特に右室機能や左房機能等の詳細な心エコー指標の変化との関連は十分な研究がなされていない。本研究は本邦における心筋症関連遺伝子変異の実態を示した。また、各遺伝子変異における治療に対する心機能の変化を示した。特に、右心機能に関して詳細な検討を行い、ラミン遺伝子変異を有する症例においては、左心機能のみならず右心機能も治療抵抗性であることを示した。

研究成果の概要（英文）：Genetic analysis related to cardiomyopathy was conducted on a total of 123 patients with idiopathic cardiomyopathy. Additionally, comprehensive echocardiographic examinations were performed. As a result, pathogenic genetic mutations were found in 40 out of 123 cases (33%). Mutations in the LMNA gene were found in 16 cases, TTN gene mutations in 7 cases, and other mutations in 17 cases. Patients with TTN gene mutations had low baseline LVEF but showed good response to treatment. In contrast, patients with LMNA gene mutations did not show improvement in left ventricular function with treatment, exhibited worsening right heart dilation and tricuspid regurgitation, and were suggested to have a progression to right heart failure.

研究分野：心不全

キーワード：心不全 心筋症 心エコー

## 1. 研究開始当初の背景

本邦の難治性心不全の主たる原因である特発性拡張型心筋症(DCM)は、既知の原因を除外した結果、原因が特定できない左室拡大と収縮低下を特徴とする病態の総称である。DCMの臨床像は多様性に富み、家族歴、病変進行のスピード、治療反応性、左室以外の心腔(右室、左房)病変の程度や広がり、さらには生命予後において個体差が大きい。若年発症の多いDCMは本邦において難治性心不全の主たる原因であり、その病態解明は取り組むべき重要な課題である。特発性心筋症患者の発症にはラミンやタイチンといった心臓構成要素の遺伝的要因の関与も重要であることが近年報告されている。しかし、特定の遺伝子異常 genotype と臨床病型 phenotype との強い関連は、DCMでは未だ見出されていない。この原因の1つに、臨床検査法の開発の遅れが考えられる。心臓の構造的機能的疾患であるDCMの再分類には、心エコー計測法によって表現型が特徴付けられる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、DCM症例の遺伝子異常と高機能心エコー図検査による表現型の組み合わせによってDCMの細分類法を創出することである。また、各分類と予後心機能の変化との関連を明らかにし、遺伝子の表現型としての心機能分類を模索する。以上により将来のプレシジョン・メディシンの基盤作りに貢献することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 患者登録

対象は、筑波大学附属病院において特発性心筋症が疑われ、心筋症関連遺伝子変異の検出を目的とした遺伝子検査がなされた患者とした。研究に関するインフォームド・コンセントを得た後、本研究に登録した。

### (2) 次世代シーケンシングによる遺伝子解析

登録された対象者が通常診療で採血する際、DNA抽出用として静脈血採血(約5ml)を増量して行い、DNA抽出キットによりDNAを抽出した。解析の対象とする遺伝子は、チャンネル遺伝子、サルコメア・細胞骨格遺伝子、関連タンパク遺伝子など400遺伝子と対象とし、筑波大学で解析を行った。ダイレクトシーケンス法あるいはIon Proton (ThermoFisher社)あるいはNextSeq (Illumina社)などの次世代シーケンサーによるターゲットシーケンスにより遺伝子変異および遺伝子多型を同定した。同定された variants はClinVarなどのデータベース、あるいはin silico解析により病原性を判定した。遺伝子の分類については、割合として多いと予想されるラミン遺伝子異常(LMNA)、タイチン遺伝子異常(TTN)のそれぞれを軸に、5症例以上で同類の遺伝子異常が見つかった群は独立した群とし、それ以外の少数例のみで認められた遺伝子異常に関しては、まとめて一つの群として扱った。

ターゲットシーケンスにより原因遺伝子が不明であり、かつ家族性発症が濃厚な場合、次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析を行い、原因遺伝子の探索を行なった。全エクソーム解析は上記システムあるいはSOLiD 5500 (Life Technologies社)を用いた。

### (3) 心エコー図検査

当院で初回に行われた心エコー図検査をベースライン検査とし、包括的な心エコー図検査を施行した。右心機能の指標としては、右室拡張末期面積 (RVEDA)、右室面積変化率 (RVFAC)、三尖弁輪移動距離 (TAPSE)、右室自由壁長軸方向ストレインを計測した。複数回の心エコー図検査が施行された症例においては最終検査をフォローアップ検査として、ベースライン検査との比較を行った。

### (4) 予後調査

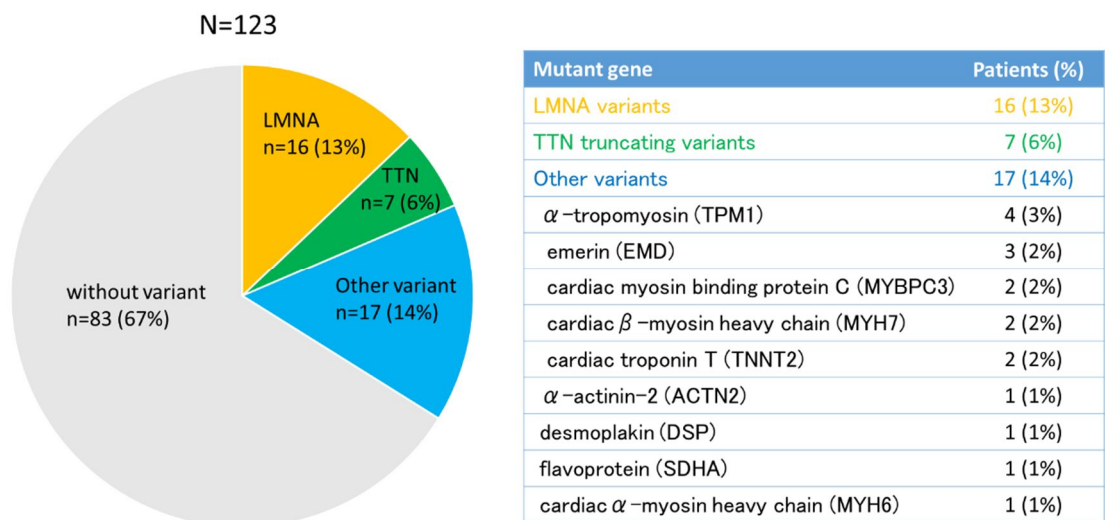
臨床経過の追跡は患者登録から 2023 年 3 月まで行った。主要エンドポイントは心血管病による死亡および心不全による入院とした。

## 4. 研究成果

### (1) 患者背景

2023 年 9 月までに解析の終了した 123 例の患者を研究対象とした。123 例中、40 例 (33%) の患者において病的と考えられる遺伝子変異を認めた (図 1)。40 例の内訳は LMNA 変異が 16 例 (13%)、TTN 変異を 7 例 (6%)、他の心筋症関連遺伝子変異が合計で 17 例 (14%) であった。83 例 (67%) においては遺伝子変異が検出されなかった。

図 1 心筋症関連遺伝子変異の内訳



患者をラミン遺伝子変異群 (LMNA)、タイチン遺伝子変異群 (TTN)、他の心筋症関連遺伝子変異群 (Others)、遺伝子変異が検出されなかった群 (without variant) の 4 群に分けて解析を行った。ベースラインの患者背景の比較を表 1 に示す。TTN 群ではベースラインの血圧が有意に低く、心拍数の上昇を認めた。さらには進行した心不全症状 (NYHA Class III 以上) を有する症例が多く、腎機能 (eGFR) が最も低下していた。LMNA 群では心房細動を有する割合と ICD や CRT の植え込み率が有意に高率であった。

ベースラインの心エコー図指標の比較を表 2 に示す。TTN 群では左室拡張末期および収縮末期容積が最も高値であった。また左室駆出率が最も低値であった。それ以外の指標においては右室機能指標を含めて、4 群間で有意な差が認められなかった。

表1 ベースラインの患者背景の比較

Variable	LMNA (n=16)	TTN truncation (n=7)	Others (n=17)	Without variant (n=83)	P-value
Age (years)	48.3±15.8	50.1±17.3	43.9±15.6	49.4±14.1	0.552
Sex (male)	13 (81)	4 (57)	12 (71)	67 (81)	0.477
Systolic blood pressure (mmHg)	101±42	107±17	111±18	123±24	0.007
Heart rate (bpm)	63±15	100±56	72±17	75±19	0.004
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	24.9±3.2	25.3±5.0	22.8±4.9	26.8±7.7	0.159
NYHA class III or IV	2 (13)	3 (43)	2 (12)	30 (38)	0.038
Family history of cardiomyopathy	12 (75)	3 (43)	8 (47)	33 (40)	0.075
Hypertension	3 (18)	0 (0)	3 (18)	42 (51)	<0.001
Diabetes	2 (13)	0 (0)	1 (6)	15 (18)	0.229
Atrial fibrillation	14 (88)	3 (43)	5 (29)	21 (25)	<0.001
eGFR (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	82±38	63±19	87±23	68±18	0.008
BNP (pg/ml)	112 (77-438)	493 (99-1118)	163 (39-755)	207 (82-642)	0.834
NT-proBNP (pg/ml)	602 (333-2181)	2136 (339-10840)	493 (317-2136)	891 (366-2766)	0.670
ICD or CRT	13 (81)	1 (14)	7 (41)	33 (40)	0.005

表2 ベースラインの心エコー図指標の比較

Variable	LMNA (n=16)	TTN truncation (n=7)	Others (n=17)	Without variant (n=83)	P-value
LVEDV (ml)	138±40	194±50	119±56	181±86	0.007
LVESV (ml)	86±39	137±51	65±53	122±80	0.010
LVEF (%)	47±22	30±9	51±21	37±17	0.005
LV mass index (g/m <sup>2</sup> )	126±46	119±24	133±52	137±47	0.685
LV global longitudinal strain (%)	6.5±10.7	9.3±3.7	11.9±5.3	8.8±5.0	0.097
LAVI (ml/m <sup>2</sup> )	46±21	34±14	44±17	49±22	0.361
E/e'	10.5±4.2	9.5±3.4	10.7±5.8	12.1±5.3	0.357
TRPG (mmHg)	19±7	20±7	23±8	25±13	0.213
RVFAC (%)	35±11	34±9	39±14	33±13	0.360
RVEDA (cm <sup>2</sup> )	26±6	22±10	21±5	25±7	0.105
TAPSE (mm)	15±7	16±7	19±7	17±4	0.166
RV free wall strain (%)	16.1±7.6	16.4±5.2	19.5±6.7	16.3±6.0	0.331
Maximum IVC diameter (mm)	18±7	16±7	17±5	17±5	0.819
Moderate or severe FMR	2 (13)	2 (29)	2 (12)	12 (14)	0.783
Moderate or severe FTR	4 (25)	2 (29)	1 (6)	6 (7)	0.114

## (2) 心機能の変化

123例のうち、110名(89%)においてフォローアップの心エコー図検査が施行された。2回の心エコー図検査の間隔の中央値は1342日であった。フォローアップ時の心エコー図指標の比較を表3に示す。4群での比較において、TTN群においてはベースラインの左室駆出率は有意に低値であったが、経過中に有意な改善が認められた(30±9% to 52±10%, p=0.008)。各右室機能指標、および中等度以上の三尖弁逆流の割合はベースラインで有意な差は認められなかったが、フォローアップ時はLMNA群において有意にRVEDAが大きく(p=0.046)、中等度以上の三尖弁逆流の割合が高値であった(p<0.001)。

## (3) 予後解析

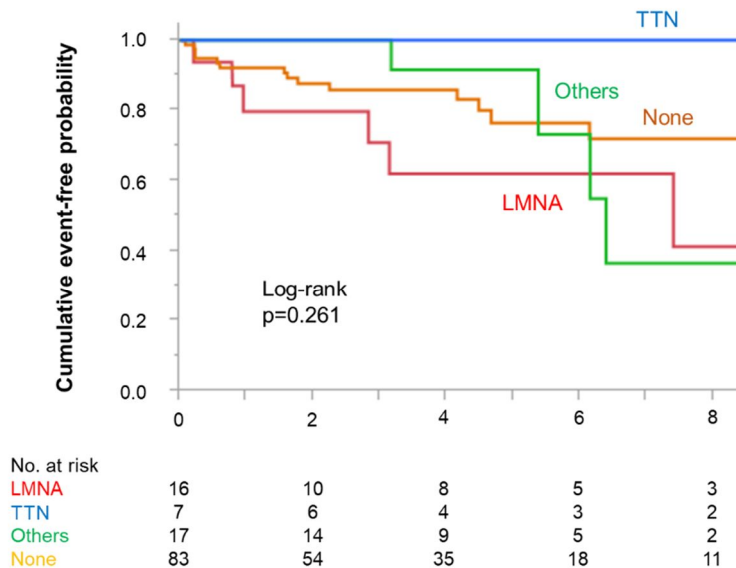
観察期間の中央値は1431日であった。観察期間中に9例の心血管死亡(心不全死7例、心臓突然死2例)および22例の心不全入院が認められた。4群のカプランマイヤー生存曲線を図2に示す。TTN群では経過観察中に心血管イベントは認められなかった。LMNA群および、Other

群にて心血管イベントが多い傾向を認めたと、統計学的には4群間で予後に有意な差は認められなかった (Log-rank,  $p=0.261$ )。

表3 フォローアップ時の心エコー図指標の比較

Variable	LMNA (n=16)	TTN truncation (n=7)	Others (n=17)	Without variant (n=83)	P-value
LVEDV (ml)	167±58	128±36	149±83	160±75	0.653
LVESV (ml)	107±59	64±26	90±75	90±69	0.582
LVEF (%)	40±17	52±10	45±18	48±14	0.197
LV mass index (g/m <sup>2</sup> )	119±43	84±14	119±36	120±36	0.098
LV global longitudinal strain (%)	6.8±10.5	12.3±12.3	7.2±8.8	9.5±13.0	0.245
LAVI (ml/m <sup>2</sup> )	55±22	23±11	53±25	44±30	0.061
E/e'	11.8±4.4	6.7±2.3	10.0±5.4	9.3±4.1	0.069
TRPG (mmHg)	20±7	16±2	18±11	21±13	0.556
RVFAC (%)	35±9	43±5	39±10	37±9	0.284
RVEDA (cm <sup>2</sup> )	29±9	22±5	22±9	23±6	0.046
TAPSE (mm)	15±4	20±4	17±5	18±4	0.091
RV free wall strain (%)	15.7±5.2	19.4±9.2	16.2±5.7	17.9±5.9	0.466
Maximum IVC diameter (mm)	20±9	16±4	17±7	15±4	0.047
Moderate or severe FMR	3 (20)	0 (0)	1 (6)	7 (9)	0.549
Moderate or severe FTR	7 (47)	0 (0)	4 (25)	5 (6)	<0.001

図2 心筋症関連遺伝子変異毎のカプランマイヤー生存曲線



#### (4) 総括

本研究は本邦の心筋症患者における心筋症関連遺伝子変異の実態を示した。また、各遺伝子変異における治療に対する包括的な心機能の変化を評価した。特筆すべき結果として、タイチン遺伝子変異を伴う患者はベースラインの左室機能は高度に低下しているが、治療に対する良好な反応性が認められた。ラミン A/C 遺伝子変異を伴う患者は治療に対する左心機能の改善を認めず、さらには右心拡大と三尖弁逆流が増悪し、右心不全の進行を来す可能性が示唆された。本研究の結果は本邦における心筋症に対する遺伝子診療の基盤を形成するための有用なデータとなると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山本昌良 村越伸行 南健太郎 佐藤希美 山田優 川松直人 町野智子 石津智子
2. 発表標題 心筋症患者における心筋症関連遺伝子変異と心機能および経時的変化との関連
3. 学会等名 日本心エコー学会 第35回学術集会
4. 発表年 2024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
研究協力者	村越 伸行  (Murakoshi Nobuyuki)	筑波大学医学医療系・循環器内科・准教授  (12102)	
研究協力者	石津 智子  (Tomoko Ishizu)	筑波大学医学医療系・循環器内科・准教授  (12102)	
研究協力者	佐藤 希美  (Kimi Sato)	筑波大学附属病院・循環器内科・病院講師  (12102)	
研究協力者	許 東洙  (Kyo Touseu)	筑波大学医学医療系・循環器内科・准教授  (12102)	

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
---------	---------