

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月12日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590643

研究課題名（和文）不整脈源性右室心筋症原因遺伝子変異は胸腺リンパ体質の分子モデルか

研究課題名（英文）Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy is a molecular model for the status thymicolymphaticus?

研究代表者

西尾 元 (NISHIO HAJIME)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：90253260

研究成果の概要（和文）：解剖症例でしばしば経験される原因不明の突然死症例の中に、時折、胸腺などリンパ臓器の肥大を伴う症例があり、胸腺リンパ体質と呼ばれる。本研究では、実際の原因不明の突然死症例に発見された致死性不整脈の原因遺伝変異が胸腺リンパ体質の原因に関与しているかどうかについて、変異を導入したモデル動物を作成して検討した。モデル動物では、胸腺などのリンパ臓器の肥大が実際に観察されることから、この遺伝子変異が胸腺リンパ体質に伴う臓器特徴に関与していることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Status thymicolymphaticus has been defined as a condition of constitutional anomalies: hypertrophy of lymphoid organs such as the thymus, spleen, and lymph nodes, and hypoplasia of cardiovascular system. The condition is sometimes terminated by sudden death. In this study, we examined whether the R420W of the *RYR2*, which was found in sudden unexplained death cases, may be associated with the phenotypic characteristics of the status thymicolymphaticus by generating the knock-in mice model carrying the mutation. The model animals showed significant increase in organ weights of the thymus and spleen compared to those from the wild types. The findings support the idea that R420W mutation of the *RYR2* may be associated with the phenotypes of the status thymicolymphaticus.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：法医病理学

## 1. 研究開始当初の背景

胸腺リンパ体質という概念は、古く 1889 年に Paltauf が記載したとされる。我が国にお

いては、柴田らが、突然死症例における胸腺肥大について形態学的な検討を行っている。同時期に著された法医学教科書の中で、松倉

は胸腺リンパ体質について、「異常な身体内部環境バランス異常を示す一つの指標であり、その原因について明らかとされてはいないが否定されるべきものではない」と記載している。残念ながら、その後胸腺リンパ体質に関する研究はほとんど行われず、現在この言葉が使われる事もほとんどない。本研究は、法医学分野で古くからいわれてきた胸腺リンパ体質の分子メカニズムを検討することを目的とするもので、今日こうした観点から研究を行っている報告は皆無であり、全く独創的な研究である。多くの法医学研究者が時に経験するものの、その本体について理解に至っていない、古くから提示されてきた問題を検討するという点で、本研究は意義が大きいと考える。

## 2. 研究の目的

比較的若年者が運動時や睡眠中に突然死亡し、解剖によっても死因不詳の場合、一般に原因不明の突然死と呼ばれる。こうした症例の中に、胸腺をはじめとするリンパ組織の肥大や大動脈径の狭小化など特有の形態学的特徴を伴う場合のあることが古くから知られている（胸腺リンパ体質）。私どもは、これまで原因不明の突然死症例に、突然死を引き起こす遺伝性不整脈の原因遺伝子変異を解析してきたが、胸腺リンパ体質類似の特徴を持つ突然死症例に、不整脈源性右室心筋症の原因遺伝子変異を少なくとも 5 例発見した。不整脈源性右室心筋症の原因遺伝子変異が胸腺リンパ体質の臓器特徴の発現に関与しているのかどうか明らかとすることを目的として計画した。

## 3. 研究の方法

これまでに、原因不明の突然死症例を用いた変異解析で、すでに、不整脈源性右室心筋症

の原因遺伝子である RYR2 に 2 種類を発見されている。本研究計画では、発見された変異のうち典型的な胸腺リンパ体質の特徴を示した 1 例に発見された変異を過剰に発現させたノックインモデル動物を作製して、その表現型を解析することとした。この変異は、すでに若年性突然死の家系に報告例がある。胸腺リンパ体質では、胸腺や扁桃をはじめとするリンパ組織の肥大が認められることから、モデル動物にこうしたリンパ臓器の肥大が認められるかどうか、コントロール動物と比較検討する。また、当該遺伝子変異は実際の原因不明の突然死症例に確認されており、不整脈を生じる原因と成ると予想されることから、マウスの心電図解析をおこない、不整脈の有無を検討する。臓器重量の検討結果によっては、免疫系細胞の増殖能と分化程度をフローサイトメトリーによって、リンパ球細胞表面マーカーの発現量を検討して評価する。

## 4. 研究成果

### (1) モデル動物の作成

モデル動物の作成について、実際の法医剖検症例中に、心筋型リアノジン受容体遺伝子変異を伴った若年者の突然死症例があり、この症例が胸腺等の免疫臓器の肥大を伴っていたことから、この症例に発見された遺伝子変異を導入したモデル動物の作成を試みた。当該モデル動物の作成に関して、ベクターの構築、キメラマウスの作成段階でそれ以降のステップが原因不明で進行せず、本研究計画で予定した表現型の解析時期の遅れの原因となった。

### (2) 各種の臓器重量結果

臓器重量の検討では、モデル動物のホモマウスでは、胸腺や脾臓といった免疫臓器の重量に対照群と比較して有意な増加が観察された。また、腹腔のリンパ節の肥大も観察され

た。腸間膜リンパ節もモデル動物では顕著に肥大しているのが観察された。これらの結果から、当該遺伝子変異はいわゆる胸腺リンパ体質と呼ばれる免疫臓器肥大をともなった突然死症例のモデルになりうるのではないかと考えられる。

他の臓器、肝臓、腎臓、脳などについては、モデル動物とコントロールマウスとの間に有意差は確認されなかった。また、体重についても両者に有意差は確認されなかった。

胸腺、脾臓、リンパ節などの細胞表面マーカーの発現については、現在実験が進行中である。

### (3) 心電図解析

安静時の心電図について、モデル動物とコントロールマウスとの間に有意差は確認されなかった。心電図の RR 間隔、QT 時間、P 波などについて、有意差は確認されず、安静時の心臓の活動について、差は確認されない。カフェインやノルアドレナリンなど、心臓刺激薬物を投与した際に、モデル動物のホモマウスでは、さまざまな不整脈が観察された。変異を導入した遺伝子は、不整脈源性右室心筋症の原因遺伝子であるとともに、カテコラミン誘発性心室頻拍の原因遺伝子であることも知られている。カテコラミン誘発性心室頻拍では、運動時や心理的ストレス等によって交感神経の優位が伴った際に、心室性不整脈が惹起され突然死を生じうるとされる。典型的には、両方向性の心室頻拍が観察されるとされる。モデル動物では、両方向性の心室頻拍は確認されなかったが、心室性の不整脈や3段脈が観察された。この他、心拍リズムの乱れや徐脈も確認されたが、こうした不整脈も実際のカテコラミン誘発性心室頻拍患者に観察されるとされており、今回作成したモデル動物は、こうした疾患のモデルとなると考えられる。

### (4) その他の表現型特徴

胸腺、脾臓、リンパ節といったリンパ臓器に受領の増加が確認されたが、組織学的には今のところ、明らかな異常は認められない。リンパ臓器の他、心臓についても、異常は認められていないが、これまでの解析は組織学的検査に留まっており、心臓のエコー検査等で異常が確認される可能性がある。実際、遺伝子の異なった部位に変異を導入したマウスには、心臓の容量の異常等が報告されている。その他の臓器の形態学的、機能的解析は行っておらず、今後の検討が必要である。

### (5) 国内外の位置づけ

現在、胸腺リンパ体質に関する研究はほとんど行われず、現在この言葉が使われる事もほとんどない。日本で、主に胸腺リンパ体質に関する研究がおこなわれたのは、1960-70年代であり、今日の免疫学の知見を全く得られない時期である。突然死と胸腺リンパ体質との関係をあまりにも早く検討してしまったというべきである。本研究は、法医学分野で古くからいわれてきた胸腺リンパ体質の分子メカニズムを検討することを目的としたもので、今日こうした観点から研究を行っている報告は皆無であり、全く独創的な研究である。多くの法医学研究者が時に経験するものの、その本体について理解に至っていない、古くから提示されてきた問題を検討するという点で、本研究は意義が大きいと考える。今回、実際の原因不明の突然死症例に発見された遺伝子変異を導入したモデル動物に、胸腺リンパ体質類似の表現型が確認されたとする結果は、当該遺伝子変異が、胸腺リンパ体質の表現型発現し関与していることを示すものであり、さらに当該遺伝子変異がこの病態の分子メカニズムに関与していることを強く示唆している。今回の実験結果は、胸腺リンパ体質という原因不明の突然死の原

因に、当該遺伝子変異が少なくとも部分的には関与してことを強く示唆している。百年以上も前に提出された胸腺リンパ体質という概念の分子メカニズムの一端を当該遺伝子変異によって説明できるのではないかと考える。

胸腺リンパ体質という概念は、1930年代まではヨーロッパを中心として広く使われていたが、当時は、胸腺の肥大が突然死の直接の原因と考えられ、また、当時は胸腺が免疫機能を担うのに重要な臓器であるという認識が皆無であったこともあり、胸腺肥大を伴った若年者に対して、胸腺摘出や胸腺に対する放射線照射がおこなわれ、事後的に癌が発生するなどの事態を招くこととなった。こうしたことに対する反省もあり、現在は胸腺リンパ体質という用語はほとんど用いられていない。しかし、現在も法医学の現場では、わたしどもが実際に経験したようなリンパ臓器の肥大を伴った原因不明の突然死症例を経験することがある。わたしどもの今回の結果は、胸腺リンパ体質の突然死の原因に、当該遺伝子変異による致死性不整脈死が関与している可能性を指摘するものであり、胸腺などのリンパ臓器の肥大それ自体が死因に関与するものではないことを暗に示している。

古く言われていた胸腺リンパ体質の死因に関する誤った考え方について、すなわち胸腺肥大が死因に関与しているとする考え方について、そうではなく、胸腺リンパ体質の本来の死因の少なくとも一部に、心臓由来の不整脈死が関与していることを予想させる。

#### (6) 今後の展望

今回作成したモデル動物は、原因不明の突然死とリンパ臓器の肥大という一見関連のない二つの現象を同時に併せ持つという点で、胸腺リンパ体質のモデル動物と考えられる。

しかしながら、今のところ、なぜ、当該遺伝子変異によって胸腺等のリンパ臓器に肥大が生じるのかについては全くそのメカニズムが明らかとなっていない。当該遺伝子変異が免疫臓器の肥大等を来す分子メカニズムの解析は今後の大きな課題である。当該遺伝子は、心臓に豊富に発現しているが、免疫系の細胞にも発現していることから、これらの細胞の分化増殖に対する何らかの影響がリンパ臓器の肥大に関与していることも考えられる。また、胸腺以外の神経系や副腎系などの就職によって免疫系臓器の肥大が生じている可能性も今後の検討課題である。また、今回変異を導入した箇所以外の変異によって同様の免疫臓器の肥大が生じるかどうか、検討する必要があるように思われる。今回変異を導入した箇所以外にも、不整脈源性右室心筋症やカテロラミン誘発性心室頻拍の患者には多数の変異が確認されている。今回の変異箇所以外の変異によっても、免疫系臓器の肥大が確認されるのであれば、免疫系臓器の肥大という現象は、当該遺伝子変異の表現型の一つと考えられ、免疫系臓器の肥大を指標とした、こうした不整脈疾患の診断方法の確率につながる可能性もある。いずれにしても、こうした今後に残された課題を検討するにあたって、今回作成したモデル動物は有用であると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計1件)

①Sato T, Nishio H, Suzuki, K.

Sudden death during exercise in a juvenile with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and desmoglein-2 gene substitution: a case report (査読有り)  
Leg. Med. 13(6): 298-300, 2011.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.legalmed.2011.08.004>

〔学会発表〕（計 2 件）

①法医解剖症例を用いた遺伝子解析の実際

西尾元

第 59 回日本法医学会学術近畿地方集会

11/10, 2012（京都）

②佐藤貴子、西尾元、坪井健人、岩田美佐、

田村明敬、鈴木廣一

若年性突然死症例における不整脈源性右室  
心筋症原因遺伝子変異の検討

第 94 次日本法医学会学術全国集会 6/25, 2012

（東京）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

西尾 元 (NISHIO HAJIME)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：90253260

### (2) 研究分担者

高橋 玄倫 (TAKAHASHI MOTONORI)

神戸大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：90509100