

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：24701

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19676

研究課題名（和文）心臓突然死の分子指標開発 生活反応におけるストレスタンパク質

研究課題名（英文）Forensic significance of intracardiac stress protein expression in acute myocardial ischemia

研究代表者

石田 裕子（Ishida, Yuko）

和歌山県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10364077

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：誘導性ストレス応答タンパク質であるヘムオキシゲナーゼ-1（HO-1）の急性虚血性心疾患（acute ischemic heart disease, AIHD）の法医学的診断におけるその重要性はまた不明です。心臓サンプルは、23人のAIHD症例と、対照として33人の非AIHD症例から採取されました。心筋細胞核におけるHO-1陽性シグナルはAIHD症例の78.2%で検出されたが、対照症例では24.2%のみで検出され、AIHD群と非AIHD群の間に統計的な差があった。心臓内のHO-1発現は、AIHDを死因として診断するための貴重なマーカーと考えられます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、急性心筋虚血の法医学的診断に有用なマーカーHO-1を提案した。法医学の現場では、単一のマーカーで死因や傷の年齢、傷口の活力などを明確に評価することは困難である。これに伴い、法医学的安全性の観点から、早期心筋虚血の診断に理想的な単一の免疫組織化学反応は存在しない。HO-1だけでなく、C5b-9やフィブリネクチンなど複数の異なるマーカーを併用することで、より客観的で正確な早期心筋障害の評価が可能となり、肉眼的あるいは顕微鏡的な証拠が不十分な場合のAIHDの死後診断の進歩に貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：Heme oxygenase-1 (HO-1), an inducible stress-response protein, exerts anti-oxidant and anti-apoptotic effects. However, its significance in forensic diagnosis of acute ischemic heart diseases (AIHD) such as myocardial infarction is still unknown. We examined the immunohistochemical expression of HO-1 in the heart samples to discuss their forensic significance to determine acute cardiac ischemia. The heart samples were obtained from 23 AIHD cases and 33 non-AIHD cases as controls. HO-1 positive signals in cardiomyocyte nuclear were detected in 78.2% of AIHD cases, however, that were detected in only 24.2% control cases with statistical difference between AIHD and non-AIHD groups. From the viewpoints of forensic pathology, intracardiac HO-1 expression would be considered a valuable marker to diagnose AIHD as the cause of death.

研究分野：法医病理学

キーワード：Heme oxygenase-1 突然死 急性虚血性心疾患

1. 研究開始当初の背景

法医解剖における死因、死因の種類、死亡時刻等の診断は死亡者の尊厳や人権に深く関係している。法医実務において、死因確定は最も重要な実務の一つであり、その際客観性および正確性が求められる。

内因性急死とは「突然の思いがけない自然死または病死」のことである。内因性急死は、臨床領域・法医学領域のみならず、社会的にも「突然死」と呼称することが多い。内因性急死の原因疾患としては、心臓突然死として心筋梗塞が挙げられる。心臓の虚血状態がある程度の時間継続すると、心筋は壊死に陥り心筋梗塞となる。心筋梗塞の多くは臨床的に診断されるが、生存中全く発症を自覚せず突然死する例も割合多く経験する。いずれの年齢層の突然死であっても遺族の受ける衝撃は大きく、その死亡をなかなか諦めきれないものである。また、外傷を伴っている突然死例は少なくない。そのような場合、病死か外因死なのかの判断が重要になってくる。しかし、法医学の現場では生前の情報に乏しく、かつ死因につながる病理所見を欠く突然死では死因の決定が困難な事例が少なくない。精度の高い死因究明を行うには、できるだけ多くの指標を用いることが重要であり、また各指標の独立性が高いことが望ましい。

心電図など診断に有用な死亡直前の臨床的なデータが通常ほとんど利用できない法医解剖においては、心筋梗塞の診断は心筋断面の形態観察による。心筋梗塞巣は乏血による貧血性梗塞の形をとり、虚血壊死に陥ってから半日から1日ほどで肉眼的に蒼白調となる。顕微鏡検査では、過収縮帯（図1左）など心筋梗塞を疑わせる所見はかなり早期から認められることがあるが、心筋梗塞と確実に診断できるような凝固壊死や好中球の浸潤は虚血壊死に陥ってから1ないし2日後である。このような所見が、心筋梗塞であるとかろうじて認めうる最初の変化である。病理形態学的に心筋の梗塞所見があれば診断上問題ないが、心筋の変化が光顕レベルで確認できるのは発症後5から8時間以上を経過せねばならないと言われている。ところが、心筋梗塞に起因した突然死の多くは、発作直後かせいぜい1時間以内の死亡である。つまり、心筋梗塞を示す特徴的な形態学的所見が出てくる時間的推移がほとんどない。

2. 研究の目的

これまでの応募者の予備的検討により、過収縮帯を認めた心筋梗塞による死亡例は21例中11例（52.3%）であり、心筋梗塞以外の死因において過収縮帯を認めた21例中5例（23.8%）と比べて有意差を認めないことを見出している（図1右）。したがって、これまでとは全く異なる視点から見出された新しい指標を導入することが、死因究明に大きく貢献すると期待される。

細胞あるいは組織が熱、化学物質、虚血などのストレスに暴露されると、熱ショックタンパク質（Heat Shock Protein, HSP）と呼ばれる特殊なタンパクの合成が促進される。熱ショックタンパク質はストレスタンパクの一種であり、その分子量の大きさにより、HSP27、HSP60、HSP90のグループに大別され、分子シャペロンとして機能する。HSPは、タンパク質の複合体の形成、タンパク質の移動、選別、細胞周期やシグナリングそしてストレス/アポトーシスから細胞を保護する機能も知られている一方、抗原ペプチドを主要組織適合遺伝子複合

体クラス I/クラス II 分子まで輸送して抗原提示を担うことも分かっていることから、生体防御反応（生活反応）においていち早く反応し、その発現が変化することが予想される。さらに近年 HSP は、内因性に心筋保護効果を発揮するタンパク質として臨床領域でも大きな注目を集めている。HSP70 がストレスによる障害から心筋細胞を保護する細胞防御機構で重要な役割を担っていることは多くの研究者により認められており、実際ヒト冠状動脈バイパス移植手術中の心筋の虚血/再灌流において、再灌流後 2 時間以降で HSP70 が著しく発現亢進することが報告されている (Eur J Cardiothorac Surg. 22 (3):415-20, 2002, 図 2)。しかし、心筋梗塞発症直後の心筋組織における種々の HSP の超早期発現態様およびその役割については明らかでない。そこで、本研究では剖検試料を用いて、心筋梗塞発症直後における「超早期生活反応」の新しい指標を検索し、新規法医診断法確立を目指す。

3. 研究の方法

本研究は、ストレスタンパク質 HSP の発現を指標とする死因判定法の開発と、法医実務への応用の可能性を検討するものであり、剖検試料を用いた実務的検討である。実際の法医解剖で得られた心臓組織における種々の HSP 発現を評価し、法医実務においてこれら分子の発現が死因確定のための有用な指標となるか否かについて検討する。

1) ヒト剖検試料における種々の HSP 遺伝子発現解析

和歌山県立医科大学法医学講座で行われる剖検例のうち、死後経過時間が 2 日以内の死因が明らかな事例について心臓組織を採取し、RNA を抽出する。リアルタイム RT-PCR 法により種々の HSP および β -actin の遺伝子発現を定量する。死因が心筋梗塞の事例とそれ以外の事例を比較・検討して、死因判定のための指標となり得る HSP 候補を見出す。

2) ヒト剖検試料における HSP タンパク質発現解析

1 の検討で、死因判定に有用な指標となり得るいくつかの HSP 候補について、ホルマリン固定パラフィン切片とした心臓組織を用いて免疫染色を行い、それらタンパク質発現が超早期生活反応としての指標となり得るか検討する。

3) 1 及び 2 の検討を総合し、心筋梗塞を起因とする突然死の死因判定の超早期生活反応としての HSP 分子指標の有用性を検証し、新規分子法医診断学の樹立する。本研究は、ストレスタンパク質 HSP の発現を指標とする死因判定法の開発と、法医実務への応用の可能性を検討するものであり、剖検試料を用いた実務的検討である。実際の法医解剖で得られた心臓組織における種々の HSP 発現を評価し、法医実務においてこれら分子の発現が死因確定のための有用な指標となるか否かについて検討する。

4. 研究成果

虚血性心疾患は世界的な死因の第一位であり、心臓突然死 (SCD) の最も一般的な原因である。SCD の場合、虚血性心筋梗塞の発症後短期間で死亡に至れば、急性心筋虚血の死後診断は臨床医にとっても法医学病理学者にとっても重要な問題である。ヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) は誘導性ストレス応答蛋白であり、抗酸化作用と抗アポトーシス作用を示す。しかし、心筋梗塞などの急性虚血性心疾患 (AIHD) の法医学的診断における HO-1 の意義はまだ不明である。我々は、急性心筋虚血の法医学的意義について検討するために、心臓検体における HO-1 の免疫組織化学的発現を検討した。AIHD 症例 23 例と対照として非 AIHD 症例 33 例から心臓サンプルを得た。心筋細胞核における HO-1 陽性シグナルは AIHD 症例の 78.2% で検出されたが、対照症例では 24.2% でしか検出されず、AIHD 群と非 AIHD 群で統計学的な差

が認められた。HO-1 蛋白の発現とは対照的に、ミオグロビン蒼白領域の出現と白血球浸潤は AIHD 群と非 AIHD 群で有意差はなかった。法医病理学的見地から、心臓内 HO-1 発現は AIHD を死因と診断するための貴重なマーカーと考えられる。

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 1件）

1. 発表者名 石田裕子
2. 発表標題 Forensic significance of intracardiac expressions of H0-1 and Nrf2 in acute myocardial ischemia
3. 学会等名 Wakayama Medical University International Symposium -Forensic Medicine- (国際学会)
4. 発表年 2023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
---------	---------