

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2015

課題番号：23591049

研究課題名(和文)肥大型心筋症の病因遺伝子解析と病態修飾因子の解明

研究課題名(英文)The investigation of etiology and disease modifier factors in hypertrophic cardiomyopathy

研究代表者

久保 亨(Kubo, Toru)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師

研究者番号：80325422

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：肥大型心筋症患者の病因遺伝子解析を施行し、本邦では初となる重複遺伝子変異について報告した。また、心筋ミオシン結合蛋白C遺伝子変異を有する患者を対象に性差について検討したところ、女性患者では男性患者に比べて心肥大発現年齢は遅いものの診断時の心不全症状は強く、診断後の心不全イベントが多いことが明らかとなった。さらに同一遺伝子変異を有する患者を対象にメタロプロテアーゼ値の左室リモデリングにおける意義について報告した。臨床病型評価としては主に血液マーカーに着目し、脳性ナトリウム利尿ペプチド、心筋トロポニンT、トロポニンI、テネシンCなどのマーカーが本症の心血管イベントの予測に有用であることを報告した。

研究成果の概要(英文)：(1) Investigation of etiology and disease modifier factors in hypertrophic cardiomyopathy (HCM): We performed genetic analysis in patients with HCM and reported double sarcomere mutations in HCM patients as first Japanese cases. We identified one of disease modifier factors, that is gender differences, and found that female patients with MYBPC3 were more symptomatic at diagnosis and had more frequent heart failure events once they had developed hypertrophy.

(2) Investigation of prognostic biomarkers in HCM: We focused on biomarkers including brain natriuretic peptide, cardiac troponins, tenascin-C, etc., and found that these biomarkers were useful to predict outcome in patients with HCM. Furthermore, we reported that tissue Doppler indices on echocardiography were useful to predict clinical outcome even in asymptomatic or mildly symptomatic patients with HCM.

研究分野：心筋症

キーワード：肥大型心筋症 遺伝子変異 サルコメア遺伝子 血液マーカー トロポニン 性差

### 1. 研究開始当初の背景

分子遺伝学の進歩により肥大型心筋症の病因遺伝子が続々と同定され、本症はもはや原因不明とはいえなくなってきた。これらの病因遺伝子はサルコメア蛋白を中心とする心筋収縮を司る蛋白群をコードしており、患者の50%前後に遺伝子変異が同定されるようになった。一方で、未だに病因不明の肥大型心筋症患者は多数みられ、新規病因遺伝子の存在が示唆されている。また、本症の早期診断、突然死の予防という観点で遺伝子解析が注目されており、遺伝子型と表現型の関連性の研究が行われているが、その結果については未だ確定したものは得られていない。同一遺伝子内において異なる遺伝子変異ごとに臨床像が異なることも分かっている。さらに、同一遺伝子変異を有する異なる家系間さらには同一の家系内においても、同じ病因変異を持つにもかかわらず、異なる表現型・臨床病型を呈することが分かっている。これらから推測されることとして、肥大型心筋症は単一遺伝子疾患であるが、表現型の多様性には病因変異のみならず修飾因子の存在が考えられる。

### 2. 研究の目的

肥大型心筋症患者の病因遺伝子変異解析を行い病因変異の同定を行うこと。また、臨床病型の詳細な検討を行い、遺伝子型と表現型の関連性について検討し、病態修飾因子を同定することである。

### 3. 研究の方法

#### (1) 肥大型心筋症の病因遺伝子解析：

我々はすでに心筋症の遺伝子解析を実施しており、心筋症患者の中で希望者には、本学倫理委員会で承認された方法に基づき文書にて同意をとり遺伝子解析を行う。既知の原因遺伝子のスクリーニングと候補遺伝子アプローチによる遺伝子異常の検索を行う。対象は肥大型心筋症患者で、家族性の場合には代表者1名 (proband) について行う。スクリーニングの方法は、末梢血液からDNAを採取し、各遺伝子のcoding領域に対してPCRを行う。PCR産物は精製を行い、続いてSequenceを行っていく (Applied Biosystems 3100-Avant Genetic Analyzer)。遺伝子変異が見つければ、同一患者の第2の血液検体 (変異が認められた検体とは異なる血液) を再検査し、同じ変異が認められれば確定とする。遺伝子変異が確認された肥大型心筋症患者に対して、本人が遺伝子解析の結果告知を希望している時にのみ、変異の存在を患者自身に伝える。さらに家系内評価を希望される際には、各血縁者に遺伝子解析の主旨を説明し文書にて同意が得られた上で遺伝子変異の有無を解析していく。各血縁者の理学所見、心電図、心臓超音波検査といった臨床病型の評価は、遺伝子解析に先立って行われる。認められた遺伝子変異が病因変異であると判断され

ば、家系内での浸透率が計算され、さらに同一変異をもつ家系内で表現型が同じであるか相違を認めるかという点を評価していく。

#### (2) 肥大型心筋症の臨床病型評価：

当施設において、心臓超音波検査による心機能評価などの形態的解析と心肺運動負荷検査による運動耐容能などの機能的解析を行ってきたが、さらに生化学マーカーとの臨床病型の関連を明らかにしていく。特に、これらの臨床指標が肥大型心筋症関連心血管イベントの予測に有用であるか否かについて検討する。家系の評価については、患者の問診から詳細な家系図を作成し、血縁者に希望があれば診察に加えて、心電図・心臓超音波検査を行っていく。

#### (3) 肥大型心筋症の病態修飾因子解析：

病因遺伝子変異の判明した本症患者を対象に、臨床病型を詳細に評価し、病因変異以外の修飾因子の同定を行っていく。

### 4. 研究成果

#### (1) 肥大型心筋症の病因遺伝子解析：

約250名の本症患者のDNAサンプルを取得し、6つのサルコメア遺伝子と肥大型心筋症様心肥大を呈する2つの蓄積性疾患遺伝子 (Fabry病およびPRKAG2遺伝子) について変異のスクリーニング検査を行ってきた。遺伝子解析の結果、サルコメア遺伝子の本邦では初となる重複遺伝子変異を有する患者を同定しその臨床病型はより重症を示す可能性について報告した。また、多施設共同で行われた遺伝子解析の結果、我が国における家族性肥大型心筋症家系のサルコメア遺伝子変異の頻度 (サルコメア遺伝子8つの解析で全体の44%に変異が同定された) とその分布 (心筋ミオシン結合蛋白遺伝子変異と心筋ミオシン重鎖遺伝子変異の頻度が多かった) について明らかにした。また、心肥大患者の多施設共同研究では、サルコメア遺伝子変異を有している患者はサルコメア遺伝子変異の同定されていない肥大型心筋症患者と比較して心血管イベントが多いことを共同研究の一員として報告した。

#### (2) 肥大型心筋症の臨床病型評価：

臨床病型評価では、主に血液バイオマーカーについて検討した。まず、本症の心血管イベントとの関連性について注目した。肥大型心筋症における心筋傷害の評価として血清心筋トロポニンI値に注目し、脳性ナトリウム利尿ペプチドと組み合わせることにより本症の心血管イベント予測に有用であることを示した。さらに、より微細な心筋傷害を同定できる高感度心筋トロポニンTにも注目し、このマーカー単独で肥大型心筋症の予後予測に有用であることを世界に先駆けて報告した。また、テネシンC値が本症の心不全イベント発生と関連があることも見出した。

心エコー検査では組織ドプラ指標が予後予測に有用であることも報告した。特に、症状が無いか軽微である患者においても組織ドプラ指標が予後と強く関連していた。病態評価について血液マーカーを用いた新たな概念を提唱した。すなわち、赤血球内クレアチンが閉塞性肥大型心筋症で生じる血管内溶血を高感度に検出し血行動態評価に有用であることを明らかとした。これによって従来は心臓超音波を用いて左室流出路圧較差の病態を評価していたが、血液マーカーでも評価できる可能性が示唆された。本症の鑑別疾患として病因の全くことなる蓄積性心肥大があるが、心エコー検査では鑑別が困難なことを多く経験する。そこで、前述の高感度心筋トロポニンTを用いて肥大型心筋症と肥大型心筋症類似の左室肥大疾患との鑑別を試みたところ、蓄積性疾患（心アミロイドーシス、ファブリー病）では有意に本マーカーが高値であり、両者の鑑別に有用であることが判明し、今後の臨床応用が期待されるものである。

### (3) 肥大型心筋症の病態修飾因子解析：

心筋ミオシン結合蛋白C遺伝子変異を有する肥大型心筋症患者を対象に、臨床病型に修飾を与える因子として性差について検討したところ、女性患者では男性患者に比べると心肥大発現年齢は遅いものの診断時の心不全症状は強く、また診断後の心不全イベントが多いことが明らかとなった。心肥大および心不全発症について性差が存在しており、病態の修飾に性ホルモン等の影響があるものと推測される。

また、メタロプロテアーゼ（MMP）値と左室リモデリング進行について解析を行い、細胞外マトリックス分解からみた左室リモデリングに関する検討を行った。同一遺伝子変異を有していてもMMP値に個体間で差があり、MMP-2では左室収縮能の保たれた患者における収縮能の程度と関連があり、MMP-9は心肥大の程度と関連がありさらにその後の左室収縮能の低下の出現と強い関連を示した。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計14件）

Kubo T, Okumiya T, Baba Y, Hirota T, Tanioka K, Yamasaki N, Sugiura T, Doi YL, Kitaoka H. Erythrocyte creatine as a marker of intravascular hemolysis due to left ventricular outflow tract obstruction in hypertrophic cardiomyopathy. J Cardiol. 査読有 67, 2016, 274-278  
DOI:10.1016/j.jjcc.2015.05.005

Kubo T, Kitaoka H. Biomarkers related to hemodynamic abnormalities with high shear stress. J Cardiol. 査読有 67, 2016, 213  
DOI:10.1016/j.jjcc.2015.09.022

Kubo T, Baba Y, Hirota T, Tanioka K, Yamasaki N, Yamanaka S, Iiyama S, Kumagai N, Furuno T, Sugiura T, Kitaoka H. Differentiation of infiltrative cardiomyopathy from hypertrophic cardiomyopathy using high-sensitivity cardiac troponin T: a case-control study. BMC Cardiovasc Disord. 査読有 15, 2015, 53  
DOI:10.1186/s12872-015-0043-z

Terauchi Y, Kubo T, Baba Y, Hirota T, Tanioka K, Yamasaki N, Furuno T, Kitaoka H. Gender differences in the clinical features of hypertrophic cardiomyopathy caused by cardiac myosin-binding protein C gene mutations. J Cardiol. 査読有 65, 2015, 423-428  
DOI:10.1016/j.jjcc.2014.07.010

Ochi Y, Kubo T, Kitaoka H. Repeated heart failure in a 74-year-old man with left ventricular hypertrophy. Heart. 査読有 100, 2014, 710  
DOI:10.1136/heartjnl-2013-305157

Kubo T, Kitaoka H, Yamanaka S, Hirota T, Baba Y, Hayashi K, Iiyama T, Kumagai N, Tanioka K, Yamasaki N, Matsumura Y, Furuno T, Sugiura T, Doi YL. Significance of high sensitivity cardiac troponin Y in hypertrophic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol. 査読有 62, 2013, 1252-1259  
DOI:10.1016/j.jacc.2013.03.055

Kitaoka H, Kubo T, Hayashi K, Yamasaki N, Matsumura Y, Furuno T, Doi YL. Tissue Doppler imaging and prognosis in asymptomatic or mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy. Eur Heart J Cardiovasc imaging. 査読有 14, 2013, 544-549  
DOI:10.1093/enjci/jes200

Fujita T, Fujino N, Anan R, Tei C, Kubo T, Doi Y, Kinugawa S, Tsutsui H, Kobayashi S, Yano M, Asakura M, Kitakaze M, Komuro I, Konno T, Hayashi K, Kawashiri MA, Ino H, Yamagishi M. Sarcomere gene mutations are associated with increased cardiovascular events in left ventricular hypertrophy: results from multicenter registration in Japan.

JACC Heart Fail. 査読有 1, 2013, 459-466

DOI : 10.1016/j.jchf.2013.08.007

Kitaoka H, Kubo T, Baba Y, Yamasaki N, Matsumura Y, Furuno T, Doi YL. Serum tenascin-C levels as a prognostic biomarker of heart failure events in patients with hypertrophic cardiomyopathy. J Cardiol. 査読有 59, 2012, 209-214

DOI : 10.1016/j.jjcc.2011.11.008

Otsuka H, Arimura T, Abe T, Kawai H, Aizawa Y, Kubo T, Kitaoka H, Nakamura K, Okamoto H, Ichida F, Ayusawa M, Nunoda S, Isobe M, Matsuzaki M, Doi YL, Fukuda K, Sasaoka T, Izumi T, Ishizawa N, Kimura A. Prevalence and distribution of sarcomeric gene mutations in Japanese patients with familial hypertrophic cardiomyopathy. Circ J. 査読有 76, 2012, 453-461

Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, Yamanaka S, Hirota T, Baba Y, Hayato K, Yamasaki N, Matsumura Y, Yasuda N, Sugiura T, Doi YL. Combined measurements of cardiac troponin I and brain natriuretic peptide are useful for predicting adverse outcome in hypertrophic cardiomyopathy. Circ J. 査読有 75, 2011, 919-926

DOI : 10.1253/circj.CJ-10-0782

Kubo T, Kitaoka H, Okawa M, Baba Y, Hirota T, Hayato K, Yamasaki N, Matsumura Y, Otsuka H, Arimura T, Kimura A, Doi YL. Genetic screening and double mutations in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy. Circ J. 査読有 75, 2011, 2654-2659

DOI:10.1253/circj.CJ-10-1314

Kitaoka H, Kubo T, Okawa M, Takenaka N, Baba Y, Yamasaki N, Matsumura Y, Furuno T, Doi YL. Plasma metalloproteinase levels and left ventricular remodeling in hypertrophic cardiomyopathy in patients with an identical mutation. J Cardiol. 査読有 58, 2011, 261-265

DOI : 10.1016/j.jjcc.2011.07.011

Kitaoka H, Kubo T, Okawa M, Takenaka N, Sakamoto C, Baba Y, Hayashi K, Yamasaki N, Matsumura Y, Doi YL. Tissue Doppler imaging and plasma BNP levels to assess the prognosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. J Am Soc Echocardiogr. 査読有 24, 2011, 1020-1025

DOI : 10.1016/j.echo.2011.05.009

[学会発表](計4件)(国際学会のみ記載)  
Kubo T. Prognostic significance of non-dilated left ventricular size and mitral regurgitation in patients with end-stage phase of hypertrophic cardiomyopathy. ESC CONGRESS 2015. 2015年8月29日~9月2日 ExCel London Exhibition and Convention Centre (UK)

Kubo T. Elevation of serum high sensitivity cardiac troponin T value is associated with progression of left ventricular remodeling in patients with hypertrophic cardiomyopathy. ESC CONGRESS 2015. 2015年8月29日~9月2日 ExCel London Exhibition and Convention Centre (UK)

Kubo T. Prognostic role of high sensitivity cardiac troponin T in hypertrophic cardiomyopathy. ESC CONGRESS 2012. 2012年8月25日~29日 International Congress Center (Germany)

Kitaoka H. Plasma tenascin-C level as a prognostic biomarker of heart failure events in patients with hypertrophic cardiomyopathy. ESC CONGRESS 2011. 2011年8月28日 Paris Nord Villepinte (France)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

久保 亨 (KUBO, TORU)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師

研究者番号 : 80325422

### (2) 研究分担者

北岡 裕章 (KITAOKA, HIROAKI)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授

研究者番号 : 10274375

土居 義典 (DOI, YOSHINORI)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授

研究者番号 : 90140144

(H23 H24)