

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860594

研究課題名(和文) 拡張型心筋症におけるカテプシンKの病態生理学的意義解明と新規治療への応用

研究課題名(英文) Pathophysiological significance of cathepsin K in dilated cardiomyopathy

研究代表者

奥村 貴裕 (Okumura, Takahiro)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60635598

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)：拡張型心筋症における新規診断法や治療法の開発および臨床応用を目的として、カテプシンK発現と病態生理学的指標や画像検査データ、予後との関連検討を行った。造影MRIにて遅延造影を認める患者群では心筋間質の線維化が強いことを確認し、拡張障害が強いことを報告したが、カテプシン発現量との直接的な関連は得られなかった。また、^{99m}Tc-MIBI心筋SPECTにおける位相エントロピーが収縮関連SERCA2a mRNA発現異常に基づくCaハンドリング異常を反映し、新規予後予測因子となりうることを報告した。また、コレステロール吸収・合成の低下は、拡張型心筋症の早期予後指標となることを報告した。

研究成果の概要(英文)：To clarify the pathophysiological role of cathepsin K, we investigated the association between the expression of cathepsin K and pathophysiological index, clinical imaging data, or prognosis in patients with dilated cardiomyopathy (DCM). The results of our studies were as follows; 1) Myocardial fibrosis and impaired left ventricular (LV) relaxation is more serious in late gadolinium enhancement positive group. Unfortunately, the expression of cathepsin K was not associated with the extent of fibrosis. 2) LV phase entropy using ^{99m}Tc-sestamibi gated myocardial perfusion SPECT, which may reflect impairment of Ca²⁺-handling caused by decreased SERCA2a mRNA levels, is a novel prognostic predictor of adverse cardiac events in patients with DCM with a narrow QRS complex. 3) The combined reduction of campesterol and lathosterol that indicated intestinal cholesterol absorption and liver synthesis predicts future cardiac events in patients with early-stage DCM.

研究分野：医歯薬学

キーワード：拡張型心筋症 カテプシン

1. 研究開始当初の背景

拡張型心筋症(DCM)は、慢性かつ進行性の予後不良な疾患であり、その発症および進行機序は未だ解明されていない。現在の DCM に対する内科的治療には、利尿薬を中心とした心不全症状への対症治療、アンギオテンシン変換酵素阻害薬や 遮断薬による心リモデリング予防、両心室ペースキングによる心臓再同期療法などがあるが、いずれの治療にも 20 ~ 30% 程度の治療抵抗群が存在する。そのため、心リモデリングの機序解明とこれを応用した治療反応群の同定、新規治療法の開発が急務である。

DCM の臨床において、ドブタミン負荷による左室収縮予備能の評価は、治療後の心機能改善度を予測できるとされる。申請者らは、各種心筋症に対し左室収縮・弛緩特性の評価を継続的に行い、左室収縮予備能と血行動態指標、交感神経障害、運動耐容能(Okumura, et al. Int J Cardiol. 2011)、心筋病理における間質の線維化(Sakakibara, Okumura, et al. Diabetes Res Clin Pract. 2011)、心筋収縮関連蛋白遺伝子の発現、MRI 遅延造影効果との関連を報告し、長期予後を検討してきた。

DCM の病態には、心筋の肥大や間質の線維化などの構造的リモデリングが深く関連し、細胞外マトリックス蛋白分解酵素やアポトーシスがその過程に重要な役割を担うことが知られている。近年、リソソーム内で働く蛋白分解酵素カテプシン K が、心血管細胞より分泌され、細胞外コラーゲンやエラスチンを分解し、血管新生やリモデリングへ関与することが判明した(Circ Res 2003; Am J Pathol 2004, 2006)。さらに、カテプシン K は不全心筋において高度に発現し、培養心筋細胞においてアポトーシスへ関与することが明らかとなった(Cheng ら. Hypertension 2006, 2011; Am J Pathol 2008; Circulation 2012)。われわれは心リモデリングの機序解明において、臨床病態的には左室収縮予備能、分子学的にはカテプシン K の関与が鍵となると考えた。

2. 研究の目的

ヒト検体におけるカテプシン K の発現と臨床上的心リモデリング予測指標との関連を解明し、カテプシン K を利用した新規診断法や治療法の開発および臨床応用に展開するための基盤研究を行うことを目的とした。

- (1) ヒト DCM 検体におけるカテプシン K 発現量の確認
- (2) カテプシン K 発現量と病理学的心筋構造変化との関連を検討する。
- (3) 予後および既知の予後予測因子(とくに

- 左室収縮予備能)との関連を調べる。
(4) 治療導入後の心機能改善度(心リバースリモデリング)との関連を検討する。

3. 研究の方法

本研究の対象疾患は DCM とした。DCM の診断基準は、過去の文献報告に基づき、
(1) 心臓超音波検査にて左室駆出率 < 50%
(2) 冠動脈造影にて有意狭窄病変を認めない
(3) 心筋生検を含めた各種検査所見・臨床所見等により、原疾患としての弁膜症や二次性心筋症などが否定されたものとした。

本研究を円滑に遂行するにあたり、申請者は 3 チームより成る研究グループを組織した。臨床研究チーム

DCM 患者において以下の項目を含む臨床データの収集と検体採取を行う。

ア. 血液生化学検査

一般採血, BNP, カテコラミン濃度, RAA 系の活性評価など

イ. 心臓超音波検査

左室収縮能および拡張能の評価
治療導入後も、左室収縮機能を定期的にフォローアップし、治療反応性を確認する。

ウ. 心臓 MRI 検査 ... 遅延造影効果の有無

エ. 心臓核医学検査 ... MIBG あるいは MIBI 心筋シンチグラフィ

オ. 心肺運動負荷試験

運動耐容能評価 (peak $\dot{V}O_2$, VE/ $\dot{V}CO_2$ slope など)

カ. 心臓カテーテル検査 ... 安静時および

ドブタミン負荷時における左室圧測定 (収縮能: LVdP/dt_{max}, 弛緩能: T_{1/2})

キ. 心筋生検 ... 右室中隔より 3 材以上の検体採取を行う

ク. 予後調査 ... 自覚症状や心血管イベントの有無

基礎研究チーム

患者より得られた血液あるいは心筋検体における基礎医学的解析を行う。

ア. 遺伝子解析

イ. ELISA 法およびラジオイムノアッセイ法... 血液, 心筋細胞のカテプシン K, シスタチン C, コラーゲン代謝物など

ウ. 心筋の組織学的検討... 線維化の程度評価 (collagen volume fraction)

エ. 電子顕微鏡での心筋組織検討 ミトコンドリアの形態変化, 損傷数

データ解析チーム

各チームのデータを統合し、カテプシン K およびその関連物質の発現量と臨床データとの関連を検討する。

ア. ヒト DCM 検体 (血液および心筋) におけるカテプシン K 発現量を確認する

イ. カテプシン K 発現量と病理学的心筋構造変化との関連を検討する。

- ウ. 収縮予備能, 運動耐容能といった既知の予後予測因子との関連を調べる.
- エ. 治療導入後の心機能改善度(リバースリモデリング)との関連を調べる. 予後との直接的な関連も検討する.

4. 研究成果

(1)MRI を施行した連続 59 例の DCM 患者を対象とし, MRI における遅延造影効果(LGE)と心臓カテテル検査所見, collagen volume fraction(CVF)を用いた心筋生検検体における線維化率との関連を検討した. 27 例で LGE が陽性であった. LGE(+)群では, CVF は有意に高値であり, 左室弛緩能の指標である $LVdP/dt_{min}$ は低値であった. 多変量解析では, 線維化率の指標である %LGE は $LVdP/dt_{min}$ の独立した規定因子であった. また, LGE(+)群ではミトコンドリア mRNA 発現量は有意に低値であった. 心筋生検による侵襲的な評価と比べ, MRI による LGE を用いた非侵襲的線維化率評価は, 拡張機能障害を予測するのに有用であり, さらに DCM 患者のミトコンドリア機能異常を示唆する可能性が示された. 残念ながら, カテプシン K 発現量はこれらの線維化率との直接的な相関・関連は認められなかった.

(2) ^{99m}Tc -MIBI 心筋シンチグラフィを施行した QRS 幅の狭い(QRS < 120msec)DCM 患者 46 例を対象とし, 心筋 SPECT における LV phase entropy を計測した. LV phase entropy の中央値にて HE 群(high entropy; ≥ 0.61)と LE 群(low entropy; < 0.61)に分類し, 予後との関連を検討した. 生存解析では, HE 群では有意に心イベントが多く, LV phase entropy 高値は独立した予後規定因子であった. さらに, 収縮関連蛋白 SERCA2a-mRNA の発現は, 有意に HE 群で低かった. 本研究結果によって, LV phase entropy は SERCA2a 発現低下に基づく Ca^{2+} ハンドリング機構の障害を反映し, QRS 幅の狭い DCM 患者における新規予後予測因子となりうることを示唆された.

(3)NYHA 心機能分類 I/II であった連続 64 症例の DCM を対象とし, コレステロール動態(吸収および代謝)の指標であるカンペステロール(Camp)とラソステロール(Lath)を測定した. それぞれ中央値(Camp: 3.6 μ g/mL, Lath: 1.4 μ g/mL)によって以下の 4 群に分類し, 標準治療下での予後との関連を検討した. 正常(Normal: N)群: high-Camp/high-Lath; 吸収低下(Absorption reduce: A)群: low-Camp/high-Lath; 合成低下(Synthesis reduce: S)群: high-Camp/low-Lath; 二重低下(Double reduce: D)群: low-Camp/low-Lath. エンドポイントは, 心不全死, 非代償性心不全による入院, 致死性不整脈からなる複合心イベントとした. 全体の BNP の中央値は 114pg/mL, 平均左室駆出率は 31.4%だった. 4 群比較におい

て, D 群の総コレステロール値と心係数は最も低く, BNP 値と肺動脈楔入圧は最も高かったが, 中心静脈圧は 4 群で有意な差を認めなかった. 平均 2.4 年間のフォローアップ期間では, D 群に有意に多くの心イベントを認めた. コックス比例ハザード解析において, D 群は独立した予後規定因子であった. ROC 解析において, 総コレステロール値 153mg/dL 以下であることは D 群を感度 57%, 特異度 92% (AUC=0.76, 95%信頼区間 0.56-0.88, $p=0.001$) で診断した. これらの結果から, Camp と Lath 両者の低下は, 早期 NIDCM 患者において有用な予後指標と考えられた. 血清総コレステロール値 153mg/dL 以下は, コレステロール吸収・合成低下を反映し, 心不全による腸管・肝臓障害の簡便な早期診断指標となり得ると考えられた.

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 5 件)

1. Hirashiki A, Kondo T, Okumura T, Kamimura Y, Nakano Y, Fukaya K, Sawamura A, Morimoto R, Adachi S, Takeshita K, Murohara T. Cardiopulmonary Exercise Testing as a Tool for Diagnosing Pulmonary Hypertension in Patients with Dilated Cardiomyopathy. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2016 Feb 1. doi: 10.1111/anec.12308. [Epub ahead of print] (査読有)
2. Yamada T, Hirashiki A, Okumura T, Adachi S, Shimazu S, Shimizu S, Morimoto R, Takeshita K, Naganawa S, Kondo T, Murohara T. Prognostic impact of combined late gadolinium enhancement on cardiovascular magnetic resonance and peak oxygen consumption in ambulatory patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. *J Card Fail.* 2014 Nov; 20(11):825-32. doi: 10.1016/j.cardfail.2014.08.005. (査読有)
3. Hirashiki A, Kondo T, Adachi S, Nakano Y, Shimazu S, Shimizu S, Morimoto R, Okumura T, Murohara T. Prognostic value of pulmonary hypertension in ambulatory patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy. *Circ J.* 2014; 78(5): 1245-53. <http://doi.org/10.1253/circj.CJ-13-1120> (査読有)
4. 奥村貴裕, 清水真也, 深谷兼次, 澤村昭典, 森本竜太, 島津修三, 平敷安希博, 竹下享典, 坂東泰子, 室原豊明. 心筋収縮予備能を識る. *臨床病理(日本臨床検査医学会誌)*

5. Yamada T, Hirashiki A, Cheng XW, Okumura T, Shimazu S, Okamoto R, Shinoda N, Isoe S, Takeshita K, Naganawa S, Kondo T, Murohara T. Relationship of myocardial fibrosis to left ventricular and mitochondrial function in nonischemic dilated cardiomyopathy -a comparison of focal and interstitial fibrosis. *J Card Fail.* 2013 Aug;19(8):557-64. doi: 10.1016/j.cardfail.2013.05.018. (査読有)

〔学会発表〕(計 10 件)

1. Morimoto R, Ichii T, Aoki S, Furusawa K, Mori H, Hiraiwa H, Kondo T, Watanabe N, Kano N, Fukaya K, Sawamura A, Okumura T, Takeshita K, Murohara T. Dobutamine Stress as a Predictor of Left Ventricular Reverse Remodeling in Dilated Cardiomyopathy. 第 80 回日本循環器学会学術集会. 2016 年 3 月 18 日 ~ 20 日, 仙台国際センター (宮城県仙台市)
2. Kano N, Okumura T, Hiraiwa H, Kondo T, Aoki S, Ichii T, Furusawa K, Watanabe N, Mori H, Fukaya K, Sawamura A, Morimoto R, Bando Y, Murohara T. Aspect Ratio of Left ventricle in Cardiac Magnetic Resonance Predicts a Future Reverse Remodeling in Non-ischemic Dilated Cardiomyopathy. 第 19 回日本心不全学会総会. 2015 年 10 月 22 日 ~ 24 日, グランフロント大阪ナレッジキャピタルコングレコンベンションセンター (大阪府大阪市)
3. Fukaya K, Okumura T, Watanabe N, Naoaki K, Sawamura A, Mori H, Morimoto R, Takeshita K, Bando Y, Murohara T. Cardiomyocyte Porosity is a Novel Predictor of Left ventricular Reverse Remodeling in Patients with Dilated Cardiomyopathy. 第 79 回日本循環器学会学術集会. 2015 年 4 月 24 日 ~ 26 日, 大阪国際会議場 (大阪府大阪市)
4. Kano N, Okumura T, Sawamura A, Watanabe N, Mori H, Morimoto R, Hirashiki A, Bando Y, Murohara T. Left Ventricular Contractile Entropy in 99mTc-Sesta MIBI SPECT is a Novel Prognostic Predictor in patients with Non-ischemic Dilated Cardiomyopathy. 第 18 回日本心不全学会. 2014 年 10 月 10 日 ~ 12 日, 大阪国際会議場 (大阪府大阪市)
5. Morimoto R, Okumura T, Kano N, Watanabe N, Mori H, Fukaya K, Sawamura A, Takeshita K, Bando Y, Murohara T. Prognostic value of alveolar diffusing capacity in patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy. 第 18 回日本心不全学会. 2014 年 10 月 10 日 ~ 12 日, 大阪国際会議場 (大阪府大阪市)
6. Sawamura A, Okumura T, Fukaya K, Shimizu S, Morimoto R, Shimazu S, Hirashiki A, Takeshita K, Bando Y, Murohara T. Blood pressure alterations during heart failure treatment in patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy. ESC congress 2014. 2014 Aug 30 ~ 2014 Sep 3. Congress centre Fira Gran Via. Barcelona, Spain
7. Sawamura A, Okumura T, Fukaya K, Shimizu S, Morimoto R, Shimazu S, Hirashiki A, Takeshita K, Bando Y, Murohara T. Circadian Blood Pressure Pattern: A Novel Prognostic marker in Non-ischemic Dilated Cardiomyopathy. 7th Asian Pacific Congress of Heart Failure. 2014 Apr 17 ~ 2014 Apr 19. Bali Nusa Dua Convention Center, Indonesia
8. Sawamura A, Okumura T, Fukaya K, Shimizu S, Morimoto R, Shimazu S, Hirashiki A, Takeshita K, Bando Y, Murohara T. Abnormality of Nighttime Blood Pressure as a Novel prognostic Marker in patients with Dilated Cardiomyopathy. AHA Scientific Sessions 2013. 2013 Nov 16 ~ 2013 Nov 20. Dallas, USA
9. Shimizu S, Okumura T, Morimoto R, Shimazu S, Yamada T, Hirashiki A, Takeshita K, Bando Y, Yamada S, Murohara T. Relation between myocardial contractile reserve and exercise capacity in prognosis of non-ischemic dilated cardiomyopathy. ESC congress 2013, 2013 Aug 31 ~ 2013 Sep 4, Amsterdam, Netherlands
10. 奥村貴裕, 清水真也, 平敷安希博, 河野裕治, 竹下享典, 山田純生, 室原豊明. 拡張型心筋症における最大酸素摂取量は, 心収縮予備能を反映し, 逆リモデリング・予後予測に有用である. 第 19 回日本心臓リハビリテーション学会. 2013 年 7 月 13 ~ 14 日. 仙台国際センター (宮城県仙台市)

〔図書〕(計 4 件)

1. 奥村貴裕, 加藤真帆人, 土肥薫, 石原里美, 瀬尾由広, 佐藤直樹, 柴垣有吾, 廣谷信一, 佐藤幸人, 大宮一人, 矢川真弓子, 橋村一彦, 衣笠良治, 貞廣威太郎, 安村良男, 永瀬聡, 木田圭亮, 大西勝也, 絹川弘一郎,

大石 醒悟ほか．総合医学社．救急・集中治療「心不全 - その常識は正しいか - 」.2016年．149頁(115-123)

2. 奥村 貴裕，大谷 朋仁，加藤 真帆人，坂田 泰彦，池田 善彦，朝野 仁裕，中村 一文，岸拓 弥，佐藤 直樹，中谷 敏，鈴木 誠，木田 圭亮，猪又 孝元，安達 仁，溝手 勇，築瀬 正伸，大石 醒悟，北岡 裕章，篠岡 太郎ほか．最新医学社．最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 心不全．2015年．200頁(109-119)
3. 奥村 貴裕，今井 靖，猪又 孝元，波多野 将，絹川 真太郎，高濱 博幸，假屋 太郎，牛越 博昭，米倉 剛，今村 輝彦，星出 聡，菅野 康夫，鈴木 健吾，高山 守正，江口 和男，長山 雅俊，中井 俊子，絹川 弘一郎，塚本 泰正，長尾 大志，森田 啓行ほか．診断と治療社．心不全のすべて．2015年．405頁(259-265)
4. Okumura T and Murohara T. Contractile Reserve in Dilated Cardiomyopathy. In: Veselka J.(ed.) Cardiomyopathies. Rijeka: InTech, 2013, 330pages(47-59).

〔その他〕

ホームページ

希少疾病ライブラリ 特発性拡張型心筋症
(DCM: idiopathic dilated cardiomyopathy)

奥村 貴裕

<http://www.carenet.com/report/library/general/rare/dcm.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥村 貴裕 (TAKAHIRO, OKUMURA)
名古屋大学, 医学部附属病院・病院助教
研究者番号: 60635598

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

室原 豊明 (TOYOAKI, MUROHARA)
名古屋大学・医学系研究科・教授
研究者番号: 90299503

坂東 泰子 (BANDO, YASUKO)
名古屋大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 60452190

森本 竜太 (RYOTA, MORIMOTO)
名古屋大学・医学系研究科・寄附講座助教
研究者番号: 60635598