

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460407

研究課題名(和文) 遺伝性心筋症の病因と病態形成機構の解明を基盤とした心不全治療・予防戦略の開発

研究課題名(英文) Development of new treatment and prevention strategy of heart failure based on novel pathogenesis of genetic cardiomyopathy.

研究代表者

林 丈晴 (Hayashi, Takeharu)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授

研究者番号：90287186

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：(1)次世代シーケンサー(NGS)を用いた心筋症関連遺伝子67種の変異解析により、予後の悪い若年発症肥大型心筋症(HCM)では非家族性でも、高率に変異が同定され、de novo例や重複変異を多く認めた。またHCMでは新規となるDesmin遺伝子のホモ接合体変異を見出した。(2) HCM多発家系へのエクソーム解析で、新規の心筋症原因候補遺伝子Xの変異を同定し、さらに他のHCMに複数の別のX変異を見出した。Xは心肥大抑制因子であると仮説をたて解析中である。(3) 新規心筋症候補遺伝子Aの複数の欠損変異をDCM患者に、HCMにはAの複数のミスセンス変異を見出した。変異意義について解析中である。

研究成果の概要(英文)：(1)Using next-generation sequence (NGS) systems, we analyzed 67 cardiomyopathy-associated genes for various types of cardiomyopathy patients. Out of those, pediatric hypertrophic cardiomyopathy (HCM) patients who was high risk group of sudden cardiac death identified the mutations at high rate for not only familial but non-familial cases. Furthermore, novel homozygous desmin gene mutation was found in pediatric HCM. (2) Novel gene X mutation have been found in large HCM family with whole exome sequence. Some different mutations of gene X were found in HCM. (3) Also, novel gene A mutations associated with cardiomyopathy were found. Deletion and missense mutations of gene A were respectively identified in dilated cardiomyopathy (DCM) and HCM. Now we investigate the role of gene X and A for developing cardiomyopathy.

研究分野：人類遺伝学 循環器内科学 内科学 細胞生物学

キーワード：心筋症 遺伝子

1. 研究開始当初の背景

世界的な高齢化、生活習慣病の増加を背景に、心不全患者の世界的増加は著しく、その管理、治療は生命予後と直結し、解決すべき喫緊の課題である。これまで心不全の病態は収縮障害が主眼であると考えられてきたが、最近の報告では収縮能の保たれた心不全(拡張障害による心不全)も、収縮障害同様に予後が悪いことが判明した。ことに、収縮障害に対しては、様々な薬剤、デバイスが開発されその予後が改善してきたが、拡張障害の予後を改善する薬剤は存在しないのが現状である。心不全病態を遺伝的に解明する研究対象として、単因子疾患である遺伝性心筋症があり、これには大きく分けて2つの病型、肥大型心筋症(HCM)と拡張型心筋症(DCM)がある。なかでもHCMは、一般集団中の有病率が0.2%と頻度が高い疾患である。HCMの病態は心肥大と左室拡張障害であり、若年の心臓突然死の最も多い原因である。一方で、DCMの病態は進行性の左室収縮障害と左室拡大であり、重症心不全例が多い。従って、これらの疾患の病因と病態形成機構を究明することで、複合的な要因で生じる一般的な心不全病態を理解し、早期診断、早期治療さらには発症予防に活用できると思われる。我々はこれまで、遺伝性心筋症の病因・病態解明に関する研究を実施し、多数の心筋症原因遺伝子を世界に先駆けて発見し、その変異による機能変化について報告してきた。さらに遺伝子異常の知見に立脚にした治療法・発症予防法の開発も行っている。しかしながら現時点でも、遺伝性肥大型心筋症の約40%、遺伝性拡張型心筋症の70%で原因遺伝子が解明されていない。個々の症例について、既知原因遺伝子の病因変異のみならず、未知なる原因遺伝子を同定し、それぞれ病因変異に基づく、病態形成メカニズムを解明し新たな治療ターゲットを模索することが必要であり、このことは心筋症のみならず、一般の心不全についての病態解明、治療法開発にも繋がる。

2. 研究の目的

重症心不全を来す遺伝性心筋症の病因と病態形成機構を解明し、心不全に対する早期診断・早期治療・発症予防に関する新たな対策を講じる事を目標とする。本研究では、わが国における肥大型心筋症および拡張型心筋症の病因・病態究明のため、(1)家族例および非家族例を対象とした既知の原因遺伝子群の網羅的変異検索、(2)心筋症多発家系を対象とした網羅的変異解析であるエクソームシーケンスによる新規原因遺伝子の同定、(3)既知原因遺伝子に変異がない症例を対象とした候補遺伝子アプローチによる新規原因遺伝子の探索、により新規原因遺伝子変異による機能および形態形成異常を解析し、心不全予防・治療法の新たなターゲットを得ることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)既知原因遺伝子群の変異解析:国内の多数の共同研究施設から送られる心筋症患者の血液試料からDNAを抽出し、既知の67種の心筋症関連遺伝子を次世代シーケンサ(NGS)を用いて、体系的・網羅的に変異検索する。変異は国内外のvariation databaseを用いて抽出し、複数のin-silico解析を行い、アリル頻度が低く変異による機能変化を伴う可能性の高いものを有意変異として抽出する。家族内解析もできる限り行い、浸透率や重複変異の状況、またde novo変異について解析を行う。

(2)HCM多発家系を対象とした網羅的変異解析: HCM多発家系例にNGSによるエクソーム解析を行い、アミノ酸変化を伴い罹患者が有する変異の中から、国内外の多型データベースを用いて、変異を絞り込み、家系内の全ての罹患者が有する遺伝子変異を同定する。同定された遺伝子変異の遺伝子全長に対する変異解析を本研究室が有する全てのHCM DCM発端者を解析し、同一遺伝子に他の変異が有するのかが解析する。さらに、新規遺伝子変異による病因を検討する。

(3)原因不明症例の候補遺伝子解析:

既知の遺伝子に変異が検出されない原因不明症例について、候補遺伝子アプローチによる新規原因遺伝子の同定を行う。複数の候補遺伝子全長についてNGSにより解析を行い、アリル頻度が低く変異による機能変化を伴う可能性の高いものを有意変異として抽出する。さらに、新規遺伝子変異による病因を遺伝子に応じて検討する。

4. 研究成果

(1)既知原因遺伝子群の変異解析:次世代シーケンサー(NGS)を用いて67種の既知の心筋症原因遺伝子の変異解析の系を立ち上げ、全国多施設より送付された肥大型心筋症(HCM)、拡張型心筋症(DCM)患者を中心に、多くの病的変異を同定し、結果を各施設に詳細に報告した。特にHCMに関して、成人の非家族例では10数%程度しか同定されない遺伝子変異の同定率が小児、若年発症非家族例では70%以上と高率であり、de novo例や重複変異が多く同定された。さらに予後の悪い若年発症拘束型心筋症では主としてトロポニン複合体の変異を認めた。さらにHCMでは新規となるDesmin遺伝子のホモ接合体変異を若年発症HCMに見出した。また、中年以降稀に認められ、予後の悪い心室中部閉塞型肥大型心筋症の変異解析では、通常HCMで見られるサルコメア変異の同定率が低く、通常HCMとは異なる病因形成の可能性を示した。

(2)HCM多発家系を対象とした網羅的変異解析: HCM多発家系に対しNGSを用いたエクソーム解析を施行し、家系内の罹患者すべてに共通に見出され、国内外の健常者集団に見出されない新規の心筋症原因候補遺伝子Xの変異を同定した。さらに他のHCMに遺伝子X

の別の複数の変異を見出した。X は液性因子をコードしているが、その機能はこれまで不明である。X は心肥大抑制因子であると仮説をたて、複数の培養心筋細胞を薬剤刺激により肥大させ、X を投与したところ、比較的低濃度で肥大マーカーが抑制された。現在ゲノム編集による X の変異細胞や、変異動物を作成し、変異による肥大誘発、また X の肥大抑制メカニズムを多面的に検討中であり、X を用いた肥大、拡張障害の新規治療法開発へ向けて進めている。

(3)原因不明症例の候補遺伝子解析：新規心筋症候補遺伝子 A の複数の欠損変異を DCM 患者に見出し、HCM には A の複数のミスセンス変異を見出した。これらは、健常者集団には認められず、in-silico 解析で機能変化が強く予測される変異であった。ゲノム編集による変異細胞を作成し、さらなる解析を行う予定である。

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 4 件)

1. Oikawa M, Sakamoto N, Kobayashi A, Suzuki S, Yoshihisa A, Yamaki T, Nakazato K, Suzuki H, Saitoh S, Kiko Y, Nakano H, Hayashi T, Kimura A, Takeishi Y. Familial hypertrophic obstructive cardiomyopathy with the GLA E66Q mutation and zebra body. BMC Cardiovasc Disord. 2016.05;16:83 (査読あり)
2. 林 丈晴 肥大型心筋症の遺伝子解析の現状と多様な病因 呼吸と循環 63 巻 7 号 615-622 2015 年 (査読なし)
3. Kadota C, Arimura T, Hayashi T, Naruse TK, Kawai S, Kimura A. Screening of sarcomere gene mutations in young athletes with abnormal findings in electrocardiography: identification of a MYH7 mutation and MYBPC3 mutations. J Hum Genet. 2015 Oct;60(10):641-645. (査読あり)
4. Hayashi T, Kimura A. Development of personalized medicine and therapy for cardiomyopathy based on the

pathogenesis: Identification of novel disease causative gene by comprehensive mutation analysis. J. Seizon and Life Sci.. 2014; 25 221-227.

(査読なし)

〔学会発表〕(計 8 件)

1. Inagaki N, Hayashi T, Takei Y, Chikamori T, Yamashina A, Kimura A. Genetic analysis of hypertrophic cardiomyopathy with mid-ventricular obstruction phenotype. 第 81 回日本循環器学会 学術集会 2017 年 03 月 18 日 石川県立音楽堂(石川県金沢市)
2. 林 丈晴、谷本幸介、木村彰方. 若年、小児発症の肥大型及び拘束型心筋症の原因遺伝子解析. 第 2 回 日本心筋症研究会 2016 年 05 月 14 日 松本市市民芸術館(長野県松本市)
3. 稲垣夏子 林丈晴 武井康悦 近森 大志郎 山科章 木村彰方 心室中部閉塞型肥大型心筋症の病因変異探索 第 60 回日本人類遺伝学会 2015 年 10 月 15 日 京王プラザホテル(東京新宿区)
4. 林丈晴、谷本幸介、木村彰方 若年及び小児の肥大型、拘束型心筋症の遺伝子変異解析 第 60 回日本人類遺伝学会 2015 年 10 月 15 日 京王プラザホテル(東京都新宿区)
5. 林丈晴、谷本幸介、木村彰方 心筋症の遺伝子解析の現状(シンポジウム、招待) 第 1 回日本心筋症研究会 2015 年 7 月 4 日 一橋講堂(東京都千代田区)
6. 稲垣夏子 林丈晴 武井康悦 近森 大志郎 山科章 木村彰方 心室中部閉塞型肥大型心筋症の病因変異探索 第 1 回日本心筋症研究会 2015 年 7 月 4 日 一橋講堂(東京都千代田区)
7. 林丈晴、谷本幸介、木村彰方. 遺伝性心

筋症変異スクリーニングシステムの構築.
日本人類遺伝学会第59回大会 2014年11
月20日 タワーホール船堀(東京都江戸
川区)

8. 稲垣夏子、林丈晴、武井康悦、近森大志
郎、谷本幸介、山科章、木村彰方。心室
中部閉塞型肥大型心筋症の病因変異探索。
日本人類遺伝学会第59回大会 2014年11
月20日 タワーホール船堀(東京都江戸
川区)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 丈晴 (HAYASHI TAKEHARU)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教
授
研究者番号：90287186

(2) 研究分担者

木村彰方 (KIMURA AKINORI)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授
研究者番号：60161551

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()