

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09082

研究課題名(和文)肥大型心筋症および類縁疾患の発症・進展・予後に関する分子遺伝疫学的研究

研究課題名(英文) Research in molecular and genetic epidemiology of hypertrophic cardiomyopathy and other cardiomyopathies

研究代表者

藤野 陽 (FUJINO, Noboru)

金沢大学・保健学系・准教授

研究者番号：40361993

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、82名の肥大型心筋症(HCM)症例(男性57.3%、平均年齢55.4歳)を対象として次世代シーケンサーによる遺伝子解析を施行し、44例(54%)で原因遺伝子変異を同定した。全例において心臓MRI所見を解析した結果、ガドリニウム遅延造影(LGE)は60例(73%)に認められ、%LGEの上昇は原因遺伝子変異の存在を予測する独立した因子であった(オッズ比=2.12、 $p<0.01$ )。%LGEの変異予測についてのROC解析ではAUC=0.96と高い精度を有し、カットオフ値>8.1%において、感度=93.2%、特異度=89.5%、陽性的中率=91.1%、陰性的中率=91.9%であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥大型心筋症(HCM)の一部は、心筋線維化と収縮不全をきたす。HCMの原因は心筋サルコメア遺伝子の変異で、原因遺伝子による臨床病型の違いが報告されている。最近、心臓MRIガドリニウム遅延造影(LGE)により、HCMの本態である心筋線維化が検出可能となった。本研究では、LGEの定量的評価により遺伝子変異の存在が予測可能か否かを検証した。HCM症例を対象として原因遺伝子と心臓MRI所見を解析した結果、%LGEの上昇は、原因遺伝子変異の存在を予測する独立した因子であった。本研究結果から、臨床的に汎用されている心臓MRI検査により、HCM症例における原因遺伝子変異の存在を予測できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Cardiac magnetic resonance (CMR) with late gadolinium enhancement (LGE) revealed a variation in the extent of myocardial scarring, a pathological hallmark of hypertrophic cardiomyopathy (HCM). We aimed to investigate whether variations in the extent of LGE in HCM patients can be explained by the presence or absence of disease-causing mutations. We analyzed data from 82 unrelated HCM patients who underwent both LGE-CMR and next-generation sequencing. We identified disease-causing sarcomere gene mutations in 44 cases (54%). The extent of LGE on CMR was an independent factor for predicting mutation-positive HCM (odds ratio 2.12 [95% confidence interval 1.5-3.8],  $P<0.01$ ). The area under the curve of %LGE was greater than that of the conventional Toronto score for predicting the presence of a mutation (0.96 vs. 0.69,  $P<0.01$ ). Sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of %LGE (cutoff >8.1%) were 93.2%, 89.5%, 91.1%, and 91.9%, respectively.

研究分野：心筋症

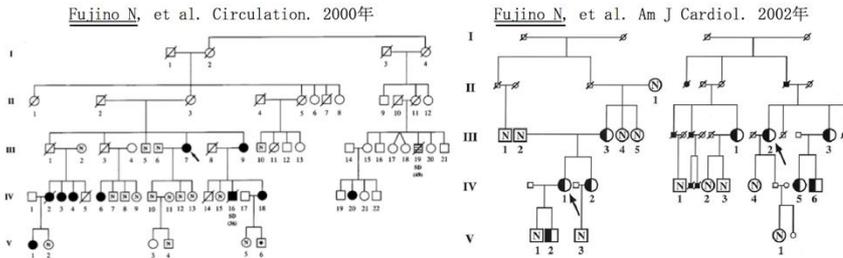
キーワード：肥大型心筋症 遺伝子解析 次世代シーケンサー 心筋線維化 心臓MRI 拡張型心筋症 心不全 不整脈

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

1. 研究開始当初の背景

- (1) 肥大型心筋症は、幼小児期より心臓突然死を発症する特発性心疾患であり、若年者の突然死の原因として最も頻度が高い。従って、その早期発見は突然死を予防する上で重要な課題である。1990年に肥大型心筋症の原因遺伝子：心筋ベータミオシン重鎖遺伝子を世界に先駆けて報告したハーバード大学医学部遺伝学部門サイドマン研究室をはじめとして、世界中で肥大型心筋症の原因遺伝子が検索され、心筋サルコメア構成蛋白をコードする10種類以上の遺伝子の変異が病因として報告されてきた。研究代表者らも心筋トロポニンI遺伝子変異による肥大型心筋症の大家系を見出し(図1左)、詳細な臨床像を世界で初めて明らかにした。

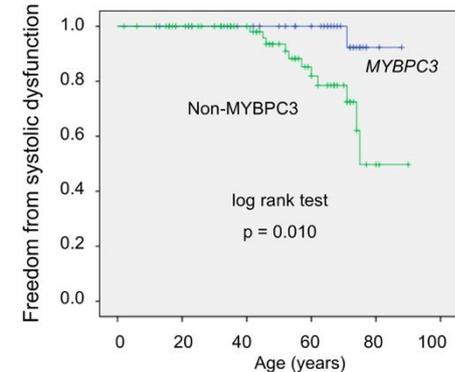
図1 [心筋トロポニンIおよびT遺伝子変異を保因する肥大型心筋症大家系]



また心筋トロポニンT遺伝子変異による肥大型心筋症は、中年以降に収縮不全をきたして拡張型心筋症と類似の病態を取り、心不全に陥りやすいことを解明した(図1右)。

- (2) 研究代表者は2000年から2003年まで米国ハーバード大学サイドマン研究室に留学して帰国後、研究課題「肥大型、及び拡張型心筋症におけるフォスホランパン、FKBP12.6遺伝子解析」(若手研究B、平成16~18年度)、「肥大型及び拡張型心筋症の病態解明：分子遺伝学的、臨床機能解析的、両アプローチから」(基盤研究C、平成19~21年度)を遂行し、刺激伝導系障害を伴う心筋症の原因遺伝子変異を特定し、変異保因者に早期にペースメーカーまたは植込型除細動器(ICD)治療を行うことにより、心臓突然死を予防できる可能性を示した。研究課題「肥大型及び拡張型心筋症の網羅的遺伝子解析によるテーラーメード治療の確立」(基盤研究C、平成22~24年度)では、レニン・アンジオテンシン系遺伝子多型と肥大型心筋症の収縮不全進行との関連を示した。更に、157例の遺伝子変異確定肥大型心筋症例の解析にて、非ミオシン結合蛋白C遺伝子変異保因者(Non-MYBPC3)は「収縮不全合併の危険性」が高いことを示した(図2、Fujino N, et al. Clin Cardiol, 2013)。これらの研究成果から、肥大型心筋症の収縮不全に関与する遺伝学的要因の手がかりが見え始めてきたものの、従来の遺伝子解析法では遺伝子変異検出に多くの労力がかかり、遺伝子変異検出率の向上が大きな課題であることが判明した。

図2 [原因遺伝子の差異による収縮不全合併頻度の違い]



- (3) そこで包括的な前向き研究の遂行と同時に遺伝子変異検出率を向上させる目的で、研究課題「肥大型心筋症全例登録による発症と予後に関与する要因および治療法解明に関する研究」(基盤研究C、平成26~28年度)を遂行した。全エクソーム解析(次世代シーケンサー)を開始して、2家系においてミオシン必須軽鎖遺伝子の変異 p.Arg94His を検出した。この実績から次世代シーケンス解析は、第1に網羅的候補遺伝子解析(パネル解析)を遂行し、本解析で遺伝子変異が未検出の大家系に対して、第2に全エクソーム解析を施行するのが最も効率の良い解析法であることが判明した。続けて、本研究課題「肥大型心筋症および類縁疾患の発症・進展・予後に関する分子遺伝疫学的研究」(基盤研究C、平成29~令和元年度)を立案し、遂行した。

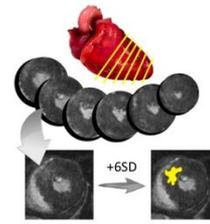
2. 研究の目的

肥大型心筋症の原因は心筋サルコメア蛋白遺伝子群の変異であることが判明しており、原因遺伝子による臨床病型の違いが報告されている。しかしながら、臨床現場から遺伝子検査へのアクセスは保険収載もなく制限されているのが現状である。一方で比較的簡便に実施可能な心臓MRI ガドリニウム遅延造影(LGE)により、本症の病理学的本態である心筋の線維化を捉えることが可能となった。本研究の目的は、サルコメア蛋白遺伝子変異が心筋の線維化を直接的にもたらすという仮説のもと、LGEの定量的評価により遺伝子変異の存在が予測可能であるか否かを検証することであった。

### 3. 研究の方法

金沢大学附属病院において肥大型心筋症と診断され、心臓MRIによる評価が行われた82名を研究の対象とした。遺伝子解析に関しては、次世代シーケンサーで多数の候補遺伝子を搭載した遺伝子パネルで実施した。心臓MRI所見の解析では、心筋短軸像3-4スライスにおいて正常心筋部位を基準とした場合の6SD以上の輝度をもつ心筋部位をLGEとして定義した。全てのスライスにおけるLGE総面積をトレースにより求めた心筋総面積で除した値を%LGEと定義した(図3)。

図3 心臓MRIによるLGE定量化



$$\%LGE = \frac{\text{LGE総面積 (pixel)}}{\text{心筋総面積 (pixel)}} \times 100$$

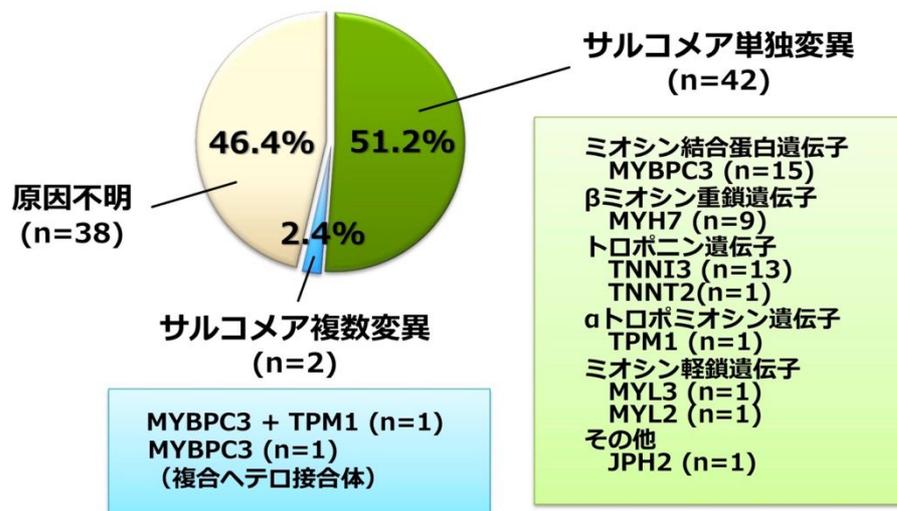
### 4. 研究成果

臨床的に診断された肥大型心筋症82例(男性 57.3%、平均年齢 55.4歳、平均最大心筋壁厚 19.2 mm)の患者背景と臨床指標は、図4の通りである。その中で、原因遺伝子変異が同定されたのは、44例(54%)であった(図5)。LGEは、60例(73%)に認められた。また%LGEの平均値は、9.9%であった。%LGEの上昇は、原因遺伝子変異の存在を有意に予測する独立した因子であった(オッズ比 = 2.12、95%CI = 1.5-3.8、 $p < 0.05$ )。%LGEの変異予測についてのROC解析では、AUC = 0.96と高い精度を有した。カットオフ値 > 8.1%において、感度 = 93.2%、特異度 = 89.5%、陽性的中率 = 91.1%、陰性的中率 = 91.9%だった。古典的な遺伝子変異予測ツールである Toronto score との精度比較検定を行い、%LGE が従来法に比して有意に優れた変異予測法であることを示した。

図4 結果：患者背景、臨床指標

n=82	<b>患者背景</b>	年齢 ± SD	55.4±16.5
		男性, n (%)	47 (57.3%)
		家族性, n (%)	29 (35.4%)
	<b>心臓超音波検査</b>	左室流出路閉塞, n (%)	16 (19.5%)
		心尖部肥大型, n (%)	12 (14.6%)
		左房径 (mm) ± SD	40.1±6.4
		左室最大壁厚 (mm) ± SD	19.2±5.3
		左室駆出率 (%) ± SD	68.2±11.1
	<b>リスク因子</b>	突然死家族歴, n (%)	13 (15.9%)
		失神, n (%)	6 (7.3%)
		致死的不整脈, n (%)	9 (11.0%)
		非持続性心室頻拍, n (%)	10 (12.2%)
		壁厚>30mm, n (%)	5 (6.1%)

図5 遺伝子解析結果および責任遺伝子



肥大型心筋症における間質線維化についてはサルコメア蛋白遺伝子変異に起因するコラーゲン生成関連パスウェイの活性化による機序が示されており、心筋肥大が顕在化する以前から存在する一次変化であると認識されている。一方で、LGEが検出する線維化はreplacement fibrosis(線維性瘢痕)と呼称され、主に壊死心筋細胞が線維組織に置換されて起こる二次性変化として捉えられてきた。本研究では、肥大型心筋症におけるLGEの定量的評価は、年齢などの時間的要素とは

独立して遺伝子変異の存在を予測し、サルコメア変異と線維性瘢痕形成との直接的な関係を示唆する結果だった。結論として、肥大型心筋症におけるLGE定量評価はサルコメア蛋白遺伝子変異の有無を予測し、本症の管理戦略上有用であると考えた。

< 引用文献 >

Ryota Teramoto, Noboru Fujino, Tetsuo Konno, Akihiro Nomura, Yoji Nagata, Toyonobu Tsuda, Hayato Tada, Kenji Sakata, Masakazu Yamagishi, Kenshi Hayashi, Masa-aki Kawashiri. Late gadolinium enhancement for prediction of mutation-positive hypertrophic cardiomyopathy on the basis of panel-wide sequencing. *Circulation* 2018; 82: 1139-1148

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tsuda Toyonobu, Hayashi Kenshi, Fujino Noboru, Konno Tetsuo, Tada Hayato, Nomura Akihiro, Tanaka Yoshihiro, Sakata Kenji, Furusho Hiroshi, Takamura Masayuki, Kawashiri Masa-aki, Yamagishi Masakazu	4. 巻 16
2. 論文標題 Effect of hypertrophic cardiomyopathy on the prediction of thromboembolism in patients with nonvalvular atrial fibrillation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Heart Rhythm	6. 最初と最後の頁 829 ~ 837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hrthm.2018.11.029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Teramoto R, Fujino N, Konno T, Nomura A, Nagata Y, Tsuda T, Tada H, Sakata K, Yamagishi M, Hayashi K, Kawashiri MA.	4. 巻 82
2. 論文標題 Late Gadolinium Enhancement for Prediction of Mutation-Positive Hypertrophic Cardiomyopathy on the Basis of Panel-Wide Sequencing.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circ J.	6. 最初と最後の頁 1139-1148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-17-1012.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hodatsu Akihiko, Fujino Noboru, Uyama Yuki, Tsukamoto Osamu, Imai Okazaki Atsuko, Yamazaki Satoru, Seguchi Osamu, Konno Tetsuo, Hayashi Kenshi, Kawashiri Masa aki, Asano Yoshihiro, Kitakaze Masafumi, Takashima Seiji, Yamagishi Masakazu	4. 巻 6
2. 論文標題 Impact of cardiac myosin light chain kinase gene mutation on development of dilated cardiomyopathy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ESC Heart Failure	6. 最初と最後の頁 406 ~ 415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ehf2.12410	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究 分担者	林 研至  (HAYASHI Kenshi)  (00422642)	金沢大学・附属病院・助教   (13301)	
研究 分担者	山岸 正和  (YAMAGISHI Masakazu)  (70393238)	金沢大学・医学系・教授   (13301)	