

熊本大学学術リポジトリ

Kumamoto University Repository System

Title	肥大型心筋症における冠攣縮性狭心症の頻度と臨床的特徴
Author(s)	本多, 剛
Citation	
Issue date	2008-03-25
Type	Thesis or Dissertation
URL	http://hdl.handle.net/2298/11093
Right	

学位論文

Doctor's Thesis

肥大型心筋症における冠攣縮性狭心症の頻度と臨床的特徴

(Morbidity and clinical characteristics of coronary spastic angina
in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy)

本多 剛

Tsuyoshi Honda

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻循環器病態学

指導教員

小川 久雄 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻循環器病態学

2008年3月

学 位 論 文

Doctor's Thesis

論文題名：肥大型心筋症における冠攣縮性狭心症の頻度と臨床的特徴

(Morbidity and clinical characteristics of coronary spastic angina
in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy)

著 者 名 : 本 多 剛
Tsuyoshi Honda

指導教員名：熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻循環器病態学
小川 久雄 教授

審査委員名 : 分子遺伝学担当教授 尾池 雄一
生体機能薬理学担当教授 光山 勝慶
心臓血管外科学担当教授 川筋 道雄
代謝内科学担当教授 荒木 栄一

2008年3月

目次

1. 要旨	4-7
2. 参考論文	8
3. 謝辞	9
4. 略語一覧	10
5. 研究の背景と目的	11-20
1. 肥大型心筋症について	
2. 肥大型心筋症と冠動脈疾患	
3. 冠攣縮性狭心症	
4. 実験動物における心筋症と冠攣縮	
5. 本研究の目的	
6. 実験方法	21-24
1. 対象	
2. 心臓カテーテル検査	
3. 冠攣縮性狭心症の定義	
4. 冠危険因子	
5. 統計学的解析	
7. 結果	25-33
1. 冠攣縮群と非冠攣縮群における冠危険因子の比較	
2. アセチルコリン負荷により誘発された冠攣縮の特徴	
3. 冠攣縮群と非冠攣縮群における心機能・Maron 分類の比較	
4. 冠攣縮群と非冠攣縮群における SGCD 遺伝子多型の比較	
5. 冠攣縮群と非冠攣縮群における eNOS 遺伝子多型(-786T/C)の比較	
6. 冠攣縮群と非冠攣縮群における eNOS 遺伝子多型(Glu298Asp[894G/T])の比較	
7. 冠攣縮群と非冠攣縮群における PON1 遺伝子多型(Gln192Arg[575A/G])の比較	
8. 単変量および多変量解析	
8. 考察	34-39
9. 結語	40
10. 参考文献	41-49

要旨

肥大型心筋症患者は、冠動脈狭窄病変がないにもかかわらず、狭心症様の胸部症状を自覚することが多い。これまでに肥大型心筋症患者において冠攣縮が心筋虚血を引き起こし得ることが報告されている。最近、デルタ・サルコグリカンがマウスにおける肥大型心筋症と冠攣縮の病態に重要な役割を果たしていることが報告された。今回、肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症合併例にデルタ・サルコグリカン遺伝子多型との関連について検討した。

熊本大学医学部附属病院循環器内科に入院し、アセチルコリン負荷を含めた心臓カテーテル検査を施行された肥大型心筋症患者連続 70 例を対象とした。さらに冠攣縮が誘発された群と誘発されなかった群について、冠危険因子や心機能との関連について検討した。また遺伝子解析について同意が得られた 64 例についてはデルタ・サルコグリカン遺伝子多型に加えて、これまで冠攣縮性狭心症との関連が報告されている遺伝子多型についても検討した。

対象患者 70 例中 31 例(44.3%)で冠攣縮が誘発された。冠攣縮が誘発された 31 例と誘発されなかった 39 例について、喫煙を含めた冠危険因子や心機能には有意な関連を認めなかった。過去に日本人の冠攣縮性狭心症との関連が報告されている遺伝子多型も肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併とは関連していなかった。しかしながらデルタ・サルコグリカン遺伝子の 5'-非翻訳領域の遺伝子多型については肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併例と有意な関連を認めた。デルタ・サルコグリカン遺伝子多型が肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症の合併に及ぼす影響を評価するために単変量および多変量解析をおこなったところ、この遺伝子多型のみが有意に影響していることが示された(オッズ比: 3.1)。

肥大型心筋症に合併した冠攣縮性狭心症の詳細なメカニズムは不明であるが、従

来から日本人の冠攣縮性狭心症への関与が指摘されている喫煙や遺伝的素因は影響しておらず、異なるメカニズムが存在している可能性が考えられた。

デルタ・サルコグリカンの5'・非翻訳領域の遺伝子多型は、日本人肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併に影響している可能性がある。この遺伝子多型のスクリーニングは、肥大型心筋症患者において冠攣縮性狭心症の合併を検討するのに有用な方法となり得ることが示唆された。

Summary

Patients with hypertrophic cardiomyopathy (HCM) frequently complain of angina-like symptoms in the absence of organic coronary stenoses. Coronary spasm may cause myocardial ischemia in HCM patients. Delta-sarcoglycan plays a crucial role in the pathogenesis of HCM and coronary spasm in a mouse model. The aim of this study was to investigate whether the delta-sarcoglycan gene polymorphism was associated with occurrence of coronary spasm in Japanese patients with HCM.

Seventy patients with HCM underwent coronary angiography and received acetylcholine provocation test. Coronary risk factors and cardiac function were evaluated in the HCM patients. Furthermore, 5'-untranslated region (UTR) G to C polymorphism on delta-sarcoglycan gene and the polymorphisms associated with coronary spasm in Japanese were evaluated in the HCM patients. In 31 (44.3%) of 70 HCM patients, coronary spasm was induced by the provocation. None of the coronary risk factors was significantly different between the coronary spasm group and the non-coronary spasm group. The 5'-UTR gene polymorphism was associated with the occurrence of coronary spasm with an additive effect on the coexistence ($p=0.025$), while other gene polymorphisms not. Multiple logistic regression analysis demonstrated that the C allele of 5'-UTR polymorphism was a significant risk factor for coronary spasm in patients with HCM (odds ratio, 3.1; 95% confidence interval, 1.0 to 9.5; $p=0.045$) that was independent of traditional coronary risk factors.

Although we did not determine the mechanisms by which 5'-UTR polymorphism on the SGCD gene influences the development of CSA and HCM, there were no differences in coronary risk factors between HCM patients with or without CSA, indicating that the pathogenesis of the coexistence of HCM and CSA might be unique as compared

with the pathogenesis of classical CSA reported previously.

The 5'-UTR polymorphism on delta-sarcoglycan gene was associated with coronary spasm in Japanese patients with HCM. Screening the delta-sarcoglycan gene polymorphism might be a useful clinical strategy to evaluate the genetic risk on coexistence of HCM and CSA.

発表論文リスト

参考論文

①関連論文

1. Honda, T., Sugiyama, S., Sakamoto T., Kaikita, K., and Ogawa, H.
Impact of delta-sarcoglycan gene polymorphism on the occurrence of coronary spastic angina in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy.
Circ J. 71: 1263-1267, 2007

②その他の論文

1. Honda, T., Sakamoto, T., Miyamoto, S., Sugiyama, S., Yoshimura, M., and Ogawa, H.
Successful coronary stenting of the left anterior descending artery at the branching site of the targeted septal perforator immediately after percutaneous transluminal septal myocardial ablation in hypertrophic obstructive cardiomyopathy.
Internal Medicine. 44: 722-726, 2005.
2. Tsujita, K., Kaikita, K., Hayasaki, T., Honda, T., Kobayashi, H., Sakashita, N., Suzuki, H., Kodama, T., Ogawa, H., and Takeya, M.
Targeted deletion of class a macrophage scavenger receptor increase the risk of cardiac rupture after experimental myocardial infarction.
Circulation. 115: 1904-1911, 2007.
3. Matsukawa, M., Kaikita, K., Soejima, K., Fuchigami, S., Nakamura, Y., Honda, T., Tsujita, K., Nagayoshi, Y., Kojima, S., Shimomura, H., Sugiyama, S., Fujimoto, K., Yoshimura, M., Nakagaki, T., and Ogawa, H.
Serial changes in von Willebrand Factor-cleaving protease (ADAMTS13) and Prognosis after acute myocardial infarction.
Am J Cardiol. 100: 758-763, 2007.

謝辞

本研究は熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻循環器病態学、小川久雄教授のご指導の下に行いました。研究においては多くのご指導を頂きましたことを深く感謝いたします。

研究全般に直接のご指導とご助言を頂きました熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻循環器病態学、杉山正悟准教授、海北幸一講師、坂本知浩医師（現 済生会熊本病院心血管センター内科）、鈴木達医師に深く感謝致します。

また熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻循環器病態学の塚本恵技師をはじめ教室員の皆様からご助言・ご協力を頂きました。

皆様に心より感謝致します。

略語一覽

HCM: hypertrophic cardiomyopathy

CSA: coronary spastic angina

SGCD: delta-sarcoglycan

UTR: untranslated region

WHO/ISFC: World Health Organization/International Society and Federation
of Cardiology

ASH: asymmetric septal hypertrophy

NO: nitric oxide

eNOS: endothelial nitric oxide synthase

PON: paraoxonase

T-C: total-cholesterol

HDL-C: high-density lipoprotein-cholesterol

LDL-C: low-density lipoprotein-cholesterol

TG: triglyceride

BMI: body mass index

DM: diabetes mellitus

CPS: chest pain syndrome

MAF: minor allele frequency

MLP: muscle LIM protein

GRC: growth factor regulated channel

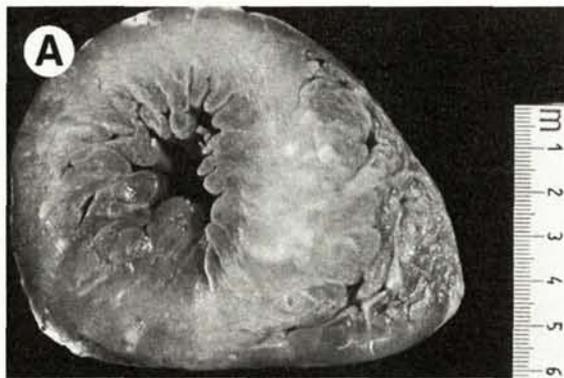
第1章

研究の背景と目的

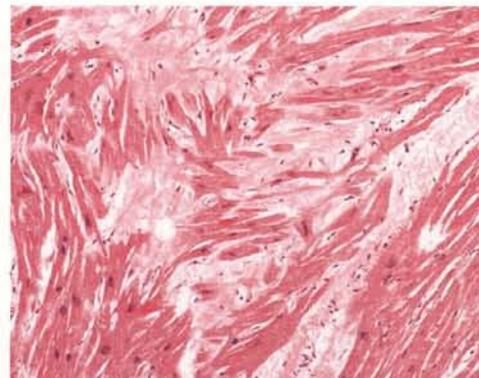
1. 肥大型心筋症について

1-1. 肥大型心筋症の概念

肥大型心筋症は、1958年に **Teare** らによる“奇妙な心肥大を呈する兄弟発症例”として最初に報告され、病因や関連の明らかな二次性心筋疾患を除外した原因不明の心筋疾患（特発性心筋症）とされていた[1]。しかしながら、その後の研究で原因遺伝子が同定されつつあり 1996年に **WHO/ISFC** により提唱された心筋症の定義と分類では以下のように述べられている。「心筋症は“心機能障害を伴う心筋疾患”と定義され、この中で肥大型心筋症は“常染色体優性遺伝様式を示す家族性例が多く、心筋のサルコメア収縮蛋白遺伝子の変異により引き起こされる疾患で、その特徴は心室中隔を含む左室および / または右室の非対称性の心肥大であり、典型例では左室容量が正常ないし減少し、収縮期圧較差を生じることがある。病理学的所見としては、心筋肥大と錯綜配列および周囲結合織の増生が認められる。”」[2]



症例 23歳男性。失神歴を有する肥大型心筋症患者で、安静時に突然死。(A) 心臓の短軸像 著明な左室肥大を認め、左室中隔には白色調の瘢痕が多発している。著明な左室肥大を認める。
Basso C, et al. Hypertrophic cardiomyopathy and sudden death in the young: pathologic evidence of myocardial ischemia. *Hum Pathol.* 2000; 31: 988-998.



家族性肥大型心筋症患者の心筋組織
錯綜配列は多極性をもった心筋線維の乱れた、渦巻状のもつれた方向性をもち、その背景には叢状線維化と表現される微細な線維化を認める。
Elliott P, et al. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet.* 2004; 363: 1881-1891.

1-2. 肥大型心筋症の疫学

これまでの報告にみられる肥大型心筋症の有病率は、人口 10 万人当たり 19.7～

1100人と様々である[3-7]。

報告者	報告年	有病率(/10万人)	対象集団	診断方法
Hada [3]	1987	170人	会社従業員 12,841人	胸写・心電図・心エコー
Kuroda [4]	1989	374人	住民検診対象者 2673人	心エコー
Codd [5]	1989	19.7人	入院・外来患者	心電図・心エコー
Agnarsson [6]	1992	1100人	Reykjavik study (3607人)	心エコー
Maron [7]	1995	170人	CARDIA study (4111人)	心エコー

これらの報告における有病率のばらつきは、対象集団や診断方法によるものと考えられるが、対象者全員に心エコーを施行した **Kuroda** ら、**Maron** らの報告では、人口 10 万人当たり 374 人、170 人の頻度であり、それほど稀な疾患ではない。

1-3.肥大型心筋症の検査所見

1-3-1.症状

肥大型心筋症の自覚症状としては呼吸困難や胸部圧迫感、狭心症様の胸痛などがみられるが、冠動脈狭窄病変を伴わないことが多い。

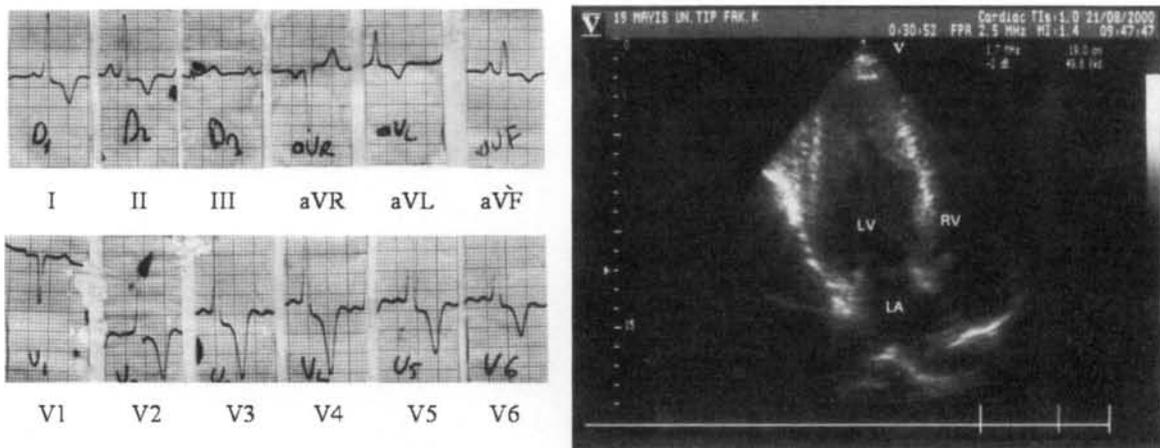
1-3-2.心電図

肥大型心筋症患者の多くは無症状や症状が軽症のことが多く、検診における心電図異常で発見される場合が多い。肥大型心筋症の約 15%では心電図異常がなく、異常所見としては **ST-T** 変化が最も多く、特に左側胸部誘導での **10mm** 以上の巨大陰性 **T** 波は心尖部肥大型心筋症に特徴的とされている。左室側高電位や左室肥大所見も高率に認められ、**II, III, aVF, V₂₋₆** に深くて幅の狭い異常 **Q** 波がみられることがある。この原因は不明であるが、肥大した中隔の電気ベクトルの増大や中隔の線維化などが考えられている。

1-3-3.心エコー

心エコーは、肥大型心筋症の診断に最も有用な非侵襲的検査法の一つである。

肥大型心筋症は心エコー上著明な左室壁の肥大を示すが、高血圧や大動脈弁狭窄症などの左室内圧負荷をもたらす疾患や、二次性心筋症（アミロイドーシス、Fabry病など）においても同様な所見を認めることがあり鑑別疾患として重要である。



(左図)心尖部肥大型心筋症の心電図 心拍数 72/分、洞調律、電気軸 ±50度、PR間隔 0.12 second、QRS幅 0.08 second、陰性T波 I, II, aVL, aVF, V2-V6、左室肥大 SV1 + RV5 = 48 mm

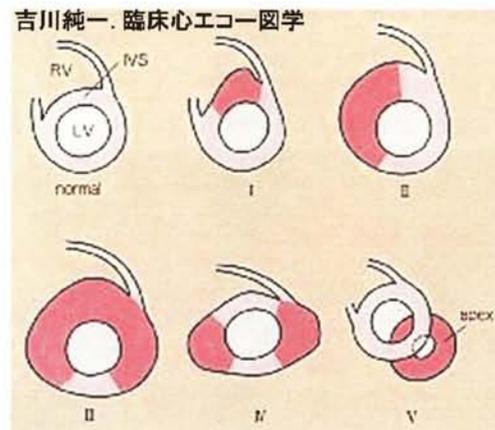
(右図)心尖部肥大型心筋症の心エコー(心尖部からの四腔像)

Meriç M, Arslanđ M, Yazici M, Sađkan O. Hypertrophic cardiomyopathy: a case of symptomatic Japanese type apical hypertrophic cardiomyopathy. *Echocardiography*. 2004; 21: 537-540.

従来、心室中隔の高度の壁肥厚—非対称性心室中隔肥大 (asymmetrical septal hypertrophy; ASH) が本症の特徴的な形態とされ、その基準はMモード心エコー図における (心室中隔壁厚) / (左室後壁厚) ≥ 1.3 である。ただし、肥大の部位は症例により異なり、心室中隔のみならず左室後壁や左室前壁・側壁・右室に局在することがあるので、肥大型心筋症の肥大様式は圧負荷などで説明のつかない、不均一で非対称性の心筋肥大が最大の特徴といえる[2]。

肥大型心筋症は左室肥大の局在により分類されており、Maron 分類と呼ばれる。僧帽弁レベル短軸断層心エコー図で、前壁中隔に限局する肥厚 (I型) が 10%、中隔全体の肥厚 (II型) が 20%、中隔から左室前壁や側壁を含む肥厚 (III型) が 52%、前壁中隔以外の部位の肥厚 (IV型) は 18%に観察されたと報告されている[8]。さらに心室中隔および左室壁の肥厚が乳頭筋レベル付近から心尖部にかけて急激に増大する心尖部肥大型心筋症 (V型) もあり、心エコーでの描出が困難な場

合は経静脈性超音波造影剤を用いたコントラストエコー、CT や MRI などの画像診断から総合的に判断する必要がある。特に日本人で心尖部型肥大型心筋症の有病率が高いことが知られている[9]。



1-3-4. 病理

肥大型心筋症の病理所見は肥大した領域における心筋線維の錯綜配列によって特徴づけられる。錯綜配列は多極性をもった心筋線維の乱れた、渦巻状のもつれた方向性を持ち、その背景には叢状線維化と表現される微細な線維化を認める。また心筋内の細動脈は内膜肥厚を呈することが多い。しかしながら、1996年のWHO/ISFCによれば、各々の心筋症の名称は、原因ではなく病態に即して使用するため、病理形態学的診断は現時点では除外診断の域を出ない[2]。

1-4. 肥大型心筋症の遺伝的素因

本疾患は最初の報告が“奇妙な心肥大を呈する兄弟発症例”であったことから遺伝的関与が大きいとされている。一般に典型的な非対称性中隔肥大を有する肥大型心筋症例の場合、その約半数に常染色体性優性遺伝形式に従う家族歴が認められるとされ、心筋のサルコメア収縮蛋白遺伝子の変異により引き起こされる。典型的な症例の約70%に家族歴が認められるが、全周性肥大例や心尖部肥大例を含めると、家族歴を有する症例の割合は10%程度となる。

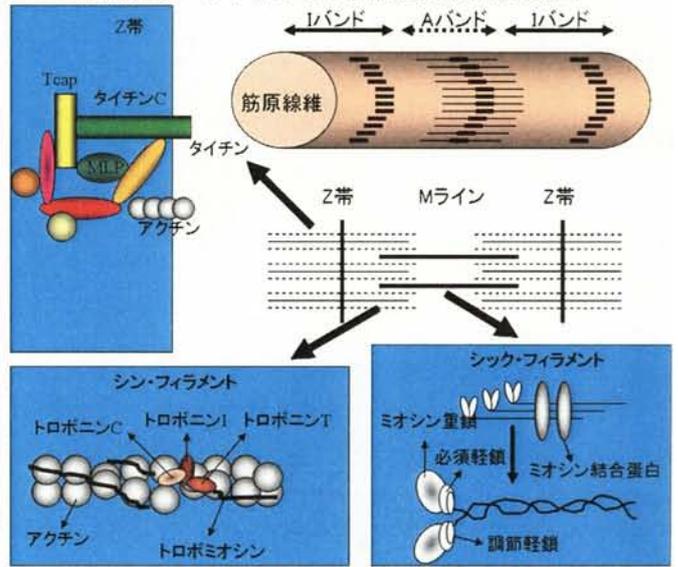
現時点で肥大型心筋症の原因遺伝子として、13種が確認されているが、心筋肥大シグナルの伝達に関わるカベオリン(CAV3)以外はいずれも心筋において筋肉の収縮単位であるサルコメアやZ帯の構成要素をコードするものである[10-13]。

＜HCMIに見出された病変変異の頻度＞

遺伝子名	蛋白	%家族性 (n=162)	%孤発性 (n=100)
MYH7	心筋βミオシン重鎖	19.1	2
TNNT2	心筋トロポニンT	11.7	3
TPM1	αトロポミオシン	0.6	0
MYBPC3	心筋ミオシン結合蛋白C	11.1	5
MYL3	心室型ミオシン必須軽鎖	0.6	1
MYL2	心室型ミオシン調節軽鎖	1.2	0
TNNI3	心筋トロポニンI	2.5	3.0
ACTC	心筋αアクチン	0	0
TTN	タイチン	>0.6	>1.0
CSRP3	MLP	0	0
TNNC2	心筋トロポニンC	0	0
CAV3	カベオリン3	0.6	0
TCAP	テレットニン(Tcap)	1.2	0
合計		>50.0	>15.0

木村彰方 肥大型心筋症の遺伝的病因はどこまでわかったか 新・心臓診療プラクティス、文光堂：p27

＜心筋サルコメアおよびZ帯構成要素の模式図＞

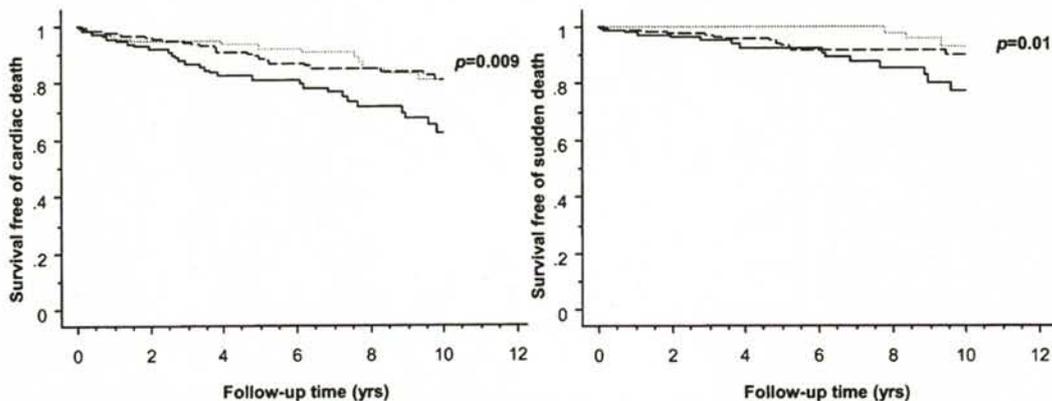


1-5. 肥大型心筋症の自然経過

肥大型心筋症患者の5年、10年生存率は90%、80%であり、予後良好な疾患とはいえない[10-14]。最も注意を要するのが突然死であり、肥大型心筋症の致死率は年間1~3%と云われている[14]。この大半が突然死であり、突然死の危険因子は若年(30歳以下)・失神歴・突然死の家族歴・心筋虚血・ホルター心電図上での非持続性心室頻拍、持続性心室頻拍・著明な左室壁肥厚などがある。

2. 肥大型心筋症と冠動脈疾患

これまでに肥大型心筋症患者において、冠動脈疾患により引き起こされる心筋虚血は、突然死を含めた心血管イベントに影響することが報告されており、重度の冠



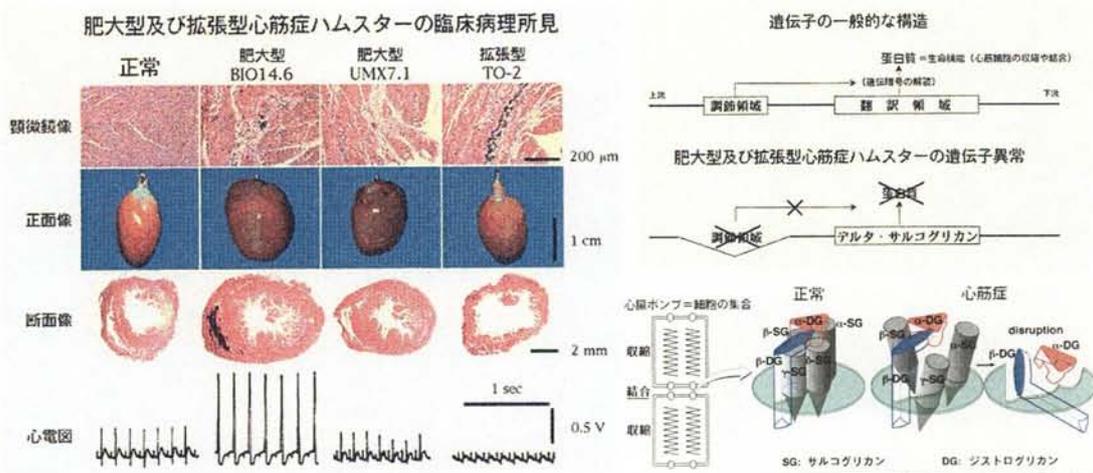
全心臓死(左図)および心臓突然死(右図)に対する生存率
 実線 重度冠動脈疾患患者、破線 軽症-中等症冠動脈疾患患者、点線 冠動脈疾患を有さない患者
 Sorajja, P. et al. *Circulation*. 2003; 108: 2342-2348

動脈疾患（左冠動脈主幹部の 50%以上の狭窄もしくは 75%以上の狭窄を有する冠動脈が一枝もしくは 50%以上の狭窄を有する冠動脈が二枝）を有する肥大型心筋症患者では、冠動脈疾患を有さない肥大型心筋症患者と比較して全心臓死および心臓突然死に対する生存率が低いことが報告されている。

しばしば肥大型心筋症患者において冠動脈狭窄を伴わない心筋梗塞像がみられることが報告されており、冠攣縮は冠動脈狭窄を有さない肥大型心筋症患者における心筋虚血に重要な役割を果たしていることが予想される[16, 17]。慢性的な虚血による心筋傷害は、心筋の線維化や微小心筋壊死を引き起こすことにより心室拡大や心不全の進行といった肥大型心筋症の状態悪化につながるということが考えられる[18]。このため肥大型心筋症患者において、冠動脈疾患のスクリーニングを行うことは、臨床的に重要な意味を持つ。

3.肥大型心筋症の動物実験

ヒト遺伝性心筋症の代表的モデル動物として、心筋症を自然発症するハムスターが 1962 年に発見された。その特徴がヒト心筋症に酷似することは証明されているが、原因遺伝子並びに発症機構は謎に包まれていた。現在までに、肥大型を呈する系統（BIO14.6 及び UMX7.1）と拡張型を呈する系統（TO-2）とが分離されている。

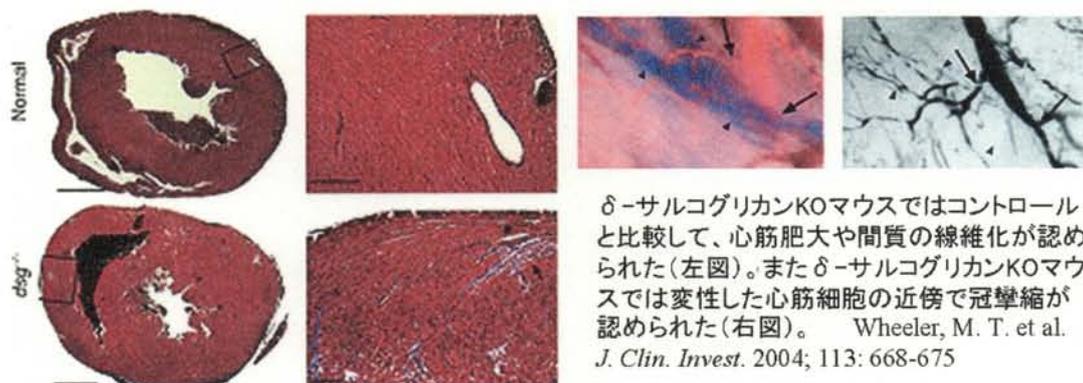


Sakamoto A, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94, 13873-13878.

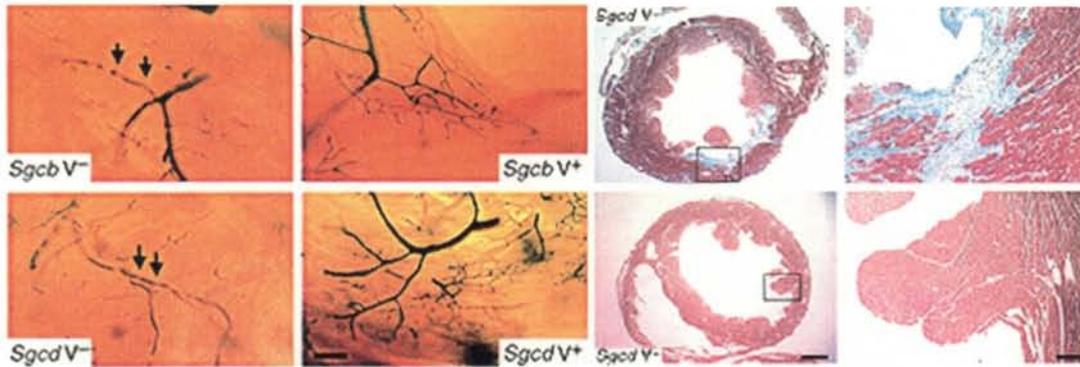
肥大型及び拡張型心筋症ハムスター双方を対象とし、心筋細胞間の結合に関与す

る遺伝子を徹底的に解析した（候補遺伝子解析法）。この結果、両型の心筋症で完全に同一の遺伝子領域（デルタ-サルコグリカン: SGCD）が欠失していた[19]。

一般に遺伝子には、翻訳・合成される蛋白質情報を持つ領域（翻訳領域）の上流に、その発現を調節する領域（調節領域）が存在する。全ての心筋症ハムスターで、SGCD 遺伝子の翻訳領域は正常だが、調節領域が失われた結果、当該蛋白質が合成されず単一遺伝子の異常が肥大型心筋症と拡張型心筋症といった異なる病型の心筋症を引き起こすことが報告された[19]。この蛋白質は、心筋の細胞膜表面で複数の蛋白質（ジストログリカンなど）と協調し、隣接した細胞間の結合から心臓全体の形態維持に重要な役割を果たすことが知られていたが、SGCD 蛋白質の欠損と心筋細胞間の結合破壊の関係が示され、心筋細胞間の結合に関与する蛋白質の遺伝子異常でも心筋症が発症することが実証された。



また、SGCD 欠損マウスにおいても心筋症ハムスターと同様に心筋肥大や心筋の線維化が認められ、変性心筋の周囲では冠攣縮が認められたとの報告がなされた[20]。さらに SGCD 欠損マウスに対して冠攣縮の治療に有効とされているカルシウム拮抗薬（ベラパミル）を投与することにより、冠攣縮は改善し十分な血流が得られ心筋肥大や心筋線維化が改善し、心筋症の進行も抑えることができたことが報告されている[21, 22]。



サルコグリカンKOマウスに対するカルシウム拮抗薬(verapamil)の投与により冠攣縮の改善に加えて心筋症の進行を遅らせることができた。 Cohn, R. D. et al. *J. Clin. Invest.* 2001;107:1-R7

以上の研究から、心筋症動物モデルにおいては肥大型心筋症の進行に影響を及ぼす心筋虚血の原因の一つとして冠攣縮の関与が疑われた。

4. 冠攣縮性狭心症

4-1. 冠攣縮性狭心症の概念

冠攣縮性狭心症とは、冠攣縮が原因で発生する狭心症を意味する。冠動脈のトーンスは弛緩因子と収縮因子のバランスにより保たれているが、このバランスが崩れて収縮性が異常に亢進すると冠攣縮が生じる。

冠動脈のトーンスの変化を調整するのに重要な働きをしているのが内皮であり、内皮は血流（ズリ応力）に応じて一酸化窒素（NO）を合成、分泌して血管を拡張させる[23]。NO はさらに、血小板の凝集や血液の凝固を抑えることにより血栓の形成を防ぎ、接着因子や炎症性サイトカイン、増殖因子などの発現を抑制して炎症の発生を防御し、また平滑筋の増殖を抑制している。一方、活性酸素種はNOを消去してNO活性を低下させる。内皮が傷害されるとNOの活性が低下し活性酸素種は増加して、血管は収縮しやすくなり、血栓形成や炎症および内膜肥厚などの動脈硬化病変が生じる。このため冠攣縮は急性冠症候群の発症においても重要な役割を果たしていることが明らかにされている[24]。

4-2. 冠攣縮性狭心症と冠危険因子

冠攣縮はアセチルコリンの冠動脈内注入により特異的に誘発されるため、アセチルコリンの冠動脈内注入は冠攣縮の誘発法として広く用いられている[25]。アセチルコリンは血管が正常であれば内皮から NO を分泌して血管を拡張させるが、内皮に傷害があると平滑筋に直接作用して血管を収縮させる。従って攣縮に陥る冠動脈は内皮が傷害されており、内皮由来の NO 活性が低下していると考えられる。実際に冠攣縮はほとんどが中高年、しかも男性に多く認められ、年齢とともに増加するが、内皮機能は年齢とともに低下する[26]。

冠攣縮は、男女を問わず喫煙者に圧倒的に高頻度にみられることが知られている。これは喫煙時に発生する活性酸素を介して内皮機能を著明に低下させるためだと考えられている[26-28]。事実、冠攣縮性狭心症では冠動脈の内皮 NO 活性が低下し、活性酸素種は増加して、内皮機能が傷害されていることが証明されている[29]。

4-3. 冠攣縮性狭心症と遺伝的素因

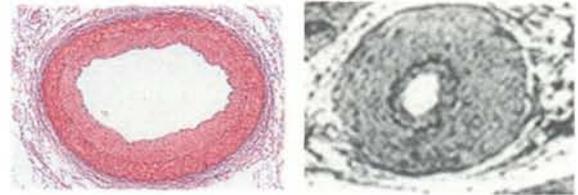
冠攣縮の頻度は日本人に多く欧米人に少ないという人種差が明らかであることから、その発生には人種的遺伝的な要因も関与していると考えられている[30]。当施設で内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) の遺伝子配列を冠攣縮例と非冠攣縮例で比較検討し、eNOS 遺伝子には多型があること、ならびに冠攣縮は 5' -非翻訳領域の-786T/C およびエクソンに存在するアミノ酸変異を伴う Glu298Asp (894G/T) 多型との関連が深く、特に-786T/C 多型は eNOS 遺伝子の発現を低下させることを明らかにした[31, 32]。また eNOS 遺伝子以外に抗酸化作用を有する paraoxonase (PON1) 遺伝子の Gln192Arg 多型も冠攣縮と関連していることが示されており、この多型例では抗酸化作用が低下している[33]。さらに SNP rs10498345 の遺伝子多型が日本人女性における冠攣縮性狭心症と強く関連していることを示した[34]。

5. 本研究の目的

肥大型心筋症では心筋肥大に伴う酸素需要の増大や微小血管障害に伴う酸素供

給減少などにより心筋虚血を生じると考えられる。さらに心筋虚血は左室心筋弛緩障害を引き起こし、左室拡張期圧を上昇させ冠灌流を低下させ二次的に心筋虚血を起こすという悪循環を形成するため、心筋障害がさらに進行すると考えられる。

酸素供給減少の原因の一つである微小血管障害は、肥大型心筋症による冠動脈リモデリングが原因とされており、微小血管障害の重症度は肥大型心筋症患者における心血管事故の予測因子となることが報告されている[35, 36]。



(左図) 成人の冠動脈短軸像
由谷親夫, 心臓血管病理アトラス, p30
(右図) 肥大型心筋症の冠動脈短軸像
Camici PG, Crea F. Coronary microvascular dysfunction.
N Engl J Med. 2007; 356: 830-840.

最近の報告から肥大型心筋症における酸素供給減少の原因の一つとして冠攣縮が関与していることが考えられ、肥大型心筋症における冠攣縮性狭心症の合併頻度について研究した。

これまでに日本人肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併に関する報告が行われてきた[37-42]。さらに鈴木らは、彼らが報告した日本人の兄弟における肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症の合併には何らかの遺伝的要素が関与している可能性を指摘している[41]。

そこで、肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併に対して SGCD 遺伝子多型やこれまでに冠攣縮性狭心症との関連が指摘されている遺伝子多型が関与しているかについても検討した。

第 2 章

実験方法

対象

熊本大学医学部附属病院循環器内科に入院した肥大型心筋症患者連続 100 例のうち、①左室流出路圧較差 30mmHg 以上の閉塞性肥大型心筋症 18 例と②冠動脈形成術や冠動脈バイパス術の適応となる 90%以上の冠動脈狭窄を有する症例 12 例の計 30 例を除外した、70 例を本研究の対象とした。

尚、肥大型心筋症の診断については経胸壁心エコーにより行い[2]、①心室中隔・前壁・側壁・心尖部に局在する、圧負荷などで説明のつかない不均一で非対称性の心筋肥大($\geq 15\text{mm}$)を認める症例とし、②高血圧や大動脈弁狭窄症などの左室内圧負荷をもたらす疾患や、二次性心筋症は除外した。

また基礎疾患による冠攣縮性狭心症の特徴を評価するために熊本大学医学部附属病院循環器内科に入院した高血圧性心肥大患者連続 70 例と冠攣縮の特徴について比較した。

心臓カテーテル検査

検査の 4 日前から内服薬を中止(ニトログリセリン舌下を除く)し、絶食下で午前中に心臓カテーテル検査を施行した。

まず大腿静脈から挿入した Swan-Ganz カテーテルを用いて血行動態(肺動脈楔入圧・心拍出量など)を測定した。心拍出量は熱希釈法を用いて測定し、心係数はこれを体表面積で除した値を用いた。Swan-Ganz カテーテル終了後に左心カテーテルを行い、左室拡張末期圧を測定した。続いて冠動脈造影にて冠動脈狭窄がないことを確認し、左冠動脈に対してアセチルコリン負荷(50, 100 μg)を施行した。それぞれの負荷は 5 分以上空けて施行し、左冠動脈に続いて右冠動脈に対してアセチル

コリン負荷 (50 μ g) を施行した[25, 43, 44]。尚、アセチルコリン注入に際し、一過性の高度徐脈を来たすため右室内に一時的にペースメーカーカテーテルを挿入した。

負荷終了後に硝酸イソソルビドを冠動脈内に注入し左右冠動脈造影を行い、左室造影を施行した。左室造影画像より左室駆出率 (%) を計測した。

冠攣縮性狭心症の定義について

本研究では、アセチルコリン負荷により冠攣縮が誘発された症例を冠攣縮性狭心症として定義した。尚、アセチルコリン負荷による、①冠動脈の完全閉塞もしくは②胸痛や虚血性心電図変化を伴う 90%以上の冠動脈収縮(すなわち冠攣縮)、のいずれかを満たした症例をアセチルコリン負荷陽性と定義した[25, 43, 44]。

冠危険因子の解析

本研究では、冠危険因子として血圧・総コレステロール(T-C)・HDL-コレステロール(HDL-C)・LDL-コレステロール(LDL-C)・中性脂肪(TG)・喫煙歴・肥満度・糖尿病について評価した。それぞれの基準は以下の通り定義した。

高血圧・・・収縮期血圧 > 140mmHg and/or 拡張期血圧 >90mmHg and/or 降圧治療

T-C・HDL-C・LDL-C・TG・・・入院翌日の早朝空腹時採血データ

喫煙歴・・・10本/日×10年以上の喫煙があるものを喫煙歴ありとした。

肥満度・・・body mass index (BMI) = 体重(kg) / 身長(m)²

糖尿病・・・早朝空腹時血糖 \geq 126 mg/dl

and/or 75g 経口糖負荷 2 時間後血糖 \geq 200 mg/dl or 糖尿病治療

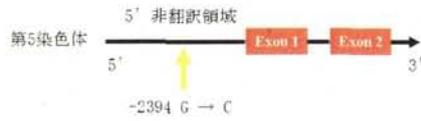
allele specific real time polymerase chain reaction (PCR) assay による遺

伝子多型の解析

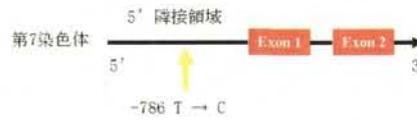
本研究では、遺伝子解析に関するインフォームドコンセントが得られた 64 名について、SGCD 遺伝子の 5' -非翻訳領域に存在する G to C 多型(SNP rs 13170573)、eNOS 遺伝子の-786T/C 多型(SNP rs 11771443)、Glu298Asp 多型(SNP rs41377046)、

<今回検討した遺伝子多型>

1. SGCD gene polymorphism (5'-UTR G/C)



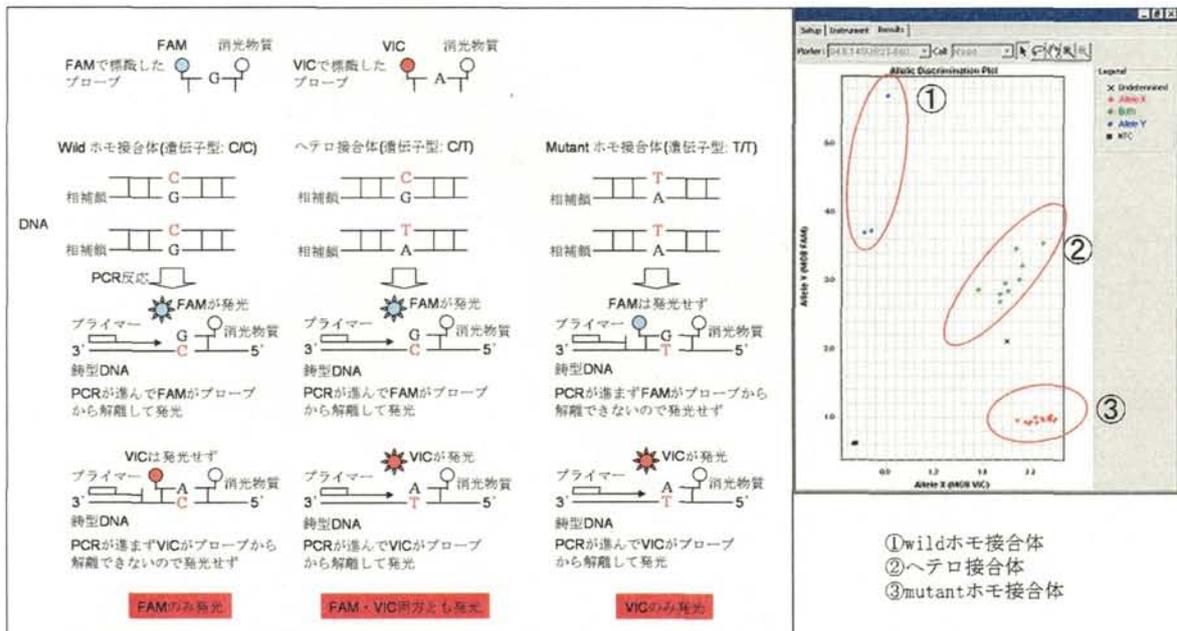
2. eNOS gene polymorphism (-786T/C)



3. eNOS gene polymorphism (Glu298Asp[894G/T]) 4. PON1 gene polymorphism (Gln192Arg [Q192R])



抗酸化作用を有する paraoxonase 遺伝子の Gln192Arg 多型 (SNP rs 662) について検討した。Genomic DNA は白血球から抽出し、ABI PRISM Genetic Analyzer 7900 (TaqMan, Applied Biosystems, Foster City, CA) で allele specific real time PCR assay にて genotyping を行った。



この assay では、蛍光色素と消光物質が両端に標識されている TaqMan プローブを使用する。普段は消光物質の影響で、蛍光色素は発色していないが、DNA がプローブに完全に結合して、PCR 反応が行われると蛍光色素は切断され消光物質の影響を受けなくなる。またこのプローブが変異によって完全に DNA と結合できないと PCR 反応が進まないため蛍光物質は切断されず発色できない。ここでは 2

種類の蛍光物質(FAM、VIC)を使用し、発色強度によって、①wild ホモ接合体、②ヘテロ接合体、③mutant ホモ接合体の3群に分けられる。

統計解析

実験結果のうち、正規分布している測定値は平均値 ± SD で記載し、正規分布していない測定値については中央値（第一/四分位点 - 第三/四分位点）で記載した。連続変数は必要に応じて unpaired t-test や Mann-Whitney U test で解析した。カテゴリ変数は Fisher の直接確率計算法を含めた Chi-square test で解析した。

また遺伝子解析に際して、このコホートが Hardy-Weinberg equilibrium を満たしていることを確認した。

SGCD 遺伝子の C アレル保持者と非保持者の違いを検討するために C/C および C/G genotype を一つのグループとして、肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の危険因子を調べるために単変量解析を行った。遺伝子多型と冠攣縮性狭心症の関連について年齢・性別・喫煙による影響を調整するため多変量解析を行った。

P < 0.05 を有意差ありと判断した。

第3章

実験結果

3-1. 患者背景の比較

	肥大型心筋症 (n=70)			高血圧性心肥大 (n=70)		
	冠攣縮 (n=31)	非冠攣縮 (n=39)	P value	冠攣縮 (n=18)	非冠攣縮 (n=52)	P value
年齢 (歳)	64±9	63±10	0.82	67±10	63±9	0.13
性別 (男/女)	25 / 6	32 / 7	0.88	16 / 2	37 / 15	0.20
高血圧 (%)	0 (0)	0 (0)	-	18 (100)	52 (100)	-
T-C (mg/dl)	191±32.8	189±30.2	0.79	185±27.7	191±46.5	0.59
HDL-C (mg/dl)	52.4±15.3	50.0±16.7	0.51	49.7±14.8	48.5±13.7	0.75
LDL-C (mg/dl)	114±31.0	113±26.7	0.92	107±27.3	117±44.4	0.38
TG (mg/dl)	100 (74.0 - 178)	121 (86.0 - 164)	0.31	135 (101 - 158)	123 (93.0 - 160)	0.58
BMI (kg/m ²)	24.2±3.6	24.9±3.6	0.43	24.3±3.6	24.6±3.8	0.70
糖尿病 (%)	6 (19.4)	8 (20.5)	0.90	4 (22.2)	14 (26.9)	0.76
喫煙 (%)	17 (54.8)	24 (61.5)	0.57	15 (83.3)	26 (50.0)	0.015

高血圧性心肥大と肥大型心筋症群における冠攣縮と冠危険因子の関連について検討したところ、高血圧性心肥大群では冠攣縮群で喫煙者の割合が有意に高かった (CSA: 83.3% vs non-CSA: 50%, p=0.015) [26-28]。しかし肥大型心筋症患者においては、いずれの冠危険因子も冠攣縮との関連は認められなかった。

3-2. アセチルコリン負荷により誘発された冠攣縮の特徴

	肥大型心筋症に おける冠攣縮	高血圧性心肥大に おける冠攣縮	p value
頻度 (%)	31/70 (44.3)	18/70 (25.7)	0.021
胸痛 (%)	29/31 (93.5)	17/18 (94.4)	> 0.99
冠動脈の完全閉塞 (%)	5/31 (16.1)	10/18 (55.6)	0.0086
心電図での ST 上昇 (%)	7/31 (22.6)	8/18 (44.4)	0.11

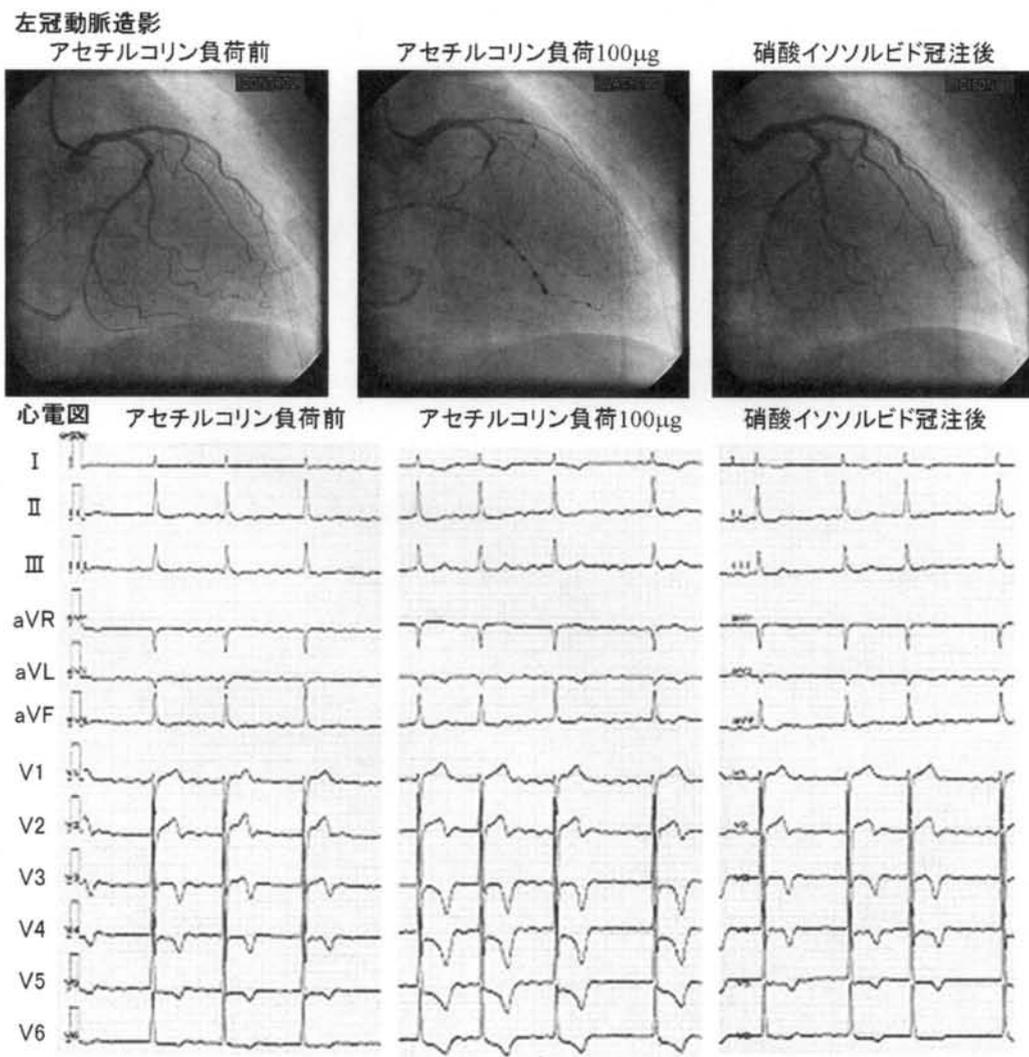
アセチルコリン負荷の結果、肥大型心筋症患者では 70 例中 31 例(44.3%)に冠攣縮が誘発され、高血圧性心肥大患者での 70 例中 18 例(25.7%)と比較して、肥大型心筋症では冠攣縮の合併頻度が有意に高かった。

両群ともに、ほとんどの患者がアセチルコリン負荷により胸痛を自覚しており、症候性心筋虚血を示した (93.5% vs 94.4%, $p>0.99$)。

またアセチルコリン負荷により冠動脈の完全閉塞を来たした症例は、肥大型心筋症群では高血圧性心肥大群と比較して有意に少なく (16.1% vs 55.6%, $p<0.01$)、また ST 上昇を認める症例は少ない傾向にあった (22.6% vs 44.4%, $p=0.11$)。

以上から、肥大型心筋症においては、高血圧性心肥大と比較して容易に心筋虚血が引き起こされる可能性が示唆された。この原因としては、肥大型心筋症では心筋肥大に伴う酸素需要の増大や内膜肥厚による微小血管障害に伴う酸素供給減少などが考えられる。

以下に冠攣縮性狭心症を合併した肥大型心筋症患者における冠動脈造影およびアセチルコリン負荷時の心電図変化を提示する。アセチルコリン負荷により冠動脈造影では左冠動脈前下行枝・回旋枝が冠攣縮を来たしているが、硝酸イソソルビド冠動脈内注入により解除している。心電図では、アセチルコリン負荷でI, aVL, V₃₋₆誘導のST低下を認めるが、硝酸イソソルビド冠注により改善している。



3-3. 心機能および病型の比較

	肥大型心筋症 (n=70)		
	冠攣縮 (n=31)	非冠攣縮 (n=39)	P value
<i>心機能</i>			
肺動脈楔入圧 (mmHg)	9.2 ± 4.2	9.5 ± 4.3	0.76
心係数 (l/min/m ²)	2.7 ± 0.9	2.8 ± 0.7	0.80
左室拡張末期圧 (mmHg)	12.6 ± 5.6	13.8 ± 5.5	0.37
左室駆出率 (%)	77.5 ± 7.7	77.8 ± 6.3	0.84
<i>肥大型心筋症の Maron 分類</i>			
I (%)	3 (9.1)	2 (5.4)	0.65
II (%)	6 (18.2)	8 (21.6)	0.90
III (%)	4 (12.1)	9 (24.3)	0.36
IV (%)	0 (0)	0 (0)	-
V (%)	18 (48.7)	20 (60.6)	0.57

肥大型心筋症における冠攣縮性狭心症の合併に対する心機能（肺動脈楔入圧・心係数・左室拡張末期圧・左室駆出率）の関連を検討したが、いずれの指標も関連していなかった。

また、本研究では肥大型心筋症 70 例のうち 38 例（54.3%）が心尖部型肥大型心筋症（Maron V）であった。日本人においては心尖部型肥大型心筋症の有病率が高いことが知られているが、いずれの病型も冠攣縮性狭心症合併に関連していなかった[9]。

3-4. SGCD 遺伝子多型の比較

	肥大型心筋症 (n=64)	
	冠攣縮 (n=31)	非冠攣縮 (n=33)
遺伝子型 n, (%)		
G / G	17 / 31 (54.8)	26 / 33 (78.8)
G / C	12 / 31 (38.7)	7 / 33 (21.2)
C / C	2 / 31 (6.5)	0 / 33 (0)
MAF (C allele)	0.258	0.106
additive effect (G allele vs. C allele)		
odds ratio	2.93 (1.11 - 7.72)	
P value	0.025	

冠攣縮性狭心症群では非冠攣縮性狭心症群と比較して、minor allele frequency (MAF) (ここではCアレルの頻度) が有意に高く、SGCD 遺伝子多型 (5' -UTR G to C; SNP rs 13170573) は肥大型心筋症と冠攣縮の合併に関連していることが示された (p=0.025)。

一般人での遺伝子多型の頻度を確認するために、国際 HapMap 計画の遺伝子多型データを検索した。国際 HapMap 計画は、ヒトの病気や薬に対する反応性に関わる遺伝子を発見するための基盤を整備するプロジェクトであり、200 万個以上の遺伝子多型データが Web 上 (<http://www.hapmap.org/index.html.ja>) で示されている。

今回の SGCD 遺伝子多型について東京都に在住の日本人遺伝子サンプルのデータと比較した結果、国際 HapMap の遺伝子型の頻度は GG: 68.9%, CG: 31.1%, CC: 0%; MAF: 0.156 であり、冠攣縮性狭心症を合併した肥大型心筋症患者群と比較して C アレルの頻度が低値であった。

3-5. eNOS 遺伝子多型 (-786T/C) の比較

	肥大型心筋症			
	冠攣縮		非冠攣縮	
	(n=27)	(n=30)	冠攣縮性狭心症 (n=174)	胸痛症候群 (n=161)
TT	24 / 27 (89%)	21 / 30 (70%)	123 / 174 (70%)	150 / 161 (93%)
TC	3 / 27 (11%)	9 / 30 (30%)	48 / 174 (28%)	11 / 161 (7%)
CC	0 / 27 (0%)	0 / 30 (0%)	3 / 174 (2%)	0 / 161 (0%)
MAF	0.056	0.15	0.16	0.034
additive effect (T allele vs. C allele)				
odds ratio	0.33 (0.09 - 1.30)		5.19 (1.85 - 17.6)	
P value	0.13		<0.0001	

これまでに、我々は eNOS-786T/C 遺伝子多型が日本人の冠攣縮性狭心症に強く関連しており、冠攣縮性狭心症患者においては、マイナーアレルである C アレルの頻度が 0.16 であり、コントロール群である胸痛症候群 (CPS) 患者の 0.034 と比較して有意に高いことを報告している [31]。この多型は、eNOS 遺伝子の転写を抑制することで、冠動脈での NO 産生を減少させ、冠攣縮を引き起こしていると考えられている。

本研究では肥大型心筋症の冠攣縮群ではマイナーアレルの頻度は 0.056 であり、非冠攣縮群の 0.15 と比較して低かったものの、有意差は認めず、eNOS-786T/C 遺伝子多型と肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併との間には明らかな関連はみられなかった。

3-6. eNOS 遺伝子多型 (Glu298Asp[894G/T]) の比較

	肥大型心筋症			
	冠攣縮		非冠攣縮	
	(n=27)	(n=28)	冠攣縮性狭心症 (n=113)	胸痛症候群 (n=100)
GG	26 / 27 (96%)	24 / 28 (86%)	89 / 113 (79%)	91 / 100 (91%)
TG	1 / 27 (4%)	4 / 28 (14%)	23 / 113 (20%)	9 / 100 (9%)
TT	0 / 27 (0%)	0 / 28 (0%)	1 / 113 (1%)	0 / 100 (0%)
MAF	0.019	0.071	0.11	0.045
additive effect (G allele vs. T allele)				
odds ratio	0.25 (0.03 - 2.27)		2.47 (0.87 - 6.99)	
P value	0.36		0.071	

我々は、eNOS 遺伝子のエクソン 7 に存在するミスセンス多型である Glu298Asp 遺伝子多型が日本人の冠攣縮性狭心症と関連しており、冠攣縮性狭心症患者においては、マイナーアレルである T アレルの頻度が 0.11 であり、胸痛症候群患者の 0.045 と比較して高い傾向にあることを報告している[32]。この変異蛋白は、野生型蛋白と比較して酵素活性に変化はないものの、細胞内で不安定で分解されやすい性質をもつことが報告されている[45]。

この遺伝子多型が肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併に関連しているとの報告もあるが、本研究では肥大型心筋症と冠攣縮群のマイナーアレルの頻度は 0.019 であり、非冠攣縮群の 0.071 と比較して低かったものの、有意差は認めなかった[46] (p=0.36)。

3-7. PON1 遺伝子多型 (Gln192Arg[Q192R]) の比較

	肥大型心筋症			
	冠攣縮	非冠攣縮	冠攣縮性狭心症	胸痛症候群
	(n=27)	(n=29)	(n=214)	(n=212)
QQ	9 / 27 (33%)	7 / 29 (24%)	21 / 214 (10%)	45 / 212 (21%)
QR	10 / 27 (37%)	14 / 29 (48%)	109 / 214 (51%)	109 / 212 (51%)
RR	8 / 27 (30%)	8 / 29 (28%)	84 / 214 (39%)	58 / 212 (28%)
MAF	0.48	0.52	0.65	0.53
additive effect (Q allele vs. R allele)				
Odds ratio	0.87 (0.41 - 1.82)		1.62 (1.23 - 2.14)	
P value	0.71		0.001	

また、我々は PON1 遺伝子のエクソン 6 に存在するミスセンス多型である Gln192Arg 遺伝子多型は日本人の冠攣縮性狭心症に関与していることを報告している[33]。PONは LDL の酸化に対して抑制的に働くが、この多型を有する患者では、抗酸化作用を有する PON の異常により、酸化ストレスの指標であるチオバルビツール酸反応陽性物質(TBARS)の値が上昇することが示され、酸化ストレス増大が冠攣縮を引き起こしている可能性が示唆された。冠攣縮性狭心症患者においては、マイナーアレルである R アレルの頻度が 0.65 であり、胸痛症候群患者の 0.53 と比較して有意に高いことを報告している。

本研究では肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症を合併した患者におけるマイナーアレルの頻度は 0.48 であり、冠攣縮性狭心症を合併しなかった患者の 0.52 と比較して低かったものの、有意差は認めず、Gln192Arg 遺伝子多型と肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併との間に明らかな関与はみられなかった。

3-8. 肥大型心筋症における冠攣縮性狭心症合併に対する単変量および多変量解析

	Univariate model		multivariate model	
	Odds ratio (95% CI)	P value	Odds ratio (95% CI)	P value
年齢 (歳)	1.01 (0.96 – 1.06)	0.81	1.02 (0.97 – 1.08)	0.46
male (versus female)	0.91 (0.27 – 3.06)	0.88	1.06 (0.25 – 4.53)	0.94
T-C (mg/dl)	1.00 (0.99 – 1.02)	0.79	–	–
HDL-C (mg/dl)	1.01 (0.98 – 1.04)	0.50	–	–
LDL-C (mg/dl)	1.00 (0.98 – 1.02)	0.92	–	–
TG (mg/dl)	1.00 (0.99 – 1.01)	0.99	–	–
BMI (kg/m ²)	0.95 (0.82 – 1.09)	0.43	–	–
糖尿病	1.08 (0.33 – 3.51)	0.90	–	–
喫煙歴 (smoker, nonsmoker)	0.76 (0.29 – 1.98)	0.57	0.74 (0.23 – 2.34)	0.61
C allele (versus G/G) in SGCD polymorphism	3.06 (1.02 – 9.14)	0.045	3.12 (1.03 – 9.48)	0.045

肥大型心筋症における冠攣縮性狭心症の合併に関与する危険因子を検索するために、単変量および多変量解析を行った結果、冠攣縮性狭心症の環境危険因子である喫煙は肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症の合併に関与していないことがわかった。肥大型心筋症における冠攣縮性狭心症合併には、SGCD 遺伝子多型のみが関与していることが示され、そのオッズ比は 3.12 (1.03-9.48)であった。

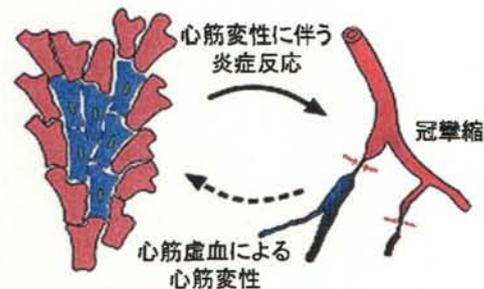
第4章

考察

今回の研究で、日本人肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症の合併頻度が高く、SGCD 遺伝子多型が関与していることが示された。

一般的に家族性肥大型心筋症の 50~70%については、心筋収縮に関わっているサルコメア蛋白を構成する遺伝子の変異が原因とされている[10-13]。日本人家族における肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症の合併に関する症例報告から、この病因が同一遺伝子に起因している可能性が示唆された[41]。実際に、動物モデルにおいては SGCD の異常が肥大型心筋症と冠攣縮の両方に関係していることが報告されている[20]。SGCD 欠損マウスにおける冠攣縮合併の正確なメカニズムについては、はっきりしていないが、Wheeler らは、変性心筋細胞周囲の炎症細胞浸潤やサイトカイン

産生といった局所の炎症が変性部周囲の微小循環に影響を及ぼし冠攣縮を引き起こしている可能性があることを報告している[20]。さらに冠攣縮によりもたらされた心筋虚血は、さらなる

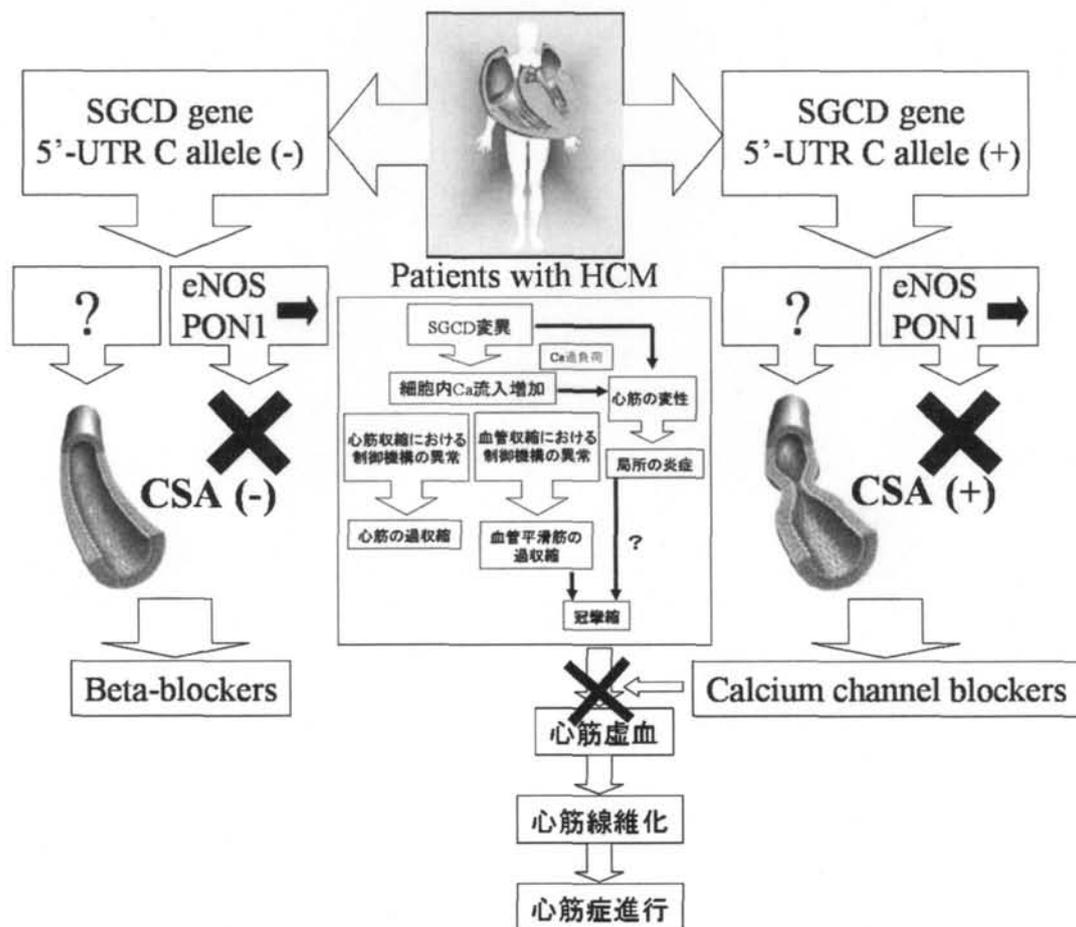


Wheeler, M. T. et al. *J. Clin. Invest.* 2004;113:668-675

組織障害を引き起こし悪循環を形成していることが考えられる。

また肥大型心筋症の病態は、サルコメア遺伝子異常つまり異常サルコメア分子が存在することによって発現するが、その分子機構には不明な点が残されている。当初、肥大型心筋症における心肥大はサルコメア異常による収縮力低下を代償するために発現したものと考えられていた[47, 48]。しかしながら、TPM1 (α トロポミオシン) 異常や TNNT2 (心筋トロポニン T) 異常の場合には筋線維の収縮力自体の変化はほとんど認められず、筋収縮の Ca 感受性の亢進、すなわち比較的低い

さらに Ca ホメオスターシスが破綻し、筋細胞の変性が引き起こされることが報告されている[54-56]。現在のところ、SGCD 異常が肥大型心筋症において冠攣縮を引き起こす詳細なメカニズムは不明だが、これまでに SGCD 欠損が細胞膜の脆弱性をもたらし、伸展感受性を低下させることが知られている。この結果、伸展刺激が加わると細胞膜の growth factor regulated channel (GRC)が開口し、細胞内に Ca イオンが流入する。細胞内 Ca 濃度の上昇は細胞膜での GRC 発現を高めることで、さらに細胞内への Ca 流入を引き起こす[55, 56]。この Ca 過負荷が、心筋や平滑筋の過収縮を引き起こし、局所での炎症反応を惹起することで、冠攣縮につながるのではないかと考えている[57]。このため Ca 拮抗薬による治療は冠攣縮を改善することにより、その下流にある心筋虚血や心筋線維化、これに伴う心筋症の進行を予防する可能性があると考えられる。



今回の研究において我々は SGCD 遺伝子 5' -非翻訳領域の遺伝子多型が肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症の合併に重要な役割を果たしている可能性があることを示したが、実際にどのようなメカニズムで病態の発症に関係するのか、については検討していない。日本人家族における肥大型心筋症と冠攣縮の合併が症例報告されており、この家系において SGCD 遺伝子多型を調査することは、このメカニズムを解明する上で有効であると思われる。また肥大型心筋症患者において SGCD 遺伝子多型をスクリーニングすることは冠攣縮性狭心症の遺伝的素因を評価するのに有効な検査となりうると思われる。

これまでに冠攣縮性狭心症は、喫煙と有意に関係していることが多数報告されてきた[26-28]。しかし、本研究では肥大型心筋症患者における冠攣縮性狭心症と喫煙を含めた冠危険因子との間に有意な関係は認めなかった。つまり肥大型心筋症に合併した冠攣縮性狭心症の病態は、これまで報告されてきた従来の冠攣縮性狭心症の病態とは異なる可能性が示唆された。

SGCD 遺伝子 (5q33) のミスセンス変異がヒトで拡張型心筋症を引き起こすことが報告されている[58]。また、冠攣縮性狭心症は拡張型心筋症と同様の心不全を引き起こすことが報告されている[59, 60]。これらの研究から肥大型心筋症における、冠攣縮性狭心症に伴う心筋虚血が肥大型心筋症の拡張相への移行に影響を及ぼし得る可能性が考えられた。肥大型心筋症の拡張相への移行は、肥大型心筋症患者において重要な予後因子であることが報告されている[61]。またカルシウム拮抗薬や亜硝酸薬などの冠血管拡張薬の投与が、冠攣縮性狭心症に伴う心機能低下を改善したことが報告された[62, 63]。さらにカルシウム拮抗薬は、SGCD 欠損マウスにおいて血管機能低下を改善し、心筋症の進行を抑えたことが報告されていることを考慮すると、カルシウム拮抗薬は日本人肥大型心筋症患者にとって有効な治療薬となり得る可能性が示唆される[21, 22]。

冠攣縮は肥大型心筋症患者においても心筋虚血や心不全、突然死を引き起こす可能性があり、日本人においては肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症の合併頻度が高いことを考慮すると、肥大型心筋症患者においてはアセチルコリン負荷を含めた心臓カテーテル検査による冠動脈疾患の評価を推奨する必要があると考える。しかしながら、冠攣縮性狭心症の厳密な診断としてのアセチルコリンやエルゴノビンによる発作誘発試験は患者の負担や術者の手間とストレスが増加するので多くの施設では行われていないのが現状である。こうした現状を踏まえると、肥大型心筋症患者における遺伝子スクリーニングは、冠攣縮性狭心症合併を評価するのに低侵襲で有効な手法と思われる。

また臨床の現場では、肥大型心筋症患者の胸部症状や拡張機能の改善を目的としてベータ遮断薬やカルシウム拮抗薬が用いられている[64, 65]。しかし今回の研究結果を踏まえると、肥大型心筋症患者では冠攣縮性狭心症の合併頻度が高く、カルシウム拮抗薬の投薬もしくはベータ遮断薬とカルシウム拮抗薬の併用について考慮すべきである。

これまでに eNOS の-786T/C や Glu298Asp といった遺伝子多型が冠攣縮性狭心症と関係していることが報告されてきた[31, 32]。最近、Ogimoto らは eNOS Glu298Asp 遺伝子多型が肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症の合併に関係していることを報告した[46]。しかし、本研究ではこれらの遺伝子多型の関与は認められなかった。この原因として、彼らの研究における冠血管拡張薬を含めた内服の中止期間が 24 時間と、本研究の休薬期間（4 日間）と比較して極端に短く長時間作動型カルシウム拮抗薬等の効果が残っていた可能性が考えられる。このため、非冠攣縮性狭心症群のなかに冠攣縮が誘発されなかった患者が含まれている可能性があると考えられる。

本研究は、単一施設で施行された少人数での検討であるため、患者の入院に際して bias が影響している可能性は否定できない。このため、今後も大規模なコホー

ト調査による検証が必要である。また本研究での肥大型心筋症では、閉塞性肥大型心筋症患者を除外しており、全ての肥大型心筋症患者におけるデータは不明である。最後に、本研究ではカルシウム拮抗薬や亜硝酸薬などの冠血管拡張薬が冠攣縮性狭心症を合併した肥大型心筋症患者において拡張相への移行を抑制し、突然死や心不全死などの予後を改善しうるかどうか評価できなかった。本研究では冠攣縮性狭心症を合併した患者全員に対して冠血管拡張薬を投与したため、非投与群との比較はできなかった。また逆にベータ遮断薬が、拡張相への移行を促進し、突然死や心不全死といった予後へ悪影響を及ぼすか否かについては検証できなかった。

結語

肥大型心筋症患者では、アセチルコリン負荷により冠攣縮が高頻度に誘発され、SGCD 遺伝子の 5' -非翻訳領域の G/C (SNP rs 13170573) 多型は冠攣縮性狭心症群では非冠攣縮性狭心症群と比較して高頻度に認められた。

日本人肥大型心筋症患者における SGCD 遺伝子多型のスクリーニングは、冠攣縮性狭心症に対する遺伝的素因を評価するのに有効な検査となり得ることが示唆された。また肥大型心筋症と冠攣縮性狭心症の合併という病態を解明する一助となり得るかもしれない。

第 5 章

参考文献

1. Teare RD. Asymmetric hypertrophy of the heart in young adults. *Br Heart J.* 1958; 20: 1.
2. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyarfás I, Martin I, Nordet P. Report of the 1995 World Health Organization / International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation.* 1996; 93: 841-842.
3. Hada Y, Sakamoto T, Amano K, Yamaguchi T, Takenaka K, Takahashi H, Takikawa R, Hasegawa I, Takahashi T, Suzuki J, Sugimoto T, Saito K. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a population of adult Japanese workers as detected by echocardiographic screening. *Am J Cardiol.* 1987; 59: 183-184.
4. Kuroda T, Shiina A, Tsuruda K, Fujita T, Yamasawa M, Mitsunashi T, Suzuki O, Yaginuma T, Hosoda S. Mass screening of cardiovascular disorders by two-dimensional echocardiography. *J Cardiol.* 1989; 19: 933-943.
5. Codd MB, Sugrue DD, Gersh BJ, Melton LJ 3rd. Epidemiology of idiopathic dilated and hypertrophic cardiomyopathy: A population-based study in Olmsted county, Minnesota, 1975-1984. *Circulation.* 1989; 80: 564-752.
6. Agnarsson UT, Hardarson T, Hallgrímsson J, Sigfusson N. The prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in men: an echocardiographic population screening study with a review of death records. *J Intern Med.* 1992; 232: 499-506.
7. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of

- hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults: Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA study: coronary artery risk development in (young) adults. *Circulation*. 1995; 92: 785-789.
8. Maron BJ, Gottdiener JS, Epstein SE. Patterns and significance of distribution of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy: a wide angle, two-dimensional echocardiographic study of 125 patients. *Am J Cardiol*. 1981; 48: 418-428.
 9. Kitaoka H, Doi Y, Casey SA, Hitomi N, Furuno T, Maron BJ. Comparison of prevalence of apical hypertrophic cardiomyopathy in Japan and the United States. *Am J Cardiol*. 2003; 92: 1183-1186.
 10. Elliott P, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 2004; 363: 1881-1891.
 11. Hughes SE. The pathology of hypertrophic cardiomyopathy. *Histopathology*. 2004; 44: 412-427.
 12. Roberts R, Sigwart U. Current concepts of the pathogenesis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2005; 112: 293-296.
 13. Van Driest SL, Ommen SR, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ. Sarcomeric genotyping in hypertrophic cardiomyopathy. *Mayo Clin Proc*. 2005; 80: 463-469.
 14. Maron BJ, Casey SA, Poliac LC, Gohman TE, Almquist AK, Aeppli DM. Clinical course of hypertrophic cardiomyopathy in a regional United States cohort. *JAMA*. 1999; 281: 650-655.
 15. Sorajja P, Ommen SR, Nishimura RA, Gersh BJ, Berger PB, Tajik AJ. Adverse prognosis of patients with hypertrophic cardiomyopathy who have epicardial coronary artery disease. *Circulation*. 2003; 108: 2342-2348.

16. Maron BJ, Epstein SE, Roberts WC. Hypertrophic cardiomyopathy and transmural myocardial infarction without significant atherosclerosis of the extramural coronary arteries. *Am J Cardiol.* 1979; 43: 1086-1102.
17. Waller BF, Maron BJ, Epstein SE, Roberts WC. Transmural myocardial infarction in hypertrophic cardiomyopathy: a cause of conversion from left ventricular asymmetry to symmetry and from normal-sized to dilated left ventricular cavity. *Chest.* 1981; 79: 461-465.
18. Basso C, Thiene G, Corrado D, Buja G, Melacini P, Nava A. Hypertrophic cardiomyopathy and sudden death in the young: pathologic evidence of myocardial ischemia. *Hum Pathol.* 2000; 31: 988-998.
19. Sakamoto A, Ono K, Abe M, Jasmin G, Eki T, Murakami Y, Masaki T, Toyooka T, Hanaoka F. Both hypertrophic and dilated cardiomyopathies are caused by mutation of the same gene, delta-sarcoglycan, in hamster: an animal model of disrupted dystrophin-associated glycoprotein complex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94: 13873-13878.
20. Wheeler MT, Allikian MJ, Heydemann A, Hadhazy M, Zarnegar S, McNally EM. Smooth muscle cell-extrinsic vascular spasm arises from cardiomyocyte degeneration in sarcoglycan-deficient cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 2004; 113: 668-675.
21. Cohn RD, Durbeej M, Moore SA, Coral-Vazquez R, Prouty S, Cambell KP. Prevention of cardiomyopathy in mouse models lacking the smooth muscle sarcoglycan-sarcospan complex. *J Clin Invest.* 2001; 107: R1-7.
22. Wheeler MT, Korcarz CE, Collins KA, Lapidos KA, Hack AA, Lyons MR, Zarnegar S, Earley JU, Lang RM, McNally EM. Secondary coronary artery vasospasm

- promotes cardiomyopathy progression. *Am J Pathol.* 2004; 164: 1063-1071.
23. Moncada S, Higgs EA. Nitric oxide and the vascular endothelium. *Handb Exp Pharmacol.* 2006; 176: 213-254.
 24. Yasue H, Omote S, Takizawa A, Nagao M. Coronary arterial spasm in ischemic heart disease and its pathogenesis. A review. *Circ Res.* 1983; 52: 1147-152.
 25. Okumura K, Yasue H, Matsuyama K, Goto K, Miyagi H, Ogawa H, Matsuyama K. Sensitivity and specificity of intracoronary injection of acetylcholine for the induction of coronary artery spasm. *J Am Coll Cardiol.* 1988; 12: 883-888.
 26. Yasue H, Kugiyama K. Coronary spasm: clinical features and pathogenesis. *Intern Med.* 1997; 36: 760-765.
 27. Kugiyama K, Yasue H, Ohgushi M, Motoyama T, Kawano H, Inobe Y, Hirashima O, Sugiyama S. Deficiency in nitric oxide bioactivity in epicardial coronary arteries of cigarette smokers. *J Am Coll Cardiol.* 1996; 28: 1161-1167.
 28. Yasue H, Takizawa A, Nagao M, Nishida S, Horie M, Kubota J, Omote S, Takaoka K, Okumura K. Long-term prognosis for patients with variant angina and influential factors. *Circulation.* 1988; 78: 1-9.
 29. Kugiyama K, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Fujimoto K, Nakao K, Yoshimura M, Motoyama T, Inobe Y, Kawano H. Nitric oxide activity is deficient in spasm arteries of patients with coronary spastic angina. *Circulation.* 1996; 94: 266-272.
 30. Pristipino C, Beltrame JF, Finocchiaro ML, Hattori R, Fujita M, Mongiardo R, Cianflone D, Sanna T, Sasayama S, Maseri A. Major racial differences in coronary constrictor response between Japanese and Caucasians with recent myocardial infarction. *Circulation.* 2000; 101: 1102-1108.
 31. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M, Shimasaki Y, Kugiyama K, Ogawa H,

- Motoyama T, Saito Y, Ogawa Y, Miyamoto Y, Nakao K. T-786-->C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation*. 1999; 99: 2864-2870.
32. Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Sumida H, Sugiyama S, Kugiyama K, Ogawa H, Ogawa Y, Saito Y, Miyamoto Y, Nakao K. A missense Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese. *Hum Genet*. 1998; 103: 65-69.
33. Ito T, Yasue H, Yoshimura M, Nakamura S, Nakayama M, Shimasaki Y, Harada E, Mizuno Y, Kawano H, Ogawa H. Paraoxonase gene Gln192Arg (Q192R) polymorphism is associated with coronary artery spasm. *Hum Genet*. 2002; 110: 89-94.
34. Suzuki S, Yoshimura M, Nakayama M, Abe K, Yamamuro M, Nagayoshi Y, Kojima S, Kaikita K, Sugiyama S, Yasue H, Ogawa H. A novel genetic marker for coronary spasm in women from genome-wide single nucleotide polymorphism analysis. *Pharmacogenet Genomics*. 2007; 17: 919-930.
35. Cecchi F, Olivotto I, Gistri R, Lorenzoni R, Chiriatti G, Camici PG. Coronary microvascular dysfunction and prognosis in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2003; 349: 1027-1035.
36. Olivotto I, Cecchi F, Gistri R, Lorenzoni R, Chiriatti G, Girolami F, Torricelli F, Camici PG. Relevance of coronary microvascular flow impairment to long-term remodeling and systolic dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 47: 1043-1048.
37. Nosaka H, Nobuyoshi M. Coronary arterial spasm and symptomatology in ischemic and non-ischemic heart diseases: study of the ergonovine maleate provocative test in

- 3,000 consecutive patients. *J Cardiogr Suppl.* 1987; 12: 35-47.
38. Nakahashi T, Naka M, Shiotani I, Nagano R, Bun T, Aoki M, Yagoro A, Katsube Y, Kato Y, Kinoshita N, Nukata T. Vasospastic angina pectoris associated with apical hypertrophic cardiomyopathy. *Intern Med.* 1995; 34: 436-440.
39. Kodama K, Hamada M, Kazatani Y, Matsuzaki K, Murakami E, Shigematsu Y, Hiwada K. Clinical characteristics in Japanese patients with coexistent hypertrophic cardiomyopathy and coronary vasospasm. *Angiology.* 1998; 49: 849-855.
40. Konishi T, Kondou H, Tamura T, Izumi C, Inoko M, Kitaguchi S, Himura Y, Iga K, Gen H. Two cases of hypertrophic cardiomyopathy with coronary vasospasm. *Jpn Circ J.* 1998; 62: 854-857.
41. Suzuki N, Seto S, Koide Y, Sato O, Hirano H, Kawano H, Yano K. Coexistence of familial hypertrophic cardiomyopathy and vasospastic angina pectoris in two brothers. *Jpn Heart J.* 2003; 44: 775-782.
42. Morito N, Ogawa M, Matsuo S, Mihara H, Miyoshi K, Yahiro E, Fujimi K, Ohta T, Kodama S, Yamanouchi Y, Urata H, Hiroki T, Saku K. Atrial septal defect in apical hypertrophic cardiomyopathy associated with coronary spasm. *Int J Cardiol.* 2004; 93: 339-342.
43. Okumura K, Yasue H, Matsuyama K, Ogawa H, Morikami Y, Obata K, Sakaino N. Effect of acetylcholine on the highly stenotic coronary artery: difference between the constrictor response of the infarct-related coronary artery and that of the noninfarct-related artery. *J Am Coll Cardiol.* 1992; 19: 752-758.
44. Maruyoshi H, Kojima S, Otsuka F, Funahashi T, Kaikita K, Sugiyama S, Sakamoto T, Yoshimura M, Shimomura I, Ogawa H. Hypoadiponectinemia is associated with coronary artery spasm in men. *Circ J.* 2005; 69: 1154-1156.

45. Tesauro M, Thompson WC, Rogliani P, Qi L, Chaudhary PP, Moss J. Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary disease: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97: 2832-2835.
46. Ogimoto A, Shigematsu Y, Nakura J, Hara Y, Ohtsuka T, Kohara K, Hamada M, Miki T, Higaki J. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (Glu298Asp) in patients with coexistent hypertrophic cardiomyopathy and coronary spastic angina. *J Mol Med*. 2005; 83: 619-625.
47. Cuda G, Fananapazir L, Zhu WS, Sellers JR, Epstein ND. Skeletal muscle expression and abnormal function of beta-myosin in hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 1993; 91: 2861-2865.
48. Lankford EB, Epstein ND, Fananapazir L, Sweeney HL. Abnormal contractile properties of muscle fibers expressing beta-myosin heavy chain gene mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 1995; 95: 1409-1414.
49. Bottinelli R, Coviello DA, Redwood CS, Pellegrino MA, Maron BJ, Spirito P, Watkins H, Reggiani C. A mutant tropomyosin that causes hypertrophic cardiomyopathy is expressed in vivo and associated with an increased calcium sensitivity. *Circ Res*. 1998; 82: 106-115.
50. Morimoto S, Yanaga F, Minakami R, Ohtsuki I. Ca²⁺-sensitizing effects of the mutations of Ile-7 and arg-92 of troponin T in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Physiol*. 1998; 275: C100-C207.
51. Tyska MJ, Hayes E, Giewat M, Seidman CE, Seidman JG, Warshaw DM. Single-molecule mechanics of R403Q cardiac myosin isolated from the mouse model of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res*. 2000; 86: 737-744.

52. Elliott K, Watkins H, Redwood CS. Altered regulatory properties of human cardiac troponin I mutants that cause hypertrophic cardiomyopathy. *J Biol Chem.* 2000; 275: 22069-22074.
53. Hayashi T, Arimura T, Itoh-Satoh M, Ueda K, Hohda S, Inagaki N, Takahashi M, Hori H, Yasunami M, Nishi H, Koga Y, Nakamura H, Matsuzaki M, Choi BY, Bae SW, You CW, Han KH, Park JE, Knöll R, Hoshijima M, Chien KR, Kimura A. Tcap gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 44: 2192-2201.
54. Proschek L, Jasmin G. Hereditary polymyopathy and cardiomyopathy in the Syrian hamster. II. Development of heart necrotic changes in relation to defective mitochondrial function. *Muscle Nerve.* 1982; 5: 26-32.
55. Iwata Y, Katanosaka Y, Arai Y, Komamura K, Miyatake K, Shigekawa M. A novel mechanism of myocyte degeneration involving the Ca²⁺-permeable growth factor-regulated channel. *J Cell Biol.* 2003; 161: 957-967.
56. Iwata Y, Katanosaka Y, Shijun Z, Kobayashi Y, Hanada H, Shigekawa M, Wakabayashi S. Protective effects of Ca²⁺ handling drugs against abnormal Ca²⁺ homeostasis and cell damage in myopathic skeletal muscle cells. *Biochem Pharmacol.* 2005; 70: 740-751.
57. Somlyo AP, Somlyo AV. Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature.* 1994; 372: 231-236.
58. Tsubata S, Bowles KR, Vatta M, Zintz C, Titus J, Muhonen L, Bowles NE, Towbin JA. Mutations in the human delta-sarcoglycan gene in familial and sporadic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 2000; 106: 655-662.
59. Sakata K, Nawada R, Ohbayashi K, Tamekiyo H, Yoshida H. Diffuse and severe left

- ventricular dysfunction induced by epicardial coronary artery spasm. *Angiology*. 2000; 51: 837-847.
60. Shimizu M, Kawata M, Okada T, Mizutani T. Diffuse left ventricular hypokinesis mimicking dilated cardiomyopathy with multi-vessel coronary vasospasm. *J Cardiol*. 2000; 35: 409-415.
61. Biagini E, Coccolo F, Ferlito M, Perugini E, Rocchi G, Bacchi-Reggiani L, Lofiego C, Boriani G, Prandstraller D, Picchio FM, Branzi A, Rapezzi C. Dilated-hypokinetic evolution of hypertrophic cardiomyopathy: prevalence, incidence, risk factors, and prognostic implications in pediatric and adult patients. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 46: 1543-1550.
62. Nishi I, Iida K, Kawano S, Masumi T, Fumikura Y, Ohtsuka S, Watanabe S, Yamaguchi I. Effects of anti-vasospastic agent in Japanese patients with dilated cardiomyopathy and coronary vasospasm. *Jpn Heart J*. 2002; 43: 333-342.
63. Suzuki S, Sugiyama S, Usuku H, Hirai N, Kaikita K, Sakashita N, Sakamoto T, Yoshimura M, Ogawa H. Heart failure with silent coronary artery spasm exhibiting microscopic focal myocardial necrosis and amyloid-deposition. *Intern Med*. 2004; 43: 199-203.
64. Spirito P, Seidman CE, McKenna WJ, Maron BJ. The management of hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 1997; 336: 775-785.
65. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systemic review. *JAMA*. 2002; 287: 1308-1320.