

博士（医学）米谷圭史

学位論文題名

Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy

（肥大型心筋症症例におけるアンジオテンシン変換酵素遺伝子多型性の検討）

学位論文内容の要旨

緒言。近年、肥大型心筋症が多発した家系の解析により、ミオシン重鎖遺伝子変異を有する症例の存在が報告され、心筋細胞サルコメアを構成するタンパク質の異常が心筋肥大の原因となりうることが明らかとなった。また左室心筋肥大は、高血圧症、大動脈弁狭窄症など圧負荷があると発生し、その機序として catecholamine, angiotensin II などの液性因子や伸展刺激等による細胞増殖作用が明らかにされつつある。しかしその一方で、血圧正常ながらびまん性左室心筋肥大を呈する症例や、家系内発症を認めない肥大型心筋症孤発症例も存在する。また圧負荷による左室心筋肥大においても、アンジオテンシン変換酵素阻害薬による肥大の退縮は降圧効果と相關しないとの報告もあり、心肥大発症機序の多様性を示していると考えられる。アンジオテンシン変換酵素(ACE)は、レニン・アンジオテンシン系を調節する因子の一つとして重要な位置を占めている。1990年、血清ACEレベルはACE遺伝子自体、すなわち ACE遺伝子 I/D 多型により半ば規定されているということが報告されたのを契機に、ACE D 遺伝子と心疾患との関連をしめす報告が相次いでなされた。これらの疾患や現象は、ACEの作用で生成した angiotensin II による、心筋・血管平滑筋その他の増殖作用との関係で説明される。血清ACEレベルと同様、局所レニン・アンジオテンシン系においても、ACE遺伝子 I/D 多型により組織ACE活性が規定されている可能性がある。以上のこと踏まえ、我々はアンジオテンシン変換酵素遺伝子と左室心筋肥大との関連を明らかにするため、家族性を含む肥大型心筋症症例においてアンジオテンシン変換酵素遺伝子多型性を検討した。

方法。対象は北海道大学医学部附属病院循環器内科にて心エコー図検査を施行し肥大型心筋症と診断した患者80例、及びその健常家族88例、計168例。肥大型心筋症の診断は、病歴、理学所見より心筋肥大を呈する他の疾患を除外し、心エコー図法上、心室中隔、心尖部、あるいは左室自由壁に局在する肥大を呈するものとした。ただし、びまん性肥大を呈しても、基礎疾患が既往上も検査所見上も全く認められない場合、肥大型心筋症に含めた。これらを同一家系内複数発症の認める家族性HCM群(FHCM群)と家系内発症の認めない孤発性HCM群(SHCM群)にわけ、それぞれの群のうち心エコー図上異常所見を認めない正常者を一群にまとめた。以上の「全HCM患者群(全HCM群)」、「FHCM群」、「SHCM群」、「家族歴を有する正常群(Controls)」の間で ACE I/D 型を検討した。I/D 型の判定は末梢血からゲノムDNAを抽出し判定に用いた。PCR 反応は Rigatらの方法に従った。統計解析は先に述べた4群の間で、ACE 遺伝子多型の DD 型・ID 型・II 型それぞれに属する人数を調べ、3通りの genotype の出現比率のパターンを比較した。統計手法としては χ^2 検定を用い、5% の危険率で群間の独立性を検定した。年齢、収縮期血圧、拡張期血圧、平均左室最大壁厚については、分散分析による群間比較を行った。

結果。「全HCM群」「FHCM群」「SHCM群」「Controls」の4群の年齢、収縮期血圧、拡張期血圧の平均値は有意差を認めなかった。また「全HCM群」、「FHCM群」、「SHCM群」の3群間では左室最大壁厚の平均値に有意差を認めなかった。「全HCM群」における肥大様式は非対称性中隔肥大が全体の約85%を占めた。また肥大様式は、「FHCM群」と「SHCM群」との間で有意な偏りを認めず、ACE 遺伝子型との間にも特異的な偏りは認めなかった。対象の168例はすべて DD、ID、II いずれかの genotype を示した。統計では DD 型 30 例、ID 型 69 例、II 型 69 例であり、D アレル出現頻度は 0.38 であった。全HCM 群と正常群間で genotype 出現パターンを比較すると、「全HCM群」で ID 型の頻度、D アレルの頻度が高く、統計学上有意差を認めた。これにより HCM と ACE 遺伝子の関連が示された。家族性と弧発例の検討では、「FHCM群」と「Controls」との比較で ACE 遺伝子型出現パターンに有意差を認めることはできなかったのに対し、「SHCM群」と「Controls」との比較では、「SHCM群」で ID 型の割合が高く、D アレルの頻度を多く認めた。

考察。本研究で考察した二点を示す。一点目は D アレルが欧米諸国の報告よりも有意に低かったこと。ACE 遺伝子と心疾患との関連は、急性心筋梗塞症、拡張型心筋症、心電図診断による左室肥大、HCM の突然死などが報告されている。これらは欧米諸国の報告で、D アレルの出現頻度が 0.54～0.58 の間であった。今回の結果では D アレル頻度が 0.38 となり、欧米諸国の報告と比べ明かな低値を示した。他の日本人を対象に ACE 遺伝子多型を調べた報告においても、D アレル出現頻度は 0.32～0.39 の間であり、I/D アレル頻度に人種間或いは地域差のあることが疑われる。しかし多くの報告において、疾患群での D allele 頻度がコントロール群より有意差を持って高く、D アレル（または DD genotype）が異なる人種間でも共通の心疾患危険因子である可能性を示している。

考察の二点目は HCM、特に弧発例で D アレル頻度が高かったことである。本研究では、HCM 弧発例で D アレルの高い傾向が顕著に現れたことを初めて示した。D アレルを持つ場合の Odds ratio は、FHCM は正常群と比較して遺伝子型に偏りがないのに比し、全HCM では D アレルを有した場合の約2倍、SHCM では約3倍となった。

家族性HCMについては、その発症原因としてミオシン重鎖、トロポニン、トロポミオシンなどサルコメアを構成する蛋白質の異常が明らかとなってきている。しかし、弧発性HCMについては、一部家族性HCMと同様に構造蛋白質をコードする遺伝子の *germ line* における点突然変異に起因するものが報告されているものの、大部分は原因が不明であり、圧負荷による左室肥大 (LVH) との形態的差異も明らかではない。既に心電図基準による LVH については、LVH のないものに比し D アレル頻度が高かったとの報告があり、弧発性HCMについての調査でも同様の傾向を示す可能性は充分考えられた。

今回我々が、断層心エコー図記録により HCM と診断した患者において、特に弧発性 HCM 群で D allele 頻度が高いことを証明したことは、家族性HCM以外の、弧発性HCM を含む心肥大の発症・進展において、ACE の関与がある可能性を示したものである。このことは、弧発性HCMと、圧負荷などによる二次的な LVH との間に一部 overlap する症例が存在することを示しているものと考えられた。

結論。アンジオテンシン変換酵素遺伝子は、肥大型心筋症の発症・進展に関連があると考えられた。

学位論文審査の要旨

主査教授 川上 義和
副査教授 安田 慶秀
副査教授 北畠 顯

学位論文題名

Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy

(肥大型心筋症症例におけるアンジオテンシン変換酵素遺伝子多型性の検討)

近年、肥大型心筋症が多発した家系の解析により、 β -ミオシン重鎖遺伝子変異を有する症例の存在が報告され、心筋細胞サルコメアを構成するタンパク質の異常が心筋肥大の原因となりうることが明らかとなった。また、左室心筋肥大は、高血圧症、大動脈弁狭窄症などの圧負荷があると発生し、その機序として catecholamine, angiotensin II などの液性因子や伸展刺激等による細胞増殖作用が明らかにされつつある。しかしその一方で、血圧正常ながらびまん性左室心筋肥大を呈する症例や、家系内発症を認めない肥大型心筋症弧発例、更には家系内発症を認めながら現時点では遺伝子変異をとらえられない症例も存在する。また、圧負荷による左室心筋肥大においても、アンジオテンシン変換酵素阻害薬による肥大の退縮は降圧効果と相関しないとの報告もあり、心肥大発症機序の多様性を示していると考えられる。

アンジオテンシン変換酵素(ACE)は、レニン・アンジオテンシン系を調節する因子の一つとして重要な位置を占めている。1990年、血清ACEレベルはACE遺伝子自体、すなわち ACE 遺伝子 I/D 多型により半ば規定されているということが報告されたのを契機に、以後 ACE D 遺伝子と心疾患との関連をしめす報告が相次いでなされた。これらの疾患や現象は、ACE の作用で生成した angiotensin II による、心筋・血管平滑筋その他の増殖作用との関係で説明される。血清 ACE レベルと同様、局所レニン・アンジオテンシン系においても、ACE 遺伝子 I/D 多型により組織 ACE 活性が規定されている可能性がある。

以上のこと踏まえ、申請者はアンジオテンシン変換酵素遺伝子と左室心筋肥大との関連を明らかにするため、家族性を含む肥大型心筋症症例においてアンジオテンシン変換酵素遺伝子多型 (ACE gene I/D polymorphism) を検討した。

対象は北海道大学医学部附属病院循環器内科にて心エコー図検査を施行し肥大型心筋症と診断した患者80例、及びその健常家族88例、計168例。肥大型心筋症の診断は、病歴、理学所見

より心筋肥大を呈する他の疾患を除外し、心エコー図法上、心室中隔、心尖部、あるいは左室自由壁に局在する肥大を呈するものとした。ただし、びまん性肥大を呈しても、基礎疾患が既往上も検査所見上も全く認められない場合、肥大型心筋症に含めた。これらを同一家系内複数発症の認める家族性 HCM 群 (FHCMS) と家系内発症の認めない孤発性 HCM 群 (SHCMs) にわけた。以上の「全HCM 患者群 (HCMs)」、「FHCMS」、「SHCMs」、「家族歴を有する正常群 (Controls)」の間で ACE I/D 型を検討した。I/D 型の判定は末梢血からゲノムDNAを抽出し判定に用いた。PCR 反応は Rigatらの方法に従った。統計解析は先に述べた 4 群の間で、ACE 遺伝子多型の DD 型・ID 型・II 型それぞれに属する人数を調べ、3通りの genotype の出現比率のパターンを比較した。統計手法としては χ^2 検定を用い、5% の危険率で群間の独立性を検定した。年齢、収縮期血圧、拡張期血圧、平均左室最大壁厚については、Kruskal-Wallis 検定による群間比較を行った。

その結果、「HCMs」「FHCMS」「SHCMs」「Controls」の4群の年齢、収縮期血圧、拡張期血圧は有意差を認めなかった。また「HCMs」、「FHCMS」、「SHCMs」の3群間では左室最大壁厚に有意差を認めなかった。「HCMs」における肥大様式は非対称性中隔肥大(ASH)が全体の約85%を占めた。また肥大様式は、「FHCMS」と「SHCMs」との間で有意な偏りを認めず、ACE 遺伝子型との間にも特異的な偏りは認めなかった。対象の168例はすべて DD、ID、II いずれかの遺伝子型を示した。全例では DD 型 30 例、ID 型 69 例、II 型 69 例であり、D アレル出現頻度は 0.38 であった。HCMs と Controls 間で genotype 出現パターンを比較すると、HCMs で ID 型の頻度、D アレルの頻度が高く、 χ^2 検定による有意差を認めた。FHCMS と Controls との比較では ACE 遺伝子型出現パターンに有意差を認めることはできず、SHCMs と Controls との比較では、SHCMs で、D アレルの頻度を有意に多く認めた。

多変量解析では、年齢・ACE D 遺伝子が肥大の有意な危険因子であった。また、ACE 遺伝子多型が病態に影響を与える機序について、ACE 遺伝子の多型部位近傍に存在するスプライス異常が関与する可能性を示した。

口頭発表において、副査の安田慶秀教授から、コントロール群の設定についての質問がなされ、続いて家族性肥大型心筋症についての浸透率、多変量解析の結果の年齢要因の意義、高血圧性左室肥大との関連、人種差の意義についての質問があった。続いて副査の北畠顕教授より、孤発性の発症における D 遺伝子の意義、治療への応用の可能性について質問があった。最後に、主査の川上義和教授より、人種差における D 遺伝子の頻度と肥大型心筋症発症率の関係について、予後との関係についての質問があり、ACE 遺伝子型とサルコイドーシスについての示唆があった。以上の質問に対し申請者は、研究結果と文献的見解とから、概ね妥当と思われる回答をおこなった。

本研究は肥大型心筋症、特に孤発例の発症にアンジオテンシン変換酵素遺伝子が関与していることを明らかにした点においてその意義は大きく、また研究者として誠実かつ熱心であり、審査員一同は協議の結果、申請者が博士（医学）の学位授与に値するものと判定した。