

論文の内容の要旨

論文題目 日本人マルファン症候群における診断基準の適合性、
および大動脈拡大の危険因子・予防に関する検討

氏名 藤田 大司

マルファン症候群(Marfan syndrome, MFS)は常染色体優性遺伝の全身結合組織疾患であり、特徴的な体型、水晶体亜脱臼、若年発症の大動脈解離や上行大動脈瘤を特徴とする。5,000-10,000 人に 1 人の発症と言われ、男女差や人種差は報告されていない。第 15 染色体のフィブリリン遺伝子(*FBNI*)が原因遺伝子として特定され、病態生理に関する研究が近年加速度的に進められている。フィブリリンは細胞外マトリックスの構成要素である microfibril の主成分であり、発見当初は *FBNI* 変異に伴う組織の脆弱性が諸症状の原因と考えられた。近年では、フィブリリンがトランスフォーミング増殖因子 β (TGF- β)の安定化に関与していることが判明しており、MFS における TGF- β の関与が注目されている。また、治療薬として TGF- β の作用を抑制するアンジオテンシン II 受容体阻害剤 (ARB)に関する基礎的・臨床的検討が行われている。

MFS の診断は臨床所見に基づいた Ghent 基準が 1990 年半ばより用いられてきた。Ghent 基準では、①骨、②眼、③心血管、④肺、⑤皮膚、⑥硬膜、⑦遺伝性の 7 つの項目について大基準と小基準を評価する。全身を網羅的に把握できる反面、診断に至るために多種類の項目を評価しなければならなかった。MFS の原因遺伝子の研究が進むにつれ、遺伝子変異を重視した診断基準にシフトしつつあり、2010 年に診断基準が改訂された。改訂 Ghent 基準では、②眼、③心血管、⑦遺伝性を重点的に評価し、その他の項目は全身スコアとして一括評価されることになった。本研究では、当院マルファン専門外来で MFS の精査を行った 339 成人例(うち 157 例が MFS と診断)につき臨床像を把握し、改訂 Ghent 基準の適合性と有用性を検討した。欧米での報告に比べて、日本人の MFS では骨格系の特徴に乏しく、肺や硬膜の所見が多かった。水晶体亜脱臼の頻度は約 50%と大差なく、心血管系の表現型は約 9 割と多かった。改訂 Ghent 基準は、従来 Ghent 基準と約 95%の一致率を誇り、評価項目が少ないため臨床現場ではより有用であると考えられた。同意を得て遺伝子検査を実施した群で検討すると、MFS と診断した症例の約 7 割に *FBNI* 変異が検出された。改訂 Ghent 基準の方が、従来 Ghent 基準よりも遺伝子検査結果との相関は若干良かった。

FBNI は 65 エクソンから成る大きな遺伝子であり、MFS における変異の

hot spot は報告されていない。システイン残基にまつわる変異が水晶体亜脱臼との関連が深いと言われているものの、その他に臨床表現型と遺伝子変異型間に明らかな相関は知られていない。*FBNI* 変異により形成される異常フィブリリントタンパクは dominant negative 効果を持つと言われており、途中で転写が停止する nonsense mutation よりも missense mutation の方が重症であると考えられてきた。しかし、MFS の診断を満たし *FBNI* 変異が検出された当院の 69 成人例で検討すると、nonsense mutation は missense mutation と比べて大動脈径はむしろ大きい傾向にあり(バルサルバ洞径 mm 46.2 ± 12.9 vs 44.1 ± 8.7 ; $P=0.61$, Z 値 7.8 ± 5.5 vs 4.8 ± 3.4 ; $P=0.24$)、また全身スコアに関しては有意に高かった(9.25 ± 3.4 vs 4.4 ± 3.0 ; $P=0.049$)。nonsense mutation の方が MFS の特徴が顕著であったことは、正常フィブリリン量が減少することにより TGF- β の安定化の障害が起きていることと関連している可能性が示唆される。従来の報告通り、システイン残基に関連した点突然変異に水晶体亜脱臼が多い傾向にあり(システイン missense mutation 76.4%, nonsense mutation 33.3%, frameshift mutation 33.3%, splicing mutation 62.5%; $P=0.15$)、水晶体亜脱臼のメカニズムは大動脈や骨格系の異常のメカニズムとは異なる可能性が示唆される。

MFS における TGF- β の役割を検証するため、MFS 患者の大動脈由来の細胞を用いて TGF- β のシグナリングを検討した。同意を得て大動脈基部置換術の際に大動脈壁の残余を取得し、大動脈壁由来の平滑筋細胞を単離培養した。本研究で使用した細胞では、exon24 に nonsense mutation が検出されている。この細胞は通常培養の状態では、TGF- β の下流の smad2 のリン酸化はあまり亢進していなかったが、外的に TGF- β を加えると、対照とした健常線維芽細胞に比べて smad2 のリン酸化を受けやすかった。過去の報告より、MFS では TGF- β シグナルの最終産物として MMP-2 や CTGF が大動脈拡大に関与していると考えられている。今回、実際のヒト MFS 細胞においても ARB 投与下では TGF- β 刺激時における MMP-2 の RNA レベルでの発現増加が抑制された。ARB の作用点として Erk のリン酸化が注目されているが、今回の検討でははっきりさせることはできなかった。今回の検討は、外的に TGF- β 刺激を加えた系での結果であり、そもそも MFS において一次的に TGF- β が亢進しているのか否かは完全には明らかにはなっていない。本研究では、特定の遺伝子変異を有する MFS 細胞の小規模の検討であり、今後動物実験も含めた更なる検討が必要である。

最後に ARB と β 遮断薬の実臨床における効果を当院のマルファン外来症例のデータで検証した。当院において、バルサルバ洞径を心臓超音波検査で継続的にフォローしている 59 症例(平均年齢 31.8 ± 11.3 歳, 初診時バルサルバ洞径 40.2 ± 3.7 mm、フォローアップ期間平均 34.0 ヶ月)では、平均 0.053 ± 0.103 mm/月の速度で拡大が進行していた。薬物治療を要した 38 症例では、バルサルバ洞拡大速度は 0.069 ± 0.117 mm/月であるのに対して、経過中内服を要しなかった 21

症例では 0.023 ± 0.068 mm/月とほとんど大動脈径の拡大を認めなかった。薬物治療群と非薬物治療群を比較すると、薬物治療群ではより高齢(34.2 ± 11.5 vs 27.3 ± 9.3 歳; $P=0.02$)であり、体重や BMI が大きかった(64.5 ± 11.3 vs 57.9 ± 9.3 kg; $P=0.03$, 20.1 ± 3.0 vs 17.9 ± 2.2 ; $P=0.005$)。また、フォローアップ開始時のバルサルバ洞径もより大きかった(41.3 ± 3.8 vs 38.2 ± 2.6 mm; $P<0.001$)。血圧が有意に高く(収縮期血圧 117.2 ± 11.4 vs 110.5 ± 8.1 mmHg; $P=0.01$, 平均血圧 85.7 ± 8.5 vs 81.7 ± 6.4 mmHg; $P=0.047$)、多変量解析においても平均血圧が大動脈拡大速度と正の相関を有するリスク因子として有意であった($P=0.033$, $R^2=0.1$)。若年かつ高血圧とは言い難い症例群であるものの、MFS においては血圧がより低い方が大動脈の予後が良いものと考えられた。全身スコアと大動脈拡大速度との間に有意な相関は得られなかった。薬物治療群の実際の薬剤介入の効果をさらに検討したところ、バルサルバ洞径拡大速度は非内服期間には 0.13 ± 0.11 mm/月であったが、 β 遮断薬内服下には 0.03 ± 0.13 mm/月と有意に拡大速度の抑制を認めたが($P=0.03$)、ARB 内服下では 0.11 ± 0.11 mm/月と大きな効果は認められなかった。年齢、性別、フォローアップ開始時のバルサルバ洞径、全身スコアなどの背景因子には差はなく、ARB 群において薬物治療開始後の血圧および心拍数がやや高い傾向にあった(平均血圧 86.3 ± 10.3 vs 81.1 ± 6.2 mmHg; $P=0.29$, 心拍数 70.8 ± 7.0 vs 64.2 ± 8.6 /回; $P=0.13$)。ARB 群の代表的薬剤投与量は Losartan 平均 28.1 mg (12.5 - 50 mg) であり、ARB 群の効果が不十分であったのは投与量が不十分であった可能性もある(β 遮断薬の代表的投与量は Atenolol 平均 42.5 mg (12.5 - 100 mg))。今後はより積極的に降圧を図りながら、十分量の ARB 投与下での大動脈拡大への効果を判定する必要がある。

以上、本研究では日本人マルファン症候群において 2010 年改訂 Ghent 基準が有用であること、遺伝子変異の種類として従来説とは異なり missense mutation よりも nonsense mutation の方が臨床所見は顕著であることを明らかにした。そのメカニズムとしてフィブリリンと TGF- β の関連が推測され、細胞レベルにおいていくつかの基礎的な検討を加えた。MFS における ARB 治療はクロールズアップされ、期待されているが、現時点での臨床使用においては後ろ向き検討では効果が不十分である可能性も判明した。今後のさらなる病態生理の解明と、治療標的の研究、実臨床における治療法の確立が望まれる。