■総 説

拡張型心筋症の遺伝子変異と電子顕微鏡

齋藤恒徳

Review

Comparison of Ultrastructural Features of Cardiomyocytes and Variants in Known Causative Genes of Dilated Cardiomyopathy

Tsunenori Saito

Abstract

Since each finding obtained by electron microscopy of dilated cardiomyopathy has not been given sufficient clinical significance, there is an urgent need for its probability as evidence. We have been trying to establish the usefulness of electron microscopy in the diagnosis and treatment of dilated cardiomyopathy. Dilated cardiomyopathy with myofilament lysis has a poor prognosis. Myofilament lysis can be congenital due to genetic variants or acquired due to myocarditis or autoimmunity. We compared the ultrastructure of myocardial biopsy specimens with genetic variants of dilated cardiomyopathy detected by whole-exome analysis by next-generation sequencing. Here, we outline the clinical significance of electron microscopy in dilated cardiomyopathy.

Key words 拡張型心筋症,遺伝子変異,電子顕微鏡,次世代シーケンサー,全エクソーム解析

(WAARM Journal, 2021, 2022; 4: 1–11)

1. はじめに

電子顕微鏡(電顕)は、観察したい対象に電子線 を照射して拡大像を得る顕微鏡である。電子線の波 長が可視光線に比べ非常に短いため光学顕微鏡(光 顕) では見ることのできない数 nm の原子・分子レ ベルのような微細なものまで観察できる.薄く切っ たサンプルを透過してきた電子線の強弱を画像化し てサンプル内の電子透過率の分布を観察する透過型 電顕(切断面の画像が得られる)と、電子線を照射 してサンプルの表面をスキャンし撮像する走査型電 顕(立体的な画像が得られる)とがある。 患者組織 の病理学的検索において電顕は有用であり、厚生労 働省は電顕病理組織標本作成の保険点数を2,000点 と定めている¹⁾.対象疾患には心筋症に対する心筋 生検が含まれており,特に心アミロイドーシスや心 サルコイドーシスといった二次性心筋症の鑑別診断 には極めて有用である.一方で,拡張型心筋症の電 顕観察で得られる各所見は臨床的な意味付けが十分 になされていないため、エビデンスとしての確率が 急務である.本稿では拡張型心筋症における電顕 (透過型電顕)検索の臨床的意義を概説する.

2. 電子顕微鏡を用いた心筋組織評価の歴史

電顕がナチスによって開発されたというのは事実 ではない. 1927年,電子線に対して磁場がレンズ 作用を示すことがドイツの Busch 博士により明らか にされた.この現象を応用し,1931年にドイツ・ ベルリン工科大学の Knoll と Ruska の両博士が透過 型電顕を開発した.最初の電顕の拡大倍率はわずか 17倍であったが,1933年には12,000倍にまで向上 した.これにより Ruska博士は1986年にノーベル 物理学賞を受賞している.1938年にシーメンス社 の科学ディレクターであったユダヤ系の Rudenberg 氏が電顕の特許を取得し,同社が市販を開始した. サンプルの薄切法の改良(ダイヤモンドナイフの普

日本医科大学多摩永山病院 循環器内科 助教 〒 206-8512 東京都多摩市永山 1-7-1 Department of Cardiovascular Medicine, Nippon Medical School Tama-shi, Tokyo 206-8512 Japan TEL: 042-371-2111 e-mail: tnsaitonms@gmail.com 及)や重金属を用いた電子染色法の開発により、電 顕は1950年代から生物学・医学分野で盛んに利用 されるようになった。

1960年代は心臓病理の黄金時代であった.他の 検査法がほとんどなかったからである. この頃日本 医科大学の中央電子顕微鏡施設には教職と技術系あ わせて12人が所属しており、腎病理や腫瘍病理に 関して多数の電顕観察による報告がなされた(2022 年現在では3人). 心臓血管外科の領域が特に弁膜 症の分野で長足に発展し、米国国立衛生研究所 (NIH)のFerrans 博士は手術で得られた心臓弁膜や 不全心筋組織を電顕で観察して克明な記録を残し た²⁻⁴⁾. 1962 年に今野草二博士, 榊原仟教授により カテーテルによる心内膜心筋生検法が開発され、心 筋症に纏わる組織情報を低リスクで得られるように なった⁵⁾. 1967年に冠動脈バイパス術が開発され ると循環器分野の花形は虚血性心疾患に移行した. 最も死者の多かった心筋梗塞やそれに起因する心不 全が治療可能な疾病となったからである.

3. 拡張型心筋症における電顕所見の有用性

1991 年に Guyatt 博士がエビデンスに基づいた医 療 (Evidence based Medicine; EBM) を提唱した⁶⁾. 客観的な疫学的観察や統計学を用いて検査および治 療結果を比較し、場合によっては新たな臨床研究を 追加することにより、個々の患者にとって最良の治 療方針を決定するという取り組みである. この考え は臨床の現場で大変有用な指標になったため、瞬く 間に EBM 全盛時代に突入した. 心臓カテーテル技 術も向上し、経皮的心内膜心筋生検法が普及したた め低リスクで心筋組織を採取することができるよう になったが、右室中隔または左室後下壁の心内膜下 組織しか採取できないという技術的な制約のため. 拡張型心筋症の心筋層線維化を評価するモダリティ としては心臓 MRI による遅延造影(Late-geranium enhancement; LGE)の遥か後塵を拝す結果となっ た. LGE は心臓全体の線維化の分布を反映する所 見である.LGEの有無による拡張型心筋症の生命 予後, 心臓移植や致死的不整脈といった転機の予測 7), 治療による心機能の回復 (reverse remodeling) の予測⁸⁾などが立て続けに報告され,適切な治療 による早期介入が拡張型心筋症の転機改善のために 有用である可能性が示唆された.

電顕では変性した心筋細胞の細胞内小器官を詳細 に観察することができるが,それぞれの所見の臨床 的な意味付けが十分になされておらずエビデンスと して不十分であった.我々は様々な統計手法を駆使 し,電顕所見を他の画像診断モダリティやアウトカ ムと比較検討し各所見の臨床的意義を明らかにして きた.拡張型心筋症などにおいて,筋原線維がほど けて無方向に配列している像が認められたり(図 1A),心筋細胞内のほぼすべての筋原線維が変性・ 消失しているものが認められたりする(図1B).こ れらの所見が臨床的にどのような影響を及ぼすかに ついて検討した報告はないため,我々は拡張型心筋 症の連続症例250例の電顕所見を予後や心機能など の臨床項目と比較した.

その結果,筋原線維の変性・消失が認められる症 例は有意に予後が悪かった(図2).また多変量解 析においても筋原線維の変性・消失は拡張型心筋症 の家族歴および貧血とともに,総死亡および心不全 再発の危険因子であった⁹⁾.

筋原線維の変性・消失の見られる拡張型心筋症が 予後不良であるのは、心筋細胞が傷害されているか らということに尽きると考えられる、そこで、筋原 線維の変性・消失はどのような機序で生じるのかを 考察する.

4. 筋原線維の変性・消失の生じる原因

我々は筋原線維の変性・消失には遺伝子変異によ る先天的なものと、心筋炎や自己免疫による後天的 なものとがあると考えている. 後天的因子の例とし て急性心筋炎の症例を提示する¹⁰⁾. インフルエン ザA型による肺炎で呼吸不全となった40歳男性の 心機能が左室駆出率(LVEF)が17%と著しく低下 しており、心電図所見や心筋逸脱酵素の上昇と併せ 急性心筋炎が強く疑われた. 左室後下壁から心筋生 検を行った結果、光顕でリンパ球の浸潤を認め確定 診断となった、インフルエンザウイルスの先行感染 があったもののウイルスペア血清ではコクサッキー B4 抗体も有意に上昇していた。電顕写真では直径 20-30 nm の球状のウイルスおよび針状のウイルス 結晶を認めた。インフルエンザウイルスは長さ80-120 nm 程度の桿状を呈しており、本症例の急性心 筋炎の起炎ウイルスはコクサッキー B4 であると明 らかになった. ウイルスおよびウイルス結晶が認め られた箇所は筋原線維が広範に消失していた(図 3A, B).

電顕でウイルス像を捉えることができるのはウイ ルスが増殖期にあるときのみである.本症例により, ウイルス感染の極期に心筋細胞における筋原線維の 変性・消失が生じることが明らかになった.急性心



A. 筋原線維のサルコメア構造がほつれている像を呈する。 g:グリコーゲン顆粒, m:ミトコンドリア



B. 心筋細胞内の筋原線維(Mf)は1条か2条残存するのみでほとんど消失し、細胞内は無構造を呈している。 ML:筋原線維の消失部位(myofilament lysis)

図1. 透過型電子顕微鏡(電顕)による心筋細胞の超微形態



図2. 拡張型心筋症の電顕所見に基づいた生存率曲線. 筋原線維の変性・消失像がある群は総死亡, 心不全再発に至る期間が 有意に短縮した.

筋炎の患者検体から原因ウイルスが病理組織学的に 同定されたのは本症例が初めての報告である.

拡張型心筋症の原因として慢性心筋炎を考慮する のは重要であるが¹¹⁾,拡張型心筋症の全症例が必 ずしも心筋炎の後遺症ではない.筋原線維の変性・ 消失のもう一つの原因として先天的な要因である遺 伝子変異の関与がある. ヒトゲノム計画終了前夜で ある 2000 年、米国 Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School の Seidman 研究室に留学し ていた上砂らは家族性拡張型心筋症の21家系に対 しゲノムワイド連鎖解析を行い,筋原線維関連蛋白 の遺伝子変異がおよそ10%の割合で心筋症の原因 となりうることを報告した¹²⁾.同研究室は2012年 に次世代シーケンサーを用いてタイチン遺伝子 (TTN) 変異を解析し、拡張型心筋症の 25% に TTN 遺伝子変異が関係していることを明らかにした¹³⁾. タイチンは一つの筋原線維を端から端までカバーす る, 生体内で最大の蛋白質であり TTN は 30 万以上 の塩基対で構成されている.次世代シーケンサーに よる大規模シーケンスが巨大な遺伝子 TTN の解読 を可能にした.

5. 次世代シーケンサーによる 拡張型心筋症の原因遺伝子変異解析

次世代シーケンシサーにより様々な疾患の原因遺 伝子が解析されている. 拡張型心筋症についても, 遺伝子変異の違いにより重症度や心機能の改善など が検討されつつある. 次世代シーケンサーを用いた 拡張型心筋症研究は前述の TTN¹³⁾の他に LMNA¹⁴⁾ などの個々の遺伝子型に着目したものや全エクソー ム解析による網羅的・疫学的な研究¹⁵⁾がなされて いる.核-細胞質間の物質輸送を司る核膜 Lamin A/ Cの遺伝子 LMNA 変異を有する拡張型心筋症は心 機能の改善が芳しくないとの報告があるが¹⁶⁾,拡 張型心筋症患者の各種遺伝子変異に対応する心筋細 胞の病理組織学的な光顕あるいは電顕による超微形 態は十分に研究されていない.そこで我々は心筋生 検標本の超微形態を次世代シーケンサーによる全エ クソーム解析で検出された拡張型心筋症の原因遺伝 子と比較した¹⁷⁾.

初発心不全で心筋生検が行われた拡張型心筋症の 連続 32 症例(中央値 51.0歳,男性 75%)につい て、末梢血白血球分画から抽出した DNA の全エク ソーム解析を行った. 心筋症関連75遺伝子と不整 脈関連41遺伝子に着目し、404遺伝子変異を認め た¹⁷⁾. マイナーアレル頻度≦ 0.0005 をカットオフ 値とし、各遺伝子変異の病原性・非病原性の診断は 拡張型心筋症に特化した American College of Medical Genetics (ACMG) および Genomics/ClinGen による ガイドライン¹⁸⁾に準拠したところ,15の病原性・ 準病原性遺伝子変異と35の臨床意義不明のバリア ント (VUS) を認めた. 病原性・準病原性遺伝子変 異の内訳は5例の筋原線維関連遺伝子(1例の MYBPC3 変異と4例の TTN 変異). 3 例の核膜関連 遺伝子 (同一の TMEM43 変異 c.271A>G), 2 例の ギャップ結合関連遺伝子(DSP 変異, 1 例は TTN



A. 心筋細胞の一部に筋原線維が広範に消失している部位を認める.



B. Aの写真白枠内の高倍率像. 筋原線維の消失した箇所に小型球状の ウイルスおよび針状のウイルス結晶を認める. m:ミトコンドリア

変異も合併),3例のイオンチャネル関連遺伝子(同 一の*TRPM4* 変異 c.1532T>A),2例の T-Box 転写因 子5遺伝子(同一の*TBX5* 変異 c.52G>C)であった.

6. *MYBPC3*

我々の経験したミオシン結合蛋白 C3 をコードす る遺伝子である *MYBPC3* 変異 (c.2833 2834delCG) を伴った拡張型心筋症の症例を提示する。本症例の 遺伝子変異はフレームシフト変異であり ACMG ガ イドラインでは準病原性に分類された、心疾患の家 族歴および既往歴を有さない36歳男性が持続性心 室頻拍による失神と心不全で救急搬送された. 受診 時の LVEF は 35% と低下していた. 集中治療室で 抗不整脈薬による治療および心不全治療が行われ た.入院後2週間が経過しても心機能の改善を認め ず左室後下壁より心筋生検が行われ、二次性心筋症 や心筋炎は否定的であり、拡張型心筋症が考えられ た、植込み型除細動器(ICD)が挿入され退院と なった. ICD は経過中に心機能改善を目的とし両室 ペーシング機能付き植込み型除細動器にアップグ レードされたが LVEF の改善は認められず、度々心 不全を再発しその都度再入院した. 最初の入院の7 年後、致死性不整脈が制御不能となり、敗血症を併 発して死亡した。この際は急激な心不全の悪化と不 整脈のため急性心筋炎が疑われ2度目の心筋生検を 行われたが、心筋炎は否定的であった.

初回の心筋生検では、光顕的には組織変化に乏し く線維化もごく軽度(%Fibrosis = 2.63%)であっ た.電顕では変性した心筋細胞内に広範な筋原線維 の変性・消失を認めなかったが、筋原線維自体の配 列は乱れを生じていた.Z線が凝集し筋フィラメン トがほつれ、束ねてあった筋束がばらけているよう な像を呈していた(図4A).

本症例の超微形態変化は既報の*MYBPC3* 変異 (c.2882C>T) 関連筋炎の骨格筋の所見と酷似していた¹⁹⁾. ミオシン結合蛋白 C3 はサルコメアのA帯 (暗帯)に存在して筋収縮に関与する蛋白であり, これらの超微形態は*MYBPC3* 変異に矛盾しないと 考えられた.

その7年後に行われた心筋生検では線維化の進行 を認め(%Fibrosis = 32.6%),電顕的には心筋細胞 の筋原線維の変性・消失が広がっており周囲にオー トファジー空胞を認めた.核は形態異常を呈してお り、クロマチンの凝集を伴っていた(図4B).

1回目と2回目の心筋生検所見の比較を通して, 拡張型心筋症による心筋の変性は病勢に応じて経時 的に悪化しうることが示された.また既報では筋原 線維関連遺伝子変異を有する拡張型心筋症は比較的 予後が良好であるとの報告がある^{14,16}が一概にそ うとは言えず,筋原線維関連遺伝子変異を有する症 例にも注意深い経過観察が必要であると考えられた.

7. *TTN*

前述の通りタイチンは非常に巨大な蛋白質であ り、その全長は一つの筋原線維を端から端までカ バーする. 従って 30 万塩基対ある TTN も筋原線維 の各構造に相当するドメインにより構成されている. 具体的には Z線はエクソン 2-28, I帯はエクソン 29-252, A帯はエクソン 253-358. M線はエクソン 359-364 に相当し²⁰⁾, A帯に相当するドメインの遺 伝子変異は病原性が非常に強い¹⁸⁾.我々の検討で は3例がA帯相当ドメイン(3例ともエクソン 325). 1 例が I 帯相当ドメイン (エクソン 45) に変 異を有しており、4例とも ACMG ガイドラインで は準病原性に分類された. 電顕的に. A帯相当ドメ インに変異を有する3例ではZ線は保持されてい るものの M 線は消失しており、Z 線-Z 線間の筋原 線維は粗となりスダレ状(あるいはびんざさらのよ うな形態)を呈していた(図 5A). これらの所見は TTN 変異(c.79070-79071 del) 関連筋炎でも報告さ れていた21)

I帯相当ドメインに変異を有する症例では心筋細胞の細胞質に、配列を失った筋原線維が四方八方の方向に散在する円形の領域が認められた.(図5B).この領域はミトコンドリアに乏しく、筋原線維の領域であったことが示唆された.急性の心筋障害を示唆する中性脂肪滴を認めた.心筋細胞は通常は脂肪酸代謝によりエネルギーを産生するが、虚血などに陥るとエネルギー産生効率の良い糖代謝を開始する.その結果脂肪酸とグリコーゲンのミスマッチが生じ、中性脂肪滴が出現する.この所見で特筆すべきことは、筋原線維は変性してはいるが消失はしていないことである.この変性した筋原線維の領域が今後どのような組織形態学的変遷をたどるのかは現時点では明らかではない.

8. TMEM43

TMEM43は、Lamin A/Cと同様に核膜を裏打ちする蛋白Lumaをコードする遺伝子であり、不整脈源性右室心筋症(ARVC)の原因遺伝子である(一方LMNAはARVCの原因遺伝子とは考えられていない). 我々の経験した TMEM43 変異は3 症例とも同



A. Z線-Z線間の間隔が不整になり、Z線が (→) がほつれ, ばらけ ているような像を呈する. m:ミトコンドリア



B. Aの7年後に採取された心筋生検標本. Aとは異なり広範な筋原線維の消失した領域 (ML) を認める.
AV:オートファジー空胞, Li:リポフスチン (Li)

図4. MYBPC3 変異を有する拡張型心筋症(36歳男性)の左室心筋の超微形態像



A. 42歳女性. エクソン 325 (A帯相当ドメイン) に変異 (c.71112T>A) を 有する. Z線は保持されているもののM線は消失しており, Z線-Z線間の 筋原線維は粗となりスダレ状を呈している.m:ミトコンドリア



B. 48歳女性. エクソン45(I帯相当ドメイン)にフレームシフト変異 (c.14488_14491delCAGT)を有する. 配列を失った筋原線維(矢印)が四方八方 の方向に散在する円形の領域を認める.g:グリコーゲン顆粒,Li:リポフスチン, m:ミトコンドリア

図5. TTN 変異を有する拡張型心筋症の左室心筋の超微形態像

ーの一塩基ミスマッチ変異(c.271A>G))を呈して おり ACMG ガイドラインでは病原性に分類された. このうちの1例は示唆に富む臨床経過を辿ったため 提示する。47歳女性が胸痛を伴う心不全で受診し た. LVEF 44% と軽度の心機能低下を認めたため虚 血性心疾患の存在が疑われた. 冠動脈造影で狭窄病 変を認めず、異型狭心症を疑いアセチルコリン負荷 試験を行ったところ冠攣縮が誘発された. この際に 左室下壁から心筋生検を行った.また入院中に発作 性心房細動も認めたため, 冠攣縮性狭心症と心房細 動を心不全の原因と考えた. 冠攣縮のためβ遮断薬 の導入は見合わされた.しかし13ヶ月後に重度の 非代償性心不全となり再入院した. 心不全は難治性 であり心機能は低下し続け、5年後に他院で心移植 を受けた. 初発心不全の際の心筋生検の電顕所見で は核内空胞を伴う分葉核が認められ(図6)、核周 囲には広範な筋原線維の変性・消失した領域を認め た、筋原線維が脱落した箇所にミトコンドリアが置 換性に増殖している所見も認められた. 初発心不全 の時点ですでに筋原線維の変性・消失を呈している のは心筋細胞変性の速度が急速であることを示唆し

ており,病初期に遺伝子検査を行っていれば本症例 の転機は違ったものとなった可能性も否定できない.日本では初発心不全症例の全例に遺伝子検査を 行うことは保険診療上不可能である.しかし,保険 診療範囲である電顕検索の結果は,遺伝子検査の要 否を判断する一助となりうると考えられる.

TMEM43 変異を有する拡張型心筋症の症例は3 例とも核周囲に筋原線維の変性・消失領域を認めた が、ギャップ結合関連蛋白であるデスモプラキンを コードする遺伝子 DSP の変異を伴う2症例では細 胞接着部位の両サイドである心筋細胞辺縁に筋原線 維の変性・消失した領域が広がっていた(図7). このことから非特異的な心筋細胞の変性を示唆する 所見である筋原線維の変性・消失所見は、その分布 様式が原因遺伝子変異と関連している可能性が示唆 された、現行 ACMG ガイドラインへの準拠では、 家族歴のない患者には既報などのエビデンスがない 限り遺伝子変異の病原性診断は難しい、我々の検討 では35 変異の VUS が認められたが、詳細な病理所 見により2 変異が準病原性に、6 変異が準良性に分 類し直されたかもしれなかった、遺伝子変異の病原



図 6. TMEM43 変異を有する拡張型心筋症(47 歳女性)の左室心筋の超微形態像. 核内空 胞を伴う分葉核(N)を有し,核周囲には筋原線維が変性・消失した領域(ML)を認める.



図7. DSP 変異を有する拡張型心筋症(62歳男性)の左室心筋の超微形態像. 細胞接着 部位(→)の両サイドである心筋細胞辺縁に筋原線維の変性・消失した領域(ML)が広 がっている. AV:オートファジー空胞, Li:リポフスチン, m:ミトコンドリア

性診断を、電顕所見は形態学的な観点からサポート しうると考えている。

9. おわりに

これまで,我々は拡張型心筋症の診療における電 顕の有用性を確立する試みに取り組んできた.形態 学特有の不確実性は電顕所見を解釈する上でずっと 存在していたが,遺伝子変異との比較検討を通じ て,この問題の溝が埋められてきつつあることを実 感している.超微形態と遺伝子変異解析との間に分 子生物学的な手法,例えば RNA や蛋白質の解析な どを介在させることにより,さらに確実なサイエン スを目指して研究を進めていくのが今後の方針であ る.

引用文献

- 厚生労働省ホームページ.診療報酬の算定方法の 制定等に伴う実施上の留意事項について;保医発 第0305001号.http://www.mhlw.go.jp/topics/2008/ 03/dl/tp0305-1d_0020.pdf
- Ferrans VJ, Hibbs RG, Weilbaecher DG, Black WC, Walsh JJ, Burch GE. Alcoholic cardiomyopathy; a histochemical study. Am Heart J. 1965; 69: 748-65.
- 3) Ferrans VJ, Hibbs RG, Burda CD. The heart in Fabry's disease. A histochemical and electron microscopic

study. Am J Cardiol. 1969; 24: 95-110.

- Ferrans VJ, Morrow AG, Roberts WC. Myocardial ultrastructure in idiopathic hypertrophic subaortic stenosis. A study of operatively excised left ventricular outflow tract muscle in 14 patients. Circulation. 1972; 45: 769-92.
- 5) Sakakibara S, Konno S. Endomyocardial biopsy. Jpn Heart J. 1962; 3: 537-43.
- Guyatt GH. Evidence-based medicine. ACP Journal Club. 1991;114: A-16.
- Gulati A, Jabbour A, Ismail TF, et al. Association of fibrosis with mortality and sudden cardiac death in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. JAMA. 2013; 309: 896-908.
- 8) Masci PG, Schuurman R, Andrea B, et al. Myocardial fibrosis as a key determinant of left ventricular remodeling in idiopathic dilated cardiomyopathy: a contrast-enhanced cardiovascular magnetic study. Circ Cardiovasc Imaging. 2013; 6: 790-9.
- 9) Saito T, Asai K, Sato S, et al. Ultrastructural features of cardiomyocytes in dilated cardiomyopathy with initially decompensated heart failure as a predictor of prognosis. Eur Heart J. 2015 Mar 21; 36: 724-32.
- 10) Ikeda T, Saito T, Takagi G, et al. Acute myocarditis associated with coxsackievirus B4 mimicking influenza myocarditis: electron microscopy detection of causal virus of myocarditis. Circulation. 2013; 128: 2811-2.
- 11) Kitaoka H, Tsutsui H, Kubo T, et al. Japanese Circulation Society Joint Working Group. JCS/JHFS

2018 Guideline on the Diagnosis and Treatment of Cardiomyopathies. Circ J. 2021; 85: 1590-1689.

- 12) Kamisago M, Sharma SD, DePalma SR, et al. Mutations in sarcomere protein genes as a cause of dilated cardiomyopathy. N Engl J Med. 2000; 343: 1688-96.
- Herman DS, Lam L, Taylor MR, et al. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. N Engl J Med. 2012; 366: 619-28.
- 14) Hasselberg NE, Haland TF, Saberniak J, et al. Lamin A/C cardiomyopathy: young onset, high penetrance, and frequent need for heart transplantation. Eur Heart J. 2018; 39: 853-860.
- 15) Akinrinade O, Ollila L, Vattulainen S, et al. Genetics and genotype-phenotype correlations in Finnish patients with dilated cardiomyopathy. Eur Heart J. 2015; 36: 2327-37.
- 16) Tobita T, Nomura S, Fujita T, et al. Genetic basis of cardiomyopathy and the genotypes involved in prognosis and left ventricular reverse remodeling. Sci Rep. 2018; 8: 1998.
- 17) Saito T, Sato NS, Mozawa K, et al. Myocardial ultrastructure can augment genetic testing for sporadic

dilated cardiomyopathy with initial heart failure. ESC Heart Fail. 2021; 8: 5178-5191.

- 18) Morales A, Kinnamon DD, Jordan E, et al. DCM Precision Medicine study of the DCM Consortium. Variant Interpretation for Dilated Cardiomyopathy: Refinement of the American College of Medical Genetics and Genomics/ClinGen Guidelines for the DCM Precision Medicine Study. Circ Genom Precis Med. 2020; 13: e002480.
- 19) Tajsharghi H, Leren TP, Abdul-Hussein S, et al. Unexpected myopathy associated with a mutation in MYBPC3 and misplacement of the cardiac myosin binding protein C. J Med Genet. 2010; 47: 575-7.
- 20) Zaunbrecher RJ, Abel AN, Beussman K, et al. Cronos Titin Is Expressed in Human Cardiomyocytes and Necessary for Normal Sarcomere Function. Circulation. 2019; 140: 1647-1660.
- 21) Ávila-Polo R, Malfatti E, Lornage X, et al. Loss of Sarcomeric Scaffolding as a Common Baseline Histopathologic Lesion in Titin-Related Myopathies. J Neuropathol Exp Neurol. 2018; 77: 1101-1114.