

別表

遺伝子	KCNQ1	KCNH2	SCN5A	SCN5A	KCNK1	KCNK1	KCNA10	KCNJ11	KCNJ11	KCNK6	KCNK6	ADRB1	ADRB1	SLC18A1	SLC18A1	SLC18A1	SLC18A1
SNP	1927G>A	2690A>C	1673A>G	5851G>T	112A>G	253G>A	658G>A	67G>A	1009A>G	449C>T	775G>A	145A>G	1165C>G	10A>C	31C>T	293G>C	407T>C
アミノ酸変化	G643S	K897T	H558R	V1951L	S38G	D85N	V220M	E23K	I337V	T150I	V259M	S49G	R389G	T4P	R11W	S98T	T136I
control のアレル頻度(文献より)	9.0%	2.0%	8.0%	0.5%	19.0%	2.0%	7.0%	38.0%	38.0%	4.0%	8.0%	17.0%	15.0%	37.0%	0.6%	28.0%	27.0%
overall 患者群のアレル頻度	7.8%	4.4%	6.7%	2.2%	20.0%	3.3%	7.8%	35.6%	35.6%	7.8%	13.3%	16.7%	26.7%	37.8%	1.1%	28.9%	23.9%
p 値	7.6E-01	3.4E-01	7.3E-01	1.8E-01	9.2E-01	5.7E-01	8.4E-01	7.3E-01	7.3E-01	1.1E-01	1.5E-01	9.5E-01	4.7E-02	9.1E-01	5.8E-01	8.5E-01	5.3E-01
Bonferroni の補正後 p 値	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
薬剤名	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド	ジソピラミド
マイナーアレル本数	2	1	3	1	6	2	4	11	11	2	1	8	10	13	0	5	6
ジソピラミド群のアレル頻度	6.3%	3.1%	9.4%	3.1%	18.8%	6.3%	12.5%	34.4%	34.4%	6.3%	3.1%	25.0%	31.3%	40.6%	0.0%	15.6%	18.8%
p 値	6.2E-01	7.1E-01	8.1E-01	1.4E-01	9.4E-01	2.2E-01	3.3E-01	7.1E-01	7.1E-01	5.4E-01	3.3E-01	3.1E-01	4.1E-02	7.1E-01	6.8E-01	1.5E-01	3.3E-01
Bonferroni の補正後 p 値	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
薬剤名	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル	ペブリジル
マイナーアレル本数	2	1	0	0	5	0	1	11	11	4	5	5	3	12	0	11	4
ペブリジル群のアレル頻度	8.3%	4.2%	0.0%	0.0%	20.8%	0.0%	4.2%	45.8%	45.8%	16.7%	20.8%	20.8%	12.5%	50.0%	0.0%	45.8%	16.7%
p 値	9.2E-01	5.4E-01	1.5E-01	7.3E-01	8.7E-01	4.8E-01	6.1E-01	4.8E-01	4.8E-01	3.7E-03	4.0E-02	6.6E-01	7.5E-01	2.4E-01	7.2E-01	7.0E-02	2.8E-01
Bonferroni の補正後 p 値	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.10	-	-	-	-	-	-	-
薬剤名	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール	ビルメノール
マイナーアレル本数	3	1	2	1	5	0	0	2	10	0	4	0	4	2	0	4	3
ビルメノール群のアレル頻度	30.0%	10.0%	20.0%	10.0%	50.0%	0.0%	0.0%	20.0%	20.0%	0.0%	40.0%	0.0%	40.0%	20.0%	0.0%	40.0%	30.0%
p 値	4.2E-02	1.4E-01	2.1E-01	2.5E-03	2.7E-02	6.5E-01	3.9E-01	2.6E-01	2.6E-01	5.2E-01	7.4E-04	1.6E-01	4.6E-02	2.8E-01	8.2E-01	4.0E-01	8.2E-01
Bonferroni の補正後 p 値	-	-	-	0.07	0.72	-	-	-	-	-	-	0.02	-	-	-	-	-
薬剤名	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド	フレカイニド
マイナーアレル本数	0	0	0	0	2	0	1	3	3	0	1	1	3	4	0	2	2
フレカイニド群のアレル頻度	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	25.0%	0.0%	12.5%	37.5%	37.5%	0.0%	12.5%	12.5%	37.5%	50.0%	0.0%	25.0%	25.0%
p 値	3.8E-01	6.9E-01	4.1E-01	8.4E-01	7.0E-01	6.9E-01	5.7E-01	9.8E-01	9.8E-01	5.6E-01	6.4E-01	7.4E-01	1.0E-01	4.7E-01	8.4E-01	8.8E-01	9.1E-01
Bonferroni の補正後 p 値	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
薬剤名	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン	シベンソリン
マイナーアレル本数	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	4	1	2	0	3	2	2
シベンソリン群のアレル頻度	0.0%	16.7%	0.0%	0.0%	0.0%	16.7%	16.7%	16.7%	16.7%	0.0%	0.0%	66.7%	16.7%	33.3%	0.0%	50.0%	33.3%
p 値	4.4E-01	3.5E-02	4.7E-01	8.6E-01	2.3E-01	3.5E-02	3.8E-01	2.9E-01	2.9E-01	6.2E-01	4.7E-01	3.0E-03	8.1E-01	8.6E-01	8.6E-01	2.4E-01	7.2E-01
Bonferroni の補正後 p 値	-	0.85	-	-	-	0.95	-	-	-	-	-	0.08	-	-	-	-	-
薬剤名	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン	ニフェカラン
プロパフェノン	G	K	H/R	V	S	D	V/M	E/K	I/V	T	V	S	R/G	T	R/W	S/T	I
2剤併用	G	K	H	V	S	D	V	E/K	I/V	T	V	S/G	R	T	R	S	T/I
プロパフェノン+ペブリジル	G	K	H	V	S	D	V	E/K	I/V	T	V	S	R/G	T/P	R	S	T/I
ペブリジル+ビルメノール	G	K	H	V	S	D	V	E/K	I/V	T	V	S	R/G	T/P	R	S	T/I
ジソピラミド+シベンソリン	G	K	H	V	S	D	V	E/K	I/V	T	V	S	R/G	T	R	S	T/I

(具体的かつ詳細に記入すること)

厚生労働科学研究費補助金 (ヒトゲノム・再生医療等研究事業)
(総括・分担) 研究報告書

有害反応の回避を目指した副作用原因遺伝子の同定とSNPの検索
(分担)研究者 大江透 岡山大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨 薬剤性QT 延長症候群患者12名の遺伝子において有意なSNPが存在するかどうか検討した。複数個の候補SNPがあった。岡山大学で登録した6名は原因薬剤中止後失神、心室性不整脈などおこしていない。

A. 研究目的

薬剤性QT 延長症候群患者において、原因となる遺伝子の異常・SNPがないか検討する。

B. 研究方法

薬剤性QT 延長症候群患者において、同意を得た上で採血し、12名の遺伝子において有意なSNPが存在するかどうか検討した(岡山大学6名、国立循環器病センター6名:循環器病センターは現在班員に加わり、6名以降は独自で登録中)。その後パッチクランプにて機能解析をおこなった。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づいて、岡山大学倫理委員会にてQT延長症候群の遺伝子解析をおこなう承認をえており、それに基づいた同意を患者からえた。

原因薬剤は、ピメノール1名、ジソピラミド8名、シベンゾリン2名、ニフェカラン1名であった。

ピメノールでTorsades de pointes (TdP)を発症した症例のKCNQ1遺伝子のSNP:1927G>A (G643S)においては、Sのホモであり、その後パッチクランプにて機能解析をしている(検討中)。

シベンゾリンで発症した症例のKCNH2遺伝子のSNP: 2690 A>C (K897T)においては、K/Tのヘテロであった。

岡山大学で登録した6名は原因薬剤中止後失神、心室性不整脈などおこしていない。

先天性QT延長症候群(LQT1)の一家系で80歳を越えて発症した症例で遺伝子異常が確定された(KCNQ1 V254M)。この家系において発端者は12歳で発症していたが、その祖父は81歳での初発で、同一遺伝子変異ながら発症様式が非常に異なっていた。

D. 考察

複数個の候補SNPがあった。その機能解析が待たれるところである。

先天性の遺伝子異常をもつ家系でも、発症には遺伝子変異のみでなく、自律神経系、電解質異常・薬剤など様々な環境要因が重要な影響を与えると考えられた。

E. 結論

薬剤性・先天性QT延長症候群の遺伝子解析、発症様式から考えて、薬剤性においても何らかの遺伝的素因がある可能性が示唆された。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Shimizu W, Noda T, Takaki H, Kurita T, Nagaya N, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Sunagawa K, Echigo S, Nakamura K, Ohe T, Towbin JA, Napolitano C, Priori SG. Epinephrine unmasks latent mutation carriers with LQT1 form of congenital long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:633-42.

森田 宏、中村 一文、大田恵子、森田志保、三浦大志、斎藤 博則、草野 研吾、江森 哲郎、大江 透、幡 芳樹、水尾 浩三. 著明なT wave alternans現象を示したLQT1の一家系. 心臓 *in press.*

総説

中村 一文、三浦 大志、森田 宏、大江透:LQT/Brugada症候群での遺伝子解析の意義 *Cardiac Practice* 2003;14:335-341.

H. 知的財産権の出願、登録

なし

厚生労働科学研究費補助金(ヒト・ゲノム再生医療等研究事業)
分担研究報告書

薬剤誘起性 QT 延長症候群の遺伝子解析に関する研究

分担研究者 小川 聡

慶應義塾大学医学部内科学教室教授

研究要旨

本研究は薬剤を服用する患者の突然死の原因となる薬剤誘起性 QT 延長症候群の発症を規定する薬物有害反応原因遺伝子と SNP 探索を目標とする。昨年度に検索した薬剤誘起性 QT 延長症候群症例から、本年度は血液検体を採取し、DNA の抽出を行った。慶應義塾大学病院中央臨床検査部心機能室で心電図検査を 2000 年 1 月から 2003 年 8 月までに施行した症例で、500 msec 以上の著明な QTc 延長を認める症例を検索した。心電図上、QTc 延長を呈していた約 220 症例の内、薬剤非投与時の心電図が確認できない症例を除外して、病歴、投与薬剤などから薬剤誘起性 QT 延長症候群と確実に診断できる症例のみを選出した。原因薬剤が明らかで薬剤誘起性 QT 延長症候群と診断ができ、かつ現在、慶應義塾大学病院循環器内科外来に通院中の症例が 26 例あり、これらの症例を対象とした。慶應義塾大学医学部倫理委員会で審査を受けて承認された方法で患者の同意を得て、血液検体を採取した。さらに、検体から DNA を抽出して、共同研究施設での研究に提供した。本研究の遂行により、薬剤誘起性 QT 延長症候群との関連が予想されるいくつかの候補遺伝子における未知の遺伝子多型が発見され、その臨床的意義が解明できる。

A. 研究目的

本研究は薬剤を服用する患者の突然死の原因となる薬剤誘起性 QT 延長症候群の発症を規定する薬物有害反応原因遺伝子と SNP 探索を目標とする。すなわち、薬剤誘起性 QT 延長症候群との関連が予想されるいくつかの候補遺伝子における未知の遺伝子多型を発見し、その臨床的意義を解明することを目的とする。本研究の遂行により、これまで多くの患者が苦しんできた薬物有害反応を未然に回避できるようになれば、国民の保健・医療と福祉の向上に多大に貢献をすることが期待される。

B. 研究方法

1. 症例の選出

慶應義塾大学病院中央臨床検査部心機能室で 2000 年 1 月-2003 年 8 月に施行された心電図検査の結果から、500 msec 以上の著明な QTc 延長を認める心電図を検索して、病歴、投与薬剤などから薬剤誘起性 QT 延長症候群と診断される症例を抽出した。

2. 試料の採取

本研究は、慶應義塾大学医学部倫理委員会で審査を受け、承認された。同委員会で承認された同意書を使用して、同意が得られた慶應義塾大学病院受診患者から採血した。

3. 来年度以降の SNP 解析方法

TaqMan、PCR-RFLP、キャピラリーシーケンサー、denatured HPLC あるいはそれらの組み合わせにより SNP 解析を行う。

(倫理面への配慮)

採取する血液検体については「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従って扱い、研究対象の候補となる患者からは厚生科学審議会によって作成された「遺伝子解析研究に関するガイドライン」に則ったインフォームドコンセントを行い、文書による同意を得た。

具体的には、研究への協力は、患者個人の自由意志で任意に決定でき、たとえ研究対象として同意しなかった場合にも診療上の不利益を被ることがないことを説明した。患者には研究方法として身体への安全性に問題がある点は採血のみであり、健康診断などで行われる一般的な採血と同程度の危険性があることを説明した。研究対象となる患者のプライバシーを守るために、採取した血液検体はす

べて番号を用いて扱い、施錠された室内にある冷蔵庫に厳重に管理した。検体やそれから得られた検査結果は、本研究以外の目的に使用せず、また、研究結果の発表を含めて患者個人が特定できないようにした。さらに、一度同意した患者が研究の途中で協力の撤回を申し出た場

合には、直ぐに検体および検査結果を破棄し、同意を撤回した患者が研究に同意しなかった患者と同様に、診療上不利益を受けることのないように最善の配慮を行うことを説明した。研究者が採取した検体ならびに患者の臨床データが、定められた以外の第三者に譲渡されることを禁止した。

患者個人の検査結果については、誰からの検体であるか特定されないように最善の対策を講じたが、現時点では予想できない不利益を対象患者が被る恐れは完全には回避できないため、この点について十分な説明の上に同意を得た。解析の結果、患者本人が疾病の有無や病態について理解しておく方が好ましいと常識的に判断される結果が偶然に本研究で見い出された場合には、患者本人がその結果を知る方が有益であると判断される場合に限り、診療を担当する医師から患者本人の意思を確認した上で検査結果について開示する予定であった。開示した結果によって生じる患者や血縁者の疑問や不安を解決し、現時点で行える最良の治療手段を講じるために、診療を担当する医師に加えて、カウンセリングの専門家に協力を仰ぐ予定であったが、該当する症例は発生しなかった。

C. 研究結果

慶應義塾大学病院中央臨床検査部心機能室にて2000年1月から2003年8月までに施行された心電図検査で500 msec以上の著明なQTc延長を認める心電図を検索し、病歴、投与薬剤などから薬剤誘起性QT延長症候群と確実に診断される症例を選出した。心電図上、QTc延長を呈していた約220症例の内、薬剤非投与時の心電図でQTc間隔が正常であるか確認ができない症例を除外し、診断の質の高い症例群を選出した。原因薬剤が推定可能で薬剤誘起性QT延長症候群と確定診断ができ、かつ現在も慶應義塾大学病院循環器内科外来に通院中の症例が28例あった。しかし、このうち2例は本研究の対象となることに同意しなかった。残りの26例から採血を行い、DNAを抽出した。共同研究施設での検討にこの検体を提供できた。

D. 考察

昨年度は症例の検討、選出を行ったが、心電図上QTc延長を呈している症例にも、薬剤誘起性QT延長症候群と確定診断できた症例は少なかった。症例数がそれほど多くない本研究では、診断が不確実な症例が混入すると、遺伝背景を解析

する上で攪乱因子となる。このような不確実な症例を排除して質の高い症例群を選択することは必須と考えられる。薬剤非投与時にQTc間隔が440 msec以下であり、薬剤投与中にQTc間隔が500 msec以上に著明に延長していること、QT延長をきたすことが既に明らかにされている薬剤が投与されていることの3条件を満たす症例のみを対象症例として選出した。目標とされた25例を超える26例が同意し、検体採取が可能であった。本研究の主旨からも、診断が不確実な症例を多く集めるよりは、診断が確実な症例を選択することが本研究の成否を左右する必要不可欠な条件であると考えられた。

E. 結論

薬剤誘起性QT延長症候群の発症を規定する薬物有害反応原因遺伝子とSNP探索を目標とし、確実に薬剤誘起性QT延長症候群と診断できる症例を選択して、同意をとり、DNAを採取した。採取した試料は共同研究施設でのSNPなどの解析に提供した。薬剤誘起性QT延長症候群の原因遺伝子や病態についてはほとんど解明されていないが、本研究の遂行により、いくつかの候補遺伝子における未知の遺伝子多型の発見ならびにその臨床的意義が解明されることが期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

研究要旨： LQT1 型および LQT2 型先天性 QT 延長症候群の遺伝子型の推定における運動負荷試験の有用性を検討した。LQT1 群では運動負荷により、修正 QT 時間 (QTc) および貫壁性再分極時間の指標である修正 Tpeak-Tend (Tcp-e) 時間が延長し、特徴的な幅広い T 波が高頻度に認められた。LQT2 群では運動負荷により、QTc および Tcp-e 時間は変化しなかったが、特徴的なノッチを伴う T 波が高頻度に認められた。以上から、運動負荷試験は、LQT1 型および LQT2 型の推定に有用であった。

A. 研究目的

先天性 QT 延長症候群 (LQTS) は、QT 時間の延長に伴い Torsade de Pointes (TdP) と呼ばれる多形性心室頻拍を引き起こす致死性の不整脈疾患である。現在までに 7 つの遺伝子型が報告されているが、各遺伝子型で、T 波形態、TdP 発作の誘因、あるいは抗不整脈薬治療やペースング治療の有効性の違いが報告されている。7 つの遺伝子型の中で、頻度の多いのは LQT1 型 (40%) と LQT2 型 (30-40%) であり、特に LQT1 型と LQT2 型の遺伝子型を推定することは、先天性 LQTS 患者を管理、治療する上で大変重要である。そこで本研究では、遺伝子型の同定された LQT1 および LQT2 患者を対象として、運動負荷試験を行い、LQT1 型および LQT2 型先天性 LQTS の遺伝子型の推定における有用性を検討した。

B. 研究方法

LQT1 の 29 家系 (51 例)、LQT2 の 19 家系

(31 例)、対照群 33 例を対象とし、Bruce 法によるトレッドミル運動負荷試験 (Ex) を施行した。

(倫理面への配慮)

先天性 LQTS 患者の遺伝子診断は、国立循環器病センター倫理委員会の承認を得て行った。また、先天性 LQTS を含む「遺伝性致死性不整脈疾患に対する遺伝子診断」は、平成 15 年 8 月 1 日に、分担研究者を担当医師として厚生労働省の高度先進医療に承認されている。研究成果の発表においては、患者のプライバシーを考慮し、人権擁護を保持した。

C. 研究結果

Ex 前から Ex 終了後 8 分まで、経時的 12 誘導心電図を記録した。Ex 前および Ex 終了後 1-2 分の心電図から心拍補正した修正 QT (QTc) 時間と、貫壁性再分極時間の指標である Tpeak-Tend 時間を心拍補正した Tcp-e 時間を算出した。

LQT1 群では、Ex により QTc および Tcp-e は有意に延長した (QTc: 510±68 →599±54 ms, Tcp-e: 143±53→215±46 ms, p<0.001)。これに伴い、LQT1 患者に特徴的な幅広い T 波は、Ex 前には 43%にしか認めなかったが、Ex 後には 77%と高頻度に認めた。LQT2 群では、Ex により QTc および Tcp-e は変化しなかったが (QTc: 520±61→502±82 ms, Tcp-e: 195±69→163±86 ms, p=NS)、LQT2 患者に特徴的な幅広い T 波は、Ex 前の 58%から、Ex 後には 84%と高頻度に認めた。

D. 考察

先天性 LQTS では、すでに 7 つの遺伝子型が報告されており、遺伝子型と表現型の関連 (Genotype-Phenotype correlation) がもつとも良く検討されている遺伝性疾患である。7 つの遺伝子型の中で、LQT1 型と LQT2 型で全体の 70-80%を占めるとされており、LQT1 型と LQT2 型の遺伝子型を推定することは、先天性 LQTS 患者を管理、治療する上で特に重要である。今回の結果から、運動負荷試験は、QTc や Tcp-e に対する反応の違いや、特徴的な T 波形態を顕在化することにより、LQT1 型と LQT2 型の遺伝子型を推定する上で有用であると考えられた。最終的には遺伝子診断による遺伝子型の確定を待たなくてはならないのは言うまでもないが、現在でも、30-40%の LQTS 患者では遺伝子型

が判明せず、このような患者においても、運動負荷試験により遺伝子型を推定することは、治療方針を決定する上で重要であると考えられる。

E. 結論

運動負荷試験は、LQT1 型および LQT2 型の推定に有用であった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(国外原著論文)

1. Shimizu W, et al: *J Am Coll Cardiol* 41: 633-642, 2003

2. Shimizu W: *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 1: 401-409, 2003

3. Takenaka K, Ai T, Shimizu W, et al: *Circulation* 107: 838-844, 2003

4. Shimizu W: *J Cardiovasc Electrophysiol* 15: 70-71, 2004

5. Shimizu W, et al: *J Am Coll Cardiol* 2004 (in press)

(国内原著論文)

1. 清水 渉, 他: *心電図* 23: 141-146, 2003

2. 清水 渉, 他: *Prog Med* 23: 1311-1318, 2003

(国内総説)

1. 清水 渉: *診断と治療* 91: 1246-1251, 2003

2. 清水 渉: **Heart View** 6: 63-68, 2004
(国内著書)

1. 清水 渉: 新不整脈学: 南光堂,
p.52-55, 2003
2. 清水 渉: 新不整脈学: 南光堂,
p.339-343, 2003
3. 清水 渉: 抗不整脈薬の新たな展
開: 医薬ジャーナル社, p.254-272,
2003
4. 清水 渉: **Medical Topics Series** 不
整脈' 03: メディカルレビュー社, p.
80-91, 2003

2. 学会発表

(国際学会の特別講演、シンポジウム、
教育講演のみ)

1. **Shimizu W**: Scientific Symposia, 12th
World Congress on Cardiac Pacing and
Electrophysiology (ICPES), Hong
Kong, China, 2003. 2.
2. **Shimizu W**: Special Symposia,
American Heart Association (AHA)
2nd Asia Pacific Scientific Forum: New
Discoveries in Cardiovascular Disease
and Stroke: Bench to Bedside to
Community, Honolulu, USA, 2003 6.
3. **Shimizu W**: Lecture, 2nd Brugada
Consensus Conference, Lake Placid,
USA, 2003. 9.
4. **Shimizu W**: Symposium, The 53rd
Annual Scientific Sessions of the
American College of Cardiology
(ACC), New Orleans, USA, 2004. 3.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒト・ゲノム再生医療等研究事業）
分担研究報告書

薬物誘発性 QT 延長症候群の遺伝子解析に関する研究

分担研究者 中谷晴昭

千葉大学大学院医学研究院薬理学教授

研究要旨

日本において薬物の投与によって QT 延長と Torsades de pointes を惹起した患者の遺伝子解析を行ない、遅延整流 K⁺ チャネルのポア成分とそれらの付属蛋白をコードする遺伝子 (KCNH2、KCNQ1、KCNE1、KCNE2)、および Na⁺ チャネルの遺伝子 (SCN5A) におけるアミノ酸変異を伴う SNP (遺伝子多型) を検索した。この中で、KCNE1 に認められた SNP によるアミノ酸変異 G38S および D85N に着目し、機能実験を行った。パッチクランプ法を用いて、KCNQ1 と KCNE1_{G38S} あるいは KCNE1_{D85N} を HEK293 細胞に共発現した際に記録される I_{Ks} 電流の電流密度を、KCNQ1 と KCNE1 を共発現させた場合と比較検討した。KCNQ1 と KCNE1_{G38S} あるいは KCNE1_{D85N} を共発現した場合の電流密度は、KCNQ1 と KCNE1 を共発現させた場合と比較して、いずれも若干低下していたが、その変化は有意なものではなかった。今後、KCNE1 および KCNQ1 の SNP に焦点を絞り、それらの SNP の機能的意義について電気生理学的実験を行って、さらに検討する予定である。

A. 研究目的

薬物の服用によって心電図 QT 間隔の延長を起こし、Torsades de pointes と呼ばれる多型心室頻拍を誘発して、時には突然死に至る薬剤誘起性 QT 延長症候群を惹起する患者側の遺伝的素因を明らかにするために、臨床において実際に QT 延長を起こした患者の遺伝子解析により QT 延長に関わる可能性のある遺伝子の SNP を検索し、それらの SNP がイオンチャネルの機能変化につながるか否かを検討することを本研究の目的とした。具体的には、心電図 QT 間隔、すなわち心室筋細胞活動電位持続時間の延長に関与する可能性のあるイオンチャネル遺伝子の SNP について、それらのイオンチャネル遺伝子を培養細胞に発現させ、パッチクランプ法を用いて電流記録を行い、薬剤誘起性 QT 延長症候群を惹起する患者側の遺伝的素因になる可能性を検証した。

B. 研究方法

臨床的に薬剤誘起性 QT 延長症候群と診断された患者の遺伝子検査によって明らかにされた心筋イオンチャネルをコードする遺伝子の SNP のうち、ここでは特に遅延整流 K⁺ 電流の遅い成分 (I_{Ks}) を通過させるチャネルの α サブユニットをコードする遺伝子 KCNQ1 と、その β サブユニットをコードする遺伝子 KCNE1 に着目した。臨床的に抗不整脈薬で QT 延長をきたした患者にお

いて認められた KCNE1 の SNP、112G>A (アミノ酸変化としては G38S) と 253G>A (同 D85N) に対応する KCNE1_{G38S} と KCNE1_{D85N}、および野生型 KCNE1 を、それぞれ HEK293 細胞に野生型 KCNQ1 と共発現させ、パッチクランプ法で HEK293 細胞から電流記録を行い、その時測定した細胞膜容量で補正して、I_{Ks} の電流密度を算出した。

C. 研究結果

HEK293 細胞に野生型 KCNE1 および KCNE1_{G38S} あるいは KCNE1_{D85N} を KCNQ1 と共発現させ、パッチクランプ法により、保持電位を -80mV として、-60mV から +60mV までの種々の電位に 5 秒間の脱分極パルスを与え、その後 -70mV に 3 秒間戻すというパルスプロトコルを用いて、ゆっくり活性化する I_{Ks} を記録した。5 秒間の脱分極パルスの最後の時点での電流量を測定し、それぞれの細胞の膜容量で補正した。+60mV への脱分極パルスで惹起された I_{Ks} の密度は KCNE1_{G38S} を発現させた細胞では 52.8 ± 8.0 pA/pF (n=10)、KCNE1_{D85N} を発現させた細胞では 50.8 ± 7.1 pA/pF (n=8) であり、野生型の KCNE1 を KCNQ1 と共発現させた細胞での I_{Ks} の電流密度 (60.4 ± 8.4 pA/pF, n=10) より小さかったが、その変化は有意には至らなかった。

D. 考察

本年度の半ばで明らかとなった、QT 延長症候群に関わる心筋イオンチャネルをコードする遺伝子に見出された SNP の中で、今まで報告がなされていなかった KCNE1_{G38S} および KCNE1_{D85N} に着目し、野生型の KCNQ1 と培養細胞に共発現させた際、 I_{K_s} チャネルの機能変化がおきるか否かを検討した。得られた結果はこれらの KCNE1 の SNP だけでは I_{K_s} の電流密度がわずかに減少するものの、有意な変化には至らなかった。従って、これらの KCNE1 の SNP 単独では I_{K_s} の電流密度が極端に低下し、いわゆる Repolarization Reserve の低下が主な原因となり、遅延整流 K^+ 電流の速い成分 (I_{K_r}) の抑制薬によって活動電位持続時間、心電図 QT 間隔の極端な延長には至らないのではという考察も出来る。従って、これらの KCNE1 の SNP がどのような意義を持つかは、今後違った観点からの解析も必要かもしれない。例えば、以前 KCNE1 によってコードされる膜 1 回貫通型の付属蛋白である minK は KvLQT1 チャネルばかりでなく HERG (KCNH2) チャネルの付属蛋白として機能するという仮説も提唱されている。従って KCNE1_{G38S} および KCNE1_{D85N} を HERG (KCNH2) チャネルと共発現させた場合、 I_{K_r} 遮断作用を持つ薬物への感受性に差異が認められるか否か検討する予定である。

本研究で認められた KCNQ1 あるいは KCNH2 の SNP のいくつかは、既に他の研究者によって解析、報告されているものもあった。例えば、KCNQ1_{G648S} は久保田らによって野生型の KCNE1 と共発現させると I_{K_s} の電流密度が減少していたと報告されている。本研究においてこの SNP を持つ患者で I_{K_r} 遮断作用を持つと想定される薬物によって著明な QT 延長を起こしていた。最近、KvLQT1 チャネルと HERG チャネルがヘテロマルチマーとして発現し、機能することを示唆する報告もなされている。今後、SNP である KCNQ1_{G648S} と野生型の HERG、そして付属蛋白である KCNE1 を共発現させた場合そのチャネルの I_{K_r} 遮断薬に対する感受性が変化する可能性についても検討する予定である。

E. 結論

薬物の投与によって QT 延長と Torsades de pointes を惹起した日本の患者の遺伝子解析によって認められた、遅延整流 K^+ チャネルのポア成分およびそれらの付属蛋白をコードする遺伝子 (KCNH2、KCNQ1、KCNE1、KCNE2) の SNP

の中で、KCNE1_{G38S} および KCNE1_{D85N} に着目し、機能実験を行った。野生型の KCNQ1 と KCNE1_{G38S} あるいは KCNE1_{D85N} を HEK293 細胞に共発現した際の遅延整流 K^+ 電流の遅い成分 (I_{K_s}) の電流密度を、野生型の KCNQ1 と KCNE1 を共発現させた場合との間で、パッチクランプ法を用いて比較検討した。KCNE1_{G38S} あるいは KCNE1_{D85N} を野生型 KCNQ1 と共発現した場合の電流密度は、どちらも野生型の KCNQ1 と KCNE1 を共発現させた場合と比較して、若干電流密度は低下していたが、その変化は有意のものではなかった。今後、これらの SNP (遺伝子多型) の病態生理学的意義については更なる電気生理学的実験が必要と思われる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表 関連する論文の発表はあるが、直接的にこの報告書の内容を含むものはなし
2. 学会発表 学会等における関連した内容の発表はあるがこの報告書の内容を直接的に含むものはなし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

口頭発表：国内 28 件、国外 0 件

原著論文：国内 0 件、国外 7 件

総説：国内 5 件、国外 0 件

研究結果

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sato T, Takizawa T, Saito T, Kobayashi S, Hara Y, Nakaya H.	Amiodarone Inhibits Sarcolemmal but not Mitochondrial K_{ATP} Channels in Guinea-Pig Ventricular Cells.	J Pharmacol Exp Ther	305 (3)	955-960	2003
Yamashita T., Ogawa S., Aizawa Y., Atarashi H., Inoue H., et.al.	Investigation of the optimal treatment strategy for atrial fibrillation in Japan —The J-RHYTHM (Japanese Rhythm Management Trial for Atrial Fibrillation) study design—	Circ. J.	67	738-741	2003
Suzuki, M., Saito, T., Sato, T., Tamagawa, M., Miki, T., et al.	Cardioprotective effect of diazoxide is mediated by activation of sarcolemmal but not mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels in mice.	Circulation,	107	682-685	2003
中谷晴昭, 鈴木将, 植村展子, 佐藤俊明, 小倉武彦, 他	心血管系における K_{ATP} チャネルの役割	心電図	23	S-3-3-S-3-18	2003
中谷晴昭	QT 延長薬物の細胞電気薬理的評価法	日本薬理学雑誌	121	384-392	2003
中谷晴昭	イオンチャネルのリモデリング	CARDIAC PRACTICE	14(4)	35-39	2003
中谷晴昭, 三木隆司, 清野進, 山田勝也, 稲垣暢也, 他	各種臓器の ATP 感受性 K^+ チャネルの構造と機能：薬物制御による QOL の向上をめざして	日本薬理学雑誌	122	243-250	2003
Ohtsuka M., Takano H., Suzuki M., Zou Y., Akazawa H., et al.	Role of Na^+ - Ca^{2+} exchanger in myocardial ischemia/reperfusion injury: evaluation using a heterozygous Na^+ - Ca^{2+} exchanger knockout mouse model.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	314 (3)	849-53.	2004
Matsuura K., Nagai T., Nishigaki N., Oyama T., Nishi J., et al.	Adult cardiac Sca-1 positive cells differentiate into beating cardiomyocytes.	J. Biol. Chem.	279 (12)	11384-11391	2004
Ishida H., Higashijima N., Hirota Y., Genka C., Nakazawa H., et al.	Nicorandil attenuates the mitochondrial Ca^{2+} overload with accompanying depolarization of the mitochondrial membrane in the heart.	Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.	369 (2)	192-197	2004
Sato T., Li Y., Saito T., Nakaya H.	Minoxidil opens mitochondrial K_{ATP} channels and confers cardioprotection.	Br. J. Pharmacol	141 (2)	360-366	2004
中谷晴昭	ATP 感受性 K^+ チャネルを標的とした虚血・冠攣縮—心血管 K_{ATP} チャネル.	医学のあゆみ 分子標的薬	208 (5)	388-392	2004

学会等発表

☆2003. 4. 19 (土) 千葉

第 4 回のはな泌尿器検討会
病態における K⁺ チャネルの役割
中谷晴昭

☆2003. 5. 29 (木) 岐阜

心不全へのアプローチ —基礎から臨床— 講演
心不全及び虚血生心疾患における K⁺ チャネルの役割
中谷晴昭

☆2003. 6. 7 (土) 金沢

平成 15 年度石川県看護協会会員研修会 講演
看護に役立つ薬理学
中谷晴昭

☆2003. 6. 14 (土) 幕張

第 108 回日本薬理学会関東部会
ATP 感受性 K⁺ チャネル (Kir6.2) 遺伝子欠損マウス心筋の虚血時電気生理学的変化
斉藤智亮、佐藤俊明、三木隆司、清野進、中谷晴昭

☆2003. 7. 26 (土) 千葉大学

入試説明会模擬講義 (高校生へ)
「突然死」について
中谷晴昭

☆2003. 7. 28 (月) 千葉

千葉市民文化大学 講演
くすりの効き方
中谷晴昭

☆2003. 8. 22 (金) 東京

講習会 講演
QT 延長薬物の前臨床評価法
中谷晴昭

☆2003. 9. 6 (土) 東京

比較心電図研究会 講演
各種実験動物の活動電位と K⁺ 電流系の多様性 中谷晴昭

☆2003. 9. 8 (火)、9 (水) 東京

第 20 回日本心電学会学術集会

1. 心筋虚血時の電気生理学的変化における ATP 感受性 K⁺ チャネルの役割の検討
斉藤智亮、佐藤俊明、中谷晴昭
2. 心房筋 ATP 感受性 K⁺ チャネルを介する心房性ナトリウム利尿ペプチド分泌の修飾
—Kir6.2 遺伝子欠損マウスによる検討—
三枝紀子、佐藤俊明、小室一成、中谷晴昭
3. 日本における心房細動無作為比較試験 (J-RHYTHM 試験) のデザインと特徴: AFFIRM 試験、

RACE 試験を踏まえて

J-RHYTHM 試験中央委員会 (山下武志、小川聡、相澤義房、新 博次、井上 博、他)

☆2003. 9. 18 (木) 清瀬

看護にいかす薬の基礎知識 講演

からだと薬

中谷晴昭

☆2003. 10. 4 (土) 東京

第 109 回日本薬理学会関東部会

ミニシンポジウム 「医薬品による QT 延長と安全性薬理試験に関するトピックス」

QT 延長と in vitro 評価法：特に電気生理的検討 (APD および HERG 電流との関連)

中谷晴昭

☆2003. 10. 11 (土) 東京

関東エリア J-RHYTHM 研究会 講演

イオンチャンネルから見た心房細動の薬物治療戦略

中谷晴昭

☆2003. 11. 7 (金) 東京

第 8 回医薬品開発基礎研究会学術集会 特別講演

薬物誘発性 QT 延長の評価

中谷晴昭

☆2003. 11. 18 (火) 弘前

第 16 回弘前ハートカンファランス 講演

心房細動に関わる K⁺ チャンネルおよび HCN チャンネルの機能的役割と抗不整脈薬による修飾

中谷晴昭

☆2003. 11. 21 (金) 金沢

金沢循環器疾患薬物療法研究会 (第 20 回記念講演会) 特別講演

心血管系の ATP 感受性 K⁺ チャンネルをめぐる最近の話題

中谷晴昭

☆2003. 12. 1 (月) 浜松

浜松医科大学特別講演

心血管系の ATP 感受性 K⁺ チャンネルの機能的役割

中谷晴昭

☆2004. 1. 24 (土) ~25 (日) 東京

第 14 回日本病態生理学会大会

シンポジウム「表面膜とミトコンドリア膜の病態生理」

虚血性心筋保護における表面膜およびミトコンドリア内膜 K_{ATP} チャンネルの役割

佐藤俊明、中谷晴昭

☆2004. 1. 30 (金) 埼玉

田辺製薬戸田研究所薬理研究所講演会 特別講演

薬物の QT 延長に関する毒性評価法

中谷晴昭

☆2004. 1. 31 (土) 福島

福島アミオダロン講演会 特別講演

アミオダロンの新たな電気生理学的作用とその意義
中谷晴昭

☆2004. 2. 14 (土) 千葉

- 第3回千葉不整脈カンファレンス 特別講演
不整脈の成因の分子理解と不整脈薬物療法の展開
中谷晴昭

☆2004. 3. 8 (月) ~9 (水) 大阪

第77回日本薬理学会年会

1. シンポジウム「薬物誘発致死性不整脈」
I_{Kr} チャネルブロッカーの細胞レベルでの評価
中谷晴昭
2. HEK293 細胞の発現させた HCN4 チャネルに対する各種抗不整脈薬の作用
中谷晴昭、霊園良恵、小倉武彦、植村展子、
3. ミトコンドリア Ca²⁺ 活性化 K⁺ チャネル開口によるミトコンドリア Ca²⁺ 過負荷の抑制
佐藤俊明、中谷晴昭

☆2004. 3. 27 (土) ~29 (月) 東京

第68回日本循環器学会総会・学術集会

1. ファイアーサイドセミナー「心房細動とイオンチャネル制御：テーラーメイド治療をめざして」
心房細動の発生に関わるイオンチャネルと抗不整脈薬の作用
中谷晴昭
2. NS-1619 Opens the mitochondrial calcium-activated K⁺ channels and attenuates the mitochondrial Ca²⁺ overload in guinea-pig ventricular cells.
T. Sato, H. Nakaya
3. Role of Na⁺-Ca²⁺ exchanger in myocardial ischemia/reperfusion injury: evaluation using a heterozygous Na⁺-Ca²⁺ exchanger knockout mouse model.
M. Ohtsuka, M. Suzuki, H. Takano, Y.-Z. Zou, H. Akazawa, T. Minamino, H. Nakaya, I. Komuro

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
（分担）研究報告書

有害反応の回避を目指した副作用原因遺伝子の同定と SNP の探索

分担研究者：白川太郎

京都大学大学院医学研究科社会健康医学専攻健康要因学講座健康増進・行動学教授

研究要旨

SJS は不特定多数の薬剤によって引き起こされるアレルギー性の炎症疾患と考えられているがその発症の機序は未だに明らかになっていない。発症率が極めて低く、様々な薬剤によって起こることから遺伝的な素因が強く考えられるが、どのような遺伝子変異によって引き起こされるかはわかっていない。本研究では、患者さんよりの DNA サンプルを用いて候補遺伝子座を決定することを目的とする。このために多施設において SJS 患者さんの収集を図るとともに DNA、RNA を抽出しあわせて患者さんに関する様々な臨床症状に関する情報を集めることを第一段階とした。

A. 研究目的

スティーブン・ジョンソン症候群は、本来、有効であるはずの薬剤により生じる皮膚・粘膜・眼を主病変部位とする原因不明の疾患である。年間 1-10 人/1,000,000 人の頻度で発生すると言われ、汎用されている非ステロイド消炎鎮痛薬にて起こりやすいこと、また重症症例は死に至る（死亡率約 3%）こと、皮膚粘膜障害が治癒しても 69% が眼表面に障害を残すから、その予防及び治療に向けて、分子レベルでの病態解明が待たれている。

近年、ヒトにおいて認められる遺伝子多型が疾患関連遺伝子を同定するための指標として有用性の高いものであることが判明してきた。様々な疾患感受性と候補遺伝子多型の関連が報告されているが、SNP を用いたゲノムワイドな解析研究は諸についたばかりである。

本研究は、ゲノム上の数万種類の多型マーカー（特に Single nucleotide polymorphism（SNP）= 1 塩基多型マーカー）を用い、スティーブン・ジョンソン症候群の発症、及び

病態に関連する遺伝子を探索し、現時点では明らかになっていない遺伝的背景を同定する。

B. 研究方法

着手後、埼玉医大総合医療センター皮膚科伊崎誠一教授を中心にした①スティーブン・ジョンソン症候群患者の会、②スティーブン・ジョンソン症候群研究大学グループ（横浜市立大学、杏林大学、愛媛大学等）を通じてサンプルを 15 例収集した。対象者に研究参加の意志の有無について簡易な説明文書によって確認し、本人もしくは代諾者からインフォームド・コンセントをとった上で、血液を 10 ml 程度採取し、抽出キットを用いて DNA、cDNA などを抽出した。抽出した DNA、cDNA などは、解析を実際に行う理化学研究所に送付した。同時に、診療情報を収集した。診療情報は、個人識別情報管理者が匿名化した。

C. 研究結果

15 検体を収集し、候補遺伝子約 30 を対象に SNP 検索技術の確立及び少数患者での予

備検討を行った。候補遺伝子に対し、患者15例、正常対象者15例を用いた sequencing 作業を行い、SNP 一覧表を作成した。その中で特に選考研究で注目されている FASL 遺伝子の解析では、この遺伝子の promoter 領域にある-844C/T 変異と SJS との関連が見られた (p=0.034, Fisher's exact test)。

D. 考察・結論

SJS との関連について FASL 遺伝子と投与薬剤、機能、の関連を調査するとともに、さらに症例を増やして検討を進める必要がある。

E・健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tanaka K, Roberts MH, Yamamoto N, Sugiura H, Uehara M, Mao X-Q, Shirakawa T, Hopkin JM: Heterogeneity of atopic eczema; a genetic variant of RANTES and high IgE level. *Clin. Exp. Allergy*(in press)
2. Hasegawa K, Hirota T, Obara K, Akahoshi M, Cheng L, Takahashi Shimizu M, Sekiguchi H, Kokubo M, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Mao X-Q, Tamari M, Shirakawa T: Association between genetic variation in the gene for ADAM33 and clinical severity of childhood asthma in the Japanese population. *Hum Genet*(in press).
3. Nakajima T, Iikura M, Okayama I, Matsumoto K, Uchiyama C, Shiramkawa T, Yang X, Adra CN, Hirai K, Saito H: Identification of granulocyte subtype-selective receptors and channels by high-density oligonucleotide probearray. *J.Allergy Clin. Immunol.*(in press)
4. Fukuda S, Ishikawa H, Koga Y, Yaiba Y, Nakashima K, Cheng L, Shirakawa T. Allergy and serum antibodies against bacterial species of predominant commensal intestinal microflora in schoolchildren. *J. Adoles. Health.*(2004 in press)
5. Shimada T, Cheng L, Ide M, Fukeda S, Enomoto T, Shirakawa T. Effect of lysed enterococcus faecalis FK-23 (LFK) on allergen-induced peritoneal accumulation of eosinophils in mice. *Clin Exp Allergy.* 2003;33:684-7.
6. Bottini N, Mao XQ, Borgiani P, Saccucci P, Stefanini L, Greco E, Fontana L, Hopkin JM, Shirakawa T: Genetic control of serum IgE level; a study of lowmolecular weight protein tyrosine phosphatase. *Clin. Genet.* 2003;63:228-231
7. Ouchi K, Suzuki Y, Shirakawa T, Kishi F. Polymorphism of SLC11A1(formerly NRAMP1) gene confers susceptibility to Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2003;187:326-9.

2. 学会発表

1. 福田早苗, 白川太郎, 石川裕樹, 相場勇志, 古賀泰裕: アレルギー疾患と腸内細菌透過性に関する研究, 第13回日本疫学会, 福岡, 2003. 1.
2. 白川太郎: アレルギーの予防を考える(学術講演), 第26回日本位学会総会, 福岡 シークホテル, 2003. 4. 4-6
3. 玉利真由美, 白川太郎: 気管支喘息関連遺伝子への患者一対象研究を中心に(シンポジウム), 第15回日本アレルギー学会春季臨床大会, パシフィコ横浜, 2003. 5. 12-14.

4. 井手昌洋, 嶋田貴志, 榎本雅夫, 白川太郎, 安枝 浩: スギ花粉抗原の1型アレルギーモデルに対する乳酸菌FK-23菌抽出物(LFK)の効果, 第15回日本アレルギー学会春季臨床大会, パシフィコ横浜, 2003. 5. 12-14.
5. 三邊武幸, 三好 彰, 程 雷, 殷 敏, 時 海波, 白川太郎: アレルギー性鼻炎と大気汚染, 第15回日本アレルギー学会春季臨床大会, パシフィコ横浜, 2003. 5. 12-14.
6. 福田早苗, 白川太郎: プロバイオティクスを用いたアレルギー予防試験に関する取り組み—熊本県小国町研究—, 第15回日本アレルギー学会春季臨床大会, パシフィコ横浜, 2003. 5. 12-14.
7. 白川太郎: 新しい食の科学、フードバイオロジー —機能性食品によるアレルギー予防をモデルに— (特別講演), 第49回日本生理人類学会, 九州大学百周年記念講堂, 2003. 5. 16-17.
8. 白川太郎: 職業・環境によるアレルギー疾患の遺伝的背景 (特別講演), 第34回日本職業・環境アレルギー学会, 栃木県総合文化センター, 2003. 6. 27-28.
9. 白川太郎: 遺伝要因と環境要因の相互作用: アレルギー疾患をモデルに (特別講演), 第10回日本免疫毒性学会, 相模原市民文化会館, 2003. 9. 25-26.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(1) Provisional 申請: 米国

Granulocyte subtype receptors and ion channels in relation to allergic disorders

(2) 国際特許: H15-006440

分類	C12N 15/09
	C12N 15/11
	G01N 33/50

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

小児の Stevens-Johnson 症候群 - 成人例との比較検討

分担研究者 橋本 公二 愛媛大学医学部皮膚科学 教授

研究要旨 Stevens-Johnson 症候群 (SJS) は、多形紅斑に結膜炎や口唇口内炎などの粘膜疹を伴い、さらに肝臓、消化管、気道粘膜などの多臓器障害を合併してときに死に至る重篤な疾患である。原因としては、薬物、マイコプラズマ、ウイルスなどの感染症が原因となることがある。その発症年齢は、幼児から高齢者に及ぶが、小児例と成人例の発症原因や病態についての比較検討はこれまでほとんどなされていない。本研究において、SJS の本邦報告例を小児例と成人例に分けて集計し、検討したところ、小児では成人と比較して女児に多く、基礎疾患、原因とも感染症、特にマイコプラズマ感染が成人より多くを占めた。粘膜疹の出現時期や遷延性病変に成人との差は認めなかったが、死亡率は成人より低かった。

研究協力者

相原道子：横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター

及ぶが、小児例と成人例の発症原因や病態についての比較検討はこれまでほとんどなされていない。本研究は本邦報告例において小児例と成人例の比較検討を行いその病態を解明することを目的とした。

A. 研究目的

Stevens-Johnson 症候群 (SJS) は、多形紅斑に結膜炎や口唇口内炎などの粘膜疹を伴い、さらに肝臓、消化管、気道粘膜などの多臓器障害を合併してときに死に至る重篤な疾患である。原因としては、薬物投与によるものが最も多いが、マイコプラズマ、ウイルスなどの感染症が原因となることがある。その発症年齢は、幼児から高齢者に

B. 研究方法

SJS の本邦報告例を小児例と成人例に分けて集計し、検討した。成人例は 1981 年から 1997 年に報告された症例 180 例、小児は 1981 年から 2003 年に報告された 111 例を調査対象とした。

C. 研究結果

小児では11ヶ月から15歳（5歳以下は35例）、男女比1:0.56、成人では16歳から78歳、男女比1:1.52、であった。基礎疾患の主なものは小児では感染症56例（50.5%）（マイコプラズマ肺炎28例、感冒・発熱14例）、てんかん・痙攣17例（15.3%）であり、成人では感染症65例（36.1%）（マイコプラズマ肺炎11例、感冒・発熱34例）、自己免疫疾患15例であった。SJSの原因と考えられたものは、小児では感染症43例（38.7%）（マイコプラズマ感染28例、麻疹2例、単純ヘルペス2例）、薬剤54例（48.6%）（抗痙攣薬18例、抗菌薬17例、消炎鎮痛薬・感冒薬6例、抗菌薬または消炎鎮痛薬5例）であり、成人では感染症25例（13.8%）（マイコプラズマ感染11例、麻疹2例、単純ヘルペス6例）、薬剤134例（74.4%）（抗痙攣薬22例、抗菌薬22例、消炎鎮痛薬・感冒薬19例、抗菌薬または消炎鎮痛薬12例、高尿酸血症治療薬（アロプリノール）8例）であった。また、粘膜疹が皮疹に先行する例は小児14%、成人12%であり、差はみられなかった。また、小児と成人で遷延化した病変に差はなく、いずれも眼病変が最も多く（小児14.4%、成人11.7%）、次いで呼吸器障害（小児5.4%、成人5.6%）、口腔粘膜病変（小児3.6%、成人3.3%）であった。死亡例は小児1例（0.9%）、成人16例（8.9%）であった。

D. 考察

本研究において小児と成人ではSJSの原因がかなり異なることが示唆された。すなわち小児例では感染症が約40%みられるのに対し、成人では13%にとどまっていた。また薬剤の関与については成人では74%認められた。これらの所見は今後SJSの早期診断・早期治療を開始する上で、重要な参考所見になると考えられる。一方、病態・皮疹・臓器障害に関して差は認めなかったことから、いったん発症してしまえばその経過、合併症等の出現頻度はほぼ同様と考えられるため、治療に関しては小児例、成人例で分けて考える必要は少ないと思われる。死亡率は小児例では1例認められたのみで、成人例16例に比べ極端に少ないことが今回の調査で判明した。皮疹・経過・臓器障害がほぼ同様の頻度であるにも関わらず小児例の死亡率が低かったことの原因の究明が今後の課題であると思われ、原因究明が成人例の死亡率低下に結びつくことが期待される。

E. 結論

小児では成人と比較して男女比が高く、基礎疾患、原因とも感染症、特にマイコプラズマ感染が成人より多くを占めた。粘膜疹の出現時期や遷延性病変に成人との差はなく、死亡率は成人より低かった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表 (平成 15 年度)

1. 論文発表

英語論文

Hashimoto K, Yasukawa M, Tohyama M: Human herpesvirus 6 and drug allergy. **Curr Opin Allergy Clin Immunol** 2003, 3:255-60

Nanba D, Mammoto A, **Hashimoto K**, Higashiyama S.: Proteolytic release of the carboxy-terminal fragment of proHB-EGF causes nuclear export of PLZF. **J Cell Biol** 2003, 163:489-502

Iwamoto R, Yamazaki S, Asakura M, Takashima S, Hasuwa H, Miyado K, Adachi S, Kitakaze M, **Hashimoto K**, Raab G, Nanba D, Higashiyama S, Hori M, Klagsbrun M, Mekada E. Heparin-binding EGF-like growth factor and ErbB signaling is essential for heart function. **Proc Natl Acad Sci USA** 2003, 100:3221-6.

Yahata Y, Shirakata Y, Tokumaru S, Yamasaki K, Sayama K, Hanakawa Y, Detmar M, **Hashimoto K**: Nuclear translocation of phosphorylated STAT3 is essential for VEGF-induced human dermal microvascular endothelial cell migration and tube formation. **J Biol Chem** 2003, 278:40026-31

Nakamura Y, Fukami K, Yu H, Takenaka K, Kataoka Y, Shirakata Y, Nishikawa SI, **Hashimoto K**, Yoshida N, Takenawa T.: Phospholipase Cdelta(1) is required for skin stem cell lineage commitment. **EMBO J** 2003, 22:2981-2991.

Masaki T, Fukunaga A, Tohyama M, Koda Y, Okuda S, Maeda N, Kanda F, Yasukawa M, **Hashimoto K**, Horikawa T, Ueda M: Human herpes virus 6 encephalitis in allopurinol-induced hypersensitivity syndrome. **Acta Derm Venereol** 2003, 83:128-31

Midorikawa K, Ouhara K, Komatsuzawa H, Kawai T, Yamada S, Fujiwara T, Yamazaki K, Sayama K, Taubman MA, Kurihara H, **Hashimoto K**, Sugai M: Staphylococcus aureus susceptibility to innate antimicrobial peptides, beta-defensins and CAP18, expressed by human keratinocytes. **Infect Immun** 2003, 71:3730-9

Shibata R, Kai H, Seki Y, Kato S, Wada Y, Hanakawa Y, **Hashimoto K**, Yoshimura A,

Imaizumi T: Inhibition of STAT3 prevents neointima formation by inhibiting proliferation and promoting apoptosis of neointimal smooth muscle cells. **Hum Gene Ther** 2003, 14:601-10

Yamasaki K, Hanakawa Y, Tokumaru S, Shirakata Y, Sayama K, Hanada T, Yoshimura A, **Hashimoto K**: SOCS1/JAB and SOCS3/CIS3 negatively regulate the STATs signaling pathway in normal human epidermal keratinocytes. **J Invest Dermatol** 2003, 120:571-80.

Yamasaki K, Toriu N, Hanakawa Y, Shirakata Y, Sayama K, Takayanagi A, Ohtsubo M, Gamou S, Shimizu N, Fujii M, Miyazono K, **Hashimoto K**: Keratinocyte growth inhibition by high-dose epidermal growth factor is mediated by transforming growth factor α autoinduction: A negative feedback mechanism for keratinocyte growth. **J Invest Dermatol** 2003, 120:1030-1037.

Hamada K, Kohno S, Iwamoto M, Yokota H, Okada M, Tagawa M, Hirose S, Yamasaki K, Shirakata Y, **Hashimoto K**, Ito M.: Identification of the Human IAI.3B Promoter Element and Its Use in the Construction of a Replication-selective Adenovirus for Ovarian Cancer Therapy. **Cancer Res** 2003, 63:2506-12.

Yanai F, Ishii E, Kojima K, Hasegawa A, Azuma T, Hirose S, Suga N, Mitsudome A, Zaitzu M, Ishida Y, Shirakata Y, Sayama K, **Hashimoto K**, Yasukawa M.: Essential roles of perforin in antigen-specific cytotoxicity mediated by human CD4+ T lymphocytes: analysis using the combination of hereditary perforin-deficient effector cells and Fas-deficient target cells. **J Immunol** 2003, 170:2205-13.

Shirakata Y, Tamai K, Nakaoka H, Tokumaru S, Sayama K, Murakami S, **Hashimoto K**: Severe Palmo-plantar Hyperkeratosis in Koebner Epidermolysis Bullosa Simplex. **J Dermatol** 2003, 30:135-40.

Wada T, Shirakata Y, Takahashi H, Murakami S, Iizuka H, Suzuki H, **Hashimoto K**: A Japanese Case of Segmental Darier's Disease Caused by Mosaicism for the ATP2A2