

## II. 分担研究報告

## QT 延長症候群、Brugada 症候群の臨床診断、遺伝子解析および臨床研究

分担研究者 堀江 稔 滋賀医科大学医学部呼吸循環器内科学講座 教授

研究要旨 先天性 QT 延長症候群 (LQTS)、ブルガダ症候群を初めとする致死性遺伝性不整脈患者の遺伝子検査を 1996 年より施行しており、今般、タイプ 2 LQTS (LQT2) と診断された 103 名の患者について、その予後と種々の心電図所見、遺伝子変異部位について検討した。遺伝子異常の発見に繋がった発端者においては、遺伝子変異部位が、イオンチャネル分子の機能的に重要な部分である Pore にある Pore 群において Non-pore 群よりも、失神などの心イベントの発症が多かったが、統計的な有意差はなかった。しかし、mutation carrier の家族間で比べると有意に Pore 群で発症が多かった。また、心イベント発症には、薬物治療開始まえに記録された心電図所見のうち、QT 間隔、心拍数が、有意に発症と関連していた。

### A. 研究目的

2 型先天性 QT 延長症候群 (LQT2) は KCNH2 遺伝子の遺伝子変異により引き起こされるが、これまでに遺伝子変異を起こす部位が表現型としての重症度と関係することが報告されている。また、QT 延長症候群において致死性不整脈の予測因子としては QTc 時間が最も有用であるとされてきた。LQT2 においては、他の先天性 QT 延長症候群に比べて徐脈傾向があると報告されてはいるものの、実際に徐脈が致死性不整脈の予測因子として検討した報告はなかった。本研究課題では、KCNH2 遺伝子の遺伝子変異部位、QTc 時間、安静時心拍数などが LQT2 患者においてどのように関与しているのかを調べ、致死性不整脈の予測因子を検討することを目的とする。

### B. 研究方法

臨床的に QT 延長症候群と診断された患者末梢血から DNA を抽出し、先天性 QT 延長症候群の原因遺伝子とされる KCNQ1、KCNH2、SCN5A、KCNE1、KCNE2、KCNJ2 に関して高速液体クロマトグラフィー法を用いて遺伝子変異のスクリーニングを行い、異常があればシークエンス法にて遺伝子変異の同定を行った。その内、KCNH2 単独の遺伝子変異を有する 103 例の症例に関して意識消失、心

停止、突然死と定義した心イベントの有無、 $\beta$ 遮断薬内服前の安静時心電図における心拍数 (HR)、QT 時間、Tpeak-end 時間などを計測、Schwartz スコアを算出した。また、遺伝子変異部位による影響を見るために遺伝子変異が KCNH2 遺伝子の膜貫通部位を含む pore 領域にある症例 (n=52) と pore 領域以外 (non-pore 領域) にある症例 (n=51) に分類した (pore 領域をアミノ酸の 550 番から 650 番と規定した)。更に、先に規定した心イベントを有する症例 (n=59) と有さない症例 (n=44) に分けて各心電図計測値、男女比、遺伝子変異部位などに関して統計的に検討を行った。QTc 時間、HR に関しては各中央値を用いて 500 ms と 60 bpm でそれぞれ 2 群に分類し検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究では、インフォームドコンセントが得られた患者から末梢血を採取し、リンパ球ゲノム DNA を抽出するが、ゲノム DNA および氏名・年齢・性別・心電図などの患者情報はすべて患者識別番号でコード化し、研究実施に関与しない個人識別番号管理者 (医師) が厳重に管理し、遺伝子解析研究者にどの患者の試料であるかがわからない状態で研究を進めた。

### C. 研究結果

Pore領域に遺伝子変異を持つ症例(pore群)ではnon-pore領域に遺伝子変異を持つ症例(non-pore群)よりも早期に心イベントを発症する傾向にあり(log-rank=0.072)、QTc時間においても有意に延長していた(QTc; 522±63 ms vs 484±46 ms,  $p=0.001$ )。また、Tpeak-end時間においても有意に延長を示した(Tpeak-end; 130±56 ms vs 96±38 ms,  $p<0.001$ )。この傾向は遺伝子変異を有する家族症例に限定するとより明らかとなった。有症状群と無症状群で比較すると有症状群ではQTc時間が有意に延長しており(QTc; 526±69 ms vs 443±50 ms,  $p<0.001$ )、また徐脈傾向にあった(心拍数; 60±12 ms vs 70±15 ms,  $p<0.001$ )。単変量解析(student T検定)を行うとQTc  $\geq 500$  msではオッズ比5.43、心拍数 $<60$ ではオッズ比4.08といずれも心イベント発症のリスクとなっていた。また、多変量解析(logistic regression model)を行うとQTc時間、心拍数、女性であることの3因子が心イベント発症に関与していると考えられた; QTc  $\geq 500$  ms (オッズ比=15.31; 95% CI, 4.61 to 50.89;  $p<0.001$ )、心拍数 $<60$  bpm (オッズ比=11.47; 95% CI, 3.50 to 37.62;  $p<0.001$ )、女性であること(オッズ比=4.86; 95% CI, 1.64 to 14.42;  $p=0.005$ )。単変量、多変量解析いずれの解析においても遺伝子変異部位と心イベントとの関係は示されなかった。そこで、我々はQTc時間 500 msと心拍数 60 bpmを用いて4つのグループ分けを行って検討を加えた。QTc $<500$  msかつ心拍数 $\geq 60$  bpmである群において他のどの群と比較しても有意に心イベント発症が少なく、またKaplan-Meier法においても発症時期が遅かった(log-rank=0.0006)。更に、QTc $<500$  msであっても心拍数 $<60$  bpmと徐脈を呈した場合は心拍数 $\geq 60$  bpmの場合と比較して5.3倍の発症リスクとなっていた(Cox proportional-hazards survivorship modelを用いて検討)。

### D. 考察

本研究は、日本人のQT延長症候群のうちKCNH2遺伝子に変異が同定されたLQT2患者を対象に遺

伝子変異の部位、QT時間、Tpeak-end時間、安静時HR等と心イベント発症の関連を検討したものである。遺伝子変異の部位と心イベント発症との関係についてはMossらの論文(Circulation. 2002; 105: 794-799)で、pore領域の遺伝子変異でより多くの心イベントを発症し、QTc時間もより延長していると報告されている。今回の検討では遺伝子変異部位単独では明らかなリスクと言えなかった。しかし、家族に限定すると明らかにpore領域に遺伝子変異を有すると高リスクであると言え、この傾向はMossらの報告と一致する。また、PrioriらによるとLQT2においてはQTc  $\geq 500$  msと女性であることがリスクであると報告されており(N Engl J Med. 2003; 348: 1866-1874)、これまで安静時HRとの関連では検討されていなかった。今回の検討では徐脈になるにつれて心イベント発症率が高くなっており、その傾向はQTc時間が延長しているかいないかには関係していなかった。すなわち、徐脈(HR $<60$  bpm)が単独で心イベントを起こすリスクとなっていると考えられた。今後、更なる検討が必要であるが、この研究によりこれまでリスクが低いと判断されていたQTc時間の延長していない(QTc $<500$  ms)症例においても徐脈(HR $<60$  bpm)を呈する症例では致死性不整脈を予防する十分な治療が必要となる可能性があると言える。

### E. 結論

2型先天性QT延長症候群においてQTc時間と安静時HRを組み合わせることでより精度の高いリスク評価が可能である。

### F. 健康危険情報

QT延長を示す患者で、 $\beta$ -ブロッカー治療など徐脈を来す他の因子がなく、心拍数毎分60以下の場合、torsade de pointesなどの心イベントをきたす可能性が高くなるため注意が必要である。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Hatada K, Washizuka T, Horie M, Watanabe H, Yamashita F, Chinushi M, Aizawa Y. Tumor necrosis factor-alpha inhibits the cardiac delayed rectifier K current via the sphingomyelin pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 344: 189-193, 2006.
2. Itoh H, Horie M, Ito M, Imoto K. Arrhythmogenesis in the short-QT syndrome associated with combined HERG channel gating defects: A Simulation Study. *Circulation Journal* 70(4): 502-508, 2006.
3. Nagaoka I, Matsui K, Ueyama T, Kanemoto M, Wu J, Matsuzaki M, Horie M, Shimizu A. A novel mutation of plakophilin-2 associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation Journal* 70(7); 933-935, 2006.
4. Ohno S, Zankov D, Yoshida H, Tsuji K, Makiyama T, Itoh H, Akao M, Hancox JC, Kita T, Horie M. N-andC-terminal KCNE1 mutations cause distinct phenotypes of long QT syndrome. *Heart Rhythm* (in press), 2006.
5. Ozawa T, Ito M, Tamaki S, Yao T, Ashihara T, Kita Y, Okamura T, Ueshima H, Horie M. Gender and age effects on ventricular repolarization abnormality in Japanese general carriers of G643S common single nucleotide polymorphism of KCNQ1 gene. *Circulation Journal* 70(6):645-650, 2006.
6. Schwartz PJ, Spazzolini C, Crotti L, Bathen J, Denjoy I, Schulze-Bahr E, Amlie JP, Timothy K, Shkolnikova M, Berul C, Bitner-Glindzicz M, Toivonen L, Horie M. The Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. Molecular basis, natural history, and clinical outcome. *Circulation* 113:783-790, 2006.
7. Tsuji K, Akao M, Ishii T, Ohno S, Makiyama T, Doi T, Haruna Y, Yoshida H, Nakashima T, Kita T, Horie M. Mechanistic basis for the pathogenesis of long QT syndrome caused by a splicing mutation in KCNQ1 gene. *J Moll Cell Cardiol* 2007 (in press).
8. Zhang CT, Yasuno S, Kuwahara K, Zankov D, Kobori A, Makiyama T, Horie M. Blockade of Angiotensin II type 1 receptor improves the arrhythmia morbidity in mice with left ventricular hypertrophy. *Circulation Journal* 70(3):335-341, 2006.
9. Zankov DP, Toyoda F, Ding WG, Matsuura H, Horie M. Angiotensin II potentiates IKs potassium current via AT1 receptors in guinea-pig atrial myocytes. *Circulation* 113(10):1278-1286, 2006.
10. Zankov DP, Omatsu-Kanbe M, Toyoda F, Ding WG, Matsuura H, Isono T, Horie M. Response to letter regarding article, "Angiotensin II potentiates the slow component of delayed rectifier K+ Current via the AT1 receptor in guinea pig atrial myocytes". *Circulation* 114; e556, 2006.

11. 伊藤英樹, 堀江 稔. 不整脈と原因遺伝子. 日本内科学会雑誌 95: 11-16, 2006.
12. 堀江 稔. 薬剤性 QT 延長症候群における遺伝子背景. 心臓 38: 16-20, 2006.
13. 堀江 稔. Brugada 症候群. Heart View 10(5): 568-573, 2006.
14. 堀江 稔. Brugada 症候群: 基礎と臨床. BIO Clinica 21(8):736-742, 2006.
15. 堀江 稔. QT 延長・短縮症候群. 臨床と研究 83(4): 603-605, 2006.
16. 堀江 稔. 不整脈診断と治療: 最近のトピックス. 日本内科学会雑誌 95(3): 108-111, 2006.
17. 堀江 稔. 不整脈における遺伝子診断・診療. 循環器科 60(3):229-234, 2006.
18. 堀江 稔. 遺伝子異常が疑われるとき. Medical Practice 23(5): 823-824, 2006.
19. 堀江 稔. 遺伝性不整脈疾患—その診断と治療. Cefiro 3: 75-78, 2006.
20. 堀江 稔. 不整脈研究の最新動向. 医学のあゆみ 217(6): 599, 2006.
21. 堀江 稔. 先天性・後天性 QT 延長症候群 up-to-date. Mebio 23(8): 116-126, 2006.
22. 堀江 稔, 伊藤英樹. 遺伝性不整脈のゲノム解析. 医学のあゆみ 218(14): 1361-1365, 2006.
1. Zhang L, Benson W, Riera A, Paulo S, Ptacek L, Tristani-Firouzi M, Ackerman M, George A, Horie M, Lux R, Schwartz P, Vincent M. : KCNJ2-Specific ECG abnormalities in type 1 Andersen-Tawil syndrome: The enlarged U wave, prolonged QU interval and left ventricular arrhythmias. 79th American Heart Association Scientific Sessions, Chicago, 11.12-15, 2006
2. Horie M, Itoh H, Sakaguchi T, Yamamoto S, Nagaoka I, Zankov DP, Ashihara T, Ito M, Yoshida H, Tsuji K, Ohno S, Makiyama T, Akao M, Kita T :
3. Long QT syndrome: an ion channelopathy in cardiovascular medicine. The 11th La Jolla-Capri-Yamaguchi -Seoul Research Conference, Yamaguchi ,10.6-8 ,2006
4. Tsuji K, Akao M, Ishii T, Ohno S, Makiyama T, Doi T, Haruna Y, Yoshida H, Nakashima T, Kita T, Horie M: Mechanistic basis for the pathogenesis of long QT syndrome caused by a splicing mutation in KCNQ1 gene. 79th American Heart Association Scientific Sessions, Chicago, 11.12-15, 2006
5. Schwartz PJ, Spazzolini C, Crotti L, Vicentini A, Horie M, Moss AJ, Shimizu W, Schulze-Bahr E, Munster U, Munster, Wilde AA: The Common LQT1 Mutation KCNQ1/A341V Predicts High Risk of Cardiac Events in Different Ethnic Backgrounds. 79th American Heart Association Scientific Sessions, Chicago, 11.12-15, 2006

## 2. 学会発表

6. Horie M, Dimitar PZ, Zhang C, Yasuno S, Kuwahara K, Omatsu-Kanbe M, Isono T, Toyoda F, Ding WG, Makiyama T, Matsuura H: Angiotensin (AT1) receptor and atrial fibrillation. The 2nd Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium. Tokyo, 11.23-25, 2006
  7. Zankov D, Toyoda F, Tei I, Matsuura H, Horie M.: Regulation of IKr potassium current by  $\alpha 1$  receptor in HL-1 cells. The proceedings of the 83rd annual meeting, Maebashi, 3.28-30, 2006
  8. Ito H, Makiyama T, Horie M.: Genotype-phenotypes relations of SCN5A-positive Brugada syndrome. 第70回日本循環器学会, 名古屋, 3.24-26, 2006
  9. Ito H, Sakaguchi T, Yamamoto K, Nagaoka I, Yoshida H, Tsuji K, Ohno S, Makiyama T, Akao M, Horie M. High incidence of cardiac events for Long-QT syndrome with compound mutations. 第70回日本循環器学会, 名古屋, 3.24-26, 2006
  10. Ito H, Horie M, Ito M, Imoto K. A new pharmacological approach of Brugada syndrome: Lidocaine for the enhanced intermediate inactivation. 第70回日本循環器学会, 名古屋, 3.24-26, 2006
  11. Nagaoka I, Shimizu W, Itoh I, Yamamoto S, Sakaguchi T, Yoshida H, Ohno S, Akao M, Horie M. Clinical characteristics associated with mutation sites in LQT2 form of congenital Long-QT syndrome. 第70回日本循環器学会, 名古屋, 3.24-26, 2006
  12. 坂口知子, 伊藤英樹, 山本 聖, 長岡伊織, 岡 優子, 八尾武憲, 小澤友哉, 中澤優子, 芦原貴司, 杉本喜久, 伊藤 誠, 堀江 稔, 大野聖子, 牧山 武, 赤尾昌治, 吉田秀忠, 土谷 健: KCNH2 遺伝子変異(S641F)を認めた QT 延長症候群の臨床および電気生理学的特徴. 第21回日本不整脈学会学術大会 (JHRS)/第23回日本心電学会学術集会 (JSE), 東京, 7.7-9, 2006
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得  
特になし。
  2. 実用新案登録  
特になし。
  3. その他  
研究協力者  
滋賀医科大学  
長岡伊織、坂口知子、伊藤英樹、辻 啓子  
国立循環器病センター  
清水 渉、宮本恵宏、鎌倉史郎

## 低分子量 G タンパク質 Rad の不整脈発生との関連について

分担研究者 小川 聡 慶應義塾大学医学部呼吸循環器内科 教授

研究要旨 低分子量 Ras 関連 G 蛋白 RGK ファミリー(Rad, Gem, Rem)が L 型  $Ca^{2+}$  チャネル  $\beta$  サブユニットと結合し L 型  $Ca^{2+}$  電流( $I_{CaL}$ )を抑制することが知られている。なかでも Rad は心臓に多く発現しているが、その役割は不明である。本研究の目的は、内因性 Rad の心臓における電気生理学的役割を検討することである。ドミナントネガティブ(DN) 変異型 Rad をアデノウイルスベクターで心筋細胞に強発現することにより内因性 Rad と  $\beta$  サブユニットとの蛋白相互作用を抑制した。DN Rad を強発現した心筋細胞では、細胞膜の L 型  $Ca^{2+}$  チャネル  $\alpha$  サブユニット蛋白の発現量及びそれに伴う peak  $I_{CaL}$  の有意な増加が認められた。また、DN Rad を心臓特異的に発現したトランスジェニックマウス (TG) では、活動電位持続時間の延長に伴い心電図上 QT 間隔延長を認め、洞停止、房室ブロック及び心室性期外収縮などの不整脈が出現した。さらに、TG マウスにエピネフリンを投与すると野生型マウスには見られなかった心室頻拍が誘発された。これらの結果は、心筋細胞において内因性 Rad が  $I_{CaL}$  を生理的条件下で抑制し、活動電位持続時間や QT 間隔を短縮することにより不整脈発生を予防していることを示唆した。以上より、Rad は心筋 L 型  $Ca^{2+}$  チャネルの細胞膜への発現を調節し、心血管疾患の催不整脈作用に関与している可能性がある。

### A. 研究目的

Rad の心臓電気生理学的特性に対する効果を検討し、不整脈との関連を明らかにすること。

### B. 研究方法

1. モルモット単離心筋細胞にアデノウイルスベクターを用いてドミナントネガティブ(DN) Rad 遺伝子を導入し、パッチクランプ法を用いて L 型カルシウム電流を測定した。

2. DN Rad を心臓特異的に強発現したマウス(DN Rad TG マウス)を作製し、活動電位および心電図を記録した。

(倫理面への配慮)

慶應義塾大学医学部動物実験使用ガイドラインに基づき、実験を行った。

### C. 研究結果

1. DN Rad は、モルモット心筋細胞の L 型  $Ca^{2+}$  電流を有意に増加した。

2. DN Rad TG マウスの活動電位は、野生型マウスと比較し有意に延長していた。また、心電図上では QT 間隔の延長を認め、野生型マウスでは観察されなかった洞機能不全や心室性期外収縮を認めた。さらに、エピネフリン負荷により心室頻拍が誘発された。

### D. 考察

DN Rad を心臓特異的に強発現することにより内因性 Rad を抑制すると、L 型  $Ca^{2+}$  電流が増加し、QT 間隔延長や心室頻拍などの不整脈が惹起されたことから、心臓において内因性 Rad が L 型  $Ca^{2+}$  電流を生理的条件下で抑制し、細胞内  $Ca^{2+}$  過負荷を減弱し活動電位持続時間や QT 間隔を短縮することにより不整脈発生を予防していることが示唆された。

E. 結論

Rad は、心筋 L 型  $\text{Ca}^{2+}$  電流を調節することにより、不整脈発生において重要な働きをしている。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hoshiyama K, Hara M, Yasui K, Mitamura H, Ohsuzu F, Kodama I, Ogawa S: Altered Action Potential Dynamics in Electrically Remodeled Canine Atria: Evidence for Altered Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  Handling. Circ J 70: 1488-1496,2006

2. 学会発表

1. 矢田浩崇、村田光繁、金澤英明、湯浅慎介、三好俊一郎、福田恵一、小川聡：低分子量 G 蛋白質 Rad の心筋 L 型カルシウムチャネル調節機構について。第 21 回日本心電学会，東京，7 月 8 日，2006 年。

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

研究協力者

慶應義塾大学医学部中央臨床検査部

村田光繁



## カテコラミン誘発性多形性心室頻拍の遺伝子検索について

分担研究者 相澤 義房 新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器内科 教授

研究要旨 カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)は、運動や不安などのストレスによって致死的な心室不整脈が誘発され、その原因にリアノジン受容体(RyR2)の遺伝子異常が報告されている。ここでは臨床的にCPVTが疑われた4例を中心にRyR2の遺伝子検索を行った。RyR2の異常はCPVTが疑われた3家系の4例に確認された。RyR2の遺伝子異常は他の不整脈疾患(80例)や健常対照群(100名)では認められなかった。臨床的にCPVTが疑われた例では、高率にRyR2の変異が存在すると推定された。

### A. 研究目的

カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)は、運動や不安などのストレスによって誘発され、特徴的な2方向性心室頻拍を経て多形性心室頻拍、さら心室細動に移行して突然死する不整脈疾患である。CPVTの本態は、近年リアノジン受容体(RyR2)の遺伝子異常にあり、SRからのリークにより心筋のCa<sup>2+</sup>負荷をきたし、交感神経活動の亢進に伴いさらにCa<sup>2+</sup>負荷が加わり、致死的不整脈を発症すると考えられている。我々はRyR2の遺伝子異常の本邦第一例を報告しているが、CPVT4例で遺伝子検索を行った。

### B. 研究方法

CPVT4例で、末梢血を採血し、白血球を分離しDNAを分離した。まずPCR-SSCPにより変異の有無をスクリーニングした後、直接DNAの配列を決定した。他の不整脈疾患(80例)または健常人(100例)を対照とした。

検査に先立ち、全例で遺伝子検査についての同意を得た。

### C. 研究結果

3家系の4例からRyR2の3つの変異を確認で

きた。このうち2つはこれまでに報告のない新規の変異であった。

家系1。20歳の男性で、運動や精神的ストレス時の失神を契機に診断され、心室頻拍と心室細動も確認された。トレッドミル運動負荷で心室期外収縮や2方向性心室頻拍は再現性をもって誘発され、イソプロテレノール負荷でもこれらは誘発された。PCR-SSCPでexon47に異常バンドが認められ、DNA配列から7202のGからAへの塩基置換が確認された(R2401H)。

家系2：14歳の1卵生双生児の姉妹で、11歳時より運動直後に失神が出現した。諸検査で心疾患は否定されCPVTが疑われた。運動負荷で再現性をもってVTが誘発され、イソプロテレノール負荷でも同様な心室頻拍が誘発された。ICDが植え込まれ、β遮断薬と併用となった。遺伝子検索ではRyR2の変異、S2246Lが確認された。

家系3。53歳の男性で、33歳頃より失神が出現するようになった。本例は4世代4家系にわたり、突然死の既往があった。器質的心疾患は否定された。電気検査でVTは誘発されなかったが、運動負荷で機外収縮と多形性心室頻拍が誘発された。本例はR2359QとF4851Cのダブル変異例であった。

#### D. 考察

CPVT 例は全例、運動やイソプロテレノール負荷で失神や心室細動もみられた。幸い生前に CPVT 診断は可能であり、4 例中の 3 例で RyR2 の遺伝子変異が確認できた。この RyR2 の変異は FKBP の結合を阻害し、SR からの Ca のリークをきたし細胞の Ca 負荷をもたらす。運動やストレスは交感神経刺激時に Ca 負荷は増強し、異常自動能による不整脈を発生すると考えられている。確実な診断のために遺伝子の検索は必須である。

#### E. 結論

CPVT では遺伝子異常は比較的高率と考えられ、疑われる場合は遺伝子検索を行うことば望ましい。治療には運動制限や $\beta$ 遮断薬があるが、心室細動の既往例では ICD が適応となる。

#### F. 健康危険情報

CPVT では運動制限が重要で、さもないと致命的な不整脈を発生する危険がある。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Aizawa Y, Mitsuma W, Ikrar T, Komura S, Hanawa H, Miyajima S, Miyoshi F, Kobayashi Y, Chinushi M, Kimura A, Hiraoka M, Aizawa Y. Human cardiac ryanodine receptor mutations in ion channel disorders in Japan. *Int J Cardiol.* 2006;116:263-265.
2. Chinushi M, Izumi D, Furushima H, Watanabe H, Aizawa Y. Multiple premature beats triggered ventricular arrhythmias during pilsicainide infusion in a patient with inferior ST-segment elevation. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2006;29:1445-1448.
3. Chinushi M, Izumi D, Komura S, Ahara S, Satoh A, Furushima H, Washizuka T, Aizawa Y. Role of autonomic nervous activity in the

antiarrhythmic effects of magnesium sulfate in a canine model of polymorphic ventricular tachyarrhythmia associated with prolonged QT interval. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2006;48:121-127.

4. Chinushi M, Tagawa M, Nakamura Y, Aizawa Y. Shortening of the ventricular fibrillatory intervals after administration of verapamil in a patient with Brugada syndrome and vasospastic angina *J Electrocardiol.* 2006;39:331-335.
5. Tanabe Y, Hatada K, Naito N, Aizawa Y, Chinushi M, Nawa H, Aizawa Y. Over-expression of K<sub>v</sub>1.5 in rat cardiomyocytes extremely shortens the duration of the action potential and causes rapid excitation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;345:1116-1121.
6. Hatada K, Washizuka T, Horie M, Watanabe H, Yamashita F, Chinushi M, Aizawa Y. Tumor necrosis factor-alpha inhibits the cardiac delayed rectifier K current via the sphingomyelin pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;344:189-193
7. Aizawa Y, Komura S, Okada S, Chinushi M, Aizawa Y, Morita H, Ohe T. Distinct U wave changes in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT). *Int Heart J.* 2006;47:381-389
8. Watanabe H, Chinushi M, Osaki A, Okamura K, Izumi D, Komura S, Hosaka Y, Tanabe Y, Furushima H, Washizuka T, Aizawa Y. Elimination of late potentials by quinidine in a patient with Brugada syndrome. *J Electrocardiol.* 2006;39:63-66.
9. Aizawa Y, Ueda K, Komura S, Washizuka T, Chinushi M, Inagaki N, Matsumoto Y, Hayashi T, Takahashi M, Nakano N, Yasunami M,

Kimura A, Hiraoka M, Aizawa Y. A novel mutation in FKBP12.6 binding region of the human cardiac ryanodine receptor gene (R2401H) in a Japanese patient with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Int J Cardiol.* 2005;99:343-345.

10. Furushima H, Chinushi M, Hirono T, Sugiura H, Watanabe H, Komura S, Washizuka T, Aizawa Y. Relationship between dominant prolongation of the filtered QRS duration in the right precordial leads and clinical characteristics in Brugada syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2005;16:1311-1317.

## 2. 学会発表

1. Aizawa Y, Hiraoka M, Aizawa Y et al. Genetic and clinical findings in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. Gordon Research Conference on CARDIAC REGULATORY MECHANISMS, Colby-Sawyer College, NH, June 16-21, 2006.

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

研究協力者

相澤義泰：新潟大学医歯学総合病院 医員

小村 悟：新潟大学医歯学総合病院 医員

## Brugada 症候群の心室性不整脈に対する少量イソプロテレノールの効果

分担研究者 大江 透 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 循環器内科 教授

**研究要旨** Brugada 症候群において、しばしば認められるものとして arrhythmic storm（心室性不整脈の頻発）がある。イソプロテレノールが有効であるとする症例報告は散見されるが、その効果について多数例での検討はない。今回、イソプロテレノールの抗不整脈作用を連続症例で検討した。心室性頻脈を頻発する 7 名の患者に少量のイソプロテレノールを用いたところ心電図変化の改善とともに抗不整脈作用が認められ、投与中止後も多くの症例でその効果が持続した。このイソプロテレノールによる抗不整脈作用は上昇した ST 部分の低下と同時に現れたが、RR の短縮とは無関係に認められ、心室性不整脈が頻発する Brugada 症候群に対する治療として極めて有効な治療法と考えられた。

### A. 研究目的

心室性不整脈が頻発する Brugada 症候群患者に対する少量イソプロテレノールの効果を多数例で検討し、その有効性、心電図に及ぼす影響を検討すること。

### B. 研究方法

連続する 7 名の心室性不整脈が頻発する Brugada 症候群患者に、抗不整脈の治療目的で少量のイソプロテレノール（0.15 $\mu$ g/min 持続 1-3 日間）の投与を行い、心室性不整脈発現と心電図変化を検討した。

（倫理面への配慮）

有効性の報告をお話してインフォームドコンセントを得た。

### C. 研究結果

少量イソプロテレノール投与によって前胸部誘導に認められた著明な ST 上昇は投与後に速やかに低下し、その心電図変化の改善とともに頻発していた心室性不整脈は消失し、著明な抗不整脈作用が認められた。投与を継続している間は心室性不整脈の再発は認められず、さらにイソプロテレノール投与中止後も多くの症例（7例中6例）でその抗不整脈効果が持続し、arrhythmic stormを回避

できた。心室性不整脈が再発した 1 例では、キニジンの投与を開始し、その後不整脈の再発は認めなかった。また、ST 上昇の低下作用は RR 間隔の短縮とは無関係に得られた。

### D. 考察

RR 間隔に影響を及ぼさない程度の臨床的に極めて少量のイソプロテレノールでも著明な心室性不整脈の再発予防が認められ、arrhythmic storm を合併した Brugada 症候群に対し極めて有効な治療と考えられ、臨床的に意義が深い。

### E. 結論

心室性不整脈を合併する重症 Brugada 症候群に対する少量イソプロテレノールは、急性期治療として極めて有効な治療法である。

### F. 健康危険情報

安全に使用が可能であった。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Watanabe A, Kusano Fukushima K, Morita H, Miura D, Sumida W, Hiramatsu S, Banba K, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Sakuragi S,

Ohe T: Low-dose isoproterenol for repetitive ventricular arrhythmia in patients with Brugada syndrome. *Eur Heart J* 27: 1579-83, 2006

## 2. 学会発表

1. Mutsuko Sangawa, et al: Decreased sympathetic nerve activity increases the risk of ventricular fibrillation in Brugada syndrome. American Heart Association 2006, Chicago, Nov 12-15, 2006
2. Mutsuko Sangawa, et al: Blunted response of vagal- and bradycardia-induced QT prolongation induces ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome. American Heart Association 2006, Chicago, Nov 12-15, 2006
3. Atsuyuki Watanabe, et al: Diagnostic value of low dose quinidine in patients with Brugada syndrome. American Heart Association 2006, Chicago, Nov 12-15, 2006
4. Takeshi Tada, et al: New predictors of arrhythmic event in Brugada syndrome: Manifest T-wave alternance after sodium channel blocker administration. American Heart Association 2006, Chicago, Nov 12-15, 2006
5. Kimikazu Banba, et al: Pure sodium channel blocker provokes significant depolarization abnormalities in patients with Brugada syndrome with SCN5A mutation. *Heart & Rhythm* 2006, Boston, May 19, 2006
6. Kimikazu Banba, et al: Pilsicainide provokes significant depolarization abnormalities in patients with Brugada syndrome with SCN5A mutation. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*

7. Kimikazu Banba, et al: SCN5A mutation exacerbates atrial vulnerability in patients with Brugada syndrome. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*
8. Kimikazu Banba, et al: Response to depolarization and repolarization parameters to sodium channel blocker with or without SCN5A mutation in Brugada syndrome. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*
9. Nobuhiro Nishii, et al: Abnormal restitution property of action potential duration in Brugada syndrome and idiopathic ventricular fibrillation. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*
10. Satoshi Nagase, et al: Usefulness of surface electrogram recording with high pass filter setting in Brugada syndrome. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*
11. Yoshinori Tani, et al: A novel mechanism of Andersen's syndrome: T75M-KCNJ2 mutation alters inward rectification by changing Mg sensitivity. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*
12. Mutsuko Sangawa, et al: Decreased prolongation of QT interval during bradycardia as a risk marker of occurrence of VF at Brugada syndrome. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*
13. Atsuyuki Watanabe, et al: Changes of late potentials after administration of sodium channel blocker in Brugada syndrome. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*
14. Kimikazu Banba, et al: Effect of sodium channel blocker to Brugada syndrome patients without SCN5A mutation. *Jpn Circ Society, Nagoya, March 24-26, 2006*
15. 伴場主一、他 : Brugada 症候群における

SCN5A 遺伝子変異の臨床的意義。日本心電図学会、東京、7/7-7/9, 2006

16. 永瀬聡、他：Andersen 症候群の母子における各種薬剤負荷による心電図学的検討。日本心電図学会、東京、7/7-7/9, 2006
17. 三浦大志、他：SCN5A 遺伝子のスプライシングドナーサイトに新規の mutation を認めた Brugada 症候群の 1 例。日本心電図学会、東京、7/7-7/9, 2006
18. 平松茂樹、他：Brugada 症候群患者における体表面心電図と解剖学的位置関係。日本心電図学会、東京、7/7-7/9, 2006
19. 村上正人、他：Pilsicainide にて一過性に Brugada 型心電図を認めた原因不明の失神歴を有する若年女性 2 例の検討。日本心電図学会、東京、7/7-7/9, 2006
20. 渡辺敦之、他：頻回心室細動を呈した Brugada 症候群に対して塩酸ペプリジルが奏功した 1 例—Mini Body Surface Mapping 形式 Holter 心電図による検討。日本心電図学会、東京、7/7-7/9, 2006
21. 寒川睦子、他：心室細動の既往を有する

Brugada 症候群の心室再分極概日リズムの検討—ホルター心電図を用いた検討—。日本心電図学会、東京、7/7-7/9, 2006

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

研究協力者

草野研吾 (岡山大学循環器内科)  
桜木 悟 (岡山大学循環器内科)  
中村一文 (岡山大学循環器内科)  
永瀬 聡 (岡山大学循環器内科)  
伴場圭一 (岡山大学循環器内科)  
多田 毅 (岡山大学循環器内科)  
三浦大志 (岡山大学循環器内科)  
渡辺敦之 (岡山大学循環器内科)  
三浦 綾 (岡山大学循環器内科)  
宮地晃平 (岡山大学循環器内科)  
村上正人 (岡山大学循環器内科)  
西井伸洋 (岡山大学循環器内科)  
平松茂樹 (岡山大学循環器内科)  
谷 義則 (岡山大学循環器内科)  
寒川睦子 (香川県済生会病院)

## QT 延長症候群、Brugada 症候群の遺伝子解析、機能解析

分担研究者 古川哲史 東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理分野 教授

研究要旨 QT 延長症候群 (LQT) における不整脈発作は先天性・後天性 LQT とも女性に多く、性ホルモンが LQT の遺伝子異常の修飾因子となることが予想される。そこで、プロゲステロンとエストロゲンの心筋再分極過程に与える影響を検討した。プロゲステロン・高濃度エストロゲンは非ゲノム経路を介してコントロール状態では緩徐活性型遅延整流カリウム電流 ( $I_{Ks}$ ) を活性化し、cAMP 刺激状態では L 型カルシウム電流 ( $I_{Ca,L}$ ) を抑制した。これに加えて低濃度エストロゲンは迅速活性型遅延整流カリウム電流 ( $I_{Kr}$ ) を直接作用として抑制した。これらの基礎データをベースにコンピューター心臓活動電位モデルを作成し、性周期に伴う心筋再分極時間変動を再現することができ、このモデルからプロゲステロンが先天性 LQT の交感神経刺激による不整脈発作および薬物誘発性不整脈発作を予防することが予測された。

### A. 研究目的

QT 延長症候群は先天性、後天性とも女性に多く、性ホルモンが QT 延長症候群の遺伝子異常の修飾因子となることが予想される。そこで性ホルモンの心筋再分極過程に及ぼす影響を検討することを目的とする。我々は以前男性ホルモンの testosterone による心筋再分極過程に及ぼす影響に関して報告しているので (Bai et al. Circulation 2005)、今回は progesterone と estrogen の作用を検討することを目的とした。

### B. 研究方法

モルモット単離心臓をランゲンドルフ還流し、心表面心電図から QT 間隔を測定し、吸引電極を用いて单相活動電位 MAP を記録した。

モルモット単離心筋細胞から、パッチクランプ法穿孔パッチモード・全細胞パッチモードを用いて、活動電位・L 型カルシウム電流 ( $I_{Ca,L}$ )・緩徐活性型遅延整流カリウム電流 ( $I_{Ks}$ )・迅速活性型遅延整流カリウム電流 ( $I_{Kr}$ ) を記録した。

HERG チャネルを一過性発現させた HEK 細胞から HERG 電流を記録した。

(倫理面への配慮)

主に実験動物を用いた検討であり、倫理面への配慮は必要としなかった。

### C. 研究結果

#### 1) Progesterone の作用

Progesterone は急性効果でランゲンドルフ還流において QT 間隔および MAP 幅を短縮した。同様に単離心室筋細胞において、活動電位幅 APD を急性効果で短縮した。これは、コントロール状態では  $I_{Ks}$  電流を活性化し、cAMP 刺激は  $I_{Ks}$ ・ $I_{Ca,L}$  とも 2 倍程度に増大するが、progesterone は cAMP により活性化された  $I_{Ca,L}$  を元のレベル近くまで抑制することによって、これらの作用は、性ホルモン受容体 → c-Src → PI3-kinase → Akt → eNOS の非ゲノム経路を介して産生された NO によるものであり、 $I_{Ks}$  は NO によりニトロ化されることにより活性化され、 $I_{Ca,L}$  は cAMP 依存性リン酸化により活性化されたものが NO による soluble guanylate cyclase 活性化作用により拮抗されるため抑制された。

#### 2) $17\beta$ -Estradiol (E2) の作用

E2 は最も生理活性の強い estrogen であるが、E2 の比較的高濃度 (~100 nM) では testosterone ・

progesterone同様に、コントロール状態では $I_{Ks}$ を活性化し、cAMP刺激時には $I_{Ca,L}$ を抑制した。これに加えて $\sim 1$  nM程度の低濃度E2は約5%程度APDを延長した。これは $I_{Kr}$ を抑制することにより、estrogen receptorを発現しないHEK細胞を用いたHERG発現系でも同様の効果を認めたことから、これは受容体非依存的な経路を介するものと考えられた。

### 3) コンピューターシミュレーションモデル

これらの基礎研究の結果を臨床応用することを目指して、コンピューターシミュレーションモデル構築を、Cornell大学Clancy博士との共同研究で行った。これまで性差を考慮した心臓電気活動モデルが英国Oxford大学Noble博士らのグループにより構築され、米国FDAにより薬物誘発性LQTに対する薬物安全性試験に限って臨床応用が認可されている。ただし、Noble博士らのモデルは性周期や性年齢などの因子を含まない静的なモデルであるので、我々は性ホルモン濃度による変化を加えることによる動的なモデル構築を目指した。その結果、性周期におけるQT間隔変動の臨床データを比較的正確に再現することが可能となった。このモデルを用いて不整脈発作に対する作用の予測を試みると、先天性LQT患者における交感神経刺激による不整脈発作、およびQT延長薬による不整脈発作に対してprogesteroneが抑制的に働くことが予測された。

### D. 考察

性ホルモンの非ゲノム経路による心筋イオンチャネル制御は、遺伝性LQT・薬物誘発性LQTの重要な修飾因子となりうる。今回の結果は、QT間隔が性周期において卵胞期で長く黄体期で短縮すること、III群抗不整脈薬ibutilideによるQT延長が卵胞期・月経中で長く黄体期で短くなること、妊娠・出産を経験した先天性LQT患者において不整脈発作が妊娠中はそれほど増えないにも関わらず出産後顕著に増えること、更年期障害や閉経後急速に進行する骨粗鬆症・動脈硬化に対して行うホルモン補充療法において、estradiol単独療法ではQT間隔が延長したのに対して、estradiol-progestin併用療法では逆に

短縮したこと、などの臨床データと良く一致した結果が得られた。ただし、今回は非ゲノム作用の検討に留まっており、ゲノム作用との包括的な作用を理解することがさらに必要になるものと考えられる。

得られた基礎データを臨床に活用するために、心臓シミュレーションモデルを構築したが、同モデルにはprogesteroneの作用のみ含まれている。このモデルで性周期に伴うAPD変動は良く再現することができたが、E2の作用を含んだモデルを構築することにより、さらに正確なモデルとすることができ、臨床応用の実現に向けてさらに前進することができると思われる。

### E. 結論

性ホルモンは非ゲノム作用によりLQT患者の不整脈発作のリスクを修飾し、これを考慮した精巧な治療方針が必要と考えられる。

### F. 健康危険情報

特になし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. [Furukawa T](#), Bai CX, Kaihara A, Ozaki E, Kawano T, Nakaya Y, Awais M, Sato M, Umezawa Y, Kurokawa J. Ginsenoside Re, a main phytosterol of Panax ginseng, activates cardiac potassium channels via a non-genomic pathway of sex hormones. *Mol. Pharmacol.* 70:1916-1924, 2006.
2. [Furukawa T](#), Kurokawa J. Potassium channel remodeling in cardiac hypertrophy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 41:753-761, 2006.
3. [古川哲史](#)、突然死の性差 (前編) 研究の現状、性差と医療 3:61-64, 2006.
4. [古川哲史](#)、突然死の性差 (後編) 治療、性差と医療 3:99-101, 2006.

#### 2. 学会発表



1. Furukawa T, Kurokawa J, Bai CX: Testosterone regulates cardiac potassium channels via a non-genomic pathway. Keystone symposium "Cardiac arrhythmias: linking structural biology to gene defects" Tahoe City, California, January 29 - February 3, 2006.
2. Kurokawa J, Bai CX, Furukawa T. Testosterone shortens ventricular action potential duration via a non-genomic pathway. 50th Annual Meeting of Biophysical Society Salt Lake City, Utah, February 18-22, 2006.
3. Kurokawa J, Bai CX, Furukawa T: Impact of a non-genomic pathway on QT intervals shortening by testosterone: Mechanism of sex-related difference in fatal arrhythmias. The 7th International Conference on Systems Biology, Yokohama, October, 2006.
4. Kurokawa J, Nakamura H, Bai CX, Isobe M, Furukawa T: Mechanisms of Gender-Related Differences in Susceptibility to Torsades de pointes: Reverse Effects of Estrogen and Progesterone on Cardiac Repolarization. American Heart Association 2006 Scientific Sessions, Chicago, IL. November 12-15, 2006.
5. Kaihara A, Furukawa T, Umezawa Y: Genetically Encoded Bioluminescent Indicators via Split Luciferase Complementation for Spatio-Temporal Analysis of Cellular Signaling, 5th Annual meeting of Society for Molecular Imaging, Honolulu, Hawaii, September, 2006.
6. Tani Y, Miura D, Nakamura K, Kurokawa J, Ohe T, Furukawa T: Is enhanced inward rectification of KCNJ2 in Andersen-Tawil syndrome arrhythmogenic phenotype? The 23rd Annual Meeting of ISHR Japanese Section, Chiba, November, 2006.
7. 黒川洵子、白長喜、角坂祥子、玉川正次、中谷晴昭、古川哲史: 「エストロゲンによるQT延長のメカニズム」第79回日本薬理学会年会、横浜 (2006年3月)
8. 白長喜、黒川洵子、古川哲史: 「性ホルモン受容体の作用特異的リガンドとして薬用人参の主成分ステロールサポニン (ギンセノシド)」第79回日本薬理学会年会、横浜 (2006年3月)
9. 浅田健、黒川洵子、古川哲史: 「NOによる遅延整流性カリウムチャネルへのニトロ化」第79回日本薬理学会年会、横浜 (2006年3月)
10. 中村浩章、白長喜、黒川洵子、古川哲史、磯部光章: 「Effect of progesterone on slow activating delayed rectifier K<sup>+</sup> currents」第70回日本循環器学会総会・学術集会、名古屋 (2006年3月)
11. 谷義則、三浦大志、黒川洵子、中村一文、古川哲史、大江透: 「A Novel Mechanism of Andersen's Syndrome: T75M-KCNJ2 Mutation Alters Inward Rectification by Changing Mg<sup>2+</sup> Sensitivity」第70回日本循環器学会総会・学術集会、名古屋 (2006年3月)
12. 呉龍梅、上田和雄、黒川洵子、安波道郎、木村彰方、平岡昌和、古川哲史: 「Protein Tyrosine Kinase, c-Src, Regulates Gating Properties and Membrane Trafficking of the HERG Channel via Different Mechanisms」第70回日本循環器学会総会・学術集会、名古屋 (2006年3月)
13. 黒川洵子、白長喜、古川哲史: 「非ゲノム経路によるNO産生を介したテストステロンによる心電図QT間隔短縮: 致死性不整脈における性差のメカニズム」第6回日本NO学会学術集会、(2006年5月) 古川哲史、浅田健、

- 黒川洵子:「植物エストロゲン, ジンセノシド, の心血管作用は一酸化窒素を介する」第6回日本NO学会学術集会(2006年5月) 黒川洵子, 中村浩章, 古川哲史: 心筋緩徐遅延整流K<sup>+</sup>チャネルに対するプロゲステロンの作用. 第118回日本薬理学会関東部会, 千葉(2006年6月)
16. 黒川洵子, 中村浩章, 大石咲子, 白長喜, 古川哲史: 心筋イオンチャネルに対するプロゲステロンの急性作用. 第16回日本循環薬理学会, 東京(2006年12月)
17. 黒川洵子, 古川哲史: 「心筋 I<sub>Ks</sub> チャネルリン酸化による機能修飾に対する KCNA ファミリーの影響」平成17年度生理学研究所研究会「心臓血管系におけるイオンチャネル学の新たな展開」, 岡崎(2006年1月24日~1月25日)
18. 古川哲史: 「不整脈の性差の分子メカニズム」第5回千葉不整脈カンファレンス, 千葉(2006年1月28日)
19. 古川哲史: 「不整脈の性差の分子メカニズム」第18回北海道不整脈談話会, 北海道(2006年2月11日)
20. 古川哲史: 「循環免疫系イオンチャネル創薬の可能性と問題点」第2回ケミカルバイオロジーフロンティアシンポジウム, 東京(平成18年2月17日)
21. 古川哲史: 「不整脈領域における性差: 分子メカニズムから臨床応用へのアプローチ」14回 William Ganz Symposium, 秋田(2006年4月22日)
22. 古川哲史: 「ホルモン・心拍数による病態発現修飾の機序」第41回理論心電図研究会, 東京(2006年5月13日)
23. 古川哲史: 「ハーブ・自然食品とイオンチャネル」第21回日本不整脈学会 第23回日本心電学会 合同学術集会教育講演, 東京(2006年度7月8日)
24. 古川哲史: 「心肥大・心不全に伴う不整脈の分子メカニズムから学んだ新たな治療戦略」佐賀不整脈研究会, 佐賀(2006年7月21日)
25. 古川哲史: 「不整脈の性差の分子メカニズム」第17回九州不整脈研究会, 福岡(2006年7月22日)
26. 古川哲史: 「不整脈の成因と治療戦略」第21回犬山不整脈カンファレンス, 名古屋(2006年8月26日~27日)
27. 古川哲史: 「オーダーメイド医療(不整脈)の現状と展望」第12回武蔵野循環器懇話会, 東京(2006年11月29日)
28. 古川哲史, 谷 義則, 三浦大志, 黒川洵子, 中村一文, 大江 透: 「内向き整流性の変調による催不整脈作用」平成18年度生理学研究所研究会, 愛知, 岡崎(2006年12月19日~20日)
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得  
特になし。
  2. 実用新案登録  
特になし。
  3. その他  
研究協力者  
黒川洵子(東京医科歯科大学難治疾患研究助教授)  
中谷晴昭(千葉大学大学院医学系研究院薬理学講座)  
Colleen Clancy(Cornell 大学)

## 先天性洞不全症候群の遺伝子基盤

分担研究者 蒔田 直昌 北海道大学院医学研究科循環器病態内科学 講師

研究要旨 先天性洞不全症候群 2 家系(K1, K2)の遺伝子解析を行った。K1 は 2 つの *SCN5A* 複合変異(801-803S と M1880V)によって劣性遺伝形式で発症し、K2 は *SCN5A* 変異 R219H と connexin 40 のホモ多型による二遺伝子異常で発症したと推測された。先天性洞不全症候群は *SCN5A* 変異の関与する稀有な遺伝子疾患であるが、*SCN5A* 変異に加えて、対立遺伝子の *SCN5A* 異常（劣性遺伝）や心房伝導に関与する別な遺伝子（多遺伝子遺伝）がかかわって発症すると考えられる。

### A. 研究目的

洞不全症候群(SSS)の多くの症例は、加齢や基礎心疾患に伴って発生しペースメーカー植え込みの適応となることが多いが、一部の症例は小児から発症する先天性 SSS である。しかし、先天性 SSS には孤発例が多く、その原因遺伝子や分子病態は十分に解明されていない。

### B. 研究方法

先天性 SSS 孤発症例の 2 家系(K1, K2)について、心筋イオンチャンネル Na チャンネル(*SCN5A*)、ペースメーカーチャンネル(*HCN4*)、および心房に特異的に発現するギャップジャンクションであるコネクシン 40 (*CX40*)の遺伝子解析を行った。また同定した *SCN5A* 変異についてはその機能異常をパッチクランプ法で解析した。

(倫理面への配慮)

先天性 SSS 患者の遺伝子診断は、北海道大学倫理委員会の承認を得て行った。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

SSS家系K1の発端者男性は孤発例で、5才の時にペースメーカー植え込みを受けている。遺伝子解析によって、父方から*SCN5A*インフレーム欠失挿入変異(801-803S : 801-803MSNがSに代わる)と、母方からM1880Vという*SCN5A*のミスセンス変異を受け継いだ複合ヘテロキャリアであることが判明した。パッチクランプ法で解析したそれぞれの

変異の機能異常は、単独では比較的軽微であるが、2つの変異を同時に受け継いだ発端者だけに相加的効果によってSSSを発症したと考えられる。SSS家系K2の発端者(18歳男性)も孤発例で、*SCN5A*のミスセンス変異R219Hが同定された。パッチクランプ法で解析したR219Hチャンネルは無機能であった。同じR219H変異を有する母親は正常心電図であったが、さらに*Cx40*の遺伝子解析を行うと、発端者だけが、*CX40*の発現を低下させるプロモータ領域のSNP(-44AA, +71GG)をホモで遺伝していることが判明した。

### D. 考察

先天性 SSS は単一の *SCN5A* の変異で発症するとは限らず、対立遺伝子の *SCN5A* 異常（劣性遺伝）や、心房の伝導に関与する別な遺伝子の関与（多遺伝子遺伝）に関与する心筋 Na チャンネル病であると考えられる。

### E. 結論

先天性 SSS の病態には、イオンチャンネルの複合遺伝子変異が関与している。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Makita N, Sumitomo N, Watanabe I, Tsutsui H.

Novel *SCN5A* mutation (Q55X) associated with age-dependent expression of Brugada syndrome presenting as neurally mediated syncope. *Heart Rhythm* 2007 (in press)

2. 蒔田直昌, 佐々木孝治, 筒井裕之. 心臓突然死の分子遺伝学基盤 心電図 26 : 118-124, 2006
3. 蒔田直昌, 佐々木孝治, 筒井裕之. 不整脈の遺伝子診断 *Heart View* 10, 556-559, 2006
4. 蒔田直昌, 筒井裕之. 心筋 Na チャネル病医学の歩み 217, 653-656, 2006
5. 蒔田直昌, 渡辺一郎, 住友直方, 野上昭彦, 清水 渉, 川村祐一郎, 堀江 稔, 筒井裕之. Brugada 症候群とその類縁疾患における遺伝子異常 心電図 26 : S4 5-9, 2006
6. 蒔田直昌. 薬物による QT 延長の遺伝的要因を含めた患者要因 *臨床薬理* 37, 215-219, 2006
7. 蒔田直昌, 筒井裕之. 臨床遺伝子学'06 循環器系疾患の遺伝子学 最新医学 20, 1883-1894, 2006
8. 蒔田直昌, 筒井裕之, 住友直方, 渡辺一郎. 失神に関する遺伝子異常の最近の話題 *Heart View* 10, 72-76, 2006
9. 佐々木孝治・蒔田直昌, 筒井裕之. Brugada 症候群の遺伝子変異と多型 *Heart View* 11, 49-53, 2007
10. 蒔田直昌, 佐々木孝治, 筒井裕之. Brugada 症候群の病因と発生機序 *心臓* 39, 4-9, 2007

## 2. 学会発表

1. Makita N et al. 79<sup>th</sup> American Heart Association, 2006 年 11 月, Chicago USA

2. Makita N et al. The 9th Cardiovascular Genomics and Atherosclerosis Symposium (シンポジウム) 2006 年 9 月 Seoul, Korea

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

### 研究協力者

山本浩一 (長崎大学小児科)  
渡辺一郎 (日本大学循環器内科)  
住友直方 (日本大学小児科)