

厚生労働科学研究費補助金  
創薬基盤推進研究事業

致死性遺伝性不整脈疾患の遺伝子診断と  
臨床応用に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

平成20(2008)年3月

主任研究者 清水 渉  
(国立循環器病センター)

# 目 次

## I. 総括研究報告

致死性遺伝性不整脈疾患の遺伝子診断と臨床応用に関する研究

国立循環器病センター心臓血管内科 医長

清水 渉・・・ 1

## II. 分担研究報告

1. 遺伝性QT延長症候群の心イベント初発年齢と発症誘因の関係について

滋賀医科大学医学部 呼吸循環器内科学講座 教授

堀江 稔・・・ 9

2. 低分子量Gタンパク質Radによる不整脈発生のメカニズムの解明

慶應義塾大学医学部 呼吸循環器内科 教授

小川 聡・・・ 13

3. 先天性QT延長症候群の遺伝子変異例におけるチャネル機能の解析

新潟大学大学院医歯学総合研究科 循環器内科 教授

相澤 義房・・・ 15

4. 抗KCNH2 (HERG)抗体による自己免疫性QT延長症候群の病態の解明

- 後天性QT延長症候群の新しい発症機序の検討-

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 循環器内科 教授

大江 透・・・ 19

5. 後天性QT延長症候群における新規原因遺伝子の探索と機能解析

: KCR1 E33Dの役割

金沢大学大学院医学研究科 循環器内科 教授

山岸 正和・・・21

6. LQT3とBrugada症候群のオーバーラップ規定要因に関する

多施設国際共同研究

北海道大学大学院医学研究科 循環器病態内科学 講師

蒔田 直昌・・・25

7. QT延長症候群、Brugada 症候群の遺伝子解析

独立行政法人理化学研究所 遺伝子多型研究センター

グループディレクター 田中 敏博・・・27

8. 家族性不整脈疾患（特に心臓Naチャンネル病）の遺伝子解析・病態解明

京都大学大学院医学研究科 循環器内科 助教

赤尾 昌治・・・29

9. QT延長症候群、Brugada症候群の遺伝子解析に関する研究

国立循環器病センター 臨床研究開発部 医長

宮本 恵宏・・・33

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 35

IV. 研究成果の刊行物・別刷り・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 43

# I . 総括研究報告

## 致死性遺伝性不整脈疾患の遺伝子診断と臨床応用に関する研究

主任研究者 清水 渉 国立循環器病センター心臓血管内科 医長

研究要旨 主任、分担研究施設において、致死性遺伝性不整脈疾患である先天性QT延長症候群(LQTS)とBrugada症候群の遺伝子診断を施行し、先天性LQTSでは541例(LQT1型243例、LQT2型217例、LQT3型50例、LQT5型2例、LQT7型17例、その他12例)、Brugada症候群では246例(SCN5A陽性66例、SCN5A陰性180例)の多施設登録と遺伝情報と臨床情報のデータベース化を行った。今後さらに遺伝子診断と多施設登録を継続するとともに、遺伝子型、遺伝子変異、多型などの遺伝情報と、表現型である臨床病態や治療に対する反応性の違いなどとの関連を詳細に検討し、日本人独自の遺伝子型、遺伝子変異、あるいは多型特異的な患者の管理と治療法の選択と開発、すなわちテーラーメイド医療の実現を目指す予定である。

### 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  
小川 聡 慶應義塾大学医学部  
呼吸循環器内科 教授  
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  
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  
山岸正和 金沢大学大学院医学系研究科  
循環器内科 教授  
蒔田直昌 北海道大学大学院医学研究科  
循環器病態内科学 講師  
田中敏博 理化学研究所 遺伝子多型研究センター  
グループディレクター  
赤尾昌治 京都大学大学院医学研究科  
循環器内科 助教  
宮本恵宏 国立循環器病センター  
臨床研究開発部 医長

(LQTS)、中高年男性の夜間突然死の原因となるBrugada症候群(特発性心室細動)、さらに、抗不整脈薬などの薬剤使用時にQT延長とTorsade de Pointes(TdP)を発症する薬剤誘起性LQTS他の二次性LQTSなどなどが含まれる。これらは、従来健康で社会に貢献する世代を突然襲う疾患であり、それにより失われる文化経済的損害は多大なものであるため、これを未然に予防、治療するストラテジーを構築することは重要である。

遺伝性不整脈疾患の病因は、心筋の活動電位を形成するイオンチャネル、膜蛋白、受容体などをコードする遺伝子上の変異による機能障害であり、先天性LQTSでは、10個の遺伝子上の変異(遺伝子型)が報告されている。また、Brugada症候群では、Na<sup>+</sup>チャネル遺伝子SCN5Aを含め4つの遺伝子型が報告されている。さらにこれらの原因遺伝子上には、多種、多様の遺伝子変異や多型(SNP = Single Nucleotide Polymorphism)が報告されている。

これらの遺伝性不整脈患者において、遺伝子型、遺伝子変異、多型別の臨床病態の違いを把握し、さらに遺伝子型、遺伝子変異、多型に基づく治療法を選択、開発することは、将来のテーラーメイド医療化の先駆けとなり、これらの疾患によって引き起こされる心臓突然死を未然に予防、治療す

### A. 研究目的

遺伝性不整脈疾患は、心臓突然死の原因となりうる致死性不整脈を発症し、比較的若年者で失神、突然死の原因となる先天性QT延長症候群

る上で大変重要な課題である。

本研究の第一の目的は、先天性 LQTS、Brugada 症候群などの致死性遺伝性不整脈疾患について、遺伝子スクリーニングを施行し、これを多施設登録してデータベース化し、遺伝子型、遺伝子変異、多型などの遺伝情報と、表現型である臨床病態や治療に対する反応性の違いなどとの関連を系統立てて解析し、遺伝子型、遺伝子変異、あるいは多型特異的な患者の管理と治療法を選択、開発、すなわちテーラーメイド医療の実現を目指すことである。

第二の目的は、先天性 LQTS、Brugada 症候群で、同定された遺伝子変異、多型の電気生理学的機能解析を施行し、分子生物学的および電気生理学的な病態解明を行うことである。

第三の目的は、先天性 LQTS、Brugada 症候群で、既報の原因遺伝子に変異が同定されていない症例について、新たな原因遺伝子（遺伝子型）を同定することである。

## B. 研究方法

平成 19 年度（2 年目）も平成 18 年度に引き続き、主任、分担研究施設において、先天性 LQTS、Brugada 症候群、および二次性 LQTS 症例で、遺伝子スクリーニングによる遺伝子型、遺伝子変異、多型の同定を行った。全体研究として、各研究施設および研究協力施設において先天性 LQTS と Brugada 症候群症例の遺伝情報と臨床情報の多施設登録、およびデータベース化を施行した。

### 1. 遺伝子診断による遺伝子型、遺伝子変異、多型の同定

インフォームドコンセントの得られた先天性 LQTS、Brugada 症候群、および二次性 LQTS 症例から末梢血 20cc を採血、リンパ球ゲノム DNA を抽出し、5 つの K<sup>+</sup>チャンネル (*KCNQ1*, *KCNH2*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNE3*, *KCNJ2*)、Na<sup>+</sup>チャンネル (*SCN5A*)、リアノジン受容体 (*RyR2*) 遺伝子などを検索した。それぞれの遺伝子のエクソンをゲノム DNA から PCR で増幅し、HPLC (High Performance Liquid Chromatography) を応用した WAVE® 核酸フラグメント解析システム (Transgenomic 社) で遺伝子変異と SNP をスクリ

ーニングした。異常パターンを認めたサンプルについては、シーケンサー (ABI3700) で塩基配列異常を同定した。SNP、変異のハプロタイプは、TaqMan® PCR 法によって決定した。

### 2. 先天性 LQTS と Brugada 症候群症例の遺伝情報と臨床情報の多施設登録

主任、分担研究施設と研究協力施設 (国立病院機構鹿児島医療センター)において、先天性 LQTS と Brugada 症候群症例の遺伝情報と臨床情報の多施設登録とデータベース化を施行した。データベースの情報をもとに、先天性 LQTS では、遺伝子型、遺伝子変異、多型などの遺伝情報と、表現型である臨床病態や治療に対する反応性の違いなどとの関連を詳細に検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では遺伝子診断の確定した患者を対象とするため、個人の人権の擁護に充分留意した。遺伝子解析は科学技術会議生命倫理委員会「ヒトゲノムに関する基本原則について」と厚生科学審議「遺伝子解析に付随する倫理問題に対応するための指針」に準じて実施した。先天性 LQTS、Brugada 症候群、薬剤誘起性などの二次性 LQTS の遺伝子解析については、今回の研究課題で申請する各施設における倫理委員会において承認を得た。

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わからない状態で研究を進めた。遺伝情報と臨床情報の関連についてのデータベース作成においては、個人が特定できない状態で行った。

また、患者に遺伝子変異が確認された場合には、患者の同胞についても遺伝子検索をする必要があることがある。その場合も十分な説明と同意を得、必要な場合には遺伝子カウンセリングを行った。

## C. 研究結果

### 1. 遺伝子型、遺伝子変異、多型の同定と臨床的、電気生理学的、薬理学的特徴の検討

分担研究として、主任、分担研究者は、先天性LQTS (論文発表 11, 16, 17, 19, 20, *Hum Mutat* 2007;28:208, *J Mol Cell Cardiol.* 2007;43:187-96, *J Mol Cell Cardiol* 2007;42:662-9, 他)、Brugada症候群 (論文発表 14, *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1154-61, *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1169-75)、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (*Circ J* 2007;71:1606-9, *Int J Cardiol* 2007;116:263-5, 他)、催不整脈性右室心筋症 (*Circ J* 2006;70:933-5)、QT短縮症候群 (*Circ J* 2006;70:502-8)の各症例で、それぞれ既報の原因遺伝子上に新規の遺伝子変異を同定した。さらに、同定された変異についてその臨床的特徴や電気生理学的、薬理学的特徴を報告した。

### 2. 多施設登録およびデータベース化と遺伝情報と臨床病態の関連の検討

全体研究として、平成19年度(2年目)は、平成18年度に引き続き、主任、分担研究施設、および研究協力施設(国立病院機構鹿児島医療センター)において、先天性LQTSとBrugada症候群症例の遺伝子診断、および遺伝情報と臨床情報の多施設登録を継続した。

平成20年2月現在、先天性LQTSでは541例(LQT1型243例、LQT2型217例、LQT3型50例、LQT5型2例、LQT7型17例、その他12例)の登録およびデータベース入力を完了し、Brugada症候群では246例(*SCN5A*陽性66例、*SCN5A*陰性180例)を登録し、現在データベースに入力中である。これらのデータベースをもとに、主任研究者は、日本人のLQT2型の遺伝子変異部位別の臨床重症度の差異(論文発表 19)や、国際多施設登録によるLQT1型の遺伝子変異部位別の重症度の差異(論文発表 11, 15)を報告した。また、Brugada症候群患者では、原因遺伝子である*SCN5A*上の転写領域に日本人特有の遺伝子多型(ハプロタイプB)を同定し、本症候群が日本を含めたアジア地域に頻度が多いことに関する報告をした(*Circulation* 113:338-44,2006)。また、Brugada症候群患者では、*SCN5A*変異陽性例では*SCN5A*変異陰性例に比べ心電図上の脱分極指標が延長し、さらに経年的に

その延長度も大きく、Brugada症候群の病態に関与することを報告した(論文発表 14)。

## D. 考 察

先天性LQTSでは、遺伝子診断率は50~70%で、現在までに、イオンチャネル、細胞膜蛋白、受容体などの機能に関する10個の遺伝子上の変異が報告されており、循環器疾患の遺伝子診断では最先端の領域である。各遺伝子型により、表現型である臨床病態や治療に対する反応が異なることが報告され、さらに最近では、遺伝子変異部位別の重症度の違いも一部報告されているが、系統だった報告は少ない。一方で、Brugada症候群では、 $\text{Na}^+$ チャネル遺伝子*SCN5A*を含め4つの遺伝子型が報告されているが、変異が同定されるのは15-30%であり、遺伝子型と表現型との関連は十分に検討されているとは言い難い。平成19年度(2年目)までに、先天性LQTSでは541例の登録とデータベース入力が、Brugada症候群では246例(*SCN5A*陽性66例、*SCN5A*陰性180例)を登録が完了した。平成20年度(最終年度)は、さらに、遺伝子診断と多施設登録数を増やすとともに、このデータベースをもとに、遺伝子型、遺伝子変異、多型などの遺伝情報と、表現型である臨床病態や治療に対する反応性の違いなどとの関連を詳細に検討し、日本人独自の遺伝子型、遺伝子変異、あるいは多型特異的な患者の管理と治療法の選択、開発、すなわちテーラーメイド医療の実現をめざす予定である。

## E. 結 論

先天性LQTS、Brugada症候群、および二次性LQTS症例で、遺伝子診断により遺伝子型、遺伝子変異、多型の同定を行った。また、先天性LQTSとBrugada症候群症例の遺伝情報と臨床情報の多施設登録、およびデータベース化を行った。本研究の今後の成果は、日本人独自の遺伝子型、遺伝子変異、あるいは多型特異的な患者の管理と治療法の選択、開発、すなわちテーラーメイド医療の実現につながることを期待される。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. **Shimizu W**, Ackerman MJ: Chapter 29, Provocative testing in inherited arrhythmias. in Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Friedman P, Ackerman MJ, Shen WK (eds): *Electrical Diseases of the Heart: Genetics, Mechanisms, Treatment, Prevention*, Springer, UK, 424-433, 2007
2. **Shimizu W**: Chapter 50, Acquired form of Brugada syndrome. in Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Friedman P, Ackerman MJ, Shen WK (eds): *Electrical Diseases of the Heart: Genetics, Mechanisms, Treatment, Prevention*, Springer, UK, 719-728, 2007
3. **Shimizu W**, Antzelevitch C: Long QT syndrome. in Lang F (ed): *Molecular mechanisms of disease: an Encyclopedic reference*, Springer, UK, -, 2008 (in press)
4. **清水 渉**, 相庭武司: 13. Brugada症候群. 先天性QT延長症候群とその類縁疾患. 『QT間隔の診かた・考えかた』 (有田 眞、犀川哲典、小野克重編集): 医学書院, p. 169-185, 2007
5. **清水 渉**: QT短縮症候群. *Medical Topics Series 不整脈 2007* (杉本恒明監修, 井上 博編集): メディカルレビュー社, p. 158-165, 2007
6. **清水 渉**: 潜在性QT延長症候群. III.不整脈. 循環器内科治療ガイドライン -最新の治療指針- (田邊晃久編集): 総合医学社, p. 186-187, 2008
7. **清水 渉**: 遺伝学的検査と倫理. 2. 不整脈診断に必要な検査法を理解しよう. II章 不整脈診療に必要な知識 -必ずおさえておきたい知識. (井上 博, 山下武志編集): 南江堂, 2008 (印刷中)
8. **清水 渉**: QT延長症候群. II章 臨床現場における不整脈 -実践的対処法. (井上 博, 山下武志編集): 南江堂, 2008 (印刷中)
9. **Shimizu W**, Matsuo K, Kokubo Y, Satomi K, Kurita T, Noda T, Nagaya N, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Inamoto N, Akahoshi M, Tomoike H: Sex hormone and gender difference. - Role of testosterone on male predominance in Brugada syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol* 18: 415-421, 2007
10. **Shimizu W**, Aiba T, Kamakura S: Mechanism and new findings in the Brugada syndrome. *Circ J* 71: (Suppl A) A32-A39, 2007
11. Moss AJ\*, **Shimizu W**\*, Wilde AAM\*, Towbin JA\*, Zareba Z, Robinson JL, Qi M, Vincent GM, Ackerman MJ, Kaufman ES, Hofman N, Seth R, Kamakura S, Miyamoto Y, Goldenberg I, Andrews ML, McNitt S: Clinical aspects of type-1 long-QT syndrome by location, coding type, and biophysical function of mutations involving the KCNQ1 gene. *Circulation* 115:2481-2489, 2007 \* These 4 authors equally contributed
12. Miyamoto K, Yokokawa M, Tanaka K, Nagai T, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura S, **Shimizu W**: Diagnostic and prognostic value of type 1 Brugada electrocardiogram at higher (third or second) V1 to V2 recording in men with Brugada syndrome. *Am J Cardiol* 99: 53-57, 2007
13. Ohgo T, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura S, Ohe T,



- Shimizu W**: Acute and chronic management in patients with Brugada syndrome associated with electrical storm of ventricular fibrillation. *Heart Rhythm* 4: 695-700, 2007
14. Yokokawa M, Noda T, Okamura H, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura S, **Shimizu W**: Comparison of long-term follow-up of electrocardiographic features in Brugada syndrome between the *SCN5A*-positive probands and the *SCN5A*-negative probands. *Am J Cardiol* 100: 649-655, 2007
  15. Crotti L, Spazzolini C, Schwartz PJ, **Shimizu W**, Denjoy I, Schulze-Bahr E, Zaklyazminskaya EV, Swan H, Ackerman MJ, Moss AJ, Wilde AM, Horie M, Brink PA, Insolia R, De Ferrari GM, Crimi G: The common long QT syndrome mutation KCNQ1/A341V causes unusually severe clinical manifestations in patients with different ethnic backgrounds: Toward a mutation-specific risk stratification. *Circulation* 116: 2366-2375, 2007
  16. Horigome H, Iwashita H, Yoshinaga M, **Shimizu W**: Magnetocardiographic demonstration of torsade de pointes in a fetus with congenital long QT syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol* 19: 334-335, 2008
  17. Sumitomo N, **Shimizu W**, Taniguchi K, Hiraoka M: Ca<sup>2+</sup> channel blocker and adenosine triphosphate terminate bidirectional ventricular tachycardia in a patient with Andersen-Tawil syndrome. *Heart Rhythm* 5: 498-499, 2008
  18. Makita N, Behr E, **Shimizu W**, Horie M, Sunami A, Crotti L, Schulze-Bahr E, Makiyama T, Itoh H, Christiansen M, McKeown P, Miyamoto K, Kamakura S, Tsutsui H, Schwartz PJ, George Jr AL, Roden DM: Single common mutation in the cardiac sodium channel gene *SCN5A* with diverse clinical phenotypes. *J Clin Invest*, 2008 (in press)
  19. Nagaoka I, **Shimizu W**, Itoh H, Yamamoto S, Sakaguchi T, Oka Y, Tsuji K, Ashihara T, Ito M, Yoshida H, Ohno S, Makiyama T, Miyamoto Y, Kamakura S, Akao M, Horie M: Mutation site dependent variability of cardiac events in Japanese LQT2 form of congenital long-QT syndrome. *Circ J*, 2008 (in press)
  20. Sakaguchi T, **Shimizu W**, Itoh H, Noda T, Miyamoto Y, Nagaoka I, Ashihara T, Ito M, Tsuji K, Ohno S, Makiyama T, Kamakura S, Horie M: Age-related triggers for life-threatening arrhythmia in the genotyped long-QT syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2008 (in press)
  21. **清水 渉**, 柴田季子, 山下菜津子, 太田直孝, 浦 敏郎, 宮本恵宏, 吉政康直, 鎌倉史郎: チャネル病と遺伝子多型. *心臓* 39: 586-591, 2007
  22. **清水 渉**: Brugada症候群の性差、人種差、治療. 「Brugada症候群の治療」: 1-6, 2007
  23. **清水 渉**: トピックス. Brugada症候群・QT延長症候群の治療戦略. *Modern Physician* 27: 111-116, 2007
  24. **清水 渉**: 学術、Brugada症候群の診断と治療. *日本医事新報* 4338: 57-62, 2007
  25. **清水 渉**: 突然死をきたす遺伝性不整脈の最近の話題. *臨床と研究* 84: 129-132, 2007
  26. 宮本康二, **清水 渉**: 2. Brugada症候群の心電図診断. b.高位肋間心電図、負荷心電図. 特集「Brugada症候群 - 解明された病態に基づいた診断と治療 -」 *Heart View* 11: 22-28, 2007
  27. 野田 崇, **清水 渉**: 第6回 U波が異常な波

- 形. *Circulation Up-to-Date* 2: 94-98, 2007
28. 清水 渉: 遺伝情報に基づいた先天性QT延長症候群の管理と治療. 日本小児循環器学会雑誌 24: 27-33, 2008
  29. 清水 渉, 相庭武司, 栗田隆志, 里見和浩, 横川美樹, 岡村英夫, 野田 崇, 須山和弘, 相原直彦, 鎌倉史郎: Brugada症候群における性差と加齢. 心電図 27: 2008 (印刷中)Shimizu W: Editorial comment. Does an overlap syndrome really exist between Brugada syndrome and progressive cardiac conduction defect (Lenegre syndrome)? *J Cardiovasc Electrophysiol* 17: 276-278, 2006
2. 学会発表
1. Shimizu W: Genetic testing. Tutorial 2 “Risk Assessment of Sudden Cardiac Death (Case based tutorial)” CardioRhythm 2007, Hong Kong, China, 2007. 2. 2
  2. Shimizu W: Genetics of congenital long QT syndrome and Brugada syndrome in Japan. Symposium 1 “Genetic Mechanisms of Cardiac Arrhythmias” 16th Asian Pacific Congress of Cardiology 2007, Taipei, Taiwan, 2007. 12. 14
  3. Shimizu W: Channelopathy as a cause of sudden cardiac death in children. Symposium 11 “Arrhythmias and Imaging in Children” 16th Asian Pacific Congress of Cardiology 2007, Taipei, Taiwan, 2007. 12. 14
  4. Shimizu W, Miyamoto K, Yamada Y, Kitamura S, Ueda S, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Horie M, Kamakura K: Multiple clinical phenotype in patients with the LQT3 syndrome due to a hot spot mutation, E1784K, in *SCN5A* gene. *Heart Rhythm* 4 (Suppl): S136-137, 2007
  5. Yamada Y, Miyamoto K, Kitamura S, Ueda S, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura K, Shimizu W: Clinical characteristics and efficacy of additional therapy in patients with LQT1 and LQT2 syndrome refractory to  $\beta$ -blocker therapy. *Heart Rhythm* 4 (Suppl): S121, 2007
  6. Okamura H, Kurita T, Yamada Y, Miyamoto K, Kitamura S, Noda T, Suyama K, Shimizu W, Aihara N, Kamakura K: Unique waveform of the intracardiac T-wave induces T-wave oversensing by an implantable cardioverter defibrillator in patients with Brugada syndrome. *Heart Rhythm* 4 (Suppl): S393-394, 2007
  7. Shimizu W, Taneike R, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura S: Clinical and electrocardiographic characteristics of genotype-unknown patients with congenital long-QT syndrome. *Circulation* 116: 2007
  8. Take Y, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura S, Shimizu W: Effects of beta-blocker on dynamic repolarization measured by 24-hr electrocardiography in LQT1 and LQT2 forms of congenital long-QT syndrome. *Circulation* 116: 2007
  9. Sakaguchi T, Shimizu W, Itoh H, Noda T, Miyamoto Y, Nagaoka I, Ashihara T, Ito M, Tsuji K, Ohno S, Makiyama T, Kamakura S, Horie M: Age-related triggers for life-threatening arrhythmia in the genotyped long-QT syndrome. *Circulation* 116: 2007
  10. Makita N, Behr E, Shimizu W, Horie M, Crotti L,

Itoh H, Miyamoto Y, Kamakura S, Tsutsui H, George Jr AL, Schwartz PJ, Roden DM: Overlap between LQT3 and Brugada syndrome: Clinical features in a common mutation and underlying biophysical mechanisms. *Circulation* 116: 2007

11. **Shimizu W**: Gender differences in the Brugada Syndrome. Featured Symposium “Understanding the Electrophysiology of the Female Heart” Heart Rhythm 2008, San Francisco, USA, 2008. 5. 17  
*Heart Rhythm* 5 (Suppl): S , 2008
12. **Shimizu W**: Risk stratification and therapy in Japan. Cardiostim-JHRS Joint Symposium “New

Findings in Brugada Syndrome” Cardiostim 2008, Nice, France, 2008. 6. 18. *Europace* 10 (Suppl): 2008.

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  
鎌倉史郎、野田 崇、岡村英夫  
(国立循環器病センター 心臓血管内科)

## ～研究協力施設リスト～

国立病院機構鹿児島医療センター 小児科

## II. 分担研究報告

## 遺伝性 QT 延長症候群の心イベント初発年齢と発症誘因の関係について

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 QT 延長症候群の致死性不整脈の発生に関与する因子は多岐にわたる。今回、遺伝子異常の同定された有症候性 QT 延長症候群 145 例において心イベント初発年齢でグループ分けし、誘発因子を比較検討した。思春期(20 歳未満)では全例の誘因が自律神経活動である一方で、成人期(40 歳以上)では薬剤、徐脈、低カリウム血症などの 2 次的な誘因が心イベントの発症と関連しており、その頻度は有意に思春期、青年期(20 歳以上 40 歳未満)より多かった。遺伝性 QT 延長症候群の心イベントは初発年齢でその誘発因子が異なることが考えられた。

### A. 研究目的

QT 延長症候群は再分極の障害から QT 間隔の延長をきたす疾患で、多形性心室頻拍などの致死性不整脈から突然死を引き起こす症候群である。その心イベントの発症に関与する誘因は自律神経活動から薬剤、徐脈、低カリウム血症などの 2 次的な誘因まで多岐にわたり、発症年齢は思春期(20 歳未満)、青年期(20 歳以上 40 歳未満)に多いことが特徴とされている。一方、成人期(40 歳以上)で初発イベントを認める症例も報告されており、各年代で誘発因子が異なることも考えられる。本研究課題では、遺伝子異常の同定された有症候性 QT 延長症候群を対象に心イベント初発年齢と誘発因子の関係を比較検討した。

### 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(LQT1)、KCNH2(LQT2)、SCN5A(LQT3)、KCNE1(LQT5)、KCNE2(LQT6)、KCNJ2(LQT7)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異常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異常の同定を行った。LQT1、LQT2、LQT3 単独の遺伝子異常を有する 343 例のうち多形性心室頻拍、失神発作、心停止、突然死と定義した心イベントを有する 145 例を初発年齢別に思春期群(n=106)、青年期群(n=20)、成人期群

(n=19)の 3 つのグループに分類した。初診時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。発症誘因は(1)運動、情動ストレス、音刺激などの交感神経誘発タイプ、(2)安静時や睡眠時の副交感神経誘発タイプ、(3)薬剤、低カリウム血症、房室ブロックによる 2 次性誘因タイプの 3 つのカテゴリーに分類し、各年齢層間で統計的に比較検討した。

### (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わからない状態で研究を進めた。

### C. 研究結果

患者背景では、成人期群で女性と発端者が有意に多く家族歴を認めないものが多かったが、QT 間隔などの心電図所見や Schwartz スコアに差は認めなかった。遺伝的背景として、LQT1 症例(58 例中 48 例, 83%)では、LQT2 症例(75 例中 51 例, 68%)、LQT3 症例(12 例中 7 例, 58%)と比較し思春期発症が有意に多かった( $p=0.019$ )。確認しえた心イベン

ト誘発因子の検討では、思春期群では全101イベントが交感神経誘発タイプ(79イベント, 78%)か副交感神経誘発タイプ(22イベント, 22%)である一方で、成人期群では2次性誘因タイプ(18イベント中13イベント)が有意に多かった(2次性誘因の占める比率; 思春期群 vs 青年期群 vs 成人期群: 0%, 23%, 72%,  $p<0.0001$ )。また青年期群では思春期群と比較し、有意に交感神経誘発タイプが少なかった(30% vs 78%,  $p<0.001$ )。家族歴を有さない症例の2次性誘因タイプは家族歴を有する症例と比較し、有意に多かった(27% vs 1%,  $p<0.0001$ )。

#### D. 考 察

本研究は遺伝子変異の同定された QT 延長症候群を対象に各年齢層別の発症誘因を検討したものである。結果として、遺伝性 QT 延長症候群の心イベントは初発年齢によりその誘因は異なり、思春期では自律神経活動の影響による心イベントが多いが、成人期にかけて薬剤、低カリウム血症、房室ブロックによる2次性誘因によって発症する症例が増加することが明らかとなった。特に成人期では遺伝的背景を修飾する環境要因に曝されることが心イベントの発症につながる事が考えられた。また、これらの症例においては家族歴を認めないことが多く、注意深い臨床観察が必要である。今回の研究対象は”有症候性”の遺伝性 QT 延長症候群であるが、”無症候性”の遺伝性 QT 延長症候群の占める比率は全遺伝子異常同定症例の58%と高率であり、その管理は特に重要といえる。”有症候性”の平均年齢が34歳であるのに比し、”無症候性”は19歳と若年であり、将来的に”有症候性”になりうる危険性を有している。”無症候性”の遺伝子変異キャリアーに対しサブタイプ別の生活指導を行うことは当然ながら、経時的臨床観察から投薬加療等を適宜提供し、2次誘発因子から回避する指導を行うことを怠ってはならないと考えられる。

#### E. 結 論

遺伝性 QT 延長症候群における心イベント発症誘因は年齢で異なる。遺伝子異常の同定された QT 延長症候群において年齢に応じた治療、生活

指導が必要である。

#### F. 健康危険情報

遺伝子異常の同定された QT 延長症候群の管理において、思春期では運動制限などの生活指導が重要であり、青年期から成人期にかけては QT 間隔を延長させうる薬剤や低カリウム血症などの2次誘因を回避する指導が必要である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Wu Jie, Ding Wei-Guang, Tsuji K, Toyoda F, Matsuura H, **Horie M**. Inhibitory actions of LY294002, a PI3kinase inhibitor, on the human Kv1. 5 channel. *The Journal of Physiological Sciences* 57: S227, 2007.
2. Ohno S, Zankov DP, Yoshida H, Tauji K, Makiyama T, Itoh H, Akao M, Hancox JC, Kita T, **Horie M**. N- and C-terminal KCNE1 mutations cause distinct phenotypes of long QT syndrome. *Heart Rhythm* 4(3): 332-340, 2007.
3. Haruna Y, Kobori A, Makiyama T, Yoshida H, Akao M, Doi T, Tsuji K, Ono S, Nishio Y, Shimizu W, Inoue T, Murakami T, Tsuboi N, Yamanouchi H, Ushinohama H, Nakamura Y, Yoshinaga M, Horigome H, Aizawa Y, Kita T, **Horie M**. Genotype-phenotype correlations of KCNJ2 mutations in Japanese patients with Andersen-Tawil syndrome. *Hum Mutat* 28(2): 208, 2007.
4. Toda H, Ding WG, Yasuda Y, Toyoda F, Ito M, Matsuura H, **Horie M**. Stimulatory action of protein kinase Cvarepsilon isoform on the slow component of delayed rectifier K(+) current in guinea-pig atrial. *Br J Pharmacol* 150: 1011-1021, 2007.
5. Tsuji K, Akao M, Ishii TM, Ohno S, Makiyama T, Takenaka K, Doi T, Haruna Y, Yoshida H, Nakashima T, Kita T, **Horie M**. Mechanistic basis for the pathogenesis of long QT syndrome associated with a common splicing mutation in KCNQ1 gene. *J Moll Cell Cardiol* 42(3): 662-669, 2007.

6. Itoh H, Tsuji K, Sakaguchi T, Nagaoka I, Oka Y, Nakazawa Y, Yao T, Jo H, Ashihara T, Ito M, **Horie M**, Imoto K. A paradoxical effect of lidocaine for the N406S mutation of SCN5A associated with Brugada syndrome. *Int J Cardiol* 121(3): 249-252, 2007.
  7. **Horie M**, Itoh H. Disorders of Cardiac Repolarization-Long QT and Short QT Syndromes-. *Circ J* 71: 436-443, 2007.
  8. Crotti L, Spazzolini C, Schwartz P, Shimizu W, Denjoy I, Schulze-Bahr E, Zaklyazminskaya E, Swan H, Ackerman M, Moss A, Wilde A, **Horie M**, Brink P, Insolia R, Ferrari G, Crimi G. The Common Long QT Syndrome Mutation KCNQ1/A341V Causes Unusually Severe Clinical Manifestations in Patients with Different Ethnic Backgrounds: Toward a Mutation-specific Risk Stratification. *Circulation* 116: 2366-2375, 2007.
  9. Sumitomo N, Sakurada H, Taniguchi K, Matsumura M, Abe O, Miyashita M, Kanamaru H, Karasawa K, Ayusawa M, Fakamizu S, Nagaoka I, **Horie M**, Harada K, Hiraoka M. Association of Atrial Arrhythmia and Sinus Node Dysfunction in Patients with Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. *Circ J* 71(10): 1606-1609, 2007.
  10. 伊藤英樹, **堀江 稔**. 致死性不整脈の遺伝子診断. Annual Review 循環器. 中外医学社: 191-195, 2007.
  11. 牧山 武, 赤尾昌治, 伊藤英樹, **堀江 稔**. Brugada 症候群と遺伝子病—Brugada 症候群と QT 延長症候群など他の遺伝子病との関連について—. *Heart View* 11(2): 54-61, 2007.
  12. **堀江 稔**. 不整脈研究の最新動向. 別冊・医学の歩み 2007.
  13. **堀江 稔**. 家族性心房細動を識る. *Heart View* 11: 84-86, 2007.
  14. 道智賢市, 松本祐一, 長岡伊織, 伊藤 誠, 芦原貴司, 伊藤英樹, 八尾武憲, 坂口知子, 中澤優子, 岡 優子, 辻 啓子, **堀江 稔**. 心筋リアノジン受容体の遺伝子変異 (I4587V) を有したカテコラミン誘発性多形性心室頻拍の 1 成人症例. *心電図* 27: 246-252, 2007.
  15. 坂口知子, **堀江 稔**. QT 延長症候群 (先天性、後天性). *臨床検査* 51(7): 764-768, 2007.
  16. **堀江 稔**. Jervell and Lange-Nielsen 症候群. *日本臨床 別冊* 4: 205-208, 2007.
  17. **堀江 稔**. Romano-Ward 症候群. *日本臨床 別冊* 4: 230-233, 2007.
  18. **堀江 稔**. 先天性 QT 延長症候群. *Long QT Syndrome*: 1-6, 2007.
  19. 伊藤英樹, **堀江 稔**. QT 延長症候群. QT 間隔の診かた・考え方: 131-132, 2007.
  20. **堀江 稔**. 薬剤性 QT 延長症候群. *Long QT Syndrome*: 1-6, 2007.
  21. 伊藤英樹, 牧山 武, 辻 啓子, 坂口知子, 長岡伊織, 岡 優子, 芦原貴司, 伊藤 誠, 大野聖子, 赤尾昌治, **堀江 稔**. チャネル病の修飾因子 総論. *心臓* 39: 576-579, 2007.
2. 学会発表
    1. Itoh H, Makiyama T, Oono S, Tsuji K, Oka Y, Sakaguchi T, Nagaoka I, Nakazawa Y, Yao T, Ashihara T, Ito M, Akao M, **Horie M**. Variable genetic backgrounds between congenital and acquired long-QT syndromes. The 71st Annual Scientific Meeting of Japanese Circulation Society. Kobe, 3.15-17, 2007.
    2. Nagaoka I, Itoh H, Sakaguchi T, Oka Y, Ashihara T, Yao T, Jo H, Nakazawa Y, Ito M, Sumitomo N, **Horie M**. Mutation analysis for the human cardiac ryanodine receptor gene (RyR2) in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT). The 71st Annual Scientific Meeting of Japanese Circulation Society. Kobe, 3.15-17, 2007.
    3. Itoh H, Sakaguchi T, Ding WG, Tsuji K, Ashihara T, Nakazawa Y, Jo H, Yao T, Ito M, Matsuura H, **Horie M**. A novel KCNH2 mutation associated with the short QT interval of Brugada syndrome. Impaired deactivation for



- the IKr channel. 56th Annual Scientific Session of the American College of Cardiology (ACC). New Orleans, 3.24-27, 2007.
4. Itoh H, Makiyama T, Ohno S, Oka Y, Sakaguchi T, Nagaoka I, Ashihara T, Ito M, Akao M, **Horie M**. Variable genetic backgrounds between congenital and acquired long-QT syndromes. 56th Annual Scientific Session of the American College of Cardiology (ACC). New Orleans, 3.24-27, 2007.
  5. Nagaoka I, Shimizu W, Itoh H, Ohno S, Akao M, Miyamoto Y, Kamakura S, **Horie M**. Bradycardia before beta-blocker therapy as an arrhythmic risk in LQT2 form of congenital long-QT syndrome. *ESC Congress 2007*. Vienna, Austria, 9.1-5, 2007.
  6. **Horie M**. The same genetics for Brugada syndrome and AF? . The 3rd Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium. TAIWAN, 10.20, 2007.
  7. Makita N, Behr E, Shimizu W, **Horie M**, Crotti L, Itoh H, Miyamoto K, Kamakura S, Tsutsui H, Schwartz PJ, George AL Jr, Roden DM. Overlap Between LQT3 and Brugada Syndrome: Clinical Features in a Common Mutation and Underlying Biophysical Mechanisms. The American Heart Association Scientific Sessions. Orland, 11.5, 2007.
  8. Makiyama T, Akao M, Shizuta S, Doi T, Ohno S, Nishio Y, Kimura T, **Horie M**. Familial Dilated Cardiomyopathy with Conduction Disease Caused by a Lamin A/C Mutation: Efficacy of the Cardiac Resynchronization Therapy with a Defibrillator. The American Heart Association Scientific Sessions. Orland, 11.5, 2007.
  9. 辻 啓子, 赤尾昌治, 石井孝広, 大野聖子, 牧山 武, 竹中琴重, 土井孝浩, 春名良純, 吉田秀忠, 中島敏博, 北 徹, **堀江 稔**. KCNQ1 遺伝子上の高頻度スプライス変異による QT 延長症候群発症のメカニズム. 第 9 回日本 RNA 学会. 名古屋, 7.28-31, 2007.
  10. **堀江 稔**. 薬剤性 QT 延長症候群の遺伝的背景. 第 28 回日本臨床薬理学会年会. 栃木, 11.29, 2007.
- 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  
坂口知子、長岡伊織、伊藤英樹、辻 啓子  
(滋賀医科大学 呼吸循環器内科)  
清水 渉、宮本恵宏、鎌倉史郎  
(国立循環器病センター)

## 低分子量 G タンパク質 Rad による不整脈発生のメカニズムの解明

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  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル  $\beta$  サブユニットと結合し L 型  $\text{Ca}^{2+}$  電流 ( $I_{\text{Ca,L}}$ ) を抑制することが知られている。最近、我々は心臓に多量に発現している内因性 Rad の活性をドミナントネガティブ (DN) 変異体で抑制すると L 型  $\text{Ca}^{2+}$  電流が増大し不整脈が発生することを報告した。しかし、Rad が他の  $\text{Ca}^{2+}$  関連タンパクにどのような作用があるかは不明である。そこで、本研究の目的は、Rad の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に及ぼす効果とそのメカニズムを解明することである。心臓特異的に DN Rad を強発現したトランスジェニック (TG) マウスから心室筋細胞を単離し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を測定し、野生型マウスと比較検討した。Field 刺激により得られた  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  トランジェントの振幅は、TG マウスでは野生型マウスと比較し有意に増大していた。ウェスタンブロット法では、筋小胞体膜に存在するリアノジン受容体の蛋白発現量が有意に増加しており、L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル発現増加とともに  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  トランジェントの振幅増加のメカニズムの一つと考えられた。このリアノジン受容体発現増加と一致して  $\text{Ca}^{2+}$  スパークの頻度が上昇しており、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  過負荷から不整脈が誘発されたものと推測された。以上の結果より、内因性 Rad は L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルのみならずリアノジン受容体の機能も調節しており、心血管疾患の様々な病態と関連している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

Rad の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に及ぼす効果とそのメカニズムを解明し、不整脈発症との関連を明らかにすること。

### B. 研究方法

1. ドミナントネガティブ (DN) Rad TG マウスおよび野生型マウスの心室筋をコラゲナーゼ処理により単離した。
2. 単离心室筋細胞に  $\text{Ca}^{2+}$  インジケーターである Fluo-4 を loading し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を測定した。

(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 TG マウスでは、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  トランジェントが野生型マウスと比較し有意に増加していた。
2. DN Rad TG マウスでは、リアノジン受容体蛋白の発現量が増加していた。これと一致してスパークの発現頻度も上昇していた。

### D. 考察

我々は、DN Rad TG マウス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、心室頻拍などの不整脈が惹起されることを昨年報告した。今回の実験結果より、内因性 Rad が、L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルのみでなくリアノジン受容体を介して細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度も調節していることが明らかとなった。この結果より、Rad の機能異常により細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  過負荷が起こり triggered activity による不整脈を誘発されることが予想され、DN Rad TG マウスにおける不整脈発症のメカニズムの一つである可能性が示唆された。

## E. 結 論

Rad は、心筋 L 型  $Ca^{2+}$  電流やリアノジン受容体を介して細胞内  $Ca^{2+}$  濃度を調節しており、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. Yada H, Murata M, Shimoda K, Yuasa S, Kawaguchi H, Ieda M, Adachi T, Murata M, **Ogawa S**, Fukuda K. Dominant negative suppression of Rad leads to QT prolongation and causes ventricular arrhythmias via modulation of L-type calcium current in the heart. *Circ Res.* 2007; 101: 69-77.
2. Ieda M, Kanazawa H, Kimura K, Hattori F, Ieda Y, Taniguchi M, Lee JK, Matsumura K, Tomita Y, Miyoshi S, Shimoda K, Makino S, Sano M, Kodama I, **Ogawa S**, Fukuda K. Sema3 maintains normal heart rhythm through sympathetic innervations patterning. *Nat Med.* 2007; 13: 604-612.
3. Naito K, Anzai T, Yoshikawa T, Maekawa Y, Sugano Y, Kohno T, Mahara K, Okabe T, Asakura Y, **Ogawa S**. Increased body temperature after reperfused acute myocardial infarction is associated with adverse left ventricular remodeling. *J Card Fail.* 2007; 13: 25-33.
4. Hagiwara S, Miyoshi S, Fukuda K, Nishiyama N, Ikegami Y, Tanimoto K, Murata M, Takahashi E, Shimoda K, Hirano T, Mitamura H, **Ogawa S**. SHP2-mediated signaling cascade through gp130 is essential for LIF-dependent  $I_{Ca,L}$ ,  $[Ca^{2+}]_i$ , and APD increase in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 2007; 43:710-716.

### 2. 学会発表

1. Yada H, Murata M, Yuasa S, Kawaguchi H, Ieda

M, Adachi T, **Ogawa S**, Fukuda K. Dominant negative suppression of Rad prolongs QT interval and causes ventricular arrhythmias in mice、第 7 1 回日本循環器学会学術集会、2007 年 3 月 (神戸)

2. 矢田浩崇、村田光繁、金澤英明、湯浅慎介、三好俊一郎、**小川 聡**、福田恵一：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及び致死的不整脈との関連について、第 25 回日本ヒト細胞学会学術集会、2007 年 8 月 (東京)
3. 山下武志、**小川 聡**、奥村謙、加藤貴雄、新博次、小林洋一、岡崎修、田邊晃久、庭野慎一、相澤義房、藤木明、伊藤誠、是恒之宏、朔啓二郎：塩酸ベプリジルの持続性心房細動停止効果及びその用量反応性、第 24 回日本心電学会学術集会、2007 年 9 月(名古屋)

## 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

村田光繁

(慶應義塾大学医学部中央臨床検査部)

## 先天性 QT 延長症候群の遺伝子変異例におけるチャネル機能の解析

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 遅延整流 K 電流のチャネル( $I_{Ks}$ )の異常は先天性 QT 延長症候群をきたし、LQT1 と呼ばれる。LQT1 は先天性 QT 延長症候群で最も頻度の高い疾患であり KCNQ1 の遺伝子変異による。KCNQ1 は膜 6 回貫通性のチャネルからなり、その孔付近はイオンの選択性と透過性にかかわる。今回 K チャネル( $I_{Ks}$ )の孔の中心部に位置するアミノ酸が、中性のイソロイシンから陽性荷電のアミノ酸リジンに変化した LQT1 変異を 1 家族 3 例に同定し、発現実験により電気生理学的に検討した。

本施設は既に遺伝性不整脈の遺伝子検索に関しての高度先進医療の承認を得ており検索前に全例で同意書を作成した。患者および家族の血液からゲノム DNA を採取し、PCR で増幅後塩基を同定した。家系のうち 3 名に、隣り合う 938 と 939 の塩基の重変異を認めた（それぞれ T-to-A および C-to-A）。これら 3 例とも、QT 著明に延長していた（QTc はそれぞれ 500, 528, 629ms）、繰り返す失神の既往があった。全例難聴は認めなかった。

3 次元解析では、この変異部位は孔の中心部に位置していた。COS7 における発現実験で変異遺伝子のみでの発現では電流は殆ど認められなかった。野生型との共発現では Dominant Negative Suppression (DNS)を示した。チャネルの局在の検討では、変異チャネルも細胞膜に一致して認められ、膜への輸送異常は否定された。

### A. 研究目的

不整脈疾患である QT 延長症候群の遺伝子異常を同定し、変異チャネルの機能解析を行うとともに、変異部位と機能との関連を検討する。

### B. 研究方法

対象は、失神と心電図異常を契機に新潟大学医歯学総合病院に紹介された 1 家系 3 例で、家系内には多く異常の集積が認められた。

遺伝子解析は、血球からゲノム遺伝子(DNA)を採取し、当該部位の DNA を PCR 法で増幅した後、DNA シーケンサー (ABIPRISM 310Genetic analyzer, Perkin Elmer Applied Biosystems)により塩基の同定を行った。

発現実験は、プラスミドベクターを作成し pIRES2-EGF-KCNQ1 (野生型)と、pIRES2-EGF-I313K (変異型)として、KCNE1 とともに COS7 細胞に単独および混合して発現させ

た。電気生理学的検討は、COS7 でのパッチクランプ法により解析した (Axopatch 200B, Axon Instruments)。-80mV から +80mV までの範囲で 20mV 単位で脱分極パルスを 2 秒間与え、各電位に対する peak 電流 (密度)と tail 電流 (密度)を求めた。チャネルが細胞膜に輸送されているかは YFP または CFP を共発現させて検討した。

(倫理面への配慮)

当院は遺伝性不整脈疾患の診断の対する高度先進医療の承認をうけている。検査に先立ち説明の後に同意書を得た。

### C. 研究結果

3 例全例で KCNQ1 遺伝子の 938 部位の塩基が T-to-A に、939 の塩基が C-to-A へと 2 重変異が認められた。その結果 313 部位のアミノ酸がイソロイシンからリジンに半価していた。これらの変異