

201024107A

厚生労働省科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

早期再分極(early repolarization)
症候群の病態と遺伝基盤、
長期予後に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 鎌倉 史郎

(国立循環器病研究センター)

平成 23(2011)年 5 月

厚生労働省科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

早期再分極(early repolarization)

症候群の病態と遺伝基盤、

長期予後に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 鎌倉 史郎

(国立循環器病研究センター)

平成 23 (2011) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告

早期再分極(early repolarization)症候群の病態と遺伝基盤、長期予後に関する研究
国立循環器病研究センター心臓血管内科 部長

鎌倉 史郎 1

II. 分担研究報告

1. ブルガダ症候群に関わる新たな KCNE5 遺伝子変異とその発症病態

滋賀医科大学呼吸循環器内科 教授

堀江 稔 9

2. 早期再分極(early repolarization)症候群の病態と遺伝基盤、長期予後に関する研究
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科循環器内科 准教授

草野 研吾 17

3. 早期再分極症候群の病態と遺伝基盤、長期予後に関する研究

東邦大学医療センター大橋病院循環器内科 教授

杉 薫 18

4. Brugada 症候群における下側壁誘導での J wave の頻度と臨床的特徴に関する研究

山口大学大学院医学系研究科 教授

清水 昭彦 19

5. 早期再分極を伴った特発性心室細動の臨床的特徴およびナトリウムチャンネル遮断薬
に対する早期再分極の反応：Brugada 症候群との比較

国立循環器病研究センター心臓血管内科 医長

清水 渉 20

6. Brugada 症候群と早期再分極症候群の遺伝子検査に関する研究

国立循環器病研究センター予防検診部 部長

宮本 恵宏 26

7. 早期再分極(early repolarization)症候群の病態と遺伝基盤、長期予後に関する研究

東京女子医科大学循環器内科 教授

萩原 誠久 29

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 31

IV. 研究成果の刊行物・別刷り 39

I. 総括研究報告

早期再分極(early repolarization)症候群の病態と遺伝基盤、長期予後に関する研究

研究代表者：鎌倉 史郎（国立循環器病センター心臓血管内科部長）

研究要旨：早期再分極(early repolarization)症候群は、心電図で下側壁誘導にJ波を有し、心室細動による突然死を生じる疾患である。本研究では早期再分極症候群とそれに近似する病態を全国的な規模で集積し、後ろ向きと前向きに予後を観察し、同時に種々の心電図検査、遺伝子検査等を行って本症候群の病態、機序、ならびに予後を解明することを目的とする。本年度は3月末日までに、3年間での登録目標300例の約1/2に相当する165例が登録できた。心室細動を伴う早期再分極症候群23例の後ろ向き解析では、約30%が非Type1 Brugada型心電図を有し、Brugada症候群と同様な病態と不良な予後を呈したが、残りの例では全く異なった病態と良好な予後を呈していた。Brugada症候群では、運動負荷回復初期のST上昇が、無症候群と失神群の予後推定に有用であることが判明した。また本疾患に関わる新しい遺伝子としてKCNE5の変異を発見した。

研究分担者

堀江稔 滋賀医科大学呼吸循環器内科教授
草野研吾 岡山大学医学部循環器内科准教授

萩原誠久 東京女子医科大学循環器内科教授

杉薫 東邦大学医学部大橋医療センター循環器内科教授

清水昭彦 山口大学医学部保健学科教授

清水渉、国立循環器病研究センター心臓血管内科医長

宮本恵宏 国立循環器病研究センター予防検診部部長

A. 研究目的

突然死を生じる病態には、心筋梗塞などの器質性心疾患と、非器質性心疾患がある。欧米では突然死の原因の80%以上が器質性心疾患であるが、日本ではその40%近くを非器質性心疾患が占める。中でも青壮年男性が夜間に心室細動のために突然死するBrugada症候群は、本邦の植込み型除細動器(ICD)適応の第3の原因となっている。非器質性の突然死の原因としては、その他にQT延長症候群、QT短縮症候群、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍、心臓震盪、Purkinje起源心室細動、乳幼児突然死症候群、進行性心臓伝導障害(CCD)などがあり、これらに

加えて2008年、Haissaguerreらが下側壁誘導における早期再分極(early repolarization)症候群という新たな突然死症候群の存在をNew Engl J Med誌に発表して、一躍世界的な注目を集めた。

12誘導心電図では、Brugada症候群がV1-V3誘導でのcoved型、またはsaddleback型という特徴的なST上昇を示すのに対し、早期再分極症候群はII, III, aVF誘導またはI, aVL, V4-V6誘導での1mm以上の波高のJ波(notch & slur)を特徴とする。現在欧米では、早期再分極症候群はBrugada症候群とは異なる病態と考えられているが、発作の状況や薬剤の反応はBrugada症候群に類似した点もあり、J波の出現部位が異なるだけで、Brugada症候群と同様の機序との説が徐々に有力になっている。

現時点で、早期再分極症候群はその有病率、発症率、前向き予後、発症機序、遺伝的背景のいずれもが未解明である。本研究では早期再分極症候群とそれに近似する病態を全国的な規模で集積し、後ろ向きと前向きに予後を観察し、同時に種々の心電図検査、電気生理学検査、遺伝子検査等を行って本症候群の病態、機序と、予後を解明することを目的とする。

B. 研究方法

1. 症例登録と病態解析

本研究では、1)Haissaguerreらの定義した早期再分極症候群、すなわち、II, III, aVF誘導とI, aVL, V4-V6誘導のうち、2誘導以上でnotchまたはslur波形を呈する1mm以上のJ波増高を有する症例を登録する。この他に、2)0.5mm以上1mm未満のJ波増高を有する境界型例、並びに3)心室細動の既

往のあるBrugada症候群、4)特発性心室細動、QT短縮症候群を登録する。登録は、後ろ向き研究では主としてopt out形式で、前向き研究では患者本人の自著による同意文書を得て登録する。全例でピルジカイニド等のIc群薬負荷試験を行い、前胸部誘導でのType1波形の出現状況を観察する。突然死家族歴と失神歴を聴取し、心蘇生歴のある例では心室細動の出現時間、出現状況を把握する。必須検査として全例に高位肋間心電図、心エコー図、ホルター心電図、運動負荷検査を、一部の例に加算平均心電図、心磁図、TWA検査を行い、同意の得られた例では電気生理学的検査により、心室性不整脈の誘発を右室心尖部と流出路から行う。誘発に用いる期外刺激数は3連発までとし、最短連結期間隔は180msecとする。

初期2年間は最も病態を解明する必要のある、心室細動を生じた症例(早期再分極症候群(J波症候群)、Brugada症候群、QT短縮症候群、特発性心室細動)を主として登録するが、3年度からは、心室細動を伴わない、いわゆる無症候、または失神の既往を有する早期再分極症候群も登録する。集積目標症例は300例で、これらから本症候群の病態解析を行い、Brugada症候群や他の突然死症候群との相違を明らかにする。

2. 遺伝子解析

登録症例のうち、同意を得られた症例では末梢血を採取し、ゲノムDNAを抽出する。心筋に発現するBrugada症候群関連の遺伝子(SCN5A, CACNA1C等)をPCRで増幅し、DNAシーケンサーで遺伝子異常を同定する。

3. 予後調査

登録症例では退院時の治療状況（ICD 植込み、投薬内容）を把握し、6 ヶ月毎に経過観察する。観察項目は、臨床症状、高位肋間記録を含む 12 誘導心電図、ならびに治療内容である。また、ICD 植込み例では作動状況を観察する。

2 年以上の経過観察の後、予後解析、予後に関連する心電図指標、遺伝子変異、病態等の因子解析を行うと共に、Brugada 症候群・QT 短縮症候群・特発性心室細動等との関連性を明らかにする。

C. 研究結果

1. 症例登録状況

本年度は前半で、症例登録のための倫理委員会の承認を目指した。その結果、11 月末日までに参加全施設において本研究に対する倫理委員会の承認が得られた。承認後、各施設で急速に症例の登録を進めた結果、3 月 31 日までに、心室細動を伴う Brugada 症候群が 137 例、心室細動を伴う早期再分極症候群が 28 例、後ろ向き研究用に登録された。一方、前向き研究用には、Brugada 症候群が 18 例、早期再分極症候群が 10 例登録された。さらに、この中で、遺伝子検査が後ろ向き登録症例を中心に 76 例なされた。これら症例の総計は、3 年間での登録目標 300 例の約 1/2 に相当し、登録が順調に進捗していることを示した。この登録数は、心室細動を伴う早期再分極症例だけに限定すると少ないように思えるが、これは Brugada 症候群に比べて有病率が低いためである。これまでの登録数は Haissaguerre らが全世界から国際登録で後ろ向きに集積した 64 例の約半数に達していることを考えると、こちらも登録が順調に推移してい

ると考えられる。

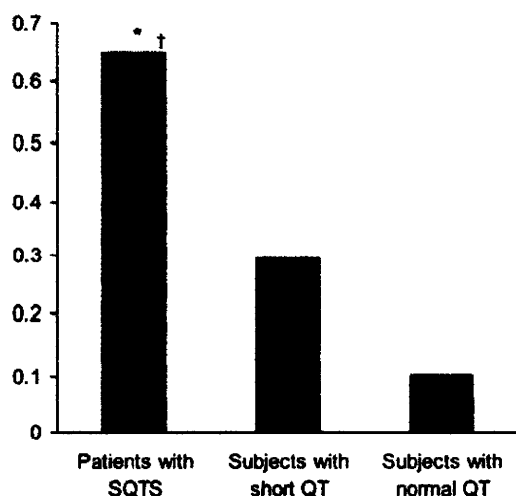
2. 個別研究結果

1) 早期再分極症候群

鎌倉、清水(渉)らは心室細動を伴う早期再分極症候群 23 例の特徴を検討した。その結果、Haissaguerre らが提唱した早期再分極症候群の約 30%が非 Type1 Brugada 型心電図を示す症例であり、それらは心室細動を伴う Brugada 症候群と同様な臨床像を示すと共に不良な予後を呈するが、それ以外の症例は異なった病態を示し、その予後は極めて良好であった。このため早期再分極症候群には 2 つの病態が含まれることが示唆された。また、14 例の早期再分極症候群と 21 例の Brugada 症候群において、それぞれの臨床的特徴と Na チャネル遮断薬の反応を比較したところ、両群は臨床病態に共通点はあるが、心室細動の誘発率や加算平均心電図の陽性率は異なっていた。Na チャネル遮断薬に対する反応も、Brugada 症候群では右側胸部誘導で ST が上昇するのに対し、早期再分極症候群における下壁、側壁誘導の J 波は減高した。

一方、鎌倉、清水(渉)、堀江らは日本全国から計 37 例の QT 短縮症候群を集積し、その心電図学的特徴を検討した。その結果、早期再分極が QT 短縮症候群に高頻度 (66%) に合併し (図 1)、中でも VF 等の不整脈事故を有する群で有意に多い (88%) ことが判明した。これまで QT 短縮症候群では少数例の報告しかなかったが、本論文で多数例における臨床的特徴が示されると共に、早期再分極の存在が不良な予後の予知指標となることが示された。

図1 QT短縮症候群における早期再分極の合併頻度



疫学研究では、堀江らが病院で記録された10万例を超える12誘導心電図のデータベースを用いて、早期再分極の出現頻度を検討した。その結果、全人口の1.7%に2誘導以上でJ波が認められ、その出現率は男性が女性の11倍であった。

清水(昭)らはNaチャンネル遮断薬の負荷試験を行い、Type1 Brugada型心電図が確認された127例において、J波の出現頻度を検討した。その結果、全症例の20%にJ波が認められ、中でも致死的不整脈症例の71%にJ波が存在していた。これは、非致死的不整脈例の21%、失神を伴うBrugada症候群の25%、無症候のBrugada症候群の12%に比べ有意に頻度が高かった。

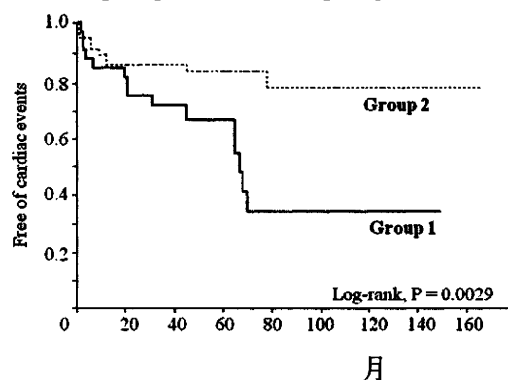
杉らはBrugada症候群が疑われ、Naチャンネル遮断薬で心室遅延電位(LP)が記録された100例でJ波の出現頻度を調査した。その結果8例で下壁誘導(II, III, aVF)にJ波が認められた。

2) Brugada 症候群

鎌倉、清水(渉)らはBrugada症候群にお

ける運動負荷回復期のST変化の意義を報告した。計93例のBrugada症候群にTreadmill運動負荷試験を施行し、回復初期にV1-V3誘導で0.05mV以上のST上昇のある群とない群の長期予後を調べたところ、ある群で有意に予後が不良であり(図2)、このST上昇は特に失神群、無症候群で心事故の独立した予後指標となることが判明した。

図2 運動負荷回復期でST上昇 $\geq 0.05mV$ のある群(group1)とない群(group2)の予後



杉、鎌倉らは20万例の12誘導心電図データベースから得られた所見を元に、Brugada症候群の新しい心電図自動診断基準を報告した。この基準は、米国ならびにヨーロッパ不整脈学会が提唱したBrugada症候群の診断基準の欠点を補うものであり、非Type1 Brugada型心電図もクラス分類に含んでいる。欧米ではこれまでの基準に基づき、Type1以外のBrugada型心電図をBrugada症候群と見なさないで、軽症例として扱う傾向がある。しかしながら、非Type1例においても突然死が多数発生することから、本診断基準が世界基準として普及することが望まれている。

堀江らはBrugada症候群ならびに特発性

心室細動の 205 例を対象に KCNE5 の遺伝子スクリーニングを実施し、アミノ酸置換を伴う 2 種類の遺伝子変異を 4 人の発端者に同定した。その機能解析から KCNE5 は Ito 電流を修飾することで、Brugada 症候群や特発性心室細動の発症や、疾患の性差に関与していることが判明した。

また宮本らは Brugada 症候群 179 家系における SCN5A 遺伝子変異を検討し、18 家系 (26 例 : 10%) に遺伝子変異を認めている。

この他に、草野らは Brugada 症候群の心房における電気生理学的、構造的リモデリングが高リスク群の Brugada 症候群で亢進しており、ICD 作動が SCN5A 変異例で多いこと、低用量 (100mg/日) のベプリジル投与が SCN5A 変異を有する Brugada 症候群例で心室細動予防に有用なこと、SCN5A 変異が Brugada 症候群の、初回ではなく再発性心室細動に関連していることを報告した。

D. 考察

本年度の研究により、Brugada 症候群における運動回復期の ST 上昇の意義が解明された。これにより、心室細動の既往のない Brugada 症候群において、運動負荷検査が突然死や将来の心事故の有用な予測手段となりうることを示された。これまで、Brugada 症候群の中で、無症候例、失神例では、その予後推定において信頼できる予知指標がなかった。しかしながら、2009 年に、研究班の鎌倉、清水 (渉)、堀江、杉、清水 (昭彦)、萩原らが *Circulation* 誌に発表した予知指標、すなわち突然死の家族歴、ならびに早期再分極 (J 波) 指標と共に、運動負荷検査における本指標が簡便な Brugada 症候群の予後予知指標として、今後全世界で

用いられるようになると考えられた。

また本研究で変異が同定された KCNE5 は、Brugada 症候群と特発性心室細動に関わる新規の遺伝子と考えられる。これまで Brugada 症候群ではナトリウム、カリウムチャンネル電流の減少、または一過性外向きカリウム電流 (Ito) の増加が報告されている。X 染色体上に存在するカリウムチャンネルの調節蛋白である KCNE5 は Ito を抑制することで、心筋の再分極に影響を及ぼす。Brugada 症候群では遺伝子変異が発見される確率は 15-30% とされるが、今後は既知の遺伝子変異に加え、KCNE5 遺伝子変異の解析を進めることで、Brugada 症候群の性差や病態解明に役立つと考えられる。

一方、今回解明された早期再分極症候群の特徴は、従来の早期再分極の概念を根本的に変えるものであった。これまで心室細動を伴う早期再分極症候群では約 30% が Brugada 症候群の臨床病態を示すと報告されていたが、なぜそうであるのか不明であった。今回の検討により、それらが、非 Type1 の Brugada 型心電図を呈する例により構成されている可能性が示唆された。また、早期再分極症候群のうちの残りの症例に関しては、その予後が不明であった。一般的には予後不良と考えられていたが、それらは全く異なった病態を示し、かつ良好な予後を呈することが示された。おそらく、前者では Brugada 症候群と同様な治療が有効であり、後者では ICD 植込みが不要になると思われる。早期再分極症候群におけるこの 2 つの病態は、今後の治療指針策定において重要な鍵を握ると思われる。しかしながら、今回は少数例での検討であり、今後その正否に関して多数例での検証が必要と考

えられた。

E. 結論

本研究班が発足して以来、順調に症例登録が進行している。個別研究も成果があがっており、早期再分極症候群と Brugada 症候群の管理において、国際的に極めて重要な知見が蓄積されている。今後、さらに症例登録を進め、多数例での病態解析、遺伝子解析、予後解析を行い、早期再分極症候群の診断指針、治療指針を確立する方針である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Makimoto H, Nakagawa E, Takaki H, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Kurita T, **Kamakura S**, Shimizu W. Augmented ST-segment elevation during recovery from exercise predicts cardiac events in patients with Brugada syndrome. *J Am Coll Cardiol* 56;1576-84: 2010
2. Watanabe H, Makiyama T, Koyama T, Kannankeril PJ, Seto S, Okamura K, Oda H, Itoh H, Okada M, Tanabe N, Yagihara N, **Kamakura S**, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W: High prevalence of early repolarization in short QT syndrome. *Heart Rhythm* 7; 647-652:2010.
3. Nishizaki M, Sugi K, Izumida N, **Kamakura S**, Aihara N, Aonuma K, Atarashi H, Takagi M, Nakazawa K, Yokoyama Y, Kaneko M, Suto J, Saikawa T, Okamoto N, Ogawa S, Hiraoka M; Investigators of the Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study; Subgroup of the Japanese Society of Electrocardiology: Classification and assessment of computerized diagnostic criteria for Brugada-type electrocardiograms. *Heart Rhythm*. 7; 1660-6:2010.
4. Wu J, Shimizu W, Ding W-G, Ohno S, Toyada F, Itoh H, Zang W-J, Miyamoto Y, **Kamakura S**, Matsuura H, Nademanee J, Brugada J, Brugada P, Brugada R, Vatta M, Towbin JA, Antzelevitch C, Horie M. KCNE2 modulation of Kv4.3 current and its potential role in fatal rhythm disorders. *Heart Rhythm* 7;199-205:2010.
5. **Kamakura S**: Is early repolarization syndrome different from Brugada syndrome? *J Arrhythmia*. 26: 155-6: 2010
6. Kandori A, Ogata K, Miyashita T, Takaki H, Kanzaki H, Hashimoto S, Shimizu W, **Kamakura S**, Watanabe S, Aonuma K. Subtraction magnetocardiogram for detecting coronary heart disease. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 15; 360-8: 2010
7. Kawata H, Noda T, Kurita T, Yamagata K, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Shimizu W, Suyama K, Aihara N, Isobe M, **Kamakura S**. Clinical effect of implantable cardioverter defibrillator replacements: when should you resume driving after an implantable cardioverter defibrillator replacement? *Circ J*. 74; 2301-7:2010
8. Takigawa M, Noda T, Kurita T, Aihara N, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Suyama K, Shimizu W, **Kamakura S**. Predictors of electrical storm in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy—how to stratify the risk of electrical storm. *Circ J*. 74;1822-9: 2010

9. Itoh H, Shimizu W, Hayashi K, Yamagata K, Sakaguchi T, Ohno S, Makiyama T, Akao M, Ai T, Noda T, Miyazaki A, Miyamoto Y, Yamagishi M, **Kamakura S**, Horie M. Long QT syndrome with compound mutations is associated with a more severe phenotype: a Japanese multicenter study. *Heart Rhythm*. 7;1411-8: 2010
 10. Nagai T, Satomi K, Noda T, Okamura H, Yamada Y, Shimizu W, Suyama K, Aihara N, **Kamakura S**, Kurita T. Relationship between oral amiodarone and inappropriate therapy from an implantable cardioverter defibrillator. *Circ J*. 74; 1302-7: 2010
 11. Matsuyama TA, Ishibashi-Ueda H, Ikeda Y, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Shimizu W, Aihara N, **Kamakura S**, Inoue S. The positional relationship between the coronary sinus musculature and the atrioventricular septal junction. *Europace*. 12;719-25: 2010
 12. Yokokawa M, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Kurita T, Aihara N, **Kamakura S**, Shimizu W. Neurally Mediated Syncope as a Cause of Syncope in Patients with Brugada Electrocardiogram. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 21;186-92: 2010
 13. 鎌倉史郎：特発性心室細動類縁疾患-Brugada 症候群-.呼吸と循環;58: 21-31:2010
 14. 鎌倉史郎：Brugada 症候群による突然死.カレントセラピー;28:26-31:2010
 15. 鎌倉史郎：Brugada 型心電図,Brugada 症候群. 山下武志(編),循環器臨床サピア・心電図パーフェクトガイド,中山書店,東京 ,204-213:2010
 16. 鎌倉史郎：QT 延長症候群. 山下武志(編),循環器臨床サピア・心電図パーフェクトガイド,中山書店,東京,214-223: 2010
 17. 鎌倉史郎：Brugada 症候群；診療方針 up-to-date.医学のあゆみ; 234: 703-708:2010
 18. 鎌倉史郎：Brugada 症候群における突然死. 田邊晃久(編),不整脈ノンインベンシブ検査,医学書院,東京,44-56:2010
 19. 鎌倉史郎：無症候性の Brugada 型心電図にどこまで検査を行うことが妥当か？.小室一成,山下武志(編),EBM 循環器疾患の治療,中外医学社,東京, 390-393:2010
2. 学会発表
1. Sato H, Takaki H, Oishi S, Shimizu W, **Kamakura S**, Sugimachi M: Magnetocardiography (MCG) can detect electrophysiological abnormalities associated with idiopathic ventricular fibrillation. ESC2010 (2010. Aug 28-31 Stockholm)
 2. Makimoto H, Takaki H, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Suyama K, Aihara N, **Kamakura S**, Shimizu W: Role of vagal reactivation early strenuous exercise on ST-segment elevation and prognosis in patients with Brugada syndrome. ESC2010 (2010. Aug 28-31 Stockholm)
 3. Oishi S, Satomi K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Suyama K, Shimizu W, Takaki H, Aihara N, **Kamakura S**: Atrial tachyarrhythmias exacerbate heart failure in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy : a report from long-term observational study of

- 74 Asian cases. ESC 2010 (Aug 28-31, Stockholm)
4. Kamakura T, Kawata H, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Aiba T, Satomi K, Shimizu W, Aihara N, **Kamakura S**: Patients with non-type 1 Brugada-pattern ECGs show clinical profiles similar to Brugada syndrome in the inferolateral early repolarization syndrome. AHA2010 (2010.Nov 13-17, Chicago)
 5. Kawata H, Noda T, Makimoto H, Doi A, Yokoyama T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aihara N, **Kamakura S**, Shimizu W: Clinical characteristics of idiopathic ventricular fibrillation with early repolarization and response of early repolarization to sodium channel blocker: comparison to Brugada syndrome with ventricular fibrillation. AHA2010 (2010.Nov 13-17, Chicago)
 6. Kawakami S, Takaki H, Sato H, Shimizu W, **Kamakura S**, Sugimachi M: A novel magnetocardiographic approach for estimating the whole ventricular activation with use of 3-directional recordings. AHA 2010 (November 13-17, Chicago)
 7. Makimoto H, **Kamakura S**, Aihara N, Noda T, Nakajima I, Yokoyama T, Doi A, Kawata H, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Shimizu W: Clinical impact of the number of extrastimuli and minimal coupling interval in programmed electrical stimulation in patients with Brugada Syndrome. AHA 2010 (November 13-17, Chicago)

G. 知的財産権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担研究報告

ブルガダ症候群に関わる新たな KCNE5 遺伝子変異とその発症病態

分担研究者 堀江 稔 滋賀医科大学 医学部 内科学講座 循環器内科 教授

研究要旨 ブルガダ症候群 (BrS) を含め、心電図上、J波の上昇（早期再分極）が特発性心室細動 (IVF) の発症と関連があることが報告され注目を集めている。また、BrS の発症には、心筋の興奮・刺激伝導に関わる Na チャネル遺伝子 (SCN5A) の変異との関係が示唆されているが、その頻度は高々20%（当施設では11%）であり、その他の報告されている関連遺伝子における変異の頻度はきわめて低い。われわれは、BrS や IVF が圧倒的に男性に多いことに注目し、X染色体上に存在する心筋カリウム・チャネルの調節蛋白遺伝子である *KCNE5* 遺伝子 (*KCNE1L*) に注目した。未だ遺伝子診断で変異の発見されない発端者 (205人) を対象に、この *KCNE5* を検索した。2つの新しい *KCNE5* 変異を発見することができ、その機能解析から、Ito 電流を修飾する結果、BrS や IVF の発症に関与する新しい修飾因子であることが判明した。

A. 研究目的

ブルガダ症候群 (BrS) 及び特発性心室細動 (IVF) は男性に多い疾患であるが、その性差については未だ解明されていない。この性差に関し、X染色体上にあるカリウムチャネルの修飾遺伝子である *KCNE5* に着目した。また BrS の原因にはナトリウムおよびカルシウムチャネル電流の減少または一過性外向きカリウム電流 (I_{to}) の増加が報告されているが、この *KCNE5* は、 I_{to} を抑制することで心筋の再分極に影響を及ぼしている。そこで *KCNE5* の遺伝子変異が BrS 及び IVF 発症に関与しているか調査する。

B. 研究方法

SCN5A 陰性 BrS および IVF の日本人患者 205 人を対象に *KCNE5* の遺伝子スクリーニングを実施。そこで同定された *KCNE5* の変異を一過性外向きカリウム電流 (I_{to}) と共発現させることにより、*KCNE5* 変異の機能を評価する。さらにコンピューターシミュレーションにより、心筋での影響を検討する。

（倫理面への配慮）

本研究は、ヘルシンキ宣言（世界医師会）・ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成16年文部科学省・厚生労働省・経済通産省告示第1号）に準拠して実施する。また本研究は、所属施設の倫理委員会の承認を得ている（下記参照ください）。

本研究では、保護者からインフォームド・コンセントを得た後に、患児から末梢血を採取し、ゲノム DNA を抽出した。患者の血液・ゲノム DNA などのサンプルは、氏名、生年月日、住所などの個人を特定できる情報をすべて取り除き、代わりに患者識別番号でコード化によって、「匿名化」を行う。提供者と新たにつける符号との対応表は個別識別情報管理者が厳重に管理し、個人が特定できない状態で解析を行う。

また、患者に遺伝子異常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。その場合にで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う。

倫理委員会での承認状況：

滋賀医科大学：

家族性不整脈症候群における遺伝子解析（H21年9月29日更新）承認番号：21-50

C. 研究結果

205人の患者において、アミノ酸置換を伴う2種類の遺伝子変異を4人の発端者に同定した（図1）。一つはY81Hであり、一人の男性と二人の女性発端者に同定した。もう一つはD92E-E93Xであり一人の男性に同定した。いずれの患者も症候

性であり、ICDを植え込まれている。患者家族を含めて調べたところ、*KCNE5* 遺伝子変異保因者は11名であり、そのうち男性3人はすべて症候性であったのに対し、女性8人中2人（25%）のみ症候性であった。

今回同定した遺伝子変異の機能を解析するため、 I_{to} の構成タンパクであるKv4.3と*KCNE5*を培養細胞に共発現させ、パッチクランプ実験を行った（図2）。その結果、+50mVでの I_{to} peak currentはWT-*KCNE5*では 98.9 ± 9.9 pA/pFであったが、Y81H-*KCNE5*及びD92E/E93X-*KCNE5*では、それぞれ 156.5 ± 15.9 pA/pF、 178.0 ± 20.0 pA/pFと I_{to} を抑制しなかった（XY=男性の場合に対応）。一方Kv4.3に加えWT-*KCNE5*とY81H-*KCNE5*またはD92E/E93X-*KCNE5*を同時に1:1の比率で発現させた細胞では、それぞれ 113 ± 11.1 pA/pF及び 110 ± 10.3 pA/pFであり、WTのみの場合と同様に I_{to} を抑制した（XX=女性の場合に類似）。

変異を導入したコンピュータ・シミュレーション・モデル（図3）では、ナトリウム電流減少のブルガダ症候群モデルと同様の“notch and dome”または“loss of dome”の活動電位パターンを示し、今回の*KCNE5*遺伝子変異が、BrSと同様の病態を生じさせることを証明した。

D. 考察

パッチクランプの実験から推察すると、*KCNE5* 変異の保因者が男性の場合にはhemizygout（変異のみ保因）となり I_{to} は抑制されないが、女性の場合はheterozygout（変異とWTを保因）となり、健常人と同様に I_{to} は生理的に抑制されていると考えられた。また心電図上BrSの病像は示さないものの女性の発症者が存在する理由としては、X染色体不活化が無作為に行われることや、X染色体不活化から逃れる遺伝子が存在することなどが考えられる。

E. 結論

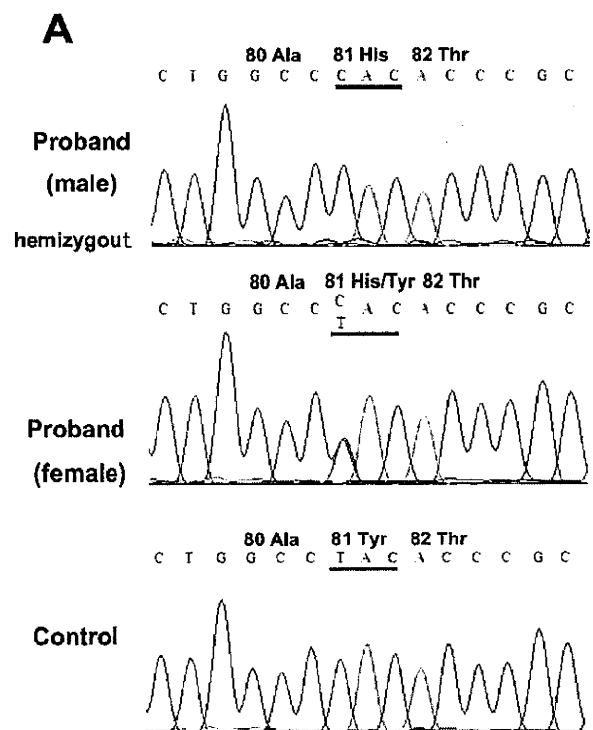
これらの結果から、*KCNE5*はBrSおよびIVF発症に関与し、これらの疾患における性差の理由の一つであると考えられる。また特に男性患者においては*KCNE5*の遺伝子変異解析が病態解明のためにも重要であると考えられる。なお、

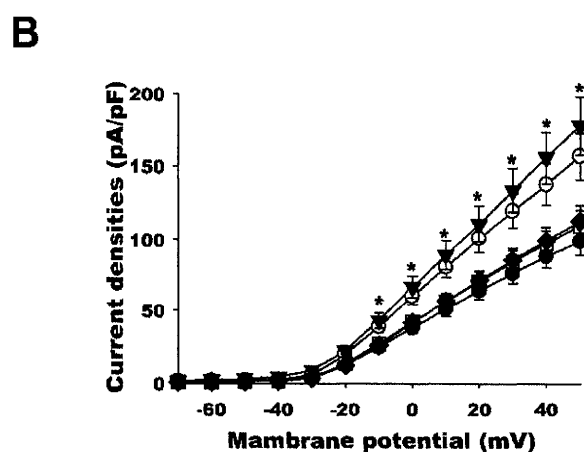
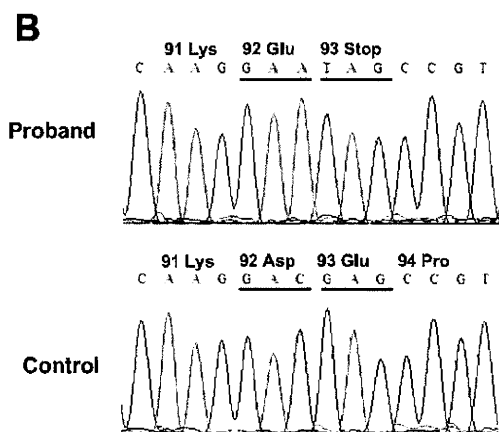
本研究の詳細は、Circulation Arrhythmia & Electrophysiology 誌にin pressである。G研究発表、論文欄（1）を参照ください。

F. 健康危険情報 特になし

図表の説明

図1: A: DNAシーケンスの結果、上から男性症例で、この場合X染色体はhemizygoutのため、CACとなり81番目のTyrosineはHistidineに置換している。中は女性例で、XXのためheterozygoutとなり、TACとCACの2つのパターンが検出された。controlは健常者。結果的に、*KCNE5* Y81Hのミスセンス変異である。B: 同様に*KCNE5* D92E-E93X変異を同定した。C: このY81, D92, E93はヒトのみならず、多くの種を越え、また、*KCNE*ファミリーの中でも、保存された配列である。





C

	transmembrane	
KCNE5 human	72	CLAGGLILAYTRSRLVEAKDEPSQAC-AE 100
KCNE5 rat	72	CLAGGLILAYTRSRLVEAKDEPPLACVAE 101
KCNE5 mouse	72	CLAGGLILAYTRSRLVEAKDEPPLACVAE 101
KCNE5 X. laevis	51	CLAGGLILAYTRSRLQESKND-PYHLYIER 79
KCNE1 human	56	FFTLGIMLSYIRSKKLEHSND-PFNVYIES 84
KCNE2 human	60	FIIIVAILVSTVSKRREHSND-PYHQYIVE 88
KCNE3 human	70	VTVGSLILGYTRSRLKVDKRSN-PYHVYIKN 98
KCNE4 human	48	IFLIGIMLYGMYSKRREKKSS-LLLLYKDE 76

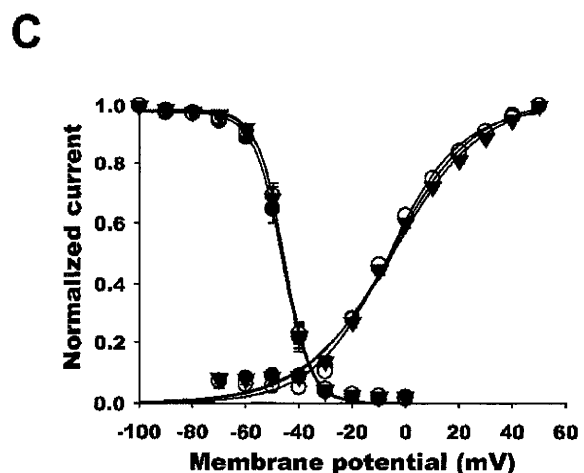
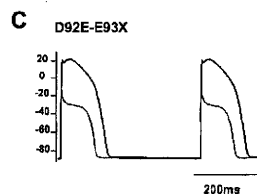
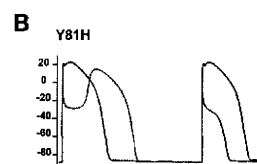
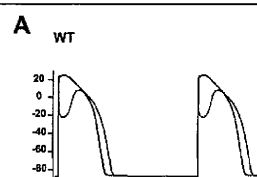
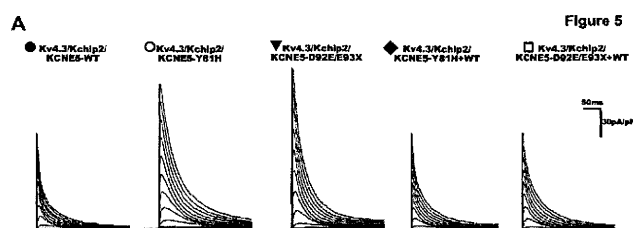


図2: A: 代表的な電流トレース。CHO細胞に Kv4.3/Kchip2およびWT KCNE5と2つの変異株を導入して、全細胞型パッチクランプによる機能解析を行っている。KCNE5 Y81HおよびD92E-E93X変異のホモでは、有意に再構築されるIto様電流が多くなること明らかである。B: 電流電圧関係を示す。* $P < 0.05$ vs. WT。C: Kv4.3/Kchip2/KCNE5により再構築されるIto様電流のKineticsを示す。変異によりkineticsに変化はみられない。

図3: パッチクランプによる機能解析から得られたデータをベースに活動電位のシミュレーションを行っている。A: WT, B: Y81H, C: D92E-E93X



G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohno S, Zankov DP, Ding WG, Itoh H, Makiyama T, Doi T, Shizuta S, Hattori T, Hancox JC, Matsuura H, **Horie M**: Novel KCNE5 variants are associated with Brugada syndrome and idiopathic ventricular fibrillation. *Circulation-Arrhythmia and Electrophysiology* (in press)
- 2) Doi T, Makiyama T, Morimoto T, Haruna Y, Tsuji K, Ohno S, Akao M, Takahashi Y, Kimura T, **Horie M**: A novel KCNJ2 nonsense mutation, S369X, impedes trafficking and causes a limited form of Andersen-Tawil syndrome. *Circulation: Cardiovascular Genetics* (in press)
- 3) Miyamoto A, Hayashi H, Ito M, **Horie M**: Remission of abnormal conduction and repolarization in the right ventricle after chemotherapy in patients with anterior mediastinal tumor. *J Cardiovasc Electrophysiol* (in press)
- 4) Li P, Ninomiya H, Kurata Y, Kato M, Miake J, Yamamoto Y, Igawa O, Nakai A, Higaki K, Toyoda F, Wu J, **Horie M**, Shirayoshi Y, Hiraoka M, Hisatome I: Reciprocal control of HERG stability by Hsp70 and Hsc70 with implication for Restoration of LQT2 Mutant Stability. *Circ Res* (in press)
- 5) Miyamoto A, Hayashi H, Makiyama T, Yoshino T, Mizusawa Y, Sugimoto Y, Ito M, Xue JQ, Murakami Y, **Horie M**: Risk determinants in individuals with a spontaneous type 1 Brugada ECG. *Circulation Journal* (in press)
- 6) Oka Y, Itoh H, Ding WG, Shimizu W, Makiyama T, Ohno S, Nishio Y, Sakaguchi T, Akashi M, Kawamura M, Matsuura H, **Horie M**: Atrioventricular block-induced *Torsades de Pointes* with clinical and molecular backgrounds similar to congenital Long QT syndrome. *Circulation Journal* 2010; 74: 2562-2571.
- 7) Ozeki Y, Fujii K, Kuromoto N, Yamada N, Okawa M, Aoki T, Takahashi J, Narita M, Ishida N, Saito O, **Horie M**, Kunugi H: QTc prolongation and antipsychotic medication in 1017 patients with schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010; 34: 401-405.
- 8) Wu J, Shimizu W, Ding WG, Ohno S, Toyoda F, Itoh H, Zang WJ, Miyamoto Y, Kamakura S, Matsuura H, Nademanee J, Brugada J, Brugada P, Brugada R, Vatta M, Towbin JA, Antzelevitch C, **Horie M**: KCNE2 modulation of Kv4.3 current and its potential role in fatal rhythm disorders. *Heart Rhythm* 2010; 7: 199-205.
- 9) Horigome H, Nagashima M, Sumitomo N, Yoshinaga M, Ushinohama H, Iwamoto M, Shiono J, Ichihashi K, Hasegawa S, Yoshikawa T, Matsunaga T, Goto H, Waki K, Arima M, Takasugi H, Tanaka Y, Miura M, Ogawa K, Suzuki H, Yamagishi H, Ikoma M, Suda K, Takagi J, Sato J, Shimizu H, Saiki H, Hoshiai M, Ichida F, Takeda S, Takigiku K, Inamura N, Kajino H, Murakami T, Shimizu W, **Horie M**: Clinical characteristics and genetic background of congenital long QT syndrome diagnosed in fetal, neonatal and infantile life. A nation-wide questionnaire survey in Japan. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2010; 3: 10-17.
- 10) Ishida K, Hayashi H, Miyamoto A, Sugimoto Y, Ito M, Murakami Y, **Horie M**: P-wave and the development of atrial fibrillation. *Heart Rhythm* 2010; 7: 289-294.
- 11) Watanabe H, Makiyama T, Koyama T, Kannankeril PJ, Seto S, Okamura K, Oda H, Itoh H, Okada M, Tanabe N, Yagihara N, Kamakura S, **Horie M**, Aizawa Y, Shimizu W: High prevalence of early repolarization in short QT syndrome. *Heart Rhythm* 7: 647-652, 2010.
- 12) Toyoda F, Ding WG, Zankov DP, Omatsu-Kanbe M, Isono T, **Horie M**, Matsuura

- H: Characterization of the rapidly activating delayed rectifier potassium current, I_{Kr} , in HL-1 mouse atrial myocytes. *Journal of Membrane Biology* 2010; 235: 73-87.
- 13) Yasuda S, Hiramatsu S, Odashiro K, Maruyama T, Tsuji K, **Horie M**: A family of hereditary long QT syndrome caused by Q738X HERG mutation. *Int J Cardiol.* 2010; 144: 69-72.
 - 14) Yamamura K, Muneuchi J, Uike K, Ikeda K, Inoue H, Takahata Y, Shiokawa Y, Yoshikane Y, Makiyama T, **Horie M**, Hara T: A novel SCN5A mutation associated with the linker between III and IV domains of Na(v)1.5 in a neonate with fatal long QT syndrome. *Int J Cardiol.* 2010; 145: 61-64.
 - 15) **Horie M**: Bi-directional ventricular tachycardia revised. *Journal of Arrhythmia* 2010; 26: 3-4.
 - 16) Itoh H, Shimizu W, Hayashi K, Yamagata K, Sakaguchi T, Ohno S, Makiyama T, Akao M, Ai T, Noda T, Miyazaki A, Miyamoto Y, Yamagishi M, Kamakura S, **Horie M**: Long QT syndrome with compound mutations is associated with a more severe phenotypes: A Japanese Multicenter Study. *Heart Rhythm* 2010; 7: 1411-1418.
 - 17) Nagaoka I, Shimizu W, Mizusawa Y, Sakaguchi T, Itoh H, Ohno S, Makiyama T, Yamagata K, Makimoto H, Miyamoto Y, Kamakura S, **Horie M**: Heart rate-dependent variability of cardiac events in type 2 congenital long-QT syndrome. *Europace* 2010; 12: 1623-1629.
 - 18) Hayashi H, Miyamoto A, Ishida K, Yoshino T, Sugimoto Y, Ito M, **Horie M**: Prevalence and QT interval of early repolarization in a hospital-based population. *Journal of Arrhythmia* 2010; 26: 127-133.
2. 学会発表
 - 1) Makiyama T, Watanabe S, Yamamura K, Arima M, Hattori T, Ohno S, Shizuta S, Doi T, Nishio Y, Itoh H, Akao M, Yokode M, Kimura T, **Horie M**: Both gain- and loss-of-function mutations in the cardiac Na channel gene, SCN5A, are associated with sudden infant death syndrome (SIDS). 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
 - 2) Miyamoto A, Hayashi H, Ishida K, Yoshino T, Sugimoto Y, Ito M, **Horie M**: P pulmonale and atrial fibrillation. ISHR2010 (2010.05.13-16, Kyoto)
 - 3) Hayashi H, Miyamoto A, Ishida K, Yoshino T, Sugimoto Y, Ito M, **Horie M**: J wave and intrathoracic tumor. ISHR2010 (2010.05.13-16, Kyoto)
 - 4) Itoh H, Shimizu W, Hayashi K, Yamagata K, Sakaguchi T, Makiyama T, Miyamoto Y, Yamagishi Y, Kamakura S, **Horie M**: Long QT syndrome with compound mutation is associated with a severer phenotype: a Japanese multicenter study. ESC Congress 2010 (2010.08.27- 09.01, Stockholm, Sweden)
 - 5) **Horie M**: Electrical cardiomyopathy: ion channel diseases. CJCF2010 (2010. 10.15-16 Beijing, China)
 - 6) Nakazawa Y, Ashihara T, Miyamoto A, Ozawa T, Itoh H, Sugimoto Y, Ito M, **Horie M**: Influence of pulmonary vein isolation on heart rate : A clinical study using event-ECG monitors. APHRS 2010/ APAFS2010 (2010.10.28-30, Jeju Island, Korea)
 - 7) Ashihara T, Haraguchi R, Nakazawa K, Namba T, Ikeda T, Nakazawa Y, Ozawa T, Itoh H, Ito M, **Horie M**: Roles of fibroblasts in the mechanisms of complex fractionated atrial electrograms and catheter ablation during chronic atrial fibrillation. APHRS2010/ APAFS 2010 (2010.10.28-30, Jeju Island, Korea)

- 8) **Horie M**: Genetic background of Japanese patients with long QT syndrome. APHRS2010/APAFS2010 (2010.10.28-30, Jeju Island, Korea)
- 9) Itoh H, Oka Y, Ding WG, Sakaguchi T, Kimura H, Mizusawa Y, Miyamoto A, Wu J, Ohno S, Makiyama T, Ito M, Matsuura H, **Horie M**: Latent genetic backgrounds and molecular pathogenesis in acquired long QT syndrome with distinct arrhythmic triggers. AHA Scientific Sessions 2010. (2010.11.14-17 Chicago Illinois U.S.A.)
- 10) Kimura H, Itoh H, Mizusawa Y, Miyamoto A, Oka Y, Kawamura M, Nishio Y, Sakaguchi T, Makiyama T, Ito M, **Horie M**: Carvedilol, an α 1- and Non-selective β - adrenoceptor blocker, for prevention of cardiac events in patients with type 2 long QT syndrome. AHA Scientific Sessions 2010. (2010.11.14 -17 Chicago Illinois U.S.A.)
- 11) Hattori T, Makiyama T, Akao M, Ehara E, Ohno S, Nishio Y, Itoh H, Yokode M, Kimura T, **Horie M**: A novel gain-of-function KCNJ2 mutation associated with short QT syndrome impairs inward rectification of Kir2.1 currents. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 12) Makimoto H, Yamagata K, **Horie M**, Ogawa S, Aizawa Y, Kusano K, Ohe T, Yamagishi M, Makita N, Tanaka T, Makiyama T, Akao M, Yoshinaga M, Miyamoto Y, Kamakura S, Shimizu W: Clinical features of long QT syndrome in pre-elementary age. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 13) Hayashi H, Miyamoto A, Ishida K, Sugimoto Y, Itoh M, **Horie M**: High prevalence of J wave in patients with intrathoracic Tumor. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 14) Shizuta S, Makiyama T, **Horie M**, Kita T, Kimura T: Brugada syndrome: Case presentation. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 フォーカスセッション (2010.03.05-07 京都)
- 15) Makiyama T, Akao M, Shizuta S, Doi T, Ohno S, Nishio Y, Hattori T, Yokode M, Kita T, **Horie M**: DCM: Case presentation and discussion. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 フォーカスセッション (2010.03.05-07 京都)
- 16) Jito Y, Itoh H, Ding WG, Shimizu W, Kawamura M, Makiyama T, Ohno S, Kawamura M, Miyamoto A, Ishida K, Ashihara T, Itoh M, Matsuura H, **Horie M**: Atrioventricular block-induced Torsades de Pointes had clinical and molecular backgrounds of not acquired but congenital long QT syndrome. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 17) Hanazawa K, Makiyama T, Kaitani K, Nakajima S, Nishiga M, Yamao K, Sakamoto J, Miyake M, Yoshitani K, Kondoh Hi, Izumi T, Izumi C, Nakagawa Y, **Horie M**: A novel mutation in KCNH2 gene associated with long QT syndrome and sinus bradycardia in a Japanese family. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 18) Itoh H, Jitoh Y, Sakaguchi T, Nishio Y, Makiyama T, Ohno S, Mizusawa Y, Miyamoto A, Ishida K, Kawamura M, Nakazawa Y, Yao T, Ashihara T, Sugimoto Y, Itoh M, Ding WG, Matsuura H, **Horie M**: Latent genetic backgrounds of acquired long QT syndrome. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 19) Yamagata K, **Horie M**, Ogawa S, Aizawa Y, Kusano K, Ohe T, Yamagishi M, Makita N, Tanaka T, Makiyama T, Akao M, Hagiwara N, Kishi R, Miyamoto Y, Kamakura S, Shimizu W: Clinical phenotype and prognosis of probands with brugada syndrome in relation to SCN5A mutation. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)

- 20) Nakajima S, Makiyama T, Hanazawa K, Nishiga M, Yamao K, Sakamoto J, Yoshitani K, Miyake M, Kondoh H, Motooka M, Kaitani K, Izumi T, Izumi C, Nakagawa Y, **Horie M**: A variety of arrhythmic phenotypes including sick sinus syndrome and ventricular arrhythmias in patients with SCN5A gene mutations. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 21) Ueyama T, Shimizu A, Yoshiga Y, Ohmiya T, Ohno M, Yoshida M, Hiratsuka A, Fukuda M, Matsuzaki M, Makiyama T, Itoh H, **Horie M**: Genetic variants of KCNQ1 and KCNE2 in patients with brugada syndrome and idiopathic ventricular fibrillation. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 22) Ashihara T, Haraguchi R, Nakazawa Y, Yao T, Itoh H, Nanba T, Nakazawa K, Ikeda T, Sugimoto Y, Itoh M, **Horie M**: Theoretical study on the mechanisms of complex fractionated atrial electrogram - targeted atrial fibrillation ablation. 第 74 回日本循環器学会総会・学術集会 (2010.03.05-07 京都)
- 23) **堀江 稔**: イオンチャネル病としての QT 延長症候群—多様な発症メカニズム—第 25 回犬山不整脈カンファレンス(2010.08.21 名古屋)
- 24) 菊池規子、松山優子、佐藤高栄、柳下大悟、鈴木 豪、志賀 剛、庄田守男、萩原誠久、**堀江 稔**: 新規 SCN5A 変異を認め心肺停止から蘇生された徐脈頻脈症候群を伴う LQ 延長症候群 (LQT3) の 1 例。日本循環器学会関東甲信越地方会 (2010.09.11 東京)
- 25) 牧元久樹、**堀江 稔**、小川 聡、相澤義房、大江 透、草野研吾、山岸正和、蒔田直昌、田中敏博、牧山 武、吉永正夫、萩原誠久、鎌倉史郎、宮本恵宏、清水 渉: 先天性 QT 延長症候群の遺伝子解析とその臨床的有用性—日本国内多施設登録からの検討—第 58 回日本心臓病学会学術集会 (2010.09.17-19 東京)
- 26) **堀江 稔**: 特発性心房細動 (ブルガダ・J 派症候群) の診断と治療 新潟/群馬循環器カンファレンス (2010.09.24 群馬)
- 27) 脇屋桃子、久次米真吾、伊藤尚志、榎本善成、森山明義、沼田綾香、熊谷賢太、酒井 毅、坂田隆夫、野呂真人、**堀江 稔**、杉 薫: 運動負荷後に前失神症状を繰り返していたが診断されず、ランニング後に心室細動となった若年男性の 1 例。第 27 回日本心電学会学術集会 (2010.10.08-09 大分)
- 28) 木村紘美、伊藤英樹、水澤有香、宮本 証、岡 優子、川村美朋子、西尾由貴子、坂口知子、丁 維光、牧山 武、伊藤 誠、松浦 博、**堀江 稔**: 非選択性 $\alpha 1\beta$ アドレナリン受容体遮断薬(カルベジロール)は 2 型 QT 延長症候群の心イベントを抑制する。第 27 回日本心電学会学術集会 (2010.10.08-09 大分)
- 29) **堀江 稔**: Hospital-based population における進行性心臓伝導障害の頻度とその予後。平成 22 年度厚生労働省科学研究費 (難治性疾患克服事業) 研究班第 2 回班会議 (2010.10.25 長崎)
- 30) **堀江 稔**: 薬物誘発性 QT 延長症候群の基礎と臨床 第 31 回日本臨床薬理学会年会 (2010.12.01-03 京都)
- 31) 大野将司、藤井祐介、小澤友哉、伊藤英樹、**堀江 稔**: カテーテルアブレーション術が困難であった不整脈源性右室心筋症の 1 例 第 69 回滋賀県循環器疾患研究会 (2010.12.04 滋賀)
- 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