

Brugada 症候群に対する運動負荷検査の有用性についての研究

分担研究者 清水 渉 国立循環器病研究センター 心臓血管内科 不整脈部 医長

研究要旨 Brugada 症候群では、副交感神経活性上昇が心室細動(VF)発生と関連すること、副交感神経活性が上昇する運動負荷回復期に右前胸部誘導で ST 上昇が増強することが報告されている。しかし、これまでに、運動負荷検査の臨床的意義の検討はなされていなかった。今回の、Brugada 症候群患者 93 名に対するトレッドミル検査での検討では、運動負荷回復期に ST 上昇が増悪した患者群で、フォローアップ中の VF 発生率が高く、Brugada 症候群患者の予後予測因子として運動負荷検査が有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

Brugada 症候群は、12 誘導心電図上の右側胸部誘導 (V1-V3 誘導) における ST 上昇を特徴とする、壮年期に心室細動(VF)による突然死を生じうる症候群である。

Brugada 症候群において、個々の患者の心室細動(VF)発症のリスクを評価することは、治療方針の確定のために重要である。しかし、VF の既往があること以外の予後予測因子、心室遅延電位や電気生理検査における VF 誘発などに関しては、現在に至っても有用性について意見が分かれている。

これまでに、Brugada 症候群の VF 発症には副交感神経の活性が関連していることが報告されている。また、副交感神経活性亢進が、特徴である右側胸部誘導(V1-3)での ST 上昇の増強を誘発されることも知られている。

トレッドミル検査などの運動負荷試験終了後には、交感神経活性の低下とともに、副交感神経活性化が起こることがわかっており、その指標の 1 つとして、運動終了後 1 分間での心拍数の減少(心拍数回復)が知られている。

そこで、今回我々は、Brugada 症候群患者に、トレッドミル検査を行い、運動後回復期の心電図変化とその後の VF 発症の関連、及び、心拍数回復と運動負荷後の心電図変化について検討を行った。

B. 研究方法

ブルガダ症候群患者 93 名(VF 既往: 22 名、失神既往: 35 名、無症候: 36 名)にトレッドミル運動負荷検査を行った。運動負荷回復期 1-4 分での運動負荷前より 0.05mV 以上の ST 電位上昇を有意な ST 上昇増強と定義した。運動終了から 1 分間の心

拍数回復を副交感神経再活性化の指標とした。エンドポイントは心イベント（突然死、心室細動(VF)）の発生とした。

(倫理面への配慮)

検査前の説明により検査に御同意いただいた。また、データの匿名化により個人を特定できないよう配慮を行った。

C. 研究結果

運動負荷回復期 1-4 分に 34 名(37%)で有意な ST 上昇増強を認め、他の 59 名(63%)には ST 上昇増強を認めなかった。ST 上昇が最も増強するのは回復期 3 分前後であった。ST 上昇増強群と ST 上昇非増強群で、VF の既往、失神の既往、年齢、PR 時間、QRS 時間などの因子に有意な差を認めなかった。

心拍数回復は ST 上昇増強群で ST 上昇非増強群と比較して有意に高値を示した($p < 0.001$)。

平均 76 ヶ月のフォローアップ期間中に、25 名(27%)で心イベント(VF)の発生を認めた。ST 上昇増強群では、ST 上昇非増強群と比較して、有意に心イベント発生率が高値であった(15/34 対 10/59、 $P = 0.003$ 、log-rank 検定)。しかし、心拍数回復の大きさと心イベント発生との間には関連を認めなかった($p = 0.44$)。

D. 考察

運動終了後の副交感神経活性上昇を利用し、運動負荷試を Brugada 症候群の予後予測因子として利用できる可能性が示唆された。しかし、副交感神経活性上昇の指標として用いた、回復期 1 分での心拍数回復は予後との関連を示さなかった。このことは、回復期 1 分での心拍数回復は、運動直

後の副交感神経活性上昇の指標であり、ST 上昇増強が最大となる回復期3分の副交感神経活性を反映していない可能性が原因として考えられた。今後は、より精細に副交感神経活性を評価可能な、心拍数変動などを取り入れていくことを考慮すべきと考えられた。

E. 結 論

ブルガダ症候群患者において、運動負荷回復期の ST 上昇増強は副交感神経再活性化と関連しており、予後予測因子となりうることが示された。しかし、心拍数回復を指標とした副交感神経再活性化は予後との関連を示さず、致死的不整脈発生には複数の要因が関与している事が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 清水 渉: 10. Brugada 症候群. X.不整脈 (分担), 「循環器疾患 最新の治療 2010-2011」(堀 正二, 永井良三編集): p. 323-326, 南江堂, 2010
2. 清水 渉: 9. QT 延長症候群. B. 不整脈. 第4章 各疾患のみかたと対応. (分担), 循環器研修ノート (永井良三総編集): p. 446-449, 診断と治療社, 2010
3. 清水 渉: QT 延長症候群. D. 心室細動 4章: 心室性不整脈の薬物治療 (分担), シリーズ《今日の循環器病の臨床》⑥「不整脈の薬物治療」(永井良三, 山下武志編集): p. 148-154, 中山書店, 2010
4. 清水 渉: 心室細動(QT 延長症候群, Brugada 症候群を含む). 第4章 不整脈・突然死・失神 (分担), 『カラー版 循環器病学 基礎と臨床』(川名正敏, 北風政史, 小室一成, 室原豊明, 山崎 力, 山下武志編集): p. 564-581, 西村書店, 2010
5. 清水 渉: N. QT 延長症候群. VI 章 検査と治療の実際. (分担), 読める!使える!治せる! EPS (村川裕二, 山下武志編集): p. 331-339, 南江堂, 2010
6. 清水 渉: 3. QT 延長症候群. D. 心室細動. 4章: 心室性不整脈の薬物治療. (分担), 患者アウトカムからみた不整脈の薬物治療 (山下武志編集): p. 148-154, 中山書店, 2010
7. Shimizu W: Editorial Commentary. Diagnostic values of bipolar precordial leads in Brugada syndrome: More accurate, more simple, or more theoretical? *Heart Rhythm* 7: 216-217, 2010
8. Shimizu W: How the knowledge of genetic "makeup" and cellular data can affect the analysis of repolarization in surface ECG. *J Electrocardiol* 43: 583-587, 2010
9. 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: 186-192, 2010
10. Kapplinger JD, Tester DJ, Alders M, Benito B, Berthet M, Brugada J, Brugada P, Fressart V, Guerschicoff A, Harris-Kerr C, Kamakura S, Kyndt F, Koopmann TT, Miyamoto Y, Pfeiffer P, Pollevick GD, Probst V, Zumhagen S, Vatta M, Towbin JA, Shimizu W, Schulze-Bahr E, Antzelevitch C, Salisbury BA, Guicheney P, Wilde AA, Brugada R, Schott JJ, Ackerman MJ: An international compendium of mutations in the SCN5A-encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing. *Heart Rhythm* 7: 33-46, 2010
11. Wu J, Shimizu W, Ding WG, Ohno S, Toyoda F, Itoh H, Zang WJ, Miyamoto Y, Kamakura S, Matsuura H, Nademanee K, 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
12. 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, Tauchi N, Ikoma M, Inamura N, Takahashi H, 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 Arrhythmia and Electrophysiol* 3: 10-17, 2010
13. Nakano Y, Shimizu W, Ogi H, Suenari K, Oda N, Makita Y, Kajihara K, Hira Y, Sairaku A, Tokuyama T, Tonouchi Y, Ueda S, Sueda T, Chayama K, Kihara Y: Spontaneous type 1 electrocardiogram pattern in the V2 lead is an independent predictor of ventricular fibrillation in Brugada syndrome. *Europace* 12: 410-416, 2010
14. Watanabe H, Makiyama T, Koyama T, Kannankeril PJ, Seto S, Okamura K, Oda H, Ito H, Okada M, K, Tanabe N, Kamakura K, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W: High prevalence of early repolarization in short QT syndrome.. *Heart Rhythm* 7: 647-652, 2010
15. 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 LQT2 form of congenital long-QT syndrome. *Europace* 12: 1623-1629, 2010

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 phenotype: A Japanese multicenter study. *Heart Rhythm* 10: 1411-1418, 2010
17. 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
18. Oka Y, Itoh H, Ding WG, **Shimizu W**, Makiyama T, Ohno S, Nishio Y, Sakaguchi T, Miyamoto A, Kawamura M, Matsuura H, Horie M: Atrioventricular block-induced torsades de pointes with clinical and molecular backgrounds similar to congenital long QT syndrome. *Circ J* 74: 2562-2571, 2010
19. Goldenberg I, Horr S, Moss AJ, Lopes CM, Barsheshet A, McNitt S, Zareba W, Andrews ML, Robinson JL, Locati EH, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Napolitano C, Platonov PG, Priori SG, Qi M, Schwartz PJ, **Shimizu W**, Towbin JA, Vincent GM, Wilde AA, Zhang L: Risk for Life-threatening cardiac events in patients with genotype-confirmed long-QT syndrome and normal-range corrected QT intervals. *J Am Coll Cardiol* 57:51-59, 2010
20. **Shimizu W**, Horie M: Phenotypical manifestations of mutations in genes encoding subunits of cardiac potassium channels. *Circ Res*, 2011 (in press)
21. Aiba T, **Shimizu W**: Editorial Commentary. Molecular screening of long-QT syndrome: risk is there or rare? *Heart Rhythm* 8: - , 2011 (in press)

2. 学会発表

1. **Shimizu W**: Molecular genetics of long QT

syndrome. Symposium 3 (L-D2): "Genetic background of lethal arrhythmias" XX ISHR World Congress 2010, Kyoto, 2010. 5. 13.

2. **Shimizu W**: Potential influences of cardiac autonomic nerves on cardiac events in patients with ion channelopathy. Special symposium: "Memories and future" from pursuit of the mechanisms of cardiac arrhythmias in honor of Peng-Sheng Chen" 3rd Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session 2010, Jeju Island, 2010. 10. 28.
3. **Shimizu W**: Cellular and molecular mechanism of Brugada syndrome. Plenary session 02: SCD: Recent updates of sudden cardiac death and channelopathies. 3rd Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session 2010, Jeju Island, 2010. 10. 29.
4. **Shimizu W**: Genotype-phenotype aspects of the long QT syndrome. Symposium 18: Updates in ARVD/LQTS/BS. 3rd Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session 2010, Jeju Island, 2010. 10. 29.
5. **Shimizu W**: Clinical manifestation and risk stratification of Brugada syndrome. Joint Session with Asia Pacific Heart Rhythm Society. Topic: Inherited Arrhythmic Disorders in the Asia Pacific Region. CardioRhythm 2011, Hong Kong, 2011. 2. 26.
6. **Shimizu W**: Understanding QT Syndromes. In honor of Professor Douglas Zipes - Special Symposium in Basic EP. CardioRhythm 2011, Hong Kong, 2011. 2. 26.

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
牧元久樹

(国立循環器病研究センター 心臓血管内科)

進行性伝導障害例と考えられる右脚ブロック症例の疫学

研究分担者 赤星 正純 放射線影響研究所 臨床研究部長

研究要旨 完全右脚ブロック（CRBBB）症例で、その後ペースメーカー植込みが必要となった症例の中には、進行性伝導障害症例も含まれると考えられる。このため、1958年から2年毎に心電図検査を含む健診を受けている被爆者集団で、データベースが完備された1967年以降にCRBBBと診断された症例の予後を検討した。CRBBB出現後に左軸または右軸偏位が出現して2枝ブロックへと進行し、最終的には完全房室ブロックあるいは洞機能不全症候群のためにペースメーカー植込みが必要となった症例を認め、進行性伝導障害症例と考えられた。

A. 研究目的

心電図検査で通常よく認められる完全右脚ブロック（CRBBB）症例で、その後ペースメーカー植込みが必要となった症例あるいは不慮の死亡と判断された症例の中には、進行性伝導障害症例も含まれると考えられる。疫学的に上記のような経過をたどるCRBBB症例の特徴を明らかにし、さらに可能ならばこれらの症例で遺伝子解析を行う。

B. 研究方法

放射線影響研究所（放影研）では約23,400名の被爆者を対象に、1958年より心電図検査を含む健診を2年毎に行っている。コンピュータデータベース上で心電図診断のコード化が終了しているのは、1967年以降である。このため今回の調査には1967年から2010年にかけて、一度でも心電図記録が行われた16,322名を対象とした。一度でもCRBBBとコードされている症例は1,127症例であったが、実際にこれらの症例の心電図所見を再確認したところ、976名がCRBBBと診断された。このCRBBB症例について、CRBBB診断後にQRS左軸偏位（ $-30^{\circ}\sim-98^{\circ}$ ）あるいはQRS右軸偏位（ $+120^{\circ}\sim-150^{\circ}$ ）出現の有無、およびペースメーカー植込みの有無について調査した。また、放影研では全調査対象者の死亡情

報が入手されており、この情報に基づき不慮の死亡（症状出現後1時間以内に起こった病院外での死亡およびVFが原因と考えられる事故死）についても調査した。

（倫理面への配慮）

疫学的研究については、放影研の人権擁護調査委員会で承認されている。遺伝子解析についてはまだ行っていない。

C. 研究結果

976例のCRBBB症例中ペースメーカー植込み例は29例（ $29/976=3.0\%$ 、平均年齢 78.1 ± 9.9 才）であり、その原因疾患は完全房室ブロック10例（ $10/29=34.5\%$ ）、洞機能不全症候群12例（ $12/29=41.4\%$ ）、徐脈性心房細動2例（ $2/29=6.9\%$ ）、不明5例（ $5/29=17.2\%$ ）であった。また、不慮の死亡は11例（ $11/976=1.1\%$ 、平均年齢 72.7 ± 17.1 才）に認めた。左軸または右軸偏位を合併した症例は、ペースメーカー植込みまたは不慮の死亡を認めなかったCRBBB症例では936例中267例（ 28.5% ）であったが、全ペースメーカー植込み例では29例中17例（ 58.6% ）で、その内訳は完全房室ブロック7例（ $7/10=70.0\%$ ）、洞機能不全症候群7（ $7/12=58.3\%$ ）、徐脈性心房細動0例（ $0/2=0\%$ ）、不明3例（ $3/5=60.0\%$ ）であった。また不慮の死亡11例中5例（ 45.5% ）で左軸または右軸偏位を合併

していた。

D. 考察

CRBBB 症例でペースメーカー植込みが行われたのは 29 例 (3.0%) であった。その原因疾患は 10 例 (34.5%) が完全房室ブロックであり、12 例 (41.4%) が洞機能不全症候群であった。完全房室ブロック 10 例中 7 例 (70.0%) および洞機能不全症候群 12 例中 7 例 (58.3%) に左軸または右軸偏位が合併していた。以上より、CRBBB から伝導障害の範囲が広がり、その後 2 枝ブロックとなり、最終的には完全房室ブロックあるいは洞機能不全症候群となる進行性伝導障害症例が存在する可能性が示唆された。今後は、これら症例の心電図の特徴をさらに明らかにし、遺伝子解析も行う。

E. 結論

伝導障害の範囲が最初は CRBBB から始まりその後 2 枝ブロックとなり、最終的には完全房室ブロックあるいは洞機能不全症候群となる一連の進行性伝導障害症例が存在すると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takahashi I, Geyer SM, Nishi N, Ohshita T, Takahashi T, **Akahoshi M**, Fujiwara S, Kodama K, Matsumoto M. Lifetime risk of stroke and impact of hypertension: estimates from the adult health study in Hiroshima and Nagasaki. *Hypertens Res*. 2011. [Epub ahead of print].
2. Hida A, Imaizumi M, Sera N, **Akahoshi M**, Soda M, Maeda R, Nakashima E, Nakamura H, Ida H, Kawakami A, Eguchi K. Association of human T lymphotropic virus type I with Sjogren syndrome *Ann Rheum Dis*. 2010;69:2056-7.
3. Ashizawa K, Imaizumi M, Usa T, Tominaga T,

Sera N, Hida A, Ejima E, Neriishi K, Soda M, Ichimaru S, Nakashima E, Fujiwara S, Maeda R, Nagataki S, Eguchi K, **Akahoshi M**. Metabolic cardiovascular disease risk factors and their clustering in subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;72(5):689-95.

4. Tsuneto A, Hida A, Sera N, Imaizumi M, Ichimaru S, Nakashima E, Seto S, Maemura K, **Akahoshi M**. Fatty liver incidence and predictive variables. *Hypertens Res*. 2010;33(6):638-43.
5. Suzuki G, Cullings H, Fujiwara S, Matsuura S, Kishi T, Ohishi W, **Akahoshi M**, Hayashi T, Tahara E. LTA 252GG and GA genotypes are associated with diffuse-type noncardia gastric cancer risk in the Japanese population. *Helicobacter*. 2009;14(6):571-9.
6. Haruta D, Matsuo K, Ichimaru S, Soda M, Hida A, Sera N, Imaizumi M, Nakashima E, Seto S, **Akahoshi M**. Men with Brugada-like electrocardiogram have higher risk of prostate cancer. *Circ J*. 2009;73(1):63-8.

2. 学会発表

1. Haruta D, Matsuo K, Tsuneto A, Ichimaru S, Hida A, Sera N, Imaizumi M, Nakashima E, Maemura K, **Akahoshi M**. Prevalence, incidence and prognostic value of early repolarization pattern. The 75th Annual Meeting of the Japanese Circulation Society. March 18-20, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

春田大輔：放射線影響研究所非常勤研究員

進行性心臓伝導障害に同定されたコネキシン 40 の新規遺伝子変異の機能解析

分担研究者 関 明子 東京女子医科大学循環器内科

研究要旨 昨年度、我々は進行性心臓伝導障害(PCCD) 家系に初めてギャップジャンクション(GJ)の構成蛋白であるコネキシン(Cx)遺伝子のスクリーニングを行い、心臓刺激伝導系に分布している Cx40 遺伝子に 1 個のアミノ酸変異を同定した。この変異 Cx40 遺伝子について、ダブルホールセルパッチクランプ法を用いた機能解析を行ったところ、野生型に対して変異型は機能が 10 分の 1 以下に低下していた。本年度は bicystronic vector を用いた更なる解析により、ヘミチャネルを構成する 6 個のコネキシンのうち、野生型と変異型の比率によってチャネルの機能が規定されることが推察された。

A. 研究目的

本研究の目的は、CCD 家系について本研究グループが初めて変異を同定したギャップジャンクション(GJ)の構成蛋白、コネキシン 40(Cx40)遺伝子の機能解析を行い、CCD の病態を解明することである。

B. 研究方法

症例から得られた変異 Cx40 (Q58L)を強制発現させた培養細胞 (N2A 細胞) のペアを用いて、ダブルパッチクランプ法により GJ チャネルの機能解析 (ホールセル電流及びシングルチャネル解析) を行った。

(倫理面への配慮)

研究者には、患者の名前など個人情報は一切知らされていない。

C. 研究結果

野生型チャネルと変異チャネルを1:1の割合で共発現させた細胞において、パッチクランプ法による機能解析を行うと、ホールセル電流は野生型の約2分の1であった。bicystronicなベクター (pIRES2) に野生型と変異型の遺伝子を導入したベクターを用いると、野生型の発現が多い時にはホールセル電流は野生型のみのチャネルとほぼ同じ値を示し、変異型が多いときにはホールセル電流は変異型のみのチャネルと近い値を示した。

D. 考察

Cx40は心臓伝導系に分布するCxの1つであり、変異 Cx40 によって GJ チャネルの機能が低下すると、心臓伝導系の伝導に障害が起きる可能性がある。症例はヘテロであり、野生型と変異型を両方発現していると考えられる。今回の結果からは、野生型と変異型の Cx が入り混じる GJ チャネルにおいては、野生型 Cx の比率が高いチャネルは野生型とほぼ同じ機能を有するが、変異型 Cx の比率が高いチャネルは著しく機能が損なわれており、病態に関与していると考えられる。

E. 結論

Cx40Q58L 変異チャネルは、膜への輸送は障害されていないが、野生型に比べてホールセル電流、シングルチャネル電流共に著しく低下している。変異コネキシンが野生型コネキシンと共に GJ チャネルを形成する際には、その比率によって、チャネルの著しい機能低下が起これ、全体として、チャネルを介した細胞間コミュニケーションが減少するために、心臓刺激伝導系の伝導に障害が起こることが推測された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表：未発表(投稿準備中)

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

lamin A/C 関連心筋症の疾患特異的ヒト iPS 細胞作製・解析

分担研究者 牧山 武（京都大学大学院医学研究科循環器内科学）

研究要旨 lamin A/C 遺伝子は、核膜の裏打ち蛋白である lamin A, C をコードし、核膜の構造保持や DNA 転写、遺伝子発現に重要な役割を果たす。本遺伝子異常はラミノパチーと呼ばれる種々の疾患を引き起こし、特に心臓では、拡張型心筋症+心臓伝導障害を呈する。lamin A/C 関連心筋症は、致死性不整脈や重症心不全の合併により予後不良であり、根本的治療法のない難治性疾患である。我々は、lamin A/C 関連心筋症の病態解明、治療法開発を目指し、患者由来疾患特異的ヒト iPS 細胞を作製し、解析を進めている。

A. 研究目的

進行性伝導障害+拡張型心筋症を呈する lamin A/C 関連心筋症患者よりヒト人工多能性幹（induced pluripotent stem: iPS）細胞を作製し、病態解明を行うこと。

B. 研究方法

家系内に複数のペースメーカー植込み症例を認め、拡張型心筋症+心臓刺激伝導障害を来し、lamin A/C 遺伝子変異が同定されている lamin A/C 関連心筋症患者より、皮膚を採取し、皮膚線維芽細胞を樹立した。ヒト iPS 細胞の作製は、高橋、山中らの方法（Cell 131: 861-872）を用い、レトロウイルスにて以下の4遺伝子(OCT3/4、SOX2、KLF4、c-MYC)を導入し、iPS細胞を得た。iPS細胞における lamin A/C 遺伝子発現は免疫染色、QPCR法を用いて行った。また、電子顕微鏡にて核膜構造の観察を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、京都大学医の倫理委員会にて承認済みである。

C. 研究結果

Lamin A/C関連心筋症（S303fsX25変異）の患者から4mmトレパンにて皮膚生検を行い、10%FBS/DMEM液3週間培養により皮膚線維芽細胞

を樹立した。線維芽細胞にレンチウイルスにてマウスSlc7a1遺伝子を導入し、その後、レトロウイルスにて山中4因子（OCT3/4、SOX2、KLF4、c-MYC遺伝子）を導入した。約3週間にiPS細胞colonyが出現し、複数のcolonyを樹立した。このように作製したiPS細胞において、抗lamin A/C抗体を用いた免疫染色を行ったところ、線維芽細胞に比べ、コントロールiPS細胞（201B7）、患者iPS細胞では核膜にて著明な発現低下を認めた。以上よりiPS細胞においては、lamin A,Cの発現は低いと考えられた。次にQPCR法にてiPS細胞における lamin A/C遺伝子のmRNA定量を行った。lamin A/C 遺伝子N末primerを用いた解析では、患者iPS細胞にてmRNA低下を認めなかった。患者の遺伝子異常は、フレームシフト変異でstop codonが挿入される変異であり、non-translated mRNA decayはiPS細胞レベルでは生じていないと推察された。電子顕微鏡を用いたiPS細胞核膜の解析では、明らかな核膜の損傷を認めなかった。現在、胚葉体形成法を用い、自己拍動する心筋を作製しており、引き続き分化心筋において、疾患の再現性の確認、発症メカニズムの解析を進めている。

D. 考察

本研究にて、lamin A/C 関連心筋症患者から疾患特異的ヒト iPS 細胞を作製した。現在まで遺伝性心疾患の解析は実際の患者心筋を解析するこ

とは困難であったが、疾患特異的ヒト iPS 細胞技術を用いることにより、更なる病態解明、治療法の開発につながると考える。

E. 結論

lamin A/C 関連心筋症は、拡張型心筋症+心臓刺激伝導障害を来す難治性疾患であり、疾患特異的ヒト iPS 細胞を用いた解析が病態解明や薬効評価に役立つと期待される。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① 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. *Circ J*. 2011 Feb 18.
- ② Oka Y, Itoh H, Ding WG, Shimizu W, Makiyama T, Ohno S, Nishio Y, Sakaguchi T, Miyamoto A, Kawamura M, Matsuura H, Horie M. Atrioventricular block-induced Torsades de Pointes with clinical and molecular backgrounds similar to congenital long QT syndrome. *Circ J*. 2010 Nov 25;74(12):2562-71.
- ③ 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 Nov;12(11):1623-9.
- ④ 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*. 2010 Oct;7(10):1411-8.
- ⑤ 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*. 2010 May;7(5):647-52.

- ⑥ 牧山武, 静田聡, 赤尾昌治, 木村剛, 堀江稔 家族性ベースメーカー植込み症例における遺伝的背景の検討—心臓 Na⁺チャネル病、Lamin A/C 遺伝子関連心筋症—心電図 2010 30:201-209

2. 学会発表

- ① 牧山武: Inherited Ventricular Arrhythmic Disorders in Asia: What's New and What's Different from US and Europe? *Heart Rhythm*, Denver, USA, 5.15, 2010.
- ② 牧山武: Both Gain- and Loss-of-Function Mutations in the Cardiac Na⁺ Channel Gene, SCN5A, are Associated with Sudden Infant Death Syndrome (SIDS). 第74回日本循環器学会学術集会(Focus session), 京都, 3.5-7, 2010.
- ③ 牧山武: Dilated Cardiomyopathy: DCM, Case presentation. 第74回日本循環器学会学術集会(Focus session), 京都, 3.5-7, 2010.
- ④ 服部哲久: A novel gain-of-function KCNJ2 mutation associated with short QT syndrome impairs inward rectification of Kir2.1 currents. 第74回日本循環器学会学術集会(Featured research session), 京都, 3.5-7, 2010.
- ⑤ 若本陽子: 心筋症における遺伝的背景の検討 (ミオシン重鎖遺伝子解析), 第27回日本心電学会学術集会, 大分, 10.8-9, 2010.

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

進行性心臓伝導障害の罹患率、発症率と危険因子の同定

研究代表者又は研究分担者 渡部 裕 新潟大学医歯学総合病院 第一内科

研究要旨 進行性心臓伝導障害の病態を明らかにするため、新潟県の基本健診データを用いて様々な伝導障害の発症率と最も重症な臨床型である完全房室ブロックの危険因子を昨年度の検討よりさらに詳細に検討した。多変量解析にて一度房室ブロック、二度房室ブロック、左脚ブロックは完全房室ブロックのリスクファクターとならない症例においても有意であった。

A. 研究目的

進行性心臓伝導障害の発症頻度を検討し、危険因子を同定すること。

B. 研究方法

新潟県成人病予防協会では新潟県住民を対象として基本健診を施行しており、住民の健康増進のためデータを蓄積してきた。この基本健診データを基にして心臓伝導障害発症率ならびに完全房室ブロック発症の危険因子を前向きコホート研究にて検討した。昨年度の結果を受けて、より詳細に完全房室ブロックのリスクファクターを検討した。

（倫理面への配慮）

各施設の倫理委員会の承認を得た上でデータは不可逆的匿名化した上で、解析に用いた。

C. 研究結果

平均8.3±4.4年の経過観察において180152人中127人（0.07%）が完全房室ブロックを発症した。多変量解析において、一度房室ブロック、左脚ブロック、二度房室ブロック、左室肥大、心房細動、非特異的なST-T変化は完全房室ブロック発症のリスクファクターであった。また心疾患や高血圧といった既知のリスクファクターを有さない症例においても上述の因子は完全房室ブロック発症のリスクファクターであった。

D. 考察

伝導障害は進行性であり、心疾患や高血圧といった既知のリスクファクターを有さない症例においても心電図異常を有する症例の注意深い経過観察が必要である。

E. 結論

様々な心電図異常が完全房室ブロックの発症に影響することが明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Chinushi M, Iijima K, Furushima H, Izumi D, Sato A, Yagihara N, Hasegawa K, Watanabe H, Soejima K, Aizawa Y. Suppression of Storms of Ventricular Tachycardia by Epicardial Ablation of Isolated Delayed Potential in Noncompaction Cardiomyopathy. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2011.

2. Obata H, Watanabe H, Ito M, Hirono S, Hanawa H, Kodama M, Aizawa Y. Effects of combination therapy with warfarin and bucolome for anticoagulation in patients with atrial fibrillation. *Circ J.* 2010;75:201-203.

2. 学会発表

1. Watanabe H, Watanabe T, Tanabe N, Aizawa Y, Makita N. Electrocardiographic risk factors for complete atrioventricular block: The Niigata Preventive Medicine Study. *AHA Scientific Sessions 2010.*

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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
蒔田直昌	不整脈と遺伝子異常	川名正敏、北風政史、小室一成、室原豊明、山崎力、山下武志	循環器病学基礎と臨床	西村書店	東京	2010	382-393
Makita N	Phenotypic Overlap of Lethal Arrhythmias Associated with Cardiac Sodium Mutations. Individual-specific or mutation-specific?	Bohuslav Ostadal, Makoto Nagano, Naranjan S. Dhalla, CM	Genes and Cardiovascular Function	Springer	New York	2011	In press
堀江 稔	心房細動	山口 徹、北原 光、福井次矢	今日の治療指針 私はこう治療している2010年度版	医学書院	東京	2010	300-302
堀江 稔	ARB/ACE-Iによる心房細動抑止効果	山口 徹、高本眞一、小室一成、佐地 勉	Annual Review 循環器 2010	中外医学社	東京	2010	182-188
堀江 稔	脚ブロック	堀 正二、永井良三	循環器疾患最新の治療2010-2011	南江堂	東京	2010	287-290
堀江 稔	QT延長症候群	小室一成	循環器疾患のサイエンス	南江堂	東京	2010	155-159
堀江 稔	QT延長症候群	金澤一郎、永井良三	II 疾患編 4循環器疾患 今日の診断指針 第6版	南山堂	東京	2010	888-890
水澤有香、堀江 稔	QT短縮症候群における突然死	田邊晃久	心臓突然死を予知するための不整脈ノンインベシブ検査	医学書院	東京	2010	36-43
清水 渉	Brugada症候群	堀 正二、永井良三	「循環器疾患 最新の治療 2010-2011」	南江堂	東京	2010	323-326
清水 渉	QT延長症候群	永井良三	循環器研修ノート	診断と治療社	東京	2010	446-449
清水 渉	QT延長症候群	永井良三、山下武志	不整脈の薬物治療	中山書店	東京	2010	148-154

清水 渉、 相庭武司、 山田優子、 岡村英夫、 野田 崇、 里見和浩、 須山和弘、 相原直彦、 栗田隆志、 鎌倉史郎	先天性QT延長症候群 におけるelectrical stor mに対するCa拮抗薬の 使い方	有田 眞、 蒔田直昌、 小野克重、 平岡昌和	不整脈にCa拮抗薬 とATPをどう使う か	ライフメデ ィコム	東京	2010	95-106
清水 渉	不整脈薬物治療に關す るガイドライン	山口 徹、 北原光夫、 福井次矢	今日の治療指針 2010年版	医学書院	東京	2010	1721-1727
清水 渉	心室細動	川名正敏、 北風政史、 小室一成、 室原豊明、 山崎 力、 山下武志	循環器病学 基礎と臨床	西村書店	東京	2010	564-581
清水 渉	QT延長症候群	村川裕二、 山下武志	読める!使える!治 せる! EPS	南江堂	東京	2010	331-339
清水 渉	QT短縮症候群	村川裕二、 山下武志	読める!使える!治 せる! EPS	南江堂	東京	2010	340-342
清水 渉	QT dynamics	田邊晃久	心臓突然死を予知 するための不整脈 ノンインベイスブ 検査	南江堂	東京	2010	166-176

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
蒔田直昌	不整脈とイオンチャンネル 病	医学のあゆみ	216	619-626	2010
蒔田直昌	カルシウム拮抗薬 不整 脈における使い方	Heart View	14	111-115	2010
Takahashi I, Geyer SM, Nishi N, Ohshita a T, Takahashi T, A kahoshi M, Fujiwarath S, Kodama K, Mat sumoto M.	Lifetime risk of stroke and impact of hypertension: es timates from the adult heal th study in Hiroshima and Nagasaki.	Hypertens Res.		In press	2011
Hida A, Imaizumi M, Sera N, Akahoshi i M, Soda M, Maeda a R, Nakashima E, Nakamura H, Ida H, Kawakami A, Eguc hi K.	Association of human T ly mphotropic virus type I wit h Sjogren syndrome.	Ann Rheum Dis.	69	2056-7	2010

Haruta D, Matsuo K, Ichimaru S, Soda M, Hida A, Sera N, Imaizumi M, Nakashima E, Seto S, <u>Akahoshi M.</u>	Men with Brugada-like electrocardiogram have higher risk of prostate cancer.	Circ J.	73	63-8	2009
Ohno S, Zankov P, Ding WG, Itoh H, <u>Makiyama T</u> , Doi T, Shizuta S, Hattori T, Hancox JC, Matsuura H, <u>Horie M</u>	Novel KCNE5 variants are associated with Brugada syndrome and idiopathic ventricular fibrillation.	Circulation-Arrhythmia and Electrophysiology		In press	
Doi T, <u>Makiyama T</u> , Morimoto T, Haruna Y, Tsuji K, Ohno S, Akao M, Takahashi Y, Kimura T, <u>Horie M</u>	A novel KCNJ2 nonsense mutation, S369X, impedes trafficking and causes a limited form of Andersen-Tawil syndrome.	Circulation: Cardiovascular Genetics		In press	
Miyamoto A, Hayashi H, Ito M, <u>Horie M</u>	Remission of abnormal conduction and repolarization in the right ventricle after chemotherapy in patients with anterior mediastinal tumor.	J Cardiovasc Electrophysiol.		In press	
Li P, Ninomiya H, Kurata Y, Kato M, Miake J, Yamamoto Y, Igawa O, Nakai A, Higaki K, Toyoda F, Wu J, <u>Horie M</u> , Shirayoshi Y, Hirayama M, Hisatome I.	Reciprocal control of HERG stability by Hsp70 and Hsc70 with implication for restoration of LQT2 mutant stability.	Circulation Research		In press	
Miyamoto A, Hayashi H, <u>Makiyama T</u> , Yoshino T, Mizusawa Y, Sugimoto Y, Ito M, Xue JQ, Murakami Y, <u>Horie M</u> .	Risk determinants in individuals with a spontaneous type 1 Brugada ECG.	Circ J.		In press	
Oka Y, Itoh H, Ding WG, <u>Shimizu W</u> , <u>Makiyama T</u> , Ohno S, Nishio Y, Sakaguchi T, Akashi M, Kawamura M, Matsuura H, <u>Horie M</u> .	Atrioventricular block-induced Torsades de Pointes with clinical and molecular backgrounds similar to congenital Long QT syndrome.	Circ J.	74	2562-2571	2010
Ozeki Y, Fujii K, Kuromoto N, Yamada N, Okawa M, Aoki T, Takahashi J, Naita M, Ishida N, Saito O, <u>Horie M</u> , Kuniyugi H.	QTc prolongation and antipsychotic medication in 1017 patients with schizophrenia.	Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.	34	401-405	2010

Wu J, Shimizu W, Ding WG, Ohno S, Toyoda F, Itoh H, Zhang 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	7	199-205	2010
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 nationwide questionnaire survey in Japan.	Circulation-Arrhythmia and Electrophysiology	3	10-17	2010
Ishida K, Hayashi H, Miyamoto A, Sugimoto Y, Ito M, Murakami Y, Horie M.	P-wave and the development of atrial fibrillation.	Heart Rhythm	7	289-294	2010
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
Toyoda F, Ding WG, Zankov DP, Omatsu-Kanbe M, Isono T, Horie M, Matsuura H.	Characterization of the rapidly activating delayed rectifier potassium current, IKr, in HL-1 mouse atrial myocytes.	J Membr Biol.	235	73-87	2010
Yasuda S, Hiramatsu S, Odashiro K, Maguyama T, Tsuji K, Horie M.	A family of hereditary long QT syndrome caused by Q738X HERG mutation.	Int J Cardiol.	144	69-72	2010

Yamamura K, Muncuchi 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.	145	61-64	2010
Horie M	Bi-directional ventricular tachycardia revised.	Journal of Arrhythmia	26	3-4	2010
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	1411-1418	2010
Nagaoka I, Shimizu W, Mizusawa Y, Sakaguchi T, Itoh H, Ohno S, Makiyama T, Yamagata K, Makiyama H, Miyamoto Y, Kamakura S, Horie M.	Heart rate-dependent variability of cardiac events in type 2 congenital long-QT syndrome.	Europace	12	1623-1629	2010
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	26	127-133	2010
伊藤英樹、堀江 稔	遺伝子異常と不整脈	臨床と研究	87	98-101	2010
伊藤英樹、堀江 稔	QTが長ければQT延長症候群か？	medicina	47	66-68	2010
堀江 稔	日本人の心房細動における治療戦略の最新状況	Trans BEAT	7	12-14	2010
堀江 稔	デスモゾーム病としての不整脈源性右室心筋症—デスモゾーム分子遺伝子異常	医学のあゆみ	232	588-592	2010
堀江 稔	運動中の心臓性突然死：成人の不整脈	心電図	30- s2	13-24	2010
伊藤英樹、清水 渉、林 研至、山形 研一郎、坂口知子、大野聖子、牧山 武、赤尾昌治、藍 智彦、野田 崇、宮崎 文、宮本恵宏、山岸正和、鎌倉史郎、堀江 稔	先天性QT延長症候群の遺伝子診断—複数異変症例の検討—	心電図	30	195-199	2010

牧山 武、静田 聡、赤尾昌治、木村 剛、堀江 稔	家族性ペースメーカー植込症例における遺伝的背景の検討—心臓Na ⁺ チャンネル病、LaminA/C遺伝子関連心筋症—	心電図	30	200-208	2010
佐野 幹、渡邊英一、牧山 武、内山達司、祖父江嘉洋、奥田健太郎、山本真由美、堀江 稔、尾崎行男	ペースメーカー植込み同胞例に認められたあらたなLamin A/C変異A novel lamin A/C gene mutation in siblings treated with cardiac pacemaker.	心電図		In press	2010
堀江 稔	高血圧と不整脈：高血圧の治療によって不整脈発症の予防は可能か？	Life Style Medicine	4	322-326	2010
堀江 稔	遺伝性不整脈の診断と治療におけるiPS細胞利用の可能性。	最新医学		139-145	2010
堀江 稔	QT短縮症候群	医学のあゆみ	234	719-722	2010
堀江 稔	遺伝性不整脈の診断と治療	臨床医のための循環器診療	13	29-32	2010
Shimizu W	Editorial Commentary. Diagnostic values of bipolar precordial leads in Brugada syndrome: More accurate, more simple, or more theoretical?	Heart Rhythm	7	216-217	2010
Shimizu W	How the knowledge of genetic "makeup" and cellular data can affect the analysis of repolarization in surface ECG.	J Electrocardiol	43	583-587	2010
Yokokawa M, Okamura H, Noda T, Sato mi 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	186-192	2010

Kapplinger JD, Tester DJ, Alders M, Benito B, Berthet M, Brugada J, Brugada P, Fressart V, Guerci A, Harris-Kerr C, Kamakura S, Kyndt F, Koopmann T, Miyamoto Y, Pfeiffer R, Pollevick GD, Probst V, Zumhagen S, Vatta M, Towbin JA, Shimizu W, Schulze-Bahr E, Antzelevitch C, Salisbury BA, Guicheney P, Wilde AA, Brugada R, Schott JJ, Ackerman MJ	An international compendium of mutations in the SCN5A-encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing.	Heart Rhythm	7	33-46	2010
Nakano Y, Shimizu W, Ogi H, Suenari K, Oda N, Makita Y, Kajihara K, Hirayama T, Tonouchi Y, Ueda S, Sueda T, Chayama K, Kihara Y	Spontaneous type 1 electrocardiogram pattern in the V2 lead is an independent predictor of ventricular fibrillation in Brugada syndrome.	Europace	12	410-416	2010
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
Goldenberg I, Horr S, Moss AJ, Lopes CM, Barsheshet A, McNitt S, Zareba W, Andrews ML, Robinson JL, Locati EH, Ackerman MJ, Behr HR, Kaufman ES, Napolitano C, Platano PG, Priori SG, Quinones Balboa A, Schwartz PJ, Shimizu W, Towbin JA, Vincent GM, Wilde AA, Zhang L	Risk for Life-threatening cardiac events in patients with long QT syndrome and normal-range corrected QT interval.	J Am Coll Cardiol	57	51-59	2010
Shimizu W, Horie M	Phenotypical manifestations of mutations in genes encoding subunits of cardiac potassium channels.	Circ Res		In press	
Aiba T, Shimizu W	Editorial Commentary. Molecular screening of long-QT syndrome: risk is there or rare?	Heart Rhythm	8	In press	

Van der Werf C, Kannankeril PJ, Sacher F, Krahn AD, Viskin S, Leenhardt S, Shimizu W, Sumitomo N, Fish FA, Bhuiyan ZA, Willems AR, vander Veen MJ, Watanabe H, Laborde J, Haïssaguerre M, Knollmann BC, Wilde AAM	Flecainide therapy reduces exercise-induced ventricular arrhythmias in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia.	J Am Coll Cardiol	57	In press	
Chinushi M, Iijima K, Furushima H, Izumi D, Sato A, Yagihara N, Hasegawa K, Watanabe H, Soejima K, Aizawa Y.	Suppression of Storms of Ventricular Tachycardia by Epicardial Ablation of Isolated Delayed Potential in Noncompaction Cardiomyopathy.	Pacing Clin Electrophysiol		In press	2011
Obata H, Watanabe H, Ito M, Hirono S, Hanawa H, Kodama M, Aizawa Y.	Effects of combination therapy with warfarin and bucilolone for anticoagulation in patients with atrial fibrillation.	Circ J	75	201-203	2010