

Clinical and genetic characterization of Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. ICPEs 2011 (2011.12.11-14 Athens, Greece)

- A. 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： 滋賀医科大学

伊藤英樹、林 秀樹、大野聖子、宮本 証、  
木村紘美、川村美朋子、川口民郎、道智  
賢市、内貴乃生、加藤浩一、福山 恵、  
王 琦

## 心室細動の既往のある Brugada 症候群患者における早期再分極と予後の関係

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 部長

研究要旨 近年、特発性心室細動において 12 誘導心電図の下壁 (II, III, aVF) 及び側壁 (I, aVL, V4-6) に早期再分極 (ER) を伴う症例が多いとの報告がなされ、早期再分極症候群 (early repolarization syndrome; ERS) として注目されている。Brugada 症候群患者でも ER を伴うことが知られているが、その臨床的意義は分かっていない。我々は国内 2 施設から 49 名 (男性 46 名、平均年齢 46 歳) の心室細動 (VF) 既往のある Brugada 症候群患者の心電図、臨床的特徴および予後を解析した。ER の存在、波高は心電図毎に変動するため、一人の患者につき 10 以上の異なる心電図を解析した。ER は下壁誘導 (II, III, aVF) および側壁誘導 (I, aVL, V4-6) で J 点 0.1mv 以上の上昇があるものと定義した。全ての心電図で ER が認められる患者を Persistent ER (P 群)、ER が認められる心電図と認められない心電図が混在する患者は Intermittent ER (I 群)、全ての心電図で ER が認められない患者は Non ER (N 群) と定義し、3 群に分けて、臨床的特徴および予後を比較した。49 名中 31 名 (63%) で ER が一度は確認された。P 群は 15 名、I 群は 16 名、N 群は 18 名であった。平均 7.7 年の経過観察期間中、P 群では 15 名全例 (100%) に、I 群では 12 人 (75%)、N 群では 8 名 (44%) に VF の再発が認められ、Persistent ER、Intermittent ER はいずれも VF 再発の独立した危険因子であった。(Persistent ER, Hazard Ratio, 4.87; 95% CI, 2.02 to 12.7,  $p=0.0004$ , Intermittent ER, Hazard Ratio, 2.50; 95%CI, 1.02-6.40,  $p=0.043$ ).

### A. 研究目的

Brugada 症候群 (BS) は右側胸部誘導の J 点および ST 上昇を特徴とし、心室細動 (VF) や突然死を引き起こす。VF の既往のある Brugada 症候群は特に VF の再発率が高いことが知られている。早期再分極 (ER) は健常者にもしばしば認められるが (1-5%)、器質的心疾患を認めない特発性 VF 患者において、12 誘導心電図上の下壁 (II, III, aVF) および側壁 (I, aVL, V4-6) 誘導で ER を認める頻度が健常者に比べて多いとの報告が、近年相次いでいる。一方で、BS 患者においても ER が比較的高い頻度で認められるという報告があるが、その臨床的意義、予後に対する影響は分かっていない。

今回、我々は VF 既往のある BS 患者の ER が予後に与える影響について検討した。

### B. 研究方法

国立循環器病研究センターまたは岡山大学病院でフォローされている VF または心停止の既往を有する BS 患者 49 名を対象とした。常に type 1 心電図を認める患者が 37 例、ナトリウムチャンネル遮断薬後に type 1 心電図を認める患者が 12 例であった。

全例で植え込み式除細動器 (ICD) が植え込まれ、ICD で VF が確認されるか、もしくは適切なショックが行われた場合、致死性不整脈イベントが

あったと診断した。

#### (1) 心電図

2 誘導以上で QRS-ST 接合部 (J 点) の基線からの 0.1mV 以上の上昇を ER と定義した。記録されているすべての心電図を解析に用い、下壁誘導 (II, III, aVF) および側壁誘導 (I, aVL, V4-V6) に ER が認められるかを評価した。

#### (2) 薬物負荷試験

薬物負荷試験は、ピルジカイナイド (1 mg/kg 最大 50 mg, 5 mg/分) もしくはフレカイナイド (2 mg/kg, 最大 100 mg, 10 mg/分) の静脈内投与を行った。右側胸部誘導 (V1-V3) の 2 誘導以上で type 1 Brugada 型心電図が出現した場合、陽性と判定した。

#### (3) 電気生理学的検査

電気生理学的検査 (EPS) は 43 例で施行し、抗不整脈薬非投与下で右室心尖部および右室流出路から 3 連発までの心室期外刺激を加えた。VF または 15 拍以上の心室頻拍が持続され、失神、血行動態の破綻、除細動を必要とした場合、陽性と診断した。

#### (4) 経過観察

患者は 4-6 ヶ月毎に外来で経過観察され、動悸などの症状、ICD の作動を感じた場合は、ICD の心内心電図の詳細な解析を行った。

#### (5) 統計学的解析

連続変数は平均±標準偏差で表した。群間の比較

は Student の t 検定で行い、カテゴリ変数は Fisher の正確検定  $p < 0.05$  を有意とみなした。3 群間の比較の際には Bonferroni の補正を行った。生存曲線は Kaplan-Meier 法、Log-rank 検定を用いて検討した。

## C. 研究結果

### (1) 早期再分極の頻度

ER は 31 例 (63%) で認められ、このうち 15 例では常に (persistent; P 群)、16 例では間欠的 (intermittent; I 群) に認められた。18 例の患者では ER を認めなかった (Non ER; N 群)。ER を認めた 31 例中、下壁のみが 11 例、側壁のみが 11 例、双方に認められたのが 9 例であった。

### (2) 臨床的、心電図学的、電気生理学的、および遺伝学的特徴

平均年齢は 46 歳であった (中央値 48 歳、22 から 73 歳)。50 歳以下での VF および突然死の家族歴は 16%、SCN5A の遺伝子変異は 19% に認められた。EPS で 81% の患者において VF が誘発された。P 群、I 群、N 群の 3 群間比較では、年齢、性別、家族歴、下側壁の ER の頻度、EPS での VF の誘発率に有意差は認めなかった。

### (3) 経過観察

平均経過観察期間は  $93.8 \pm 45.6$  カ月であり、3 群間で有意差は認めなかった。VF の再発は 35 例 (71%)、electrical storm (24 時間以内に 3 回の VF) は 18 例 (37%) の患者で認めた。VF の再発は P 群 (15/15 例、100%) で N 群 (8/18 例、44%) より有意に多かった。1 年あたりの VF 再発回数は、P 群で  $1.20 \pm 1.04$  回、I 群で  $0.91 \pm 0.98$  回で、これらの 2 群は N 群 ( $0.31 \pm 0.65$  回) よりも有意に多かった ( $p = 0.0027, 0.0041$ )。Electrical storm の発生率に有意差は認められなかった。

単変量解析では、下壁および側壁の ER は VF の予測因子であった。

Kaplan-Meier 法による生存分析では P 群および I 群の予後が、N 群に比べ悪いことが分かった。(Log rank  $p < 0.05$ )。

## D. 考察

今回、我々は VF の既往にもつ BS 患者を対象に、ER の臨床的意義を検討した。

BS は致死性の心室性不整脈を惹き起こし、若年者の突然死の原因の一つとなっている。特に VF 既往を有する患者では再発率が高いことが知られている。今回、我々は下壁および側壁誘導における ER の臨床的意義および予後に対する影響を調べるため、これら的高リスクな BS 患者を対象にした。

下壁および側壁における ER を、BS における右側胸部誘導の J 点および ST 上昇と同じ機序で説明し、

ERS を BS の類似疾患とする報告もあるが、詳しい機序は未だ不明である。また、予後に関しても BS との鑑別がされていない報告が多く、不明な点が多い。これまでの報告通り、BS では平均約 8 年の経過観察で 71% の患者に VF の再発が認められた。また下壁および側壁誘導の ER は 63% の患者で認められた。これまでの報告でも、BS 患者における下壁および側壁誘導の ER の頻度は高いとされていたが、我々の結果はさらに高いものであった。その一因として、我々は 1 例の患者につき 10 以上の心電図を解析していることがあげられる。ER の存在は BS の予後に影響しないという報告もある。しかしながら、我々は VF 既往を有する BS に対象を限定しており、これらの患者では下壁および側壁誘導の ER は予後増悪因子であることが明らかとなった。ER を伴った BS 患者は広範囲な心室の電気的なばらつきを有しており、それが致死性不整脈へとつながっている可能性がある。もし、下壁および側壁誘導の ER が再分極異常を反映していると考えれば、Persistent ER が Intermittent ER 群よりも予後が悪い傾向にあったことも理解できる。また、Intermittent ER 群が約 1/3 の症例で認められ、これらの症例では 1 回の心電図記録では下側壁の ER を見逃す可能性もあり、下側壁の ER に関しては複数の心電図を入手に診断する必要があると考えられた。

## E. 結論

心室細動の既往を有する Brugada 症候群において、下側壁誘導で認められる早期再分極は予後増悪因子であることが分かった。早期再分極の検出には複数の心電図記録が必要であると考えられた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Shimizu W: Diagnostic evaluation of Long QT syndrome. in Priori SG (ed): Cardiac electrophysiology clinics, Long QT syndrome, p. 29-37, Elsevier, Philadelphia, 2012

2. Shimizu W, Ackerman MJ: Chapter 50, Provocative (drug) testing in inherited arrhythmias. in Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK (eds): Electrical Diseases of the Heart (Second edition): Genetics, Mechanisms, Treatment, Prevention, Part IV. Clinical rhythmology: Diagnostic methods and tools, p. -, Springer, UK, 2012 (in press)

3. Shimizu W: Chapter 40, Acquired form of Brugada syndrome. in Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK (eds): Electrical Diseases of the Heart (Second

- edition): Genetics, Mechanisms, Treatment, Prevention, Part III. Secondary Hereditary and Acquired Cardiac Channelopathies, and Sudden Cardiac Death, p. -, Springer, UK, 2012 (in press)
4. 清水 渉: I-7. 無症状のBrugada型心電図: どうする!?(分担), 不整脈診療のトラブルシューティング (山下武志, 高橋 淳, 栗田隆志編集): p. 24-27, 南江堂, 2011
  5. 清水 渉: I-8. QT延長症候群・QT短縮症候群の診断はどうする!?. (分担), 不整脈診療のトラブルシューティング (山下武志, 高橋 淳, 栗田隆志編集): p. 28-31, 南江堂, 2011
  6. 清水 渉: Brugada 症候群. 6.循環器疾患 (分担), 『今日の治療指針』2012年版 (山口 徹, 北原光夫, 福井次矢編集): p. 352-353, 医学書院, 2012
  7. 清水 渉: 5. 循環器系の疾患. 5.4 循環器疾患と遺伝子異常. 3) 遺伝性不整脈. (分担), 朝倉『内科学』(矢崎義雄, 永井良三他編集): p. -, 朝倉書店, 2012 (印刷中)
  8. Shimizu W, Horie M: Phenotypical manifestations of mutations in genes encoding subunits of cardiac potassium channels. *Circ Res* 109: 97-109, 2011
  9. Aiba T, Shimizu W: Editorial Commentary. Molecular screening of long-QT syndrome: risk is there or rare? *Heart Rhythm* 8: 420-421, 2011
  10. 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, 2011
  11. Jons C, O-Uchi J, Moss AJ, Reumann M, Rice JJ, Goldenberg I, Zareba W, Wilde AA, Shimizu W, Kanters JK, McNitt S, Hofman N, Robinson JL, Lopes CM: Use of mutant-specific ion channel characteristics for risk stratification of long QT syndrome patients. *Sci Transl Med* 3: 76ra28, 2011
  12. Migdalovich D, Moss AJ, Lopes CM, Costa J, Ouellet G, Barsheshet A, McNitt S, Polonsky S, Robinson JL, Zareba W, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Platonov PG, Shimizu W, Towbin JA, Vincent GM, Wilde AA, Goldenberg I: Mutation and gender specific risk in type-2 long QT syndrome: Implications for risk stratification for life-threatening cardiac events in patients with long QT syndrome. *Heart Rhythm* 8: 1537-1543, 2011
  13. van der Werf C, Kannankeril PJ, Sacher F, Krahn AD, Viskin S, Leenhardt S, Shimizu W, Sumitomo N, Fish FA, Bhuiyan ZA, Willems AR, van der Veen MJ, Watanabe H, Laborderie 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* 57:2244-2254, 2011
  14. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N: Electrocardiographic characteristics and SCN5A mutations in idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Circ Arrhythmia and Electrophysiol* 4:874-881, 2011
  15. Kawata H, Noda T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, Isobe M, Kamakura S, Shimizu W: Effect of sodium-channel blockade on early repolarization in inferior/lateral leads in patients with idiopathic ventricular fibrillation and Brugada syndrome. *Heart Rhythm* 9: 77-83, 2012
  16. 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 in programmed electrical stimulation in patients with Brugada type 1 electrocardiogram. *Heart Rhythm* 9: 242-248, 2012
  17. Miyoshi T, Maeno Y, Sago H, Inamura N, Yasukohchi S, Kawataki M, Horigome H, Yoda H, Taketazu M, Shozu M, Nii M, Kato H, Hayashi S, Hagiwara A, Omoto A, Shimizu W, Shiraishi I, Sakaguchi H, Nishimura K, Ueda K, Katsuragi S, Ikeda T: Evaluation of transplacental treatment for fetal congenital bradyarrhythmia: A nationwide survey in Japan. *Circ J* 76: 469-476, 2012
  18. Nishimoto O, Matsuda M, Nakamoto K, Nishiyama H, Kuraoka K, Taniyama K, Tamura R, Shimizu W, Kawamoto T: Evaluation of transplacental treatment for fetal congenital bradyarrhythmia: A nationwide survey in Japan. *Intern Med* 51: 461-464, 2012
  19. Makita N, Seki A, Sumitomo N, Chkourko H, Fukuhara S, Watanabe H, Shimizu W, Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA, Probst V, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ, Delmar M: A Connexin 40 mutation associated with a malignant variant of progressive familial heart block type-1. *Circ Arrhythmia and Electrophysiol* 5: -, 2012 (in

- press)
20. Costa J, Lopes CM, Barsheshet A, Moss AJ, Migdalovich D, Ouellet G, McNitt S, Polonsky S, Robinson JL, Zareba W, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Platonov PG, Shimizu W, Towbin JA, Vincent GM, Wilde AA, Goldenberg I: Combined assessment of gender and mutation-specific information for risk stratification in type 1 long QT syndrome. *Heart Rhythm* 9: -, 2012 (in press)
  21. Baranchuk A, Nguyen T, Ryu MH, Femenía F, Zareba W, Wilde AAM, Shimizu W, Brugada P, Pérez-Riera AR: Brugada phenocopy: new terminology and proposed classification. *Ann Noninvasive Electrocardiol* : -, 2012 (in press)
  22. Nakashima K, Kusakawa I, Yamamoto T, Hirabayashi S, Hosoya R, Shimizu W, Sumitomo N. A left ventricular noncompaction in a patient with long QT syndrome caused by a KCNQ1 mutation: a case report. *Heart Vessels* : -, 2012 (in press)
  23. Barsheshet A, Goldenberg I, O-Uchi J, Moss AJ, Christian Jons C, Shimizu W, Wilde AA, McNitt S, Peterson DR, Zareba W, Robinson JL, Ackerman MJ, Cypress M, Gray DA, Hofman N, Kanters JK, Kaufman ES, Platonov PG, Qi M, Towbin JA, Vincent GM, Lopes CM: Mutations in cytoplasmic loops of the KCNQ1 channel and the risk of life-threatening events. Implications for mutation-specific response to beta-blocker therapy in type-1 long QT syndrome. *Circulation* : -, 2012 (in press)

## 2. 学会発表

1. 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.
2. Shimizu W: Understanding QT Syndromes. In honor of Professor Douglas Zipes - Special Symposium in Basic EP. CardioRhythm 2011, Hong Kong, 2011. 2. 26.
3. Shimizu W: Mutations associated with idiopathic VF. JHRS-EHRA Joint Session: Idiopathic VT and VF. Europace 2011, Madrid, 2011. 6. 28.
4. 清水 渉, 相庭武司: ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた先天性 QT 延長症候群のテーラメイド医療および病態解明の可能性. 会長特別企画「ヒト iPS 細胞由来心筋樹立による家族性突然死症候群の病態解明と治療法の確立」第 75 回日本循環器学会学術集会 (横浜), 2011. 8. 4. *Circulation Journal* 75 (Suppl D);, 2011.

## 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

河田 宏

(国立循環器病研究センター 心臓血管内科)

## 長期間経過観察が可能であった小児進行性伝導障害症例とその遺伝子解析

研究分担者 住友直方 日本大学医学部小児科学系 小児科学分野

研究要旨 進行性、もしくは遺伝性心臓伝導障害を認める3症例の臨床経過、遺伝子診断を行った。1家系に connexin 40 遺伝子異常が、1例に SCN5A 遺伝子異常が発見された。Connexin 40 異常を認めた家系では、3例中2例が突然死しており、SCN5A 異常を認めた症例では、ペースメーカー植え込み後に2度房室ブロックが、3度房室ブロックに進行していた。家族性洞機能不全に心房粗動を合併した幼児例では遺伝子異常は発見されていないが、将来ペースメーカーが必要となる可能性が高い。徐脈性不整脈を呈する遺伝性不整脈に対しても、今後遺伝子診断、早期治療が重要であることが示唆された。

### A. 研究目的

小児の進行性伝導障害を認める症例を検討し、予後を判定する。

### B. 研究方法

進行性心臓伝導障害を認めた家族例に対して、心電図、Holter 心電図、電気生理学的検査などを行い、経過を観察するとともに、予後を検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断に関しては、文書による両親からの同意を得、研究代表者である蒔田氏の研究室で検査を行った。

### C. 研究結果

症例 1: 9 歳男児。家族歴では母親が本人の妹を出生後、30 歳で急死した。母親の心電図(16 歳)は左脚ブロックで、本人の妹も左側の ST が低下、左脚ブロック型心電図である。

6 歳時学校心臓検診で心電図、心音の異常を指定され近医を受診した。胸部 X 線で CTR 0.5、心エコーで問題はなかったが、心電図異常を認めたため、心筋炎の疑いで入院したが、心筋炎は否定的であり、精査目的で来院した。Tc 心筋シンチでは異常なく、心室遅延電位は判定不能であった。心電図では心室頻拍もしくは促進心室調律と 1 度房室ブロック、II, III, aVF, 左側胸部誘導の著明な ST 低下を認めた。以後外来で経過をみていたところ、10 歳時、本人が公園の掃除をして走り回った後に、意識消失した。ホルター心電図でも失神をおこすような不整脈は認められなかった。11 歳時に祖父の自宅で走り回っていたところ突然失神し、救急隊を要請し蘇生を行いながら近医に搬送され、

一時心室細動となったが、その後心停止となり、死亡した。本例及び妹の遺伝子診断では Connexin 40 の遺伝子異常が発見された。

症例 2: 11 歳女児。6 歳の弟は健康で、父と母方の祖母と母方の叔母が不整脈を指摘され、叔母はペースメーカーを植え込んでいる。父方の祖母は弁膜症の既往がある。妊娠分娩歴には異常なく 2700g で出生。6 歳で心電図異常を指摘され、当院外来を紹介受診し心エコー図、胸部エックス線写真で異常を認めず、外来で経過観察されていた。入院 5 週間前より頭痛、嘔吐が出現したが 1 日で軽快した。4 週間前にも頭痛があり、夕方～朝まで寝込むことが 2 日間あった。18 日前の夜間嘔気、嘔吐が出現し、15 日前にめまいが出現し軽快しないため外来を受診し、自律神経失調症の症状を認め、メトリジン (2mg) 2錠を処方された。入院当日頭 MRI を施行したところ、記録された心電図で房室ブロックを認めたため入院した。身長 143cm、体重 41.8kg、心拍数 63、血圧 118/68 mmHg、心雑音は聴取しなかった。血液検査では WBC 9600/ $\mu$ l、RBC  $460 \times 10^4$ / $\mu$ l、Hb 12.9g/dl、Ht 37%、Pl  $21.5 \times 10^4$ / $\mu$ l、AST 19IU/l、ALT 24IU/l、LDH 223IU/l、CK 128IU/l、Na 143mEq/l、K 3.8mEq/l、Cl 107mEq/l、Mg 2.3 mmol/l、Ca 9.7 mmol/l、UN 17.4 mg/dl、Cr 0.48mg/dl、BNP 333.2、troponin I 0.06 ng/ml、myocine LC、H-FABP(-)。心電図は QRS 電気軸  $-60^\circ$  の完全左脚ブロックで、高度房室ブロックを認めた。心エコー図検査では異常は認めず、CTR 0.5 で正常であった。心臓カテーテル検査では左室圧 93/15mmHg と左室拡張末期圧が高かったが心内奇形、冠動脈異常は認めなかった。電気生理学的検査では HV ブロックであり、ペースメーカー (DDD) 植え込みを行った。その後外来経過観察中に、度々心房粗動見がペースメーカーで記録されており、13 歳時にカテーテルアブレーションを施行

した。電気生理学的検査では三尖弁周囲を反時計方向に回転する通常型心房粗動が誘発され、三尖弁輪から下大静脈にかけて連続焼灼を加え、根治に成功した。また、ペースメーカー植え込み前は房室伝導を認めていたが、今回の検査では完全房室ブロックであった。本例の遺伝子診断では、SCN5Aの異常が検出されている。

症例3：3歳男児。家族歴では母親が10歳時に心房粗動と言われ、25歳時に電気生理学的検査を行った。内服で加療していたが、30歳頃から自覚症状を認めず通院していない。児は在胎40週3430g頭位自然分娩で出生した。3歳5か月時に咳嗽発熱で近医を受診した際に頻脈を指摘され、前医に入院し、心房細動と診断されDC10Jで停止した。フレカイニドの内服を開始したが、夜間に再発しフレカイニド静注で停止した。その後も再発を繰り返し、ジゴキシンを開始したところ、翌日洞調律に復帰した。フレカイニドとジゴキシンの内服を行い退院した。2か月後に再びAFLを認め、フレカイニドを増量した。翌月に顔色不良となり再入院した。DCで停止し、フレカイニドとプロプラノロールで加療したが、一過性の洞停止、房室ブロック、脚ブロックを認め、フレカイニドとプロプラノロールを中止し、amiodaroneに変更した。2週間後に再び心房粗動が再発し、洞調律の維持が困難とのことでアテノロールを内服し、当院を紹介され、講習はカテーテルアブレーション目的で入院した。身長95.6cm、体重14.4kg、心拍数118、呼吸数30、体温36.4℃、血圧108/55mmHg、心雑音は聴取しなかった。血液検査はWBC 12600/ $\mu$ l、RBC  $463 \times 10^4$ / $\mu$ l、Hb 11.9g/dl、Ht 35.6%、Plt  $38.2 \times 10^4$ / $\mu$ l、AST 24 IU/l、ALT 12 IU/l、LDH 230 IU/l、CK 101 IU/l、BUN 11.0mg/dl、Cr 0.49mg/dl、Na 140mEq/l、K 4.3mEq/l、Cl 105mEq/l、Ca 10.9mg/dl、Mg 2.1mg/dl、P 6.0mg/dl。心電図は心房粗動で心拍数115、QRS電気軸115°。胸部エックス線写真ではCTR 0.54、心エコー図検査で心内奇形を認めなかった。電気生理学的検査では三尖弁を時計方向に回転する反通常型心房粗動(CL 260ms)が誘発され、三尖弁輪から下大静脈へかけての線状焼灼で停止した。洞結節回復時間は1840msと延長しており、洞機能不全の合併も疑われた。以後無投薬で経過観察を行っているが、心房粗動の再発は認めていない。本例は遺伝子診断を施行中であるが、まだ有為な遺伝子異常は発見されていない。

#### D. 考察

以上、家族性、もしくは遺伝性の刺激伝導障害を認める症例を検討した。症例1は本研究班班長よりその詳細が報告されており、細胞間ギャップ

ジャンクションの異常により、刺激伝導障害をきたし、このために生じた完全房室ブロック、もしくは心室内伝導遅延に伴う致死的心室性不整脈が突然死の原因となったと考えられた。

症例2に関しては、心電図波形は症例1と極めて類似しているが、検出された遺伝子異常はSCN5A異常であり、Na電流障害が進行性伝導障害の原因と考えられる。

進行性心臓伝導障害 (progressive cardiac conduction defects, PCCD) は心臓刺激伝導系に特異的に認められる進行性の線維性置換により、特殊心筋細胞が著しく減少ないし消失し、脚ブロック、房室ブロックなどの心臓内興奮伝導障害が進行性に出現する病態を指す。また孤発性心臓伝導障害 (isolated cardiac conduction defect, ICCD) とは、一般作業心筋には異常がなく、刺激伝導系心筋のみに選択的に線維性置換が出現するものを指す。

Lenegre は、37例(完全房室ブロック34例、不完全房室ブロック3例)の房室ブロック例について、刺激伝導系の組織学的検索を含む剖検的検討および心電図検査を含む臨床的検討を行い、房室ブロックの成因(基礎疾患)について検討した。その結果、一般心筋には異常を認めず、両脚の線維変性がおこるために脚ブロックを起こし、これが進行すると完全房室ブロックを生ずると報告している。つまりこれらの症例の房室ブロックは、明らかな基礎的心疾患によるものではなく、心臓刺激伝導系の変異に基づいておこることを明らかにした。これらの症例のアダムス・ストークス発作の原因は房室ブロックによるものと推測している。後にこのような病態はLenegre病と呼ばれるようになった。

Lenegre J, Moreau P. Chronic Auriculo-Ventricular Block. Anatomical, Clinical and Histological Study. Arch Mal Coeur Vaiss. 1963;56:867-88.

Schottらは、150人以上の構成家族メンバーからなるフランス人の一家系において、多数例の心臓伝導障害例を認め、その臨床的および遺伝学的検討から、遺伝子SCN5Aの変異が進行性伝導障害(PCCD、Lenegre病、Lev病)の原因遺伝子であることを初めて明らかにした。この遺伝子異常を認めると、若年者では重篤な刺激伝導障害を認めないが、加齢とともに心筋の線維化が進行することにより刺激伝導障害が進行するとしている。SCN5A変異を認める一部の症例では、遺伝子変異がチャネル形成の始まりの部位に位置し、若年者から発症する症例の原因である可能性を示唆している。

Schott JJ, Alshinawi C, Kyndt F, Probst V, Hoorntje TM, Hulsbeek M, Wilde AA, Escande D, Mannens MM, Le Marec H. Cardiac conduction defects

associate with mutations in SCN5A. Nat Genet. 1999;23:20-1.

#### E. 結論

進行性伝導障害を認める症例は未だ希であるが、突然死を起こしうる危険な不整脈であり、早期に発見できればペースメーカー植え込みなどにより、突然死の予防が可能である。

今後、新しい遺伝子異常の発見される可能性もあり、この分野の研究のさらなる発展が望まれる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nakashima K, Kusakawa I, Yamamoto T, Hirabayashi S, Hosoya R, Shimizu W, Sumitomo N: A left ventricular non-compaction in a patient with long QT syndrome caused by a KCNQ1 mutation – a case report –. Heart and Vessels. 26: (in press), 2012.
2. Kato Y, Horigome H, Takahashi-Igari M, Sumitomo N, Aonuma K. Tachycardia associated with twin atrioventricular nodes in an infant with heterotaxy and interruption of inferior vena cava, Pacing and Clinical Electrophysiology, 32: (in press), 2012
3. Chinen S, Miura M, Tamame T, Matsuoka M, Ohki H, Sumitomo N. Life-threatening Atrial Tachycardia after the Senning Operation in a Patient with Transposition of the Great Arteries. Heart Vessels. 26: (in press): 2011
4. van der Werf C, Kannankeril PJ, Sacher F, Krahn AD, Viskin S, Leenhardt A, Shimizu W, Sumitomo N, Fish FA, Bhuiyan ZA, Willems AR, van der Veen MJ, Watanabe H, Laborde J, Haïssaguerre M, Knollmann BC, Wilde A. Flecainide therapy reduces exercise-induced ventricular arrhythmias in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. J Am Coll Cardiol 2011;57: 2244-54
5. Horigome H, Ishikawa Y, Shiono J, Iwamoto M, Sumitomo N, Yoshinaga M. Detection of extra-components of T wave by independent component analysis in congenital long QT syndrome. Circ Arrhythm Electrophysiol 2011; 4: 456-64
6. Ichikawa R, Sumitomo N, Komori A, Abe Y, Nakamura T, Fukuhara J, Matsumura M, Miyashita M, Kanamaru H, Ayusawa M, Mugishima H. The evaluation of the onset and follow up of electrocardiograms and arrhythmias in children with fulminant myocarditis. Circ J 2011;75: 932-8
7. Fukuhara J, Sumitomo N, Nakamura N, Ichikawa R, Matsumura M, Abe O, Miyashita M, Kanamaru H, Ayusawa M, Karasawa K, Mugishima H. Electrophysiological characteristics of idiopathic ventricular tachycardia in children. Circ J 2011;75: 672-6

##### 2. 学会発表

1. Naokata Sumitomo : Invited Lecture, Management of tachycardias in children with structurally normal hearts: VT in structurally normal hearts, 45th Annual Meeting of the Association of European Paediatric Cardiology, Granada, Spain, 2011.5.19
2. Naokata Sumitomo : Invited Lecture, Subtypes and management of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular tachycardia, The 4th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Fukuoka, 2011, 9.19-22
3. Naokata Sumitomo: Long time follow-up in a child with progressive conduction disturbance, PCCD Symposium, Fukuoka, 2011, 9.19
4. Yuriko Abe, Naokata Sumitomo, Junji Fukuhara, Rie Ichikawa, Masaharu Matsumura, Michio Miyashita, Hiroshi Kanamaru, Mamoru Ayusawa, Hideo Mugishima, Mamie Watanabe, Kunitaka Joo: Successful radiofrequency catheter ablation for incessant ventricular tachycardia in an infant, Mini-symposium, VT & VF, Clinical Studies 2, The 4th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Fukuoka, 2011, 9.19-22
5. Junji Fukuhara, Naokata Sumitomo, Akiko Komori, Yuriko Abe, Takahiro Nakamura, Rie Ichikawa, Masaharu Matsumura, Michio Miyashita, Hiroshi Kanamaru, Mamoru Ayusawa, Hideo Mugishima: Clinical and Electrophysiological Characteristics of Idiopathic Ventricular Tachycardia in Children, Mini-symposium, VT & VF, Clinical Studies 1, The 4th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Fukuoka, 2011, 9.19-22
6. Mihoko Kawamura, Iori Nagaoka, Dohchi Kenichi, Yukiko Nishio, Hideki Itoh, Hiromi Kimura, Akashi Miyamoto, Yuka Mizusawa, Yuko Jito, Katsuya Ishida, Makoto Ito, Takeru Makiyama, Seiko Ohno, Naokata Sumitomo, Kotaro Oyama, Minoru Horie: Mutations of the Cardiac Ryanodine Receptor (*RyR2*) Gene in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. The 4th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Fukuoka, 2011, 9.19-22
7. Masao Yoshinaga, Hiroya Ushinohama, Seiichi Sato, Nobuo Tauchi, Hitoshi Horigome, Hideto Takahashi, Wataru Shimizu, Naokata Sumitomo, Hirohiko Shiraishi, Yuichi Nomura, Masami Nagashima: Electrocardiographic Screening of One-Month-Old Infants for Long QT Syndrome in Japan. Mini-symposium, Inherited Disorder I, The 4th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Fukuoka, 2011, 9.19-22
8. Naokata Sumitomo: Subtypes and Management of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. Symposium, Sudden Death in the Young, The 4th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Fukuoka, 2011, 9.19-22



9. 三谷義英、太田邦雄、市田露子、新居正基、高橋 努、新垣義夫、牛ノ濱大也、立野 滋、佐藤誠一、鈴木嗣敏、檜垣高史、岩本眞理、吉永正夫、住友直方：学校の AED 仕様の小中学生の心原性院外心停止の予後への影響：5 年間の全国調査、第 47 回小児循環器学会、福岡、2011.7.7
10. Hisaki Makimoto, Minoru Horie, Satoshi Ogawa, Yoshifusa Aizawa, Tohru Ohe, Kengo Kusano, Masakazu Yamagishi, Naomasa Makita, Toshihiro Tanaka, Takeru Makiyama, Masao Yoshinaga, Nobuhisa Hagiwara, Naokata Sumitomo, Itoh Hideki, Yuko Yamada, Hideo Okamura, Takashi Noda, Takeshi Aiba, Shiro Kamakura, Yoshihiro Miyamoto, Wataru Shimizu: What Influences  $\beta$ -blocker Resistance for Secondary Prevention of Cardiac Events in Patients with Congenital Long QT Syndrome, The 74<sup>th</sup> Japanese Circulation Society, Yokohama, 2011,8.3-4
11. Rie Ichikawa, Naokata Sumitomo, Akiko Komori, Yuriko Abe, Takahiro Nakamura, Junji Fukuhara, Masaharu Matsumura, Michio Miyashita, Hiroshi Kanamaru, Mamoru Ayusawa, Hideo Mugishima: The evaluation of the onset and follow up of electrocardiograms and arrhythmias in children with fulminant myocarditis, The 4th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Fukuoka, 2011, 9.19-22
12. 堀米仁志、石川康宏、吉永正夫、塩野淳子、住友直方：独立成分分析を用いた先天性QT延長症候群のT波の解析-主成分分析との診断精度の比較-：第59回 日本心臓病学会、第59回日本心臓病学会、神戸、2011.9.23-25
- 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

## 早期再分極型心電図所見を有する症例の予後

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 早期再分極型心電図（ERP）は一般的に広く認められ、良性の経過を辿ると考えられていたが最近突然死との関連が注目されている。しかしERPの発症率や予後についてはまだ完全に明らかにはされていない。今回の調査でERPの発症率は715人/10万・人年であり、突然死のリスクが1.83倍（ $P=0.02$ ）高くなる事を明らかにした。突然死のリスクはブルガダ型心電図のそれより低いが発症率が高いため、公衆衛生学的には高リスク群をいかに同定するかが今後の問題点となると考えられた。

### A. 研究目的

下壁誘導や左前胸部誘導に認められるQRS-ST接合点（J点）の上昇やQRSのノッチ又はスラー（J波）の出現で特徴付けられるERPは1～13%の比較的高い頻度に認められ、これまでは良性の心電図変化と考えられていた。最近、二つの臨床的研究により、突発性心室細動の病歴がある患者では、ERPを合併していることが多い事が報告された。又、下壁誘導で認められるERPは心疾患死増加と関連している事が報告された。しかしERPの発症率や突然死との関連を調べた長期追跡調査はない。そこで今回我々は、長崎の被爆者集団において、前向きにERPの発症率を調べ、ERPが突然死を予測するか否かについて調べた。

### B. 研究方法

放射線影響研究所（放影研）で1958年から2004年にかけて2年毎の健康診断時に、少なくとも一度でも心電図が記録されている5,976名を対象として全ての心電図（平均 $12.2 \pm 7.5$ 心電図/人）を調べ、ERP症例（ノッチ又はスラーを伴う下壁又は側壁誘導で認められる $0.1\text{mV}$ 以上のJ点又はSTの上昇）、ブルガダ型心電図（Br）症例（V1-V3誘導の少なくとも1誘導以上で、 $0.2\text{mV}$ 以上のcoved型ST上昇）、およびERP+Br症例を同定した。又1958年から2004年の間に死亡した対象者については、死亡診断書に基づき死因を調査し、突然死症例（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）を同定した。

（倫理面への配慮）

本研究の実施に関しては、放影研の研究計画書委員会および人権擁護調査委員会の承認を得ている。

### C. 研究結果

研究期間中に1,429名のERP症例が同定され、ERP発症の平均年齢は $47.2 \pm 15.4$ 才でありその発症率は715人/10万・人年であった。ERPの出現は98.3%で間欠的であり、その形態はノッチのみ813例、スラーのみ148例、ノッチ+スラー468例であった。又ERPの出現部位は下壁誘導のみ422例、側壁誘導のみ561例、下壁+側壁誘導446例であった。ERP1,429例中27例が突然死しており、そのリスクは1.83（95%CI 1.12-2.97;  $P<0.01$ ）と有意に高く、特に形態ではノッチ+スラー症例（RR 2.09, 95%CI 1.06-4.12;  $P=0.03$ ）が、出現部位では下壁+側壁誘導症例（RR 2.50, 95%CI 1.29-4.83;  $P<0.01$ ）が突然死を予測した。同期間中に24例のBr症例を認め、突然死のリスクは27.15（95%CI 9.35-78.85;  $P<0.01$ ）であった。又ERP+Br症例は6例であった。

### D. 考察

ERPの発症率は高く、5,976名の調査対象者のうち1,429名（23.9%）で調査期間のいずれかの時期にERPを認めた。ERPの突然死リスクは1.83とBrの27.15と比べると低いが、ERPの発症率がBrと比べると高いため、突然死76例中27例（35.5%）がERP症例であった。ERPの出現はそのほとんどが間欠性であるため、定期検診等で長期に心電図記録を行いERPの有無について調べる必要がある。特にERPの中でも突然死のリスクが高い形態的にはノッチ+スラー、部位的には下壁+側壁誘導でのERP出現の有無については複数回の心電図記録に基づき慎重に判断する必要がある。又、将来的にはERPの中でも突然死リスクが高い症例を遺伝子検査で判定できるようにして突然死の予防に役立てたい。

### E. 結論

ERPは突然死のリスクが高く、特にリスクが高いERP形態あるいは出現部が存在する。公衆衛生学的には突然死の約1/3がERPによるものと考えられ、突然死のリスクが高い症例を遺伝子検査で同定する方法の確立が望まれる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takahashi I, Abbot RD, Ohshita T, Takahashi T, Ozasa K, Akahoshi M, Fujiwara S, Kodama K, Matsumoto M. A prospective follow-up study of the association of radiation exposure with fatal and non-fatal stroke among atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki (1980-2003). *BMJ Open*. 2012 Feb 3;2(1):e000654.
2. Adams MJ, Grant EJ, Kodama K, Shimizu Y, Kasagi F, Suyama A, Sakata R, Akahoshi M. Radiation dose associated with renal failure mortality: a potential pathway to partially explain increased cardiovascular disease mortality observed after whole-body irradiation. *Radiat Res*. 2012 Feb;177(2):220-8.
3. Hida A, Akahoshi M, Takagi Y, Imaizumi M, Sera N, Soda M, Maeda R, Nakashima E, Ida H, Kawakami A, Nakamura T, Eguchi K. Lipid infiltration in the parotid glands: a clinical manifestation of metabolic syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2012 Feb;120(2):110-5.
4. Imaizumi M, Sera N, Ueki I, Horie I, Ando T, Usa T, Ichimaru S, Nakashima E, Hida A, Soda M, Tominaga T, Ashizawa K, Maeda R, Nagataki S,

Akahoshi M. Risk for progression to overt hypothyroidism in an elderly Japanese population with subclinical hypothyroidism. *Thyroid*. 2012 Nov;21(11):1177-82.

5. Yoshida K, Ohishi W, Nakashima E, Fujiwara S, Akahoshi M, Kasagi F, Chayama K, Hakoda M, Kyoizumi S, Nakachi K, Hayashi T, Kusunoki Y. Lymphocyte subset characterization associated with persistent hepatitis C virus infection and subsequent progression of liver fibrosis. *Hum Immunol*. 2011 Oct;72(10):821-6.
6. Haruta D, Matsuo K, Tsuneto A, Ichimaru S, Hida A, Sera N, Imaizumi M, Nakashima E, Maemura K, Akahoshi M. Incidence and prognostic value of early repolarization pattern in the 12-lead electrocardiogram. *Circulation*. 2011 Jun 28;123(25):2931-7.

##### 2. 学会発表

特になし。

#### 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

楠本三郎：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家系において発見した変異 Cx40 遺伝子について、細胞電気生理学的な機能解析を行った結果、野生型(WT)に対して変異型(Q58L)は機能が 10 分の 1 以下に低下していた。本年度はデータの数を増やし、その機能についても更に深く掘り下げた解析と考察を行った。

### A. 研究目的

本研究の目的は、進行性心臓伝導障害症例の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)遺伝子変異について、その機能解析を行い、病態機序を明らかにすることである。

### 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）を行い、野生型(WT)との比較を行った。どちらの cDNA も蛍光蛋白 GFP または DsRed を発現マーカーとした。

（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(WT)に比較して、Q58Lでは細胞膜上の GJ プラーク形成は少なかった (WT:94.9±1.9% vs. Q58L:6.6±0.7%)。両者を同量発現させた場合は、プラーク形成はWTの2分の1程度に改善した (48.2±2.4%)。共同研究者による共焦点顕微鏡での観察では、Q58Lは膜上に発現はしているが、細胞間でのプラーク形成が障害されていた。細胞電気生理学的な検討では、WTに比較して、Q58Lではホールセル電流の大きさが10分の1以下に低下していた (WT:12.9 nS vs. Q58L:1.2 nS)。シングルチャネル解析では、WTでは136.2±2.3 pS と53.1±5.3 pSに2峰性のピークを示すのに対し、Q58Lでは40.2±0.3 pSに1峰性のピークを示した。すなわち単一チャネルの開口そのものが小さい。チャネルの開口時間はQ58Lの方が長かった (WT=27.9±0.5 ms, Q58L=92.0±7.8 ms)。WTとQ58Lのheterotypic channelはカップリングがみられたのは28%に過ぎず、ホールセル電流は

WT側で60pS、Q58L側で33.5pSであった。また、WTとQ58Lのheteromeric channelについても検討した。まずWTとQ58L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。次にbicystronicなベクター (pIRES2) にWTとQ58Lの遺伝子を導入し、両者の発現率を変えて検討した。WTの発現が多い時にはホールセル電流はWTのみのチャネルとほぼ同じ値を示し、Q58Lが多いときにはホールセル電流はQ58L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。Q58Lは、細胞膜への輸送は障害されていないが、何らかの原因でCxが集合してチャネルを形成する過程が障害されており、機能するチャネル数が少ないことに加えて、WTに比べて単一チャネルのコンダクタンスが小さいため、細胞あたりの電流量が小さく、細胞間のコミュニケーションが障害されていると考えられる。以上は単一の種類のCxにより形成されるチャネルの機能解析であるが、症例はヘテロであり、WTとQ58Lを両方発現していると考えられるので、WTとQ58Lが様々な割合で入り混じるheteromericチャネルの解析も行った。WTの比率が高いチャネルはWTに近い機能を有するが、Q58Lの比率が高いチャネルはシングルチャネル、ホールセル電流共に著しく機能が損なわれており、全体として心臓刺激伝導系の細胞間コミュニケーションの低下を起こすことが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、Cxが集合してチャネルを形成

する過程が障害されており、機能するチャネル数が少ない。また、細胞電気生理学的解析の結果、個々の Q58L チャネルは WT 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。Q58L が WT と共に GJ チャネルを形成する際には、その比率によって、チャネルの機能低下が起こり、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。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1.Makita N, Seki A, Sumitomo N, Chkourko H, Fukuhara S, Watanabe H, Shimizu W, Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA, Probst V, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ, Delmar M. A connexin40 mutation associated with a malignant variant of progressive familial heart block type I. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012 Feb 1;5(1):163-72. Epub 2012 Jan 13.

2.Fukushima N, Matsuura K, Akazawa H, Honda A, Nagai T, Takahashi M, Seki A, Murasaki K, Shimizu T, Okano M, Hagiwara N, Komuro I. A crucial role of activin A-mediated growth hormone suppression in mouse and human heart failure. *PLoS One.* 2011;6(12):e27901. Epub 2011 Dec 28.

### 2. 学会発表

1.Fukushima N, Matsuura K, Akazawa H, Honda A, Nagai T, Takahashi M, Seki A, Murasaki K, Shimizu T, Okano M, Hagiwara N, Komuro I. Inhibition of Activin A is the Novel Therapeutic Target for Heart Failure. *Circulation.* 2011, 124:A14691.

2.西井清雅、関明子、小林靖、柴田洋三郎. 発生初期心拍動に異常を示す遺伝子変異マウスの心拍動画像解析. Motion analysis of initial heart contractions of mutant mice with heartbeat defects. 第 88 回日本生理学会大会 第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会 平成 23 年 3 月 28 日 (月) (横浜)

## 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

## 家族性徐脈疾患における疾患特異的ヒト iPS 細胞を用いた解析

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 関連心筋症は、拡張型心筋症+心臓伝導障害を呈し、致死性不整脈や重症心不全の合併により予後不良な難治性遺伝性心疾患である。我々の家族性徐脈症例の解析では約 3 割に本遺伝子異常が検出される。今回、lamin A/C 遺伝子異常（フレームシフト変異）患者から疾患特異的ヒト iPS 細胞を作製し、分化心筋の解析を行った。患者由来分化心筋では、lamin A/C 遺伝子発現が約半分に低下しており、non-translated mRNA decay による haploinsufficiency で発症していると推察された。3 カ月までの電子顕微鏡を用いた観察では、明らかな構造的差異を認めていないが、さらなる解析にて疾患発症機序の解明や疾患モデルとしての可能性が期待される。

### A. 研究目的

我々は、53 家系の家族性徐脈症例の解析にて、約 25%に心臓 Na チャネル遺伝子異常、約 28%に lamin A/C 遺伝子異常を検出し、現在、両遺伝子異常に対する疾患特異的人工多能性幹（induced pluripotent stem: iPS）iPS 細胞を用いた解析をすすめている。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、2 量体を形成し、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、致死性不整脈を呈する、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、分化心筋の解析を進めている。

### 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とし、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 細胞を作製した。心筋分化に関しては、浮遊培養にて胚様体を形成させ、BMP4、Activin A などのサイトカインにて心筋分化を促す方法（Yang et al. Nature 2008）を用いた。iPS 細胞、分化心筋細胞における lamin A/C 遺伝子発現は免疫染色、QPCR 法を用いて行った。また、電子顕微鏡を用いた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）の患者から皮膚生検を行い、皮膚線維芽細胞を樹立した。線維芽細胞にレトロウイルスにて山中 4 因子を導入し iPS 細胞 colony を樹立した。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、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。サイトカイン法を用いて作製した自己拍動する分化心筋では、コントロール、患者由来分化心筋とも抗 lamin A/C 抗体にて核膜が染色された。次に QPCR 法を用いて分化心筋における lamin A/C 遺伝子の mRNA 定量を行うため、lamin A/C 遺伝子 N 末 primer を用いた解析を行ったところ、患者由来分化心筋では、コントロールに比べて、48%まで mRNA 発現が低下していた。分化開始後 3 カ月における、電子顕微鏡を用いた解析では、コントロール、臨床症例と同じく、患者由来分化心筋にても一部に核膜二重構造（double line）の障害を認めたが、コントロールにも検出される非特異的な所見であり、両者に明らかな差を認めなかった。

### D. 考察

本研究にて、lamin A/C 関連心筋症患者 iPS 細胞由来分化心筋の解析を行った。lamin A/C 遺伝子の定量的 mRNA 発現解析では、症患者由来分化心筋にて、コントロールに比べて、48%まで遺伝子発現の低下を認めた。患者の遺伝子異常は、フレームシフト変異で途中に stop codon が挿入さ

れ、その後に翻訳されない exon が残存する変異であり、non-translated mRNA decay が生じていると推察された。lamin A, C は 2 量体を形成することが知られており、Dominant-negative effect も考え得るが、本異常においては haplo-insufficiency で発症していると推察された。電子顕微鏡を用いた超微細構造の観察では、3 カ月の分化心筋にて有意な差を認めず、分化心筋は幼若であることが一因と考えられる。現在、長期培養や負荷を加えた解析を進めている。lamin A/C 関連心筋症の疾患モデルとして確立されれば、治療法の開発につながるかと考える。

## E. 結論

lamin A/C 関連心筋症における疾患特異的 iPS 細胞を用いた解析では、haplo-insufficiency にて心筋症が発症し得ると推察された。更なる解析にてより詳細な疾患発症メカニズムの解明、疾患モデルとしての可能性が期待される。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Hattori T, Makiyama T, Akao M, Ehara E, Ohno S, Iguchi M, Nishio Y, Sasaki K, Itoh H, Yokode M, Kita T, Horie M, Kimura T. A novel gain-of-function KCNJ2 mutation associated with short-QT syndrome impairs inward rectification of Kir2.1 currents. *Cardiovasc Res*. 2012 Mar 15;93(4):666-73.
- ② Makita N, Seki A, Sumitomo N, Chkourko H, Fukuhara S, Watanabe H, Shimizu W, Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA, Probst V, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ, Delmar M. A connexin40 mutation associated with a malignant variant of progressive familial heart block type I. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012 Feb 1;5(1):163-72.
- ③ Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Electrocardiographic characteristics and SCN5A mutations in idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2011 Dec;4(6):874-81.
- ④ Miyamoto A, Hayashi H, Yoshino T, Kawaguchi T, Taniguchi A, Itoh H, Sugimoto Y, Itoh M, Makiyama T, Xue JQ, Murakami Y, Horie M.

Clinical and electrocardiographic characteristics of patients with short QT interval in a large hospital-based population. *Heart Rhythm*. 2012 Jan;9(1):66-74.

- ⑤ Tsuji-Wakisaka K, Akao M, Ishii TM, Ashihara T, Makiyama T, Ohno S, Toyoda F, Dochi K, Matsuura H, Horie M. Identification and functional characterization of KCNQ1 mutations around the exon 7-intron 7 junction affecting the splicing process. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Nov;1812(11):1452-9.
  - ⑥ 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. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011 Jun;4(3):253-60.
  - ⑦ Ohno S, Zankov D, Ding W, Makiyama T, Doi T, Shizuta S, Itoh H, Nishio Y, Hattori T, Matsuura H, Horie M. KCNE5 (KCNE1L) variants are novel modulators of Brugada syndrome and idiopathic ventricular fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2011 Jun;4(3):352-61.
  - ⑧ 牧山武 循環器疾患の発症機序解明における iPS 細胞の可能性 循環器内科 2011 70(5): 530-536.
- ### 2. 学会発表
- ① 牧山武 : Analysis of Cardiomyocytes Differentiated from Disease-specific Induced Pluripotent Stem Cells from a Patient with Lamin A/C-related Cardiomyopathy. American Heart Association, Orland, USA, 11.16, 2011.
  - ② 牧山武 : Analysis of Cardiomyocytes Differentiated from Disease-specific Induced Pluripotent Stem Cells from a Patient with Lamin A/C-related Cardiomyopathy. 第 76 回日本循環器学会学術集会, 福岡, 3.16-18, 2012.
  - ③ 牧山武 : Establishment of Disease-specific Induced Pluripotent Stem Cells from a Patient with Lamin A/C-related Cardiomyopathy. 第 75 回日本循環器学会学術集会, 横浜, 8.3-4, 2011.
  - ④ 服部哲久 : Over-expression of heterozygous KCNJ2-M301K channels, identified in a patient with short QT syndrome, 2011 European Society of Cardiology, Paris, France, 8.27-31, 2011.
  - ⑤ 服部哲久 : Genetic Analysis of Candidate Gene Mutations in Patients with Short QT Syndrome. 第 76 回日本循環器学会学術集会, 福岡, 3.16-18, 2012.
  - ⑥ 服部哲久 : Over-expression of heterozygous KCNJ2-M301K channels, identified in a patient with short QT syndrome, 第 76 回日本循環器学会学術集会, 福岡, 3.16-18, 2012.
  - ⑦ 鎌倉 令: ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の電子

顕微鏡所見, 第 33 回心筋生検研究会, 京都,  
11.25-26, 2012.

2. 実用新案登録 なし
3. その他

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



## 進行性心臓伝導障害の発症率と伝導障害が関係する不整脈症候群に関する研究

研究代表者又は研究分担者 渡部 裕 新潟大学第一内科

研究要旨 心臓伝導障害の発症頻度を明らかとし、完全房室ブロックの危険因子を同定するため、新潟県の基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明らかにした。早期再分極症候群症例は対照群と比較して心臓の刺激伝導が緩徐であることが示された。

### A. 研究目的

心臓伝導障害の発症頻度を明らかとし、また伝導障害を来たす不整脈症候群の病態を解明すること。

### B. 研究方法

新潟県成人病予防協会に蓄積している基本健診データを基にして心臓伝導障害の発症率と完全房室ブロック発症への影響を検討した。また新たな不整脈症候群である早期再分極症候群における伝導障害について検討した

（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8.2+/-4.5年の経過観察において141,798人中、3880人(3%)が一度房室ブロックを、9526人(7%)が右脚ブロックを、884人(1%)が左脚ブロックを、107人(0.08%)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、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危険因子であった。なお右脚ブロックは危険因子ではなかった。

また50症例の早期再分極症候群において心電図所見を性年齢を一致させた対照群と比較すると、早期再分極症候群は対照群に比べて心拍数が

遅く、PQ間隔とQRS間隔が延長し、QT間隔が短縮していた。また早期再分極症候群の29例に心臓電気生理検査を施行したところ、His束心室伝導時間は平均48±9msであり、4例で55ms以上に延長していた。

### D. 考察

様々な程度の伝導障害が完全房室ブロック発症の危険因子であり、これは伝導障害が進行性であることを示した。このような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。

早期再分極症候群の電気生理的背景として伝導障害が存在することが示され、これは一部に心臓の刺激伝導に関与する SCN5A 遺伝子の変異が関与することと矛盾しない結果であった。

### E. 結論

伝導障害は比較的健康な一般住民においても進行性であった。早期再分極症候の病態背景としての伝導障害の重要性が示された。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Watanabe H, Tanabe N, Yagihara N, Watanabe T, Aizawa Y, Kodama M. Role of inflammation in cholesterol paradox in atrial fibrillation on Circ J. 2012;Accepted
2. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fu

- kae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Response to letter regarding article, "electrocardiographic characteristics and scn5a mutations in idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization". *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012:e60-e61
3. Watanabe H, Makita N, Tanabe N, Watanabe T, Aizawa Y. Electrocardiographic abnormalities and risk of complete atrioventricular block. *Int J Cardiol.* 2012
  4. Yagihara N, Sato A, Iijima K, Izumi D, Furushima H, Watanabe H, Irie T, Kaneko Y, Kurabayashi M, Chinushi M, Satou M, Aizawa Y. The prevalence of early repolarization in wolff-parkinson-white syndrome with a special reference to j waves and the effects of catheter ablation. *J Electrocardiol.* 2011
  5. Watanabe H, Yang T, Stroud DM, Lowe JS, Harris L, Atack TC, Wang DW, Hipkens SB, Leake B, Hall L, Kupersmidt S, Chopra N, Magnuson MA, Tanabe N, Knollmann BC, George AL, Jr., Roden DM. Striking in vivo phenotype of a disease-associated human scn5a mutation producing minimal changes in vitro. *Circulation.* 2011;124:1001-1011
  6. Watanabe H, Tanabe N, Yagihara N, Watanabe T, Aizawa Y, Kodama M. Association between lipid profile and risk of atrial fibrillation. *Circ J.* 2011;75:2767-2774
  7. Watanabe H, Steele DS, Knollmann BC. Mechanism of antiarrhythmic effects of flecainide in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circ Res.* 2011;109:712-713
  8. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Electrocardiographic characteristics and scn5a mutations in idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2011;4:874-881
  9. Watanabe H, Knollmann BC. Mechanism underlying catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia and approaches to therapy. *J Electrocardiol.* 2011;44:650-655
  10. van der Werf C, Kannankeril PJ, Sacher F, Kraljovich AD, Viskin S, Leenhardt A, Shimizu W, Sumitomo N, Fish FA, Bhuiyan ZA, Willemss AR, van der Veen MJ, Watanabe H, Laborde J, Haissaguerre M, Knollmann BC, Wilde AA. Flecainide therapy reduces exercise-induced ventricular arrhythmias in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57:2244-2254
  11. Sato A, Tanabe Y, Chinushi M, Hayashi Y, Yoshida T, Ito E, Izumi D, Iijima K, Yagihara N, Watanabe H, Furushima H, Aizawa Y. Analysis of j waves during myocardial ischemia. *Europace.* 2011
  12. Sato A, Chinushi M, Iijima K, Watanabe H, Izumi D, Furushima H, Sonoda K, Hasegawa K, Yagihara N, Aizawa Y. An appropriate defibrillation threshold obtained by the combined connection between two shock leads and icd generator. *Intern Med.* 2011;50:2815-2818
  13. Oda M, Watanabe H, Oda E, Tomita M, Obata H, Ozawa T, Oda Y, Iizuka T, Toba K, Aizawa Y. Rise in international normalized ratio after a catastrophic earthquake in patients treated with warfarin. *Int J Cardiol.* 2011
  14. Nagao S, Hayashi Y, Yagihara N, Sato A, Watanabe H, Furushima H, Chinushi M, Aizawa Y. Preexcitation unmasks j waves: 2 cases. *J Electrocardiol.* 2011;44:359-362
  15. Furushima H, Chinushi M, Iijima K, Hasegawa K, Sato A, Izumi D, Watanabe H, Aizawa Y. Is the coexistence of sustained st-segment elevation and abnormal q waves a risk factor for electrical storm in implanted cardioverter defibrillator patients with structural heart diseases? *Europace.* 2011
  16. Atack TC, Myers Stroud D, Watanabe H, Yang T, Hall L, Hipkens SB, Lowe JS, Leake B, Magnuson MA, Yang P, Roden DM. Informatic and functional approaches to identifying a regulatory region for the cardiac sodium channel. *Circ Res.* 2011;109:38-46
2. 学会発表
    1. 渡部裕 Clinical, Electrocardiographic, and Genetic Characteristics of Patients with Idiopathic Ventricular Fibrillation associated with Early Repolarization. *AHA Scientific Sessions 2011.*
    2. 渡部裕 Effects of Flecainide in Genotype-negative Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. *Heart Rhythm 2011.*
  - 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

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
Shimizu W, Ackerman MJ	Clinical rhythmology: Diagnostic methods and tools	Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK (eds)	Electrical Diseases of the Heart (Second edition)	Springer	UK	2012	in press
Shimizu W.	Secondary Hereditary and Acquired Cardiac Channelopathies, and Sudden Cardiac Death	Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK (eds)	Electrical Diseases of the Heart (Second edition)	Springer	UK	2012	in press
Shimizu W.	Diagnostic evaluation of Long QT syndrome	Priori SG	Cardiac electrophysiology clinics	Elsevier	Philadelphia	2012	29-37
Hayashi H, Horie M.	Prognostic value of P wave for developing atrial fibrillation.	Jong-Il Choi	Atrial Fibrillation - Basic Research and Clinical Applications	INTECH	クロアチア	2011	189-198
蒔田直昌	不整脈とイオンチャネル病	井上 博	別冊医学のあゆみ ここまで進んだ不整脈研究の最新動向	医歯薬出版株式会社	東京	2011	5-12
堀江 稔	QT短縮症候群	井上 博	別冊医学のあゆみ ここまで進んだ不整脈研究の最新動向	医歯薬出版株式会社	東京	2011	105-108
堀江 稔	15章 細胞内灌流法	岡田泰伸	最新パッチクラップ実験技術法	吉岡書店	京都	2011	145-152
清水 渉	5. 循環器系の疾患. 5.4 循環器疾患と遺伝子異常. 3) 遺伝性不整脈. (分担)	矢崎義雄 永井良三	朝倉『内科学』	朝倉書店	東京	2012	印刷中
清水 渉	Brugada症候群. 6. 循環器疾患 (分担)	山口 徹 北原光夫 福井次矢	不整脈診療のトラブルシューティング 『今日の治療指針』2012年版	医学書院	東京	2012	352-353
清水 渉	I-7. 無症状のBrugada型心電図: どうする!?(分担)	山下武志 高橋 淳 栗田隆志	不整脈診療のトラブルシューティング	南江堂	東京	2011	24-27
清水 渉	I-8. QT延長症候群・QT短縮症候群の診断はどうする!?. (分担)	山下武志 高橋 淳 栗田隆志	不整脈診療のトラブルシューティング	南江堂	東京	2011	28-31