

201128244A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

先天性QT延長症候群の家族内調査による 遺伝的多様性の検討と治療指針の決定

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 堀江 稔
(滋賀医科大学)

平成24(2012)年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

先天性QT延長症候群の家族内調査による 遺伝的多様性の検討と治療指針の決定

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 堀江 稔
(滋賀医科大学)

平成24(2012)年3月

目 次

I. 総括研究報告

先天性QT延長症候群の家族内調査による遺伝的多様性の検討と治療指針の決定

堀江 稔…… 1

II. 分担研究報告

1. 先天性QT延長症候群の2次予防におけるβ遮断薬抵抗性についての検討

清水 渉……11

2. 先天性QT延長症候群の遺伝子解析と変異遺伝子の電気生理学的特徴

林 研至……15

3. カテコラミン誘発性多形性心室頻拍における疾患特異的ヒトiPS細胞を用いた解析

牧山 武……18

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……………21

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ……………29

I . 総括研究報告

先天性QT延長症候群の家族内調査による遺伝的多様性の検討と治療指針の決定

研究代表者 堀江 稔 滋賀医科大学 内科学講座（循環器・呼吸器） 教授

研究要旨：先天性QT延長症候群は3,000人から5,000人に一人の頻度で発見され、心筋イオンチャネルの遺伝子変異による心筋再分極異常から致死性不整脈に関連する遺伝性不整脈疾患である。先天性QT延長症候群の原因として、現在までに13個の責任遺伝子が同定されている。臨床的には、常染色体優性遺伝形式をとるRomano-Ward症候群と常染色体劣性遺伝形式を示すJervell and Lange-Nielsen症候群に分類されるがJervell and Lange-Nielsen症候群は聾啞を伴うQT延長症候群で稀であり、ほとんどは心臓異常だけのRomano-Ward症候群である。このRomano-Ward症候群は一般的には1個の遺伝子変異が原因で発症するが、2個以上の遺伝子変異を有する症例も報告されていた。このような先天性QT延長症候群の家族内検索をすると、臨床像が軽微であり、いわゆる薬剤性のQT延長症候群などの2次性の症例を経験することがある。また明らかな2次性のQT延長症候群の中にも、カリウムチャネルなどの遺伝子異常が発見されることがまれならず経験される。本研究課題では2次性と先天性症例との間の遺伝学的な差について注目した。両群間に遺伝的背景の違いがあるのか、また、その変異の悪性度はどの程度であるのかを検討した。対象は連続560例のQT延長症候群発端者で、先天性438人（22±18歳，女性276人）と2次性122人（58±20歳，女性89人）である。変異発見率は、先天性において有意に高かった（56% vs 24%）。2次性では、有症候性で有意にQTc時間は延長して、また、変異発見率も有意に高かった（29% vs 0%）。すなわち、症状のない2次性QT延長症候群例では、疾患関連遺伝子の変異を認めなかった。興味深いことに、2次性で同定できた変異のうち、約半分は先天性QT延長症候群でも発見されている、いわゆる悪性な変異であることが判明した。本研究で、先天性QT延長症候群に比べて、2次性では遺伝的背景が少ないことが示唆されたが、症候性の例では、約3人にひとり発見されること、また、先天性の家族で変異キャリアーは新たな2次性QT延長症候群患者として発症する危険性が高いことが示された。家族内のスクリーニングの重要性が強調された。

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
林 研至	金沢大学 医薬保険研究域医学系 臓器機能制御学 助教
牧山 武	京都大学 大学院医学研究科 循環器内科学 助教

A. 研究目的

本研究の目的は、臨床調査研究：『致死性不整脈疾患の遺伝子診断と臨床応用』（18050101）を通して全国登録できた先天性QT延長症候群を対象として、我が国で同定できた遺伝子異常（変異と多型）の分布分析・機能解析を行い、その遺伝的背景の臨床的重症度を決定しようとするものであ

る。研究申請者の堀江は、QT延長症候群例において世界で最初に原因遺伝子が同定された1995年の翌年より当時所属していた京都大学の倫理委員会の承認を得て、ゲノムDNA集積を始めている。さらに、上記の調査研究を通して、その先天性QT延長症候群コホートは、現在、600家系以上が集積され、遺伝子診断の確定例は300症例を超えた。本研究では、分担研究者の4施設に集積され解析可能であった560例の発端者を対象に、その発症様式から、先天性と2次性（このカテゴリーはさらに症候性と無症候性に分ける）に分類して、その遺伝的背景や重症度により変異の違いについて詳細に調べた。本邦での遺伝子検査を踏まえたテーラメイド医療を実践するうえでの、臨床データを提供することが目的である。

B. 研究方法

登録症例を対象に遺伝子型—臨床型の病態理解をより深めるために、QT延長症候群症例のゲノム解析も行ない分子生物学あるいは電気生理学的な手法を用いて分子病態の解明を行う。今回の検討では、すでに証明されている6つの関連遺伝子、すなわち、*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*について、すべてのエクソンを調べた。あらかじめ、施設の倫理委員会で承認されたプロトコール通り、すべての患者からインフォームド・コンセントを得て可能な限りの臨床情報と血液サンプルを採取した。

対象症例

1996年3月から2010年3月までの間に集積した上記6遺伝子に対する検索が終了した560人の発端者と454人の家族を対象とした。臨床像としては、年齢・性・心イベントの有無（失神、Torsade de pointes）、家族例の有無、発症した場合その年齢・心電図所見などである。先天性と分類するのは、QT延長の原因として、薬物、徐脈、低カリウム血症などが無い場合とし、2次性は上記のような因子があきらか場合として、遺伝子診断の前に、分類した。その結果、先天性438人（22±18歳，女性276人）と2次性122人（58±20歳，女性89人）の2群に分けることが出来た。2次性の誘因内訳は、薬物が71人、低カリウム血症が25人、徐脈が24人であった。また、2例ではそれぞれ脳出血と低体温が誘因であった。すべての薬物性QT延長例での投与薬物は至適投与量内であり、低カリウム血症例での平均K濃度は2.7mEq/Lであった

遺伝子変異の同定

患者の末梢血の白血球からゲノムDNAを採取する。これに対し目的とする部位の遺伝子増幅(PCR)をかけ、コントロールとともにスクリーニングにかける。スクリーニングにはWAVE解析装置(Transgenomic社)を利用した変性高速液体クロマトグラフィー(DHPLC法)を用いている。この方法で、異常バンドが認められた場合、直接シーケンス法(direct sequence法)を用いて、異常塩基の同定を行いアミノ酸の変化を確認する。協力の得られた場合は家族の遺伝子変異の有無も検討し、臨床病態との関係を検討する。

(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、申請者・共同研究者がそれぞれの施設の倫理委員会の承認を得ている。本研究では、インフォームド・コンセントの得られた患者から末梢血を採取し、ゲノムDNAを抽出する。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取り除き、代わりに患者識別番号でコード化することによって、「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える。また、必要な場合には遺伝子カウンセリングを行う。

C. 研究結果

対象症例の臨床像の内訳を下のTable 1に示す。2次性(acquired LQTS)において、女性の比率が有意に高く、その心電図測定時の年齢や発症年齢も高かった。一方、家族歴については、先天性において有意に頻度が高く、また、QTc値は有意に長くT波のノッチなどの形態異常も有意に多かった。

Table 1 Clinical Characteristics of Probands With Congenital and Acquired Long-QT Syndrome

	Congenital LQTS (n = 438)	Acquired LQTS (n = 122)	P value
Gender			
Female (%)	276 (63%)	89 (83%)	0.037
Age (years) at ECG	22 ± 18 [15, 11-30]	58 ± 20 [63, 45-73]	<0.001
< 40 years (%)	362 (83%)	24 (20%)	<0.001
Symptoms			
Syncopal (%)	214 (49%)	100 (82%)	<0.001
TdP, VF, or cardiac arrest (%)	85 (19%)	85 (70%)	<0.001
Age (years) at first events (range)	18 ± 16 [13, 8-20]	55 ± 22 [60, 41-72]	<0.001
Family history			
LQTS members (%)	111 (28%)	4 (3%)	<0.001
ECG measurements			
corrected QT (ms)	490 ± 65	455 ± 44	<0.001
notched T wave (%)	143 (37%)	13 (12%)	<0.001

TdP, cardiac arrest, TdP = torsades de pointes, VF = ventricular fibrillation, [A, B], A = median, B-C = first interquartile range-third interquartile range.

ECG measurements in acquired LQTS were parameters without secondary factors.

図1の棒グラフは、先天性(438例)と2次性(122例)での、関連遺伝子変異の同定率である。先天性において有意に高かった(56% vs 24%) (図1 A)。2次性では、症候性例での変異発見率が有意に高かった(29% vs 0%) (図1 B)。

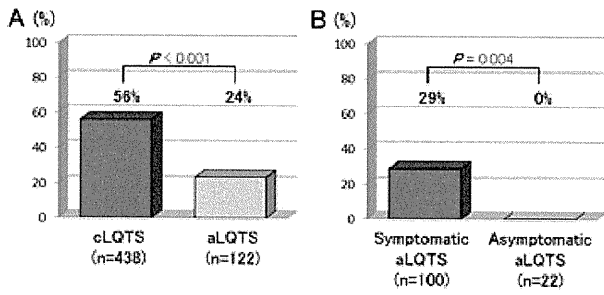


図1：遺伝子異常同定率の違い

先天性QT延長症候群で発見された変異の内訳はLQT1が106人、LQT2が97人、LQT3が17人、LQT5が2人、そして2つ以上の変異を同時に有するcompound mutation症例が24人であった。一方、2次性ではLQT1が9人、LQT2が16人、LQT3が4人で、LQT2が多い傾向であった。

図2 Aは、LQT1-3とLQT5で同定できたすべて変異の部位を、各イオンチャネルのTopology上に示している。各サブタイプの分布を図2 Bに示す

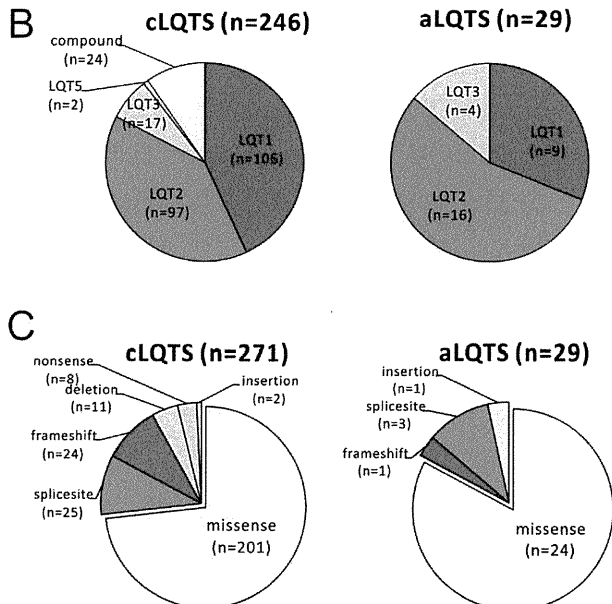
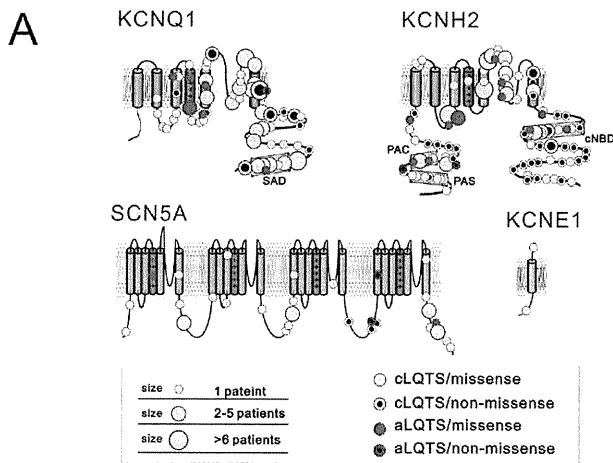


図2：遺伝子変異の部位と種類

が、compound mutationsは、すべて先天性症例で、発端者の約10%に認められた。また、変異のサブタイプも両群間で有意な差はなく、ともにミスセンス変異が多かった(図2 C: 83% vs. 74%, $P = 0.574$)。家族歴や以前の非特異的な失神に関しては、症候性に多い傾向があった。

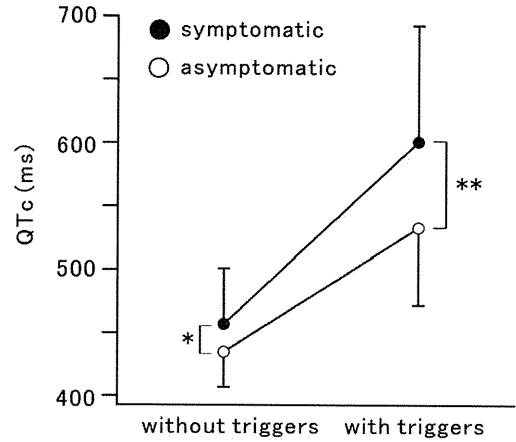


図3：症候性・無症候性によるQTcの違い

2次性症例については、症候性と無症候性に分けて検討した。症候性では、無症候性に比べて、誘因がないベースラインのQTc時間が有意に長く(460 ± 46 vs. 436 ± 28 ms)、また女性の比率が有意に低かった(66% vs. 86%, $P < 0.05$)。さらに、薬物などの誘因の存在下での心電図では、当然ながら、症候性でのQTc時間は有意に長かった(599 ± 91 ms vs. 538 ± 57 ms $P = 0.004$ (図3))。しかし家族歴の有無には差がなかった。

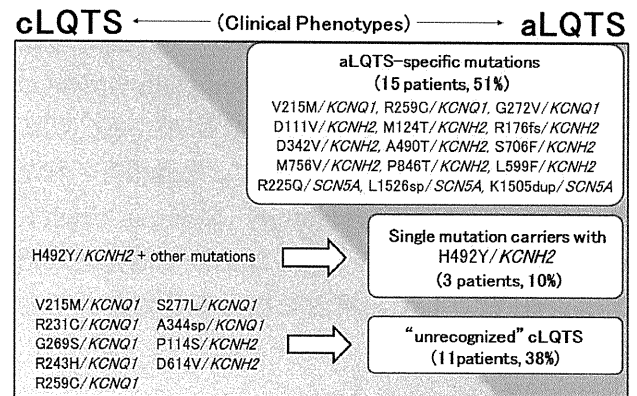


図4：我々の症例での遺伝子異常の分布

現在までに報告のあった先天性と、本研究で2次性においてわれわれの同定できた29個の変異が、すでに同定されている先天性QT延長症候群の関連変異とどの程度一致しているかを模式的に示したのが図4である。向かって左が先天性と共通する変異、右が2次性に特異的、という意味で、29

変異のうち15変異は、先天性でいまだ報告のないユニークな異常であった。一方、残り14変異は、すでに先天性症例で発見されている異常と同じであった。とくに、H492Y-*KCNH2*は単一変異で同定される場合(3症例)、その病像は2次性と類似していたが、他の変異とのcompound mutationsとして発見される場合、先天性の病像を示した。

D. 結論

本研究では、3つの大きな発見があった。

(1)先天性QT延長症候群に比べて2次性における病的な遺伝背景は軽度であること、(2)しかし、torsade de pointesなど重症の2次性においては、先天性における頻度(56%)の半分程度で関連遺伝子の変異が発見(24%)され、(3)その約半分は、先天性QT延長症候群で同定される変異と同じであった。これらの2次性QT延長症候群での、遺伝子同定率は、従来の報告よりも高かった。さらに、興味深いことにその発見率は、2次性でも、その重症度に比例して症候例で上昇した(28%)。

先天性と2次性QT延長症候群の両者で同定された変異の中で、H492Y-*KCNH2*の挙動は興味深く、他の変異とcompound mutationsとして発見される場合、重症の先天性となり、単独の存在では、典型的な2次性の病像を呈した。一方、2次性、とくに無症候性では、われわれの検索した6つの関連遺伝子で変異を認めなかった。今後、もっと大きな2次性QT延長症候群コホートで、いわゆる修飾遺伝子(modifier gene)の検索を行うべきと考えられる。すでに報告されたmodifier gene variantとして有名なものに、Y1103-*SCN5A*, K897T-*KCNH2*, D85N-*KCNE1*などがある。さらに、最近報告された、genome-wide association study(Newton-Cheh C et al., 2009; Pfeufer A et al., 2009)で同定されたvariantsに注目して、検討を加える必要があると考えられる。

E. 健康危険情報

薬物性QT延長、是に伴うtorsade de pointesによる致死的な不整脈の予知・予防には、先天性QT延長症候群において同定されている遺伝子群のスクリーニング検査が重要である。

参考：Itoh H, Horie M et al. Genetic mutations in long QT syndrome manifested by acquired factors. Submitted to New England Journal of Medicine

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Aizawa Y, Sato A, Watanabe H, Chinushi M, Furushima H, Horie M, Kaneko Y, Imaizumi T, Okubo K, Watanabe I, Shinozaki T, Aizawa Y, Fukuda, Joo K, Haissaguerre M. Dynamicity of the J wave in idiopathic ventricular fibrillation with a special reference to pause-dependent augmentation of the J wave. Journal of American College of Cardiology (in press)
2. Okayasu H, Ozeki Y, Fujii K, Takano Y, Saeki Y, Hori H, Horie M, Higuchi T, Kunugi H, Shimoda K. Pharmacotherapeutic determinants for QTc interval prolongation in Japanese patients with mood disorder. Pharmacopsychiatry (in press)
3. Kuramoto Y, Furukawa Y, Yamada T, Okuyama Y, Horie M, Fukunami M. Andersen-Tawil Syndrome Associated With Aborted Sudden Cardiac Death: Atrial Pacing Was Effective for Ventricular Arrhythmias. AJMS (in press)
4. 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 Kir 2.1 currents. Cardiovascular Research 93; 666-673, 2012.
5. Wu J, Ding WG, Matsuura H, Horie M. Regulatory mechanisms underlying the modulation of GIRK1/GIRK4 heteromeric channels by P2Y receptors. European Journal of Physiology 463(4); 625-33, 2012.
6. Miyamoto A, Hayashi H, Yoshino T, Kawaguchi T, Taniguchi A, Ito H, Sugimoto Y, Ito M, Makiyama T, Xue JQ, Mu-

- rakami Y, Horie M. Clinical and electrocardiographic characteristics of patients with short QT interval in a large hospital-based population. *Heart Rhythm* 9; 66-74, 2012.
7. Makita N, Seki A, Sumitomo N, Fukuhara S, Watanabe H, Shimizu W, Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA.M, Probst V, Marec HL, Delmar M, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ. A. Connexin 40 mutation associated with a malignant variant of familial progressive heart block type-1. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* 5: 163-172, 2012.
 8. Kaneshiro T, Naruse Y, Nogami A, Tada H, Yoshida K, Sekiguchi Y, Murakoshi N, Kato Y, Horigome H, Kawamura M, Horie M, Aonuma K. Successful catheter ablation of bidirectional ventricular premature contractions triggering ventricular fibrillation in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with RyR2 mutation. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* 5; e14-e17, 2012.
 9. 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. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology* 4; 874-881, 2011.
 10. 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. *Circulation Research* 108; 458-468, 2011.
 11. 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* 7; 844-851, 2011.
 12. Ohno S, Zankov DP, Ding WG, Itoh H, Makiyama T, Doi T, Shizuta S, Hattori T, Miyamoto A, Naiki N, Hancox JC, Matsuura H, Horie M. KCNE5 (KCNE1L) variants are novel modulators of brugada syndrome and idiopathic ventricular fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 4; 352-61, 2011.
 13. 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* 4; 253-260, 2011.
 14. Shimizu W, Horie M. Phenotypical manifestations of mutations in genes encoding subunits of cardiac potassium channels. *Circulation Research* 109(1); 97-109, 2011.
 15. Tsuji K, Akao M, Ishii TM, Ashihara T, Makiyama T, Ohno S, Toyoda F, Nishio Y, Sakaguchi T, Matsuura H, Horie M. Identification and functional characterization of KCNQ1 mutations around the exon7-intron7 junction affecting the splicing process. *BBA-Molecular Basis of Disease* 1812; 1452-1459, 2011.
 16. Hayashi H, Horie M. Heritability of early repolarization: A population-based study. *Circulation Cardiovascular Genetics* 4(5); e20, 2011.
 17. Kimura H, Mizusawa Y, Itoh H, Miyamoto A, Kawamura M, Kawaguchi T, Naiki N, Oka Y, Ohno S, Makiyama T, Ito M, Horie M. Carvedilol, a non-selective β -

with α_1 -blocker is effective in long QT syndrome type 2. Journal of Arrhythmia 27; 324-331, 2011.

18. 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 Electro-physiol. 22; 350, 2011.
 19. 佐野 幹、渡邊栄一、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：ペースメーカー植え込み同胞例で認められた新たなLamin A/C変異 心電図 31(1);18-24, 2011.
 20. 堀江 稔：働き盛りの心臓突然死、QT延長症候群、抗うつ薬との関係－薬物性torsade de pointes－ 大津市医師会誌 34; 20-25, 2010.
 21. 伊藤英樹、堀江 稔、井本敬二：遺伝性不整脈疾患とシミュレーション。不整脈PLUS 3;9, 2011.
 22. 定 翼、国分則人、堀江 稔、阿部百佳、駒ヶ嶺朋子、平田幸一：KCNJ2変異を伴う Andersen-Tawil症候群の神経生理所見。臨床神経生理学 39(1):18-23, 2011.
 23. 堀江 稔：循環器疾患における遺伝的背景と発症機序理解のための多面的アプローチ 循環器内科 70;421-422, 2011.
 24. 脇坂啓子、堀江 稔：スプライシング異常と循環器疾患 循環器内科 70;523-529, 2011.
2. 学会発表
1. 堀江 稔：遺伝性突然死症候群の実態に迫る 第25回日本心臓病学会教育セミナー (2011.02.20 大阪)
 2. Horie M: Molecular genetics of ARVC. Cardiorhythm 2011 (2011.02.25-27, Hong Kong, China)
 3. 堀江 稔：家族性QT延長症候群の遺伝診断と治療 第5回愛媛発達心臓病研究会 (2011.04.09 愛媛)
 4. 堀江 稔：不整脈のUp To Date 循環器合同エキスパートミーティング (2011.04.16 岡山)
 5. Horie M: Genetics and Molecular mechanisms of ventricular tachyarrhythmia. Taiwan Society of Cardiology-2011 Annual Meeting (2011.05.14-15 Taipei, Taiwan)
 6. Horie M: Challenging ECG of sudden cardiac death. Taiwan Society of Cardiology-2011 Annual Meeting (2011.05.14-15 Taipei, Taiwan)
 7. 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 iPSアカデミアジャパン研修会 (2011.05.20 京都)
 8. 岡川浩人、鹿野真由美、西山敬三、松井俊樹、山岡 修、大村 具子、伊藤 誠、堀江 稔：学校検診にて発見された早期再分極症候群 (J wave syndrome) の疑われる一例。第70回滋賀県循環器疾患研究会 (2011.06.11 滋賀)
 9. Takigawa M, Kawamura M, Noda T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Aihara N, Kamakura S, Sakaguchi T, Mizusawa Y, Itoh H, Horie M, Shimizu W: Seasonal and circadian distributions of occurrence of cardiac events in genotyped patients with congenital long QT syndrome. 第75回日本循環器学会総会・学術集会 (2011.08.3-4 横浜)
 10. Makimoto H, Horie M, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano K, Yamagishi M, Makita N, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara N, Sumitomo N, Itoh H, Yamada Y, Okamura , Noda T, Aiba T, Kamakura S, Miyamoto Y, Shimizu W: What influences β -blocker resistance for secondary prevention of cardiac events in patients with congenital long QT syndrome. 第75回日本循環器学会総会・学術集会 (2011.08.3-4 横浜)
 11. Makiyama T, Yoshida Y, Sasaki K, Shizuta S, Doi T, Hattori T, Horie M, Kimura T: Establishment of disease-specific induced pluripotent stem cells from a patient with Lamin A/C-related cardiomyopathy. 第75回日本循環器学会総会・学術集会 (2011.08.3-4 横浜)

12. Kimura H, Zhou J, Itoh H, Mizusawa Y, Miyamoto A, Jitoh Y, Kawamura M, Sakaguchi T, Nishio Y, Ding WG, Makiyama T, Ito M, Matsuura H, Horie M: Genotype-phenotype correlation in Japanese patients with andersen-tawil syndrome. 第75回日本循環器学会総会・学術集会 (2011.08.3-4 横浜)
13. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Taniguchi A, Sugimoto Y, Ito M, Horie M: Prognostic implications of progressive cardiac conduction disease. 第75回日本循環器学会総会・学術集会 (2011.08.3-4 横浜)
14. Kimura H, Zhou J, Itoh H, Mizusawa Y, Miyamoto A, Kawamura M, Makiyama T, Ito M, Matsuura H, Horie H. Phenotype variability in patients carrying KCNJ2 mutations. ESC Congress 2011 (2011.08.27-31, Paris, France)
15. Hattori T, Makiyama T, Akao M, Ehara E, Ohno S, Iguchi M, Sasaki K, Itoh H, Horie M, Kimura T. Over-expression of heterozygous KCNJ2-M301K channels, identified in a patient with short QT syndrome, shortened action potential durations in neonatal rat ventricular myocytes. ESC Congress 2011 (2011.08.27-31, Paris, France)
16. Horie M, Ohno S, Wu J, Zankov DP, Toyoda F, Ding WG, Matsuura H: Mutations of KCNE gene family in inherited arrhythmia syndromes. Special Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会2011.09.18-22 福岡)
17. Horie M, Itoh H, Shimizu W, Hayashi K, Ohno S, Makiyama T, Yamagishi M, Kamakura S: Long QT Syndromes are heterogeneous disease entities presenting not only QT prolongation but multiple phenotypes Cases with compound heterozygous mutations. JHRS-JSE Joint Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
18. Horie M: Renin-Angiotensin-Aldosterone system and atrial fibrillation. Evening Seminar 1 (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
19. Makimoto H, Horie M, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Yamagishi M, Makita N, Makiyama T, Aiba T, Kamakura S, Miyamoto Y, Shimizu W: Clinical and genetic features of japanese patient with congenital long QT syndrome. JHRS-JSE Joint Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
20. Wu J, Naiki N, Ding WG, Matsuura H, Horie M: A weak dominant negative mutation of KCNQ1-G269S affects PKA-Mediated up-regulation of IKs channels and causes adrenergic triggered long QT syndrome. Mini-Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
21. Naiki N, Hayashi H, Miyamoto A, Sugimoto Y, Ito M, Horie M. Prognostic significance of J wave in patients who underwent device therapy for ventricular defibrillation. Mini-Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
22. Nakazawa Y, Ashihara T, Miyamoto A, Ozawa T, Sugimoto Y, Ito M, Horie M: Importance of long-term follow-up after pulmonary vein isolation: A study using event-ECG monitors. Mini-Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡) Ozawa T, Ito M, Nakazawa Y, Ashihara T, Miyamoto A, Sugimoto Y, Yao T, Horie M: Ventricular fibrillation triggered during radiofrequency energy delivery for verapamil-sensitive idiopathic left ventricular tachycardia. Mini-Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
23. Makita N, Makiyama T, Nogami A, Watanabe H, Seki A, Sumitomo N,

- Shimizu W, Horie M: Clinical features and genetic basis of progressive cardiac conduction defect: Japanese PCCD registry. JHRS-JSE Joint Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
24. Ashihara T, Haraguchi R, Inada S, Nakazawa K, Ozawa T, Nakazawa Y, Ito M, Horie M, Trayanova N: Mechanisms of complex fractionated electrogram-targeted ablation in a model for chronic atrial fibrillation. Mini-Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 25. Wang Q, Ohno S, Makiyama T, Kimura H, Naiki N, Kawamura M, Kato K, Horie M: Mutation analysis of the KCNJ8 gene in Japanese patients with J-wave syndrome and idiopathic ventricular fibrillation. Mini-Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 26. Nakashima T, Ohkusa T, Yoshida M, Yamada J, Okamura T, Ueyama T, Miura T, Shimizu A, Horie M, Matsuzaki M: New diagnostic test for arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. Mini-Symposium (APHRS 2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 27. Taniguchi A, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Kawaguchi T, Naiki N, Nakae I, Matsumoto T, Horie M: Relationship between nonspecific electrocardiographic abnormalities and left ventricular performance in coronary atherosclerosis. Poster Session (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 28. Yoshino T, Hayashi H, Miyamoto A, Taniguchi A, Kawaguchi T, Naiki N, Sugimoto Y, Ito M, Horie M: Biphase P wave in lead II is a novel electrophysiologic marker for atrial fibrillation. Poster Session (APHRS 2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 29. Kawamura M, Nagaoka I, Kenichi, Nishio Y, Itoh H, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Jito Y, Ishida K, Ito M, Makiyama T, Ohno S, Sumitomo N, Oyama K, Horie M: Mutations of the cardiac ryanodine Receptor (RyR2) gene in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 30. Ozawa T, Ito M, Itoh H, Nakazawa Y, Sugimoto Y, Yao T, Miyamoto A, Ashihara T, Horie M: Site-specific arrhythmogenesis in structurally normal heart of non-brugada patients with ventricular arrhythmias originating from ventricular outflow tract. Mini-Symposium (APHRS 2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 31. Sumitomo N, Shimizu W, Horigome H, Nakamura Y, Arakaki Y, Sakurada H, Watanabe H, Nishizaki H, Kamakura S, Horie M, Hiraoka M: Recent advancement of treatment in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. Mini-Symposium (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 32. Li P, Ninomiya H, Kurata Y, Kato M, Miake J, Yamamoto Y, Igawa O, Nakai A, Higaki K, Toyoda F, Wu J, Horie M, Matsuura H, Yoshida A, Shirayoshi Y, Hiraoka M, Hisatome I: Reciprocal control of hERG stability by hsp70 and hsc70 with implication for restoration of LQT2 mutant stability. JSE Academic Award Competition (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
 33. Ohno S, Zankov DP, Ding WG, Itoh H, Makiyama T, Doi T, Shizuta S, Hattori T, Miyamoto A, Naiki N, Matsuura H, Horie M: KCNE5 variants are novel modulators of brugada syndrome and idiopathic ventricular fibrillation. Young Investigator Award Competition (APHRS2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)

34. Horie M, Ohno S, Wu J, Zankov DP, Toyoda F, Ding WG, Matsuura H. Mutations of KCNE gene family in inherited arrhythmia syndromes. Special Symposium (APHR2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
35. Horie M, Itoh H, Shimizu W, Hayashi K, Ohno S, Makiyama T, Yamagishi M, Kamakura S. Long QT syndromes are heterogeneous disease entities presenting not only QT prolongation but multiple phenotypes-cases with compound heterozygous mutations. JHRS-JSE Joint Symposium (APHR2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
36. Horie M. Renin-Angiotensin-Aldosterone system and atrial fibrillation. Evening Seminar 1 (APHR2011 & 26th JHRS 28th JSE 合同学会 2011.09.18-22 福岡)
37. 堀江 稔: 薬剤誘発性QT延長症候群と遺伝的背景(薬剤感受性) 瀬戸内国際臨床試験カンファレンス (2011.10.15 愛媛)
38. 堀江 稔: 心臓性突然死を巡る最近の話題—イオンチャネル病— 第28回循環器診療セミナー in 西宮 (2011.11.02 兵庫)
39. 堀江 稔: 家族性突然死症候群の診断と治療 第112回日本循環器学会近畿地方会 (2011.11.27 京都)
40. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Makiyama T, Hayashi, Shimada 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, Maemura K, Horie M, Watanabe I, Aizawa Y, Makita N. Clinical, electrocardiographic, and genetic characteristics of patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. AHA Scientific Sessions 2011. (2011.11.12-16 Orlando, Florida, U.S.A.)
41. Ohno S, Miyamoto A, T Makiyama, Itoh H, Horie M. Clinical differences between KCNH2 and SCN5A mutation carriers with Brugada syndrome and Brugada-like ECG patients in Japan. AHA Scientific Sessions 2011. (2011.11.12-16 Orlando, Florida, U.S.A.)
42. Horie M: Short QT and Early Repolarization Syndromes. ICPE2011 (2011.12.11-14 Athens, Greece)
43. Horie M: Basic characteristics of Brugada syndrome in Japan. ICPE2011 (2011.12.11-14 Athens, Greece)
44. Ohno S, Nishio Y, Nagaoka I, Miyamoto A, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Horie M: Clinical and genetic characterization of Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. ICPE2011 (2011.12.11-14 Athens, Greece)
- G. 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、川村美朋子、川口民郎、内貴乃生、木村紘美、王 琦、加藤浩一、道智賢一、吉野知秀、福山 恵
長谷川奏恵 (新潟大学)
呉 捷 (西安交通大学)

II. 分担研究報告

先天性QT延長症候群の2次予防におけるβ遮断薬抵抗性についての検討

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：先天性QT延長症候群（LQTS）は、心筋イオンチャネル機能異常から、多形性心室頻拍を発症し、失神や突然死を引き起こす疾患である。そのうちLQT1,2においてはβ遮断薬が心イベント防止に有効であるとされており、β遮断薬が心イベントの2次予防目的に使用されることが多い。しかし、このβ遮断薬治療中にもかかわらず、心イベントを生じる例も多く、このβ遮断薬抵抗性に関してはこれまでに明らかになっていることは少ない。今回の遺伝子型が判明している有症候性LQTSで、発症後にβ遮断薬による治療を受けた254名のLQTS1,2患者における検討では、初発年齢が低年齢であるほど、β遮断薬治療に対する抵抗性があるため、低年齢発症例ではより注意深い経過観察が必要と考えられた。

A. 研究目的

先天性QT延長症候群（LQTS）は、主に心筋イオンチャネル機能に関連する遺伝子上の変異により心筋活動電位持続時間が延長することから、心電図上のQT延長を呈し、臨床経過上多形性心室頻拍を発症し、失神や突然死を引き起こす疾患である。

これまで報告のある13の原因遺伝子のうち、LQT1、LQT2の2型で約60-70%を占めている。LQT1は*KCNQ1*遺伝子の変異が原因で、運動時の心イベントが多く、β遮断薬の治療効果が最も高い。LQT2は*KCNH2*遺伝子の変異が原因で、情動ストレスや睡眠中の雑音による覚醒時の心イベントが多く、やはりβ遮断薬の有効性が高いことが知られている。しかし、β遮断薬内服中にもかかわらず心イベントを生じる要因について、コンプライアンス以外の因子に関しては明確となっていない。

今回、我々は有症候性の遺伝子型の判明しているLQTS患者で、初回イベント後にβ遮断薬治療を開始した症例について、β遮断薬治療抵抗性とその特徴について検討を行った。

B. 研究方法

対象は遺伝子型の判明している、有症候性のLQTS患者で、初回心イベント後にβ遮断薬治療を開始された254名（LQT1 111名、LQT2 143名）である。失神もしくは蘇生の必要な心停止を心イベントの定義とした。β遮断薬内服下における心イ

イベントの発症を主要エンドポイントとし、心イベント発症群（β遮断薬抵抗性群）と心イベント非発症群（β遮断薬有効群）について、臨床的特徴の比較、及び、Cox regressionによるβ遮断薬抵抗性予測因子の解析を行った。

（倫理面への配慮）

匿名化データベースに登録された症例の検討であり、倫理的に問題となるような介入などは一切行われていない。

C. 研究結果

254名の対象LQTS患者のうち、平均7.6年の経過観察中に、計52名（20%）が心イベントを発症した。LQT1患者では111名中18名（16%）に、LQT2患者では143名中34名（24%）に心イベントの発生を認めた。

LQT1では、β遮断薬抵抗性群には有意に男性が多く、*KCNQ1*遺伝子の膜貫通領域のPore領域での変異の陽性率が有意に高率であった。LQT2では、β遮断薬抵抗性群では、Schwarzスコアが有意に高く、交代性T波の陽性率が有意に高率であった。一方で、*KCNH2*遺伝子の膜貫通領域の変異・Pore領域の変異の陽性率ともに、有意差は認めなかった。

Cox regressionによる多変量解析では、LQT1においては、初発年齢が低年齢であること、男性であること、*KCNQ1*遺伝子の膜貫通領域Pore領域に変異を持つことが、β遮断薬抵抗性の独立した予測因子であった。また、LQT2においては、交代性

T波を認めること、発症年齢が低年齢であること、
がβ遮断薬抵抗性の独立した予測因子であった。

D. 考 察

これまでに、QT延長症候群の心イベント発症
年齢によりβ遮断薬治療の効果に差があるとの報
告はなされていない。成人発症と異なり、幼少期
での発症に対しては、デバイス治療が困難である
ことや、体重増加に応じての薬剤の増量、コンプ
ライアンス管理など多くの障害が存在する。

今回の我々の検討では、LQTS1, 2患者が低年齢
において心イベントを発症した場合、β遮断薬治
療に対して抵抗性を持つ可能性が示唆された。

E. 結 論

遺伝子型の判明の254名の有症候性先天性QT延
長症候群LQT1及びLQT2患者のうち、20%にβ遮
断薬治療中にもかかわらず心イベントの発症を認
めた。特に、低年齢で発症した場合、β遮断薬によ
る治療開始後にも失神もしくは突然死のイベント
を生じるリスクが高く、より注意深い経過観察が
必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

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 syn-
drome, p.29-37, Elsevier, Philadelphia,
2012.
2. **Shimizu W**, Ackerman MJ: Chapter 50,
Provocative (drug) testing in inherited ar-
rhythmias. 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, Ack-
erman MJ, Shen WK (eds): Electrical Dis-
eases of the Heart (Second edition): Genet-
ics, Mechanisms, Treatment, Prevention,
Part III. Secondary Hereditary and Ac-
quired Cardiac Channelopathies, and Sud-
den Cardiac Death, 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): 朝倉書店 (印刷中)
8. **Shimizu W**, Horie M: Phenotypical mani-
festations of mutations in genes encoding
subunits of cardiac potassium channels.
Circ Res 109: 97-109, 2011.
9. Aiba T, **Shimizu W**: Editorial Commen-
tary. Molecular screening of long-QT syn-
drome: 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, Haissaguerre 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* 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* 2012 (in press)

21. Baranchuk A, Nguyen T, Ryu MH, Femenia F, Zareba W, Wilde AAM, Shimizu W, Brugada P, Perez-Riera AR: Brugada phenotype: 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 I), 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

牧元久樹(国立循環器病研究センター

心臓血管内科)

先天性QT延長症候群の遺伝子解析と変異遺伝子の電気生理学的特徴

研究分担者 林 研至 金沢大学医薬保険研究域医学系臓器機能制御学 助教

研究要旨：先天性QT延長症候群82症例（男性29人、平均年齢は 33 ± 25 歳）を対象として遺伝子異常（変異と多型）を同定した。失神の既往のある症例は18人（23%）で、平均QTc時間は 494 ± 42 msであった。対象症例82症例中24人（29%）に25種類の遺伝子変異が認められた。単変異のみの保有者は22人で、2つの変異の保有者が2人であった。KCNQ1遺伝子単独変異を9人に、KCNH2遺伝子単独変異を11人に、SCN5A遺伝子単独変異を2人に、ANKB遺伝子単独変異を1人に認めた。その他、KCNQ1とKCNH2の二重変異およびKCNH2とSCN5Aの二重変異を1例ずつ認めた。

A. 研究目的

先天性QT延長症候群に対して遺伝子異常を同定し、変異遺伝子の機能解析を行い、その遺伝的背景の臨床的重症度を決定すること。

B. 研究方法

患者から約10mlの末梢血を採取し遠心分離をかけ、コントロールとともにスクリーニングを行った。スクリーニングにはHi-Res Melting法による遺伝子変異解析装置Light Scanner (Idaho Technology社)を用いた。異常パターンを認めたサンプルについては、遺伝子異常同定法 (direct sequence法)を用いて、異常塩基の同定を行いアミノ酸の変化を確認した。家族の協力が得られた場合、家族の遺伝子変異の有無も検討し、臨床病態との関係を検討した。また、すでに疾患との関連が分かっている単一塩基多型 (SNP) については、haplotype 検索を広く行い、遺伝性QT延長症候群の病態を修飾する、いわゆるmodifier geneの検索も同時に行った。

同定された遺伝子変異については、変異遺伝子発現ベクターを作成、CHO-K1細胞にトランスフェクションさせ、パッチクランプ法にて電気生理学的特徴を検討した。

本研究ではヒト遺伝子の解析を行うため、採血前に書面にて同意書をとって行った。不整脈関連心疾患の遺伝子解析については、金沢大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得た。

C. 研究結果

(1) 対象患者の臨床的特徴

先天性QT延長症候群と診断あるいは疑われた（男性はQTc>450ms、女性はQTc>460ms）82症例を対象とした。そのうち、男性は29人（36%）であり、平均年齢は 33 ± 25 歳であった。失神の既往のある症例は18人（23%）で、多形性心室頻拍を認めた症例は8人（10%）であった。安静時心電図の平均心拍数は 68 ± 42 msで、平均QTc時間は 494 ± 42 msであった。

(2) 遺伝子解析結果

対象症例82症例中24人（29%）に25種類の遺伝子変異が認められた。単変異のみの保有者は22人で、2つの変異の保有者が2人であった。KCNQ1遺伝子変異を単独に認めた発端者は9人であり、家族を含めた保因者は27人であった。KCNH2遺伝子変異を単独に認めた発端者は11人であり、家族を含めた保因者は28人であった。SCN5A遺伝子変異を単独に認めた発端者は2人であり、家族を含めた保因者は5人であった。ANKB遺伝子変異を単独に認めた発端者は1人であった。その他、KCNQ1とKCNH2の変異を認めた症例、KCNH2とSCN5Aの変異を認めた症例を1例ずつ同定した。

(3) 電気生理学的特徴

同定した遺伝子変異のうち、KCNQ1 S277L (S5領域), KCNH2 M124T (N末端領域), KCNH2 R176fsX331 (N末端領域), KCNH2 G183fsX198 (N末端領域), KCNH2 T473P (S2-S3領域), KCNH2 H492Y (S2-S3領域), KCNH2 R534C

(S4領域), KCNH2 N633I (pore領域), KCNH2 E637K (pore-S6領域)についてパッチクランプ法を用いて電気生理学的検討を行った。S5-pore-S6領域のミスセンス変異であるKCNQ1 S277L, KCNH2 N633I, KCNH2 E637Kは野生型に対してドミナントネガティブ抑制を示した。非チャネル孔領域のミスセンス変異であるKCNH2 M124T, KCNH2 H492Y, KCNH2 R534Cおよび、フレームシフト変異であるKCNH2 R176fsX331およびKCNH2 G183fsX198は、ドミナントネガティブ抑制を示さなかった。一方、非チャネル孔膜貫通領域のミスセンス変異であるKCNH2 T473Pはドミナントネガティブ抑制を示し、変異を持つ2症例は心肺停止もしくは失神を呈していた。

D. 考察

遺伝子変異が認められた割合は29%と従来の報告に比べてやや低率であった。その原因として対象症例に明らかな家族歴を認めない、QT延長症候群の疑い症例が含まれていたためではないかと考えられる。

非チャネル孔領域でもドミナントネガティブ抑制を示し、重篤な臨床型を示す変異が認められた。

今後は、遺伝子変異を認めた発端者および家族に対し、modifier geneの網羅的検索を行う。

E. 結論

先天性QT延長症候群症例82症例中24人(29%)に25種類の遺伝子変異が認められた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tada H, Kawashiri MA, Ikewaki K, Terao Y, Noguchi T, Nakanishi C, Tsuchida M, Takata M, Miwa K, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Altered metabolism of low-density lipoprotein and very-low-density lipoprotein remnant in autosomal recessive hypercholesterolemia: results from stable isotope kinetic study in vivo.

Circ Cardiovasc Genet. 5: 35-41, 2012.

2. Kawashiri MA, Nohara A, Noguchi T, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Konno T, Hayashi K, Fujino N, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Efficacy and safety of coadministration of rosuvastatin, ezetimibe, and colestimide in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 109: 364-369, 2012.
3. Tada H, Kawashiri MA, Ohtani R, Noguchi T, Nakanishi C, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. A novel type of familial hypercholesterolemia: double heterozygous mutations in LDL receptor and LDL receptor adaptor protein 1 gene. *Atherosclerosis.* 219: 663-666, 2011.
4. Nakanishi C, Nagaya N, Ohnishi S, Yamahara K, Takabatake S, Konno T, Hayashi K, Kawashiri MA, Tsubokawa T, Yamagishi M. Gene and protein expression analysis of mesenchymal stem cells derived from rat adipose tissue and bone marrow. *Circ J.* 75: 2260-2268, 2011.
5. Uchiyama K, Ino H, Hayashi K, Fujioka K, Takabatake S, Yokawa J, Namura M, Mizuno S, Tatami R, Kanaya H, Nitta Y, Michishita I, Hirase H, Ueda K, Aoyama T, Okeie K, Haraki T, Mori K, Araki T, Minamoto M, Oiwake H, Konno T, Sakata K, Kawashiri M, Yamagishi M; Heart Research Group of Kanazawa. Impact of severe coronary disease associated or not associated with diabetes mellitus on outcome of interventional treatment using stents: results from HERZ (Heart Research Group of Kanazawa) analyses. *J Int Med Res.* 39: 549-557, 2011.
6. Sakamoto A, Sugamoto Y, Tokunaga Y, Yoshimuta T, Hayashi K, Konno T, Kawashiri MA, Takeda Y, Yamagishi M. Expression profiling of the ephrin (EFN) and Eph receptor (EPH) family of genes in atherosclerosis-related human cells. *J*