

201231067A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業
(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24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25(2013)年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業
(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24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25(2013)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. Type 7 および CPVT症例における

運動負荷テストの有用性の検討

清水 渉…… 9

2. 日本人学童におけるQT延長症候群遺伝子変異保因者とその予後

林 研至……14

3. 疾患特異的ヒトiPS細胞を用いた遺伝性不整脈疾患の解析

—カテコラミン誘発性多形性心室頻拍—

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 ……………31

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延長症候群では、約60～75%の患者に遺伝子変異が同定されるが、残りの患者についてはその原因が明らかにされていない。今回の研究対象は、遺伝子変異陰性と診断された、20歳未満の先天性QT延長症候群患者172名（男性92名）であり、既存の解析法では同定困難な、大規模な重複・欠失（コピー数異常、copy number variation, CNV）をMLPA法にて解析した。その結果、KCNQ1のCNVを5名（うち女性4名）に同定したが、KCNH2のCNVは同定されなかった。KCNQ1のCNVを同定した5名の平均年齢は 13.2 ± 3.6 才であり、3名が運動時失神の既往があった。運動負荷試験では運動後に有意なQT延長を呈し、KCNQ1が原因遺伝子であるQT延長症候群1型に類似の臨床像を呈した。以上の結果より、特に小児例においては、QT延長症候群の遺伝子スクリーニングとしてCNVの解析が重要であると考えられた。

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

対象エクソンのCNVを検出する。

今回の研究では、KCNQ1, KCNH2, SCN5A遺伝子に変異が同定されていない、20才未満の先天性QT延長症候群患者172名（男性92名）を対象とし、KCNQ1およびKCNH2のCNVの解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は滋賀医大倫理委員会で承認された研究であり、匿名化データベースに登録・管理された症例について解析を行っている。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。

A. 研究目的

先天性QT延長症候群で遺伝子変異が同定されていない患者において、コピー数異常（copy number variation, CNV）を検出することを目的として以下の研究を行った。

B. 研究方法

CNVはエクソン単位での大規模な遺伝子の挿入・欠失であるが、従来のPCRおよびダイレクトシーケンスをベースとした解析法では、その異常を検出することができない。そのため本研究では、multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法を導入した。MLPA法では重複・欠失が疑われるエクソンに対し、2本のプローブが設計されている。そして対象エクソンにプローブがハイブリダイズした場合のみ、2本のプローブがライゲーションされて1本のプローブになる。そして1本になったプローブをPCRで増幅させ、

C. 研究結果

172名の対象者のうち、5名（2.9%）にKCNQ1のCNVを同定した。KCNH2のCNVは同定されなかった。KCNQ1のCNVが検出された5名中4名が女性であり、平均年齢は 13.2 ± 3.6 才であった。失神の既往は3名にあり、いずれも運動中であった。安静時の平均QTcは $453.6 \pm 12.9 \text{ ms}^{1/2}$ と軽度延長を示していたが、運動後には $542.6 \pm 6.6 \text{ ms}^{1/2}$ と有意に延長していた。CNVのタイプは重複が3名、欠失が2名であった。5名のうち4名は1つのエクソンに限定した重複・欠失であったが、1名はKCNQ1のエクソン12以降の重複であった。その範囲を同定するためにCGH解析を行ったところ、約125kbもの重複が検出された。

D. 考察

先天性QT延長症候群では約60~75%に遺伝子変異が同定されるが、残りについては、遺伝子変異陰性として管理されている。今回の研究では、遺伝子変異陰性と診断されていた患者に対し、既知の遺伝子であるKCNQ1に、これまでの解析手法では同定できなかったCNVを同定した。その臨床像はKCNQ1変異保持者と共通であり、治療法の選択に有用であると考えられる。

E. 結論

これまで、原因遺伝子変異が同定されなかった先天性QT延長症候群の2.9%にCNVを同定した。特に小児例においては、QT延長症候群1型に特徴的な症状である運動時のQT延長を呈する場合、積極的なCNVのスクリーニングが重要と考えられる。

F. 健康危険情報

先天性QT延長症候群において報告されている原因遺伝子群のスクリーニング検索は、CNVの検索を含めて治療方針決定に重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Wu J, Ding WG, Zang WJ, Matsuura H, Horie M. Irbesartan-mediated AT₁ receptor blockade attenuates hyposmotic-induced enhancement of IKs current and prevents shortening of action potential duration in atrial myocytes. *the Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. (in press)
2. Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshisige M, Hayashida Y, Miki D, Hayes C. N, Suzuki H, Tokuyama T, Oda N, Suenari K, Uchimura-Makita Y, Kajihara K, Sairaku A, Motoda C, Fujiwara M, Watanabe Y, Yoshida Y, Ohkubo K, Watanabe I, Nogami A, Hasegawa K, Watanabe H, Endo N, Aiba T, Shimizu W, Ono S, Horie M, Arihiro K, Tashiro S, Makita N, Kihara Y. A nonsynonymous polymorphism in Semaphorin 3A as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation. *PLoS*

Genetics (in press)

3. Wang Q, Ohno S, Kato K, Fukuyama M, Makiyama T, Kimura H, Naiki N, Kawamura M, Hayashi H, Horie M. Genetic Screening of KCNJ8 in Japanese Patients with J-wave Syndromes or Idiopathic Ventricular Fibrillation. *Journal of Arrhythmia* (in press)
4. Ohno S, Nagaok I, Fukuyama M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Shimizu A, Horie M. Age-dependent clinical and genetic characteristics in Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Circulation Journal* (in press)
5. Horie M, Ohno S. Genetic basis of Brugada syndrome. *Journal of Arrhythmia* 29: 71-76, 2013.
6. Kamakura T, Makiyama T, Sasaki K, Yoshida Y, Wuriyanghai Y, Chen J, Hattori T, Ohno S, Kita T, Horie M, Yamanaka S, Kimura T. Ultrastructural Maturation of Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in a Long-Term Culture. *Circulation Journal* 77(5): 1307-1314, 2013.
7. Watanabe H, Ohkubo K, Watanabe I, Matsuyama TA, Ishibashi-Ueda H, Yagihara N, Shimizu W, Horie M, Minamino T, Makita N: SCN5A mutation associated with ventricular fibrillation, early repolarization, and concealed myocardial abnormalities. *Int J Cardiol* 165(2): e21-23, 2013.
8. 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* 59(22): 1948- 1953, 2012.
9. Burgess DE, Bartos DC, Reloj AR, Campbell KS, Johnson JN, Tester DJ, Ackerman MJ, Fressart V, Denjoy I, Guicheney P, Moss AJ, Ohno S, Horie M, Delisle BP. High-risk long QT syndrome mutations in the Kv7.1

- (KCNQ1) pore disrupt the molecular basis for rapid K(+) permeation. *Biochemistry* 51(45): 9076-9085, 2012.
10. Lin L, Horigome H, Nishigami N, Ohno S, Horie M, Sumazaki R. Drug-induced QT-interval prolongation and recurrent torsade de pointes in a child with heterotaxy syndrome and KCNE1 D85N polymorphism. *Journal of Electrocardiology* 45(6):770-3, 2012.
 11. 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. *The American Journal of the Medical Sciences* 344(3): 248-250, 2012.
 12. 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* 45(7):279-83, 2012.
 13. Nakajima T, Wu J, Kaneko Y, Ohno S, Irie T, Ding WG, Matsuura H, Kurabayashi M, Horie M. KCNE3 T4A as a genetic background of Brugada-pattern electrocardiogram. *Circulation Journal* 76(12):2763-72, 2012.
 14. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Taniguchi A, Naiki N, Sugimoto Y, Ito M, Xue JQ, Murakami Y, Horie M. Prognostic implications of progressive cardiac conduction disease. *Circulation Journal* 77(1):60-7, 2012.
 15. 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. *Cardiovascular Research* 93(4): 666-673, 2012.
 16. 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.
 17. 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.
 18. Miyamoto A, Hayashi H, Yoshino T, Kawaguchi T, Taniguchi A, Ito H, Sugimoto Y, Ito 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* 9(1); 66-74, 2012.
 19. Kimura H, Zhou J, Kawamura M, Itoh H, Mizusawa Y, Ding WG, Wu J, Ohno S, Makiyama T, Miyamoto A, Naiki N, Wang Q, Xie Y, Suzuki T, Tateno S, Nakamura Y, Zang WJ, Ito M, Matsuura H, Horie M. Phenotype Variability in Patients Carrying KCNJ2 Mutations. *Circulation Cardiovascular Genetics* 5: 344-353, 2012.
 20. 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.
 21. 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. Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Int J Cardiol.* 159(3):238-40, 2012.

22. Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsushashi T, Ohno Y, Tohyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K. Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovascular research* 95: 419-429, 2012.
23. Takigawa M, Kawamura M, Noda T, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Kamakura S, Sakaguchi T, Mizusawa Y, Itoh H, Horie M, Shimizu W. Seasonal and Circadian Distributions of Cardiac Events in Genotyped Patients With Congenital Long QT Syndrome. *Circulation Journal* 76(9):2112-8, 2012.

2. 学会発表

1. Takada S, Hashiodani K, Fukumizu Y, Yamauchi H, Sakai H, Horie M. Automatic Detecting Stenotic Murmur Method for Portable Medical System based on Time-domain PCA and EM Algorithm. 2012 RISP International Workshop on Nonlinear Circuits, *Communications and Signal Processing* (2012.03.04-06, Hawaii, U.S.A.)
2. Makita N, Makiyama T, Seki A, Nogami A, Ohkubo K, Watanabe I, Shimizu W, Watanabe H, Sumitomo N, Horie M, Delmar M. Clinical features and genetic basis of 63 patients with progressive cardiac conduction defect. *The Heart Rhythm Society's 33rd Annual Scientific Sessions* (2012.05.09-12, Boston, MA, U.S.A.)
3. Kimura H, Ohno S, Itoh H, Kawamura M, Naiki N, Wang Q, Makiyama T, Ito M, Horie M. KCNJ2-R218Q/W is a hot spot with strong

phenotype in Andersen-tawil syndrome. *The Heart Rhythm Society's 33rd Annual Scientific Sessions* (2012.05.09-12, Boston, MA, U.S.A.)

4. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Kimura H, Miyamoto A, Makiyama T, Itoh H, Itoh M, Horie M. Novel CACNA1C mutations identified in Japanese patients caused both Brugada syndrome and Idiopathic Ventricular Fibrillation without QT shortening. *ESC CONGRESS 2012* (2012.08.25-29, Munich, Germany)
5. Horie M. Hypertension and atrial fibrillation involvement of RAS, role of candesartan - *The 1st International Forum of Wuhan Geriatrics Society 2012* (2012.09.22, 2012 Wuhan, China)
6. Horie M. Inherited arrhythmia in Asia. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS)* (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)
7. Sasaki K, Makiyama T, Wuryanghai Y, Chen J, Kamakura T, Kimura T, Yoshida Y, Yamanaka S, Ohno S, Horie M. One year assessment of ion channel gene expression in cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS)* (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)
8. Horie M. Acquired long QT syndrome. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS)* (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)
9. Ohno S, Nishio Y, Nagaoka I, Fukuyama M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Shimizu A, Horie M. Age dependent clinical and genetic characteristics in Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS) in conjunction with The 8th*

Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)

10. Wang Q, Ohno S, Miyamoto A, Ding WG, Wu J, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Matsuura H, Horie M. Functional analysis of novel KCNH2. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
11. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dohchi K, Kimura H, Hasegawa K, Wang Q, Itoh H, Makiyama T, Horie M. Mutations identified in Brugada syndrome patients with or without ventricular fibrillation. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
12. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Horie M. A Rare KCNE1 Polymorphism, D85N, is a Genetic Modifier in Congenital Long QT Syndrome. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
13. Makiyama T, Sasaki K, Kamakura T, Shizuta S, Cheng J, Wuriyanghai Y, Ohno S, Itoh H, Horie M, Kimura T. Genotype-Phenotype Relationships in Patients with Familial Bradyarrhythmias; SCN5A Versus LMNA Gene Mutations. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
14. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Ito M, Horie M. CACNA1C Mutations in Japanese Patients with Brugada Syndrome or Idiopathic Ventricular Fibrillation. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
15. Fumimoto T, Fukuda M, Katoh T, Shimizu A, Ueyama T, Yoshiga Y, Doi M, Matuzaki M, Ohno S, Horie M. The Smaller R/S Ratio in Lead I is Characteristic of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia in Patients having Desmosomal Gene Mutations. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
16. Kamakura T, Makiyama T, Wuriyanghai Y, Chen J, Sasaki K, Shizuta S, Hasegawa K, Ohno S, Horie M, Kimura T. Genetic Backgrounds in Patients with Early-Onset and Familial Atrial Fibrillation. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
17. Aiba T, Toyoda F, Makita N, Matsuura H, Makimoto H, Yamagata K, Horie M, Fukushima N, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano KF, Yamagishi M, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara N, Sumitomo N, Kamakura S, Shimizu W. Biophysical Properties of Na Channel in the S5-S6 High Risk LQT3 Mutations of the Long QT Syndrome. *AHA Scientific Sessions 2012. (2012.11.03-07, Los Angeles, California, U.S.A.)*
18. Yagihara N, Watanabe H, Atack TC, Ohno S, Shimizu W, Chatel S, Koopmann TT, Ping Yang, Marylyn D Ritchie, Turner S, Hasegawa K, Wakasugi M, Onodera O, Kuwano R, Duboscq-Bidot L, Horie M, Schott JJ, Takayama M, Nakano Y, Bezzina CR, Wilde AAM, Momotsu T, Endo N, Darbar D, Roden DM, Makita N. Arrhythmia-associated variants in the SCN5A promoter and regulatory regions. *AHA Scientific Sessions 2012. (2012.11.03-07, Los Angeles, California, U.S.A.)*

19. Yamada Y, Sakaguchi T, Nakajima I, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Anzai T, Ishihara M, Yasuda S, Ogawa H, Kamakura S, Horie M, Shimizu W. Different response to exercise testing between Andersen-Tawil syndrome and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *AHA Scientific Sessions 2012. (2012.11.03-07, Los Angeles, California, U.S.A.)*
20. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Naiki N, Taniguchi A, Sugimoto Y, Itoh M, Murakami Y, Horie M. Prognostic significance of temporal increase in QRS duration and morphological development of QRS complex. *AHA Scientific Sessions 2012. (2012.11.03-07, Los Angeles, California, U.S.A.)*
21. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Hattori T, Makiyama T, Toyoda F, Ding WG, Chinushi M, Matsuura H, Horie M. Novel KCNQ1 missense mutation associated with juvenile-onset atrial fibrillation. *AHA Scientific Sessions 2012. (2012.11.03-07, Los Angeles, California, U.S.A.)*
22. Watanabe H, Werf Cv, Roses-Noguer F, Viskin S, Sumitomo N, Veltmann C, Rosso R, Bhuiyan Z, Till J, Kannankeril P, Horie M, Knollmann B, Wilde A. Effects of flecainide on exercise-induced arrhythmias and recurrences in genotype-negative patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *AHA Scientific Sessions 2012. (2012.11.03-07, Los Angeles, California, U.S.A.)*
23. 堀江 稔：心筋イオンチャンネル病：疾患群としての概要と発症機序。厚生労働科学研究難治性疾患克服研究事業奨励研究分野3 班合同ワークショップ (2012.01.22 大阪)
24. Hattori T, Makiyama, Ohno S, Sasaki K, Kamakura T, Hayashi H, Itoh H, Horie M, Kimura T. 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 (2012.03.16-18 福岡)
25. Sato A, Watanabe H, Louise H, Makiyama T, Shimizu W, Sonoda K, Hasegawa K, Yagihara N, Iijima K, Izumi D, Furushima H, Roden DM., Horie M, Chinushi M, Aizawa Y. The various unusual phenotypes and overlaps caused by a D1275N mutation in SCN5A. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
26. Hattori T, Makiyama T, Akao M, Ehara E, Ohno S, Iguchi M, Sasaki K, Kamakura T, Itoh H, Horie M, Kimura T. Overexpression of heterozygous KCNJ2-M301K channels identified in short QT syndrome abbreviated action potential durations in neonatal rat ventricular myocytes. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
27. Dochi K, Ohno S, Itoh H, Itoh M, Horie M. Clinical characterisation of the patient with a common splicing mutation, KCNQ1-A344A. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
28. Naiki N, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Kawaguchi T, Taniguchi A, Sugimoto Y, Itoh M, Horie M. Comparison of J Wave and Interventricular Conduction Defect: Mechanistic Insights into Arrhythmogenic J Wave. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
29. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Naiki N, Taniguchi A, Sugimoto Y, Itoh M, Horie M. Clinical impact of supraventricular and ventricular progressive cardiac conduction disturbance on heart failure hospitalization. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
30. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Naiki N, Taniguchi A, Sugimoto Y, Itoh M, Horie M. Prognostic Value of Temporal Increase in QRS Duration: Does QRS Morphology Matter? 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
31. Dochi K, Kawamura M, Naiki N, Ohno S, Itoh M, Horie M. Combination therapy with beta-blocker and flecainide effectively prevents

- ventricular arrhythmias in CPVT patients with RyR2 mutations. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
32. Aizawa Y, Sato A, Hasegawa K, Chinushi M, Furushima H, Sato M, Horie M, Imaizumi T, Watanabe I, Aizawa Y, Fukuda K, Kaneko Y, Kurabayashi M, Shinozaki T, Aonuma K, Kuwano H, Haissaguerre M. Dynamicity of J Wave in Idiopathic Ventricular Fibrillation with a Special Reference to Pause-dependent Augmentation of J Wave. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
33. Makiyama T, Yoshida Y, Sasaki K, Kamakura T, Hattori T, Shizuta S, Doi T, Ohno S, Horie M, Yamanaka S, Kimura T. Analysis of Cardiomyocytes Differentiated from Disease-specific Induced Pluripotent Stem Cells in Lamin A/C-related Cardiomyopathy. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
34. Horie M, Ohno S, Nagaoka I, Fukuyama M, Kimura H, Itoh H. Genetic Background for Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/ Dysplasia (ARVC/D) in Japan. 第27回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
35. 大久保公恵、渡辺一郎、奥村恭男、園田和正、永嶋孝一、真野博明、小船雅義、中井俊子、國本 聡、平山篤志、堀江 稔：ダイエットが契機となりTorsades de Pointesを発症したと考えられるQT 延長症候群の1症例。第27回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
36. 小澤友哉、伊藤 誠、市川麻理、加藤浩一、道智賢市、宮本 証、中澤優子、芦原貴司、杉本喜久、堀江 稔：先天性心疾患の根治術後に乳頭筋起源の心室頻拍を認めた症例。第27回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
37. 中島 忠、金古善明、入江忠信、加藤寿光、飯島貴史、倉林正彦、呉 捷、大野聖子、福山 恵、堀江 稔、丹下正一：本邦Brugada症候群の遺伝的異質性：遺伝子型に基づくリスク層別化およびマネジメント戦略の構築に向けて。第27回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
38. 蒔田直昌、堀江 稔、清水 渉、住友直方、関 明子、牧山 武、渡部 裕、赤星正純：進行性心臓伝導障害の全国レジストリー。第27回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
39. 相庭武司、牧本久樹、山形研一郎、中島育太郎、宮本康二、山田優子、岡村英夫、野田 崇、里見和浩、石原正治、安斉俊久、安田 聡、小川久雄、鎌倉史郎、宮本恵宏、清水 渉、堀江 稔、小川 聡、相澤義房、大江 透、草野研吾、山岸正和、蒔田直昌、田中敏博、牧山 武、吉永正夫、萩原誠久、住友直方：先天性QT延長症候群における遺伝子変異領域と予後・治療の選択。第27回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
40. 伊藤英樹、Berthet Myriam、Maugenre Svetlana、Guicheney Pascale、Denjoy Isabelle、Didier Klug、水澤有香、Hofman Nynke、Wilder Arthur、牧山 武、Tezenas Sophie、Schulze-Bahr Eric、清水 渉、堀江 稔：QT延長症候群における変異遺伝子の伝達乖離—多施設国際共同研究—第27回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
41. 林 秀樹、飛田 良、柴田沙智子、澁川武志、平岩康之、木下妙子、長谷川奏恵、大野聖子、川村美朋子、道智賢市、牧山 武、小澤友哉、伊藤 誠、堀江 稔：心肺蘇生後、心臓リハビリテーションを施行しICDを植え込み復学に成功したカテコラミン感受性多形心室頻拍症。第25回京滋奈良ハートリズム研究会 (2012.07.21 京都)
42. 児玉浩志、浅田紘平、芦原貴司、小澤友哉、中澤優子、伊藤英樹、伊藤 誠、堀江 稔：心室細動によるICD作動抑制にキニジン内服が著効したSCN5A陰性のBrugada症候群の一例。第25回京滋奈良ハートリズム研究会 (2012.07.21 京都)
43. 福山 恵、大野聖子、長谷川奏恵、加藤浩一、道智賢市、服部哲久、川村美朋子、木村紘美、伊藤英樹、山本 孝、伊藤 誠、

- 堀江 稔：日本人の遺伝性不整脈患者における表現型とカルシウムチャンネル遺伝子変異との関係について。第10回呼吸循環器フォーラム (2012.08.04 滋賀)
44. 堀江 稔：遺伝性不整脈の診断・治療。第37回東海不整脈研究会 (2012.09.15 愛知)
45. 堀江 稔：心房細動のUp to Date — 遺伝子異常から最近の抗凝固療法まで — 第29回日本心電学会学術集会 (2012.10.12-13 千葉)
46. 文本朋子、清水昭彦、上山 剛、古賀康裕、土居正浩、福田昌和、加藤孝佳、石口博智、堀江 稔、松崎益徳：デスモゾーム関連淡泊の遺伝子変異を認めた不整脈源性右室心筋症の心電図的特徴 第29回日本心電学会学術集会 (2012.10.12-13 千葉)
47. 堀江 稔：iPS 細胞を利用した疾患研究の可能性。第143回草津栗東医師会循環器研究会 (2012.12.05 滋賀)
48. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Hattori T, Makiyama T, Toyoda F, Ding WG, Chinushi M, Matsuura H, Horie M. A Novel KCNQ1 missense mutation identified in a patient with juvenile-onset atrial fibrillation causes constitutive open IKs channel. 第77回日本循環器学会総会・学術集会 (2013.03.15-17 横浜)
49. Hasegawa K, Ohno S, Kawamura M, Dochi K, Itoh H, Hayashi H, Makiyama T, Chinushi M, Ito M, Horie M. A rare KCNE1 polymorphism, D85N, as a genetic modifier in severe phenotypes of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. 第77回日本循環器学会総会・学術集会 (2013.03.15-17 横浜)
50. Ohno S, Kawamura M, Ohmura M, Kimura H, Makiyama T, Itoh H, Ushinohama H, Makita N, Horie M. Exon-3 deletion of RYR2 leads to left ventricular non-compaction with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia and severe bradycardia. 第77回日本循環器学会総会・学術集会 (2013.03.15-17 横浜)
51. Horie M, Ohno S, Itoh H, Hayashi H, Kimura H, Hattori T, Kawamura M, Naiki N, Dochi K, Hasegawa K, Makiyama T. Genetic and acquired background of fatal arrhythmias. 第77回日本循環器学会総会・学術集会 (2013.03.15-17 横浜)
52. Wang Q, Ohno S, Miyamoto A, Itoh H, Ding WG, Wu Jie, Kimura H, Makiyama T, Matsuura H, Horie M. Gain of function in I_{Kr} channels caused by three novel KCNH2 mutations which were identified in patients with Brugada-like ECG. 第77回日本循環器学会総会・学術集会 (2013.03.15-17 横浜)
53. Kato K, Makiyama T, Kimura H, Naiki N, Itoh H, Ohno S, Horie M. Sick sinus syndrome prevalence in Japanese sodium channelopathy. 第77回日本循環器学会総会・学術集会 (2013.03.15-17 横浜)
54. Miyamoto K, Nakajima I, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Kimura H, Hayashi H, Ishihara M, Anzai T, Yasuda S, Ogawa H, Miyamoto Y, Kamakura S, Horie M, Shimizu W. Efficacy and safety of flecainide for ventricular arrhythmias in patients with Andersen-Tawil syndrome. 第77回日本循環器学会総会・学術集会 (2013.03.15-17 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
研究協力者
滋賀医科大学
林 秀樹、伊藤英樹、大野聖子、川村美朋子、川口民郎、内貴乃生、木村絃美、王 琦

II. 分担研究報告

Type 7 および CPVT症例における運動負荷テストの有用性の検討

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LQT7は診断が難しく、2方向性心室頻拍（VT）などの多源性心室頻拍を呈することから特にカテコラミン誘発性多形性心室頻拍（CPVT）との鑑別に苦慮することが多い。そこでKCNJ2遺伝子およびRyR2遺伝子の変異が同定されたLQT7症例23名とCPVT症例20名のトレッドミル運動負荷試験検査に対する反応を比較した。結果、LQT7では安静時に右脚ブロック型の心室性期外収縮PVCやVT（2段脈、2方向性VT、非持続性VT）の頻発を認めたが運動負荷により消失し、一方CPVTでは安静時にはPVC/VTを認めなかったが運動負荷にて多形性VTが出現しており、鑑別に有用であった。

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、臨床経過上多型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。現在では臨床的にLQTSと診断された患者の50-70%に遺伝子異常が見つかり、現在までに13個の遺伝子型が報告され、それが確認された順番にLQT1-LQT13と呼ばれている。

その中でもLQT1・2・3が90%以上を占め、LQT7は1%以下と大変稀な疾患で診断が難しく、2方向性心室頻拍（VT）などの多源性心室頻拍を呈することから特にカテコラミン誘発性多形性心室頻拍（CPVT）との鑑別に苦慮することが多い。

CPVTでは運動負荷により心室性期外収縮（PVC）やVTが増加することが報告されているが、LQT7の運動負荷に対する反応は不明である。

今回、我々は遺伝子型の判明しているLQT7およびCPVT症例において、トレッドミル運動負荷試験検査に対する反応や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（LQT7はKCNJ2遺伝子変異、CPVTはリアノジン受容体（RyR2）遺伝子変異）の判明している43名（LQT7症例23名、CPVT症例

20名）である。

臨床的特徴、安静時の心電図学的指標（心拍数、修正QT間隔、修正U波間隔、U波高、PVC数）、トレッドミル運動負荷試験に対する心室性不整脈の反応について、後ろ向きに比較検討した。

（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

LQT7はCPVTと比較して女性が多く（男：女はLQTは6：17、CPVTは12：8）、下顎低形成や耳介低位などの身体所見を15名（65%）と高率に認めた。またLQT7では突然死の家族歴はなく（0%）、運動中の失神や心停止の既往も9名（39%）とCPVTの20%、80%と比較し有意に低かった。

安静時心電図上、LQT7では安静時U波高が平均0.20mVとCPVTの0.09mVと比較し有意に高く、安静時PVCは28（CPVT3）拍/分と有意に多かった。

LQT7では、安静時23名中19名で右脚ブロック型のPVC/VTを認めた。それらは2段脈が14名、2方向性PVCが8名、非持続性単形性VTが3名、非持続性多形性VTが2名であった。PVC/VTは運動負荷ピーク時に14名で完全に消失し、4名で減

少した。一方CPVTのPVC/VTは、安静時1名にしか認められなかったが、運動負荷にて18名に誘発され、2方向性PVCが13名、非持続性単形性VTが11名であった。

D. 考察

これまでに、LQT7およびCPVTのトレッドミル運動負荷試験に対する心室性不整脈の反応の差異についての報告はなされていない。一般的に心筋細胞は、心筋細胞膜のL型CaチャンネルからのCaが心筋細胞内流入し、筋小胞体（SR）膜にあるリアノジン受容体（RyR）を介して筋小胞体からCa²⁺ + 放出させ心筋細胞内Ca²⁺ + 濃度が上昇することで、心筋細胞が収縮する。

LQT7ではKCNJ2変異により、再分極（=APDを短縮させる）に関与しているI_{K1}電流を低下させ、APDが伸び、遅延後脱分極からPVCが出現するとされている。運動負荷による頻脈時には、I_{Ks}の関与が相対的に増強するためAPDが短縮し、心室性不整脈が減少するものと考えられた。一方CPVT患者の運動時はリアノジン受容体異常により細胞内Ca濃度が上昇し、triggered activityが原因となり心室性不整脈が発生すると考えられた。

よってLQT7とCPVTでは両者ともに2方向性心室頻拍（VT）などの多源性心室頻拍を特徴とするが、運動に対して全く異なる反応を示したものと考えられた。

E. 結論

LQT7では安静時に右脚ブロック型のPVCやVT（2段脈、2方向性VT、非持続性VT）の頻発を認めたが運動負荷により消失し、一方CPVTでは安静時には認めなかったPVC/VTが運動負荷にて多形性に出現し、鑑別に有用であった。2方向性心室頻拍などの特徴的な多源性心室頻拍患者を見た時、CPVTおよびLQT7を念頭において運動負荷試験を行うことが有用である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimizu W, Ackerman MJ: Chapter 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, Oxford, UK, 2013 (in press)
2. 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, Oxford, 2013 (in press)
3. 清水 渉: 23. 突然死の家族歴. (分担), 『あなたも名医! ああ~どうする?! この不整脈 - ずばっと解決しちゃいます』(山下武志編集): p. 113-117, 日本医事新報社, 2012
4. 清水 渉: 13章 循環器疾患 12. 不整脈 5) 心臓突然死 (先天性QT延長症候群、Brugada 症候群、カテコールアミン誘発性多形性心室頻拍を含む). (分担), 内科学 (門脇 孝, 永井良三編集): p. 663-665, 西村書店, 2012
5. 清水 渉: 巻頭トピックス7. 早期再分極とJ波症候群. (分担), 『循環器疾患 最新の治療 2012-2013』(堀 正二, 永井良三編集): p.32-37, 医学書院, 2012
6. 清水 渉: 第5章 不整脈. QT延長症候群・QT短縮症候群. (分担) 『今日の循環器疾患治療指針』〔第3版〕(井上 博, 許俊鋭, 檜垣實男, 代田浩之, 筒井裕之編集): p.228-232, 2012
7. 清水 渉: 第1章 心筋の電気生理. 14) 心室の活動電位の不均一性. (分担), 『不整脈学』(井上 博, 村川祐二編集): p. 52-54, 南江堂, 2012

8. 清水 渉：第13章 特発性心室頻拍と遺伝性の致死性心室頻拍. 5) 臨床像から見た先天性QT延長症候群. (分担), 『不整脈学』(井上 博, 村川祐二編集) : p. 496-499, 南江堂, 2012
9. 清水 渉：VI-3. QT延長症候群・QT短縮症候群. (分担) 『不整脈学概論 専門医になるためのエッセンシャルブック』(池田隆徳, 山下武志編集) : p.376-383, 2012
10. 清水 渉：不整脈. (分担), 『南山堂医学大辞典 2011』: 南山堂, 2012 (印刷中)
11. 清水 渉：刺激伝導障害 (ブロック). (分担), 『南山堂医学大辞典 2011』: p. - , 南山堂, 2012 (印刷中)
12. 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, 2012 (印刷中)
13. 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
14. 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
15. 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
16. Nishimoto O, Matsuda M, Nakamoto K, Nishiyama H, Kuraoka K, Taniyama K, Tamura R, Shimizu W, Kawamoto T: Peripartum cardiomyopathy presenting with syncope due to Torsades de pointes: a case of long QT syndrome with a novel KCNH2 mutation. *Intern Med* 51: 461-464, 2012
17. 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: 163-172, 2012
18. 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 sex- and mutation-specific information for risk stratification in type 1 long QT syndrome. *Heart Rhythm* 9: 892-898, 2012
19. 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* 17:299-314, 2012
20. 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* 125: 1988-1996, 2012
21. 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: Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *International J Cardiol* 159: 238-240, 2012
22. Takigawa M, Kawamura M, Noda T, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Kamakura S, Sakaguchi T, Mizusawa Y, Itoh H, Horie M, Shimizu W: Seasonal and circadian distributions of cardiac events in genotyped patients with congenital long QT syndrome. *Circ J* 76: 2112-2118, 2012
 23. Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsuhashi T, Ohno Y, Tohyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K: Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovasc Res* 95: 419-29, 2012
 24. Shimizu W: Clinical features of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* : - , 2013 (in press)
 25. 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* 28: 126-129, 2013
 26. Makimoto H, Satomi K, Wada M, Shimizu W: Double tachycardia after slow pathway ablation for atrioventricular nodal tachycardia: what is the mechanism? *J Cardiovasc Electrophysiol.* 24: 233-236, 2013
 27. Iguchi K, Noda T, Kamakura S, Shimizu W: Beneficial effects of cilostazol in a patient with recurrent ventricular fibrillation associated with early repolarization syndrome. *Heart Rhythm* : - , 2013 (in press)
 28. Watanabe H, Ohkubo K, Watanabe I, Matsuyama TA, Ishibashi-Ueda H, Yagihara N, Shimizu W, Horie M, Minamino T, Makita N: SCN5A mutation associated with ventricular fibrillation, early repolarization, and concealed myocardial abnormalities. *Int J Cardiol* : - , 2013 (in press)
 29. Miyoshi T, Kamiya CA, Katsuragi S, Ueda H, Kobayashi Y, Horiuchi C, Yamanaka K, Neki R, Yoshimatsu J, Ikeda T, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Shimizu W: Safety and efficacy of implantable cardioverterdefibrillator during pregnancy and after delivery. *Circ J* : - , 2013 (in press)
 30. Mathias A, Moss AJ, Lopes CM, Barsheshet A, McNitt S, Zareba W, Robinson JL, Locati EH, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Platonov PG, Qi M, Shimizu W, Towbin JA, Michael Vincent G, Wilde AA, Zhang L, Goldenberg I: Prognostic implications of mutation specific QTc standard deviation in congenital long QT syndrome. *Heart Rhythm* : - , 2013 (in press)
 31. Villafañe J, Atallah J, Gollob MH, Maury P, Wolpert C, Gebauer R, Watanabe H, Horie M, Anttonen O, Kannankeril P, Faulkner B, Bleiz J, Makiyama T, Shimizu W, Hamilton R, Young ML: Long-term follow-up of a pediatric cohort with short QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 61 : 1183-1191 , 2013
 32. Takigawa M, Kiso K, Noda T, Kurita T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Nanasato M, Hirayama H, Kamakura S, Shimizu W, Ishida Y. Usefulness of scintigraphy to predict electrical storms in severe idiopathic dilated cardiomyopathy. *Ann Nucl Med* : - , 2013 (in press)
2. 学会発表
 1. Shimizu W: Relation to Brugada Syndrome. Joint symposium 2, J wave syndrome:From cell to bedside. Heart Rhythm Society 2012. Boston, USA. 2012.5. 10.
 2. Shimizu W: ECG Diagnosis and Risk

tratisation of Brugada Syndrome. THU-201DE-3-2: Inherited Arrhythmias. 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session 2012, Taipei, 2012. 10. 4.

3. Shimizu W: Risk Stratification and ICD Implant in Patients with Long QT Syndrome. Session II: Dilemmas in prevention of Sudden Death. XV International Symposium on Progress in Clinical Pacing. EURO-JAPAN ARRHYTHMIA FORUM (EJAF), Rome, 2012. 12. 6.

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

山田 優子、宮本 康二、和田 暢、井口 耕平、岡松 秀治

(国立循環器病研究センター 心臓血管内科)

日本人学童におけるQT延長症候群遺伝子変異保因者とその予後

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：失神もしくは学校検診でQT延長を認めた学童77例（平均年齢は 11.5 ± 3.0 歳、男性43例）に対し、先天性QT延長症候群（LQTS）の新しい診断基準による再評価および遺伝子解析を行った。77例のうち、22例をLQTS確実（診断時症候性4例および診断時無症候性18例）、26例を疑いと診断した。また、遺伝子解析の結果、確実症例22例中17例（77%）に、疑い症例26例中4例（15%）に遺伝子変異をそれぞれ認めた。失神発作を7例に認め、すべてLQTS確実症例であり（確実症例の32%）、5例が遺伝子変異保因者（KCNQ1変異4例、SCN5A変異1例）であった。

A. 研究目的

失神もしくは学校検診でQT延長を認めた学童に対し、LQTSの新しい診断基準による再評価および遺伝子解析と変異遺伝子の機能解析を行い、その予後を追跡すること。

B. 研究方法

2001年から2008年の間に失神もしくは学校検診でQT延長を認めたため当院を受診した193例の学童のうち、心電図計測、遺伝子解析、経過観察をし得た77例を対象とした。QT間隔は接線法を用いて用手的に計測し、バゼットの補正式でQTcを計算した。QT延長症候群の診断は昨年Schwartzらによって報告された（Schwartz, et al. Circ Arrhythm Electrophysiol. 2012）新しい診断基準を用いて行った。新しい診断基準では従来の診断項目に加えて、運動負荷試験回復期4分におけるQTc時間を評価し、480ミリ秒以上の症例に1ポイントを加算した。

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LightScanner（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。

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。

対象症例の心イベント、治療状況について、登録時、外来受診時、直接連絡するなどして確認を行った。

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

対象症例77例の平均年齢は 11.5 ± 3.0 歳であり、男性43例であった。

77例中4例が受診前に失神などの心イベントを認めていた。心イベントの誘因は水泳および運動であり、複数回の失神を3例に認めた。受診前に失神発作を認めた症例の安静時平均QTcは 493 ± 19 ms、運動負荷後平均QTcは 567 ± 61 msで、平均シュワルツスコアは 6.3 ± 0.5 であった。

77例中73例は受診前に失神などの明らかな心イベントを認めていなかった。新しい診断基準に基づいて再評価を行ったところ、18例のLQTS確実症例（シュワルツスコア3.5点以上）、26例のLQTS疑い症例（シュワルツスコア1.5点以上3点以下）を診断した。無症候性LQTS確実症例の安静時平均QTcは 497 ± 28 ms、運動負荷後平均QTcは 515 ± 47 msで、平均シュワルツスコアは 4.3 ± 0.6 であった。LQTS疑い症例の安静時平均QTcは 471 ± 18 ms、運動負荷後平均QTcは 478 ± 34 msで、

平均シュワルツスコアは 2.6 ± 0.6 であった。

(2) 遺伝子解析結果

診断時に症候性の患者4例中3例(75%)に遺伝子変異が認められ、すべてKCNQ1変異であった(R366W, R451Q, R591H)。

診断時無症候性患者において、14種類の遺伝子変異(6種類のKCNQ1遺伝子変異、6種類のKCNH2遺伝子変異、2種類のSCN5A遺伝子変異)を18例に見出した。LQTS確実症例18例中14例(78%)に遺伝子変異を認め、その内訳はKCNQ1遺伝子変異4種類(4例)、KCNH2遺伝子変異6種類(7例)、SCN5A遺伝子変異2種類(3例)であった。一方、LQTS疑い症例26例中4例(15%)に遺伝子変異を認め、すべてKCNQ1遺伝子変異であった。LQTSの可能性の低い症例(シュワルツスコア1点以下)では遺伝子変異は認められなかった。なお、遺伝子変異が認められた症例はすべてシュワルツスコア3点以上であり、3点以上の症例32例中18例(56%)に遺伝子変異が認められた。

(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 G183fsX198(N末端領域)、KCNH2 H492Y(S2-S3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および、フレームシフト変異であるKCNH2 G183fsX198は、ドミナントネガティブ抑制を示さなかった。

(4) 臨床経過

診断時症候性患者4例全例に β 遮断薬の投与が開始されていた。平均 72 ± 30 カ月間の経過観察の間に2例においていずれも安静時の失神の再発を認めた。

診断時無症候性患者において、当院での診断後、確実症例2例および疑い症例2例に β 遮断薬投与が開始されていた。無症候性LQTS症例に対して平均 68 ± 28 カ月間心イベントの発症について経過観察を行ったところ、確実症例18例中3例に失神発作を認め、一方、疑い症例では心事故を認めず、両群で有意差が認められた(Log rank $p < 0.05$)。

遺伝子変異の有無によって分けた2群の臨床経過を検討したところ、遺伝子変異保因者18例中2例に、非保因者26例中1例に失神発作を認めた。経過中失神発作を認めた3例のうち、2例で遺伝子変異(SCN5A E1784KおよびKCNQ1 S277L)を認めた。失神は診断1~4年後に発生し、安静時もしくは感情ストレス時に認められた。失神を認めた3例はそれまで β 遮断薬の投与は行われておらず、2例に対して β 遮断薬の投与が開始された。

D. 考察

失神もしくは学校検診でQT延長を認めた学童77例に対して新しいLQTS診断基準を用いて再評価を行ったところ、77例のうち、22例をLQTS確実(診断時症候性4例および診断時無症候性18例)、26例を疑いと診断した。また、遺伝子解析の結果、確実症例22例中17例(77%)に、疑い症例26例中4例(15%)に遺伝子変異をそれぞれ認めた。LQTS確実症例における遺伝子変異検出率は従来報告と同等であった。新しい診断基準を用いることにより、遺伝子変異を伴う確実症例をより多く診断することができると考えられる。遺伝子変異が認められた症例はすべてシュワルツスコア3点以上であり、3点以上の症例に対しては積極的に遺伝子解析を施行すべきである。

失神発作を認めた7症例はすべてLQTS確実症例であり(確実症例の32%)、臨床的にLQTSと診断された症例は嚴重な経過観察が必要と考えられる。一方、失神発作を認めた7例のうち5例が遺伝子変異保因者であったが、残りの2例には遺伝子変異は認められなかった。これまでも、LQTSにおいて心事故を起こすリスクの高い症例を予測するいくつかの危険因子が報告されているが、さらに正確で確実なリスク層別化の方法の確立が必要と考えられる。

E. 結論

臨床的にLQTSと診断された日本人学童の77%に遺伝子変異が認められ、LQTS症例の32%に失神などの心イベントが認められた。

F. 健康危険情報

なし