

学校心臓検診で診断されたQT延長症候群患児の遺伝学的背景に関する研究

研究分担者 吉永正夫 国立病院機構鹿児島医療センター小児科部長

研究要旨

【背景】学校心臓検診（以下、心検）により多くのQT延長を示す児童生徒が抽出される。しかし、学校心臓検診によりQT延長症候群と診断され、遺伝子診断が行われた例の遺伝学的背景についての検討がなされていない。

【対象と方法】遺伝学的検査を依頼された血族関係のない18歳以下の117例の小児例を対象とした。このうち学校心臓検診により診断された69例を心検抽出群とした。疾患対照として、症状出現、家族検診、または他疾患で経過観察中にQT延長症候群と診断された48例を病院由来群とした。変異はradical mutation、high probability of pathogenicity、uncertain significanceに分類した。病院由来群のうちの2例が突然死した。心検抽出群69例中50例（72%）、病院由来群48例中23例（50%）に遺伝子変異が確認された。KCNQ1またはKCNH2に変異が見つかった49例をみると、心検抽出群33部位中31部位（94%）、病院由来群16部位中15部位（94%）の変異がradical mutation and/or high probability of pathogenicityであった。両群間のQTc値、QT延長症候群の家族歴、家族内の突然死歴に差を認めなかったが、QT延長症候群に関連する症状は診断前（9/69 vs 31/48, $p<0.0001$ ）および診断後（12/69 vs 17/48, $p=0.03$ ）ともに心検抽出群が病院由来群より有意に頻度が低かった。

【結論】今回の結果により、学校心臓検診はQT延長症候群患児の早期発見、診断後の症状出現防止に効果的であり、検診で抽出された患児であっても病院由来群と同様の経過観察が重要であると考えられた。

A. 研究目的

QT延長症候群（LQTS）は心筋の再分極異常を伴い、心電図上のQT延長と倒錯型心室頻拍による失神、突然死、救命された心停止を示す遺伝性疾患の一つである^{1,2)}。現在まで13の遺伝子型が報告されている^{3,4)}。QT延長症候群の遺伝学的背景については多くの報告があるが、ほとんどが症状を有するprobandや家族検診からの解析であり、また小児期と成人でのデータを組み合わせた報告である^{2,5-9)}。

日本では小学校、中学校、高校の各1年生に対する心電図検診が行われている。中学1年生時のQT延長を示す頻度は約1:1,200程度と考えられる¹⁰⁾。心臓検診によって抽出された群と症状があり病院を受診した群での臨床症状の報告¹¹⁾はあるが、心電図でスクリーニングされた患者での遺伝学的背景に関する報告は限られている¹²⁻¹⁴⁾。従って、心電図でスクリーニングされた患者と症状があって受診した患者との間で遺伝学的に差があるかどうか不明である。

遺伝学的検査の観点からみると、健康人に機能異常を伴わないsingle nucleotide variantsが存在するために、病的な変異かどうか決定できないことがある^{15,16)}。遺伝学的解析を行うと、どの研究でもde novo mutationが見つかるが^{12,17,18)}、設備の整った研究所でないと、すべてのde novo mutationsに対して電気生理学的検討を行うことは困難である。最近、KCNQ1とKCNH2に関して、mutationの部位から遺伝学的検査結果の解釈に関するアルゴリズムが提唱された¹⁶⁾。

そこで、本研究では学校心臓検診でスクリーニングされ、遺伝子診断を受けた児童生徒の遺伝学的特徴を明らかにし、心臓検診以外で診断され、遺伝子診断された群の遺伝学的特徴と比較することを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象

LQTS患児のうち、鹿児島大学医学部小児科（1993年11月~2005年3月）、または国立病院機構

鹿児島医療センター小児科(2005年4月~20012年12月)に遺伝子学的検査を依頼された血縁関係のない18歳以下の117名を対象とした。うち、学校心臓検診で抽出された69名を心検抽出群とした。疾患対象として、症状出現、家族検診、他の理由で受診中偶然に診断された例を病院由来群とした。失神、突然死、救命された心停止をLQTS関連症状とした。

2. 遺伝学的診断

書面を用いて informed consent を得た後、静脈血を採取しDNAを得た。*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *CAV3* について PCR products を精製後、ABI3130x1 Genetic Analyzer (ABI, Warrington, UK)を用いて direct sequence を行った。Timothy syndrome の症状を認める時には *CACNA1C* を、hyperaldosteronism を認める時には *KCNJ5* の direct sequence も行った。single nucleotide polymorphisms と報告されているものは除外した。ただし、G643S 変異 (*KCNQ1*) および D85N 変異 (*KCNE1*) は K 電流の30%程度の減少が報告されているため、mutations に加えた。

3. High probability of pathogenicity

変異を Giudicessi ら¹⁶⁾の報告に従い、radical mutation, of high probability of pathogenicity, of uncertain significance に分類した。splice-site, nonsense, frame-shift, および insertion/deletions を radical mutation とした¹⁶⁾。*KCNQ1* C-terminal の subunit assembly domain (SAD), *KCNH2* N-terminal の Per-Arnt-Sim (PAS) domain, PAS-associated C-terminal (PAC) domain, *KCNH2* C-terminal の cyclic nucleotide-binding domain (cNBD) にある変異を本研究での high probability of pathogenicity とした。*KCNQ1* の transmembrane/linker/pore と C-terminal regions, *KCNH2* の transmembrane/linker/pore regions 部にある変異も high probability of pathogenicity とした¹⁶⁾。残りの変異は uncertain significance とした。

4. 統計学的解析

平均値の差の検定、頻度の検定にはそれぞれ Mann-Whitney *U* test または Fisher's exact probability test を用いた。解析には IBM SPSS Statistics Version 21.0 (IBM Japan, Ltd., Tokyo)を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は1993年11月から2005年3月までは鹿児島大学医学部倫理委員会、2005年4月以降は国立病院機構鹿児島医療センター倫理委員会の承認を得て行った。また書面を用いて informed consent を得た。

C. 研究結果

心検抽出群69名、病院由来群48例の特徴を表1に示した。性、平均QTc値、LQTSの家族歴、突然死の家族歴、経過観察期間に差はなかった。平均年齢は病院由来群が有意に低かった。診断前の症状の既往、診断後の症状出現は心検抽出群が病院由来群より有意に低かった(それぞれ $p<0.001$, $p=0.03$)。

心検抽出群69例中50例(72%)、病院由来群48例中23例(50%)に変異が検出された。*KCNQ1*、*KCNH2*、*SCN5A*の頻度については両群間に差を認めなかった(表2)。

KCNQ1、*KCNH2*について、変異が high probability of pathogenicity に存在するか検討した(表3)。*KCNQ1*では心検抽出群18部位、病院由来群9部位ともに high probability of pathogenicity 部位に存在した。*KCNH2*では心検抽出群15部位中13部位(87%)、病院由来群7部位中6部位(86%)が high probability of pathogenicity 部位に位置していた。*KCNQ1*、*KCNH2*を合わせると、心検抽出群が33部位中31部位(94%)、病院由来群が16部位中15部位(94%)が high probability of pathogenicity 部位に位置していた。

D. 考察

心検抽出群の変異部位は、病院由来群と同様、ほとんどが high probability of pathogenicity 部位に位置していた。QTc値、LQTSの家族歴、突然死の家族歴、経過観察期間は両群で差を認めなかったが、診断前の症状既往および診断後の症状出現率は心検抽出群が病院由来群より有意に低かった。

心電図を用いたスクリーニングにより診断されたLQTSの遺伝学的背景に関するデータは少ない。Schwartz らは43,080名の新生児のLQTSスクリーニングを行い、うち16名の新生児の遺伝学的検査を行っている¹²⁾。*KCNQ1*、*KCNH2*、*KCNE1*、*KCNE2*がそれぞれ8例、5例、1例、1例、digenic

mutation 例 (*KCNQ1* および *KCNH2*) が 1 例あったと報告している。

日本においては 1994 年から学校心臓検診が小学校・中学校・高校の 1 年生に義務付けられ、心電図スクリーニングが行われている。この中で Hayashi らは 7,961 名の学童から 3 名に変異を確定し、3 名とも *KCNH2* であったと報告している¹³⁾。Yasuda らは LQTS 患児 13 例に遺伝学的検査を行い 8 例に変異を認め、8 例とも *KCNQ1* であり、うち 7 例が心臓検診から抽出された例であった¹⁴⁾。

本研究では 117 例の LQTS 患児のうち、69 例が心検抽出群であり、比較的大きな集団での検討が可能であった。変異部位からみると *KCNQ1* は全て high probability of pathogenicity 部位、*KCNH2* でも 87% が high probability of pathogenicity 部位であり、病院由来群とほぼ同頻度を示した。QTc 値、家族歴、経過観察期間にも差を認めなかったが、診断前の症状既往、診断後の症状出現率は心検抽出群が有意に頻度は低かった。これは学校心臓検診による心電図スクリーニングが LQTS の早期診断および症状出現に効果的であることを示していると同時に、心検抽出群であっても症状受診群と同様な経過観察を行っていくべきであることを示していると考えられた。

E. 結論

学校心臓検診による心電図スクリーニングは LQTS 患児の早期発見と症状出現の予防に効果的であると考えられた。また、心検抽出群であっても病院由来群と同様の経過観察が必要であることを示していると考えられた。

Disclosure

本報告書の内容は現在投稿中の下記論文、Yoshinaga M, Kucho Y, Sarantuya J, Ninomiya Y, Horigome H, Ushinohama H, Shimizu W, Minoru Horie. Genetic characteristics of children and adolescents with long QT syndrome diagnosed by school-based electrocardiographic screening program. の内容より研究報告書作成のため抜粋している。従って、originality は上記論文になる。

[参考文献]

1. Schwartz PJ, Crotti L, Insolia R. Long-QT

- syndrome: from genetics to management. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:868-77.
2. Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, et al. Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med.* 2003; 348:1866-74.
3. Ackerman MJ, Mohler PJ. Defining a new paradigm for human arrhythmia syndromes: phenotypic manifestations of gene mutations in ion channel- and transporter-associated proteins. *Circ Res.* 2010; 107:457-65.
4. Yang Y, Yang Y, Liang B, et al. Identification of a Kir3.4 mutation in congenital long QT syndrome. *Am J Hum Genet.* 2010; 86:872-80.
5. Spazzolini C, Mullally J, Moss AJ, et al. Clinical implications for patients with long QT syndrome who experience a cardiac event during infancy. *J Am Coll Cardiol.* 2009 Aug 25;54(9):832-7.
6. Goldenberg I, Moss AJ, Peterson DR, et al. Risk factors for aborted cardiac arrest and sudden cardiac death in children with the congenital long-QT syndrome. *Circulation.* 2008 Apr 29;117(17):2184-91.
7. Liu JF, Jons C, Moss AJ, et al. International Long QT Syndrome Registry. Risk Factors for Recurrent Syncope and Subsequent Fatal or Near-Fatal Events in Children and Adolescents With Long QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2011 Feb 22;57(8):941-50.
8. Hobbs JB, Peterson DR, Moss AJ, et al. Risk of aborted cardiac arrest or sudden cardiac death during adolescence in the long-QT syndrome. *JAMA.* 2006 Sep 13;296(10):1249-54.
9. Sauer AJ, Moss AJ, McNitt S, et al. Long QT syndrome in adults. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49:329-37.
10. Fukushige T, Yoshinaga M, Shimago A, et al. Effect of age and overweight on the QT interval and the prevalence of long QT syndrome in children. *Am J Cardiol.* 2002; 89:395-398.
11. Yoshinaga M, Nagashima M, Shibata T, et al. Who is at risk for cardiac events in young patients with long QT syndrome? *Circ J.* 2003; 67:1007-1012.
12. Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, et al. Prevalence of the congenital long-QT syndrome.

Circulation. 2009;120:1761-7

13. Hayashi K, Fujino N, Uchiyama K, et al. Long QT syndrome and associated gene mutation carriers in Japanese children: results from ECG screening examinations. *Clin Sci (Lond)*. 2009;117:415-24.
14. Yasuda K, Hayashi G, Horie A, et al. Clinical and electrophysiological features of Japanese pediatric long QT syndrome patients with KCNQ1 mutations. *Pediatr Int*. 2008;50:611-4.

G . 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yoshikane Y, Yoshinaga M, Hamamoto K, Hirose S. A case of long QT syndrome with triple gene abnormalities: Digenic mutations in KCNH2 and SCN5A and gene variant in KCNE1. **Heart Rhythm**. 2012 Dec 10. [Epub ahead of print]
- (2) Yoshinaga M, Kucho Y, Sarantuya J, Ninomiya Y, Horigome H, Ushinohama H, Shimizu W. Genetic Characteristics of Children and Adolescents with Long QT Syndrome Diagnosed by School-Based Electrocardiographic Screening Programs. (in submission)
- (3) 吉永正夫 . 乳児突然死症候群と QT 延長症候群 . **日本小児科学会雑誌**. 2013;117(1):44-48.
- (4) 吉永正夫 , 長嶋正實 . 自動計測とマニュアル計測での QT 時間の差に関する検討 . **心電図**. 2013; 32(5): (in press)

2. 学会発表 (国際学会)

- (1) Yoshinaga M Long QT syndrome: Diagnosis, Prevalence, Risk prediction, and Treatment in the Pediatric Population. **The 4th Congress of Asia-Pacific Pediatric Society**, Taiwan, 2012.4.6.
- (2) Yoshinaga M Early Root of Cardiovascular risks. **The 4th Congress of Asia-Pacific Pediatric Society**, Taiwan, 2012.4.7.
- (3) Yoshinaga M, Kucho Y, Horigome H, Ushinohama H, Ishikawa S, Yoshikane Y. Genetic background of long QT syndrome in infants, children, and adolescents. **The 46th Annual Meeting of the Association for European Pediatric and Congenital Cardiology** 2012, Istanbul, 2012.5.24
- (4) Yoshinaga M, Kucho Y, Ninomiya Y, Tanaka Y.

Predictive factors for future symptoms and dropout in patients with long QT syndrome in a single pediatric cardiovascular center in Japan. **The 46th Annual Meeting of the Association for European Pediatric and Congenital Cardiology** 2012, Istanbul, 2012.5.26

- (5) Yoshinaga M, Ninomiya Y, Tanaka Y, Tanoue K, Nuruki N, Sonoda M. Body mass index and body mass index Z score trajectories from birth to adolescence. **Scientific Sessions of American Heart Association** 2012, Los Angeles, 2012.11.6.
- (6) Yoshinaga M, Ninomiya Y, Tanaka Y, Tanoue K, Nuruki N, Sonoda M. Electrocardiographic Screening of One-Month-Old Infants with High Risk for Sudden Death in Japan. **Scientific Sessions of American Heart Association** 2012, Los Angeles, 2012.11.7.
- (7) 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. **Scientific Sessions of American Heart Association** 2012, Los Angeles, 2012.11.7.

3. 学会発表 (国内学会)

- (1) 吉永正夫 , 牛ノ濱大也、佐藤誠一、堀米仁志、田内宣生、住友直方、白石裕比湖、野村裕一、長嶋正實 . 1 か月健診時における心電図スクリーニングによる乳児突然死予防に関する研究 . 第 115 回 **日本小児科学会学術集会**、福岡市、平成 24 年 4 月 22 日
- (2) 田内宣生、吉永正夫、長嶋正實、住友直方、上野倫彦、堀米仁志、立野 滋、泉田直己、岩本真理、高橋良明、牛ノ濱大也、西原栄起 . 肥大型心筋症を標的とする学校心臓検診心電図所見 . ST-T の異常 . 第 48 回 **日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成 24 年 7 月 5 日
- (3) 大橋啓之、淀屋典子、大槻祥一郎、澤田博文、早川豪俊、駒田美弘、太田邦雄、市田路子、新井正基、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**、長嶋正實、住友直方、児童生徒の院外心停止への対応のパラダイムシフト：小児へのAEDの有効性、学校の役割、病因論的基礎、今後の課題。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月5日
- (4) 太田邦雄、清水直樹、新田雅彦、丸山征四郎、住友直方、牛ノ濱大也、小穴慎二、岡本吉生、佐藤誠一、三谷義英、**吉永正夫**。日本の小児蘇生学の現状と今後の課題。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月5日
- (5) 岩本眞理、田内宣生、長嶋正實、**吉永正夫**、住友直方、上野倫彦、堀米仁志、立野 滋、泉田直己、高橋良明、牛ノ濱大也。肥大型心筋症の心電図の検討(第2報)。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月5日
- (6) **吉永正夫**、九町木綿、Sarantuya J、堀米仁志、牛ノ濱大也、石川司朗、福見大地、田内宣生、吉兼由佳子、長嶋正實。小児期QT延長症候群の遺伝学的背景に関する研究。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月6日
- (7) **吉永正夫**。QT延長症候群のスクリーニングおよび管理基準(特に運動処方基準)に関する研究。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月6日
- (8) 二宮由美子、九町木綿、田中裕治、**吉永正夫**。QT延長症候群患児の症状出現およびドロップアウトの予測因子に関する単一施設での検討。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月6日
- (9) 岩本眞理、**吉永正夫**、泉田直己、住友直方、高橋良明、富田 英、長嶋正實、山内邦昭、新垣義夫、上野倫彦、牛ノ濱大也、太田邦雄、佐藤誠一、田内宣生、高木純一、立野 滋、檜垣高史、堀米仁志、市田落子、白石裕比湖。先天性心疾患の学校生活管理指導指針ガイドライン(平成23年度改定)。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月6日
- (10) 櫛木大祐、**吉永 正夫**、九町木綿、古城圭馴美、田中祐治。LQT-13(KCNJ5)が判明した1例。第60回**日本心臓病学術集会**、金沢市、平成24年9月15日
- (11) 中江広治、櫛木大祐、九町木綿、古城圭馴美、田中祐治、**吉永 正夫**。LQT13(KCNJ5)の1例。第17回**日本小児心電学研究会**、沖縄、平成24年10月20日
- (12) 二宮由美子、九町木綿、田中裕治、**吉永正夫**。学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群患児の症状出現の予測因子に関する単一施設での検討。第113回**日本循環器学会九州地方会**、熊本、平成24年12月8日

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

表1 発端者の特徴

	心検抽出群*	病院由来群*	p value
症例数	69	48	
診断年齢	10.4 ± 3.4	7.4 ± 6.0	0.04
診断年齢 (中央値、範囲)	12.2 (6.2 18.8)	8.9 (0 17.2)	
性 (男子/女子)	36/33	27/21	0.66
平均 QT 時間 (ms) [†]	466 ± 51	442 ± 83	0.09
平均 RR 時間 (ms) [†]	887 ± 170	802 ± 261	0.09
QTc (Bazett) (ms ^{1/2}) [†]	496 ± 40	502 ± 543	0.84
症状の既往	9 (13 %)	31 (65 %)	<0.0001
診断後の症状 [†]	12 (17 %)	17 (35 %)	0.03
LQTS の家族歴 [‡]	27 (39 %)	18 (38 %)	>0.99
突然死の家族歴 [‡]	5 (7 %)	7 (15 %)	0.23
観察期間 [†]	4.6 ± 4.9	5.2 ± 5.7	0.36

*: 心検抽出群は学校心臓検診でスクリーニングされ、QT 延長症候群と診断された群。病院由来群は症状出現、家族検診、または偶然診断された群。

†: 平均値 ± 標準偏差。

‡: 人数 (%)

略語 ; LQTS, QT 延長症候群, SD, 30 歳未満の突然死。

表2 検出された変異

	心検抽出群	病院由来群	Total
Proband 数	69	48	117
変異検出数	50 (72%)	23 (50%)	73 (62%)
<i>KCNQ1</i>	24 (48 %)*	11 (48 %)*	35 (48 %)
<i>KCNH2</i>	16 (32 %)	6 (30 %)	22 (30 %)
<i>SCN5A</i>	12 (24 %)	5 (26 %)	17 (23 %)
<i>KCNE1</i>	1 (2%)	4 (17%)	5 (7%)
<i>KCNJ2</i>	2 (4 %)	0 (0 %)	2 (3 %)
<i>CACNA1c</i>	0 (0 %)	1 (4 %)	1 (1 %)
<i>KCNJ5</i>	1 (2 %)	0 (0 %)	1 (1 %)

Multiple mutations 7 (14 %) 5 (22 %) 12 (16 %)

複数の変異があった場合、それぞれの遺伝子にカウントした。

*; 変異が見つかった例数 (%)。

表 3 両群での high probability of pathogenicity の頻度

遺伝子	変異の分類	心検抽出群	病院由来群
<i>KCNQ1</i> ^{‡§}	Radical mutation*	4	1
	High probability†	14	8
	Variants of uncertain significance‡	0	0
<i>KCNH2</i> [‡]	Radical mutation* & high probability†	1	1
	Radical mutation*	5	1
	High probability†	7	4
	Variants of uncertain significance‡	2	1

*; Radical mutations は splice-site, nonsense, frame-shift, and insertion/deletions とした。

†; KCNQ1 C-terminal の subunit assembly domain (SAD), KCNH2 N-terminal の Per-Amt-Sim (PAS) domain, AS-associated C-terminal (PAC) domain, KCNH2 C-terminal の cyclic nucleotide-binding domain (cNBD) にある変異を本研究での high probability of pathogenicity とした。KCNQ1 の transmembrane/linker/pore と C-terminal regions, KCNH2 の transmembrane/linker/pore regions 部にある変異も high probability of pathogenicity とした

§; Variant of uncertain significance は radical mutation でもなく、high probability of pathogenicity 部位にも位置しないものとした。