

遺伝性不整脈の遺伝子解析に関する研究

研究分担者 宮本 恵宏 国立循環器病研究センター 予防健診部 部長
研究協力者 太田 直孝 国立循環器病研究センター 臨床検査部 主任臨床検査技師

研究要旨 遺伝性不整脈疾患は、致死性不整脈を発症し、心臓突然死を引き起こす疾患である。遺伝性不整脈疾患は、先天性 QT 延長症候群 (LQTS)、Brugada症候群 (特発性心室細動)、進行性心臓伝導障害 (PCCD)、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT)、QT 短縮症候群 (SQTS)などが含まれるが、LQTSの原因遺伝子はすでに10以上ある。しかし、遺伝子診断で同定される原因遺伝子の殆どがLQT1(KCNQ1)、LQT2(KCNH2)、LQT3(SCN5A)であり、我々の施設ではLQT1、LQT2、LQT3、LQT7の遺伝子変異の同定をPCR直接シーケンス法でおこなっている。2012年のLQTSの遺伝子検査を行った発端者数は122例であり、その内LQT1遺伝子に変異の同定された症例は25例、LQT2遺伝子に変異の同定された症例は25例、LQT3遺伝子に変異の同定された症例は5例、LQT7遺伝子に変異の同定された症例は2例であった。我々の施設では2000年より遺伝子検査を行っているが、遺伝子変異の同定率は54%である。今後は、次世代シーケンス法により見逃されていた変異の同定も考慮する必要がある。

A．研究目的

遺伝性不整脈疾患は、致死性不整脈を発症し、心臓突然死を引き起こす疾患である。遺伝性不整脈疾患の成因は、心筋のイオンチャネルとこれに関連する細胞膜蛋白、調節蛋白などをコードする遺伝子上の変異による機能障害であり、先天性 QT 延長症候群 (LQTS)、Brugada症候群 (特発性心室細動)、進行性心臓伝導障害 (PCCD)、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT)、QT 短縮症候群 (SQTS)などが含まれる。

なかでも LQTS はすでに 10 以上の原因遺伝子が報告されているが、同定される原因遺伝子の殆どが LQT1(KCNQ1)、LQT2(KCNH2)、LQT3(SCN5A)である。また、新たな LQTS の原因遺伝子を同定するためにも、LQT1(KCNQ1)、LQT2(KCNH2)、LQT3(SCN5A)のスクリーニングが必須である。本研究では PCR 直接シーケンス法による LQT1、LQT2、LQT3 に LQT7 を加えた検討について報告する。

B．研究方法

LQT1遺伝子KCNQ1は染色体11p15.5に存在し、15個のエクソンからなる遺伝子であり、LQT2遺伝子KCNH2は染色体7q35-36にあり、15個のエクソンからなる遺伝子であり、LQT3遺伝子SCN5Aは染色体3p21-24に存在し28個のエクソンからなる。LQT7遺伝子はKCNJ2で染色体17q23に存在する2個のエクソンからなる遺伝子である。

我々はLQT1、LQT2、LQT3、LQT7に対してそれぞれ19対、15対、29対、4対のPCRプライマーセットを作成し、遺伝子の全エクソン領域をPCR直接シーケンス法で両方向からシーケンスを行った。

(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に準拠して実施する。また本研究は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を抽出した。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によって、試料や情報の由来する個人を特定できなくする「匿名化」を行った。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った。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得て遺伝子カウンセリングを行った。

C．研究結果

2012年のLQTS遺伝子検査を行った発端者数は122例であり、その内LQT1遺伝子に変異の同定された症例は25例、LQT2遺伝子に変異の同定された症例は25

例、LQT3遺伝子に変異の同定された症例は5例、LQT7遺伝子に変異の同定された症例は2例であった。

D．考察

2012年のLQTSの遺伝子検査での変異の同定率は約47%であった。我々の施設では2001年より2012年まで743例のLQTS発端者に対して遺伝子検査をおこない、402例に変異を同定しており、変異の同定率は54%である。2000年にSplawskiらが262例のLQTSで68%に変異を同定したと報告しているが(Circulation. 2000;102:1178-1185.)その後、Davidらは541例のLQTS症例に対して変異が同定されたのは39%(Heart Rhythm 2005;2:507-517)、Jamieらも2500例の発端者で遺伝子変異の同定率を36%と報告している(Heart Rhythm 2009;6:1297-1303)。

我々の施設では2000年よりほぼ50%に変異を同定している。これは、臨床的診断が同一基準で行われていることが主な理由と考えられる。しかし、今後は、塩基配列の決定技術の進歩により、PCR直接シーケンス法では見逃されていた変異が同定されることが予想される。

E．結論

PCR直接シーケンス法によるLQTSの遺伝子変異のスクリーニングでは約50%に遺伝子変異が同定された。

G．研究発表

1. 論文発表 Morisaki H, Yamanaka I, Iwai N, Miyamoto Y, Kokubo Y, Okamura T, Okayama A, Morisaki T: CDH13 Gene Coding T-Cadherin Influences Variations in Plasma Adiponectin Levels in the Japanese Population. Hum Mutat 33(2) : 402-10, 2012

2. 学会発表

なし

H．知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし