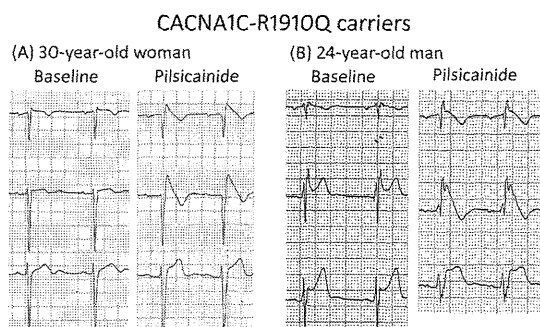


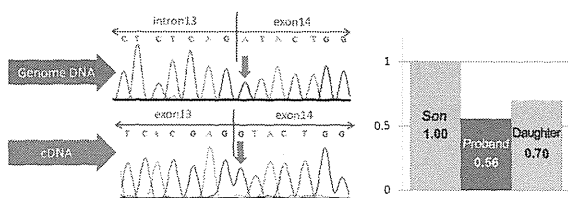
図 2



5 変異のうち 1 変異(*CACNA1C*-R632R)は塩基置換部位が *CACNA1C*-exon14 の 1 塩基目に存在しているスプライシング変異であった。*CACNA1C*-R632R 保有者の臨床経過としては 27 歳時に心室細動を来たし、電気生理学検査でも心室細動が再現されたため植え込み型除細動器(ICD)の植え込みが為されていた。家系内の遺伝子検索では、発端者の長女に同変異が同定された。発端者の第 2 子である長男には変異は認めなかった。変異保持者である発端者及び長女から得た cDNA を direct sequence にて解析したところ、変異アレルが消失していた(図 3 左)。

これは、変異アレルがナンセンス変異依存 mRNA 分解機構(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)によって排除されたことを示唆する結果であった。NMD による mRNA 発現量低下を証明するために行った定量解析では、同家系内の変異非保持者(長男)と比較して、変異保持者(発端者及び長女)の *CACNA1C*-mRNA 発現量がそれぞれ約 44%(発端者)、約 30%(長女)減少していた(図 3 右)。<sup>7</sup>

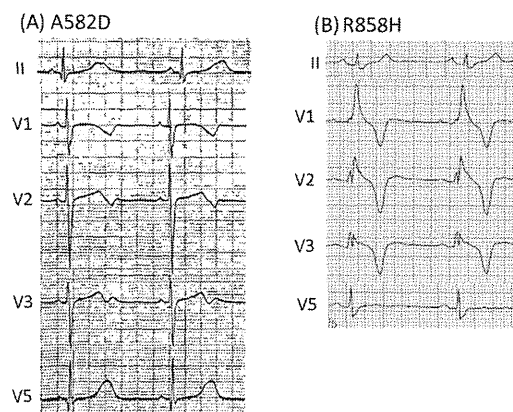
図 3



### QT 症候群における *CACNA1C* 変異

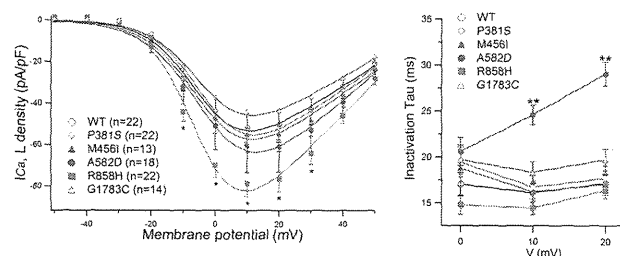
遺伝子スクリーニングにおいて、5 つの新たな *CACNA1C* 変異(P381S, M456I, A582D, R858H(3 家系), G1783C)を 7 家系に同定した(2.5%) (表 2)。図 4 に示すように、変異保有者の 12 誘導心電図には、QT 時間の延長に加えて不明瞭な T 波終末やノッチを呈する T 波を認めるものがあつた。

図 4



機能解析では、R858H 変異ではチャンネル活性化時のカルシウム電流が正常チャンネルに比べて有意に増加していた。一方、A582D 変異では活性化時のカルシウム電流量は変化がなかったが、不活性化が有意に遅延していた(図 5)。

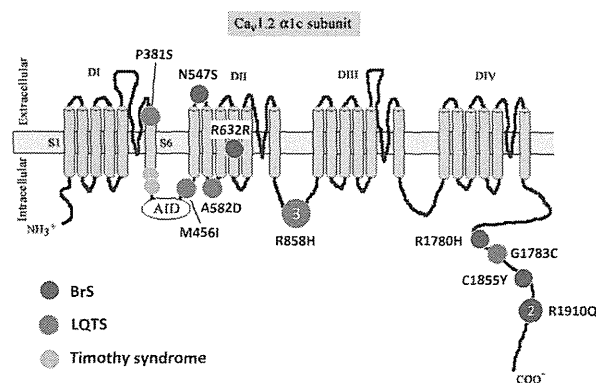
図 5



### D. 考案

今回の研究で、日本人コホートにおける遺伝性不整脈患者の *CACNA1C* 変異頻度を示すことができた。下の図 6 に、今回同定できた *CACNA1C* 全 10 変異の Topology を示す。

図 6



本研究では、BrS における *CACNA1C* 変異の頻度は 2%台であり、欧米の 8-10%という報告と比較する

と低かった。しかし、有症候性の女性患者が含まれていたことや、*CACNA1C* スプライシング変異に対する NMD の関与を証明できたことは新たな発見であった。

遺伝性不整脈分野におけるスプライシング変異の代表的なものとして LQTS type1 で同定された *KCNQ1-A344A* 変異があるが、この変異は NMD を生じない<sup>8</sup>。一方で NMD については、LQTS type2 において *KCNH2* 遺伝子のナンセンス変異から NMD が惹起されるという報告がある<sup>9</sup>。また、これまでの BrS における LTCC 変異の報告は、アミノ酸変異を伴うチャネル機能異常によるものであった。本研究は、BrS 患者において、NMD を呈する *CACNA1C* スプライシング変異について初めて報告したものである。

一方で *CACNA1C* 変異による機能亢進異常は、Timothy 症候群(TS)の原因として報告されており、本症は多臓器にわたる特徴的かつ重篤な身体症状を引き起こすとされてきた。また頻度は非常に稀であり、*CACNA1C-G402S・G406R* の二種類のみの報告であった。2013 年に Boczek らは、whole-exome sequencing を用いたスクリーニングにて 4 種の *CACNA1C* variants を同定し、TS の心臓外兆候を呈さない LQT8 が存在する可能性を示した<sup>10</sup>。本研究では、古典的な Sanger 法を用いて、他の遺伝子異常が同定できない LQTS 患者において 5 種の *CACNA1C* 変異を同定し、その頻度はこれまで報告されてきた LQT1-3 以外の LQTS で同定される遺伝子頻度よりも高かった。また変異保持者の表現型、及び遺伝子変異によるチャネルの機能変化についても明らかにした。とりわけ *CACNA1C-A582D* 変異においては、Domain II 2-3 細胞内 linker に存在する変異は BrS 等を含めても報告がなく、機能解析では興味深い結果を示した。不活性化の遅延するタイプの機能亢進であり、TS における G406R 変異の機能障害と近似しているが、A582D 患者は QTc の著明な延長以外は症状を有していなかった。

#### E. 結論

BrS においては、日本人コホートでは欧米に比して *CACNA1C* 変異の頻度は低かったが、*CACNA1C* のスプライシング変異および NMD による mRNA 発現量の減少が LTCC 機能低下を惹起し、BrS を呈

するという新たなメカニズムの存在が示された。また LQTS については、*CACNA1C* 変異は Timothy 症候群にみられるような重篤な身体症状を合併しない LQTS 患者においても同定され、その頻度はこれまで報告されてきた LQT1-3 以外の LQTS で同定される遺伝子頻度よりも高かった。他に原因遺伝子が同定されない LQTS 患者において、*CACNA1C* 変異の検索は臨床的に重要であると考えられた。

#### 関連文献

1. Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM, Decher N, Kumar P, Bloise R, Napolitano C, Schwartz PJ, Joseph RM, Condouris K, Tager-Flusberg H, Priori SG, Sanguinetti MC, Keating MT. Ca(v)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell*. 2004;119:19-31
2. Berne P, Brugada J. Brugada syndrome 2012. *Circ J*. 2012;76:1563-1571
3. Antzelevitch C, Pollevick GD, Cordeiro JM, Casis O, Sanguinetti MC, Aizawa Y, Guerchicoff A, Pfeiffer R, Oliva A, Wollnik B, Gelber P, Bonaros EP, Burashnikov E, Wu Y, Sargent JD, Schickel S, Oberheiden R, Bhatia A, Hsu LF, Haïssaguerre M, Schimpf R, Borggreffe M, Wolpert C. Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death. *Circulation*. 2007;115:442-449
4. Burashnikov E, Pfeiffer R, Barajas-Martinez H, Delpón E, Hu D, Desai M, Borggreffe M, Häissaguerre M, Kanter R, Pollevick GD, Guerchicoff A, Laiño R, Marieb M, Nademanee K, Nam GB, Robles R, Schimpf R, Stapleton DD, Viskin S, Winters S, Wolpert C, Zimmern S, Veltmann C, Antzelevitch C. Mutations in the cardiac L-type calcium channel associated with inherited J-wave syndromes and sudden cardiac death. *Heart Rhythm*. 2010;7:1872-1882
5. Catterall WA. Structure and function of voltage-sensitive ion channels. *Science*. 1988;242:50-61

6. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Kimura H, Makiyama T, Itoh H, Ito M, Horie M. L-type calcium channel mutations in Japanese patients with inherited arrhythmias. *Circ J*. 2013;77:1799-1806
  7. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Shirayama T, Itoh H, Horie M. Nonsense-mediated mrna decay due to a caacna1c splicing mutation in a patient with brugada syndrome. *Heart Rhythm*. 2013
  8. Murray A, Donger C, Fenske C, Spillman I, Richard P, Dong YB, Neyroud N, Chevalier P, Denjoy I, Carter N, Syrris P, Afzal AR, Patton MA, Guicheney P, Jeffery S. Splicing mutations in KCNQ1: A mutation hot spot at codon 344 that produces in frame transcripts. *Circulation*. 1999;100:1077-1084
  9. Gong Q, Zhang L, Vincent GM, Horne BD, Zhou Z. Nonsense mutations in hERG cause a decrease in mutant mrna transcripts by nonsense-mediated mRNA decay in human long-QT syndrome. *Circulation*. 2007;116:17-24
  10. Boczek NJ, Best JM, Tester DJ, Giudicessi JR, Middha S, Evans JM, Kamp TJ, Ackerman MJ. Exome sequencing and systems biology converge to identify novel mutations in the L-type calcium channel, CACNA1C, linked to autosomal dominant long QT syndrome. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013;6:279-289
- G. 研究発表
1. 論文発表
    1. Villafane 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, Hamilton R, Young M-L. Long Term Follow-up of a Pediatric Cohort with Short QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 61(11): 1183-91, 2013.
    2. 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. *J Arrhythmia* 29: 261-264, 2013.
    3. Ohno S, 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. *Circ J* 77: 1534-1542, 2013.
    4. Duchatelet S, Crotti L, Peat R, Denjoy I, Itoh H, Berthet M, Ohno S, Fressart V, Monti C, Crocarno C, Pedrazzini M, Dagradi F, Vicentini A, Klug D, Brink P, Goosen A, Heikki S, Toivonen L, Lahtinen A, Kontula K, Shimizu W, Horie M, George Jr. AL, Tregouet DA, Guicheney P, Schwartz PJ. Identification of a KCNQ1 polymorphism acting as a protective modifier against arrhythmic risk in long QT syndrome. *Circ Cardiovasc Genet* 6: 354-61, 2013.
    5. Dochi K, Watanabe H, Kawamura M, Miyamoto A, Ozawa T, Nakazawa Y, Ashihara T, Ohno S, Hayashi H, Ito M, Sakazaki H, Kawata H, Ushinohama H, Kaszynski RH, Minamino T, Sumitomo N, Shimizu W, Horie M. Flecainide reduces ventricular arrhythmias via different actions from  $\beta$ -blockers in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Arrhythmia* 29: 255-260, 2013.
    6. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dohchi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, Makiyama T, Sumitomo N, Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, Aonuma K, Horigome H, Honda T, Yoshinaga M, Ito M, Horie M. Genetic background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan. *Circ J* 77: 1705-1713, 2013.
    7. Watanabe H, van der Werf C, Roses-Noguer F, Adler A, Sumitomo N, Veltmann C, Rosso R, Bhuiyan ZA, Bikker H, Kannankeril PJ, Horie M, Minamino T, Viskin S, Knollmann BC, Tili J, Wilde AA. Effects of flecainide on exercise-induced ventricular arrhythmias and recurrences in genotype-negative patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm*. 10: 542-547, 2013.
    8. Horie M, Ohno S. Genetic basis of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* 29: 71-76, 2013.
    9. 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. *Circ J*. 77(5): 1307-14, 2013.
    10. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud JB, Simonet F, Verkerk AO, Schwartz PJ, Crotti L, Dagradi F, Guicheney P, Fressart V, Leenhardt A, Antzelevitch C, Bartkowiak S, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Behr ER, Bastiaenen R, Tfelt-Hansen J, Olesen MS, Kääh S, Beckmann BM, Weeke P, Watanabe H, Endo N, Minamino T, Horie M, Ohno S, Hasegawa K, Makita N, Nogami A, Shimizu W, Aiba T, Froguel P, Balkau B, Lantieri O, Torchio M, Wiese C, Weber D, Wolswinkel R, Coronel R, Boukens BJ, Bézieau S, Charpentier E, Chatel S, Despres A, Gros F, Kyndt F, Lecointe S, Lindenbaum P, Portero V, Violleau J, Gessler M, Tan HL, Roden DM, Christoffels VM, Marec HL, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R. Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet* 45(9): 1044-9, 2013.

11. Hayashi H, Murakami Y, Horie M. Pitfall of the meta-analysis regarding early repolarization pattern. *J Am Coll Cardiol*. 62: 86, 2013.
  12. Smith JL, Relej AR, Nataraj PS, Bartos DC, Schroder EA, Moss AJ, Ohno S, Horie M, Anderson CL, January CT, Delisle BP. Pharmacological Correction of Long QT-linked Mutations in KCNH2 (hERG) Increases the Trafficking of Kv11.1 Channels Stored in the Transitional ER. *Am J Physiol -Cell Physiology* 305: C919-30, 2013.
  13. Priori SG, Wilde AA, Horie M, Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, Shimizu W, Tomaselli G, Tracy C. HRS/EHRA/APHRS Expert Consensus Statement on the Diagnosis and Management of Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes: Document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013. *Heart Rhythm*. 10: 1932-63, 2013.
  14. Priori SG, Wilde AA, Horie M, Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, Shimizu W, Tomaselli G, Tracy C; Document Reviewers, Ackerman M, Belhassen B, Estes NA 3rd, Fatkin D, Kalman J, Kaufman E, Kirchhof P, Schulze-Bahr E, Wolpert C, Vohra J, Refaat M, Etheridge SP, Campbell RM, Martin ET, Quek SC. Executive summary: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes. *Europace*. 15(10): 1389-406, 2013.
  15. Hayashi H, Shibukawa T, Horie M. Restoration of aberrant conduction induced by premature ventricular contractions. *Intern Med*. 52:1425, 2013.
  16. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Aiba T, Nakano Y, Shimizu W, Matsuura H, Horie M. A rare KCNE1 polymorphism, D85N, as a genetic modifier of long QT syndrome. *J Arrhythmia* 2014 (in press)
2. 学会発表
    1. Ohno S, Hasegawa K, Makiyama T, Doi S, Horie M. Different regulation of IKS channels by two KCNE 1 C- terminus variants predicts the QTc response to the exercise stress. The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions (2013.05.08-11, Denver, CO, U.S.A.)
    2. Itoh H, Berthet M, Fressart V, Denjoy I, Maugendre S, Klug D, Mizusawa Y, Makiyama T, Hofman N, Husemann A, Shimizu W, Wilde AA, Schulze-Bahr E, Horie M, du Montcel ST, Guicheney P. Asymmetry of parental origin in Long QT syndrome. European Human Genetics Conference (2013.06.08-11, Paris, France)
    3. Ohno S, Omura M, Kawamura M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Ushinohama H, Makita N, Horie M. Exon-3 deletion of RyR2 encoding cardiac ryanodine receptor related to left ventricular non-compaction (LVNC) with ventricular arrhythmia and bradycardia. EHRA EUROPACE 2013 (2013.06.23- 26, Athens, Greece)
    4. Fukuyama M, Wang Q, Kato K, Ohno S, Kimura H, Makiyama T, Itoh H, Ito M, Matsuura H, Horie M. Novel CACNA1C mutations in Long QT syndrome patients- The subtype of Long QT syndrome type 8. Denis Escande Symposium 2013(2013.8.30-31, Amsterdam, The Netherlands)
    5. Ohno S, Fukuyama M, Itoh H, Makiyama T, Horie M. Copy number variation in KCNQ1 gene were frequently identified in the pediatric patients of long QT syndrome and caused exercise related QT prolongation. ESC CONGRESS 2013(2013.8.31-9.4, Amsterdam, The Netherlands)
    6. Horie M: Genetic and Molecular Basis of ARVC. VT Workshop 2-ARVC Session. 6th APHRS & CardioRhythm 2013.(2013.10.03-06, Hong Kong, China)
    7. Horie M: Genetic Testing in ARVC. Genetic and Inherited Syndrome 1-Update on Clinical Applications of Genetic Testing. 6th APHRS & CardioRhythm 2013.(2013.10.03-06, Hong Kong, China)
    8. Ohno S, Wang Q, Hasegawa K, Itoh H, Makiyama T, Horie M. Phenotypic characterization of three patients with lethal arrhythmia related to KCNH2-R148W missense mutation. 6th APHRS & CardioRhythm 2013.(2013.10.03-06, Hong Kong, China)
    9. Hasegawa K, Watanabe H, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Ashihara T, Hayashi H, Horie M. The High Prevalence of Early Repolarization in Genotyped Long QT Syndrome. AHA Scientific Sessions 2013. (2013.11.16-20, Dallas, Texas, U.S.A.)
- 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)  
大野聖子 (滋賀医科大学 呼吸循環器内科)

不整脈疾患の遺伝子基盤に基づいた病態解明と診断・治療法の開発に関する研究

研究分担者 青沼 和隆 筑波大学医学医療系 循環器内科 教授

研究要旨

(1) Brugada症候群は前胸部誘導の特徴的な心電図所見により診断される症候群であり、東アジア人男性の心臓突然死の原因として重要と考えられる。本研究では、タイプ1のBrugada症候群と診断された460症例(平均年齢 $52 \pm 14$ 歳、93.9%男性)の平均 $50 \pm 32$ ヶ月の予後を調査した。タイプ1のBrugada症候群の心事故(心臓突然死またはVF)発生率は心停止蘇生例・心室細動既往例で年8.4%、失神群で年1.7%、無症候性で年0.3%であった。また下側壁誘導でのJ波合併は心事故発生の独立した予測因子であった。

(2)12誘導心電図の下壁誘導あるいは側壁誘導のJ波増高を示す早期再分極症候群が報告され、心室細動による突然死を来す可能性のある症候群として注目されているが、その病的意義については十分にわかっていない。発症24時間以内に経皮的冠動脈インターベンションを施行した急性心筋梗塞(AMI) 964症例のうち、発症前の心電図を解析できた220例(69 $\pm$ 11歳、男性163例)を対象に、発症前心電図における早期再分極所見とVF発生の関連を解析した。AMI発症前心電図で34例(16%)において早期再分極所見が認められ、その所見がAMI発症48時間以内の持続性VF発生の独立した予測因子であることを明らかにした。

(3) カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)は、運動や情動的興奮等に伴い多形性心室頻拍や心室細動を生じて突然死を来す疾患であり、突然死を予防しうる確実な治療は未だ確立されていない。本研究では、CPVT 症例に対してトリガーとなる心室性期外収縮を標的としたカテーテルアブレーションが心室頻拍・心室細動の抑制に有効である可能性があることを初めて報告した。

A. 研究目的

現在、日本では年間約5万~7万例の心臓突然死が発生していると推定される。その主な原因は虚血性心疾患であるが、約70~80%を占める欧米と異なり、日本では約30%程度であり、その他、拡張型心筋症、肥大型心筋症、心サルコイドーシス、催不整脈性右室心筋症などの心筋疾患に加え、Brugada(ブルガダ)症候群、QT延長症候群、特発性心室細動、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍などの遺伝性致死性不整脈疾患が多く含まれる<sup>1)</sup>。

本研究では、これらの突然死を来しうる遺伝性致死性不整脈疾患の臨床的特徴を明らかにするとともに、適切な診断法およびリスク評価法の確立と、新たな治療法の開発を目的とした。

Brugada(ブルガダ)症候群はアジア人男性に多く、右側胸部誘導における右脚ブロックとST上昇という特徴的な心電図変化を示し、心室細動による突然死を来しうる症候群である。一般的に心停止蘇生例では心事故発生率が高率であり、心停止あるいは心室細動の既往のあるブルガダ症候群では、植込み型除細動器(ICD)の適応となる。一方、失神の既往のある症例や無症候例は長期予後が比較的良好という報告が多いものの、なお議論の余地がある。本研究1では、日本全国の医療機関から登録された典型的なBrugada症候群の

データベースを解析し、予後を明らかにするとともに、予後に関連することを目的とした。

12誘導心電図の下壁誘導(II, III, aVF誘導)あるいは側壁誘導(I, aVL, V4-V6誘導)のJ波増高を示す早期再分極症候群(early repolarization syndrome)が報告され<sup>2)</sup>、ブルガダ症候群同様、心室細動による突然死を来す可能性のある症候群として注目されている。しかし、12誘導心電図における早期再分極所見は、古くから若年健常者に多く認められる所見として認識されており、その病的意義については十分にわかっていない。本研究2は、早期再分極症候群の急性心筋梗塞発症時における病的意義を明らかにすることを目的とした。

カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)は、運動や情動的興奮等に伴い多形性心室頻拍(PVT)や心室細動(VF)を生じ、突然死を来す悪性疾患である<sup>3)</sup>。CPVTに対する一般的な治療法は $\beta$  blockerを中心とした薬物療法であり、加えて心停止例などの高リスク群には植え込み型除細動器(ICD)が選択されるが、突然死を予防しうる確実な治療は未だ確立されていない。本研究3はリアノジン2型受容体(ryanodine receptor type 2: RyR2)遺伝子異常を伴うCPVTに対するカテーテルアブレーションの有用性を検討した。

B. 研究方法

## (研究 1)

### Brugada症候群の長期予後調査

2002年2月から2011年1月までに全国の医療機関から特発性心室細動研究会(J-IVFS)事務局に登録されたBrugada症候群(タイプ1)の発端例460例を対象とした。症例を心停止蘇生例・心室細動例(VF群)、失神例(syncope群)、無症候例(asymptomatic群)の3群に分け、心事故発生の有無を観察した。心事故発生に関連する臨床的・電気生理学的因子を明らかにするために多変量解析を行った。

## (研究 2)

### 早期再分極と心筋梗塞急性期の心室細動発症との関連

2006年4月から2010年8月までに筑波大学附属病院を含む3施設で急性心筋梗塞の診断で発症後24時間以内に経皮的冠動脈インターベンション(PCI)を施行した964症例をスクリーニングした。そのうちAMI発症前の心電図を評価することができた220例(69±11歳, 男性163例)を対象とした。AMI発症48時間以内に持続性VFが出現したかどうかで患者をVF発生群・非発生群に分類し、それぞれの群で臨床データを比較した。心電図上の早期再分極はQRS-ST接合部の0.1mV以上の上昇(notch型, slur型)が連続した2つ以上の誘導(下壁誘導もしくは側壁誘導)で観察された場合と定義した。また、早期再分極をさらに誘導(下壁型、側壁型、下壁・側壁型)、振幅(0.1mV以上, 0.2mV以上)、波形(notch型, slur型)、ST部分(upsloping型, horizontal / descending型)に分類し、VF発生との関連につき検討した。

## (研究 3)

### カテコラミン誘発性多形性心室頻拍に対するカテテルアブレーション治療の効果

対象は失神歴あるいは心肺停止歴を有し、臨床的に両方向性心室性期外収縮(VPC)あるいはPVTを認め、CPVTと診断された6症例。全例遺伝子解析、心臓電気生理学検査、および薬物負荷試験を施行した。3D electroanatomic mapping (CARTO)、pace mappingにてVPC/PVTの起源を同定し、高周波カテテルアブレーションを施行した。アブレーション後の臨床経過を観察し、VPC/PVTの発生を運動負荷心電図・ホルター心電図により評価した。

## (倫理面への配慮)

いずれの研究も関連施設の臨床倫理審査委員会の承認を得た上で、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針など関連法規に則って行った。患者への十分な説明と同意を得て、個人情報と連結可能匿名化し、適切な情報管理を行うなど、倫理面への十分

な配慮を行った。

## C. 研究結果

### (研究 1)

#### Brugada症候群の長期予後調査

本研究で解析対象としたタイプ1のBrugada症候群と診断された460症例の平均年齢は52±14歳で、432例(93.9%)は男性で、突然死の家族歴は107例(23%)で認められた。VF群は84例(心停止蘇生例も含む)、syncope群は104例、asymptomatic群は244例であった。平均50±32ヶ月のフォローアップ中、心事故(心臓突然死またはVF)の発生は、VF群で27例(32%)、syncope群で8例(7%)、asymptomatic群で3例(1%)であり、年次発生率はVF群で8.4%、syncope群1.7%、asymptomatic群0.3%であった(図1)。

多変量解析では、有症候性(hazard ratio (HR)=12.7; 95% confidence interval (CI)= 4.5–53.4; p<0.0001)、下壁および側壁誘導でのJ波の合併(HR>10.0; 95%CI=1.4–10.2)、水平型STを伴うJ波の合併(HR>10.0; 95%CI=1.9–20.2)、QRS>90ms(HR=3.57; 95%CI=1.4–12.2)、AFの既往(HR=2.12; 95%CI 1.0–4.3)が心事故の有意な予測因子であった。

### (研究 2)

#### 早期再分極と心筋梗塞急性期の心室細動発症との関連 (表 1)

220症例のうち21症例(10%)でAMI発症48時間以内の持続性VFが観察された。VF発生群は非発生群に比べ男性が多く(95% vs 72%; p<0.05)、病変枝数が多く(2.0±0.8 vs 1.7±0.8; p<0.05)、発症から来院までの時間が短く(195±235 min vs 406±406 min; p<<0.001)、来院時のKillip classが大きかった(2.7±1.3 vs. 1.4±0.8; p<0.001)。早期再分極は34症例(16%)に認められ、VF発生群においてその合併頻度は有意に高かった(48% vs. 12%; p<0.001)。多変量解析では、早期再分極の合併(odds ratio (OR)= 7.30; 95% confidence interval (CI)= 2.21–24.14; p<0.01)、発症から来院までが180分以内(OR= 3.77; 95%CI= 1.13–12.59; p<0.05)、来院時Killip classがII以上(OR= 13.60; 95% CI = 3.43–53.99; p<0.001)がVF発生の独立した予測因子であった。早期再分極の詳細を検討すると、下壁誘導のもの、振幅が高いもの、Notch型のもの、Horizontal/descending型のものがVF発生と有意な関連を認めた。

### (研究 3)

#### リアノジン受容体変異を有するカテコラミン感受性多形性心室頻拍に対するカテテルアブレーション治療の効果

電気生理検査では、6例中5例で二方向性VPCおよび

びPVT が誘発された。誘発されたVPC・PVT は計11箇所起源を認め、左脚後枝領域(n=3;27%)、左脚前枝領域(n=2;18%)、左室流出路(n=2;18%)、右室流出路(n=2;18%)、左室自由壁(n=2;18%)であった。これらの部位へのカテーテルアブレーションを施行し、急性期VT 誘発性の抑制が得られ、また明らかな治療に伴う合併症は認められなかった。また、6例中4例でICD植込みを行った。カテーテルアブレーション後2.5±2.5年の観察において、東日本大震災直後に心肺停止となり蘇生された1例を除き、6例中5例(83%)で失神およびPVT/VFの出現なく経過した。

## 4 考察

### (研究 1)

#### Brugada症候群の長期予後調査

本研究では、タイプ1のBrugada症候群の心事故(心臓突然死またはVF)発生率は心停止蘇生例・心室細動既往例で年8.4%、失神群で年1.7%、無症候性で年0.3%であった。これは、欧州を中心とした登録研究であるFINGER registryの報告(心停止蘇生例・心室細動既往群で年7.7%、失神例で年1.9%、無症候性で年0.5%)とよく一致している<sup>5)</sup>。無症候性Brugada症候群の3～5年の中長期的な予後は概ね良好だが、年0.5%程度の心事故発生リスクが推定され、心臓突然死予防のためにさらなるリスク層別化が必要であると考えられる。本研究では、Brugada症候群において、下壁・側壁誘導のJ波の合併が独立した心事故発生の危険因子であることが明らかになった。無症候性Brugada症候群であっても多誘導でJ波が合併している場合、より慎重な対応が必要と考えられる。

### (研究 2)

#### 早期再分極と心筋梗塞急性期の心室細動発症との関連 (表 2)

本研究では以下の知見が得られた。(1)AMI患者の約15%において、発症前12誘導心電図で早期再分極が認められた。(2)AMI発症48時間以内にVFを発症した患者の約50%において、発症前心電図で早期再分極が認められた。(3)12誘導心電図における早期再分極の存在はAMI発症早期のVF発症のリスクの増加に有意に関連していた。下壁誘導のもの、振幅が高いもの、Notch型のもの、Horizontal / descending型のものがVF発症と有意な関連を認めた。(4)AMI発症早期に44%の症例で早期再分極が消失または認識不能となった。(5)発症前に早期再分極が認められなかった群ではAMI後に早期再分極が新たに出現した例はなかった。

これまでの報告で、特発性VF患者において、(1)下壁誘導のJ波が多く認められること、(2)より高電位のJ波が認められること、(3)slur型よりnotch型の方が特

異度が高いこと、(4)Horizontal / descending型を呈する群で不整脈死のリスクが高いこと、が報告されている<sup>6)</sup>。急性心筋梗塞を対象とした本研究でも同様の結果であり、このような12誘導心電図所見はVF発症のリスク増加に関連している可能性がある。

早期再分極所見がAMI時のVF発生に関わっている機序として、早期再分極症候群の機序同様、Itoチャンネルなどの密度勾配が関与している可能性が示唆される。心電図のJ波形成にはNaチャンネル・Caチャンネルの他、外向きKチャンネルであるItoチャンネル、IK-ATPチャンネル、IK-Achチャンネルが関与している。このうち外向き一過性KチャンネルであるItoチャンネルはAMI時のVF発生に関与していることが報告されている<sup>7)</sup>。AMI発症以前から、心室間あるいは心筋層間にItoチャンネルの密度勾配がある場合、早期再分極所見を呈すると考えられるが、このような症例がAMIになると、Itoチャンネルの密度勾配が増強し、VFが発生しやすくなる可能性が考えられる。

### (研究 3)

#### カテコラミン誘発性多形性心室頻拍に対するカテーテルアブレーション治療の効果

カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)は、運動や情動的興奮等に伴い多形性心室頻拍(PVT)や心室細動(VF)を生じ、突然死を来す悪性疾患であり、関連する遺伝子異常としてリアノジン受容体2型(ryanidine receptor type 2: RyR2)遺伝子およびカルセクエストリン(calsequestrin: CASQ2)遺伝子が報告されている。CPVTに対する一般的な治療法はβ遮断薬を中心とした薬物療法であり、またフレカイニドやベラパミルの有効性も報告されているが、突然死予防のため植え込み型除細動器(ICD)が選択されるケースが多い<sup>8),9)</sup>。しかしながら、ICDのショックによるカテコラミン放出からelectrical stormを惹起し、突然死を予防できなかった例も報告されており<sup>4)</sup>、CPVTにおいて突然死を予防しうる確実な治療は未だ確立されていない。CPVTにおけるVFおよびPVT発症の機序については、局所的なプルキンエネットワークから発生するdelayed afterdepolarizationによるriggered activityが原因であることがRyR2ノックインマウスを用いた研究<sup>10)</sup>から明らかにされているが、VFの機序なのか、単なるtriggerの起源なのかは不明である。今回、我々はCPVT症例において、VFおよびPVTのtriggerとなるVPC/PVTに対するカテーテルアブレーションにより、PVT・VFが抑制されうる可能性を初めて報告した。遺伝子異常に伴う不整脈基質に対するカテーテルアブレーションの効果は確立されていないが、薬物療法に抵抗性の失神やICD植込み後の適切作動・突然死予防に対する高い効果が期待できる。

## E. 結論



(1) Brugada 症候群の心事故発生率は、心室細動発症例では年約 8%、失神群では約 2%、無症候性群では約 0.3%であった。J波合併は心事故発生の独立した予測因子であった。(2) 12 誘導心電図における下壁誘導の早期再分極の存在は AMI 急性期の VF 発生リスクを増大させることが示唆された。(3) 遺伝子変異を伴う CPVT 症例における VPC/VT に対して、カテーテルアブレーションが有効である可能性が示唆された。

(参考文献)

- 1) 相澤義房他. 心臓突然死の予知と予防法のガイドライン. *Circulation J.* 69(Suppl. IV):1209-1252, 2005.
- 2) Haissaguerre M, et al. Sudden cardiac arrest associated with early repolarization. *New Engl J Med.* 358:2016-2023, 2008.
- 3) Priori SG, Napolitano C, Tiso N, Memmi M, Vignati G, Bloise R, Sorrentino V, Danieli GA. Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (*hRyR2*) underlie catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation.* 103:196-200, 2001.
- 4) Mohamed U, Gollob MH, Gow RM, Krahn AD. Sudden cardiac death despite an implantable cardioverter-defibrillator in a young female with catecholaminergic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm.* 3:1486-1489, 2006.
- 5) Probst V, Veltmann C, Eckardt L, Meregalli PG, Gaita F, Tan HL, et al. Long-term prognosis of patients diagnosed with Brugada syndrome: Results from the FINGER Brugada Syndrome Registry. *Circulation.* 2010;121:635-643
- 6) Tikkanen JT, et al. Long-term outcome associated with early repolarization on electrocardiography. *New Engl J Med.* 361: 2529-2537, 2009.
- 7) Antzelevitch C. Genetic, molecular, and cellular mechanisms underlying the J wave syndromes. *Circ J.* 76: 1054-1065, 2012
- 8) Sumitomo N, Harada K, Nagashima M, Yasuda T, Nakamura Y, Aragaki Y, Saito A, Kurosaki K, Jouo K, Koujiro M, Konishi S, Matsuoka S, Oono T, Hayakawa S, Miura M, Ushinohama H, Shibata T, Niimura I. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: electrocardiographic characteristics and optimal therapeutic strategies to prevent sudden death. *Heart.* 89:66-70, 2003
- 9) Watanabe H, Copra N, Laver D, Hwang HS, Davis SS, Roach DE, Duff HJ, Roden DM, Wilde AAM, Knollmann BC. Flecainide prevents catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in mice and humans. *Nat Med.* 15:380-383, 2009.

- 10) Cerrone M, Noujaim SF, Tolkacheva EG, Talkachou A, O'Connell R, Berenfeld O, Anumonwo J, Pandit SV, Vikstrom K, Napolitano C, Priori SG, Jalife J. Arrhythmogenic mechanisms in a mouse model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circ Res.* 101: 1039-1048, 2007.

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hiraoka M, Takagi M, Yokoyama Y, Sekiguchi Y, Aihara N, Aonuma K: Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study Investigators. Prognosis and risk stratification of young adults with Brugada syndrome. *J Electrocardiol* 6(4): 279-83, 2013
2. Sekiguchi Y, Aonuma K, Takagi M, Aihara N, Yokoyama Y, Hiraoka M: Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study (J-IVFS) Investigators. New clinical and electrocardiographic classification in patients with idiopathic ventricular fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.*24(8):902-8, 2013.
3. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dochi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, Makiyama T, Sumitomo N, Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, Aonuma K, Horigome H, Honda T, Yoshinaga M, Ito M, Horie M. Genetic background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan. *Circ J* 77(7):1705-13, 2013
4. Doki K, Homma M, Kuga K, Aonuma K, Kohda Y. SCN5A promoter haplotype affects the therapeutic range for serum flecainide concentration in Asian patients. *Pharmacogenet Genomics.* 23(7):349-54, 2013.
5. Takagi M, Aonuma K, Sekiguchi Y, Yokoyama Y, Aihara N, Hiraoka M; Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study (J-IVFS) Investigators. The prognostic value of early repolarization (J wave) and ST-segment morphology after J wave in Brugada syndrome: multicenter study in Japan. *Heart Rhythm.* 10(4):533-9, 2013.
6. Murakoshi N, Aonuma K:. Epidemiology of arrhythmias and sudden cardiac death in Asia. *Circ J* 77(10): 2419-31, 2013
7. JCS Joint Working Group. Guidelines for clinical cardiac electrophysiologic studies (JCS 2011). *Circ J.* 77(2):497-518, 2013.

2. 学会発表

1. Sumitomo N, Shimizu W, Aragaki Y, Horigome H, Aonuma K, Sakurada H, Watanabe H, Nishizaki M,



Kamakura S, Hiraoka M: Advancement of Treatment in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia - Multicenter Study in Japan -.34<sup>th</sup>Annual Scientific Sessions of HearRhythm Society (Denver,U.S.A.) 2013

(研究協力者)

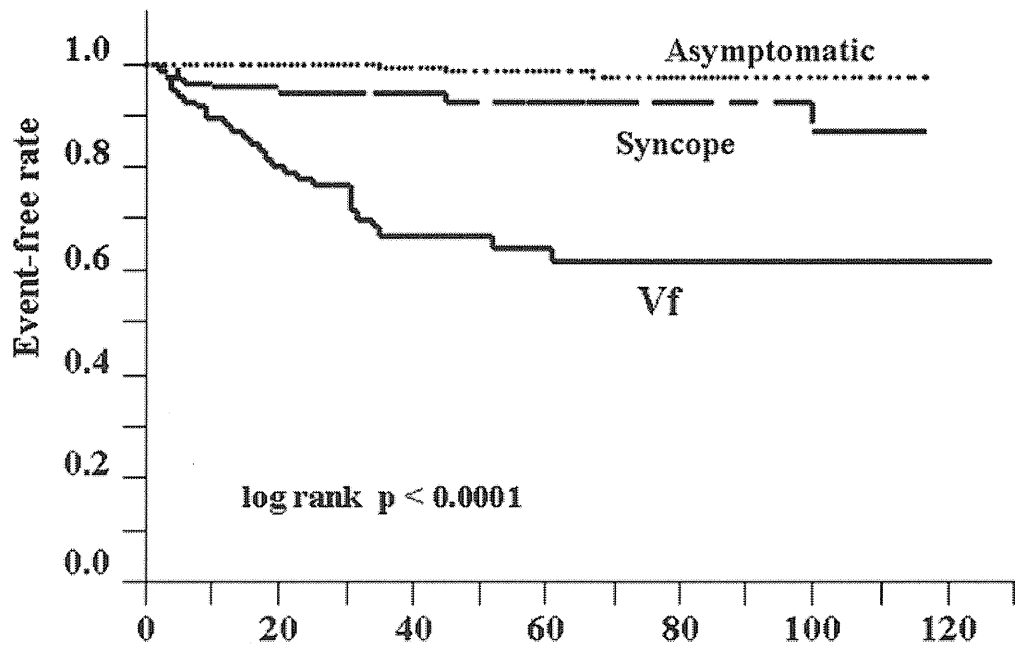
村越 伸行 (筑波大学医学医療系循環器内)

2. Naruse Y, Tada H, Harimura Y, Ishibashi M, Takeyasu N, Sato A, Hoshi T, Sekiguchi Y, Aonuma K: Clinical Impact of Early Repolarization on the Occurrence of Sustained Ventricular Tachyarrhythmias and Sudden Death in the Chronic Phase of Acute Myocardial Infarction. 34<sup>th</sup>Annual Scientific Sessions of Heart Rhythm Society (Denver,U.S.A.) 2013
3. Ruwald MH, Okumura K, Kimura T, Aonuma K, Shoda M, Kutiyifa V, McNitt S, Zareba W, Moss AJ: Clinical Predictors For Syncope And Subsequent Clinical Outcome In The MADIT-RIT Trial. 34<sup>th</sup>Annual Scientific Sessions of Heart Rhythm Society (Denver,U.S.A.) 2013
4. Sekiguchi Y, Takagi M, Aihara N, Yokoyama Y, Aonuma K, Hiraoka M: New Mechanism of Ventricular Arrhythmias in the Patients with Idiopathic Ventricular Fibrillation; from the J-IVFS Database第77回日本循環器学会学術集会(横浜) 2013
5. Kaneshiro T, Kato Y, Sekiguchi Y, Tada H, Nogami A, Goya M, Takagi M, Horigome H, Aonuma K: Prognostic Effects of Catheter Ablation Targeting the Triggering Arrhythmia in Inherited Chatecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia and Brugada Syndrome第77回日本循環器学会学術集会(横浜) 2013
6. 安達 亨, 五十嵐都, 山崎 浩, 黒木健志, 町野 毅, 井藤葉子, 油井慶晃, 関口幸夫, 野上昭彦, 青沼和隆. 遅延電位に一致した複数の心室瘤をCARTOSOUNDにて検出できた基礎心疾患不明の心室頻拍症例. 第3回関東アブレーションフロンティア(東京) 2013
7. 瀬川将人, 戸田 直, 崔 元吉, 高木祐介, 湊谷 豊, 山本義人, 杉 正文, 青沼和隆, 下川宏明. Isoproterenol投与がelectrical stormのコントロールに有効であったJ wave syndromeの一例. 第11回特発性心室細動研究会 (J-IVFS) (東京) 2013

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

図 1. Brugada 症候群 460 例の予後 (J-IVF study)



*Number at risk*

Months of Follow-up

Asymptomatic	267	228	141	87	60	24	1
Syncope	109	92	60	43	26	18	2
Vf	84	61	38	26	15	13	2

表 1. 心室細動発生に対する単変量・多変量解析

	単変量		多変量	
	オッズ比 (95% 信頼区間)	<i>p</i> 値	オッズ比 (95% 信頼区間)	<i>p</i> 値
年齢, 1 年毎	0.983 (0.945–1.022)	0.381	0.964 (0.912–1.019)	0.198
男性	7.832 (1.027–59.754)	0.047	7.353 (0.663–81.538)	0.104
発症から来院まで 180 分以内	2.468 (0.978–6.227)	0.056	3.767 (1.127–12.587)	0.031
Killip 分類 > I	7.653 (2.815–20.807)	<0.001	13.598 (3.425–53.990)	<0.001
ピーク CK > 3000 U/L	2.495 (0.989–6.291)	0.053	0.691 (0.212–2.252)	0.540
罹患冠動脈数 >1	2.629 (0.980–7.052)	0.055	3.257 (0.926–11.460)	0.066
ST 上昇型心筋梗塞	5.677 (0.741–43.492)	0.095	2.574 (0.223–29.695)	0.449
高血圧	1.448 (0.508–4.130)	0.489	0.636 (0.176–2.305)	0.491
糖尿病	1.295 (0.521–3.219)	0.579	0.752 (0.231–2.454)	0.637
喫煙	1.374 (0.554–3.406)	0.493	0.937 (0.307–2.861)	0.908
早期再分極	6.629 (2.546–17.256)	<0.001	7.305 (2.210–24.144)	0.001

表2. カテコラミン誘発性多形性心室頻拍に対してカテーテルアブレーション治療を行った症例

表2-1 患者背景

症例	年齢	性別	RyR2 変異	初発年齢	初発症状	初回診断
1	13	女	+	7	失神	神経調節性失神
2	18	女	+	6	失神	洞不全
3	18	女	+	6	失神	てんかん
4	38	女	+	7	失神	てんかん
5	18	男	-	18	心肺停止	
6	13	女	-	7	失神	発作性心房細動

表2-2 電気生理学的所見

症例	不整脈タイプ	標的部位	アブレーション結果
1	bidirectional VT/VF	左脚前枝、左脚後枝	停止
2	polymorphic VPCs/AF	右室流出路	抑制
3	polymorphic VPCs	左室側壁基部、右室流出路、左脚後枝	抑制
4	bidirectional VT/VF	左脚後枝、左室流出路(左冠尖)	停止
5	polymorphic VPCs	左脚前枝、左室流出路、左室側壁基部	抑制
6	multifocal AT	肺静脈、冠静脈洞	停止

表2-3 臨床経過

症例	内服薬	ICD	臨床経過
1	Propranolol	+	アブレーション 2 年後 VF 再発→ICD
2	Nadolol, Flecainide	-	VF
3	Nadolol	+	VPC/VT に対し 2nd session 施行→再発なし
4	Bisoprolol	+	再発なし
5	Bisoprolol	+	再発なし
6	Atenolol	-	再発なし

## 家族性洞不全症候群の遺伝子基盤に関する研究

研究分担者 蒔田 直昌 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子遺伝学 教授

### 研究要旨

家族性洞不全症候群(SSS)はまれな徐脈性不整脈で、一部の症例に心筋NaチャンネルSCN5AやペースメーカーチャンネルHCN4の遺伝子変異が報告されているが多くの症例では原因が未解明である。近年、ゲノムワイド関連解析から、安静時心拍数やSSSの発症に $\alpha$ -ミオシン重鎖( $\alpha$ -MHC)遺伝子MYH6が関連していることが報告された。本研究の目的は、家族性SSSの遺伝子解析と変異の機能異常と臨床像の比較検討によって、家族性SSSの新たな分子病態を解明することである。家族性SSS 15家系の遺伝子解析で5家系に6個のSCN5A変異と1家系に新規MYH6変異を同定した。SCN5A変異はいずれもNaチャンネル特性を低下させる異常を示した。家族性SSS 29例のメタ解析から、SCN5Aを有するSSSの発症は極めて若年で男性が多いことが判明した。またSSS 1家系で同定したMYH6の欠失変異を心筋細胞に発現させるとサルコメアが破壊されることから、遺伝性不整脈の新たな分子基盤として、心筋サルコメア障害を介する系が存在することが推測された。

### A. 研究目的

洞不全症候群(SSS)は頻度の高い徐脈性不整で様々な心疾患や老化に伴って発症することが多い。しかしまれに、若年発症や家族内発症を示す家族性SSSも見られる。家族性SSSの原因としては、これまでに心筋Naチャンネル遺伝子SCN5Aやペースメーカー遺伝子HCN4の変異が報告されている。また最近のゲノムワイド関連解析から、SSSの発症に $\alpha$ -ミオシン重鎖( $\alpha$ -MHC)遺伝子MYH6が関与していることも報告されている。

本研究の目的は、家族性SSS家系の遺伝子解析を行い、同定した変異の機能と臨床像の比較検討によって、その分子病態を解明することである。

### B. 研究方法

インフォームドコンセントの得られた家族性SSS発端者15症例とその家族を対象に、末梢血ゲノムDNAを抽出し、遺伝子解析を行った。対象遺伝子は、Naチャンネル(SCN5A)、Kチャンネル(KCNJ3, HCN4)、コネキシン(GJA1, GJC1, GJA5)、ラミンA/C(LMNA)、 $\alpha$ -ミオシン重鎖(MYH6)である。各遺伝子のエクソン周囲をPCRで増幅し直接シーケンス法でスクリーニングした。また非家族性SSS症例の臨床像は、長崎大学・日本大学・横浜労災病院から心疾患の合併のないSSS症例538例を集積し解析した。

SCN5A変異はtsA-201細胞の発現系を用いwhole-cell patch clamp法でNa電流を測定した。MYH6変異の*in silico* simulationはSwiss-Plotを用いた。正常または変異 $\alpha$ -MHCのGFP融合プラスミドを新生ラット心筋細胞にトランスフェクション

し、抗actinin抗体を用いて免疫染色後、共焦点顕微鏡でサルコメアの構造を分析した。

(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)に準拠して実施した。

### C. 研究結果

#### 1. SCN5A変異と機能異常

15家系の家族性SSSのうち5家系に以下の6個のSCN5A変異を同定した。1) in-frame欠失挿入変異(801\_803delMSN/insS)とM1880Vの複合ヘテロ変異, 2) R219H, 3) 2塩基欠失変異(L1786fsX2), 4) D1275N, 5) E1784Kである。D1275N, E1784KはNa電流を低下させるloss-of-functionの機能異常を有することがすでに判明している。本研究では、1)~3)の4つのSCN5A変異のNaチャンネル特性を解析した。その結果、L1786fsX2は無機能で、残りの3つの変異はいずれも正常SCN5Aよりも電流密度が低下し、不活性化または活性化の電位依存性がそれぞれ過分極側、脱分極側に偏位していた。以上から、今回同定した6つのSCN5A変異はいずれもNa電流を低下させるloss-of-functionの特性を有することが判明した。

#### 2. SCN5A変異と発症年齢、性差

家族性SSS発端者の平均発症年齢は35.5歳(n=15)で、非家族性SSSの74.3歳(n=538)に比べ有意に若年であった。SCN5A変異の有無で比較すると、SCN5Aキャリアの平均発症年齢は12.4歳(n=5)で、非キャ

リア47.0歳 (n=10) より有意に若かった。これらの知見を再確認するために、既報のSCN5A陽性家族性SSS発端者14人を含めた29家系でメタ解析したところ、SCN5Aキャリアは有意に若年発症 (20.9歳) であるとともに、強い男性優位性 (23/29, 79.3%) を示すことが判明した。さらに、Brugada症候群やQT延長症候群の合併を除いた家族性SSS発端者11名では、その傾向がさらに強かった (7.8歳、男性91%)

### 3. MYH6変異解析・機能解析

最近のGWASから、MYH6が安静時脈拍数と関連すること、SSS発症の危険性を高める遺伝子多型が存在することが判明している。我々はMYH6が家族性SSSの新規疾患遺伝子であるか否かを探るために、既知の疾患遺伝子 (SCN5A, HCN4) に変異がない家族性SSS発端者9人を選択し、PCR・サンガー法でMYH6変異スクリーニングを行った。その結果、ペースメーカを植え込んだ62歳女性の発端者に、in-frame 3塩基欠損によって1アミノ酸が脱落する欠失変異 (delE933) が同定された。母親はすでに死亡しているが同様にペースメーカを植え込んでいた。子孫がないためそれ以上の家族性は確認できない。

MYH6は心房筋に強く発現する $\alpha$ -ミオシン重鎖 ( $\alpha$ -MHC) の遺伝子である。このアミノ酸欠損変異 delE933は、ミオシン結合タンパクC (MyBP-C) と機能的結合に重要な役割を果たすS2領域に存在し、進化的に極めて保存性の高い $\alpha$ -ヘリックス上に存在していた。In silico simulationではdelE933はこの $\alpha$ -ヘリックスに大きな構造変化をもたらすことが予測された。

$\alpha$ -MHCのアイソフォームである $\beta$ -MHCの遺伝子MYH7には、300種以上の肥大型心筋症・拡張型心筋症の遺伝子変異が報告されている。一方MYH6変異の報告は少ないが、A1366Dなど先天性心疾患の原因となる一部の变異は、心筋細胞に発現させるとサルコメアの破壊をもたらすことがすでに知られている。また、最近のGWASから、MYH6バリエーションR721Wは、SSS発症の危険性と関連することが確認されている。しかしMYH6のバリエーションがどのようにして洞機能不全をもたらすかは未解明である。そこで我々は、今回同定したSSSのMYH6変異delE933、GWASでSSSとの連関が示されたバリエーションR721W、先天性心疾患変異A1366Dを新生ラット心筋細胞に発現させ、サルコメア構造の形態的变化を共焦点顕微鏡で観察した。その結果、正常MYH6は過剰発現させても心筋サルコメア構造は保存されるが、delE933、R721W、A1366DのMYH6変異・バリエーションはいずれも、心筋細胞のサルコメアを破壊することが判明した。

### D. 考察

15家系の家族性SSSと既知の14家系を加えたメタ解析と、SSSの遺伝子変異・機能異常から、家族性

SSSのSCN5A変異は機能低下型の機能異常を有すること、若年男性の発症が極めて多いことが判明した。Naチャンネルの機能異常と男性優位性には、Brugada症候群との類似性を認める。SCN5A陽性のSSS症例が将来Brugada症候群を発症するかどうかは長期の経過観察が必要だが、若年発症のSSSの少なくとも一部にBrugada症候群の危険性を有する症例があることは示唆される。

$\alpha$ -MHCは主として心房筋に発現する。MYH6変異がどのように洞機能不全を発症するかは不明であるが、今回我々がSSSに同定したMYH6変異がサルコメアの破壊をもたらしたことから、MYH6の変異による家族性SSSの発症機転として心房筋のサルコメア破壊が関与している可能性が考えられる。事実、MYH6変異を発現するゼブラフィッシュでは心房筋の一部が収縮欠損が報告されている。以上から、SSSと関連するMYH6の遺伝子変異やバリエーションは、心房筋のサルコメアの破壊を介して洞結節機能を障害し、SSSを発症するという新たなメカニズムが推測された。

### E. 結論

先天性SSSのもっとも強い分子基盤はSCN5Aの遺伝子異常であり、変異を有する症例は極めて若年で男性が多いという特徴を有している。さらに、SSSの新たな分子基盤としてMYH6変異による心房筋サルコメアの破壊があげられる。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Abe K, Machida T, Sumitomo N, Yamamoto H, Ohkubo K, Watanabe I, Makiyama T, Fukae S, Kohno M, Harrell DT, Ishikawa T, Tsuji Y, Nogami A, Watabe T, Oginosawa Y, Abe H, Maemura K, Motomura H, Makita N. Sodium channelopathy underlying familial sick sinus syndrome with early onset and predominantly male characteristics. *Circ Arrhythm Electrophysiol*; in revision
2. Makita N, Yagihara N, Crotti L, Johnson CN, Beckmann BM, Shigemizu D, Lichtner P, Ishikawa T, Aiba T, Homfray T, Behr ER, Klug D, Denjoy I, Mastantuono E, Theisen D, Tsunoda T, Satake W, Toda T, Nakagawa H, Tsuji Y, Tsuchiya T, Yamamoto H, Miyamoto Y, Endo N, Kimura A, Ozaki K, Motomura H, Suda K, Tanaka T, Schwartz PJ, Meitinger T, Käb S, Guicheney P, Bhuiyan ZA, Shimizu W, Watanabe H, Chazin WJ, George, AL Jr. Novel calmodulin (CALM2) mutations associated with congenital arrhythmia susceptibility. *Circ Cardiovasc Genet*; in revision
3. Ohno S, Omura M, Kawamura M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Ushinohama H, Makita N, Horie M. Exon 3 deletion of RYR2 encoding cardiac ryanodine receptor is associated with left ventricular non-compaction. *Europace*. 2014;in press

4. Katsuumi G, Shimizu W, Watanabe H, Noda T, Nogami A, Ohkubo K, Makiyama T, Takehara N, Kawamura Y, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Makita N, Minamino T. Efficacy of bepridil to prevent ventricular fibrillation in severe form of early repolarization syndrome. *Int J Cardiol*. 2014
5. Yoshida M, Ando S, Chishaki A, Makita N, Hasegawa Y, Narita S, Momii H, Kadokami T. Normal dose of pilsicainide showed marked negative inotropic effects in a patient who had no underlying heart disease. *J Arrhythmia*. 2013;in press
6. 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;165:e21-23
7. Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshishige M, Hayashida Y, Miki D, Hayes CN, 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, Ohno 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 Genet*. 2013;9:e1003364
8. Makita N. Paradigm shifts in the genetics of inherited arrhythmias: Using next-generation sequencing technologies to uncover hidden etiologies. *J Arrhythmia*. 2013;29:305-307
9. Kawakami H, Aiba T, Yamada T, Okayama H, Kazatani Y, Konishi K, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kamakura S, Makita N, Shimizu W. Variable phenotype expression with a frameshift mutation of the cardiac sodium channel gene *SCN5A*. *J Arrhythmia*. 2013;29:291-295
10. Ishikawa T, Takahashi N, Ohno S, Sakurada H, Nakamura K, On YK, Park JE, Makiyama T, Horie M, Arimura T, Makita N, Kimura A. Novel *SCN3B* mutation associated with Brugada syndrome affects intracellular trafficking and function of Nav1.5. *Circ J*. 2013;77:959-967
11. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Aiba T, Nakano Y, Shimizu W, Matsuura H, Makita N, Horie M. A rare *KCNE1* polymorphism, D85N, as a genetic modifier of long QT syndrome. *J Arrhythmia*. 2013
12. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud J-B, Simonet F, Verkerk AO, Schwartz PJ, Crotti L, Dagradi F, Guicheney P, Fressart V, Leenhardt A, Antzelevitch C, Bartkowiak S, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Behr ER, Bastiaenen R, Tfelt-Hansen J, Olesen MS, Kaab S, Beckmann BM, Weeke P, Watanabe H, Endo N, Minamino T, Horie M, Ohno S, Hasegawa K, Makita N, Nogami A, Shimizu W, Aiba T, Froguel P, Balkau B, Lantieri O, Torchio M, Wiese C, Weber D, Wolswinkel R, Coronel R, Boukens BJ, Bezieau S, Charpentier E, Chatel S, Despres A, Gros F, Kyndt F, Lecointe S, Lindenbaum P, Portero V, Violleau J, Gessler M, Tan HL, Roden DM, Christoffels VM, Marec HL, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R. Common variants at *SCN5A-SCN10A* and *HEY2* are associated with brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet*. 2013;45:1044-1049
13. Abe Y, Sumitomo N, Okuma H, Nakamura T, Fukuhara J, Ichikawa R, Matsumura M, Miyashita M, Kamiyama H, Ayusawa M, Watanabe M, Joo K, Makita N, Horie M. Successful control of life-threatening polymorphic ventricular tachycardia by radiofrequency catheter ablation in an infant. *Heart Vessels*. 2013;1-5
14. 蒔田直昌. 遺伝性不整脈研究の黎明期とその後の急速な展開. 日本心電学会 30 年の軌跡. 2013:154-157
15. 蒔田直昌. 心臓伝導障害の遺伝子基盤. 不整脈 2013. 2013:12-22
16. 蒔田直昌. 【致死性不整脈診療の最前線】 致死性不整脈診療 遺伝性心臓伝導障害. 最新医学. 2013;68:1588-1596
17. 蒔田直昌. 【イオンチャネル病のすべて】 進行性心臓伝導障害. 医学のあゆみ. 2013;245:802-809
18. 蒔田直昌. 難治性不整脈の遺伝子解析. 循環器専門医. 2013;21:3-8
2. 学会発表
  1. Sonoda K, Watanabe H, Ashihara T, Sato A, Yagihara N, Otuki S, Hasegawa K, Katsuumi G, Iijima K, Izumi D, Furushima H, Horie M, Makita N, Minamino T. A loss-of-function mutation in *SCN5A* associated with monomorphic ventricular tachycardia in Brugada syndrome. 6th APHS Cardio Rhythm 2013. 2013年10月4日, Hong Kong
  2. Nakao M, Kobayashi S, Makita N. Familial neurally mediated syncope. Venice Arrhythmias 2013. 2013年10月28日, Venice, Italy
  3. Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshishige M, Tokuyama T, Oda N, Uchimura-Makita Y, Kajihara K, Sairaku A, Motoda C, Fujiwara M, Watanabe Y, Kawazoe H, Ikenaga H, Matsumura S, Oda N, Suenari K, Yoshida Y, Ohkubo K, Watanabe I, Nogami A, Watanabe H, Hasegawa K, Aiba T, Ohno S, Shimizu W, Horie M, Tashiro S, Makita N, Kihara Y. Nonsynonymous polymorphism in semaphorin 3a as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation. American



- Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月18日,Dallas, Texas
4. Makita N, Yagihara N, Crotti L, Johnson CN, Beckermann B, Shigemizu D, Watanabe H, Ishikawa T, Aiba T, Mastantuono E, Tsunoda T, Nakagawa H, Tsuji Y, Tsuchiya T, Yamamoto H, Miyamoto Y, Endo N, Kimura A, Ozaki K, Motomura H, Suda K, Tanaka T, Schwartz PJ, Meitinger T, Käb S, Shimizu W, Chazin W, George AL. CALM2 mutations associated with atypical juvenile long QT syndrome. American Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月18日,Dallas, Texas
  5. Makita N. Genetic mutation. Venice Arrhythmias 2013.2013年10月28日, Venice, Italy
  6. Makita N. Is it the prime time to treat the patients with early repolarization? 6th APHRS Cardio Rhythm 2013.2013年10月4日, Hong Kong
  7. Kawakami H, Aiba T, Okayama H, Kazatani Y, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kamakura S, Makita N, Shimizu W. Variable expressivity of phenotype in the V1764fsx1786 mutation of cardiac sodium channel *SCN5A*. Heart Rhythm Society 34th Annual Scientific Sessions.2013年5月9日, Denver USA
  8. Katsuomi G, Shimizu W, Watanabe H, Noda T, Nogami A, Ohkubo K, Takehara N, Kawamura Y, Hosaka Y, Makiyama T, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Makita N, Minamino T. Efficacy of bepridil to prevent ventricular fibrillation in early repolarization syndrome. American Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月20日,Dallas, Texas
  9. Ishikawa T, Nogami A, Kowase S, Kimura A, Makita N. A cardiac  $\alpha$ -myosin heavy chain (*MYH6*) mutation impairing sarcomere structure responsible for familial sick sinus syndrome. American Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月17日,Dallas, Texas
  10. Harrell DT, Tominaga I, Abe K, Watabe T, Oginosawa Y, Okishige K, Abe H, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Makita N. Clinical and genetic characteristics of short qt syndrome in Japan. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.2013年3月16日, Yokohama Japan
  11. Harrell DT, Tominaga I, Abe K, Watabe T, Oginosawa Y, Abe H, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Makita N. Clinical manifestations and electrophysiological characteristics of K channel mutations responsible for short QT syndrome. Heart Rhythm Society 34th Annual Scientific Sessions.2013年5月9日, Denver USA
  12. Harrell DT, Takano M, Uno K, Makita N. Clinical manifestations and electrophysiological characteristics of K channel mutations responsible for short QT syndrome. 第90回日本生理学会大会.2013年3月29日, 東京
  13. Barc J, Bezzina C, Mizusawa Y, Remme C, Gourraud J, Verkerk A, Schwartz P, Guicheney P, Antzelevitch C, Schulze-Bahr E, Behr E, Tfelt-Hanson J, Kaab S, Watanabe H, Horie M, Makita N, Shimizu W, Froguel P, Roden D, Christoffels V, Gessler M, Wilde A, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R. Genome-wide association analysis identifies 3 common variants predisposing to Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. American Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月18日,Dallas, Texas
- 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)  
野上昭彦 (横浜労災病院)  
渡辺一郎 (日本大学)

## QT延長症候群における不整脈基質に関する高分解能心電図を用いた研究

研究分担者 萩原 誠久 東京女子医科大学 循環器内科 教授

### 研究要旨

本年度は当施設で植込み型除細動器(ICD)植込み術を施行したQT延長症候群(LQT)患者4名を対象として、ベクトル合成187チャンネル高分解能心電図(187-ch SAVP-ECG)を用いた再分極異常に関する検討を行った。187-ch SAVP-ECGは、12誘導心電図とともにMason-Likar誘導を用いて10分間の心電図を記録し、187チャンネルの合成心電図における再分極指標(RTc)、T-wave current alternans(TWCA)の二次元機能図解析法が可能である。LQTの診断でICD植込み術を施行した4名の患者のうち、Torsade-de-pointesの既往があり、当院でLQTと診断されICD植込み術を施行された57歳の女性患者1名は、遺伝子異常は指摘されていないものの、植込み後も心室頻拍/心室細動による作動を繰り返し、内服治療でもコントロール困難な症例であった。12誘導心電図によるQT時間は415msと延長を認めた。187-ch SAVP-ECGによる計測では、RTc dispersionは89ms、TWCA値は30.2%と高い値を示した。ICDの適切作動を認めていない他3名のLQT患者における187-ch SAVP-ECGの計測値は、RTc dispersionは92, 99, 107msと高い値を示したのに対して、TWCA値は4.2, 14.7, 16%と頻回作動を来した症例に比し低い値を示した。LQT患者において、187-ch SAVP-ECGによる再分極指標は致死性不整脈との関連性が示唆された。

### A. 研究目的

遺伝性不整脈疾患の原因遺伝子の解明及び病態との関連を解析し、診断・治療に役立てること。

### B. 研究方法

当施設循環器内科で植込み型除細動器(ICD)植込み術を施行したQT延長症候群(LQT)患者4名を対象として、ベクトル合成187チャンネル高分解能心電図(187-channel signal-averaged vector-projected high resolution electrocardiograph; 187-ch SAVP-ECG)を用いた再分極異常に関する検討を行った。ICDによる作動の有無と再分極指標との関連性の有無を検討した横断的観察研究である。

187-ch SAVP-ECGも使い、12誘導心電図とともにMason-Likar誘導を用いて10分間の心電図を記録した。同一記録での187チャンネルの合成心電図における再分極指標として、RT時間のばらつき(RTc dispersion)、Tp-e時間のばらつき(Tp-e dispersion)およびT-wave current alternans(TWCA)の二次元機能図解析法が可能である。

### C. 研究結果

4例のLQT患者のうち1例(57歳、女性)でICDの適

切作動を認めた。上記一例は、12誘導心電図でのQT時間は415msと延長を認め、Adams-Stokes症状を伴うTorsade de Pointes(Tdp)を認め、ICD植込み術を施行された患者で、遺伝子異常は認められず、薬物によるコントロールが困難であった。同患者の187-ch SAVP-ECGによる解析結果は、RTc dispersionは89ms、Tp-e dispersionは48ms、TWCAは30.2%と高値を示した。一方、他の作動を認めていないLQT患者の内訳は、LQT2(24歳、男性)、LQT2(34歳、男性)、LQT3(38歳、女性)であった。LQT3の一例は心肺停止蘇生後のICD植込み例で、QT時間も488msと延長を示していたが、ICDの適切作動は認めていない。上記3例の187-ch SAVP-ECGによる計測値は、RTc dispersionは92~107ms、Tp-e dispersionは56~105msと高値を示し、TWCAは4.2~16%とICD適切作動を認めた一例に比して低値であった。

### D. 考察

ICD植込み術を施行したLQT患者における187-ch SAVP-ECGを用いて、再分極指標の評価を行った。4例ともにRTc dispersionおよびTp-e dispersionは高値であったが、ICD適切作動を認めた1例では、RTc dispersionが高値であるとともにTWCAも高値を

示した。187-ch SAVP-ECGを用いたこれまでの検討によると、Nakaiらは健人に比してLQT患者でRTc dispersionの高値とともに、TWCAも高値を示したと報告している。今回我々の検討でもLQTの4例におけるRTc dispersionは高値を示した。TWCAに関しては、Nakaiらの報告における健常人では $0.5 \pm 0.2\%$ と低値を示しているが、今回対象としたLQT患者4例におけるTWCA値は4.2～30.2%と健常人に比して高値を示していることが分かる。ICD適切作動を示した1例におけるTWCA値が他の3例に比して高いTWCA値を示したことは、LQT患者における致死性不整脈のリスク評価の一つとしてTWCAに關与する再分極異常が關与していることが示唆された。今後、LQT患者におけるTWCAを含めたリスク因子の前向きな検討が必要である。

#### E. 結論

ICD植込み術を施行したLQT患者4名を対象として、12誘導心電図および187-ch SAVP-ECGによる再分極指標の評価を行った。いずれの例でもRTc dispersionは高いばらつきを示したが、TWCAはICD適切作動を認めなかった3例に比して、適切作動を認めた1例で高い値を示した。適切作動を認めた例では明らかな遺伝子異常が認められていないが、Tdpの既往があり、12誘導心電図におけるQT延長を示しており、さらなる詳細な検討が必要である。また、LQT患者における致死性不整脈のリスク評価は未だ明確なものがなく、様々な再分極指標を含めた詳細な検討が今後必要である。

#### G. 研究発表

1. 論文発表
  1. Ejima K, Shoda M, Miyazaki S, Yashiro B, Wakisaka O, Manaka T, Hagiwara N. Localized reentrant tachycardia in the aorta contiguity region mimicking perimitral atrial flutter in the context of atrial fibrillation ablation. *Heart and Vessels*. 2013; 28(4):56-59.
  2. Fujita E, Nakanishi T, Nishizawa T, Hagiwara N,

Matsuoka R. Mutations in the cardiac troponin T gene show various prognoses in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Heart and Vessels*. 2013; 28(6): 785-94.

3. Hagiwara N. Sleep-disordered breathing and cardiac arrhythmias. *Circ J*. 2013; 77(6): 1401-2.
2. 学会発表
  1. 鈴木 敦, 鈴木 豪, 志賀 剛, 庄田守男, 中居賢司, 笠貫 宏, 萩原誠久. たこつぼ心筋症に心室細動を併発したBugada症候群の一例—DREAM ECGによる検討. 第33回日本ホルター・ノンインベシブ心電学研究会. 東京. 2013.6.8
  2. Nakai K, Ito M, Komatsu T, Suzuki A, Shiga T, Hagiwara N. Two-Dimensional Dominant High-Frequency Map and Disease Characterization by 187ch Signal-Averaged Vector-Projection ECG. The 28th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society. Tokyo. 2013.7.5
  3. Terajima Y, Shimizu T, Tsuruyama S, Sekine H, Ishii H, Yamazaki K, Okano T, Hagiwara N. Safety and Effectiveness of Innovative Tissue Therapy for Porcine Myocardial Infarction Using Autologous Skeletal myoblast sheets. The 28th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society. Tokyo. 2013.7.5

#### 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)  
西井明子 (東京女子医科大学 循環器内科)

## 遺伝性不整脈疾患の遺伝子解析とその応用

研究分担者 福田 恵一 慶應義塾大学 循環器内科 教授

### 研究要旨

遺伝性不整脈疾患は突然死の原因となるためその病態解明および早期診断、有効な治療法の検索は急務である。実際に当該疾患の患者において原因遺伝子を同定した上で、疾患特異的iPS細胞を作成し、各種研究、解析を行うことで速やかな実臨床へのフィードバックが可能となる。当循環器内科を外来通院または入院加療を行っている患者に対し、QT延長症候群、ブルガダ症候群、家族性心房細動、家族性ペースメーカー症候群など当該疾患を有している者に対し、説明と同意を得た上で遺伝子解析目的の採血を行った。QT延長症候群患者の家系において1型1名、2型2名、3型/ブルガダ合併1名、7型3名の患者からiPS細胞を作製した。1型では疾患特異的iPS細胞を作製した。1型QT延長症候群の患者での基礎的検討では、 $I_{Ks}$ 遮断薬であるE4031はコントロールおよび患者由来iPS細胞でFPDを延長させ、不整脈が発生した。また $I_{Ks}$ 遮断薬であるchromanol 293Bは患者由来のiPS細胞のFPDは延長させず、本患者における $I_{Ks}$ の障害が示唆された。3型/ブルガダ合併の患者由来ではLQT3型の表現型の再現が可能であったがブルガダ症候群の表現型の再現は不可能であった。7型の患者ではCa過負荷が観察され不整脈源性のメカニズムを証明した。

### A. 研究目的

遺伝性不整脈疾患の突然死の原因の病態解明および早期診断、有効な治療法の検索を目的とする。当該疾患の患者において原因遺伝子を同定した上で、疾患特異的iPS細胞を作成し、各種研究、解析を行う。またその結果を速やかに実臨床へフィードバックする。

### B. 研究方法

慶應義塾大学病院循環器内科を外来通院または入院加療を行っている患者に対し、QT延長症候群、ブルガダ症候群、家族性心房細動、家族性ペースメーカー症候群などの当該疾患を有している者に対し、書面にて説明と同意を得た上で遺伝子解析目的の採血を行った。また1,2,3,7型QT延長症候群の家系に関しては疾患特異的iPS細胞を作成し、不整脈の病態解明、薬効評価などを行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析にあたり、本研究の目的、方法、同意書などは慶應義塾大学病院の倫理委員会によって承認されたものである。なお遺伝子解析にあたり研究対象全患者には書面を用いて説明を行い同意書を得た。

### C. 研究結果

QT延長症候群患者の家系において1型1名、2型2名、3型/ブルガダ合併1名、7型3名の患者からiPS細胞を作製した。1型では疾患特異的iPS細胞を作製した。1型QT延長症候群の患者での基礎的検討では、

$I_{Ks}$ 遮断薬であるE4031はコントロールおよび患者由来iPS細胞でFPDを延長させ、不整脈が発生した。また $I_{Ks}$ 遮断薬であるchromanol 293Bは患者由来のiPS細胞のFPDは延長させず、本患者における $I_{Ks}$ の障害が示唆された。3型/ブルガダ合併の患者由来ではLQT3型の表現型の再現が可能であった。SCN3Bのノックダウンによりブルガダ症候群の表現型の再現が可能であった。7型の患者ではCa過負荷が観察され不整脈源性のメカニズムを証明した。

### D. 考察

この新しい解析手段は従来のパッチクランプを用いた解析と結果が一致し、本解析は有用な手段であることが示された。

### E. 結論

疾患特異的iPS細胞の作成により、不整脈の病態解明、薬効評価などが可能になった。またこの新しい解析手段は従来のパッチクランプを用いた解析と結果が一致し、本解析は遺伝性不整脈疾患の病態解明において有用な手段であることが確立された。

### G. 研究発表

1. 論文発表
1. 藤田 淳, 福田 恵一. 【心不全の最前線】 治す心不全とiPS細胞の展望. Heart View 18巻1号 Page 101-105.
2. 関倫久, 福田 恵一. 循環器疾患における再生医療の展望 循環器領域での再生医療の実践に

- むけて. 循環plus 14巻 1号 Page10-12.
3. 福田恵一. 再生医学・再生医療の最前線 iPS細胞の循環器領域への臨床応用. 日本内科学会雑誌 102巻9号 Page2232-2240.
  4. 黒田裕介, 福田恵一. 【iPSの樹立とその応用病態解析】 心疾患と疾患特異的iPS細胞. Medical Science Digest 39巻11号 Page 518-521.
  5. Seki T, Yuasa S, Kusumoto D, Kunitomi A, Saito Y, Tohyama S, Yae K, Kishino Y, Okada M, Hashimoto H, Takei M, Egashira T, Kodaira M, Kuroda Y, Tanaka A, Okata S, Suzuki T, Murata M, Fujita J, Fukuda K. Generation and characterization of functional cardiomyocytes derived from human T cell-derived induced pluripotent stem cells. PLoS One. 2014;9(1):e85645
  6. Ohno Y, Yuasa S, Egashira T, Seki T, Hashimoto H, Tohyama S, Saito Y, Kunitomi A, Shimoji K, Onizuka T, Kageyama T, Yae K, Tanaka T, Kaneda R, Hattori F, Murata M, Kimura K, Fukuda K. Distinct iPS Cells Show Different Cardiac Differentiation Efficiency. Stem Cells Int. 2013; 2013: 659739.
  7. Chen IP, Fukuda K, Fusaki N, Iida A, Hasegawa M, Lichtler A, Reichenberger EJ. Induced pluripotent stem cell reprogramming by integration-free sendai virus vectors from peripheral blood of patients with craniometaphyseal dysplasia. Cell Reprogram. 2013;15(6):503-13.
  8. Okata S, Yuasa S, Yamane T, Furukawa T, Fukuda K. The generation of induced pluripotent stem cells from a patient with KCNH2 G603D, without LQT2 disease associated symptom. J Med Dent Sci. 2013;60(1):17-22.
  9. Wada R, Muraoka N, Inagawa K, Yamakawa H, Miyamoto K, Sadahiro T, Umei T, Kaneda R, Suzuki T, Kamiya K, Tohyama S, Yuasa S, Kokaji K, Aeba R, Yozu R, Yamagishi H, Kitamura T, Fukuda K, Ieda M. Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(31):12667-72.
  10. Egashira T, Yuasa S, Fukuda K. Novel insights into disease modeling using induced pluripotent stem cells. Biol Pharm Bull. 2013;36(2):182-8.
2. 学会発表
1. 相澤義泰, 高月誠司, 木村雄弘, 西山信大, 福本耕太郎, 谷本陽子, 谷本耕司郎, 三好俊一郎, 鈴木誠, 横山泰廣, 池主雅臣, 相澤義房, 福田恵一. 完全右脚ブロックを呈する発性心室細動症例の臨床的および心電図学的特徴の検討. 第27回日本不整脈学会学術集会. 2012年7月6日(金). 神奈川県横浜市.
  2. 福田恵一. 山田和生招聘講演: iPS細胞およびGWAS研究から見えてくる遺伝性QT延長症候群を巡る諸問題の現状と将来展望. 第30回日本心電学会学術集会. 2013年10月11日. 青森県弘前市.
  3. 福田恵一. ランチョンセミナー: iPS細胞の循環器領域への臨床応用. 第30回日本心電学会学術集会. 2013年10月11日. 青森県弘前市.
  5. Fukuda K. Keynote Lecture: Use on iPS Cells for the Evaluation of Familial Sudden Death Syndrome. APHRS2012. Taipei, Taiwan.
  6. Fukuda K. Generation of Disease-Specific iPS Cells from Circulating Blood Cell Using Sendai Virus. APHRS2012. Taipei, Taiwan.
- 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)  
相澤義泰 (慶應義塾大学 循環器内科)