

- Takahashi K, Tauchi N, Izumida N, Nagashima M: A Nationwide Survey on Clinical Characteristics and Genetic Background of Congenital Long-QT Syndrome Diagnosed in Fetal and Neonatal Life, 31st Annual meeting Heart Rhythm 2013, Denver, 2013.5.9
5. Harrell DT, Tominaga I, Abe K, T 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, 31st Annual meeting Heart Rhythm 2013, Denver, 2013.5.9
 6. Sumitomo N, Shimizu W, Aragaki Y, Hrigome 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, 31st Annual meeting Heart Rhythm 2013, Denver, 2013.5.9
 7. Komori A, Sumitomo N, Cho A, Okuma H, Abe Y, Nakamura T, Fukuhara J, Ichikawa R, Matsumura M, Kamiyama H, Ayusawa M, Takahashi S: Genetic background and management of long QT syndrome, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Hongkong, 2013, 10.3
 8. Yoshinaga M, Sato S, Ushinohama H, Sumitomo N, Iwamoto M, Tauchi N, Nagashima M: Risk factors predicting the future presence of long QT syndrome-related symptoms in pediatric patients diagnosed by screening programs in Japan, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Hongkong, 2013, 10.3
 9. Sasaki K, Makiyama T, Yoshida Y, Hideki Itoh, Kawamura M, Sumitomo N, Miura, M Harita T, Nishiuchi S, Hayano M, Yamamoto Y, Wuriyanghai Y, Chen J, Kamakura, T Hattori T, Ohno S, Horie M: Modeling Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Using Human Induced Pluripotent Stem Cells: A Promising Tool for Drug Discovery, American Heart Association Scientific Session 2013, Dallas, USA, 2013.11.18
 10. Ayusawa M, Sumitomo N: Risk Index of Sudden Death by Long QT Syndrome and Wolff-Parkinson-White Syndrome in School, ReSuscitation Science Symposium 2013, Dallas, USA, 2013.11.17
 - 二宮由美子、九町木綿、田中裕治、吉永正夫、岩本眞理、牛ノ濱大也、住友直方、堀米仁志、長嶋正實：学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群の遺伝学的特徴の検討、シンポジウムI Chanelopathyの管理-そのエビデンス、第49回日本小児循環器学会、東京、2013.7.12
 11. 牛ノ濱大也、石川友一、中村 真、佐川浩一、石川央朗、住友直方：Catecholaminergic-induced VT (CPVT)に対する新しい薬物治療、第49回日本小児循環器学会、東京、2013.7.12
 12. 小森暁子、住友直方、加藤雅崇、趙麻未、渡辺拓史、大熊洋美、阿部百合子、市川理恵、福原淳示、松村昌治、神山浩、鮎沢衛、高橋昌里：当院管理中のQT延長症候群の特徴、第30回日本心電学会、青森、2013.10.12
 13. 堀米仁志、林 立申、加藤愛章、岩本眞理、後藤浩子、高橋一浩、小澤綾佳、江畑亮太、生駒雅信、松永 保、稲井 慶、鈴木 博、鈴木浩、高木純一、吉永正夫、住友直方、長嶋正實：胎児期から乳児期に機能的房室ブロックを伴って発症した先天性QT延長症候群の治療と予後-追加調査結果を含めて-、第18回日本小児心電学会、宮崎、2013.11.29
- 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

QT延長症候群のエクソームシーケンス解析

研究分担者 田中 敏博 東京医科歯科大学 疾患バイオリソースセンター 教授

研究要旨

QT延長症候群の患者のゲノムDNAを用いて、エクソーム解析を行い、アミノ酸変化を伴う遺伝子変化を8,130箇所同定した。家系例を用いたパスウェイ解析において、有望な原因遺伝子候補群を同定した。

A. 研究目的

QT延長症候群は致死性不整脈疾患のひとつであり、心電図上QT時間の延長をきたすことを特徴とする。これまでの遺伝子解析研究の成果により、約6割の患者に遺伝子変異を認める。しかしながら、残りの患者については原因遺伝子が判明しない。新たな原因遺伝子同定のために、最新のゲノム解析手法であるエクソーム解析を行った。

B. 研究方法

国立循環器病研究センターにおいて収集したQT延長症候群の患者のうち、原因遺伝子が発見されていない191症例のゲノムDNAを用いて、ゲノム上の遺伝子のエクソン部分をすべてシーケンスした。非患者のデータベースを用いて、候補遺伝子の絞り込みを行った。また、複数のDNAが得られている家系を用いてsegregationの有無から判断する絞り込みも行った。さらにパスウェイ解析を行い、得られた結果の妥当性を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は研究実施機関である国立循環器病研究センター、理化学研究所、および東京医科歯科大学においてそれぞれ倫理審査委員会での承認を受けた後に当該機関での研究を開始した。

C. 研究結果

1 サンプルにつき、平均で17,242箇所のSNV (single nucleotide variation)を認めた。そのうちアミノ酸変化を伴うものは8,130箇所であった。一般集団との比較により、患者集団全体で28,002箇所にも及ぶ、アミノ酸変化を伴うSNVを認めた。複数のDNAサンプルが得られている家系を用いて、候補遺伝子群の絞り込みを行い、加えてパスウェイ解析により9

種類の新規原因遺伝子の候補を同定した。

D. 考察

遺伝学的に独立したサンプルのみを用いた解析では、候補となる遺伝子が非常に多く、絞り込みが困難であったが、家系を用いた解析により、ある程度の絞り込みに成功したと考えられる。

E. 結論

QT延長症候群の患者のゲノムDNAを用いて、エクソーム解析およびパスウェイ解析を行い、9種類の新たな原因遺伝子候補を同定した。

G. 研究発表

- 論文発表
 - Tanaka T, et al. Novel Genetic Markers Associate with Atrial Fibrillation Risk in Europeans and Japanese. Journal of the American College of Cardiology, in press
 - Tanaka T, et al. Genome wide analysis of drug-induced Torsades de Pointes: lack of common variants with large effect sizes. PLoS One 13:08180R2, 2013
 - Tanaka T, et al. Meta-analysis identifies six new susceptibility loci for atrial fibrillation. Nature Genetics 44:670-675, 2012

2. 学会発表

特記なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

- 特許取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他
なし

遺伝性不整脈の変異と臨床リスクの関連についての検討

研究分担者 森田 宏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 先端循環器治療講座 教授

研究要旨

遺伝性不整脈の一つであるBrugada症候群での不整脈発生のリスク評価として、突然死の家族歴に注目し、遺伝子解析や心室細動発症リスクの評価を行った。突然死家族年齢のカットオフ値を求め、突然死家族歴の予後に及ぼす影響を検討した。

A. 研究目的

多くの遺伝性不整脈は常染色体優性遺伝であり、1/2の確率で遺伝する可能性がある。実際に家系内の異常は発端者の診断後、心電図の記録や遺伝子解析をすることで保因者かどうか判明する場合が多い。同一家系内で同様の疾患や突然死がある場合、同じ遺伝子異常を有していると考えられ、致死的な発作を来すリスクが一般に高いと考えられる。このため、日常臨床の場においても、突然死の家族歴など病歴の聴取は重要である。しかしながら実際に発症するかどうかは加齢や自律神経変動、ストレスなど後天的な要因も多く、突然死の家族歴が明らかなリスクを示さないとするデータも多い。先天性QT延長症候群では小児期から思春期にかけて発症する場合が多く、若年での発症は遺伝的要因が重要と考えられるが、Brugada症候群では心室細動発症は青年期以降、特に中高年で多く、後天的な要因も発症に関与している可能性がある。実際、Brugada症候群では突然死の家族歴の有無はその発端者の予後予測因子とならないとする報告もみられる。この研究ではBrugada症候群患者における突然死の家族歴の意義、リスク評価の可能性、遺伝子や心電図異常との関連性を検討した。

B. 研究方法

当院の遺伝性不整脈疾患を有する患者 489 名 (QT延長症候群、Brugada症候群、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍など) の登録データよりBrugada症候群患者 362 例の突然死家族歴有無で各種指標を検討：症状・心室細動の有無、心電図指標 (自然タイプ1 ST 上昇、分裂性 QRS 波形、J 波)、加算平均心電図、電気生理学検査及び遺伝子解析 (心筋 Na チャネル遺伝子 SCN5A)。また突然死家族の年齢の ROC 解析よりカットオフ値を求め、発端者の致死的不整脈の発生予測が出来るかどうかを検討した。

(倫理面への配慮) 侵襲的な検査は十分なインフォームドコンセントを行っている。遺伝子検索は当院倫理委員会承認を得て、十分な説明を行い同意書を得て行っている。

C. 研究結果

Brugada 症候群患者 362 例の内、初診時の症状は無症候例 246 例、失神例 97 例、心室細動 19 例で、経過中に心室細動を発症・再発したものはそれぞれ 7 例 (3%)、17 例 (18%)、12 例 (63%) であった。突然死の家族歴は 126 例 (35%) で、無症候例の 27%、失神例の 17%、心室細動例の 21% にみられ、突然死家族の年齢は 0.1~94 歳 (平均 44 歳) であった。各種臨床指標では突然死家族歴を有する例で SCN5A 変異陽性例が多い傾向が見られた ($p=0.088$) が、その他の指標は有意差を認めなかった。突然死の家族歴有無は全体では予後予測因子とはならず、症状別にみると失神例で突然死の家族歴を有する場合、予後不良の傾向が見られた ($p=0.055$)。突然死家族の年齢で発端者の心室細動有無を ROC 曲線で検討すると、突然死年齢が 48 歳未満とすると心室細動有無予測の感度・特異度が良好であった。家族歴の突然死年齢を 48 歳未満に絞ると、家族歴を有するものは 62 例 (17%) となった。突然死家族歴 (<48 歳) の有無で各臨床指標を検討すると、家族歴を有するものでは有意に SCN5A 変異率が高率 (31%、 $p<0.01$)、心電図指標で早期再分極を有する場合が多く (32%、 $p<0.05$)、心室細動や加算平均心電図での陽性率も高い傾向にあった。全症例では突然死家族歴 (<48 歳) を有する方が経過中の心室細動発生が多い傾向が見られ ($p=0.0057$)、特に失神例では突然死家族歴 (<48 歳) を有するものは有意に予後不良であった ($p<0.01$ 、発症率 7%/年、ハザード比 4.11)。

D. 考察

Brugada症候群では濃厚な突然死の家族歴を有する症例があるものの、家族歴そのものは予後予測因

子とならないとする報告が多い。これまでの報告では、家族歴の有無を1)年齢に限らず全て含むもの、2)若年でカットオフ値を設定するもの(45歳未満、40歳未満、35歳以下など)であった。今回の検討では家族歴で全年齢を含む場合、家族歴有無は予後予測因子とならなかった。また過去の報告である年齢のカットオフ値を用いてみると、同様の条件では家族歴は予後予測因子とならなかった。カットオフ値を48歳にすることで特に失神例で家族歴は強い予後予測因子となった。これは高齢では心筋梗塞や脳卒中など他の原因による突然死が多い割合となるが50歳前後では、Brugada症候群による突然死と他の原因の突然死が入り乱れている可能性があり、年齢を48歳で区切ることで、最も効果的に家系内のBrugada症候群による突然死を拾い出せたものと思われる。またこの年齢でのカットオフ値を用いることで、心電図異常のパラメーターや遺伝子変異との関連性もみられ、致死的不整脈発生に遺伝的要素が大きく関与していると考えられた。

E. 結論

48歳未満突然死家族歴を有するものは、心電図異常や心筋 Na チャネル遺伝子変異を有する場合が多く、経過中の心室細動発生について予後予測因子となることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tokioka K, Kusano KF, Morita H, Miura D, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Ito H, Ohe T. Depolarization and Repolarization Abnormalities are Synergistically Associated with Fatal Arrhythmic Events in Patients with Brugada Syndrome. *J Am Coll Cardiol*, 2014, in press.
2. Nakagawa K, Nagase S, Morita H, Ito H. Left ventricular epicardial electrogram recordings in idiopathic ventricular fibrillation with inferior and lateral early repolarization. *Heart Rhythm*. 2014;11:314-7.
3. Kawata H, Morita H, Yamada Y, Noda T, Satomi K, Aiba T, Isobe M, Nagase S, Nakamura K, Fukushima Kusano K, Ito H, Kamakura S, Shimizu W. Prognostic significance of early repolarization in inferolateral leads in Brugada patients with documented ventricular fibrillation: a novel risk factor for Brugada syndrome with ventricular fibrillation. *Heart Rhythm*. 2013;10:1161-1168.
4. Wada T, Morita H. Clinical outcome and risk stratification in Brugada syndrome. *J Arrhythmia*. 2013;29:100-109.
5. Morita H. Ion channel complex disease in longQT

syndrome. *Heart Rhythm*. 2013;10:738-739

2. 学会発表

1. Morita H. Back to the History-Importance of Family History of Sudden Death in Brugada Syndrome- 第28回日本不整脈学会学術大会、東京2013.
2. Morita H, Wada T, Miyaji K, Nakagawa K, Tanaka M, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kusano K, Ito H. Fever not Only Unmasks Brugada-type ECG but also Exaggerates Depolarization Abnormality. *Heart Rhythm* 34th Annual Scientific Session. Denver, 2013.
3. Morita H, Zipes PD, Morita ST, Wu J. Isolation of canine coronary sinus musculature from the atria prevents atrial fibrillation. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
4. Nagase N, Tanaka M, Nakagawa K, Wada T, Kubo M, Nishii N, Nakamura K, Morita H, Kohno K, Kusano K, Ito H. Difference of left ventricular epicardial electrogram with and without a history of ventricular fibrillation in patients with infero-lateral early repolarization. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
5. Nakagawa K, Nagase N, Morita H, Tanaka M, Wada T, Nishii N, Watanabe A, Nakamura K, Kohno K, Kusano K, Itoh H, Ohe T. Amelioration of relative conduction delay in right ventricle improves electrocardiogram from type-1 to type-2 in patients with Brugada syndrome. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
6. Wada T, Morita H, Nakagawa K, Tanaka M, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Kusano K, Ito H. Late Potential after Sodium-Channel Blocker Test is a New Predictor for Lethal Arrhythmic Event in Brugada Syndrome. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
7. Tokioka K, Kusano K, Morita H, Miyoshi T, Nishii N, Hashimoto K, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Itoh H. Depolarization and Repolarization Abnormalities are Independently Associated with Ventricular Fibrillation Episodes in Brugada Syndrome. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
8. Morita H, Miyaji K, Take Y, Nakagawa K, Tanaka M, Nishii N, Nagase S, Kusano K, Ito H. Fever

Not Only Unmasks Brugada-Type ECG but Also Exaggerates Depolarization Parameters The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 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
なし

QT 延長症候群 1 型スプライシング異常症例におけるヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞を用いた解析

研究分担者 牧山 武 京都大学大学院医学研究科 循環器内科学 助教

研究要旨

ヒト人工多能性幹 (induced pluripotent stem: iPS) 細胞は、移植治療、疾患の病態解明への有用性が期待されている。今回、我々は、QT 延長症候群 1 型スプライシング異常症例 (KCNQ1-A344A) において、疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患表現型の再現、スプライシング異常のメカニズムに関して解析した。多電極アレイを用いた電気生理学的解析では、カテコラミン負荷による反応が分化心筋にて再現できた。また、スプライシング異常に関しては、末梢血リンパ球の解析では認められなかった新たな異常なスプライシングパターンを検出した。このような疾患特異的 iPS 細胞を用いた解析方法は、今まで困難であったヒト心筋での解析が可能となり、新たな知見が得られる有用な方法であると考えられた。

A. 研究目的

ヒト人工多能性幹 (induced pluripotent stem: iPS) 細胞は、移植治療、疾患の病態解明への有用性が期待され、特に分化心筋を用いることにより、ヒト心筋での解析が可能となる有力な tool である。今回、我々は、QT 延長症候群 1 型スプライシング異常症例において、表現型の再現、スプライシングメカニズムの検討を行った。

B. 研究方法

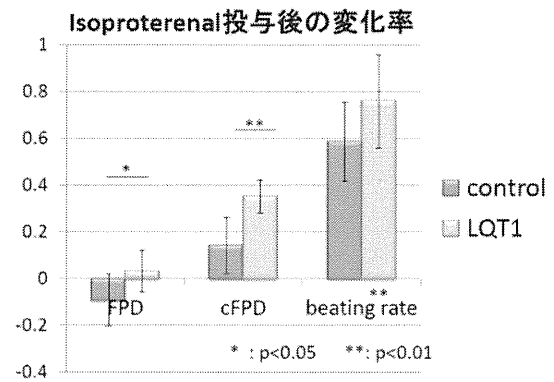
心肺蘇生歴のある QT 延長症候群 1 型、KCNQ1-A344A ヘテロ異常の検出されている患者の末梢血リンパ球に山中 4 因子 (OCT3/4, SOX2, KLF4, c-MYC 遺伝子) を electroporation 法にて導入し、iPS 細胞を作製した。胚様体形成法 (Yang et al. Nature 2008) を用いて心筋分化し、電気生理学的解析として、多電極アレイ (multielectrode array) を用いた。また、スプライシングパターンをみるため、分化心筋より RNA 抽出、cDNA を作製し、TA クローニング法を用い、cDNA のクローニング、シーケンシングによる塩基配列の解析を行った。

C. 研究結果

<多電極アレイを用いた電気生理学的解析>

心筋分化開始後、6週±2週のヒト iPS 細胞由来分化心筋を用いて多電極アレイを用いた電気生理学的解析を行った。図1のように、isoproterenol 1μM 負荷にて、健常人 iPS 細胞由来分化心筋に比べ、QT 間隔に相当する cFPD 値の有意な増加を認め、LQT1 の表現型が再現されていることが確認できた。

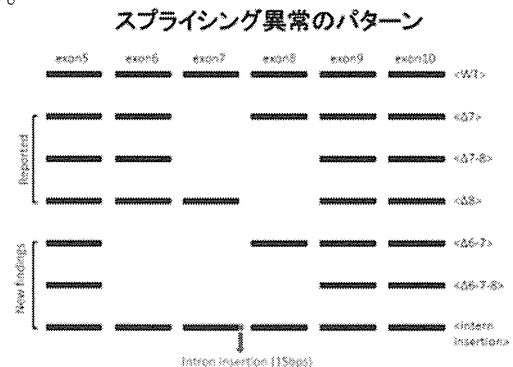
図1



<スプライシングパターンの解析>

KCNQ1-A344A は exon 7 の最後の塩基が G から A に変化する異常であり、以前、我々は、患者末梢血リンパ球を用いた解析で、3つの type の exon skipping (exon 7, 7-8, 8 skipping) が生じていることを報告した。(Tsuji et al. JMCC 2007) 患者 iPS 細胞由来分化心筋を用いた解析では、図2のように新たに3つの異常なスプライシングパターン (exon 6-7, 6-7-8 skipping, intron insertion) が検出された。現在、各 splicing 産物の定量、I_{Ks} 電流減少への影響を検討している。

図2



D. 考察

本研究において、ヒト iPS 細胞由来分化心筋を用いた LQT1 の表現型の再現、疾患発症メカニズムの解析を行った。多電極アレイを用いた解析にて表現型が再現されるのを確認し、発症メカニズムの解明として、既存の血液検体の解析では検出できなかった新たな異常スプライシングパターンを分化心筋を用いて検出できた。以上の知見は新たな解析 tool であるヒト iPS 細胞の有用性を示すものであり、今後さらなる応用が期待される。

E. 結論

ヒト iPS 細胞由来分化心筋を用いた LQT1 症例の解析にて既存の末梢血を用いた解析では検出できなかった新たなスプライシング異常に関する知見が明らかとなった。今後のヒト iPS 細胞のさらなる応用が期待される。(本研究は第 78 回日本循環器学会学術集会にて発表予定)

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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*. 2013;77(5):1307-14.
2. Kato K, Makiyama T, Wu J, Ding WG, Kimura H, Naiki N, Ohno S, Itoh H, Nakanishi T, Matsuura H, Horie M. Cardiac Channelopathies Associated with Infantile Fatal Ventricular Arrhythmias: From the Cradle to the Bench. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2013
3. Hasegawa K, Ohno S, Ashihara T, Itoh H, Ding WG, Toyoda F, Makiyama T, Aoki H, Nakamura Y, Delisle BP, Matsuura H, Horie M. A novel KCNQ1 missense mutation identified in a patient with juvenile-onset atrial fibrillation causes constitutively open IKs channels. *Heart Rhythm*. 2013 S1547-5271(13)01136-3.
4. Nakajima S, Makiyama T, Hanazawa K, Kaitani K, Amano M, Hayama Y, Onishi N, Tamaki Y, Miyake M, Tamura T, Kondo H, Motooka M, Izumi C, Nakagawa Y, Horie M. A novel SCN5A mutation demonstrating a variety of clinical phenotypes in familial sick sinus syndrome. *Intern Med*. 2013;52(16):1805-8.
5. 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*. 2013;77(7):1705-13.
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(7):1799-806.
7. 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*. 2013;77(6):1534-42.
8. Villafañe J, Atallah J, Gollob MH, Maury P, Wolpert C, Gebauer R, Watanabe H, Horie M, Anttonen O, Kannankeril P, Faulknier B, Bleiz J, Makiyama T, Shimizu W, Hamilton RM, Young ML. Long-term follow-up of a pediatric cohort with short QT syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61(11):1183-91.
9. 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(4):959-67.
10. 牧山 武: イオンチャネル病のすべて. 各論. QT短縮症候群. (分担), 『医学のあゆみ』(堀江 稔編集): p. 773-780, 南江堂, 2013
11. 牧山 武: 致死性不整脈診療の最前線. 致死性不整脈診療 各論. 家族性徐脈症候群. (分担), 『最新医学』: 68号7巻, 最新医学社, 2013
12. 牧山 武: 疾患特異的iPS細胞を用いた遺伝性心疾患研究. 心電図 vol 33. Supple 3. 2013

2. 学会発表

1. Sasaki K, Makiyama T et al.: Modeling Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia using Human Induced Pluripotent Stem Cells: A Promising Tool for Drug Discovery, American Heart Association Scientific Sessions 2013, Dalas, USA, 10.16-20, 2013
2. Yimin W, Makiyama T et al.: Identification of Cardiomyocytes Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells using a Cardiac Specific Promoter Lentiviral Vector, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRs) Scientific

- Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
3. Chen Jiarong, Makiyama T et al.: Cardiac sodium channel mutation may induce epinephrine/exercise triggered QT prolongation, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
 4. Nishiuch H, Makiyama T et al.: Lamin A/C Related Cardiomyopathy due to the R377R Synonymous Mutation Causing the Splicing Abnormality, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
 5. Harita T, Makiyama T et al.: SCN5A mutations associated with familial atrial fibrillation without structural heart diseases, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
 6. Hayano M, Makiyama T et al.: SCN5A mutations associated with Dilated Cardiomyopathy, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
 7. 牧山 武: iPS 細胞由来の不整脈疾患モデル心筋細胞. 学術委員会指定トピックス「iPS 細胞の臨床応用—現状と展望—」第 30 回日本心電学会学術集会(青森), 10.11-13, 2013
 8. Yimin W, Makiyama T et al.: Modeling of long-QT syndrome type 1 caused by a splicing mutation using human iPS cells, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 9. Nishiuch H, Makiyama T et al.: The Relationship Between the Type of Mutations in Lamin A/C Gene and Cardiac Phenotype-Genetic Risk Factor for Dilated Cardiomyopathy-, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 10. Harita T, Makiyama T et al.: The Association Between the Hereditary Factor of Atrial Fibrillation and the Recurrent Atrial Arrhythmias after Catheter Ablation Therapy, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 11. Hayano M, Makiyama T et al.: Cardiac Na⁺ Channel Gene Mutations associated with Dilated Cardiomyopathy, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 12. Sasaki K, Makiyama T et al.: Modeling Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia using Human Induced Pluripotent Stem Cells: A Promising Tool for Drug Discovery, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 13. Yamamoto Y, Makiyama T et al.: Electrophysiological characteristics of human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes in a Long-Term culture, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
- 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

新たな不整脈の原因遺伝子としての SCN5A プロモーター領域の役割

研究分担者 渡部 裕 新潟大学医歯学総合研究科 循環器内科 助教

研究要旨

様々な不整脈に罹患した1,298例においてSCN5Aプロモーター領域の遺伝子検査を行った。Brugada症候群、特発性心室細動、洞不全症候群、心臓伝導障害ないしは心房細動に罹患した症例においてSCN5Aプロモーターの変異を同定し、SCN5Aプロモーター領域の遺伝子変異は新たな不整脈の原因となることが示された。

A. 研究目的

心臓ナトリウムチャンネル遺伝子SCN5Aのプロモーター領域の変異による特発性心室細動や伝導障害といった様々な不整脈症候群発症への関与について明らかにすること。

B. 研究方法

様々な不整脈に罹患した1,298例においてSCN5Aプロモーター領域の遺伝子検査を行い、変異の機能異常を検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析を行うにあたり書面による同意を得て採血を行った。検体は連結可能匿名化して遺伝子解析を行った。

C. 研究結果

Brugada症候群14例、特発性心室細動5例、洞不全症候群1例、心臓伝導障害3例、心房細動6例の合計29例でSCN5Aプロモーターの変異を同定した。ルシフェラーゼアッセイを用いた変異プロモーターの活性解析では、野生型と比較して変異プロモーターの活性が低下していた。ChIPSeq解析では大部分のプロモーター変異は、転写因子結合部位に存在していた。

D. 考察

SCN5Aのエクソン領域の変異は、ナトリウム電流の低下から様々な不整脈を来しうる重要な遺伝的原因である。今回の検討にて、プロモーター領域の変異がナトリウムチャンネルの発現を低下させて、不整脈の発症に関与していることが示唆された。これにより、突然死の予知と予防に重要な知見が明らかとなった。また、エクソン以外の領域が疾患発症に関与していることを新たに示した。

E. 結論

SCN5Aプロモーター領域の変異は様々な種類の不整脈の遺伝的原因であった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sato A, Watanabe H, Sonoda K, Chinushi M, Tsuda T, Izumi D, Furushima H, Minamino T. Augmentation of the j wave by rapid pacing in a patient with vasospastic angina. Int J Cardiol. 2014
2. 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
3. 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, Till J, Wilde AA. Effects of flecainide on exercise-induced ventricular arrhythmias and recurrences in genotype-negative patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. Heart Rhythm. 2013;10:542-547
4. 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
5. Watanabe H, Minamino T. Role of mutations in l-type calcium channel genes in brugada syndrome, early repolarization syndrome, and idiopathic ventricular fibrillation associated with right bundle branch block. *Circ J*. 2013;77:1689-1690
 6. Watanabe H, Minamino T. Similarities and differences of clinical characteristics between brugada syndrome and early repolarization syndrome. *Journal of Arrhythmia*. 2013;29:134-137
 7. 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, Shimizu W, Hamilton RM, Young ML. Long-term follow-up of a pediatric cohort with short qt syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61:1183-1191
 8. 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
 9. 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, 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, Le Marec H, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R. Common variants at scn5a-sc10a and hey2 are associated with brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nature genetics*. 2013;45:1044-1049
2. 学会発表
 1. Yagihara N, Watanabe H, Stéphanie Chatel, Phil Barnet, Wataru Shimizu, Minoru Horie, Jean-Jacques Schott, Connie R. Bezzina, Tohru Minamino, Naomasa Makita, MD. Mutations in the SCN5A Promoter associated with Brugada syndrome. ESC2013
 - 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

先天性QT延長症候群診断基準改定版の有用性に関する検討

研究分担者 林 研至 金沢大学大学院医薬保健研究域医学系 循環器内科学 助教

研究要旨

先天性QT延長症候群(LQTS)の臨床診断基準が2011年に改訂され、運動負荷後回復期QTcが新たな評価項目として追加された。本診断基準改定版について、特に遺伝子保因者を検出する有用性について検討を行った。

QT延長などを認め心精査目的に当院に紹介された症例のうち、運動負荷心電図検査、遺伝子解析を含む精査を行い得た84例(男性45例、平均発症年齢 16 ± 13 歳)を対象とした。84症例中22症例(26%)が安静時12誘導心電図でQTc480ミリ秒以上を示し、39症例(46%)が負荷後回復期4分においてQTc480ミリ秒以上を示した。遺伝子解析の結果、8種類のKCNQ1遺伝子変異を14症例に、10種類のKCNH2遺伝子変異を13症例に、1種類のSCN5A遺伝子変異を1症例に認めた。

従来の診断基準では33症例(39%)が低い可能性、35症例(42%)が疑い、16症例(19%)が確実と診断された。一方、改訂版では確実症例が有意に増加した(30症例、 $P<0.05$)。従来の診断基準で確実と診断された16症例中14症例に遺伝子変異を認め(88%)、改訂版で診断された30症例中24症例に遺伝子変異を認めた。(80%)。従来の診断基準による遺伝子変異推定の感度は50%(14/28)で特異度は96%(54/56)であった。一方、改訂版による遺伝子変異推定の感度は86%(24/28)で特異度は89%(50/56)であった。

LQTS診断基準改訂版は、遺伝子変異を認める潜在性のLQTS症例をLQTS確実と診断するのに有用であると考えられる。

A. 研究目的

先天性QT延長症候群(LQTS)はSchwartzらによって報告された診断基準に基づいて臨床的に診断される。本診断基準は2011年に改訂され、運動負荷後回復期のQTcが新たな評価項目として追加された。本診断基準改定版について、特に遺伝子保因者を検出する有用性について検討を行った。

B. 研究方法

QT延長あるいは/または異常な病歴、家族歴を認め、心精査目的に当院に紹介された症例のうち、運動負荷心電図検査、遺伝子解析を含む精査を行い得た84例(男性45例、平均発症年齢 16 ± 13 歳)を対象とした。LQTSリスクスコアを従来の診断基準と改訂版を用いて算出した。また、患者の末梢白血球よりゲノムDNAを抽出し、KCNQ1, KCNH2, KCNE1, KCNE2, KCNJ2, SCN5Aのexon領域についてPCR法を用いて増幅し、Hi-Res Melting法を用いて遺伝子スクリーニングを行い、異常パターンを認めたサンプルについては、オートシーケンサーを用いて塩基配列異常を決定した。また、平均59カ月間臨床経過を追跡した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析については、金沢大学医薬保健研究域

等 ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会に課題名「不整脈関連遺伝子の解析」を申請し、承認を得た。研究実施に関与しない個人識別管理者が厳重に管理し、遺伝子解析研究者にどの患者の試料であるかがわからない状態で研究を進めた。解析の終了した検体のデータについては、パスワード管理され、インターネットに接続されていないパーソナルコンピュータで管理して、情報が漏洩しないよう個人情報の保護に細心の注意をはらって行った。

C. 研究結果

①症例の臨床的特徴と心電図

84症例中13%にLQTSの家族歴を認め、9%に心事故(失神あるいは心停止)を認めた。安静時12誘導心電図で22症例(26%)がQTc480ミリ秒以上を示した。

遺伝子解析の結果、8種類のKCNQ1遺伝子変異を14症例に、10種類のKCNH2遺伝子変異を13症例に、1種類のSCN5A遺伝子変異を1症例に認めた。

運動負荷心電図では84症例中39症例が負荷後回復期4分においてQTc480ミリ秒以上を示した。運動後回復期にQTc480ミリ秒以上を示した症例の安静時QTcは、QTc480ミリ秒未満の症例と比較し有意に延長していた。遺伝子変異を認めた28症例中23症例(82%)が運動後回復期QTc480ミリ秒以上であった。

KCNQ1遺伝子変異を認めた14症例のうち、13症例が運動後回復期QTc480ミリ秒以上であり、QTc480ミリ秒未満はわずか1症例であった。一方、KCNH2遺伝子変異を認めた13症例のうち、9症例が運動後回復期QTc480ミリ秒以上であり、QTc480ミリ秒未満は4症例であった。なお、SCN5A遺伝子変異を認めた1症例の運動後回復期QTcは480ミリ秒以上であった。

②新旧の診断基準によるLQTS診断

従来の診断基準では33症例(39%)が低い可能性、35症例(42%)が疑い、16症例(19%)が確実と診断された。一方、改訂版では確実症例が有意に増加した(30症例、P<0.05)。

③LQTS遺伝子変異保因者の頻度と両診断基準による遺伝子変異予測

従来の診断基準で確実と診断された16症例中14症例に遺伝子変異を認め(88%)、改訂版で診断された30症例中24症例に遺伝子変異を認めた。(80%)。遺伝子変異の頻度について両群で有意差は認められなかった。また、遺伝子変異を認めた14症例が従来の診断基準で疑いあるいは低い可能性と診断されていた。

従来の診断基準による遺伝子変異推定の感度は50%(14/28)で特異度は96%(54/56)であった。一方、改訂版による遺伝子変異推定の感度は86%(24/28)で特異度は89%(50/56)であった。

④症例の臨床経過と両診断基準で確実と診断された症例の予後

84症例中9症例は当院受診時に心事故の既往があり有症候性であった。無症候性75症例のうち、3症例で経過観察中に心事故が認められた。

従来の診断基準で確実と診断された16症例中10症例(63%)で心事故が認められ、一方、改訂版で確実と診断された30症例中12症例(40%)で心事故が認められ、両群で有意差は認められなかった。

D. 考察

従来の診断基準で確実と診断されたのは16症例だったのに対し、改訂版で確実と診断されたのは30症例と有意に増加した。一方、確実と診断された症例のうち遺伝子変異をそれぞれ88%、80%に認め、その頻度は同等であった。診断基準改訂版では、運動負荷後回復期4分のQTcが480ミリ秒以上の場合、1点が加算される。今回、遺伝子変異を認めた28症例中23症例(82%)が運動後回復期QTc480ミリ秒以上であり、1点が加算されていた。従来の診断基準で疑いと診断された遺伝子変異保因者が新しい診断

基準では確実と診断されたため、新旧の診断基準の間に遺伝子変異頻度の有意差が生じなかったのではないかと考えられる。なお、本検討ではSCN5A遺伝子変異保因者が1例と少なく、今後症例を増やして検討を行う必要がある。

E. 結論

LQTS診断基準改訂版は、遺伝子変異を認める潜在的なLQTS症例をLQTS確実と診断するのに有用であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1 Liu L, Hayashi K, Kaneda T, Ino H, Fujino N, Uchiyama K, Konno T, Tsuda T, Kawashiri MA, Ueda K, Higashikata T, Shuai W, Kupersmidt S, Higashida H, Yamagishi M. A novel mutation in the transmembrane nonpore region of the KCNH2 gene causes severe clinical manifestations of long QT syndrome. *Heart Rhythm*. 2013 Jan;10(1):61-7.
- 2 Kawashiri MA, Hayashi K, Konno T, Fujino N, Ino H, Yamagishi M. Current perspectives in genetic cardiovascular disorders: from basic to clinical aspects. *Heart Vessels*. 2013 Aug 2. [Epub ahead of print]
- 3 林 研至, 津田豊暢, 川尻剛照, 山岸正和. 家族性心房細動. *最新医学* 2013; 68 1626-1634

2. 学会発表

1. Hayashi K, Fujino N, Konno T, Tsuda T, Nagata Y, Saito T, Ohta K, Ino H, Kawashiri M, Yamagishi M: ラウンドテーブルディスカッション (6), 学校心臓検診は潜在的な心疾患の診断に有用か / Long QT Syndrome Mutation Carriers in Japanese School Children and Their Clinical Course. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜), 2013. 3. 15.

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

早期再分極症候群と Brugada 症候群の病態と長期予後に関する研究

研究分担者 鎌倉 史郎 国立循環器病研究センター 臨床検査部 部門長

研究要旨

心室細動(VF)を伴う早期再分極症候群とBrugada症候群を多施設で登録し、種々の検査を施行して、両症候群の病態と長期予後を前向きならびに後ろ向きに検討した。この2年間でVFを伴う早期再分極症候群を54例、VFを伴うBrugada症候群を77例、その他62例の計193例を登録できた。約2年半の経過観察ではVFを伴う場合は両症候群共、同等で不良な予後を呈した。早期再分極症候群の後ろ向き検討では、Brugada症候群に性質が類似して予後の不良な群と、性質が異なり予後の良好な群に分類され、高位肋間を含む前壁誘導(V1-V3)での非type1のJ波の有無によりその予後が決定されることが判明していたが、前向き予後調査でもそれを裏付ける結果が得られた。

A. 研究目的

Brugada 症候群は、V1-V3 誘導の特異な ST 上昇を特徴とし、青壮年男性が夜間に心室細動 (VF) のために突然死する疾患である。一方、早期再分極(early repolarization)症候群は、下側壁誘導における J 波を特徴とする突然死疾患である。前者は 1992 年に Brugada により病態が報告されてからすでに 20 年を経た疾患であるのに対し、後者は 2008 年に Haissaguerre らにより提唱された未だ新しい疾患ともいえる。現在、欧米では、Brugada 症候群と早期再分極症候群とは同一の遺伝的背景、再分極異常に基づいて表現型だけが異なる疾患群との考え方が主流であるが、Na チャネル遮断薬に対する反応や有病率等の疫学は、両者で大きく異なっている。また Brugada 症候群では再分極異常だけでなく、脱分極異常が大きな役割を果たしているとの研究結果や、早期再分極症候群においても、再分極ではなく脱分極に異常があるとの報告も近年相次いでおり、その病像は未だ混沌としている。本研究では早期再分極症候群と Brugada 症候群を全国的な規模で集積し、後ろ向きと前向きに予後を観察し、同時に種々の心電図検査、電気生理学検査、遺伝子検査等を行って両症候群の病態、機序と、予後を解明することを目的とする。

B. 研究方法

本研究では、1)Haissaguerre らの定義した早期再分極症候群、すなわち、VF の既往を有し、II, III,aVF 誘導と I ,aVL,V4-V6 誘導のうち、2 誘導以上で notch または slur 波形を呈する 1mm 以上の J 波増高を有する症例と、2)VF の既往のある、または既往のない Brugada 症候群を登録する。可能

な例でピルジカイニド等の Ic 群薬負荷試験を行い、前胸部誘導での Type1 波形の出現状況を観察する。全例で突然死家族歴と失神歴を聴取し、心蘇生歴のある例では VF の出現時間、出現状況を把握する。必須検査として高位肋間心電図、心エコー図、ホルター心電図、運動負荷検査を、一部の例に加算平均心電図、心磁図検査を行い、同意の得られた例では電気生理学的検査により、心室性不整脈の誘発を右室心尖部と流出路から行う。誘発に用いる期外刺激数は 3 連発までとし、最短連結期間隔は 180msec とする。また、登録症例のうち、同意を得られた症例では末梢血を採取し、ゲノム DNA を抽出する。心筋に発現する Brugada 症候群関連の遺伝子 (SCN5A,CACNA1C 等) を PCR で増幅し、DNA シークエンサーで遺伝子異常を同定する。

これらの結果に基づいて、両症候群の病態と、遺伝子解析を行い、その相違を明らかにすると共に、後ろ向き、ならびに前向きの予後調査結果から、これらの疾患の予後予測指標を明らかにする。

C. 研究結果

この 2 年間に於いて、過去の研究での登録症例を含め、計 193 例(VF を伴う早期再分極症候群:54 例、VF を伴う Brugada 症候群:77 例、その他 62 例) を登録できた。平均 29.8 ± 8.7 月の前向き予後調査では、VF を伴う早期再分極症候群 54 例中の 9 例(17%)と、VF を伴う Brugada 症候群 77 例中 10 例(13%)に VF による ICD 適切作動が生じていたが、VF 再発率には両群間で有意差を認めなかった。また、Brugada 症候群のうち、失神既往のある 30 例中 2 例(7%)に ICD 適切作動が生じていたが、無

症候 27 例には VF が生じていなかった。早期再分極症候群のうちで VF を生じていたのは、高位肋間を含む V1-V3 誘導で非 type 1 の ST 上昇を伴っていた例が 6 例、伴っていなかった例が 3 例であった。しかしながら後者の 3 例中 1 例は short QT 症候群を合併しており、あとの 2 例では高位肋間心電図を記録できてなく、また 1 例では Na チャネル遮断薬による薬物負荷が施行されていなかった。

遺伝子検査は 111 例に施行されており、うち 18 例で SCN5A 等の遺伝子変異が認められた。このうち SCN5A 変異のあった 2 例で VF が再発していた。

早期再分極症候群では、前壁誘導の J 波の意義を後ろ向きに検討した。VF を伴う下側壁早期再分極症候群 31 例に Na チャネル遮断薬を投与し、その反応から 1) 下側壁誘導(II,III,aVF,I,aVL,V4-V6)の J 波と前壁誘導(V1-V3)に J 波 (saddleback 型 ST 上昇または notch) を認める ERS(A)群 12 例(39%)、2) 下側壁誘導にのみ J 波を認める B 群 19 例(61%) の 2 群に分類し、type 1Brugada 症候群(BS 群)40 例、基礎疾患を伴わない特発性心室細動 (IVF 群) 13 例を比較対照群として、それぞれの病態、予後を検討した。その結果、下側壁誘導以外に前壁誘導に J 波を有する ERS(A)群と BS 群では、主として夜間に VF 発作が生じ、それぞれ 90 ヶ月、104 ヶ月間の経過観察中に VF を繰り返して予後が悪かったのに対し、下側壁誘導にのみ J 波を有する ERS(B)群と IVF 群とは、そのほとんどが体動時に VF 発作が生じ、それぞれ 76 ヶ月、82 ヶ月の経過観察期間中の心事故発生率は有意に少なかった。

また、ERS(A)群のうち VF 再発があった 7 例中 6 例では、高位側壁誘導(I,aVL)に J 波を有していた。一方、水平型または下降型 ST は早期再分極症候群の不良な予後を予測する有用な指標ではなかった。VF 再発に対する治療に関しては、ERS(A)群の 1 例でキニジンが、1 例でシロスタゾールが、1 例でデノパミンが有効であったが、ベプリジルは 3 例中 1 例のみが有効であったにすぎなかった。

D. 考察

今回の検討により、早期再分極症候群が全く異なる 2 つの病態から構成されており、約 40% は Brugada 症候群と類似した病態と不良な予後を示し、残りの約 60% は特発性心室細動に類似した病態と良好な予後を示すことが判明した。しかもそれらは前壁誘導で主として非 type 1、つまり saddleback 型の J 波を示すか否かで病態と予後が決定されることが判明した。この結果からは、前壁の J 波を合併した早期再分極症候群では、Brugada 症候群と同様に、再分極異常、または脱分極異常から VF が発生する

ことが推定されたが、下側壁誘導だけに J 波をもつ早期再分極症候群は従来の機序では説明が困難な、ある種の脱分極異常に基づいて、VF が生じる可能性が示唆された。また、純粋な下側壁早期再分極症候群では Antzelevitch らが指摘したような、J 波分布別の重症度分類があてはまらない上、Tikkanenn らが指摘した J 波に続く ST 変化 (水平型または下降型) も必ずしも不良な予後に結びつかないことが確認された。ただ、今回の検討は少数例での後ろ向き研究であるため、多数例での前向き研究による検証が必要と考えられた。

本研究におけるこれらの疾患群での多施設共同の前向き予後調査は、その検証の意味がある。未だ約 2 年半という短い観察期間ではあるが、前向き予後では後ろ向きの検討と同様な結果が示されつつある。すなわち、VF を伴った早期再分極症候群の 17% に再発が生じ、これは VF を伴う Brugada 症候群の 13% とほぼ同等の高い再発率であった。また、VF を再発した早期再分極症候群 9 例中 6 例が前壁誘導に非 type 1 の J 波を有していた。さらに、残りの 2 例は高位肋間心電図が記録されていない、または薬物負荷検査が施行されてなく、非 type 1 の J 波を伴っていた可能性のある症例であった。その上、両検査が施行済みで下側壁誘導のみに J 波の存在が判明している症例の中で、唯一 VF が再発した 1 例は short QT 症候群を合併していた。つまり早期再分極ではなく QT 短縮により VF を生じた可能性を否定できなかった。以上より、早期再分極症候群の中で予後が不良であるのは、前壁誘導で非 type 1 の J 波 (主として saddleback 型 ST 上昇) を伴う例に限定される、あるいはそうでない純粋な下側壁早期再分極は極めて良好な予後を示す可能性が再確認された。今後、より長期に早期再分極症候群例を経過観察することにより、前壁誘導での非 type 1 波形の意義が明確になると共に、本症候群の機序の理解がすすむと考えられた。

E. 結論

VF を伴う早期再分極症候群と Brugada 症候群はほぼ同様に不良な予後を呈していた。早期再分極症候群は全く異なる 2 つの病態から構成されており、前壁誘導での非 type 1 の J 波の存在が早期再分極症候群の不良な予後を決定している可能性が、後ろ向き研究ならびに前向き研究の両者から推測された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. [Kamakura S.](#) Necessity of face-to-face encounters with recipients of cardiovascular implantable electronic devices with remote monitoring. *Circ J* 2013; 77:2691-2693.

2. Kamakura S. Epidemiology of Brugada syndrome in Japan and rest of the world. *J Arrhythmia* 2013; 29:52-55.
 3. Kamakura S. Two decades of progress in the understanding of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* 2013;29:51
 4. Kamakura T, Kawata H, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, Kamakura S, Kimura T, Shimizu W. Significance of non-type 1 anterior early repolarization in patients with inferolateral early repolarization syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62: 1610-1618.
 5. Okamura H, Yasuda S, Sato S, Ogawa K, Nakajima I, Noda T, Shimahara Y, Hayashi T, Onishi Y, Kobayashi J, Kamakura S, Ogawa H, Shimizu W. Initial experience using Excimer laser for the extraction of chronically implanted pacemaker and implantable cardioverter defibrillator leads in Japanese patients. *J Cardiol*. 2013 ; 62:195-200.
 6. Doi A, Satomi K, Makimoto H, Yokoyama T, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Aiba T, Aihara N, Yasuda S, Ogawa H, Kamakura S, Shimizu W. Efficacy of additional radiofrequency applications for spontaneous dissociated pulmonary vein activity after pulmonary vein isolation in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2013 ; 24:894-901.
 7. Kawata H, Morita H, Yamada Y, Noda T, Satomi K, Aiba T, Isobe M, Nagase S, Nakamura K, Fukushima Kusano K, Ito H, Kamakura S, Shimizu W. Prognostic significance of early repolarization in inferolateral leads in Brugada patients with documented ventricular fibrillation: A novel risk factor for Brugada syndrome with ventricular fibrillation. *Heart Rhythm* 2013; 10: 1161-8.
 8. 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; 27:407-15.
 9. Kawata H, Satomi K, Yamagata K, Kamakura S. Successful slow pathway ablation in a patient with a rare unroofed type coronary sinus. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2013; 36:e100-2.
 10. 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; 10:604-6.
 11. 鎌倉史郎：心室細動. 井上博・許俊鋭・檜垣實男・代田浩之・筒井裕之(編),今日の循環器疾患治療指針, 医学書院,東京,2013;226-228.
 12. 鎌倉史郎：Brugada症候群. 井上博・許俊鋭・檜垣實男・代田浩之・筒井裕之(編),今日の循環器疾患治療指針, 医学書院,東京,2013;232-235.
 13. 鎌倉史郎：Brugada症候群. *医学のあゆみ* 2013;245:782-789.
 14. 鎌倉史郎：Brugada波形. *日本医事新報* 2013;4670:33-39.
1. 学会発表
 1. Kamakura S:Unsolved issues in J-wave and inferolateral early repolarization syndrome.第77回日本循環器学会学術集会featured reserch session, 横浜,2013
 2. Kamakura S:Could Brugada syndrome be treated without ICD; Workshop, 6th APHRS, Hong Kong,2013
 3. Iwakami N, Aiba T, Kamakura S, Takaki H, Nakajima I, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Shimizu W, Sugimachi M. Noninvasive evaluation of benign or malignant early repolarization pattern using high resolution magnetocardiography. ESC Congress 2013, Amsterdam, 2013
 4. Kamakura T, Ishibashi K, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Shimizu W, Takaki H, Anzai T, Ishihara M, Yasuda S, Ogawa H, Kamakura S, Kusano F K. Clinical aspects and prognosis of elderly patients with Brugada Syndrome. AHA 2013, Dallas, 2013
 5. Iwakami N, Aiba T, Kamakura S, Takaki H, Ishibashi K, Nakajima I, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kusano F K, Shimizu W, Sugimachi M. Noninvasive evaluation of benign and malignant early repolarization with a new concept of late potentials in the high resolution magnetocardiography. AHA2013, Dallas, 2013
 6. 鎌倉令、金山純二、上島彩子、木次紗也子、大塚陽介、川上大志、船迫宴福、石橋耕平、中島育太郎、宮本康二、山田優子、岡村英夫、野田崇、里見和浩、相庭武司、高木洋、草野研吾、鎌倉史郎. 高齢者 Brugada 症候群の臨床的特徴の検討. 第30回日本心電学会学術集会, 青森 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
なし

小児期発症遺伝性不整脈 –新生児期 QT 延長症候群–に関する研究

研究分担者：白石 公 国立循環器病研究センター 小児循環器部 部長

研究要旨

近年、小児期遺伝性不整脈の診断は徐々に若年化しており、新生児期に QT 延長症候群 (LQT)の診断に至る例がある。実際、2006-2013 年に当院で新生児 13 例が LQT との診断に至った。うち 4 例は、新生児期から房室ブロックや Torsades de Pointes (TdP)などの重症不整脈をおこした。経過観察期間 4.1±2.1 年で、重症例は 3 例 (75%)に TdP を、全例 (100%)に癲癇と発達障害を合併した。一方、非重症例 9 例ではいずれの合併もなかった。新生児期発症重症 LQT の治療法の構築と、癲癇・発達障害との関連の解明が今後の課題である。

A. 研究目的

遺伝性不整脈疾患の代表的な疾患である QT 延長症候群は、若年者に発症することが多いが、一部は新生児期より重篤な不整脈が見られることがある。本研究では、遺伝性不整脈疾患のうち新生児期に症状を呈し、遺伝子診断された症例について検討した。

B. 研究方法

2006 年から 2013 年の間に、効率循環器病研究センターにおいて、新生児期（生後 1 ヶ月以内）に QT 延長症候群 (LQT)と診断された症例について、診療録をもとに後方視的に検討した。

(倫理面への配慮)

なお遺伝子診断は国立循環器病研究センター倫理委員会の承諾のもとに実施した。

C. 研究結果

2006 年から 2013 年の間に国立循環器病研究センターにおいて、新生児 13 例が LQT と遺伝子診断された。うち 4 例は新生児期から房室ブロックや Torsades de Pointes (TdP)などの重症不整脈を発症した。経過観察期間 4.1±2.1 年で、重症例は 3 例(75%)に TdP を、全例 (100%)に癲癇と発達障害を合併した。一方、非重症例 9 例ではいずれの合併もなかった。

D. 考察

今回の検討より、今後は全国的に症例の詳細な情報を収集し、新生児期発症重症 LQT の臨床経過をまとめ、適切な治療法を構築するとともに、合併症もしくは続発症としての癲癇・発達障害との関連について解明することが必要と考えられた。

E. 結論

新生児期に重篤な不整脈を呈する LQT 患者では、不整脈のコントロールとともに、癲癇や発達障害に関する十分な注意が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyazaki A, Sakaguchi H, Ohuchi H, Yasuda K, Tsujii N, Matsuoka M, Yamamoto T, Yazaki S, Tsuda E, Yamada O The clinical characteristics of sudden cardiac arrest in asymptomatic patients with congenital heart disease. Heart Vessels [Epub ahead of print], 2013.
2. Miyazaki A, Sakaguchi H, Ohuchi H, Yamamoto T, Igarashi T, Negishi J, Toyota N, Kagisaki K, Yagihara T, Yamada O. The incidence and characteristics of supraventricular tachycardia in left atrial isomerism: A high incidence of atrial fibrillation in young patients. Int J Cardiol 166: 375-80, 2013.

2. 学会発表

1. Miyazaki A: Device-based therapy for pediatric cardiology population –Japanese single center experience- In 6th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Hong Kong, China. 2013. 10. 3.
2. 山本哲也, 坂口平馬, 宮崎 文, 小野 晋, 三好剛一, 吉松 淳, 大内秀雄: 重症先天性 LQTS の胎児治療の一例. 第 18 回日本小児心電学会 (宮崎)2013. 11. 29.
3. 宮崎 文: 小児のチャンネル病. 第 59 回大阪小児循環器談話会・第 7 回大阪学校心臓検診勉強会 (大阪), 2013.7.27.

4. 三好剛一, 前野泰樹, 稲村 昇, 安河内聰, 川滝元良, 堀米仁志, 与田仁志, 新居元基, 賀藤均, 坂口平馬, 白石 公: 心構造異常を伴う胎児除脈性不整脈についての検討(胎児除脈の胎児治療に関する現状調査2002-2008より) 第49回日本小児循環器学会(東京) 2013. 7. 11.

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)

宮崎 文、坂口平馬、大内秀雄

(国立循環器病研究センター小児循環器科)

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

研究要旨

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 以上あるが、我々の施設では LQT1、LQT2、LQT3 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。保健診療での先天性 LQTS 症候群の遺伝子検査は 2012 年 164 例、2013 年 122 例 (10 月まで) であった。また、今回は次世代シーケンサーでの解析をおこなうため、検体の保管・DNA 抽出についての精度の検証をおこなった。

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。本研究では当センターにおける PCR 直接シーケンス法による LQTS 遺伝子検査の状況について報告する。

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。

我々は LQT1、LQT2、LQT3 に対してそれぞれ 19 対、15 対、29 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ている。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヘルシンキ宣言 (世界医師会) ・ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針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

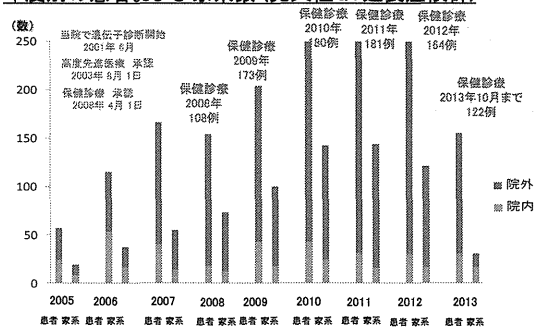
いる。本研究では、インフォームド・コンセントの得られた患者から末梢血を採取し、ゲノム DNA を抽出した。患者の血液・ゲノム DNA などのサンプルは、氏名、生年月日、住所などの個人を特定できる情報を取り除き、代わりに患者識別番号でコード化によって、試料や情報の由来する個人を特定できなくする「匿名化」を行った。提供者と新たにつける符号との対応表は個別識別情報管理者が厳重に管理し、個人が特定できない状態で解析を行った。

C. 研究結果

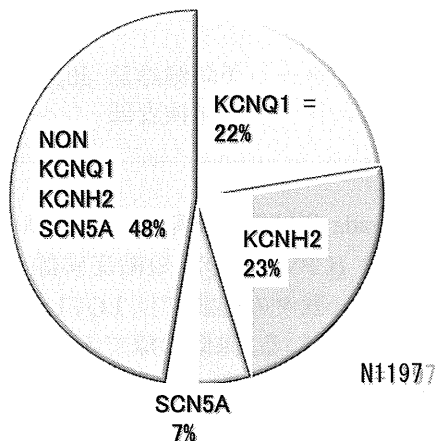
当センターでは 2005 年より LQTS 遺伝子検査を行っている。(下図)

これまでに遺伝子変異が明らかになった症例は約 50% である。

年度別の患者および家系数 (先天性 QT 延長症候群)

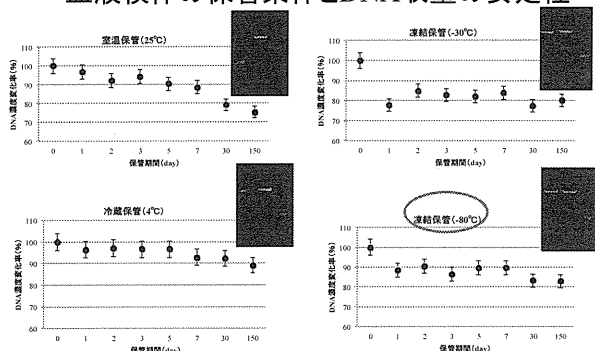


遺伝子変異陽性率

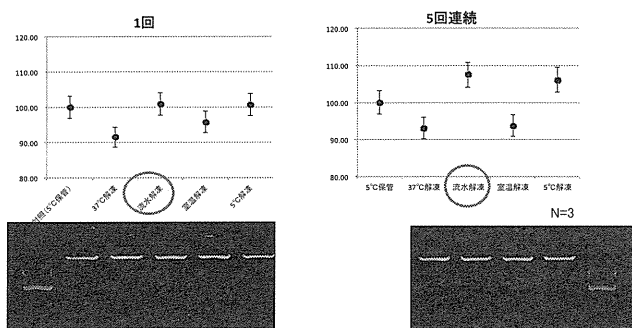


本年度は血液検体の保管条件によるDNA収量の変化を検討した。血液検体は4度保存状態で比較的安定した収量が確保され、-80度保管で流水で融解を繰り返しても大きな影響を受けないことがわかった。

血液検体の保管条件とDNA収量の安定性



融解条件(-80度凍結検体)による影響



D. 考察

現在、先天性QT延長症候群、ブルガダ症候群の検査について、サンガー法によるシーケンスでの主要な3つの遺伝子をスクリーニングしている。今後次世代シーケンサーの導入をすすめ、多遺伝子のスクリーニング法を確立していく必要がある。

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。今後次世代シーケンスを取り入れた遺伝子検査法の確立をすすめる。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
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