

セマフォリン 3A 遺伝子変異と関連する特発性心室細動発症の分子病態メカニズムの解明

研究分担者 中野由紀子 広島大学医歯薬学総合研究科 循環器内科 助教

研究要旨

心室細動発症における自律神経の関与が報告されてきた。心交感神経の抑制因子であるセマフォリン3A (*SEMA3A*)遺伝子と特発性心室細動の関連について検討した。特発性心室細動83例と健常人2958人において*SEMA3A*遺伝子の検討を行い、特発性心室細動症例では*SEMA3A*遺伝子SNP I334V (rs138694505A>G)の保因率が有意に高いことを発見した。(リスクアレル15.7% vs 5.6%, P=0.0004, OR 3.08, 95%CI 1.67–5.7)。 *SEMA3A*遺伝子I334Vにより、心臓の神経支配の変容が起こり特発性心室細動の発症に関与していることを推測した。

A. 研究目的

特発性心室細動は心臓突然死の重要な原因であるが、その分子レベルでの発症機構は明らかにされていない部分も多い。心室細動発症における自律神経の関与が報告されてきた^{1,2}。セマフォリン 3A (*SEMA3A*)は、心内膜・心外膜への交感神経分布の抑制因子であり、*SEMA3A* ノックアウトマウスや過剰発現マウスでは心臓での自律神経が無秩序となり、突然死を起こすことが報告されている³。我々の目的は、*SEMA3A* 遺伝子と特発性心室細動の関連について検討することである。

B. 研究方法

Region	IVF			control			Odds ratio	95%CI	P*	P _{ns} ^b
	AA	AG	GG	AA	AG	GG				
Western Japan	45	7	0	1943	101	1	2.9	1.3-6.7	0.007	
	86.5%	13.5%	0.0%	95.0%	5.0%	0.0%				
Eastern Japan	25	6	0	850	60	2	3.3	1.3-8.3	0.008	
	80.6%	19.4%	0.0%	93.2%	6.6%	0.2%				
Combined ^c							3.08	1.67-5.70	0.0004	0.86

^aSEMA3A: semaphorin 3A, UCA: unexplained cardiac arrest.
^bP^{*} value of chi-square test in dominant model.
^cResult of Bonferroni-Dunn test.
^dCombined meta-analysis was performed using the Mantel-Haenszel method.

当院と滋賀医科大学・長崎大学・新潟大学・国立循環器病センターでエントリーした特発性心室細動83例と健常人2958人において*SEMA3A*遺伝子のリシークエンスを行った。*SEMA3A* 遺伝子の SNP の有無による、臨床的特徴、心電図や心室遅延電位の各指標、右心室生検組織における心臓交感神経分布の違いについて検討を行った。鶏胎生交感神経節と *SEMA3A* 遺伝子の SNP

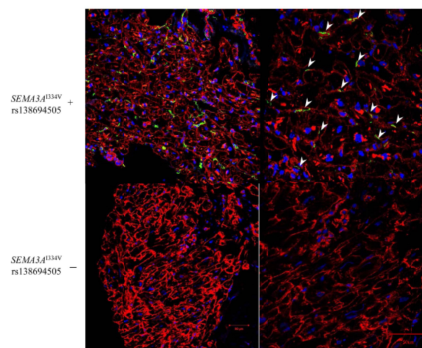
を発現させた HEK 細胞の共培養を行い、交感神経の伸長の程度の比較を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、学内のヒトゲノム・遺伝子解析研究審査を受けて認可されており、定期的な審査も受けている。被験者の血液は、分析前に個人情報情報を削り、かわりに新しく符号をつけ、被験者との符号を結びつける対応表は広島大学循環器内科にて厳重に保管している。方法は個人情報管理者のみがアクセス可能なスタンドアローンのパーソナルコンピュータのハードディスクに保存し鍵のかかる、研究室に保存している。倫理委員会での承認状況：広島大学：不整脈および高血圧疾患における遺伝子異常の検索(承認番号：医倫ヒ-52)

C. 研究結果

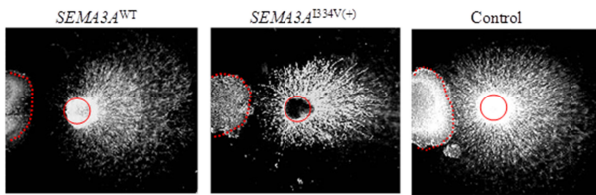
特発性心室細動症例では*SEMA3A*遺伝子SNP I334V (rs138694505A>G)の保因率が有意に高いことを発見した。(リスクアレル15.7% vs 5.6%, P=0.0004, OR 3.08, 95%CI 1.67–5.7)。



*SEMA3A*遺伝子I334Vを有する症例では、右心室心内膜生検組織で、通常は心外膜側にしか存在しないはずの心臓交感神経が心内膜側まで延長し交感神経分布の異常をきたしていた。

(*SEMA3A*遺伝子I334Vを有する症例、図上では交感神経THの心内膜側への発現が認められる。図の緑がanti TH、赤がVinculin)

In vitroの実験においても、*SEMA3A*遺伝子



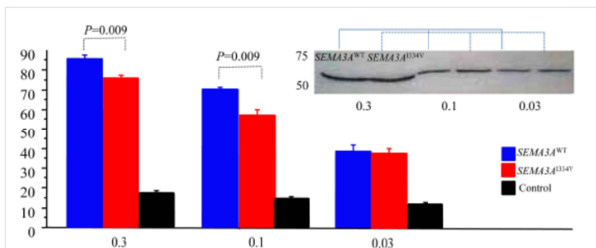
I334Vを発現させたベクターを鶏胎生交感神経節と共培養すると、I334Vを有さない正常のもの(WT)よりも神経伸長の抑制作用が弱くなっていることを明らかにした。

左: *SEMA3A*遺伝子wild typeでは神経伸長が抑制されている。

中: *SEMA3A*遺伝子I334V(+)⁺では神経伸長抑制作用が低下している。

右: コントロールベクターでは神経伸長を抑制するものがないので神経は各方向に伸長していることを明らかにした。

各図共、左が*SEMA3A*遺伝子発現させたHEK細胞、右は交感神経節(dorsal root ganglion, DRG) 途絶した神経の数の割合を定量したところ、同様に*SEMA3A*遺伝子I334V(+)⁺ではwild typeよりも神経の伸長抑制作用が低下していた。



D. 考察

今回の検討で、ヒト心臓において、*SEMA3A*遺伝子I334Vにより、心臓の神経支配の変容が起こり特発性心室細動の発症に関与していることを推測した。

特発性心室細動は蘇生された心室細動症例のうちで器質的心疾患を有する症例やチャンネル病などが除外されて初めて診断される疾患であり、心電図的診断などあらかじめの診断が出来ない疾患である。これまで特発性心室細動に関する遺伝子としてKCNJ8遺伝子やDPP6遺伝子の報告がされているが、その報告は少ない^{5,6}。

今回我々は、心室細動の発症と自律神経の関与が広く知られていることより、交感神経伸長抑制因子である*SEMA3A*遺伝子に着目した。

*SEMA3A*は心臓交感神経の伸長を抑制し心内膜側には神経が伸長しないようにして、心内膜、心外膜の神経分布勾配を保っている。*SEMA3A*を過剰発現させても、欠損させても、神経分布のバランスを崩し、突然死することが報告されている³。今回、日本の色々なエリアからの特発性心室細動症例と健常人の比較において、*SEMA3A*遺伝子I334Vが特発性心室細動症例において有意に多いことが明らかになった。実際、I334Vを有する特発性心室細動症例では、心臓交感神経分布の異常を認めており、in vitroの実験でも、I334はWTよりも心系伸長抑制作用が減弱しており、この遺伝子の異常が特発性心室細動発症および病態に関与している可能性がある。

この結果は我々の知る限り世界初であり、今後の特発性心室細動の病態解明および、心臓突然死の予防という観点において大変有意義である

関連文献

1. Smith ML, Hamdan MH, Wasmund SL, Kneip CF, Joglar JA, et al. (2010). High-frequency ventricular ectopy can increase sympathetic neural activity in humans. *Heart Rhythm* 7: 497–503.

2. Nishisato K, Hashimoto A, Nakata T, Doi T, Yamamoto H, et al. (2010). Impaired cardiac sympathetic innervation and myocardial perfusion are related to lethal arrhythmia quantification of cardiac tracers in patients with ICDs. *J Nucl Med* 51: 1241–1249.
 3. Ieda M, Kanazawa H, Kimura K, Hattori F, Ieda Y, et al. (2007). *Sema3A* maintains normal heart rhythm through sympathetic innervation patterning. *Nature Med* 13: 604–612.
 4. Haissaguerre M, Chatel S, Sacher F, Weerasooriya R, Probst V, et al. (2009). Ventricular fibrillation with prominent early repolarization associated with a rare variant of *KCNJ8/KATP* channel. *Cardiovasc Electrophysiol* 20: 93–98.
 5. Alders M, Koopmann TT, Christiaans I, Postema PG, Beekman L, et al. (2009). Haplotype-sharing analysis implicates chromosome 7q36 harboring *DPP6* in familial idiopathic ventricular fibrillation. *Am J Hum Genet* 84: 468–476.
- Ohkubo K, Watanabe I, Nogami A, Hasegawa K, Watanabe H, Endo N, Aiba T, Shimizu W, Ono S, Horie M, Arihiro K, Tashiro S, Makita N, Kihara Y. A nonsynonymous poly- morphism in *Semaphorin 3A* as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation. *PLOS Genetics* 2013;9(4):e1003364.
 2. Tokuyama T, Nakano Y, Awazu A, Uchimura-Makita Y, Fujiwara M, Watanabe Y, Sairaku A, Kajihara K, Motoda C, Oda N, Kihara Y. Deterioration of the circadian variation of heart rate variability in Brugada syndrome may contribute to the pathogenesis of ventricular fibrillation. *J Cardiol*. 2014; S0914-5087

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshisige M, Hayashida Y, Miki D, Hayes C. N, Suzuki H, Tokuyama T, Oda N, Suenari K, Uchimura-Makita Y, Kajihara K, Sairaku A, Motoda C, Fujiwara M, Watanabe Y, Yoshida Y,

2 . 学会発表

1. Nakano Y, et al.: Nonsynonymous Polymorphism in *Semaphorin 3A* as a Risk Factor for Human Unexplained Cardiac Arrest with Documented Ventricular Fibrillation. AHA 2013. Dallas, USA. 2013.11. 18.

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
なし
3. その他
なし