

1932-63, 2013.

3) Haissaguerre M, et al. Sudden cardiac arrest associated with early repolarization. *New Engl J Med.* 358:2016-2023, 2008.

4) 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.

5) Priori SG, et al. Natural history of Brugada syndrome; Insights for risk stratification and management. *Circulation.* 105: 1342-1347, 2002.

6) Antzelevitch C. Genetic, molecular, and cellular mechanisms underlying the J wave syndromes. *Circ J.* 76: 1054-1065, 2012.

F.健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takagi M, Sekiguchi Y, Yokoyama Y, Aihara N, Hiraoka M, Aonuma K for J-IVFS investigators. Long-term prognosis in patients with Brugada syndrome based on Class II indication for implantable cardioverter-defibrillator in the HRS/EHRS/APHRS Expert Consensus Statement: Multicenter study in Japan. *Heart Rhythm.* 11(10):1716-20, 2014.

2) Naruse Y, Tada H, Harimura Y, Ishibashi M, Noguchi Y, Sato A, Hoshi T, Sekiguchi Y, Aonuma K. Early repolarization increases the occurrence of sustained ventricular tachyarrhythmias and sudden death in the chronic phase of an acute myocardial infarction. *Circulation Arrhythm Electrophysiol.* 7: 626-632, 2014.

3) Aizawa Y, Sato M, Ohno S, Horie M, Takatsuki S, Fukuda K, Chinushi M, Usui T, Aonuma K, Hosaka Y, Haissaguerre M, Aizawa Y. Circadian pattern of fibrillatory events in non-Brugada-type idiopathic ventricular fibrillation with a focus on J waves. *Heart Rhythm.* 11(12):2261-2266, 2014.

4) 奥村 謙, 相澤 義房, 青沼 和隆, 磯部 文隆, 大西 哲, 加藤 貴雄, 清水 昭彦, 新田 隆, 萩原 誠久, 松本 万夫, 村川 裕二, 石川 利之, 岩 亨, 大江 透, 笠貫 宏, 木村 剛, 梅村 純, 草野 研吾,

栗田 隆志, 佐々木 真吾, 志賀 剛, 庄田 守男, 住友 直方, 中里 祐二, 中村 好秀, 庭野 慎一, 平尾 見三, 児玉 逸雄, 田中 茂夫, 日本循環器学会, 日本胸部外科学会/日本人工臓器学会/日本心臓血管外科学会/日本心臓病学会/日本心電学会/日本心不全学会/日本不整脈学会. 循環器病の診断と治療に関するガイドライン(2010 年度合同研究班報告)【ダイジェスト版】不整脈の非薬物治療ガイドライン(2011年改訂版)(解説). 日本心臓血管外科学会雑誌(0285-1474)43 巻 5 号 Page1-21, 2014

2. 学会発表

1) Naruse Y, et al. J wave is an independent predictor for the occurrence of life-threatening ventricular tachyarrhythmia in patients with nonischemic cardiomyopathy. The 78th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Tokyo, May 21-23, 2014.

2) Xu D, et al. Common variants at SCN5A, SCN10A, and HEY2 are associated with cardiac conduction disturbance in patients with Brugada syndrome. The 78th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Tokyo, May 21-23, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

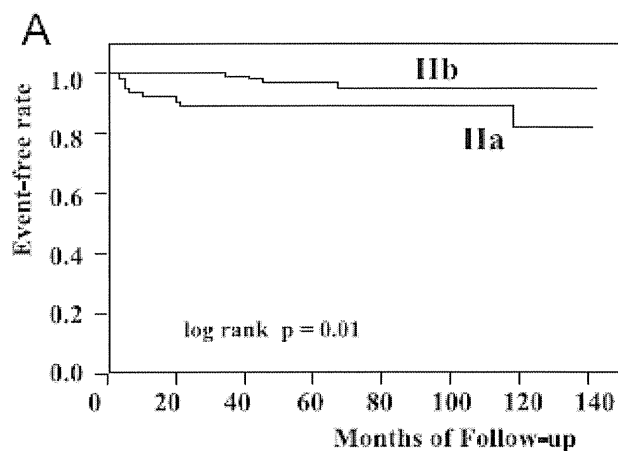
1. 特許取得:なし

2. 実用新案登録:なし

表1. Brugada症候群のICD植込みclass IIa適応症例とclass IIb適応症例の比較:臨床的背景

	Class IIa indication n=66	Class IIb indication n=147	p value
性別(男性)	61 (92%)	138 (94%)	0.70
年齢(年)	55±15	52±14	0.26
失神の既往	66 (100%)	27 (18%)	<0.0001
心臓突然死の家族歴 (n(%))	16 (24%)	47 (32%)	0.25
心房細動の既往 (n(%))	8 (12%)	20 (14%)	0.77
自然誘発性タイプ 1 (n(%))	66 (100%)	70 (48%)	<0.0001
VT/VF の誘発 (n/N (%))	46/60 (77%)	147/147 (100%)	<0.0001
遅発電位陽性 (n/N(%))	36/45 (80%)	91/117 (78%)	0.76
QRS 間隔 in V2 (ms)	98±17	97±13	0.88
QTc 間隔 in V2 (ms ^{1/2})	414±56	406±40	0.52
QRS 間隔 in V6 (ms)	97±13	94±14	0.32
J 波陽性 (n(%))	4 (6%)	13 (9%)	0.49
フォローアップ期間(month)	67±41	60±31	0.20

図1. Brugada症候群のICD植込みclass IIa適応症例とclass IIb適応症例の比較:心イベント回避率



Number at risk

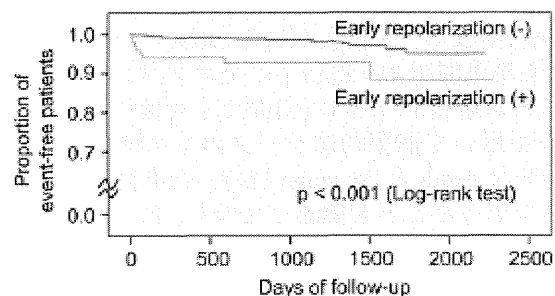
Class IIa	66	59	48	36	20	17	12	3
Class IIb	147	137	112	57	35	22	9	3

(Takagi M, et al. Heart Rhythm. 11(10):1716-20, 2014 より改変引用)

表 2. 心室頻拍・心室細動あるいは突然死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)	p 値	オッズ比 (95% 信頼区間)	p 値
男性	7.711 (1.045–56.916)	0.045		
責任病変：前下行枝	2.193 (0.977–4.922)	0.057		
Killip 分類 > I (入院時)	3.319 (1.523–7.232)	0.003	2.746 (1.241–6.073)	0.013
スタチン	0.476 (0.217–1.047)	0.065		
発症 48 時間以内の VT/VF 発生	3.625 (1.453–9.041)	0.006		
左室駆出率<35%	11.994 (5.342–26.932)	<0.001	11.829 (5.157–27.131)	<0.001
退院前心電図での早期再分極	4.234 (1.837–9.760)	0.001	5.370 (2.273–12.687)	<0.001

図 2. 早期再分極所見の有無による心イベント回避率



Patients at risk											
ER (+)	99	88	76	64	46	32	21	11	5	1	0
ER (-)	1032	928	725	526	415	281	151	66	19	0	0

(Naruse Y, et al. Circ Arrhythm Electrophysiol. 7:626-632, 2014.より改変引用)

家族性心房性不整脈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 分子生理学 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。近年のゲノムワイド関連解析から心房型ミオシン重鎖遺伝子*MYH6*がSSSに関与していることが明らかとなり、本研究室ではSSS患者に新たな*MYH6*遺伝子変異を見出した。本研究ではこの*MYH6*変異がサルコメアの異常を介して心房筋の電気伝導を障害し、洞結節のexit blockによってSSSを発症するという新たな疾患メカニズムを明らかにした。候補遺伝子解析によって遺伝子変異が同定されないSSS患者を対象に、心疾患関連459遺伝子をターゲットとするのエクソンキャプチャーで網羅的遺伝子解析を行ったところ、新たな原因遺伝子Xを見出した。その分子機序は既知の原因遺伝子とは異なるものであると推測され、網羅的遺伝子解析が新たな遺伝性不整脈の分子機序解明に有効であることが示された。

A. 研究目的

洞不全症候群(sick sinus syndrome; SSS)は一般に器質的心疾患や加齢に伴って発症する、比較的頻度の高い上室性不整脈疾患である。しかし一部の患者では、家族内発症や若年発症が見られ、その病態に遺伝子異常の関与が示唆されている。これまで候補遺伝子解析によって、心筋 Na チャンネル(*SCN5A*)やペースメーカーチャンネル(*HCN4*)などが原因遺伝子として同定された。また、最近のゲノムワイド関連解析(GWAS)から、心房型 α ミオシン重鎖遺伝子*MYH6*がSSSの疾患感受性遺伝子であることが解明された。この結果を基に我々は日本人SSS患者1名に新規欠損変異を見出した。しかしサルコメア関連遺伝子が洞機能不全をもたらすメカニズムは不明である。また*SCN5A*・*HCN4*・*MYH6*などの変異が見つからない家族性SSS症例はいまだ多く、次世代シーケンサーを使った網羅的遺伝子解析によって、未知の原因遺伝子変異と疾患メカニズムが提起されることが期待される。

本研究の目的は、1)我々が日本人SSSに同定した新規*MYH6*変異の機能解析を行うこと、2)家族性SSSの網羅的遺伝子解析によって新規分子病態を探索することである。

B. 研究方法

*MYH6*変異が心拍数に与える影響は、ゼブラフィッシュを用いて解析した。ゼブラフィッシュの内因性*myh6*をノックダウンするために開始コドンを標的したモルフォリノ(*MYH6*-ATG-MO)を作成し、*MYH6*-ATG-MO単独、またはヒト野生型・変異*MYH6*RNAとともにゼブラフィッシュ受精卵に注入し、48時間後に孵化後の心拍数を測定した。

*MYH6*変異が心房筋の伝導速度に与える影響を

みるために、マウス心房筋細胞HL-1へ*MYH6*プラスミドを遺伝子導入し、G418耐性安定発現細胞を得、それを64点多電極アレイ上に撒き、電気刺激の伝導速度を検討した。

また、家族性SSSの網羅的遺伝子解析は、インフォームドコンセントの得られた家族性SSS発端者30症例を対象に、末梢血ゲノムDNAを抽出し、心機能・心疾患関連459遺伝子の全エクソンを濃縮するカスタム遺伝子パネルを作成し、次世代シーケンサーを用いて網羅的にシーケンス解析を行った。十分なdepthとcoverageを持った有効なシーケンスであったことを確認したのち、日本人多型データベースなどに登録のあるバリエーションを除外し、サンガー法を用いて確認を行った。また家族例については同様にサンガー法でシーケンスを行い、家系内集積が確認されたものを新規変異とした。

(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・遺伝子解析研究に関する倫理指針(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. *MYH6*変異と機能異常

最近のGWASから、*MYH6*の多型が安静時心拍数やSSSの発症の危険性と関連することが明らかにされている。これらの知見を基に、家族性SSS患者の中に*MYH6*変異キャリアがいると推測し候補遺伝子検索を行ったところ、ペースメーカーを植え込んだ62歳女性のSSS発端者に、in-frame 3塩基欠損変異(delE933)を同定した(論文1)。サルコメアの構造機能

調節に必須のミオシン結合タンパクC(MyBP-C)との免疫沈降実験から、*MYH6*-delE933はMYPB-Cとの機能的結合を修飾すること、*MYH6*-delE933を過剰発現させた新生児ラット心筋細胞ではサルコメア構造が破壊されたことから、心筋細胞のサルコメア構造の機能連関を乱すことが*MYH6*変異のSSS発症メカニズムであると推測した。

この*MYH6*変異が洞機能を傷害することを*in vivo*で確認するため、ゼブラフィッシュに内因性*myh6*のノックダウン単独、または野生型・変異ヒト*MYH6*の過剰発現との組み合わせを行い、48時間後に個体の心拍数をした。*myh6*のノックダウン単独では徐脈が確認されたが、野生型ヒト*MYH6*を過剰発現させた個体では*myh6*が補償され、無処置の個体と同等の心拍数を示した。しかし変異ヒト*MYH6*の過剰発現は*myh6*の補償効果はなく、無処置の個体よりも有意に脈拍数は少なかった。以上の*in vivo*データから、*MYH6*欠失変異delE933は心拍数に関して機能喪失型変異であることが明らかになった。

次に、delE933が心房筋の電気生理学的特性に与える影響を調べるために、ヒト*MYH6*の安定発現HL-1細胞を64点電極上にシート状に培養し、細胞間刺激伝導に与える影響を観察した。その結果、delE933-*MYH6*を発現したHL-1細胞では刺激伝導速度が有意に低下していることが分かった。洞房結節の中心部にはサルコメアがあまり存在しないことを考え合わせると、*MYH6*変異は洞房結節周囲の心筋サルコメアに構造異常をおこし、洞結節からの活動電位が周囲に伝播されるのを機能的にブロックする(exit block)と推測された。

2. 原因が未解明の家族性SSS症例に対する網羅的遺伝子スクリーニング

これまでの候補遺伝子解析で変異が見つからない日本人SSS患者30名に対して、459個の心疾患関連遺伝子の網羅的変異検索を行った。既知遺伝子である*HCN4*(1例)、*MYH6*(2例)以外に、新規原因遺伝子X(1例)と転写因子*TBX5*(2例)に変異を同定した(未発表)。遺伝子Xの変異が同定された家系は、3世代に渡る濃厚な家族性SSSで罹患者を持つ家系だった。Xは洞房結節や房室結節に発現し、心筋細胞間刺激伝播に関与するタンパクをコードすることから、その機能喪失型変異はSSSを説明しうるものであると思われた。また今回変異を見出したアミノ酸部位は、この遺伝子ファミリーを通じて保存されたアミノ酸部位であり、既にファミリー内の他の分子の結晶構造解析から、この部位がXタンパクの機能に重要な部位であることが判明している。遺伝子X変異は既知の原因遺伝子である*SCN5A*などとは生理学的役割が異なることから、新たな家族性SSSの病態メカニズムを提起しうる技術としての次世代シーケンサーの有効性が示された。

D. 考察

本研究により、サルコメア構造を傷害する*MYH6*遺伝子変異が心房筋の電気伝導特性を変化させることがSSS発症基盤であると推測された。*MYH6*は心房中隔欠損の原因遺伝子としても知られており、その変異体は今回の欠失変異と同様に心筋サルコメアを破壊することが報告されていることから、サルコメアの形成維持異常という一つの細胞表現型が心臓の発生異常と刺激伝導異常という2つの異なる疾患表現型に結びつくかも知れない。今後も*MYH6*変異例の集積を継続し、発生異常と刺激伝導異常の関係について検討を行いたい。

心機能・心疾患関連459遺伝子を対象とした網羅的遺伝子スクリーニングにより新規原因遺伝子Xを見出すことができ、新たなSSS分子病態を提示する機会を得た。しかし、今回のスクリーニングでも原因遺伝子を断定できない例が多く存在することも確認された。これらの例では、対象とした459遺伝子以外に異常があることも考えられるが、現在までに得ているシーケンスデータの中に異常があるかも知れない。しかし生物学的な意義や知見が乏しいものが多く、完全に病因因子として焦点を当てるには至っていない。このような例に対しては生物学的知見の集積と同時に、より多くの患者を集め、遺伝子解析を実施することによって、疾患発症における負荷因子となっているか検証する必要がある。

E. 結論

SSSの新たな分子基盤として、*MYH6*変異による心筋サルコメアの破壊が心房筋電気伝導速度を変えることを見出した。また新たな原因遺伝子Xを見出すことができ、網羅的遺伝子スクリーニングの有効性が示唆された。

G. 研究発表

G-1. 論文発表

1. ○Ishikawa T, Jou CJ, Nogami A, Kowase S, Arrington CB, Barnett SM, Harrell DT, Arimura T, Tsuji Y, Kimura A, Makita N. A novel mutation in the α -myosin heavy chain gene is associated with sick sinus syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol*; in press
2. ○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*; 511-7, 2014
3. ○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, Kääh 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*; 7; 466-74, 2014
4. ○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*. 16,1646-54, 2014;
 5. ○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*. 17,519-22, 2014
 6. ○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* 30, 68-70 2014
 7. ○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*. 2014;30:161-166.
 8. ○Kusumoto S, Kawano H, Makita N, Ichimaru S, Kaku T, Haruta D, Hida A, Sera N, Imaizumi M, Nakashima E, Maemura K, Akahoshi M. Right bundle branch block without overt heart disease predicts higher risk of pacemaker implantation: The study of atomic-bomb survivors. *Int J Cardiol*. 2014;174:77-82.
 9. ○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*. 2014;29:422-426.
 10. ○Tsuji Y, Ishikawa T, Makita N. Molecular mechanisms of heart failure progression associated with implantable cardioverter-defibrillator shocks for ventricular tachyarrhythmias. *J Arrhythmia*. 2014;30:235-241.
 11. 辻幸臣, 蒔田直昌. 重症不整脈 electrical storm : 基礎研究からのアプローチ. 長崎市医師会報 2014;48:7-11.
 12. 清水渉, 蒔田直昌, 堀江稔, 相庭武司. わが国における遺伝性不整脈診断・治療の今後の展望 -欧米との違いも含めて. *CARDIAC PRACTICE*. 2014;25:65-72.
 13. 蒔田直昌. 遺伝性不整脈の遺伝子診断の歴史. 呼吸と循環. 2014;62:827-831.
- G-2. 学会発表
1. Wileyeratne YD, Muggenthaler M, Tanck M, Schott JJ, Kyndt F, Probst V, Borggreffe M, McKeown P, Veltmann C, L C, Schwartz P, Sharma S, N M, D R, Behr ER. Genetic modifiers in carriers of the SCN5A E1784K mutation with variable phenotypic expression - Long QT3 / Brugada syndrome overlap disease. British Cardiovascular Society annual meeting. 2014.
 2. Wijeyeratne Y, Probst V, Veltmann C, Shimizu W, Crotti L, Horie M, McKeown P, Makita N, Roden D, Behr ER. Ethnicity and phenotype in the SCN5A E1784K mutation. European Society of Cardiology 2014. 2014.
 3. Muggenthaler M, Tanck MW, Schott JJ, Kyndt F, Borggreffe M, McKeown P, Makita N, Schwartz P, Roden D, Behr ER. Genetic modifiers in the long QT3/Brugada overlap-syndrome caused by E1784K. European Society of Cardiology 2014. 2014.
 4. Okata S, Yuasa S, Suzuki T, Egashira T, Kuroda Y, Tanaka A, Makita N, Kurokawa J, Furukawa T, Fukuda K. Na⁺ Channel beta-subunit affects the phenotype in long QT syndrome type 3 and Brugada syndrome induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. 第78回日本循環器学会. 2014.
 5. 白石亜季, 深江学芸, 森内拓治, 坂口能理子, 古島早苗, 森永芳智, 蒔田直昌, 前村浩二, 柳原克紀. Brugada 症候群と QT 延長症候群のオーバーラップを認めた一症例. 第59回日本臨床検査医学会 九州支部. 2014.
 6. Nakano Y, Toshiyige M, Ochi H, Tokuyama T, Sairaku A, Oda N, Kajihara K, Uchimura Y, Fujiwara M, Watanabe Y, Kawazoe H, Motoda C, Matumura M, Oda N, Aiba T, Watanabe H, Shimizu W, Horie M, Makita N, Chayama K, Kihara Y. Nonsynonymous Polymorphism in Semaphorin 3A is a New Genetic Risk Factor for Human Idiopathic Ventricular Fibrillation. 第78回日本循環器学会. 2014.
 7. Xu D, Murakoshi N, Nogami A, Makita N, Sekiguchi Y, Igarashi M, Isaka Y, Kurosaki K, Kowase S, Naruse Y, Aonuma K. Common Variants at SCN5A, SCN10A, and HEY2 are Associated with Cardiac Conduction Disturbance in Patients with Brugada Syndrome. 第78回日本循環器学会. 2014
 8. 蒔田直昌, 関明子. 家族性心臓伝導障害家系に同定された connexin40 の遺伝子変異と機能異常. 第91回日本生理学会大会. 2014.
 9. 稲田慎, ダニエル・トシオ・ハーレル, 原口亮, 芦原貴司, 蒔田直昌, 中沢一雄. ギャップ結合変異を有するプルキンエ線維から発生する心室性不整脈に関するシミュレーション研究. 第

- 91 回日本生理学会大会. 2014.
10. Inada S, Harrell DT, Haraguchi R, Ashihara T, Makita N, Nakazawa K. A Gap Junction Mutation Expressed in the Purkinje Network and Lethal Ventricular Arrhythmias -A Simulation Study-. 第 78 回日本循環器学会. 2014.
 11. Hu D, Zhang J, Li Y, Gollob M, Healey J, Harrell DT, Makita N, Abe H, Sun Y, Zhang L, Yan G, Mah D, Walsh E, Leopold H, Giustetto C, Gaita F, Martinez HB, Antzelevitch C. The Spectrum of Most Frequent Mutation in Short QT Syndrome. 35th Annual Scientific Sessions, Heart Rhythm. 2014.
 12. Sonoda K, Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Makiyama T, Takehara N, Kawamura Y, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Shimizu W, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Burashnikov E, Antzelevitch C, Horie M, Aizawa Y, Minamino T, Makita N. Genotype-Phenotype Associations in Early Repolarization Syndrome. 35th Annual Scientific Sessions, Heart Rhythm. 2014
 13. Sonoda K, Watanabe H, Sato A, Yagihara N, Hasegawa K, Iijima K, Izumi D, Furushima H, Ashihara T, Horie M, Makita N, Minamino T. Mutations in SCN5A Associated with Monomorphic Ventricular Tachycardia, Conduction Disease, and J-Wave Syndrome. 第 78 回日本循環器学会. 2014.
 14. Katsuumi G, Watanabe H, Chinushi M, Fukae S, Noda T, Ohkubo K, Nogami A, Hosaka Y, Oda H, Sato H, Okabe M, Aizawa Y, Kimura A, Makiyama T, Horie M, Maemura K, Makita N, Minamino T. Efficacy of Bepridil to Prevent Ventricular Fibrillation in Early Repolarization Syndrome. 第 78 回日本循環器学会. 2014.
 15. Ishikawa T, Nogami A, Kowase S, Harrell D, Tsuji Y, Arimura T, Kimura A, Makita N. A novel cardiac alpha-myosin heavy chain (MYH6) mutation impairing sarcomere structure responsible for familial sick sinus syndrome European Society of Cardiology 2014. 2014.
 16. Ishikawa T, Nogami A, Kowase S, Arimura T, Kimura A, Makita N. A Novel Cardiac a-Myosin Heavy Chain (MYH6) Mutation Associated with Familial Sick Sinus Syndrome Altering Sarcomeric Organization. 35th Annual Scientific Sessions, Heart Rhythm. 2014.
 17. Tsuji Y, Ishikawa T, Makita N. Role of Ca²⁺/calmodulin -dependent Protein Kinase II in Atrial and Ventricular Remodeling and Arrhythmias. 第 29 回日本不整脈学会・第 31 回日本心電学会合同学術大会. 2014
 18. 辻幸臣, 蒔田直昌. 心室細動成立に果たすカルモジュリンキナーゼの役割とは?. 第 91 回日本生理学会大会.
 19. 蒔田直昌. 致死性不整脈の分子病態に関する新展開. 第 91 回日本生理学会大会. 2014..
 20. Tsuji Y, Ishikawa T, Makita N. Electrical Storm in Inherited Arrhythmia Syndromes. 第 29 回日本不整脈学会・第 31 回日本心電学会合同学術大会. 2014.
 21. Makita N. Paradigm Shifts in the Genetics of Inherited Arrhythmias Brought on by High-throughput Sequencing and Genome-wide Association Studies. 第 29 回日本不整脈学会・第 31 回日本心電学会合同学術大会. 2014.
 22. Ishikawa T, Nogami A, Kowase S, Harrell DT, Arimura T, Tsuji Y, Kimura A, N. M. A Novel Mutation in Atrial Myosin Heavy Chain Coding Gene MYH6 Causes Sick Sinus Syndrome. 第 29 回日本不整脈学会・第 31 回日本心電学会合同学術大会. 2014.
 23. Ishikawa T, Nogami A, Kowase S, Arimura T, Kimura A, Makita N. A Novel Mutation in Atrial Myosin Heavy Chain Coding Gene MYH6 Causes Sick Sinus Syndrome. 第 78 回日本循環器学会. 2014.
 24. Ishikawa T, Makita N. Genetic Basis of Familial Sick Sinus Syndrome. International Symposium of Inherited Arrhythmias 2014. .
 25. Furukawa T, Okata S, Yuasa S, Suzuki T, Makita N, Kurokawa J, Egashira T, Yamakawa H, Seki T, Aizawa T, Hashimoto H, Kuroda Y, Tanaka A, Yae K, Murata M, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K. Disease Modeling Using iPS Cells. 第 78 回日本循環器学会. 2014.
 26. Inada S, Harrell DT, Haraguchi R, Ashihara T, Makita N, Nakazawa K. Ventricular arrhythmias generated from purkinje fiber network with gap junction mutation - A simulation study -. 多階層生体機能学 終了記念シンポジウム. 2015.
 27. 蒔田直昌. 心臓イオンチャネルの遺伝子異常と機能破綻の分子基盤. 多階層生体機能学 最終成果報告会 2015.
 28. Makita N, Ishikawa T, Schott JJ, Bezzina CR. Emerging link between genetic variations of sodium channels and susceptibility to lethal arrhythmias. 第 88 回日本薬理学会. 2015.
- 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)
石川泰輔 (長崎大学)

カテコラミン誘発性多型性心室頻拍の診断・治療・遺伝子背景に関する研究

研究分担者 萩原 誠久 東京女子医科大学 循環器内科 主任教授

研究要旨 致死性不整脈により心臓突然死をもたらす遺伝性不整脈疾患の中で、カテコラミン誘発性多型性心室頻拍（CPVT）は発症が若年であることが多く、頻度の少なさゆえに、その診断・治療、遺伝子背景についての検討はまだ十分になされていない。当院におけるCPVTと診断された症例のうち、リアノジン受容体の変異が発見された3例について、臨床像、薬物治療、遺伝子変異による病態の検討を行ったのでここに報告する。

A. 研究目的

カテコラミン誘発性多型性心室頻拍（CPVT）は、きわめて稀な疾患であるため、その病態と遺伝子背景、適切な治療法については検討の余地がある。この研究の目的は、CPVTの症例において、その症状、薬物及びデバイス治療、遺伝子背景と病態について検討し、診断・治療についての一助とすることである。

B. 研究方法

当施設循環器内科・循環器小児科に通院中のCPVTの症例について、発症年齢、薬物治療、ICD植込みの場合動作の有無、合併する不整脈、遺伝子変異などについて比較検討した。

CPVTの診断基準は以下の通りとした。

- ① 3頻拍以上、2種類以上のQRS波形を持つ心室頻拍（VT）がカテコラミンまたは運動負荷で誘発され、
- ② 電解質異常、心筋症、虚血性心疾患など多型性心室頻拍の起こり得る病態が存在せず、
- ③ QT延長症候群、Brugada症候群などが否定されたもの。

<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（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。研究分担者は当大学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を抽出する。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。患者に遺伝子異常が確認され、患者の血縁者についても遺伝子検索をする必要がある場合には、十分な説明と同意を得て検査を行った。必要な場合には、遺伝子カウンセリングを行った。

C. 研究結果

症例1. 8歳男性。4歳時、保育園でリレーの練習で列に並んでいた時に意識消失。近医（小児科）から

の紹介で当院受診、ホルター心電図で2方向性心室頻拍（bdVT）を認め、CPVTの疑いで入院。

ビソプロロールの内服を開始し、VTは消失したが、心室性期外収縮（PVC）が消失しないため、ビソプロロールの増量及びフレカイニドの内服を開始した。その後多源性PVCは運動制限下で5-6/dayと少なく抑えられている。しかし運動制限が守れなかった際にはやはりホルター心電図でPVC、VTがみられる。RYR2遺伝子の変異（Exon 8, D179N, アミノ末端）あり、両親には変異なし。

症例2. 27歳男性。11歳時、プールで水泳中に意識消失。翌年再び水遊び中に意識消失し、救急搬送された。ホルター心電図で多源性PVCと徐脈、トレッドミルで運動負荷時PVCが多いことからCPVTと診断され、プロプラノロール内服を開始した。15歳時、服薬を忘れて走った後で意識消失した。18歳で小児科から内科へ紹介され、ピルジカイニドを追加された（他医のため詳細不明）。20歳時、ホルター心電図で心房細動・粗動、発作性上室性頻拍、多源性VTあり、ICD植込みを施行したが、適切動作はなし。発作性心房細動によるICDの頻回不適切動作があり、22歳時、肺静脈隔離術を施行。翌年、心房細動が発し再度肺静脈隔離術施行し、その後持続する心房頻拍に対しアブレーションを試みるも不成功。その後はビソプロロールのみ服用で心拍数60台となった。

RYR2遺伝子変異はExon 100 V477I、poreに近いouter helixに位置する。

症例3. 46歳女性。8歳時、プールで意識消失。その後も何回か運動時の失神があり、てんかんの疑いで抗てんかん薬を内服した。しかし、運動負荷心電図でPVCが出現したため、11歳時、当院を紹介受診。心筋生検で心筋細胞の肥大、配列異常、核の変性、線維化があり、心筋疾患が示唆される。EPSでは異常なく、プロプラノロールを内服開始した。24歳時、プロプラノロール内服下のホルター心電図で多源性PVC、nsVT(3連発)を認めた。42歳時、faintnessあり入院精査、ボスミン負荷ではPVC、VT出現なし、トレッドミルではHR70以上で多源性PVCの2段階

が出現、運動終了後HR40台以下でjunctional rhythmが出現、2-3秒のpauseが頻発した。SSSの診断でペースメーカーまたはICD植え込みを勧めたが本人が拒否し、プロプラノロールからフレカイニドへの置換を試みたが徐脈のため一旦断念した。その後、本人の承諾があってICD植え込みを行い、プロプラノロールにフレカイニドを追加した。適切作動なし。RYR2遺伝子変異は アミノ末端 (Exon14、 S415R、アミノ末端)。

D. 考察

当院通院中のCPVT3例について、その病状と検査結果、治療経過、遺伝子変異について検討した。発症年齢は4歳から11歳、いずれも失神、多源性PVCを認め、運動によりPVCが増加、または多型性心室頻拍が出現する。β遮断薬は全例に、フレカイニドは2例に投与されたが1例は徐脈のため一度断念した。ICDは小児の1例以外の成人2例に植え込みを行い、植え込み後の適切作動はみられていない。RyR2遺伝子変異は全例に認められ、うち2例はアミノ末端に、1例はチャンネルポアに近いouter helixであった。

現在の不整脈ガイドラインでは、CPVTに対する薬物治療としてβ遮断薬のみは欧米及び日本でclassIに分類される。日本循環器学会のガイドラインではCaチャンネル遮断薬 (ベラパミル) がこれに追加されている。CPVT症例では、リアノジン受容体を介したSRからのCa放出が過剰で、その結果Na-Ca exchangerが活性化され、細胞内に流れ込む内向き電流により遅延後脱分極 (DAD) が発生してPVCを発生させる。フレカイニドはRyRのチャンネルを直接抑制することでDADを抑制し、PVCやVTを抑制すると考えられ、近年国際研究によりCPVTの治療薬剤として有効性が報告されている薬剤である。フレカイニドが治療薬剤としてガイドラインに追加される日は近いと思われる。

また、CPVTにはSSSなどの徐脈性不整脈、またAF、ATなどの頻脈性不整脈が合併することも報告されているが、当院でも症例2に頻脈性不整脈、症例3に徐脈性不整脈を認めている。前者はICD植え込み後の不適切作動の原因となる可能性があり、アブレーションなどの適切な処置が必要である。また、徐脈性不整脈はβ遮断薬、Caチャンネル遮断薬、I群薬を投与する際に障害となり、導入の前に人工ペースメーカーやICDの植え込みが必要となる。

生活指導として、特に若年者には運動制限が大切である。服薬を遵守していても運動制限が守られなければ、susVTを起こすきっかけとなる。児童においては両親と共に本人にも運動制限についてよく説明し、低年齢の時から習慣づける必要がある。

遺伝子背景については、以前より世界的に多くの報告がなされている。RyR2分子は、Naチャンネルと似た構造の分子が4個集合してできている4量体である。当院でみられたアミノ末端の変異 (2例) は、隣り合うドメイン同士の結合に異常が生じる結果、分子全体の構造そのものが変化している可能性がある。また、outer helixと呼ばれるポアに近い膜貫通領域の変異は、チャンネルのポアの構造や透過性に変化が生じていることが推測される。いずれも細胞やモデル動物を用いた機能解析が必要と思われる。

E. 結論

当院通院中のCPVTの3症例の臨床像と遺伝子背

景について報告した。CPVTの治療には、β遮断薬が第一選択とされるが、フレカイニドが今後有用な薬剤としてガイドラインに追記される可能性がある。ICDは突然死予防に有効と考えられているが、頻脈性不整脈を合併する症例では不適切作動が原因となることがあり、アブレーション治療を積極的に併用していく必要がある。生活指導では運動制限が最も重要である。リアノジン受容体の遺伝子変異については多くの報告があるが、当院の症例でみられたアミノ末端の遺伝子変異は隣り合うドメイン同士の結合の変化による分子構造の異常に、チャンネルポア近くにある変異では、チャンネル機能の異常に、それぞれ関与していることが推測された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kato K, Ejima K, Fukushima N, Ishizawa M, Wakisaka O, Henmi R, Yoshida K, Nuki T, Arai K, Yashiro B, Manaka T, Ashihara K, Shoda M, Hagiwara N. Catheter ablation of atrial fibrillation in patients with severely impaired left ventricular systolic function. *Heart Vessels*. (in press.) 2015.
2. Matsuura K, Kodama F, Sugiyama K, Shimizu T, Hagiwara N, Okano T. Elimination of remaining undifferentiated induced pluripotent stem cells in the process of human cardiac cell sheet fabrication using a methionine-free culture condition. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 21(3) 330-338. 2015.
3. Ogiso M, Suzuki A, Shiga T, Nakai K, Shoda M, Hagiwara N. Effect of intravenous amiodarone on QT and T peak-T end dispersions in patients with nonischemic heart failure treated with cardiac resynchronization-defibrillator therapy and electrical storm. *Journal of Arrhythmia* (in press.) 2014.
4. Seki A, Nishii K, Hagiwara N. Gap junctional regulation of pressure, fluid force, and electrical fields in the epigenetics of cardiac morphogenesis and remodeling. *Life sciences*. pii: S0024-3205(14)00902-3. 2014.
5. Fukushima K, Fukushima N, Ejima K, Kato K, Sato Y, Uematsu S, Arai K, Manaka T, Takagi A, Ashihara K, Shoda M, Hagiwara N. Left Atrial Appendage Flow Velocity and Time from P-Wave Onset to Tissue Doppler-Derived A' Predict Atrial Fibrillation Recurrence after Radiofrequency Catheter Ablation. *Echocardiography* (in press.) 2014.
6. Ejima K, Kato K, Arai K, Fukushima K, Fukushima N, Suzuki T, Yoshida K, Nuki T, Uematsu S, Hoshi H, Manaka T, Ashihara K, Shoda M, Hagiwara N. Impact of atrial remodeling on the outcome of radiofrequency catheter ablation of paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation Journal* 78(4):

- 872-877. 2014.
7. Fukushima N, Tsurumi Y, Jujo K, Gomita K, Sekiguchi H, Honda A, Yumino D, Kawana M, Hagiwara N. Impact of myocardial reperfusion status on QT dispersion after successful recanalization of the infarct-related artery in acute myocardial infarction. *Journal of interventional cardiology*. 27(3):252-259. 2014.
 8. Yashiro B, Minami Y, Terajima Y, Hagiwara N. Prognostic difference between paroxysmal and non-paroxysmal atrial fibrillation in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Cardiology*. 63(6):432-437. 2014.
 9. Ejima K, Arai K, Suzuki T, Kato K, Yoshida K, Nuki T, Suzuki F, Uematsu S, Gomita K, Hoshi H, Manaka T, Ashihara K, Shoda M, Hagiwara N. Long-term outcome and preprocedural predictors of atrial tachyarrhythmia recurrence following pulmonary vein antrum isolation-based catheter ablation in patients with non-paroxysmal atrial fibrillation. *Journal of Cardiology*. 64(1-2):57-63. 2014.
2. 学会発表
1. Suzuki A, Shiga T, Yoshida K, Suzuki T, Manaka T, Shoda M, Nakai K, Kasanuki Hiroshi, Hagiwara N. Proarrhythmic effect of cardiac resynchronization therapy and transmural dispersion in patients with nonischemic heart failure. ESC Congress 2014. 8.31. Barcelona, Spain.
 2. Nakai K, Itoh M, Suzuki A, Shiga T, Shoda M, Hagiwara N. Significance of interleaved difference of tpeak-end intervals and t-wave current density alternans in long QT syndrome with icd implantation. ESC Congress 2014. 9.1. Barcelona, Spain.
 3. Aiba T, Makimoto H, Makiyama T, Watanabe H, Hayashi K, Nakano Y, Miyauchi Y, Morita H, Aonuma K, Hagiwara N, Fukuda K, Yoshinaga M, Horigome H, Sumitomo N, Tanaka T, Sekine A, Shiraishi I, Kusano K, Miyamoto Y, Kamakura S, Yasuda S, Ogawa H, Mmakita N, Horie M, Shimizu W. Diverse Gender Difference of Arrhythmic Risk in Patients With Congenital Long QT Syndrome: From Japanese Congenital LQTS Multicenter Registry. American Heart Association Scientific Session 2014 (AHA) 11.16. Paris, France
 4. Gomita K, Katoh K, Ejima K, Fukushima K, Hayashi K, Saito C, Yoshida K, Arai K, Manaka T, Ashihara K, Shoda M, Hagiwara N. A Comparison Between Left Appendage Morphologies on Left Appendage Flow Velocity in Patients with Atrial Fibrillation. American Heart Association Scientific Session 2014(AHA) 11.18. Chicago, USA.
- 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
特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業
（難治性疾患克服研究事業））事後評価用報告書

研究課題：「遺伝性不整脈疾患の診断基準・重症度分類・診療ガイドライン等の作成に関する研究」

課題番号：H26-難治等(難)-一般-040

研究代表者：所属機関 滋賀医科大学
氏名 堀江 稔

研究分担者：所属機関 慶應義塾大学
氏名 福田 恵一

所属機関 慶應義塾大学
氏名 湯浅 慎介、相澤 義泰

1 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し、診断基準・重症度分類・診療ガイドライン等の作成に貢献する。

2 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。またそれぞれの疾患特異的iPS細胞を作成し（QT延長症候群は1,2,3,7型）、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し同意書を得た。

3 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、IKr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IKs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IKs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。

4 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。

5 評価

1) 達成度について

H26年度の研究達成度はQT延長症候群の各型およびブルガダ症候群のiPSモデルの作成、病態解析はほぼ終了している。現在は家族性ペースメーカー症候群、J波症候群についても解析を行っている。来年度以降はさらなる病態解明につながる解析および他の遺伝性不整脈疾患についても解析を拡げていく。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

本研究はiPS細胞という世界的にもトピックとなっている手段を用いての解析であり国際的にも競争の激しい分野となっている。またその解析対象を難治性で突然死を来す疾患としており社会的にも大変意義のある研究分野となっている。

3) 今後の展望について

今後は他の遺伝性不整脈疾患、特に家族性心房細動、進行性伝導障害、不整脈源性右室心筋症などの解析も順次行っていく予定である。また遺伝子解析による診断およびリスク評価の確立、疾患特異的iPS細胞から新規の治療法の開発を検索する。

4) 研究内容の効率性について

本研究は慶應義塾大学病院の循環器内科教室で行っており、当該患者のサンプル収集、その基礎的解析を同施設内で効率的に行っている。また共同研究者間で定期的に情報交換を行い、解析を進行させている。

6 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。

7 研究発表

1) 国内

口頭発表	5件
原著論文による発表	0件
それ以外（レビュー等）の発表	0件

そのうち主なもの

論文発表

なし

学会発表

1. 相澤義泰. Unprotected patients with sudden cardiac death syndrome. 第9回Arrhythmia Frontier (AF). 2014年6月28日, 東京都港区.
2. 黒田 裕介 (慶應義塾大学循環器内科). Reverse-mode Na⁺/Ca²⁺ exchanger inhibitor suppresses an arrhythmogenic substrate in Andersen-Tawil syndrome-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. 2014年心臓病学会 Young Investigator's Award (YIA)
3. 田中 敦史(慶應義塾大学 医学部循環器内科), 湯浅 慎介, 野出 孝一, 福田 恵一. 患者特異的iPS細胞を用いた肥大型心筋症の疾患モデリングと新規発症メカニズムの解明. 本循環制御医学会総会プログラム・抄録集 35回 Page119(2014.07)
4. 中嶋一品, 相澤義泰, 伊藤章吾, 櫻村晋, 國富晃, 勝俣良紀, 西山崇比古, 木村雄弘, 西山信大, 谷本陽子, 湯浅慎介, 小崎健次郎, 福田恵一, 高月誠司. ラミンA/C変異を認めた家族性洞不全症候群の1例. 第27回臨床不整脈研究会. 2015年1月10日, 東京都港区. (優秀演題賞(3位)受賞)
5. 伊藤章吾, 相澤義泰, 中嶋一品, 櫻村晋, 國富晃, 勝俣良紀, 西山崇比古, 木村雄弘, 西山信大, 福本耕太郎, 谷本陽子, 高月誠司, 福田恵一. VF再発およびelectrical stormを呈するBrugada症候群・特発性心室細動症例の臨床的特徴. 第13回 特発性心室細動研究会(J-IVFS). 平成27年2月14日 (土). 東京都千代田区.

2) 海外

口頭発表 1件

原著論文による発表 7件

それ以外(レビュー等)の発表 0件

そのうち主なもの

論文発表

1. Egashira T, Yuasa S, Kimura M, Sawano M, Anzai A, Hayashida K, Kawamura A, Kimura T, Nishiyama N, Aizawa Y, Takatsuki S, Tsuruta H, Murata M, Yamada Y, Kohno T, Maekawa Y, Sawano M, Kosaki K, Fukuda K. Coexistence of two distinct fascinating cardiovascular disorders: Heterotaxy syndrome with left ventricular non-compaction and vasospastic angina. *Int J Cardiol*. 2014 Jun 15;174(2):e54-6.
2. Sano M, Kamitsuji S, Kamatani N, Hong KW, Han BG, Kim Y, Kim JW, Aizawa Y, Fukuda K; Japan Pharmacogenomics Data Science Consortium (JPDS). Genome-wide association study of electrocardiographic parameters identifies a new

association for PR interval and confirms previously reported associations. *Hum Mol Genet*. 2014 Dec 15;23(24):6668-76.

3. Aizawa Y, Sato M, Ohno S, Horie M, Takatsuki S, Fukuda K, Chinushi M, Utsui T, Aonuma K, Hosaka Y, Haissaguerre M, Aizawa Y. Circadian pattern of fibrillatory events in non-Brugada-type idiopathic ventricular fibrillation with a focus on J waves. *Heart Rhythm*. 2014 Dec;11(12):2261-6.
4. Yamakawa H, Murata M, Suzuki T, Yada H, Ishida H, Aizawa Y, Adachi T, Kamiya K, Fukuda K. Suppression of Rad leads to arrhythmogenesis via PKA-mediated phosphorylation of ryanodine receptor activity in the heart. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Sep 26;452(3):701-7.
5. Kaneko Y, Horie M, Niwano S, Kusano K, Takatsuki S, Kurita T, Mitsuhashi T, Nakajima T, Irie T, Hasegawa K, Noda T, Kamakura S, Aizawa Y, Yasuoka R, Torigoe K, Suzuki H, Ohe T, Shimizu A, Fukuda K, Kurabayashi M, Aizawa Y. Electrical Storm in Patients with Brugada Syndrome is Associated with Early Repolarization. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2014 Dec;7(6):1122-8.
6. Sano M, Aizawa Y, Katsumata Y, Nishiyama N, Takatsuki S, Kamitsuji S, Kamatani N, Fukuda K. Evaluation of Differences in Automated QT/QTc Measurements between Fukuda Denshi and Nihon Koden Systems. *PLoS One*. 2014 Sep 17;9(9):e106947.
7. Aizawa Y, Sato M, Kitazawa H, Aizawa Y, Takatsuki S, Oda E, Okabe M, Fukuda K. Tachycardia-dependent augmentation of "notched J waves" in a general patient population without ventricular fibrillation or cardiac arrest: Not a repolarization but a depolarization abnormality? *Heart Rhythm*. 2015 Feb;12(2):376-83.

学会発表

1. Yoshiyasu Aizawa, Seiji Takatsuki, Shin Kashimura, Takahiko Nishiyama, Yoshinori Katsumata, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Yoko Tanimoto, Kojiro Tanimoto, Hideo Mitamura, Kenjiro Kosaki, Keiichi Fukuda. RyR2 Mutation may Underlie a Short-coupled Variant of Torsade de Pointes. *Heart Rhythm* 2014, San Francisco, CA, USA.

8 知的所有権の出願・取得状況(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 QT 延長症候群の遺伝子基盤に基づいた病態解明と診断・治療法の開発

研究分担者 吉永正夫¹⁾

分担協力者 緒方裕光²⁾、牛ノ濱大也³⁾、堀米仁志⁴⁾、住友直方⁵⁾、岩本眞理⁶⁾、高橋秀人⁷⁾、長嶋正實⁸⁾、

所 属¹⁾国立病院機構鹿児島医療センター、²⁾国立保健医療科学院研究情報支援研究センター、³⁾福岡市立こども病院・感染症センター循環器科、⁴⁾筑波大学附属病院 茨城県小児地域医療教育ステーション、⁵⁾埼玉医科大学国際医療センター小児心臓科、⁶⁾横浜市立大学附属病院、⁷⁾福島県立医科大学医学部放射線医学県民健康管理センター情報管理・統計室、⁸⁾愛知県済生会リハビリテーション病院、

研究要旨

【目的】小児期 QT 延長症候群の遺伝子基盤に基づいた病態解明と診断・治療法を開発するために、学校心臓検診（以下、心検）で抽出された患児の Kaplan-Meier 法による累積症状出現頻度、多変量解析による症状出現の危険因子を検討すること。【対象と方法】20 歳以下の LQTS 患児 489 名を対象とし、心検でスクリーニングされた群（心検群）、症状が出現したため病院を受診した群（臨床群）、家族検診で受診、あるいは偶然診断された群（その他群）の 3 群に分類した。累積症状出現頻度の推定には Kaplan-Meier Method を、群間比較には log-rank test を用いた。診断後の症状出現のリスクファクターの解析には multiple logistic regression analysis を用いた。片側で $P < 0.05$ を有意とした。【結果】計 489 名の LQTS 患児のうち、心検群 316 名、臨床群 69 名、その他群 104 名であった。遺伝変異の判明した患児の中でみると、LQT1、LQT2、LQT3 の頻度は 3 群間で有意差を認めなかった。診断前後での運動が誘因になる頻度をみると、心検群、その他群では差がなかったが、臨床群では有意に増加していた ($P=0.049$)。一方、水泳が誘因となる頻度は心検群で有意に低下していた ($P=0.002$)。臨床群、その他群では差はなかった。累積症状出現頻度は心検群 28.3%、臨床群 100%、その他群 34.6%であった。診断後の症状出現予測因子は心検群では長い QTc 値 ($P=0.03$)、経過観察期間 ($P=0.001$)、臨床群では低年齢診断 ($P=0.01$)、診断時の徐脈 ($P=0.007$)、診断前の症状の回数 ($P=0.04$)であった。その他群では心検群と同様、長い QTc 値 ($P=0.02$)、経過観察期間 ($P=0.02$)であった。【結論】心検群の累積症状出現頻度は 28.3%であり、心検でスクリーニングされた患児も、臨床群と同様、長期間のフォローが必要と考えられた。水泳処方については守られていたが、LQTS 患児に対する運動処方について再検討が必要と考えられた。

A. 研究目的

QT 延長症候群 (LQTS) は心電図上 QT 延長を示し、症状として失神、突然死、蘇生された心停止を示す遺伝性不整脈疾患の一つである¹⁻³。現在まで 15 の責任遺伝子が証明され⁴、健常新生児の 2,000 人に一人に責任遺伝子が証明されている⁵。

1957 年に難聴と QT 延長を伴う 4 例が報告されて以来⁶、LQTS の病態、診断、治療への理解は急速に進んでいる^{1,5}。現在までに LQTS 患者全体での²、または小児期⁷、思春期⁸、成人⁹における最終的な累積症状出現頻度 (cumulative prevalence of symptoms) およびリスク評価については多くの報告がある。

日本では小学校 1 年、中学校 1 年、高校 1 年生の全員に対して学校心臓検診（以下、心

検）による心電図スクリーニングが行われ、多くの QT 延長を示す児童生徒が抽出されている³。心検により診断される頻度は中学生で 1,200 人に一人である¹⁰。現在まで、多数例を用いての心検で抽出された LQTS 患児の累積症状出現頻度および危険因子の解明は報告されていない。

本研究において、心検で抽出された患児の Kaplan-Meier 法による累積症状出現頻度、多変量解析による症状出現の危険因子を検討した。

B. 研究方法

1. 対象

20 歳以下の LQTS 患児 489 名。2003 年 2 月より 2005 年 3 月までは鹿児島大学医学部小

児科に、2005年4月から2014年12月までは国立病院機構鹿児島医療センター小児科に小児期LQTS患児として登録された例とした。対象を、心検でスクリーニングされた群（心検群）、症状が出現したため病院を受診した群（臨床群）、家族検診で受診、あるいは偶然診断された群（その他群）の3群に分類した。

2. QT延長のスクリーニング基準、LQTS診断基準

本研究においては、QT延長のスクリーニング基準、LQTSの診断基準は主治医の判断によった。日本小児循環器学会はQT延長のスクリーニング基準として、心拍数75未満の場合 Bazett 補正による QTc 値 (QTcB) ≥ 450 ms、75 以上の場合 QTcB ≥ 500 ms を推奨してきた¹¹。Bazett 補正では高心拍数帯では過剰補正することが知られているので、現在では日本小児循環器学会では Fridericia 補正 (QTcF) による基準値¹²を推奨している¹³。LQTS の診断については多くの小児循環器医は最終診断として Scoring system を用いていると考えられる^{14,15}。

3. QT 間隔の測定

全ての心電図は 25 mm/s の速度で記録されたものを用いた。QT/RR 間隔の測定は本研究のために一人の研究者 (MY) が再計測した。V5 または II 誘導を用い、連続 3 心拍の QT 間隔を接線法にて測定した。個々の QT/RR 間隔で QTcB または QTcF 値を算出し、統計学的解析には 3 心拍の平均値を用いた。

4. 統計学的解析

統計学的解析には unpaired t-test か Fisher's exact probability test を用いた。累積症状出現頻度の推定には Kaplan-Meier Method を、群間比較には log-rank test を用いた。診断後の症状出現のリスクファクターの解析は初めに monivariate logistic regression analysis を行い、有意であったものについて multiple logistic regression analysis を行った。統計学的解析には IBM® SPSS® Statistics Version 21.0 (IBM Japan, Ltd., Tokyo, Japan)を用い、片側で $P < 0.05$ を有意とした。

(倫理面への配慮)

本研究の内容は 1993 年 11 月から 2005 年 3 月までは鹿児島大学医学部倫理委員会の、2005 年 4 月からは国立病院機構鹿児島医療センター倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

1. 対象

計 489 名の LQTS 患児のうち、心検群 316 名、臨床群 69 名、その他群 104 名であった(表 1)。心検群の QTc 値は臨床群より有意に低く、

その他群より有意に高かった。心検群の LQTS および心臓突然死の家族歴は、臨床群、その他群より有意に低かった。遺伝変異の判明した患児の中で、LQT1、LQT2、LQT3 の頻度は 3 群間で有意差を認めなかった(表 2)。

2. 各群の症状出現の頻度

心検群では、既に 22 例 (7%) に症状が出現していたが、診断されていなかった(表 3)。診断後の症状出現頻度は心検群 28 例 (9%)、臨床群 32 例 (46%)、その他群 16 例 (15%)であり、心検群の症状出現は臨床群の症状出現より有意に少なかった ($p=0.000$)。突然死例は、心検群 1 例 (心検群の 0.32%)、臨床群 4 例 (臨床群の 5.8%)であった(表 3)。

診断前における運動、水泳、感情変動、安静/睡眠、その他/不明が誘因となる頻度は、心検群と臨床群間で有意差はなかった。診断後も同様であった。ただ、診断前後での運動が誘因になる頻度をみると、心検群 (36% vs 39%)、その他群 (29% vs 50%)では差がなかったが、臨床群では有意に増加していた (33% vs 56%, $P=0.049$)。一方、水泳が誘因となる頻度は心検群では有意に低下していた (32% vs 0%, $P=0.002$)。臨床群 (20% vs 6%, $P=0.09$)、その他群 (0% vs 13%, $P=0.49$)では差はなかった。

3. 累積の Event-free 頻度

累積の Event-free の頻度は抽出群 71.7%、臨床群 0%、その他群 65.4%であった(図 2)。累積症状出現頻度はそれぞれ、28.3%、100%、34.6%になる。

4. 診断後の症状出現予測因子

Multiple logistic regression analysis でみた診断後の症状出現予測因子は心検群では長い QTc 値 ($P=0.03$)、経過観察期間 ($P=0.001$)、臨床群では低年齢診断 ($P=0.01$)、診断時の徐脈 ($P=0.007$)、診断前の症状の回数 ($P=0.04$)であった。その他群では、心検群と同様長い QTc 値 ($P=0.02$)、経過観察期間 ($P=0.02$)であった。

D. 考察

今回の研究で、心検で抽出された LQTS 患児の累積症状出現頻度は 28.3%であること、遺伝学的検査が行われた例では主要な LQT1、LQT2、LQT3 の 3 型で頻度に差がないこと、診断後、水泳が誘因となる頻度が有意に低下すること、がわかった。

現在まで、心検でスクリーニングされた LQTS 患児の累積症状出現頻度は不明であった。今後、心検の cost-effectiveness を検討するうえで重要なデータになると考えられる。

心検群での突然死者は 1 例 (女児) であり、睡眠中に死亡していた。睡眠中の死亡である

ため詳細は不明であるが、最初の LQTS 関連症状と考えられた。このような high risk 者の risk factor を特定する必要がある。

LQTS 患児の生活習慣の改善においては、運動、水泳に対する処方は特に重要と考えられる。興味深いことに心検群では水泳が誘因になることが診断後有意に減少していた。小児にとって水泳の制限は苦にならないこと、あるいは水泳処方の説明が行き届いていることが推察される。反対に、運動が誘因となっている患児の頻度は減少せず、臨床群では有意に増加していた。運動制限は症状出現防止に推奨されるべき項目であるが、実際には守られていないことが推察される。今後の検討が必要である。

心検群での診断後の症状出現のリスクファクターは長い QTc 値と経過観察期間であった。累積症状出現頻度が 28.3% に昇ることを考えると、心検でスクリーニングされた患児も、臨床群と同様、長期間のフォローが必要と考えられた。

E. 結論

心検群の累積症状出現頻度は 28.3% であり、心検でスクリーニングされた患児も、臨床群と同様、長期間のフォローが必要と考えられた。死亡例は最初の event で死亡しており、high risk 患児の抽出が重要と考えられる。LQTS 患児に対する運動処方についての再検討も必要と考えられた。

(付記)

本報告は論文 (参考文献 16) として投稿中である。Priority は投稿中論文にある。

文献

1. Schwartz PJ, Ackerman MJ. The long QT syndrome: a transatlantic clinical approach to diagnosis and therapy. *Eur Heart J* 2013;34:3109-16.
2. Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, et al. Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1866-1874.
3. Yoshinaga M, Kucho Y, Sarantuya J, et al. Genetic Characteristics of Children and Adolescents with Long QT Syndrome Diagnosed by School-Based Electrocardiographic Screening Programs. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2014;7:107-12.
4. Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, et al. Prevalence of the congenital long-QT syndrome. *Circulation* 2009;120:1761-1767.
5. Mizusawa Y, Horie M, Wilde AA. Genetic and clinical advances in congenital long QT syndrome. *Circ J* 2014;78:2827-33.
6. Jervell A, Lange-Nielsen F. Congenital deaf-mutism,

functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death. *Am Heart J* 1957; 54: 59-68.

7. Goldenberg I, Moss AJ, Peterson DR, et al. Risk factors for aborted cardiac arrest and sudden cardiac death in children with the congenital long-QT syndrome. *Circulation*. 2008;117:2184-91.
8. Hobbs JB, Peterson DR, Moss AJ, et al. Risk of aborted cardiac arrest or sudden cardiac death during adolescence in the long-QT syndrome. *JAMA*. 2006;296:1249-54.
9. Sauer AJ, Moss AJ, McNitt S, et al. Long QT syndrome in adults. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:329-37.
10. Fukushige T, Yoshinaga M, Shimago A, et al. Effect of age and overweight on the QT interval and the prevalence of long QT syndrome in children. *Am J Cardiol*, 2002; 89:395-8.
11. 馬場国蔵、浅井利夫、北田実男、他. 学校心臓検診二次検診対象者抽出のガイドライン (2006年改訂) - 一次検診の心電図所見から -. 日小児循環器会誌, 2006;22:503-513.
12. Hazeki D, Yoshinaga M, Takahashi H, et al. Cut-offs for screening prolonged QT intervals from Fridericia's formula in children and adolescents. *Circ J*. 2010;74:1663-9.
13. 吉永正夫、泉田直己、岩本眞理、他. 器質的心疾患を認めない不整脈の学校生活下院里指導ガイドライン (2013年改訂版). 日小児循環器会誌, 2013;29:277-290.
14. Schwartz PJ, Moss AJ, Vincent GM, Crampton RS. Diagnostic criteria for the long QT syndrome. An update. *Circulation*. 1993;88:782-4.
15. Schwartz PJ, Crotti L, Insolia R. Long-QT syndrome: from genetics to management. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012;5(4):868-77.
16. Yoshinaga M, Ogata H, Ushinohama, et al. Cumulative prevalence of symptoms and risk assessment of pediatric patients with long QT syndrome who were diagnosed by school-based screening program for heart diseases in Japan. (in submission)

図の説明

図 1 診断前後での誘因の変化 (文献 16 を改変)

症状出現者数に対する運動 (a)、水泳 (b) が誘因となった症例数

図 2 各群における Event-free の頻度 (文献 16 を改変)

累積の Event-free の頻度は抽出群 71.7%、臨床群 0%、その他群 65.4%であった。累積症状出現頻度はそれぞれ、28.3%、100%、34.6%になる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yoshinaga M, Kucho Y, Sarantuya J, Ninomiya Y, Horigome H, Ushinohama H, Shimizu W, Horie M. Genetic Characteristics of Children and Adolescents with Long QT Syndrome Diagnosed by School-Based Electrocardiographic Screening Programs. **Circ Arrhythm Electrophysiol**, 2014;7(1):107-12.
- (2) Mitani Y, Ohta K, Ichida F, Nii M, Arakaki Y, Ushinohama H, Takahashi T, Ohashi H, Yodoya N, Fujii E, Ishikura K, Tateno S, Sato S, Suzuki T, Higaki T, Iwamoto M, Yoshinaga M, Nagashima M, Sumitomo N. Circumstances and Outcomes of Out-Of-Hospital Cardiac Arrest in Elementary and Middle School Students in the Era of Public-Access Defibrillation: Implications for Emergency Preparedness in Schools. **Circ J**. 2014;78(3):701-7.
- (3) Kokunai Y, Nakata T, Furuta M, Sakata S, Kimura H, Aiba T, Yoshinaga M, Osaki Y, Nakamori M, Itoh H, Sato T, Kubota T, Kadota K, Shindo K, Mochizuki M, Shimizu W, Horie M, Okamura Y, Ohno K, Takahashi MP. A Kir3.4 mutation causes Andersen-Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1. **Neurology** 2014;82(12):1058-64.

2. 著書・総説

- (1) 吉永正夫. 乳児突然死症候群. **Cardiac Practice**, 2014;25(2):25-28. (2014年4月30日発行)
- (2) 吉永正夫. 乳児突然死症候群の原因となる心臓伝導障害. 小児科診療 UP-to-DATE (ラジオ NIKKEI 放送内容集), 2014;3:16-22 (2013年12月31日発行)

3. 学会発表

- (1) 平林雅子、田中裕治、吉永正夫、野村裕一、長嶋正實、牛ノ濱大也、佐藤誠一、田内宣生、堀米仁志、住友直方、白石裕比湖. 乳幼児突然死症候群に関与するリスク環境の1か月健診時および1年後のアンケート調査による後方視的検討. 第117回日本小児科学会学術集会、名古屋、平成26年4月11日、
- (2) 吉永正夫、高橋秀人、田内宣生、岩本眞理、堀米仁志、太田邦雄、市田蒔子、長嶋正實. エビデンスに基づいた学校心臓検診の費用対効果に関する研究. 第50回日本小児循環器学会総会・学術集会、岡山市、平成26年7月4日
- (3) 岩本眞理、長嶋正實、吉永正夫、住友直方.

学校心臓検診の現状～2013年全国調査からのメッセージ～. 第50回日本小児循環器学会総会・学術集会、岡山市、平成26年7月4日

- (4) Yoshinaga M. Symposium "Recent Topics of Inherited Arrhythmia". Diagnosis and Management of Children and Adolescents with Long QT Syndrome. Joint Meeting of The 29th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society and The 31st Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Electro Physiology, Tokyo, 2014/7/24.
- (5) Yoshinaga M, Takahashi H, Tauchi N, Iwamoto M, Horigome H, Ohta K, Ichida F, Nagashima M. Evidence-based cost-effective analysis of a school-based ECG Screening System for CV diseases in Japan. Joint Meeting of The 29th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society and The 31st Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Electro Physiology, Tokyo, 2014/7/25.
- (6) Masao Yoshinaga, Yuji Tanaka, Yuichi Nomura, Makoto Nishibatake. Prevalence of children and adolescents with long QT syndrome (LQTS) according to the criteria of the HRS/EHRA/APHRS Expert Consensus Statement. Joint Meeting of The 29th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society and The 31st Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Electro Physiology, Tokyo, 2014/7/25.
- (7) Yoshinaga M. Symposium "How to Find High Risk Patients in Inherited Arrhythmia Syndromes? Screening of High Risk Infants, Children, and Adolescents with Long QT syndrome. Joint Meeting of The 29th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society and The 31st Annual Scientific Meeting of the Japanese Society of Electro Physiology, Tokyo, 2014/7/25.
- (8) Yoshinaga M, Sato S, Ushinohama H, Horigome H, Sumitomo N, Tauchi N, Iwamoto M, Tateno S, Izumida N, Nagashima M. Risk factors predicting the future presence of long QT syndrome-related symptoms in pediatric patients diagnosed by school-based electrocardiographic screening programs in Japan. 48th Annual Meeting of the Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (**AEPC 2014**), Helsinki, 2014.5.22.
- (9) Yoshinaga M, Miyazaki A, Aoki M, Ito Y, Kubo T, Hamajima T, Horigome H, Takahashi H, Iwamoto M, Ogata H, Tokuda M, Tachikawa T, Hara M, Shinomiya M, Nagashima M. Impact

of lifestyles of children and their parents on cardiovascular risk factors in elementary school children. 48 th Annual Meeting of the Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (**AEPC 2014**), Helsinki, 2014.5.22.

- (10) Yoshinaga M, Kucho Y, Tanaka Y, Ninomiya Y, Nomura Y. Prevalence of children and adolescents with long QT syndrome (LQTS) according to the criteria of the HRS/EHRA/APHRS Expert Consensus Statement. **European Society of Cardiology Congress (ESC) 2014**, Barcelona, 2014.9.2
- (11) Aiba T, Makimoto H, Makiyama T, Watanabe H, Hayashi K, Nakano Y, Miyauchi Y, Morita H, Aonuma K, Hagiwara N, Fukuda K, Yoshinaga M, Horigome H, Sumitomo N, Tanaka T, Sekine A, Hiraishi I, Kusano K, Miyamoto Y, Kamakura S, Yasuda S, Ogawa H, Makita N, Horie M, Shimizu W. Diverse Gender Difference of Arrhythmic Risk in Patients With Congenital Long QT Syndrome: From Japanese Congenital LQTS Multicenter Registry. Scientific Session 2013 American Heart Association (**AHA**), Chicago, 2014.11.16
- (12) Yoshinaga M, Miyazaki A, Aoki M, Ito Y, Kubo T, Hamajima T, Horigome H, Takahashi H, Iwamoto M, Ogata H, Tokuda M, Tachikawa T, Hara M, Shinomiya M, Nagashima M. Effect of Lifestyles of Children and Their Parents on the Levels of Cardiovascular Risk Factors in Elementary School Children. Scientific Session 2013 American Heart Association (**AHA**), Chicago, 2014.11.19
- (13) Yamashita Y, Uruta S, Sato R, Yoshinaga M, Ishikawa S, Shida M, Hoshiko K, Mochinaga S, Nishihara S, Shimada S, Takamura K, Honjo S, Ganaha H, Sunagawa M, Nakarai T. Analysis of Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Infants, Children and Adolescents in the Kyushu Area in Japan by Locally Obtained Data. Scientific Session 2013 American Heart Association (**AHA**), Chicago, 2014.11.19
- (14) 吉永正夫、田中裕治、小川結実、山下恵里香、田上和幸、塗木徳人、藺田正浩. 左室心筋厚が 13 mm 未満の肥大型心筋症 (HCM) の 2 例. 第 23 回日本小児心筋疾患学会、東京都、平成 26 年 10 月 11 日
- (15) 吉永正夫、櫛木大輔、福重寿郎. 学校心臓検診での QT 短縮症候群スクリーニングに関する検討. 第 19 回日本小児心電学会学術集会、平成 26 年 11 月 28 日、札幌

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

遺伝性不整脈疾患の診断基準・重症度分類・診療ガイドライン等の作成に関する研究

独立成分分析と主成分分析を用いた先天性QT延長症候群のT波の解析
～先天性QT延長症候群1型と3型を対象とした検討～

研究分担者 堀米 仁志 筑波大学医学医療系小児科 教授
研究協力者 高橋 一浩 筑波大学附属病院茨城県小児地域医療教育ステーション 部長
石川 康宏 沖縄県立こども医療センター小児循環器科 成人先天性心臓病科部長
石川 康宏 石川医院 院長

研究要旨

【目的】先天性QT延長症候群(LQTS)は基本的に心電図のQT時間延長で診断されるが、それ以外に遺伝子型によって特徴的なT波形態を示すことが知られている。これは再分極過程の不均一性に由来すると推測され、心室頻拍(VT)の発症にも関連する。そこで独立成分分析(ICA)および主成分分析(PCA)を用いてT波の不均一性を評価し、LQTSの診断およびVT発症予測における有用性を検証した。【対象】遺伝子検査で診断が確定したLQT1: 22例とLQT3: 12例を対象とした。健常者30例を対照群とした。【方法】生体アンプMA1000(TEAC)を用いて体表面10チャンネル波形を2,048Hzで記録し、A/DコンバータEC2360(Elmec)でデジタル化した。T波領域を対象としてWaveletによるノイズ処理を行った後、PCAおよびランダムノイズ付加法を用いたRadical ICAで解析した。【結果】PCAの結果: PCA ratio(第2主成分/第1主成分比)は対照群: 14.1±11.8%、LQT1: 31.6±21.3%、LQT3: 35.9±22.1%でLQTSが有意に高値($p < 0.01$)を示した。ICAの結果: 対照群全例でT波は4つの基本独立成分(IC)から構成されていたのに対して、LQT1(QTc 509±48ms)では5-6個、LQT3(QTc 486±17ms)では6-7個のICが検出され、LQTS症例を明確に鑑別できた。IC数が多いほどPCA ratioは高い傾向を示した。LQTSにおけるLQT関連症状有群と無群の比較ではIC数とPCA ratioに有意差はなかったが、失神やVTを伴った症例が少なく十分な検討ができなかった。また、LQT3でメキシレチン内服有の方が無よりもQTcは有意に低値を示した(QTc 468±24 vs 504±27ms)が、IC数とPCA ratioは有意差がなかった。【まとめ】LQT1,3はいずれもICAによって過剰なT波成分が検出され、PCA ratioも有意に高値を示した。これは再分極過程の不均一性を示していると推定される。さらに症例を増やして検討することによって、VT出現や生命予後の予測に応用できる可能性がある。

A. 研究目的

先天性QT延長症候群(congenital long QT syndrome, LQTS)は運動時、精神的緊張時、ときに安静時に心室頻拍(ventricular tachycardia, VT)、torsade de pointes (TdP)を発症し、失神、突然死を呈する遺伝性不整脈疾患で、その頻度はおよそ2500人に1人とされる。近年、その原因が心筋細胞のイオンチャンネル蛋白をコードする遺伝子の変異にあることが解明され、遺伝子型によってLQTS1型～13型まで分類されている。基本的にLQTSは心電図上のQT時間の延長に基づいて診断されるが、その延長の程度が境界域の場合やT波の終点が不明瞭で計測が困難な場合は診断に迷うことがある。また、QT時間は自律神経、心拍数、薬物などの影響を受けて変動するため、1回の心電図記録では診断に至らないこともある。

LQTSの心電図のもう一つの特徴はT波形態の異常である。LQTSは変異イオンチャンネルの種類によってある程度特徴あるT波形態を示すことが注目されている[Moss AJ et al. Circulation 1995; Zhang L, et al. Circulation 2000]。

QT延長の程度が境界領域であってもT波形態の特徴からLQTSが診断されることもある[Couderc JP, et al. Heart Rhythm 2006]。我々は、LQTSのT波形態に特徴があるのは、再分極過程の異常に基づく過剰な波形成分がT波に含まれるためであるという仮説を立て、独立成分分析(independent component analysis, ICA)および主成分分析(principal component analysis, PCA)を用いてこの過剰成分の検出を試みた。PCAによるT波の解析が心筋再分極過程の不均一性の評価に有用であることは以前から報告され、LQTSの診断のみ

ならず[Priori SG, et al. Circulation 1997]。心血管系リスクや不整脈基質の検出に応用されている[Okin PM, et al. Circulation 2002]。一方、ICAの応用を試みているのは我々のグループ以外にはほとんどない[Horigome H, Ishikawa Y, et al. Circ Arrhythm Electrophysiol 2011]。

本研究では、遺伝子解析で確定しているLQT1型と3型患者を対象として、心電図のT波領域をICAおよびPCAを用いて解析し、両者の結果の相関をみると同時に、LQTSの診断精度、不整脈発症リスク判定における有用性を検討した。

B. 研究方法

[対象]

遺伝子検査でLQTSタイプ1 (*KCNQ1* 変異) が確定しているLQTS患者22例(年齢21.6±13.3歳、女性11例)およびLQT3 12例(年齢17.2±13.9歳、女性5例)を対象とした。失神、痙攣、救命された心停止 (aborted cardiac arrest, ACA) の既往のあるもの、または心電図でVT/TdPが確認されているものはLQT1で22例中15例、LQT3では12例中3例であった。QTc (Bazett補正: QT/√RR) はLQT1で426-590 (509±48.4) msec、LQT3で420-531 (486±17) msであった。LQT1では13例がβ遮断薬を内服中、そのうち2例でメキシレチン、2例でベラパミルが併用されていた。また、LQT3では12例中6例でメキシレチンを内服していた。心肺疾患を伴わず、薬剤を内服していない健常人30例を正常対照群とした。なお、LQTS症例、健常者ともに、心電図記録の前に本研究の目的、方法、予想される結果について説明の上、同意を得て行った。

[方法]

1) データ・サンプリング (心電図記録)

心電図記録はできるだけ電氣的ノイズが少ない検査室で蛍光灯を消し、生体アンプ (TEAC社製、MA1000)を用いて行った。体表面電極には20個のアクティブ電極 (TEAC社製 Au1) を使用し、時定数3.0秒、1,024 Hzで10チャンネルの時系列データとして収集した。チャンネル1は第I誘導、チャンネル2は第II誘導、チャンネル3は第III誘導、チャンネル4-9は胸部と左足間の双極誘導で、それぞれ通常の12誘導心電図のC1-C6 (たとえばC1は第2肋間胸骨右縁・左足間の双極誘導) に相当する。チャンネル10は4C9で、第4肋間胸骨左縁とちょうどその背中側の位置との双極誘導とした。データはA/Dコンバータ (Elmec社製、EC-2360)を用いてデジタル化し、パーソナルコンピュータに保存した。C1-C6のデータは以下の式によりV1-V6に変換した。

$$V_i = C_i + (II + III) / 3 \quad (\text{ここで } i=1 \sim 6)$$

2) 心電図データの解析

データ解析の概略は以下の①～④のステップから構成されている。①～③の詳細については筆者らの論文 (Horigome H, Ishikawa Y, et al: Circ Arrhythm Electrophysiol 2011; 4: 456-464) およびその supplement に記載されている。

① T波領域を対象としたウェーブレット変換によるノイズ処理

デジタル化された心電図データのJ点から次心拍のp波の直前までを対象として、universal threshold法とStein unbiased risk estimate threshold法を併用したハイブリッド閾値法を用いてノイズ処理を行った。近似波形と原波形の近似度は、逆ウェーブレット変換により、各ピーク、屈曲点を確認することにより行った。

② ランダムノイズ負荷法を用いた radical ICA

ICAの結果が局所的な最大値・最小値 (local extrema)の影響を受けないように、標準偏差の倍数でノイズを発生させてランダムに負荷して radical ICAを行った。

③ ICAの結果からベストモデルを選択

radical ICAは、行う度に異なる結果が出るという特徴がある。各例で繰り返し160回ずつ行ったICAから最適のモデルを選択した。

④ PCA

T波領域のみを対象としたPCAを行った。PCAは高次元データが特定の方向に広くばらつくことを利用して、その特定の方向を抽出する方法である。もっとも大きなばらつきを持つ方向が第1主成分、第1主成分と直交し、次に大きなばらつきを持つ方向が第2主成分、以下同様である。得られた結果から、各例の第2主成分/第1主成分比 (PCA ratio)を算出した。

3) ICAとPCAの比較

LQTS症例をICAで得られたICの数によってICが5個の群と6個以上の2群に分け、正常対照群を加えた3群におけるPCA ratioの値を比較検討した。また、失神やVT/TdPを伴った有症状例と無症候例のIC数、PCA ratioを検討した。統計にはいずれもRソフトウェアを用い、前者にはANOVAとBonferroni法を用いたpost hoc testを、後者にはχ²乗検定、Fisherの正確な確率およびt検定を適用した。P<0.05を有意水準とした。

C. 研究結果

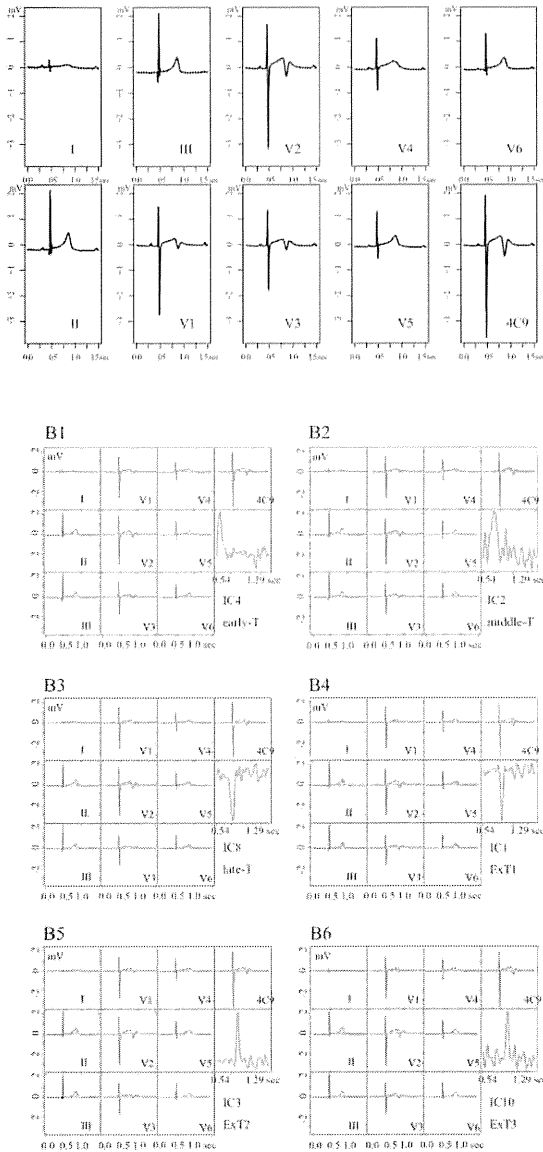
■ICAの結果

対照群全例でT波が4つの基本独立成分(IC)から構成されていたのに対して、LQT1では5-6個、LQT3

では6-7個のICが検出され、ICの数によってLQTS症例を明確に鑑別することができた。LQT1とLQT3を鑑別することはできなかったが、LQT3の方がICが多い傾向があった。LQT3ではメキシレチン内服「あり」の方が「なし」よりもQTcは低値を示した(QTc 504±27ms vs 468±24)が、IC数には有意差がなかった。

LQT症例のICAの具体例を図1に示した。

図1



例) LQTS症例のデジタル心電図独立成分分析

LQTS症例の標準体表面心電図(上図)のT波を独立成分へ分解した結果、通常は4個の成分が6個(B1-B6)検出された(下図)。

■ PCAの結果

PCA ratio (第2主成分/第1主成分比)は、対照群: 14.1±11.8%、LQT1: 31.6±21.3%、LQT3: 35.9±22.1%でLQTSが健常対照群に比べて有意に高値(p<0.01)を示した。しかし、LQT1とLQT3の間では有意差は認められなかった。

LQT3ではメキシレチン内服「あり」の方が「なし」よりもQTcは低値を示した(QTc 468±24 vs 504±27ms, p<0.01)が、PCA ratioには有意差がなかった。

図2にLQT3と健常対象群とのPCA ratioの比較を示した。

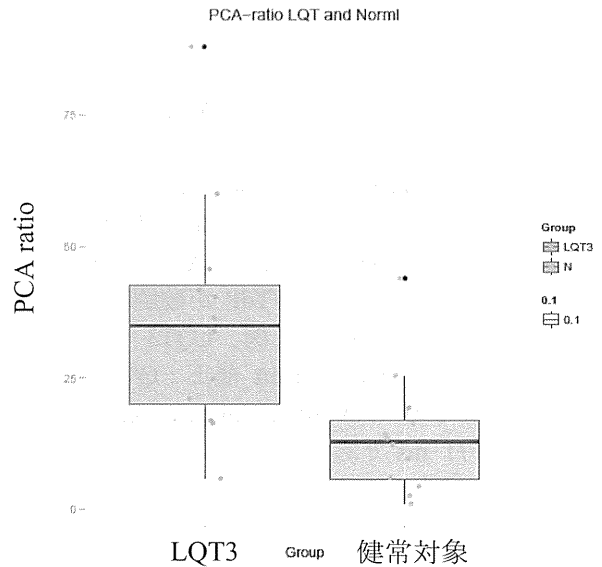


図2 LQT3 (左) と健常対象群 (右) のPCA ratioの比較

LQT3のPCA ratioが有意に高値を示している。

■ ICAとPCAの比較

IC数が多いほどPCA ratioは高い傾向を示した。(図3)

■ LQT関連症状とICA、PCAの関連

LQT関連症状「あり」の群と「なし」の群の比較ではIC数とPCA ratioに有意差はなかったが、失神やVTを伴った症例が少なく十分検討できなかった。図4にLQT3の症状の有無とPCA ratioの関連を示した。