

で確認した。

4. Mini gene

患者ゲノムの *TTN* の exon 260~263 をまたぐゲノム領域 2.0 kb を PCR で増幅し、mini gene 用プラスミド pSPL3 にクローニングした。COS-7 細胞にトランスフェクション後 RNA を回収し、RT-PCR でトランスクリプトのシーケンスを確認した。

5. iPS 心筋細胞

患者末梢血から iPS を樹立した。現在心筋細胞に誘導中である

6. ゲノム再キャプチャー

上記の全エクソン解析の結果を確認するために、罹患者 4 人のゲノムで、第 2 染色体 25 Mb (172,996,789_197,667,205)ゲノム領域をキャプチャーする SeqCap (Roche) カスタムデザインし、HiSeq2000 でシーケンスした。フィルタリングは、エクソームデータベース 1000G・HGVD で MAF<1% と、全ゲノムデータ (東北メガバンク日本人 SNP, MAF<5%と長崎大学 8 人新規) を用いた。4 人に共通するゲノムバリエーション 1,887 個を、さらに、理研の日本人非循環器患者 1000 人の全ゲノムデータベース(BBJ-WGS_1K)の頻度データを用いてフィルタリングし、転写・翻訳に影響を与える可能性のあるものを同定した。

7. ターゲットエクソン解析

TTN が PCCD の新規疾患遺伝子であることを確認するために、不整脈・心疾患関連遺伝子 459 個を搭載したカスタム SeqCap エクソンキャプチャープローブを作成し、HiSeq2500 (Illumina)で家系 A を除く 9 家系のターゲットエクソン解析を行った。

(倫理面への配慮)

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

ゲノムワイド SNP タイピングで、家系 A の疾患

関連領域は染色体 2q の 25Mb 領域に特定できた。アレイ CGH では遺伝子の重複・欠損は見られなかった。罹患者 3 人・非罹患者 1 人の全エクソン解析では、第 2 染色体に存在し、4 人の表現型に一致する低アレル頻度 (1%以下) のバリエーションが 2 つ同定された。そのうち一つは V 型コラーゲン遺伝子 *COL5A2* の変異 L80V である。これは海外の多型データベースには存在しないが、日本人では健常人の 0.9%に存在するため、疾患変異ではなく本家系に見られるタグ SNP の可能性が高いと考えられた。もう一つは巨大サルコメア遺伝子 *TTN* のエクソン 262 上流の新規スプライシング変異だった。この *TTN* 変異は罹患者家族 11 人・非罹患者家族 5 人で遺伝型・表現型が完全に一致していた。*TTN* のエクソン 260-263 の mini gene 実験から、停止コドンをきたす 2 種類の短縮型変異トランスクリプトが確認された。現在、罹患者一人から樹立した iPS 細胞を心筋細胞に誘導しており、これを用いて患者心筋における転写異常を確認する予定である。さらに罹患者 4 人に共通する染色体 2q の 25Mb 上のゲノムバリエーション 1,887 個を、理研の日本人全ゲノムデータベース (BBJ-WGS_1K)でさらにフィルタリングしたところ、185 個に狭まり、そのうち、転写・翻訳に影響を与える可能性のあるものは唯一、エクソームで明らかになったものと同じ、*TTN* のスプライシング変異だった。

TTN が PCCD の新規疾患遺伝子であることを確認するために、不整脈・心疾患関連遺伝子 459 個のターゲットエクソン解析で、変異陰性の PCCD 家系を解析したところ、一家系に *TTN* の (エクソン 48)にナンセンス変異を同定した。この変異は *TTN* の I バンド領域に存在し、家系 A と同様に短縮型の変異タンパクをきたす変異であることが判明した。この変異もどのデータベースにも登録がない。今後家系解析を行う予定である。

D. 考察

本研究では網羅的遺伝子解析によって、PCCD

2家系にデータベース未登録の *TTN* の短縮型変異をきたす変異が同定された。そのうち家系 A に見られた変異は、家族 15 人で表現型・遺伝型が完璧に一致していた。以上から *TTN* は PCCD の新たな疾患遺伝子であると推測される

TTN は巨大遺伝子であり、疾患に関連のない private variation が数多く存在することが知られている。しかし、短縮型変異、なかでも A バンド領域に存在するものは、拡張型心筋症の原因遺伝子であることが証明されており、ミスセンス変異とは生物学的学的意味合いが異なる。

本研究で明らかにされた *TTN* の変異がどのようなメカニズムで伝導障害をきたすかに関しては、現時点では不明である。しかし *TTN* はサルコメアの Z バンドと M バンドを結ぶ巨大タンパクタイチンをコードするだけでなく、心臓の伝導に関連する様々な遺伝子産物 (*MYHC*, *NEB*, *DES*, *KCNE1*) と直接的・間接的に連関していることが知られており、これらの機能分子の連関異常が心臓伝導障害の基盤になっている可能性が考えられる。

E. 結論

タイチン (*TTN*) は拡張型心筋症のみならず、PCCD の原因遺伝子でもあると考えられる。エクソン 363 個をもつ巨大遺伝子 *TTN* をサンガー法でスクリーニングするのは現実的ではないので、今後 PCCD の遺伝子解析の効率化を図るために、*TTN* を載せた疾患スクリーニングパネルの作成と網羅的遺伝子解析の実施を検討する必要があると思われる。

F. 研究発表 論文発表

- 1. Daumy X, Amarouch MY, Lindenbaum P, Bonnaud S, Charpentier E, Bianchi B, Nafzger S, Baron E, Fouchard S, Thollet A, Kyndt F, Barc J, Le Scouarnec S, Makita N, Le Marec H, Dina C, Gourraud JB, Probst V, Abriel H, Redon R, Schott JJ. Targeted resequencing identifies TRPM4 as a major gene predisposing to progressive familial heart block type I. *Int J Cardiol* 207:349-358, 2016.
- 2. Harrell DT, Ashihara T, Ishikawa T, Tominaga I, Mazzanti A, Takahashi K, Oginosawa Y, Abe H, Maemura K, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Priori SG, Makita N. Genotype-dependent differences in age of manifestation and arrhythmia complications in short QT syndrome. *Int J Cardiol* 190:393-402, 2015.
- 3. Hayashi K, Konno T, Tada H, Tani S, Liu L, Fujino N, Nohara A, Hodatsu A, Tsuda T, Tanaka Y, Kawashiri MA, Ino H, Makita N, Yamagishi M. Functional Characterization of Rare Variants Implicated in Susceptibility to Lone Atrial Fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 8(5):1095-1104, 2015.
- 4. Ishikawa T, Jou CJ, Nogami A, Kowase S, Arrington CB, Barnett SM, Harrell DT, Arimura T, Tsuji Y, Kimura A, Makita N. Novel mutation in the alpha-myosin heavy chain gene is associated with sick sinus syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 8(2):400-408, 2015.
- 5. Ishikawa T, Tsuji Y, Makita N. Inherited bradycardia: A diverse genetic background. *J Arrhythm* In press 2015.
- 6. Maharani N, Ting YK, Cheng J, Hasegawa A, Kurata Y, Li P, Nakayama Y, Ninomiya H, Ikeda N, Morikawa K, Yamamoto K, Makita N, Yamashita T, Shirayoshi Y, Hisatome I. Molecular Mechanisms Underlying Urate-Induced Enhancement of Kv1.5 Channel Expression in HL-1 Atrial Myocytes. *Circ J* 79(12):2659-2668, 2015.
- 7. Nademanee K, Raju H, de Noronha SV, Papadakis M, Robinson L, Rothery S, Makita N, Kowase S, Boonmee N, Vitayakritsirikul V, Ratanarapee S, Sharma S, van der Wal AC, Christiansen M, Tan HL, Wilde AA, Nogami A, Sheppard MN, Veerakul G, Behr ER. Fibrosis, connexin-43, and conduction

abnormalities in the Brugada syndrome. *J Am Coll
Cardiol* 66(18):1976-1986, 2015.

学会発表

1. Makita N. SCN5A and ventricular arrhythmias.
Asian Pacific Heart Rhythm Society, 2015/11/22,
Melbourne, Australia.
2. Makita N. New genes for Progressive Cardiac
Conduction Disease. Heart Rhythm Society,
2015/05/14, Boston, USA.
3. Ishikawa T, Ohkubo K, Yamaguchi R, Harrell DT,
Tsuji Y, Watanabe I, Makita N. Dose-Sensitive
Relationship of an SCN10A Pore Mutation and
Enhancer SNPs Identified in a Brugada Syndrome
Family with Different Expressivity. Heart Rhythm
Society, 2015/05/15, Boston, USA.

本研究は本厚労科研による他施設国内共同研究
と、JSPS 二国間共同研究のサポートによる
フランス INSERM の遺伝性不整脈研究チーム
との国際共同研究によって行われた。

- G. 知的所有権の取得状況
なし

遺伝子診断に基づく不整脈疾患群の病態解明および診断基準・重症度分類・
ガイドライン作成に関する研究

研究分担者 住友直方 埼玉医科大学国際医療センター 小児心臓科

研究要旨 カテコラミン誘発多形性心室頻拍（CPVT）は運動や、カテコラミンの上昇するような状況で、多形性心室頻拍、心室細動を引き起こす遺伝性不整脈である。リアノジン受容体（*RyR2*）の変異をもつ CPVT 患者の臨床的特徴を検討した。*RyR2* 変異のある 250 名の CPVT 患者のうち知的障害を認めたものは 18 例(7%)で平均年齢は 9.0 ± 4.6 歳、16 例(89%)に症状を認め、そのうち 2 例は心肺停止蘇生例であった。17 例(94%)は運動中、Holter 心電図、もしくは薬剤負荷試験で心室性不整脈を認めた。13 例(72%)に上室性不整脈を合併していた。8 例は発作性心房細動で、3 例はそれ以外の上室性頻拍であった。 7.9 ± 7.2 年の経過観察中、8 例(47%)が不整脈関連症状(心肺停止蘇生例 4 例、心肺停止 2 例を含む)を認めた。9 例(50%)に ICD が植込まれ、4 例に左星状神経節切除術が施行された。知的障害の発現頻度は一般人口に比較して CPVT 患者では多いことが判明した。上室性、心室性不整脈の発症もより重篤な例が多いことが判明した。

A. 研究目的

カテコラミン誘発多形性心室頻拍（CPVT）は運動や、カテコラミンの上昇するような状況で、多形性心室頻拍、心室細動を引き起こす遺伝性不整脈である¹。このうち 50%以上のものがリアノジン受容体（*RyR2*）の変異が原因であることが分かっている²。*RyR2* は心筋と同時に脳にも発現しており、CPVT 患者は知的障害を同時に合併するのではないかとの仮説に基づき研究を行った。

B. 研究方法

6 つの日本とオランダの施設から登録の合った *RyR2* 変異のある 250 例の CPVT 患者のうち知的障害を合併する患者を選び、その臨床的特徴を検討した。

（倫理面への配慮）

患者登録は連結可能匿名化を行い、個人情報漏洩に配慮した。患者の治療に関しては通常通り行ない、倫理的問題はないと考えら

れる。

C. 研究結果

RyR2 変異のある 250 名の CPVT 患者のうち知的障害を認めたものは 18 例(7%)であった。この内 10 例(56%)は男性であった。診断時の平均年齢は 9.0 ± 4.6 歳で、14 例に家族の遺伝子検査を行い、10 例(71%)が de novo の変異を認めた。16 例(89%)に症状を認め、そのうち 2 例は心肺停止蘇生例であった。17 例(94%)は運動中、Holter 心電図、もしくは薬剤負荷試験で心室性不整脈を認めた。13 例(72%)に上室性不整脈を合併していた(図)。8 例は発作性心房細動で、3 例はそれ以外の上室性頻拍であった。知的障害の程度は、軽度から重度であり、その他の神経発達障害を 7 例(39%)に認めた。全例 β 遮断薬を服用しており、10 例(59%)は flecainide を、2 例(12%)は verapamil を併用していた。 7.9 ± 7.2 年の経過観察中、8 例(47%)が不整脈関連症状(心

肺停止蘇生例 4 例、心肺停止 2 例を含む)を認めた。9 例(50%)に ICD が植込まれ、4 例に左星状神経節切除術が施行された。

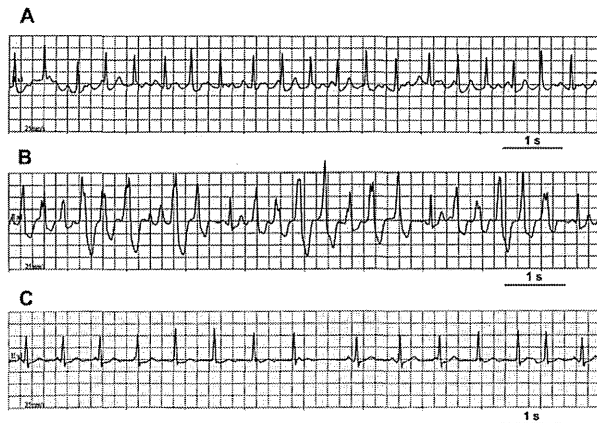


図 CPVT に知的障害を合併した患者の運動負荷心電図 (本報告の中の 1 例、文献 3 より引用)

A 心房細動

B 多形性心室頻拍

C atenolol 投与後には多形性心室頻拍は抑制されたが、接合部頻拍を認める。

D. 考察

一般人口における知的障害の頻度は 1~3%と報告されており^{4,5}、今回の報告の 18 例(7%)と比較して明らかに少ない。CPVT 患者は約 7 倍の頻度で知的障害を合併することになる。

現在まで RyR2 変異をもつ CPVT にてんかん^{6,7}や、ADHD⁸、軽度の知的障害⁹を合併したという報告がある。

今回の症例では、上室頻拍の発生頻度が高く、心房筋の Ca 伝達異常に関与することが考えられる¹⁰⁻¹²。

E. 結論

知的障害の発現頻度は一般人口に比較して CPVT 患者では多いことが判明した。また上室性、心室性不整脈の発症もより重篤な例が多いことが判明した。

文献

1. Leenhardt A, Lucet V, Denjoy I, Grau

F, Ngoc DD, Coumel P: Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in children. A 7-year follow-up of 21 patients. *Circulation* 1995; 91:1512-1519.

2. Medeiros-Domingo A, Bhuiyan ZA, Tester DJ, Hofman N, Bikker H, van Tintelen JP, Mannens MMAM, Wilde AA M, Ackerman MJ: The RYR2-encoded ryanodine receptor/calcium release channel in patients diagnosed previously with either catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia or genotype negative, exercise-induced long QT syndrome: a comprehensive open reading frame mutation. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:2065-2074.

3. Sugiyasu A, Oginosawa Y, Nogami A, Hata Y: A case with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia unmasked after successful ablation of atrial tachycardias from pulmonary veins. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2009; 32: e21-24.

4. van Bokhoven H: Genetic and epigenetic networks in intellectual disabilities. *Annu Rev Genet* 2011; 45:81-104.

5. Nagrani T, Siyamwala M, Vahid G, Bekheit S: Ryanodine calcium channel: a novel channelopathy for seizures. *Neurologist* 2011; 17:91-94.

6. LaPage MJ, Russell MW, Bradley DJ, Dick M: Novel ryanodine receptor 2 mutation associated with a severe phenotype of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Pediatr Electrophysiol*, 2012; 161:362-364.

7. Johnson JN, Tester DJ, Bass NE, Ack

- erman MJ: Cardiac channel molecular autopsy for sudden unexpected death in epilepsy. *J Child Neurol* 2010; 25: 916–921.
8. Hamdan FF, Srour M, Daoud H, et al.: De Novo Mutations in Moderate or Severe Intellectual Disability. 2014; 10.
9. Nagrani T, Siyamwala M, Vahid G, Bekheit S: Ryanodine calcium channel: a novel channelopathy for seizures. *Neurologist* 2011; 17:91–94.
10. Purohit A, Rokita AG, Guan X, et al.: Oxidized Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II triggers atrial fibrillation. *Circulation* 2013; 128:1748–11. Huke S, Knollmann BC: Oxidized CaMKII: a “heart stopper” for the sinus node? *J Clin Invest* 2011; 121:2975–2977.
12. Faggioni M, Savio-Galimberti E, Venkataraman R, Hwang HS, Kannankeril PJ, Darbar D, Knollmann BC: Suppression of spontaneous calcium elevations prevents atrial fibrillation in caldesmon-2-null hearts. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2014; 7:313–320.

F. 研究発表
論文発表

- 1. Sumitomo N. Current topics in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, *J Arrhythm* 21; (in press), 2016
- 2. Sumitomo N. Clinical features of long QT syndrome in children, *Circ J*, 80(3); 598 - 600, 2016
2. Kumamoto T, Sumitomo N, Kobayashi K, Yasuhara J, Shimizu H, Yoshida S: Implantation of iliofemoral stents; A novel approach for a bilateral occlusion of the iliofemoral vein in a patient with a Glenn’s operation, *Heart Rhythm Case Reports*, 2016; 2: 138-141
3. Kojima T, Yasuhara J, Kumamoto T, Shimizu H, Yoshida S, Kobayashi T, Sumitomo N. Usefulness of the Red Blood Cell Distribution Width to Predict Heart Failure in Patients with a Fontan Circulation, *Am J Cardiol*. 2015;116(6):965-8
- 4. Harrell DT, Ashihara T, Ishikawa T, Tomimaga I, Mazzanti A, Takahashi K, Oginosawa Y, Abe H, Maemura K, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Priori SG, Makita N. Genotype-dependent differences in age of manifestation and arrhythmia complications in short QT syndrome. *Int J Cardiol*. 2015;190:393-402.
- 5. Sumitomo N: E1784K Mutation in *SCN5A* and Overlap Syndrome, *Circ J*, 78(8): 1839 – 1840, 2014
6. Sumitomo N: Device therapy in Children and Patients with Congenital Heart disease, *J Arrhythmia*, 30(6) 428-432, 2014
- 7. 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*. 7(3):511-7,2014
8. Suzuki T, Sumitomo N, Yoshimoto J, Miyazaki A, Hinokiyama K, Ushinohama H, Yasukochi S. Current Trends in Use of Implantable Cardioverter Defibrillators and Cardiac Resynchronization Therapy With a Pacemaker or Defibrillator in Japanese Pediatric Patients. *Circ J*. 78(7): 1710 - 1716, 2014
9. 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.* 78:701-7, 2014

10. 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 Tachycardias by Radiofrequency Catheter Ablation in an Infant. *Heart Vessels.* 29:422-6. 2014

学会発表

1. 住友直方: 特別講演「小児における遺伝性不整脈」、第23回 近畿不整脈フォーラム、大阪、2014.7.19
2. 住友直方: 特別講演「運動と小児不整脈」、第14回群馬スポーツ医学研究会、高崎、2014.7.29
3. 住友直方: 器質的心室頻拍(先天性心疾患)日本不整脈学会カテーテルアブレーション関連秋期大会 2013、カテーテルアブレーション研修セミナー、新潟、2014.10.11
4. 住友直方: 学校健診で注意すべき心電図異常、第8回城北不整脈フォーラム、東京、2014.10.24
- 5. 住友直方: カテコラミン誘発多形性心室頻拍(CPVT) update、第7回お茶の水ハートリズム研究会、東京、2014.10.25
6. Sumitomo N: Invited Lecture, Ablation of Pediatric Idiopathic Ventricular Tachyarrhythmia, Pediatric Ablation: tips and tricks, 7th Asian Pacific Heart Rhythm Society 2014, New Delhi, India, 2014.10.30
7. 住友直方: ランチョンセミナー「小児・若年者の遺伝性不整脈」第159回日本循環器学会東北地方会、仙台、2014.12.6
8. 住友直方: 特別講演「学校健診と小児の不整脈」、第158回日本小児科学会埼玉地方会、さいたま市、2014.12.7
9. 住友直方: 特別講演「小児・若年者の致死性不整脈」、北区医師会学術講演会、東京、2015.1.27
10. 住友直方: 特別講演「小児不整脈治療の進歩」、第3回神奈川小児疾患カンファレンス、横浜、2015.1.28
11. 住友直方: 特別講演「小児の遺伝性不整脈—最近の話題を含めて—」、Arrhythmia Expert Seminar、名古屋、2015.2.13
12. 住友直方: 特別講演「小児不整脈に対するカテーテルアブレーション」、第121回成育医療センターカンファレンス、日高、2015.3.2
13. Sumitomo N: Key Note of Joint Session AEPC and JSPCCS: Screening and prevention of sudden cardiac death in the general paediatric population, AEPC 2015, Prague, Czech, 2015.5. 21
14. 住友直方: 遺伝性不整脈、ACHD 診療 basic course, 診療の state of art、第12回成人先天性心疾患セミナー、東京、2015.6.28
- 15. Sumitomo N: Current topics of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, JHRS & JSE 2015, Tokyo, 2015.7.30
- 16. 住友直方: 小児の遺伝性不整脈、第15回九州・沖縄小児救急医学研究会、宮崎、2015.8.8
17. 住友直方: 日本の学校心臓検診の現状と問題点、平成27年度学校医研修会、津、2015.9.13
- 18. 住友直方: 小児の遺伝性不整脈、第19回福島県小児循環器研究会、福島、2015.10.10
19. 住友直方: 器質的心室頻拍(先天性心疾患)、日本不整脈学会カテーテルアブレーション関連秋期大会 2015、カテーテルアブレーション研修セミナー、福島、2015.10.17
20. Sumitomo N: Invited Lecture; Re-synchronization therapy in pediatric cardiology, CHD preceptorship, Barcelona, Spain, 2015.10.19
21. Sumitomo N: Invited Lecture; Experience and prophylaxis recommendations of palivizumab in Japan, CHD preceptorship, Barcelona, Spain, 2015.10.20
22. 住友直方: 特別講演; 小児不整脈の進歩、第3回 日立の医療を考える会、日立、2015.10.28
- 23. Sumitomo N: Invited Lecture; Challenges of LQTS in children, In Genetics 7: Latest in the Clinical and Genetic Aspects of congenital LQTS, 8th APHRs Scientific Sessions 2015, Melbourne, Australia, 2015.11.21
24. Sumitomo N: Invited Lecture; Return of

- sinus rhythm late after pacing a child with complete heart block: Is it ever safe to remove the device? In Paeds 9: Paediatric EP Matters for Judgement, 8th APHRS Scientific Sessions 2015, Melbourne, Australia, 2015.11.22
25. 住友直方: 1枚の心電図からの予後推定(1):2次検診以降の精査方法、学校検診ワークショップ 特別講演、第20回日本小児心電学会、静岡、2015.11.28
- 26. 住友直方: 特別講演、遺伝性不整脈、ICD友の会・講演会、東京、2015.12.5
27. 住友直方: 特別講演; 小児の不整脈について、土屋小児科連携医療研究会、久喜、2016.2.15
28. Sumitomo: Invited Lecture; Japanese Heart Disease Screening in Schools, 2nd Annual Think Tank on Prevention of Sudden Cardiac Death in the Young: Developing A Rational, Reliable & Sustainable National Health Care Resource, Miami, USA, 2016. 2.18
29. 三谷義英、太田邦雄、長嶋正實、住友直方: Public access defibrillationの時代の児童生徒の心臓性突然死の防止策 児童生徒の心原性院外心停止の実態とAEDの役割、第117回日本小児科学会、名古屋、2014.4.13
30. 神山 浩、鮎沢衛、唐澤賢祐、加藤雅崇、渡邊拓史、大熊洋美、阿部百合子、市川理恵、阿部修、住友直方、高橋昌里: シンポジウム14 川崎病既往社における思春期成人期の問題点、川崎病冠動脈障害患者のトランジションと診療システムについて、第50回日本小児循環器学会、岡山、2014.7.4
- 31. 住友直方: 学術諮問委員会提言シンポジウム、テーマ: 遺伝性不整脈の治療戦略、「小児科領域の遺伝性不整脈に対する薬物療法」、第31回日本心電学会、第29回日本不整脈学会、東京、2014.7.23
- 32. Sumitomo: Symposium 12 Recent Topics of Inherited Arrhythmias, Progressive Cardiac Conduction Defect in Children, 29th Japanese Heart Rhythm Society & 31st Japanese Society of Electrcardiology, Tokyo, 2014.7.25
33. 住友直方: How to use cryoablation for children、第51回日本小児循環器学会、東京、2015.7.17
34. 住友直方: 小児の不整脈に対するデバイス治療の現状と問題点、JHRS & JCE 2015, 東京、2015.7.31
35. 三谷義英、大槻祥一郎、淀谷典子、大橋啓之、澤田博文、太田邦雄、住友直方: 児童生徒の心臓性突然死防止に向けて: 学校検診と救急蘇生の新たなエビデンス、第51回日本小児循環器学会、東京、2015.7.17
36. 住友直方: 日本小児循環器学会ジョイントシンポジウム、市民による除細動の時代の児童生徒、若年成人の心臓性突然死対策、不整脈からみた小児突然死、第63回日本心臓病学会、横浜、2015.9.18
37. 住友直方: 遺伝性不整脈と先天性心疾患、先天性心疾患-突然死予防のためのup-date、第8回植込みデバイス関連冬季大会、北九州、2016.2.6
38. 平林雅子、田中裕治、吉永正夫、野村裕一、堀米仁志、長嶋正實、牛ノ濱大也、田内宣生、佐藤誠一、住友直方、白石裕比湖: SIDSに関する1ヵ月健診時と1年後の環境リスク因子の検討、第117回日本小児科学会、名古屋、2014.4.11-13
- 39. 小森暁子、住友直方、加藤雅崇、趙 麻未、渡邊拓史、大熊洋美、阿部百合子、市川理恵、神山 浩、鮎沢衛、高橋昌里: QT延長症候群における当院での管理、第50回日本小児循環器学会、岡山、2014.7.3
40. 阿部百合子、鮎沢衛、加藤雅崇、渡邊拓史、趙 麻未、小森暁子、大熊洋美、市川理恵、神山 浩、住友直方、伊東三吾: 学校管理下の肥大型心筋症による心事故発生状況の変化、第50回日本小児循環器学会、岡山、2014.7.3
- 41. 堀米仁志、林立申、加藤愛章、高橋美穂、中村昭宏、後藤浩子、岩本眞理、住友直方、吉永正夫、田内宣生: 胎児・新生児期に発症する先天性QT延長症候群3型の遺伝子型と臨床症状の関連および治療と予後、第50回日本小児循環器学会、岡山、2014.7.3
- 42. 加藤雅崇、鮎沢衛、渡邊拓史、趙 麻未、小森暁子、大熊洋美、阿部百合子、市川理恵、神山 浩、住友直方: 心蘇生後に

- 植込み型除細動器の適応となった学校生徒に関する分析、第 50 回日本小児循環器学会、岡山、2014.7.4
43. 趙 麻未、住友直方、加藤雅崇、渡邊拓史、小森暁子、大熊洋美、阿部百合子、市川理恵、鮎沢衛：心房中隔欠損術後、心室性期外収縮に伴う心不全を発症し、カテーテルアブレーションにより改善した幼児例、第 50 回日本小児循環器学会、岡山、2014.7.5
44. Ayusawa M, Kato M, Watanabe H, Chou A, Komori A, Abe Y, Kamiyama H, Sumitomo N: How do we explain the risk of sudden death caused by representative cardiovascular diseases diagnosed by the screening system for school children?, European Society of Cardiology 2014, Barcelona, Spain, 2014.8.30
- 45. 小森暁子、住友直方、加藤雅崇、趙麻未、渡邊拓史、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：QT 延長症候群の管理についての検討、第 18 回東京循環器小児科治療 Agora、東京、2014.9.13
46. 熊本 崇、住友直方、安原 潤、小島拓朗、清水寛之、葭葉茂樹、小林俊樹、細田隆介、宇野吉雅、枡岡 歩、鈴木孝明：先天性心疾患術後の頻拍発作に対する III 群薬の効用について、第 18 回東京循環器小児科治療 Agora、東京、2014.9.13
47. Kumamoto T, Sumitomo N, Kobayashi T, Yasuhara J, Kojima T, Shimizu H, Yoshida S: The case of 32years old who implanted stents for occluded iliofemoral vein in purpose of catheter ablation, 2014.9.23
48. Komori A, Ayusawa M, Kato M, Chou A, Watanabe H, Abe Y, Jinbo S, Kamiyama H, Sumitomo N, Takahashi S: A analysis of Successful Resuscitation for an Emergency in School Demonstrates Contribution of Teachers and Proposes Issue for Location of Automated External Defibrillator, Resuscitation Science Symposium 2014, Chicago, 2014.11.16
49. Ayusawa M, Kato M, Chou A, Watanabe H, Komori A, Abe Y, Kamiyama H, Sumitomo N, Takahashi S: Basic Life Support and Defibrillation Are Changing the Prognosis of Hypertrophic Cardiomyopathy in School Students, Resuscitation Science Symposium 2014, Chicago, 2014.11.16
50. 熊本 崇、住友直方、小林俊樹、葭葉茂樹、安原 潤、小島拓朗、清水寛之：Glenn 術後の両側大腿静脈閉塞に対し、右腸骨静脈にステント留置術を行い、アブレーションに成功した心房粗動の一例、第 45 回埼玉不整脈ペーシング研究会、さいたま市、2014.11.22
51. 安原 潤、熊本 崇、清水寛之、小島拓朗、葭葉茂樹、小林俊樹、住友直方、小柳喬幸、山岸敬幸：無脾症候群、二重房室結節に合併した心房頻拍に対し、緊急カテーテルアブレーションを行なった 1 例、第 26 回アブレーション関連秋季大会、新潟、2014.10.10
52. 熊本 崇、住友直方、安原 潤、小島拓朗、清水寛之、葭葉茂樹、小林俊樹、岡健介：左側自由壁に存在する slow conducting 副伝導路による房室回帰頻拍を認めた乳児例、第 19 回日本小児心電学会、札幌、2014.11.28
53. 小野晋、渡邊友博、新津麻子、金基成、西澤崇、柳貞光、上田秀明、住友直方：副伝導路の焼灼に失敗したが、頻拍のコントロールが可能であった Ebstein 奇形の 1 例、第 19 回日本小児心電学会、札幌、2014.11.29
54. 趙 麻未、加藤雅崇、渡邊拓史、小森暁子、阿部百合子、神保詩乃、神山 浩、鮎沢 衛、高橋昌里、住友直方：アミオダロンによる肝機能障害のため心室頻拍抑制に難渋した急性心筋炎の乳児例、第 19 回日本小児心電学会、札幌、2014.11.29
55. 岩本眞理、長嶋正實、吉永正夫、住友直方：学校一次心臓検診の心電図検査の実態(12誘導心電図 vs 省略 4 誘導心電図)、第 19 回日本小児心電学会、札幌、2014.11.29
56. 熊本 崇、住友直方、趙 麻未、安原 潤、小島拓朗、清水寛之、葭葉茂樹、小林俊樹、岡 健介、片岡功一：左室自由壁副伝導路を介する permanent form of junctional reciprocating tachycardia (PJRT) の乳児例、

- 第 27 回臨床不整脈研究会、東京、2015.1.10
57. 熊本 崇、住友直方、趙 麻未、安原 潤、小島拓朗、清水寛之、葭葉茂樹、小林俊樹：乳児 Permanent form of junctional reciprocating tachycardia (PJRT) の一例、第 159 回日本小児科学会埼玉地方会、大宮、2015.2.14
- 58. Lieve KV, Verhagen JM, van der Werf C, van den Heuvel F, Shimizu W, Nogami A, Horigome H, Crijns HJ, A. Blank C, Wiesveld AC, Blom NA, Sumitomo N, de Graaf-van de Laar I, Wilde AA: Linking the heart and the brain: Neuropsychiatric abnormalities in patient with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, *Heart Rhythm* 2015, Boston, USA, 2015.5.15
- 59. van der Werf C, Lieve KV, Viskin S, Kannankeril PJ, Takeshi A, Sacher F, Shimizu W, Sumitomo N, Willems AR, van der Veen MJ, Krahn AD, Leenhardt A, Wilde AA: Five-year follow-up of patients receiving flecainide for catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, *Heart Rhythm* 2015, Boston, USA, 2015.5.15
- 60. Kawata H, Ohno S, Sumitomo N, Funasako M, Kamakura T, Nakajima I, Sakaguchi H, Miyazaki A, Miyamoto K, Inoue YY, Okamura H, Noda T, Aiba T, Kusano KF, Kamakura S, Horie M, Shimizu M: Triggers of cardiac events in RYR2 positive CPVT patients before and after optimal medical treatment. Importance of exercise restriction and avoidance of emotional stress especially in younger patient. *Heart Rhythm* 2015, Boston, USA, 2015.5.14
- 61. Sumitomo N, Kumamoto T, Yasuhara J, Shimizu H, Kojima T, Yoshida S, Kobayashi T, Cho A, Komori A, Kato M, Watanabe H, Okuma H, Abe Y, Chinen S, Kamiyama H, Ayusawa M: Characteristics of pediatric Brugada Syndrome, *Association for European Pediatric Congenital Cardiology* 2015, Prague, Czech, 2015.5.20
62. 岩本眞理, 長嶋正實, 吉永正夫, 住友直方: 学校管理下における突然死と心肺蘇生の状況について、第 51 回日本小児循環器学会、東京、2015.7.17
63. 熊本 崇、住友直方、安原潤、清水寛之、小島拓朗、葭葉茂樹、小林俊樹、細田隆介、枘岡 歩、宇野吉雅、鈴木孝明: Partial anomalous pulmonary venous connection (PAPVC) 修復術; Williams 法後の一過性洞機能低下についての検討、第 51 回日本小児循環器学会、東京、2015.7.18
- 64. 堀米仁志、高橋一浩、石川康宏、林立申、加藤愛章、中村昭宏、野崎良寛、高橋実穂、住友直方、岩本眞理、吉永正夫: 主成分分析と独立成分分析を用いた先天性 QT 延長症候群の T 波の解析 — LQT1 と LQT3 における解析 —、第 51 回日本小児循環器学会、東京、2015.7.18
- 65. 倉岡彩子、牛ノ濱大也、井福俊充、中村真、佐川浩一、石川司朗、住友直方、大野聖子、堀江 稔: カテコラミン感受性多形性心室頻拍 CPVT に対する当院での治療経験、第 51 回日本小児循環器学会、東京、2015.7.17
66. 趙 麻未、安原 潤、熊本 崇、清水寛之、小島拓朗、葭葉茂樹、小林俊樹、住友直方: WPW 症候群、左室心筋緻密化障害を合併した乳児に対する Amiodarone の使用経験、第 20 回アミオダロン研究会、東京、2015.10.3
67. Kumamoto T, Sumitomo N, Yasuhara J, Kojima T, Shimizu H, Yoshida S, Kobayashi T, Uno Y, Masuoka A, Suzuki T: Acute effect of amiodarone and nifekarant to control of tachyarrhythmias in children with post surgical congenital heart disease, 8th APHRS Scientific Sessions 2015, Melbourne, Australia, 2015.11.22
68. Kumamoto T, Sumitomo N, Chou A, Yasuhara J, Kojima T, Shimizu H, Yoshida S, Kobayashi T, Uno Y, Masuoka A, Suzuki T: How to prevent sinus node dysfunction after PA

PVC repair: Investigation after Williams procedure, 8th APHRS Scientific Sessions 2015, Melbourne, Australia, 2015.11.22

69. 趙 麻未、安原 潤、熊本崇、清水寛之、小島拓朗、葭葉茂樹、小林俊樹、住友直方：2：1 房室ブロックを呈した先天性QT延長症候群の新生児例、第47回埼玉不整脈ペーシング研究会、埼玉、2015.12.12

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

早期再分極症候群における不良な予後の予知指標に関する研究

研究分担者 鎌倉 史郎 国立循環器病研究センター 臨床検査部長

研究要旨 早期再分極症候群(ERS)では、広範囲なJ波分布、徐脈時やVF前のJ波の著明な増高などが予後不良の指標と報告されてきた。しかしながら、従来のERSは標準12誘導心電図のみで診断され、ほとんどの症例に冠攣縮誘発試験が施行されていなかったため、高位肋間におけるBrugada症候群や冠攣縮性狭心症がERSと誤診されていて、それに基づいて指標が報告された可能性がある。このため、これらの疾患を除外するため、全例にNaチャンネル遮断薬を用いた薬物負荷を行い、冠攣縮性狭心症を除外したERS38例の長期予後と、予後不良指標を検討した。その結果、ERSの16%が、高位肋間のBrugada症候群であること、ERSは高位肋間を含む前胸部誘導でnon-type1心電図を有する群と、それらを有さない群の2群に分類でき、前者は予後が不良なのに対し、後者の予後はよいこと、また、前胸部誘導でのnon-type1心電図がERSにおける不良な予後の予知指標となることが判明した。

A. 研究目的

早期再分極症候群(ERS)とは下側壁誘導に1mm以上のslurrまたはnotched J波を有し、心室細動(VF)の既往を有する症例をさす。それらにおいては、これまで広範囲なJ波分布、徐脈時やVF前のJ波の著明な増高、短い連結期の心室期外収縮(PVC)などが予後不良の指標と報告されてきた。しかしながら、従来のERSは標準12誘導心電図のみで診断され、ほとんどの症例に冠攣縮誘発試験が施行されていなかったため、高位肋間におけるBrugada症候群や冠攣縮性狭心症がERSと診断されていた可能性がある。従って、その指標自体が信頼に足るものかどうか不明であった。本研究では両疾患を除外したERSにおいて、予後不良指標を検討した。

B. 研究方法

対象は1996年から2014年の間にVFの既往を有し、12誘導心電図でERSと診断された38例(男性34例、女性4例、平均年齢 40.4 ± 13.6 才)である。全例で高位肋間(第2、第3)を含む右前胸部誘導のV1からV3誘導記録と共に、ピルジカイニド等のIc群薬負荷試験を行い、それらの誘導でのtype1、non-type1波形の出現状況を観察し、その結果に基づいて、ERSを4群に分類した。すなわち、A群(6例):高位肋間のみtype1心電図を有するERS、B群(5例):高位肋間のみnon-type1心電図を有するERS、C群(8例):通常誘導でnon-type1心電図の見られるERS、D群(19例):type1、non-type1心電図を有さないERSである。なお、通常肋間でtype1 ST上昇のあるBrugada症候群は対象から除外した。また、全体では60%の例、睡眠中や安静時のVF例の全例に冠攣縮誘発試験を行い、冠攣縮性狭心症を有していないこと、かつその他の器質的心疾患を有していないことを種々の検査で確認した。また、VFの出現時間、出現状況を把握するとともに長期予後を検討した。Brugada症候群は、自然または薬物負荷後に高位肋間(第2、第3)を含む右前胸部誘導のV1またはV2誘導で、とそれに続くT波陰転を認めるものとした。統計処理にはt検定、 χ^2 検定、Kapla-

n-Meier法を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。なお、本研究は国立循環器病研究センター倫理委員会の承認の元で施行した。

C. 研究結果

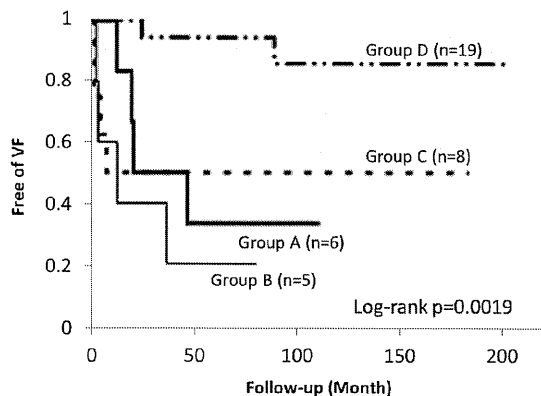
1. VF発生状況

VFはA群の50%、B群の100%、C群の75%が睡眠中、または覚醒直後の安静時に発生していたが、D群では11%だけがそうであり($P < 0.05$)、D群のほとんどは覚醒時や運動時に発生していた。

2. 臨床経過

経過観察期間は、A群: 120 ± 51 ヶ月、B群: 109 ± 61 ヶ月、C群: 106 ± 67 ヶ月、D群: 108 ± 54 ヶ月であった。

図1 ERS例の致死的心事故回避率



VF再発はA群67%、B群80%、C群50%に対し、D群では11%と有意に少なかった($P < 0.05$)。Kplan-Meier解析においても、D群に比して、A, B, C群の致死的心事故率は有意に高かった(図1)。type1とnon-type1波形はVF再発のあった14例中8例(57%)では高位肋間においての

み認められた。前壁のいずれかの誘導でBrugada波形 (type1, non-type1)が見られた例ではそうでない例に比べて有意に再発率が高く、Brugada波形の存在のVF再発に対する感度は86%、特異度は71%、陽性的中率は63%であった。

D. 考察

ERSはHaissaguerreらが2008年にNEJM誌に初めて報告した突然死症候群で、VF直前には著明にJ波が増高し、VFを導くPVCの連結期は短く、全体の27%が複数回のVFを生じ、13%が電氣的ストームを生じると報告されている。また、VF再発例では徐脈時やpause dependentにJ波が増高するとも報告されている。しかしながら、Hissaguerreらの論文に掲載されている図における、典型的ERS波形とされた心電図のほとんどには、その後に報告された心筋虚血作成時の動物実験で確認されたJ波の特徴が認められる。すなわち、VF直前のQRS幅延長とnotched J波増高、それに続くST上昇などである。彼らが増高したJ波と呼んでいる部分は、明らかにQRS内にあり、QRS延長やST上昇がほとんどの症例で認められる。一方、Haissaguerreらの論文では冠攣縮誘発試験を行った例が全体の1割にも満たない。欧米では日本と異なり冠攣縮性狭心症が無視されやすいという事実があるが、これは逆にERSとして集積された症例のかなりの部分が冠攣縮性狭心症、特に胸痛を伴わないか、あるいは突然VFに移行した冠攣縮性狭心症であった可能性を示唆している。また、ERSに関してこれまで報告された例はすべて、安静時の標準12誘導心電図のみで診断されている。本研究により、ERSの約16%が高位肋間のみBrugada症候群であり、VF再発例の約6割が高位肋間のみBrugada波形を呈することが判明したが、これからは、高位肋間心電図記録を行っていない従来の報告には、高位肋間だけのBrugada症候群やBrugada波形例が多数存在していた可能性が示唆される。つまり、従来のERSの予後予知に有用とされた指標は真のERSではなく、Brugada症候群や冠攣縮性狭心症に伴う、偽のERSの予後指標であった可能性が少なからずあるといえる。本研究ではそれらの疾患の可能性を否定したERSを用いて予後指標を検討した。その結果、ERSは高位肋間を含む前胸部誘導にnon-type1心電図を有する群 (B+C群) と、それを有さない群 (D群) の2群に分類され、前者は不良な予後を、後者は良好な予後を示すことが判明した。またERSでは高位肋間のいずれかの前胸部誘導でのnon-type1 (主としてsaddleback型)心電図が不良な予後の指標となることが判明した。この結果は従来報告されたものと全く異なっているが、むしろ従来報告されたERS自体が、本来除外すべき疾患から派生したJ波に基づくERSであったとすれば、本研究で導かれた指標と従来の予知指標とが異なるのも当然と言える。

E. 結論

ERSでは、高位肋間を含むいずれかの前胸部誘導で認められるnon-type1心電図が不良な予後の予知指標となることが判明した。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 論文発表

1. Kamakura T, Wada M, Nakajima I, Ishibashi K,

- Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Aiba T, Takaki H, Yasuda S, Ogawa H, Shimizu W, Makiyama T, Kimura T, **Kamakura S**, Kusano K. Significance of electrocardiogram recording in high intercostal spaces in patients with early repolarization syndrome. *Eur Heart J*. 2016;37(7):630-7.
2. Kaitani K, Inoue K, Kobori A, Nakazawa Y, Ozawa T, Kurotobi T, Morishima I, Miura F, Watanabe T, Masuda M, Naito M, Fujimoto H, Nishida T, Furukawa Y, Shirayama T, Tanaka M, Okajima K, Yao T, Egami Y, Satomi K, Noda T, Miyamoto K, Haruna T, Kawaji T, Yoshizawa T, Toyota T, Yahata M, Nakai K, Sugiyama H, Higashi Y, Ito M, Horie M, Kusano KF, Shimizu W, **Kamakura S**, Morimoto T, Kimura T, Shizuta S; EAST-AF Trial Investigators. Efficacy of Antiarrhythmic Drugs Short-Term Use After Catheter Ablation for Atrial Fibrillation (EAST-AF) trial. *Eur Heart J*. 2016;37(7):610-8.
3. Kobori A, Shizuta S, Inoue K, Kaitani K, Morimoto T, Nakazawa Y, Ozawa T, Kurotobi T, Morishima I, Miura F, Watanabe T, Masuda M, Naito M, Fujimoto H, Nishida T, Furukawa Y, Shirayama T, Tanaka M, Okajima K, Yao T, Egami Y, Satomi K, Noda T, Miyamoto K, Haruna T, Kawaji T, Yoshizawa T, Toyota T, Yahata M, Nakai K, Sugiyama H, Higashi Y, Ito M, Horie M, Kusano KF, Shimizu W, **Kamakura S**, Kimura T; UNDER-ATP Trial Investigators. Adenosine triphosphate-guided pulmonary vein isolation for atrial fibrillation: the UNmasking Dormant Electrical Reconduction by Adenosine TriPhosphate (UNDER-ATP) trial. *Eur Heart J*. 2015;36(46):3276-87.
4. Kamakura T, Wada M, Nakajima I, Ishibashi K, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Aiba T, Takaki H, Yasuda S, Ogawa H, Shimizu W, Makiyama T, Kimura T, **Kamakura S**, Kusano K. Evaluation of the necessity for cardioverter-defibrillator implantation in elderly patients with Brugada syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2015;8(4):785-91.
5. Funasako M, Aiba T, Ishibashi K, Nakajima I, Miyamoto K, Inoue Y, Okamura H, Noda T, **Kamakura S**, Anzai T, Noguchi T, Yasuda S, Miyamoto Y, Fukushima Kusano K, Ogawa H, Shimizu W. Pronounced Shortening of QT Interval With Mexiletine Infusion Test in Patients With Type 3 Congenital Long QT Syndrome. *Circ J*. 2016;80(2):340-5.
6. Wada Y, Aiba T, Matsuyama TA, Nakajima I, Ishibashi K, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Morita Y, Kanzaki H, Kusano K, Anzai T, **Kamakura S**, Ishibashi-Ueda H, Shimizu W, Horie M, Yasuda S, Ogawa H. Clinical and Pathological Impact of Tissue Fibrinolytic Lethal Arrhythmic Events in Hypertrophic Cardiomyopathy Patients With Impaired Systolic Function. *Circ J*. 2015;79(8):1733-41.
7. Makimoto H, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Aiba T, **Kamakura S**, Kusano K, Shimizu W, Satomi K. Clinical impact of mapping strategies for treatment of ventric

ular tachycardias in patients with structural heart disease. Pacing Clin Electrophysiol. 2015;38(5):630-40.

学会発表

1. Kamakura T, Wada M, Nakajima I, Ishibashi K, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Aiba T, **Kamakura S**, et al. Mode of onset of ventricular fibrillation in patients with early repolarization syndrome. HRS2015; Boston, USA2015.
2. Kamakura T, Wada M, Nakajima I, Ishibashi K, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Aiba T, **Kamakura S**, et al. Clinical features and prognosis in patients with idiopathic ventricular fibrillation free from primary electrical diseases and triggering premature ventricular contractions. 79回日本循環器学会; 大阪 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
なし

遺伝子診断に基づく不整脈疾患群の病態解明および診断基準・重症度分類・
ガイドライン作成に関する研究

研究分担者 萩原 誠久 東京女子医科大学病院 循環器内科

研究要旨 洞不全症候群、先天性房室ブロックは、その原因として SCN5A, HCN4, ANK2, LMNA, MYH6 遺伝子等の異常が報告されているが、多くの症例では原因不明である。当院の症例で、3 世代にわたり先天性房室ブロックの経過中に心房停止を発症した家系について、遺伝子及び機能解析を行った結果、新たな遺伝子変異と病態との関連が発見されたので報告する。

A. 研究目的

先天性房室ブロックに心房停止を発症した家系の特徴的臨床像と、遺伝子解析及び異常遺伝子の機能解析。

B. 研究方法

1. 遺伝子解析：罹患者及び非罹患者の末梢白血球よりゲノムを抽出し、心疾患や心電図情報に関連する 459 遺伝子のエクソン領域に対し HiSeq2500 で網羅的シーケンスを行った。更にサンガー法によってバリエーションを確認し、dnSNP や日本人特異的多形データベースなどに登録のないものを新規範囲と推定した。サンガー法による確認では、54 個のバリエーションが該当したが、機能的な側面から *GJC1* (コネキシン 45 (Cx45) をコードする) 遺伝子を原因遺伝子と推定した。

2. 機能解析：①チャンネルの形成能の評価：蛍光 myc タグを付加した野生型及び変異 Cx45 を N2A 細胞にトランスフェクションし、蛍光顕微鏡を用いてプラーク形成を観察した。②細胞電気生理学的検討：N2A 細胞に野生型および変異 Cx45 を導入したプラスミドをトランスフェクションし、ペアになった二つの細胞を選び、ホールセルダブルパッチクランプ法を用いてチャンネルのコンダクタンスや電位依存性を検討し、比較した。

③Cx45KO マウスを用いた電気生理学的検討：Tamoxifen 投与により Cx45 が KO され

るマウスを用いて、体表面心電図及び食道ペーシングによる洞結節、房室結節の機能評価を行った。

(倫理面への配慮) 本研究はヘルシンキ宣言(世界医師会)・ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(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罹患者及びその家族のみから末梢血を採取し、ゲノム DNA を抽出した。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することによって、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。

マウスを用いた研究については、東京女子医大動物実験倫理委員会の承認を得て実験を行った。

C. 研究結果

臨床像：発端者は 20 歳女性。6 歳時、学校健診の心電図で異常を指摘され、近医を受診したところ、I 度房室ブロックと Mobitz 型 II 度房室ブロックを指摘されたが、症状はなく経過観察となった。11 歳頃より心電図で房室解離が出現し、13 歳で運動中に動悸と眩暈が出現した。14 歳で入浴後失神し、入院精査で

は P 波が消失して心房停止の状態であり、電気生理学的検査で心房の電位がほとんど認められず、房室ブロックと心房停止の診断で人工ペースメーカー (VVI) の植込みを行った。

母方の祖父は 37 歳、母は 17 歳時に、それぞれ洞不全症候群、房室ブロック+心房停止の診断にて人工ペースメーカー植込みを行っている。弟 (17 歳) も発端者と同様の経過を辿って現在心房停止であるが、無症状のため経過観察されている。

1. 遺伝子解析: 75 番目のアルギニンがヒスチジンに変異 (R75H) しており、今までに報告のない新規変異と考えられる。
2. 機能解析: ①R75H は野生型同様に細胞間にプラークを形成した。膜輸送能、チャンネル形成能は障害されていないことが確かめられた。②R75H はチャンネルのカップリング確率がホモで 0%、ヘテロで 72.7% (野生型 100%) に低下しており、コンダクタンスもヘテロで 5.0 nS (野生型 24.2 nS) と有意に低下していた。③Cx45KO マウス (tamoxifen 投与後) は、コントロール (tamoxifen 投与前) に比較して、心電図には有意な変化を認めなかったが、洞結節回復時間 (SNRT) が 195.3 ± 10.0 ms から 226.1 ± 11.6 ms ($p=0.03$)、補正洞結節回復時間 (CSNRT) が 67.2 ± 9.3 ms から 95.4 ± 11.2 ms ($p=0.04$) に延長しており、この変化は週齢 10 週未満の若いマウスにのみ認められた。

D. 考察

Cx45 はギャップジャンクションチャンネルの構造蛋白の一つであり、心臓に於いては、胎生期に最初に発現する Cx として知られている。その分布は心臓全体に及ぶが、胎齢が進むにつれてその分布は縮小し、Cx43、Cx40 などの別の Cx が作業心筋に広く分布するようになる¹。出生時には、Cx45 は刺激伝導系のみに限局して存在する。胎生期に Cx45 をノックアウトすると、心内膜床欠損、房室ブロックにより心不全となり胎児死亡する²ため、Cx45 の出生後の役割については現在まで

明らかにされていなかった。

今回発見された *GJCI* 遺伝子の変異について、*in vitro* の実験によって、チャンネル蛋白の膜輸送・形成が正常である一方、その機能が著しく障害されていることが新たにわかった。R75 はチャンネルポアの内面を構成するアミノ酸ではないが³、R75 の変異でチャンネル形成は正常ながらチャンネル機能が変化したという報告が幾つかあり^{4,5}、我々の実験結果と一致している。Cx45 を成体においてノックアウトする *in vivo* での実験では、洞結節の機能が低下することが示され、この点は R75H 変異を持つ家系の臨床像と一致する。しかしながら、マウスにおいては明らかな房室ブロックはみられておらず、ヒトの臨床例のモデルとするには限界があることもわかった。これは、マウスとヒトの Cx45 の電位依存性が異なること⁶、Cx45 の機能の障害の程度が、ヒトの症例と Cx45KO マウスでは異なることなどが関与していると考えられる。しかし少なくとも、Cx45 は成体心臓において、洞結節機能に関与していることが示唆された。

E. 結論

家族性先天性房室ブロックと心房停止を呈する症例において新規に発見された *GJCI* 遺伝子 R75H 変異について、機能解析を行った。R75H は野生型に比較して、チャンネル蛋白の膜への輸送やチャンネル形成は正常であるが、チャンネル機能は著しく障害されていた。また、Cx45 をマウス成体でノックアウトしたところ、週齢 10 週未満のマウスで洞結節機能の低下がみられ、Cx45 は成体、特に若年において、洞結節機能に関与している可能性が示唆された。*GJCI*R75H 変異は、先天性房室ブロックに心房停止を合併する症例に於いてその病態に関与していると考えられ、今後このような症例に対しては、候補遺伝子として *GJCI* についても検索する必要があると思われる。

1. Alcolea, S., et al. Replacement of connexin40 by connexin45 in the mouse: impact on cardiac electrical conduction. *Circulation research* 94, 100-109 (2004).
2. Kumai, M., et al. Loss of connexin45 causes a cushion defect in early cardiogenesis. *Development* 127, 3501-3512 (2000).
3. Maeda, S., et al. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution. *Nature* 458, 597-602 (2009).
4. Abrams, C.K., et al. Functional requirement for a highly conserved charged residue at position 75 in the gap junction protein connexin 32. *The Journal of biological chemistry* 288, 3609-3619 (2013).
5. Paznekas, W.A., et al. Connexin 43 (GJA1) mutations cause the pleiotropic phenotype of oculodentodigital dysplasia. *American journal of human genetics* 72, 408-418 (2003).
6. Barrio, L.C., Capel, J., Jarillo, J.A., Castro, C. & Revilla, A. Species-specific voltage-gating properties of connexin-45 junctions expressed in *Xenopus* oocytes. *Biophysical journal* 73, 757-769 (1997).
4. Ejima K, Kato K, Iwanami Y, Henmi R, Yagishita D, Manaka T, Fukushima K, Arai K, Ashihara K, Shoda M, Hagiwara N. Impact of an empiric isolation of the superior Vena cava in addition to circumferential pulmonary vein isolation on the outcome of paroxysmal atrial fibrillation ablation. *Am J Cardiol.* 2015 Sep 10. pii: S0002-9149(15)01919-0. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.09.005. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 26434513.
5. 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. *J Arrhythm.* 2015 Feb;31(1):1-5. doi: 10.1016/j.joa.2014.01.006. Epub 2014 Apr 3.

F. 研究発表

論文発表

1. ○ Nishii K, Seki A, Kumai M, Morimoto S, Miwa T, Hagiwara N, Shibata Y, Kobayashi Y. Connexin45 contributes to global cardiovascular development by establishing myocardial impulse propagation. *Mech Dev.* 2016 Feb 23. pii: S0925-4773(16)30006-5. doi: 10.1016/j.mod.2016.02.003. [Epub ahead of print]
2. Haruki S, Minami Y, Hagiwara N. Stroke and Embolic Events in Hypertrophic Cardiomyopathy: Risk Stratification in Patients with out Atrial Fibrillation. *Stroke.* 2016 Apr;47(4):936-42. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.012130. Epub 2016 Mar 3.
3. Minami Y, Haruki S, Yashiro B, Suzuki T, Ashihara K, Hagiwara N. Enlarged left atrium and sudden death risk in hypertrophic cardiomyopathy patients with or without atrial fibrillation. *J Cardiol.* 2016 Feb 20. pii: S0914-5087(16)00017-4. doi: 10.1016/j.jjcc.2016.01.006. [Epub ahead of print]

学会発表

1. ○ Akiko Nishii, Taisuke Ishikawa, Xavier Daumy, Mari Urano, Kayoko Saito, Kiyomasa Nishii, Yosaburo Shibata, Yasushi, Kobayashi, Jean-Jacques Schott, Richard Redon, Vincent Probst, Nobuhisa Hagiwara, Naomasa Makita. A novel connexin 45 mutation responsible for cardiac conduction disturbance demonstrated by next generation sequencing and recapitulated by conditional knockout mice. 第80回日本循環器学会総会、2016.3.18. 仙台市民会館
2. ○ Akiko Seki, Nobuhisa Hagiwara. Impact of connexin45 knockout on the cardiac conduction system in different age adult mice. 第30回日本不整脈学会学術大会・第32回日本心電学会学術集会2016.7. 2. 京都国際会議場

知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

特になし

遺伝子診断に基づく不整脈疾患群の病態解明および診断基準・重症度分類・
ガイドライン作成に関する研究

遺伝子診断された先天性QT延長症候群7型（Andersen-Tawil症候群）の心電図解析
～独立成分分析と主成分分析を用いたU波の解析～

研究分担者 堀米 仁志 筑波大学医学医療系小児科 教授
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
研究協力者 石川 康宏 石川医院 院長

研究要旨

【目的】 Andersen-Tawil 症候群（ATS）は遺伝性不整脈の一つで、先天性 QT 延長症候群の 7 型（LQT7）に分類され、遺伝子検査ではイオンチャネル Kir2.1 をコードする *KCNJ2* 変異が約半数で検出される。その心電図の特徴は大きな U 波と QT 延長（または QU 延長）および二方向性心室頻拍である。しかし、大きな U 波は他のタイプの LQTS や健常者でも見られることがある。本研究では独立成分分析（ICA）と主成分分析（PCA）を用いた心電図解析の ATS 診断における有用性を検討した。【対象】 遺伝子検査で診断が確定した ATS 6 例と LQT1 21 例を対象とした。健常者 29 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 1,024Hz で記録し、A/D コンバータ EC2360（Elmec）でデジタル化した。TU 波領域を対象として Wavelet によるノイズ処理を行った後、ランダムノイズ付加法を用いた Radical ICA および PCA で解析した。【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 および ATS では 5-6 個の IC が検出され、LQTS 症例を明確に鑑別できた。また、ATS の 6 例ではいずれも大きな U 波は 2 つの IC から構成され、かつ、その 1 つ以上の IC は T 波の構成には寄与せず、U 波だけを構成する IC であった。一方、LQT1 や健常例で見られる U 波は T 波を構成する IC の一部であった。PCA の結果: PCA ratio (第 2 主成分 / 第 1 主成分比%)は LQT7 では対照群より有意に高値を示したが、LQT1 とは差がなかった。【まとめ】 心電図の TU complex 領域の ICA により、LQT7S の U 波は、T 波の構成成分の一部ではなく、U 波だけを構成する IC であることが示された。ICA は他の LQTS や健常者に見られる U 波と ATS1 に見られる U 波の鑑別に有用で、ATS1 の診断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 7 型（LQT7）は Andersen-Tawil 症候群、ATS）と呼ばれ、①心電図上の大きな U 波、QT 延長（または QU 延長）と二方向性心室頻拍、②骨格系の異常（低身長、特異顔貌）、③周期性四肢麻痺を特徴とする常染色体優性遺伝性疾患である。約半数の症例でイオンチャネル Kir2.1 をコードする *KCNJ2* 遺伝子の変異が検出され、それは ATS type1 と呼ばれる。しかし、ATS における大きな U 波の成因は十分に解明されておらず、QU 時間の延長や U 波の形態に基づいた診断基準も確立されていない。そこで独立成分分析(independent component analysis, ICA)および主成分分析(principal component analysis, PCA)による TU complex 波形の解析が LQT7 の診断および成因の解明に有用であるかどうかを検証した。

B. 研究方法

【対象】

遺伝子検査で *KCNJ2* 変異が検出され、LQTS タイプ 7 (ATS1) が確定している患者 6 例(年齢 6-46 歳、女性 4 例)、LQT1 21 例を対象とし、心肺疾患を伴わず、薬剤を内服していない健常人 29 例を対照群とした。

【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 11 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

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 TU 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、ウェーブレット変換を用いてノイズ処理を行った。

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

TU 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

LQT 症例を ICA で得られた IC の数によって分け、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。統計には 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 χ^2 二乗検定、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。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究に関する倫理指針(文部科学省・厚生労働省)を遵守し、筑波大学臨床研究倫理審査委員会の承認を得た上で行った。得られた被験者のデータや個人情報、研究責任者および分担研究者の研究室にて管理され、秘密が厳守されることを保証したうえで研究を行った。また、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。

C. 研究結果

■ICAの結果

正常対照群全例で 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、LQT7 では 5 例で 6 個、1 例で 5 個の IC が検出され、LQTS 症例と健常者を IC の数によってを明確に区別することができた。IC の数によって LQT1 と LQT7 を鑑別することはできなかった。

Andersen 症候群の 6 例ではいずれも大きな U 波は 2 つの IC から構成され、かつ、その 1 つ以上の IC は T 波を構成する成分ではなく、U 波だけを構成する IC であった。それに対して、LQT1 や健常例で見られる U 波は T 波構成成分の IC の一部であった。

遺伝子検査で ATS1 が確定した 32 歳男性の解析結果例を図 1、2 に示す。

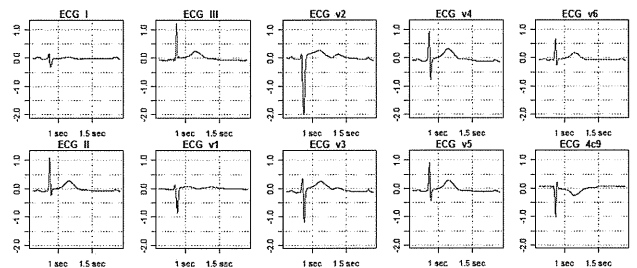


図1 32歳男性ATS1の体表面12誘導心電図
大きなU波が認められる。

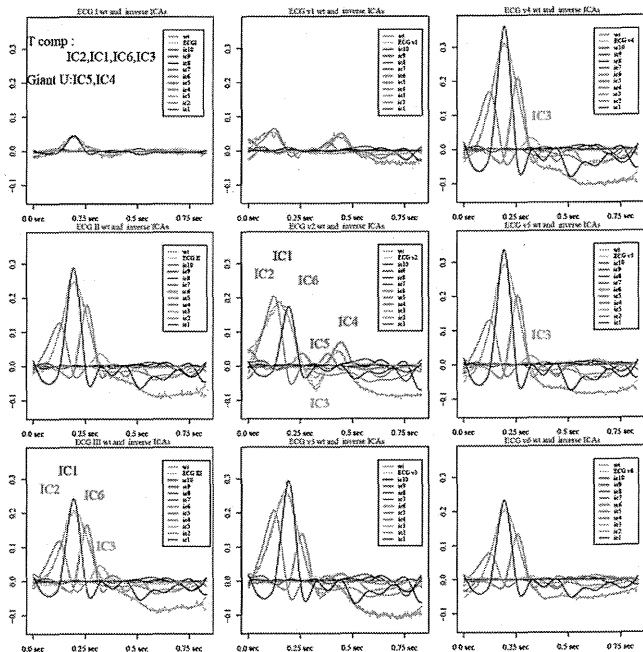


図2 標準体表心電図(図1)を独立成分(IC)へ分解した結果、通常は4個の成分が6個検出された。そのうちIC5, IC4はU波を構成しT波の形成には寄与していない。T波はIC2, IC1, IC6, IC3で構成されている。PCA-ratioは15.8%。

■PCAの結果

LQT7 (6例)のPCA-ratioは9.7-20.9(24.7±15.9)%で、LQT1、健常者群との間に有意差はなかった。LQT1(21例)のPCA-ratioは正常対照群(29例)よりも有意も高値を示した。3群のPCA-ratioを比較した結果を図3に示す。

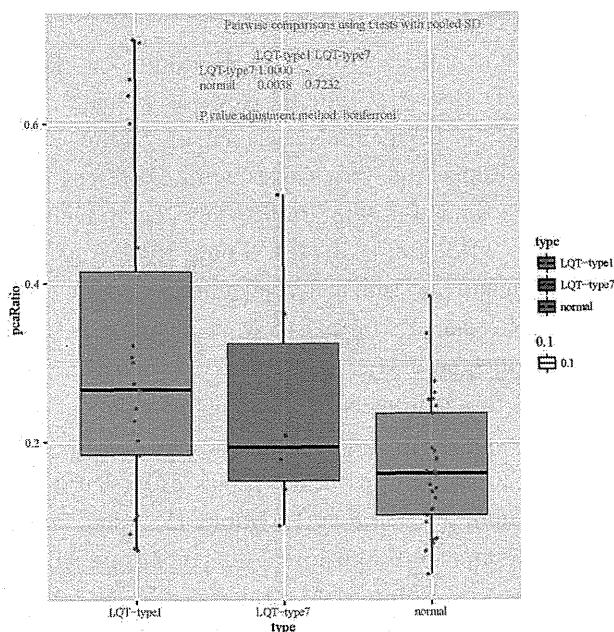


図3 LQT1, LQT7, 健常群のPCA-ratio

LQT1とLQT7を合わせてICの個数とPCA-ratioを比較した結果を図4に示す。IC6(6個のIC)の

PCA-ratioはIC4(4個のIC), IC5(5個のIC)と有意差があるが、IC4とIC5の比較では有意差がなかった。

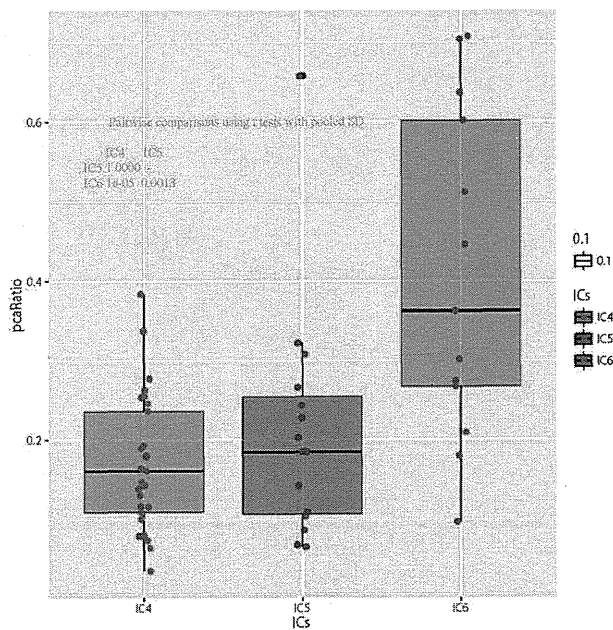


図4 ICの個数とPCA-ratioの関係

D. 考察

先天性QT延長症候群7型(LQT7)(Andersen-Tawil症候群, ATS)の約半数の症例ではイオンチャネルKir2.1をコードする*KCNJ2*遺伝子の変異が検出され、ATS1と呼ばれる。ATS1は二方向性心室頻拍や運動時/精神的緊張時の不整脈を呈するため、カテコラミン誘発多型性心室頻拍(CPVT)や他のタイプの先天性QT延長症候群(LQTS)との鑑別が問題となることがある。実際に*KCNJ2*変異を伴うCPVTも報告されている(CPVT3)。一方で、最近報告された*KCNJ2*変異(R260P-*KCNJ2*)のATS1では多型性と二方向性の心室頻拍がみられ、β遮断剤の有効性が低く、フレカイニドで症状が消失した。一般にATS1では安静時の心室期外収縮の頻度が高く、二方向性心室頻拍の頻拍レートもCPVTに比べて遅めで、失神や突然死に至る率が少ない。それに対して、CPVTやLQT1、2では安静時に心室不整脈を呈することは少なく、運動時や精神的緊張時にVTが出現する。その頻拍レートも速く、torsade de pointes(TdP)を含め多型性と言われる特徴的なVT波形を呈し、心室細動へ移行して突然死に至る率も高いことが鑑別点となる。

ATS1の洞調律時の心電図の特徴は大きなU波とQT延長(またはQU延長)である。しかし、その成因は詳細には解明されておらず、他のLQTSや健常者でもU波が目立つことがあるため、それらとの鑑別は容易でない。今回、ICAを用いた心電図の波形解析において、ATS1の6例では