

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波を構成するICの一部であった。このことは、ICAがATS1の心電図診断において有用であるとともに、*KCNJ2*変異を何らかの形で表現している可能性を示唆している。しかしながら、ICAの結果における各々の独立成分(IC)がそれぞれ対応するイオンチャネル電流と対応しているわけではないため、今後さらなる研究が必要である。

<ICAの心電図への応用>

ICAは近年開発された多変量解析の手法であり、観測された混合信号を加法的な成分に分離する方法である。各成分はガウスのでない相互に独立なものを想定する。臨床応用としては、妊婦の腹壁上で記録される胎児心電信号を母体の信号と分離する方法として導入されたのが始まりであるが、自然科学、社会現象、経済学など様々な分野で応用され、その有用性が認められている。ICAでは、通常fast ICAが用いられるが、雑音の影響を受けやすいこと、得られるICの数が予測できないこと、各ICの大きさと方向が不明であることなどの問題が指摘されている。また、施行するたびに異なる結果が得られるという問題もある。今回用いたRadical ICAではノイズ負荷なしでは同一の結果が得られるが、local extremaに陥るのを防ぐためにノイズ負荷を行った。また、ICAでは独立成分の個数が決定できないため、得られた複数の結果からベストモデルを選ぶのが重要と考えられた。

<ICAのLQTS診断への応用>

我々はLQTS心電図の新しい解析法としてT波領域にICAを適用することにより、正常では検出されない過剰なT波の構成成分を検出でき、ICAがLQTSの診断に応用できることを報告してきた。本報告書でも示しているように、健常例のT波は4個の独立成分(IC)から成り立っているのに対して、LQTSのT波は過剰な成分が含まれていて、LQT1、LQT7では全例で5個か6個のICが検出された。これはIC一つ一つがそれぞれ別個のイオンチャネルに対応しているという意味ではない。また、過剰なICが変異チャネルに対応しているという意味でもない。再分極過程は多くのチャネルの総合的バランスによって形成されT波として表現される。過剰成分も、その再分極成分の1つという意味である。対象数が少ないため、今後大きな集団における追試が必要であるが、IC数はLQTSと健常者との鑑別には有用であったが、LQT1とLQT7との鑑別には役立たないことが示

された。

<ICAとPCAの結果の比較>

従来、多変量解析による再分極過程の定量的評価法としてPCAを用いた報告があり、PCA ratio(第2主成分/第1主成分比で、値が大きいほどheterogeneityは大きい)は心血管系死亡の予測に有用であることが報告されている。本研究でもLQTSのPCA ratioは健常者と比べて高値をとることが示された。しかし、LQTSのタイプ診断における有用性は示せなかった。ICAとPCAの結果を対比してみると、ICAで6個のICが検出された症例ではPCA ratioも有意に高値を示した。これはIC6個の症例の方がIC5個よりもheterogeneityが高いことを示しているとも言える。今後症例数を積み重ねることにより、LQTSのイベント発生予測に利用できれば、ICAやPCAはさらに有用な方法になると考えられる。

E. 結論

デジタル心電図のTU complex領域のICAにより、LQT7(ATS1)全例で大きな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。

F. 研究発表

論文発表

- (1) Murakami T, **Horigome H**, Shiono J, Ishiodori T, Ban Y, Gomi S, Abe M. Prenatal Diagnosis of Congenital Absence of Aortic Valve: A Report of Two Cases with Different Outcomes and a Literature Review. *Fetal Diagn Ther*. 2015; 38(4):307-14. Epub 2014 Aug 22.
- (2) Sugano A, Ishizu T, Nakamura A, Kawamatsu N, Kato Y, Takahashi M, Kanemoto S, Seo Y, **Horigome H**, Hiramatsu Y, Aonuma K. Cardiac resynchronization therapy in a patient with a failing systemic right ventricle. *Can J Cardiol*. 2015; 31(6):819.e5-7. Epub 2015 Jan 14.
- (3) Tsuboi H, Sumida T, Noma H, Yamagishi K, Anami A, Fukushima K, **Horigome H**, Maeno Y, Kishimoto M, Takasaki Y, Nakayama M, Waguri M, Sago H, Murashima A. Maternal predictive factors for fetal congenital heart block in pregnant mothers positive for anti-SS-A antibodies. *Mod Rheumatol*. 2015 Nov

20:1-7. [Epub ahead of print]

- (4) 鈴木孝典、林 泰佑、小野 博、前野泰樹、**堀米仁志**、村島温子. 母体抗 SS-A 抗体陽性の先天性完全房室ブロックの胎児における子宮内胎児死亡の危険因子. 日本小児循環器学会雑誌 2015; 32(1) 19-25

著書・総説

- (1) **堀米仁志**. 【不整脈を科学する】 突然死を識る・治す イオンチャネル病における突然死 先天性 QT 延長症候群 年齢層別にみた臨床像の特徴 リスク因子と突然死の予防. 医学のあゆみ 2016; 256(6) 639-646
- (2) 住友直方、池田智明、前野泰樹、**堀米仁志**. 胎児・新生児・乳児の不整脈管理. Fetal & Neonatal Medicine 2015; 7(3) 100-8

学会発表

- (1) Nozaki Y, Kato Y, Lin L, Nakamura A, Takahashi M, Sekiguchi Y, Nogami A, Aonuma K, **Horigome H**. Refractory tachyarrhythmias caused by ryanodine receptor type 2 gene mutation in two patients with left ventricular noncompaction. Heart Rhythm 2015, Boston, 2015/5/13
- (2) Kato Y, Nozaki Y, Takahashi-Igari M, Lin L, Nakamura A, **Horigome H**. Progressive atrial myocardial fibrosis in A 4-year-old girl with atrial standstill associated with SCN5A gene mutation. Heart Rhythm 2015, Boston, 2015/5/16
- (3) **Horigome H**, Yoshiaki Kato, Lisheng Lin, Takeshi Inaba, Miho Takahashi, Yoshihiro Nozaki, Akihiro Nakamura, Ryo Sumazaki. In utero diagnosis and treatment of long QT syndrome -Literature review with a special reference to the usefulness of MCG. Asian Symposium on Magnetocardiography 2015, Daejeon, Korea, 2015/11/3
- (4) 高尾 航、大原玲奈、眞弓みゆき、人見義郎、八木洋也、安部加奈子、永井優子、小島真奈、**堀米仁志**、濱田洋実、吉川裕之. 洞性徐脈の評価に胎児心磁図が有用であった症例. 第67回日本産科婦人科学会学術講演会、横浜、2015年4月11日
- (5) 林 立申、**堀米仁志**、鈴木涼子、和田宏来、金井 雄、岩本真理、吉永正夫、須磨崎 亮. 幼児の心血管危険因子に与える本人と保護者の生活習慣の影響. 第118回日本小児科学会学術集会、大阪、2015年4月18日
- (6) 石川伸行、亀田有里、**堀米仁志**、加藤啓輔、中尾朋平、吉見 愛、村上 卓、塩野淳子、小池和俊、土田昌宏. 化学療法後小児がん患者の心エコー・スペクトルトラッキング法を用いた心

機能評価. 第118回日本小児科学会学術集会、大阪、2015年4月19日

- (7) 塩野淳子、石川伸行、石橋奈保子、村上 卓、**堀米仁志**. 小児病院が関わる心疾患患者の妊娠の問題. 第118回日本小児科学会学術集会、大阪、2015年4月19日
- (8) 林 立申、高橋実穂、森田篤志、永藤元道、野崎良寛、中村昭宏、加藤愛章、小関 剛、小倉剛、小島真奈、濱田洋実、**堀米仁志**. 胎児心磁図により出生前に徐脈・房室ブロック・QT延長の合併を診断された18トリソミーの1例. 第30回日本生体磁気学会大会、旭川、2015年6月5日
- (9) 原 モナミ、林 立申、今井綾子、星野雄介、野崎良寛、竹内秀輔、酒井愛子、石川伸行、加藤愛章、高橋実穂、**堀米仁志**、須磨崎 亮. 心室頻拍を呈し、異なる治療戦略を選択した4新生児例. 第109回茨城小児科学会、つくば、2015年6月7日
- (10) 村上 卓、塩野淳子、石橋奈保子、石川伸行、阿部正一、野間美緒、坂有希子、**堀米仁志**. 心房中隔欠損症・心房中隔欠損閉鎖術が小児の身体発育に及ぼす影響. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月16日
- (11) **堀米仁志**、中村昭宏、石津智子、野崎良寛、林立申、加藤愛章、高橋実穂、松原宗明、平松祐司. 成人先天性心疾患外来の現況と紹介患者の心肺運動負荷テストを含めた重症度評価. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月16日
- (12) **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、岩本真理、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総会・学術集会、東京、2015年7月17日
- (13) 松原宗明、加藤愛章、高橋実穂、**堀米仁志**、阿部正一、平松祐司. 心房細動を合併した成人先天性心疾患患者に対するRadial手術の有用性. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月16日
- (14) 野崎良寛、加藤愛章、林 立申、中村昭宏、高橋実穂、**堀米仁志**. 省略4誘導心電図による小児期早期再分極所見の検討. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月16日
- (15) 野間美緒、坂 有希子、阿部正一、石橋奈保子、石川伸行、村上 卓、塩野淳子、**堀米仁志**、平松祐司. 狭小肺動脈PAI≒100でFontan手術を行った3例. 第51回日本小児循環器学会総会・学

術集会、東京、2015年7月16日

- (16) 塩野淳子、石川伸行、石橋奈保子、村上 卓、堀米仁志、森崎裕子. 多彩な症状を呈したACTA2遺伝子変異の1例. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月17日
- (17) 野崎良寛、加藤愛章、林 立申、中村昭宏、高橋実穂、堀米仁志. 先天性筋線維タイプ不均等症に拡張型心筋症を合併した3例. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月17日
- (18) 指宿知子、松原宗明、加藤愛章、高橋実穂、堀米仁志、阿部正一、平松祐司. 高侵襲小児開心術後の非外科的持続性出血に対する第VII因子製剤の有効性. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月17日
- (19) 加藤愛章、高橋実穂、林 立申、野崎良寛、中村昭宏、堀米仁志、松原宗明. 低形成中心肺動脈を有する肺動脈閉鎖、心室中隔欠損、主要体肺側副動脈に対する姑息的右室流出路形成を含めた肺血流の調整. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月18日
- (20) 林 立申、堀米仁志、岩本眞理、宮崎あゆみ、徳田正邦、久保俊英、吉永正夫. 幼児の心血管危険因子値に与える本人、保護者の生活習慣の影響～全国調査～. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月18日
- (21) 平松祐司、吉村幸浩、松原宗明、高橋実穂、加藤愛章、堀米仁志、阿部正一、寺田正次. Pulmonary cusp and annular extension techniqueによるFallot四徴症根治術；新術式導入後4年までの評価. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月18日
- (22) 阿部正一、坂 有希子、野間美緒、石橋奈保子、石川伸行、村上 卓、塩野淳子、堀米仁志、松原宗明、平松祐司. Kreutzer techniqueによるフアロー四徴症、肺動脈弁欠損の治療. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月18日
- (23) 野間美緒、坂 有希子、阿部正一、石橋奈保子、石川伸行、村上 卓、塩野淳子、堀米仁志、平松祐司. 小児心臓手術後のECMO (Extracorporeal membrane oxygenation)の経験. 第51回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京、2015年7月18日
- (24) Yoshinaga M, Horigome H, Ushinohama H, Ohno S. QT intervals during sleeping and around wake-up periods in school-aged patients with long QT syndrome and age-matched healthy controls. 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合同学術大会、京都、2015年7月29日
- (25) 石津智子、瀬尾由広、堀米仁志、山本昌良、町野智子、青沼和隆. 新しい右室3次元エコースペースルトラッキング法による右室駆出率の計測精度. 第63回日本心臓病学会学術集会、横浜、2015年9月18～20日
- (26) 石川伸行、塩野淳子、村上 卓、堀米仁志. 血球貪食症候群を合併した川崎病の3例. 第35回日本川崎病学会・学術集会、鹿児島、2015年10月9日
- (27) 石川伸行、塩野淳子、塙 淳美、村上 卓、堀米仁志. 房室ブロックを伴った急性心筋炎5例. 第110回茨城小児科学会、日立、2015年11月15日
- (28) 野崎良寛、加藤愛章、林 立申、中村昭宏、高橋実穂、堀米仁志. KCNJ2遺伝子変異によるAndersen-Tawil症候群に対するFlecainide, Nadolol併用療法の効果. 第20回日本小児心電学会学術集会、静岡、2015年11月28日
- (29) 三好剛一、前野泰樹、左合治彦、稲村 昇、安河内 聡、川滝元良、堀米仁志、与田仁志、竹田津未生、生水真紀夫、新居正基、白石 公、坂口平馬、上田恵子、池田智明. 胎児頻脈性不整脈に対する経胎盤の抗不整脈薬投与の臨床試験—副作用報告(第2報)—. 第22回日本胎児心臓病学会学術集会、東京、2016年2月19日
- (30) 村上 卓、堀米仁志、塩野淳子、石川伸行、雪竹義也、藤木 豊. 予後不良な染色体異常の出生前診断が在宅医療移行に及ぼす影響. 第22回日本胎児心臓病学会学術集会、東京、2016年2月20日

G. 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 慶應義塾大学 福田 恵一、湯浅 慎介、相澤 義泰

研究要旨

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。

A. 研究目的

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

B. 研究方法

慶應義塾大学病院循環器内科を外来通院または入院加療を行っている患者に対し、QT延長症候群、ブルガダ症候群、家族性心房細動、家族性ペースメーカー症候群などの当該疾患を有している者に対し、書面にて説明と同意を得た上で遺伝子解析目的の採血を行った。また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。

C. 研究結果

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

D. 考察

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

E. 結論

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

F. 研究発表

1. Aizawa Y, Kimura M, Kohno T, Fujita J, Fukuda K. Report of the American Heart Association (AHA) Scientific Sessions 2015, Orlando. Circ J. 2015 Dec 25;80(1):51-7.
2. Aizawa Y, Negishi M, Kashimura S, Nakajima K, Kunitomi A, Katsumata Y, Nishiyama T, Kimura T, Nishiyama N, Fukumoto K, Tanimoto Y, Kohsaka S, Takatsuki S, Fukuda K. Predictive factors of lead failure in patients implanted with cardiac devices. Int J Cardiol. 2015 Nov 15;199:277-81.
3. Fukuda K, Kanazawa H, Aizawa Y, Ardell JL, Shivkumar K. Cardiac innervation and sudden cardiac death

h. Circ Res. 2015 Jun 5;116(12):2005-19.

神奈川県横浜市. (日本心臓病学会学術集会抄録 63 回 Page1131)

学会発表

1. Yoshiyasu Aizawa, Seiji Takatsuki, Seiko Ohno, Satoshi Nagase, Shogo Ito, Kazuaki Nakajima, Shin Kashimura, Akira Kunitomi, Yoshinori Katsumata, Takahiko Nishiyama, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Yoko Tanimoto, Satoshi Ogawa, Kenjiro Kosaki, Keiichi Fukuda. Sex-dependency of Sick Sinus Syndrome Phenotype in Female Members of Familial Brugada Syndrome. Heart Rhythm 2015, Boston, MA, USA.
2. 中嶋一晶, 相澤義泰, 伊藤章吾, 榎村晋, 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)
3. 伊藤章吾, 相澤義泰, 中嶋一晶, 榎村晋, 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.
4. 佐藤由里子, 相澤義泰¹, 宮部彰², 丸山高², 片桐敏雄², 登坂淳², 前田備子², 玉村年健², 水村泰祐², 高月誠司¹, 福田恵一¹, 杉村洋一². 重症肺炎に起因する発熱により incessant 型単形性心室頻拍を発症した Brugada 症候群の一例. 第63回日本心臓病学会学術集会. 2015年9月20日、

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

HRS/EHRA/APHRS Expert Consensus Statement 基準に基づいた
小児期 QT 延長症候群の頻度に関する研究

研究分担者 吉永正夫¹⁾
分担協力者 九町木綿¹⁾、西島 信²⁾、緒方裕光³⁾、野村裕一⁴⁾
所 属 ¹⁾国立病院機構鹿児島医療センター、²⁾総合病院鹿児島生協病院、³⁾国立保健医療科学院研究情報支援研究センター、⁴⁾鹿児島市立病院

研究要旨

【目的】学校心臓検診（心検）で抽出される QT 延長症候群（LQTS）の頻度を HRS/EHRA/APHRS Expert Consensus Statement 基準で決定すること。

【方法及び結果】2008 年から 2013 年までの鹿児島市学校心臓検診の受診対象者小学 1 年 33,051 名、中学 1 年 34,751 名を対象とした。鹿児島市においては 1 次、2 次、3 次の検診を行っている。1 次検診を受診したのは小学生 32,982 名（対象者の 99.8%）、中学生 34,572 名（同 99.5%）であった。1 次、2 次、3 次検診後、小学 1 年 10 名、中学 1 年 32 名が HRS/EHRA/APHRS 基準により high probability of LQTS と診断された。心検による抽出頻度は小学 1 年で 1:3298、中学 1 年で 1:1080 と考えられた。本期間中、中学生では既に小学 1 年の心検において 3 名が LQTS と診断されており、小学 1 年、中学 1 年での頻度は 1:3298 および 1:988 と考えられた。

【結論】心検における HRS/EHRA/APHRS 基準による a high probability of LQTS の頻度は小学 1 年(6 歳)でおおよそ 1:3300、中学 1 年(12 歳)で 1:1000 である。

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 16 の責任遺伝子が証明されている³。

1957 年に難聴と QT 延長を伴う 4 例が報告されて以来⁴、LQTS の病態、診断、治療への理解は急速に進んでいる^{2,3}。健常新生児での LQTS の頻度は 2000 人に一人と報告されている⁵。

日本では小学 1 年、中学 1 年、高校 1 年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⁶。心検により診断される頻度は中学生で 1200 人に一人である⁷。三大陸不整脈学会 {不整脈学会(HRS)、欧州不整脈学会(EHRA)、環太平洋不整脈学会(APHRS)}は 2013 年に遺伝性不整脈に関する診断と治療に関する基準を発表した⁸。

そこで本研究において、HRS/EHRA/APHRS 基準による小児期 LQTS の頻度を鹿児島市心検の Data を用いて検討した。

B. 研究方法

1. 対象

2008 年から 2013 年までの鹿児島市心検の受診対象者小学 1 年 33,051 名、中学 1 年 34,751 名を対象にした。高 1 年生は 3 次検診として多くの医療機関を受診していたため、検討から除外した。

2. 鹿児島市のスクリーニングシステム

鹿児島市においては 1 次スクリーニング、2 次、3 次検診を行っている。

(1) 1 次スクリーニング

安静時心電図と問診票で抽出されている。小・中学生は小児循環器医が担当している。

(2) 2 次検診

1 次スクリーニングで抽出された児童生徒は全て鹿児島市医師会病院を受診する方式をとっている。更に精査が必要な場合は 3 次検診を行っている。

(3) 3 次検診

小・中学生の場合、小児循環器を専門とする医療機関に紹介されている。QT 延長が疑われた場合、全て単一の施設 (鹿児島医療センター) に紹介されている。

3. QT 延長のスクリーニング法

(1) ベキ指数補正による QTc 値 ($QT/RR^{0.31}$)⁹

1993~2009 年はベキ指数によるスクリーニングを行った。基準値は下記の通りとした。

	男子	女子
小学生	0.430	0.430
中学生	0.445	0.450

(2) Fridericia 補正による QTc 値 ($QT/RR^{1/3}$)¹⁰

2010 年以降は Fridericia 補正によるスクリーニングを行った。基準値は下記の通りとした。

	男子	女子
小学生	0.430	0.430
中学生	0.445	0.445

4. High probability of LQTS (definite LQTS) の診断基準 (HRS/EHRA/APHRS statement)

High probability of LQTS (definite LQTS) の診断基準は HRS/EHRA/APHRS statement に準拠した。

(1) High probability of LQTS:

- LQTS risk score が 3.5 以上、または
- 有意な遺伝子変異の存在、または
- 12 誘導心電図で 1 回でも $QTc \geq 500$ ms

(2) High probability of LQTS を疑う場合:

- 2 次性の QT 延長がなく、原因不明の失神の既往があり、12 誘導心電図で QTc 値が 480-499 ms

(3) LQTS risk score²

表 1 の基準を用いた。

表 1 QT 延長症候群の診断²⁾

	Point	Point	
1. 心電図所見		2. 臨床症状	
A. QTc 値		A. 失神	
≥ 480 msec	3	ストレス時	2
460-470 msec	2	非ストレス時	1
450 msec (in males)	1	B. 先天性聾	0.5
B. 運動負荷後 4 分 QTc 値 ≥ 480 msec	1	3. 家族歴	
C. 倒錯型心室頻拍	2	A. LQTS の家族歴	1
D. T 波交互脈	1	B. 30 歳未満の突然死	0.5
E. 切れ込みのある T 波 (3 誘導以上)	1		
F. 年齢不相応の徐脈	0.5		

点数の合計が ≥ 3.5 ; 診断確実 (high probability); 1.5~3.0 点; 疑診 (intermediate probability): ≤ 1.0 ; 可能性が低い (low probability)

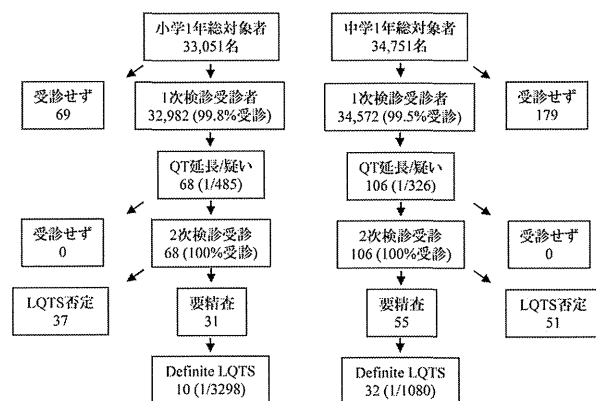


図1 鹿児島市学校心検でのLQTS抽出のフロー

5. 徐脈の診断基準

LQTS risk score には徐脈に関する診断項目があり、心検における徐脈の診断基準がないため、2006～2009年の鹿児島市の心検を受診した下記対象者数から決定した。各学年/性における2パーセンタイル値は下記の通りであった。

- ・小学生男子 (n=9849) ≤ 63
- ・小学生女子 (n=9518) ≤ 63
- ・中学生男子 (n=10,401) ≤ 56
- ・中学生女子 (n=10,868) ≤ 58

6. 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。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. 検診・診断の Flow

本研究の検診・診断の Flow は図1の通りであった。小学1年、中学1年の年度毎の対象者数、1次スクリーニング受診数、2次検診への抽出数、3次検診受診者数、High probability of LQTS と診断された児童生徒数を表2、3に示した。

表2 鹿児島市小学1年生の学校心臓検診結果

年	対象者数*1	受診数*2	2次抽出*3	要精査*4	LQTS*5	頻度
2008	5559	5544 (99.7%)	5	1	1	1/5544
2009	5533	5526 (99.9%)	5	3	2	1/2663
2010	5582	5572 (99.8%)	12	6	0	0/5572
2011	5446	5430 (99.7%)	19	11	5	1/1086
2012	5270	5259 (99.8%)	12	5	0	0/5259
2013	5661	5651 (99.8%)	15	5	2	1/2826
計	33,051	32,982 (99.8%)	68	31	10	1/3298

*1; 心検受診が必要であった数

*2; 1次スクリーニング受診者数

*3; QT延長またはQT延長の疑いとして2次検診に抽出された数

*4; QT延長症候群診断のため3次検診受診を勧められた数

*5; High probability of LQTS と診断された数

表3 鹿児島市中学1年生の学校心臓検診結果

年	対象者数*1	受診数*2	2次抽出*3	要精査*4	LQTS*5	頻度
2008	5731	5703 (99.5%)	9	6	5	1/1159
2009	5854	5825 (99.5%)	11	4	3	1/2913
2010	5885	5853 (99.5%)	15	6	3	1/2927
2011	5794	5765 (99.5%)	30	17	7	1/1153
2012	5725	5689 (99.4%)	22	13	10	1/632
2013	5762	5737 (99.6%)	19	9	4	1/1912
計	34,571	34,572 (99.5%)	106	55	32	1/1080

*1 から *5; 表2の説明と同様

2. 対象者の QTcB 値

本研究においては診断時の QTc としては Bazett での補正を指定してあるため、図では Bazett 補正での QTc 値 (QTcB) を用いた。対象者、1次、2次での QTcB 値を図2に示した。対象者のうち、3次検診受診者が1次スクリーニング、2次検診ともに QTcB 値が長いのは当然であるが、2次検診までの受診者 (3次検診が必要でなかったもの)、3次検診受診者ともに1次スクリーニング時の QTcB 値が2次検診時の QTcB 値より有意に高値であった。今後の検診で注意すべきことと考えられた。

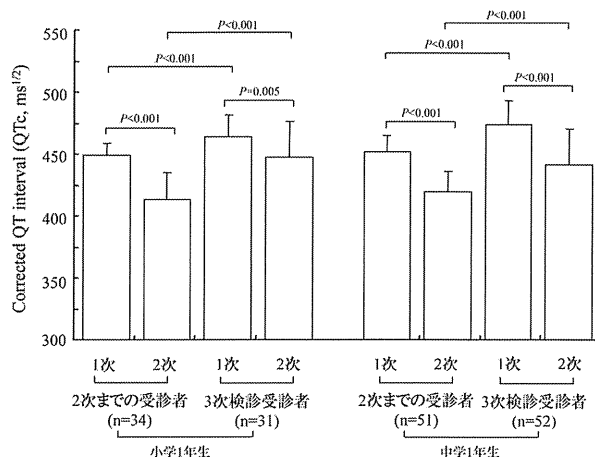


図2 2次までの受診者、3次検診受診者の1次、2次でのQTc値

3. 心検における LQTS 患児の頻度

心検時における High probability of LQTS の頻度は小学1年 (6 歳) 時、**10 名/32,982 名 (1/3298)**、中学1年 (12 歳) 時、**32 名/34,572 名 (1/1080)**であった。中学1年 (12 歳) においては **3 名** は既に小学1年で抽出されており、最終的には **(32+3) 名/34,572 名 (1/988)** の頻度であった。

D. 考察

High probability of LQTS の頻度は診断基準により異なっていた。新生児期における遺伝子診断を基にした頻度は 1/2000 と考えられている⁵。LQTS においては遺伝子診断における変異の変異確定率がおおよそ 60% であり、この変異確定率を考慮に入れると実際には 1/1200 と考えられる。実際、心電図を基に診断を行うと 1/1100 であったことが報告されている¹¹。

児童生徒における頻度は日本における Data しかない。小学1年における頻度は今回の報告が初めてである。中学1年において心電図を基にした診断では 1:1200 であったという報告があり、今回の報告と同様の結果であった。

LQTS は肥大型心筋症と同様、小児において心臓突然死を起こす代表的な疾患であり、今回の Data は小児期における心臓突然死の予防対策および突然死予防の費用対効果の検討^{12,13} に重要な根拠を与えるものと考えられる。

E. 結論

心検で LQTS と診断できる頻度は小学1年時でおおよそ 1/3300、中学1年時でおおよそ 1/1000 である。QT 延長に関しては 1 次検診時の QTc 値も重要と考えられる。

文献

1. Goldenberg I, Moss AJ. Long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: 2291-2300.
2. Schwartz PJ, Ackerman MJ. The long QT syndrome: a transatlantic clinical approach to diagnosis and therapy. *Eur Heart J* 2013;34:3109-3116.
3. Schwartz PJ, Ackerman MJ, George AL Jr, Wilde AA. Impact of genetics on the clinical management of channelopathies. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:169-80.
4. 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.
5. Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, et al. Prevalence of the congenital long-QT syndrome. *Circulation* 2009;120:1761-1767.
6. 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;7:107-112.
7. 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; 89:395-398.
8. Priori SG, Wilde AA, Horie M, et al. HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes: document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013. *Heart Rhythm* 2013;10:1932-1963.
9. Yoshinaga M, Tomari T, Aihoshi S, et al. Exponential correction of QT interval to minimize the effect of the heart rate in children. *Jpn Circ J* 1993;57:102-108.
10. 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;74:1663-1669.
11. Yoshinaga M, Ushinohama H, Sato S, et al. Electrocardiographic screening of 1-month-old infants for identifying prolonged QT intervals. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2013;6:932-938.
12. Zupancic JA, Triedman JK, Alexander M, Walsh EP, Richardson DK, Berul CI. Cost-effectiveness and implications of newborn screening for prolongation of QT interval for the prevention of sudden infant death syndrome. *J Pediatr* 2000;136:481-9.
13. Quaglini S, Rognoni C, Spazzolini C, Priori SG, Mannarino S, Schwartz PJ. Cost-effectiveness of neonatal ECG screening for the long QT syndrome. *Eur Heart J* 2006;27:1824-32.

図の説明

図 1 鹿児島市学校心臓検診における検診と診断の Flow

図 2 QT 延長が疑われた児童生徒のうち、2 次検診までの受診者と 3 次検診受診者での 1 次、2 次検診時の QTcB 値

2 次検診までの受診者、3 次検診受診者ともに 1 次スクリーニング時の QTcB 値が 2 次検診時の QTcB 値より有意に高値を示している。

F. 研究発表

論文発表

- (1) Yoshinaga M, Kucho Y, Nishibatake M, Ogata H, Nomura Y. Probability of diagnosing long QT syndrome in children and adolescents according to the criteria of the HRS/EHRA/APHS expert consensus statement. *Eur Heart J*. 2016 Mar 29. [Epub ahead of print]
- (2) Imamura T, Tanaka Y, Ninomiya Y, Yoshinaga M. Combination of flecainide and propranolol for congenital junctional ectopic tachycardia. *Pediatr Int*. 2015;57:716-8.
- (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;82:1058-64.

著書・総説

なし

学会発表

- (1) Yoshinaga M, Ogata H, Suzuki H, Ushinohama H, Sumitomo N, Horigome H, Tateno S, Sato S, Tauchi N, Nagashima M. Cumulative risk of symptoms in pediatric patients with long QT syndrome (LQTS) who were diagnosed by school-based screening programs in Japan. European Society of Cardiology Congress (ESC) 2015, London, 2015.8.30
- (2) 吉永正夫, 石川司朗, 志田正典, 星子浄水, 持永俊一, 西原重剛, 高村一志, 本庄 茂, 我那覇仁. 九州地区における乳児・小児・思春期の院外心停止の状況に関する調査成績. 第 118 回日本小児科学会学術集会、平成 27 年 4 月 17 日、大阪.
- (3) Yoshinaga M, Ogata H, Suzuki H, Ushinohama H,

Sumitomo N, Horigome H, Tateno S, Hoshino K, Iwamoto M, Shiono J, Sato S, Kucho Y, Tauchi N, Nagashima M. Risk assessment of pediatric patients with long QT syndrome who were diagnosed by the screening program in Japan. 第 79 回日本循環器学会学術集会、平成 27 年 4 月 24 日、大阪

- (4) 吉永正夫, 小川結実, 山下 和, 潤田 心, 佐藤龍一, 平林雅子, 石川司朗, 志田正典, 星子浄水, 持永俊一, 西原重剛, 嶋田 丞, 高村一志, 本庄 茂, 我那覇仁, 砂川 信, 半井都枝子. 九州地区における小児期院外突然死の状況. 第 8 回蘇生科学シンポジウム、平成 27 年 6 月 4 日、富山
- (5) 榎木大輔, 吉永正夫, 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 51 回日本小児循環器学会総会・学術集会、平成 27 年 7 月 16 日、東京
- (6) 野村裕一, 吉永正夫, 上野 健太郎, 江口 太助, 益田 君教, 田中 裕治, 西畠 信. 学校心臓検診の自動解析正常で医師判読により二次検診へスクリーニングされた心電図の検討. 第 51 回日本小児循環器学会総会・学術集会、平成 27 年 7 月 16 日、東京
- (7) 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総会・学術集会、平成 27 年 7 月 17 日、東京
- (8) 吉永正夫, 九町 木綿, 西畠 信, 緒方 裕光, 野村 裕一. Prevalence of Children and Adolescent s with Long QT Syndrome According to the Criteria of the HRS/EHRA/APHS Expert Consensus Statement. 第 80 回日本循環器学会学術集会、平成 28 年 3 月 18 日、仙台

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

LMNA関連心筋症における性差、変異部位の検討

研究分担者 牧山 武 京都大学大学院 医学研究科 助教

研究要旨 核膜の裏打ち蛋白である lamin A, C をコードする LMNA 遺伝子異常により、laminopathy と呼ばれる様々な疾患を引き起こし、特に心臓では、拡張型心筋症+心臓伝導障害を呈することが知られている。我々は、LMNA 関連心筋症の病態解明、予後指標の検討のため genotype-phenotype 解析を行ってきた。海外の報告にて、予後に性差があり、変異部位の影響も示唆されており、我々は日本人コホートにおいて検討を行った。本知見が病態の把握、患者診療への還元されることが期待される。

A. 研究目的

LMNA 遺伝子は、核膜の裏打ち蛋白である lamin A, C をコードし、核膜の構造保持や DNA 転写、遺伝子発現に重要な役割を果たす。本遺伝子異常はラミノパチーと呼ばれる種々の疾患を引き起こし、特に心臓では、拡張型心筋症+心臓伝導障害を呈する。本疾患は、致死性不整脈や重症心不全の合併により予後不良であり、根本的治療のない難治性疾患である。我々は、LMNA 関連心筋症の病態解明、予後指標の検討のため genotype-phenotype 解析を行ってきた。海外の報告にて、予後に性別が関係し、変異部位の影響も示唆されており、我々の日本人コホートにおいて検討を行った。

B. 研究方法

LMNA 変異の判明している発端者 38 例、家系内遺伝子変異キャリアー 27 例において性別、変異部位伝と病態(伝導障害、上室性不整脈、左室収縮能低下、致死性不整脈)との検討を行った。

C. 研究結果

全キャリアー65例に関して、性別を分けてそれぞれの評価項目のKaplan-Meier curveを描いたところ有意な相関は認めなかった。(図1)また、nuclear localization signal (NLS) が保持されているかどうかで同様に検討したところ伝導障害、上室性不整脈とは有意な相関があったが(logrank test $p=0.012, 0.027$)、左室機能低下、致死性不整脈とは関連しない結果であった。(図2)

図1 性別と病態との関連

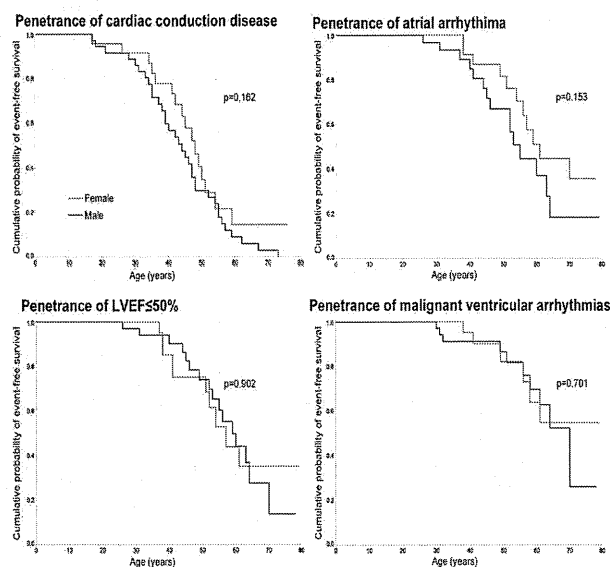
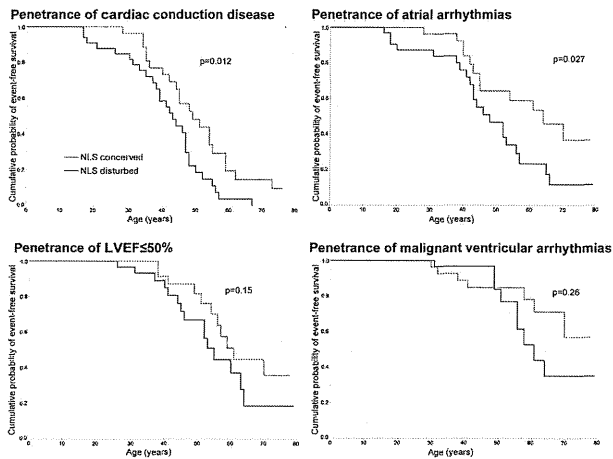


図2 変異部位と病態との関連



D. 考察

海外の報告で男性、NLS 部位の欠損は予後に関わる因子として報告されている。(Van Rijsingen et al. JACC 2011, Wu Nucleus 2014) 本研究では異なる結果が得られているが解釈は慎重にすべきである。limitation として、症例数、フォローアップ期間の問題、本件研究では genotype された症例のみ解析対象としており、遺伝子解析を受けていない家系内キャリアー、既に亡くなられたキャリアー疑い症例は含まれないことが考えられた。今後これらの要因も考慮してさらに検討を進める必要があると考えられた。

E. 結論

本研究をさらに進め、日本における LMNA 関連心筋症の病態の把握、患者診療への還元されることが期待される。

F. 健康危険情報

なし。

論文発表

① Chen J, Makiyama T*, Wuriyanghai Y, Ohno S, Sasaki K, Hayano M, Harita T, Nishiuchi S, Yuta Yamamoto, Ueyama T, Shimizu A, Horie M, Kimura T. Cardiac sodium channel mutation associated with epinephrine-induced QT prolongation and sinus node dysfunction. *Heart Rhythm*. 2016 Jan;13(1):289-98.

doi: 10.1016/j.hrthm.2015.08.021. Epub 2015 Aug 14. PMID: 26282245 * Corresponding author

- ② Itoh H, Crotti L, Aiba T, Spazzolini C, Denjoy I, Fressart V, Hayashi K, Nakajima T, Ohno S, Makiyama T, Wu J, Hasegawa K, Mastantuono E, Dagradi F, Pedrazzini M, Yamagishi M, Berthet M, Murakami Y, Shimizu W, Guicheney P, Schwartz PJ, Horie M. The genetics underlying acquired long QT syndrome: impact for genetic screening. *Eur Heart J*. 2015 Dec 28. pii: ehv695. [Epub ahead of print] PMID: 26715165
- ③ Itoh H, Berthet M, Fressart V, Denjoy I, Maugenre S, Klug D, Mizusawa Y, Makiyama T, Hofman N, Stallmeyer B, Zumhagen S, Shimizu W, Wilde AA, Schulze-Bahr E, Horie M, Tezenas du Montcel S, Guicheney P. Asymmetry of parental origin in long QT syndrome: preferential maternal transmission of KCNQ1 variants linked to channel dysfunction. *Eur J Hum Genet*. 2015 Dec 16. doi: 10.1038/ejhg.2015.257. [Epub ahead of print] PMID: 26669661
- ④ Kato K, Takahashi N, Fujii Y, Umehara A, Nishiuchi S, Makiyama T, Ohno S, Horie M. LMNA cardiomyopathy detected in Japanese arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy cohort. *J Cardiol*. 2015 Nov 24. pii: S0914-5087(15)00355-X. doi: 10.1016/j.jcc.2015.10.013. [Epub ahead of print] PMID: 26620845
- ⑤ 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*. 2015 Aug 10. pii: ehv369. [Epub ahead of print] PMID: 26261291
- ⑥ Fukuyama M, Ohno S, Makiyama T, Horie M. Novel SCN10A variants associated with

Brugada syndrome. *Europace*. 2015 Apr 4. p ii: euv078. [Epub ahead of print] PMID: 25842276

学会発表

- ① 牧山 武: Genetics 8: Advances in Diagnosis and Management of CPVT: Prevention of Sudden death in CPVT: who gets an ICD? , APHRS2015 (8th Asia-Pacific Heart Rhythm Scientific Session), Melbourne, Australia 11.19-11.22, 2015, invited speaker
- ② 牧山 武: Paeds 3 with GENETICS: Paediatric Cardiac Inherited Disease: The latest on the treatment of CPVT in children, APHRS2015 (8th Asia-Pacific Heart Rhythm Scientific Session), Melbourne, Australia 11.19-11.22, 2015, invited speaker
- ③ 西内 英: Abnormal expressions of cardiac ion channels-associated genes in lamin A/C-related cardiomyopathy-specific induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, European Society of Cardiology (ESC) Congress 2015, London, United Kingdom, 8.29-9.2, 2015, (poster)
- ④ 山本 雄大: Modeling of long-QT syndrome associated with a calmodulin mutation using human induced pluripotent stem cells, American Heart Association Scientific Sessions (AHA) 2015, Orland, United States, 11.7-11.11, 2015, (poster)
- ⑤ 牧山 武: トピック, iPS を用いた再生医療: Structural and Electrophysiological Characteristics of Human Induced Pluripotent Stem Cell-derived Cardiomyocytes, 第79回日本循環器学会学術集会, 大阪, 4.24-26, 2015 (oral)
- ⑥ 梶谷 泰彦: Genetic Backgrounds of Patients with Clinically Diagnosed Idiopathic Ventricular Fibrillation, 第79回日本循環器学会学術集会, 大阪, 4.24-26, 2015, (oral, Featured research session)
- ⑦ 西内 英: LMNA Related Cardiomyopathy Specific Induced Pluripotent Stem Cells derived Cardiomyocytes Stressed by Adrenergic Stimulation Recapitulate the Aging Related Phenotype in an Early Phase of Differentiation, 第79回日本循環器学会学術集会, 大阪, 4.24-26, 2015 (oral)
- ⑧ 張田 健志: Electrophysiological Properties of L-type Calcium Channels in Human Induced Pluripotent Stem Cells-Derived Cardiomyocytes, 第79回日本循環器学会学術集会, 大阪, 4.24-26, 2015 (poster)
- ⑨ Yimin Wuriyanghai: ML277 が延長された LQT1 患者由来 iPS 心筋細胞の活動電位を短縮する効果について, 第1回日本心血管薬物療法学会 (J-ISCP) 学術集会, 京都, 6.20-21, 2015, (poster)
- ⑩ 佐々木 健一: S107 はカテコラミン誘発性多形性心室頻拍の患者由来 iPS 細胞モデルの表現型を抑制する, 第1回日本心血管薬物療法学会 (J-ISCP) 学術集会, 京都, 6.20-21, 2015, (poster)
- ⑪ 張田 健志: Patient-Specific Induced Pluripotent Stem-Cell Models for Long QT Syndrome with the missense mutation in the CACNA1C gene, 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, 京都, 7.28-31, 2015, (oral)
- ⑫ 山本雄大: Generation of TRPM4 knock out human induced pluripotent stem cells by genome editing using the CRISPR-Cas9 nickase, 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, 京都, 7.28-31, 2015, (poster)
- ⑬ 佐々木 健一: S107 rescues arrhythmogenic phenotype in a patient specific-induced stem cell-based model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, 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, 京都, 7.28-31, 2015, (poster)
- ⑭ 陳 嘉容: Cardiac Sodium Channel Mutation Associated With Epinephrine-Induced QT Prolongation and Sinus Node Dysfunction, 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, 京都, 7.28-31, 2015, (poster)

- ⑮ Yimin Wuriyanghai: ML277 shortens prolonged action potential durations in a patient-specific induced pluripotent stem cell-based model of long-QT syndrome type 1, 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, 京都, 7.28-31, 2015, (poster)
- ⑯ 西内 英: Abnormal expressions of cardiac ion channels-associated genes in lamin A/C-related cardiomyopathy-specific induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, 第80回日本循環器学会学術集会, 仙台, 3.18-20, 2016, (poster)
- ⑰ 早野 護: Electrophysiological Features of Patient-specific Human-induced Pluripotent Stem Cell-derived Cardiomyocytes Carrying the SCN5A-D1275N Mutation, 第80回日本循環器学会学術集会, 仙台, 3.18-20, 2016, (poster)
- ⑱ 張田 健志: The Phenotype in Cardiomyocytes Derived from Induced Pluripotent Stem Cells of Long QT Syndrome type 8 Patients without Extracardiac Phenotypes, 第80回日本循環器学会学術集会, 仙台, 3.18-20, 2016, (poster)

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 渡部 裕 新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器内科客員研究員

研究要旨 洞不全症候群は一部に遺伝的背景が原因となる家族性洞不全症候群の患者が存在する。本研究は、SCN5A 変異が器質的心疾患を伴わない比較的若年な洞不全症候群患者において重要な原因であることを解明した。

A. 研究目的

洞不全症候群は恒久的ペースメーカー植え込みが必要となる原因の主要な一つである。大部分の洞不全症候群の患者は高齢者であるが、一部に遺伝的背景が原因となる家族性洞不全症候群の患者が存在する。心臓ナトリウムチャンネル遺伝子 SCN5A は、遺伝性洞不全症候群の原因遺伝子の一つである。本研究は洞不全症候群を発症した非高齢者における SCN5A 変異の役割を解明することを目的とした。

B. 研究方法

洞不全症候群を発症し、器質的心疾患のない非高齢者7名を対象として、SCN5A 遺伝子のスクリーニングを行った。同定された SCN5A 変異の機能異常について In silico 的に解析を行った。
(倫理面への配慮)

本研究は新潟大学大学院医歯学総合研究科の遺伝子倫理委員会の承認を得て行われた。研究対象者へは文書による説明を行い、インフォームドコンセントを得て研究を行った。検体は連結可能匿名化されて遺伝子検査に用いられた。

C. 研究結果

7名中4名において SCN5A 変異を同定した。全ての変異が In silico 的に機能異常が予測された、ないしは既に機能異常が報告されていたものであった。

D. 考察

SCN5A 変異は、器質的心疾患を伴わない比較的若年な洞不全症候群患者において重要な原因であることが示された。SCN5A 遺伝子のスクリーニングは洞不全症候群発症のリス

ク管理において重要である。

E. 結論

SCN5A 変異は、器質的心疾患を伴わない比較的若年な洞不全症候群患者において重要な原因である。

F. 研究発表

論文発表

1. Ngao S, Watanabe H, Sobue Y, Kodama M, Tanaka J, Tanabe N, Suzuki E, Narita I, Watanabe E, Aizawa Y, Minamino T. Electrocardiographic abnormalities and risk of developing cardiac events in extracardiac sarcoidosis. *Int J Cardiol.* 2015;189:1-5
2. Iijima K, Chinushi M, Saitoh O, Hasegawa K, Sonoda K, Yagihara N, Sato A, Izumi D, Watanabe H, Furushima H, Aizawa Y, Minamino T. Frequency characteristics and associations with the defibrillation threshold of ventricular fibrillation in patients with implantable cardioverter defibrillators. *Intern Med.* 2015;54:1175-1182

学会発表

1. Watanabe H, Minamino T. Sodium Channel Dysfunction and Inherited Cardiac Diseases. 第80回日本循環器病学会

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

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

発熱を契機にQT延長、Torsades de pointesを発症したType2 QT延長症候群の発症メカニズム

研究分担者 林 研至 金沢大学附属病院 循環器内科

研究要旨 発熱時に著明な QT 延長が認められ、Kv11.1 チャネルの S5-pore 領域に KCNH2 遺伝子変異（G584S 変異、D609G 変異）が認められた症例の発症メカニズムについて検討を行った。細胞電気生理学的検討の結果、野生型チャネルと比較して、変異チャネルでは高熱時に不活性化の増強が認められており、温度依存性の発現電流の増大の程度が有意に小であった。Kv11.1 チャネル S5-pore 領域領域に遺伝子変異を認める症例の中には、発熱時に著明な QT 延長を来す症例が含まれており、Torsades de pointes 発症を回避するために速やかな解熱が必要と考えられた。

A. 研究目的

後天性 QT 延長症候群の原因として薬剤、低カリウム血症、徐脈、イオンチャネル遺伝子変異などが知られている。発熱が QT 延長症候群の原因となることは稀であり、その報告は少ない。最近、我々は発熱時に QT 延長と Torsades de pointes を発症し、KCNH2 遺伝子変異（G584S 変異、D609G 変異）を認めた 2 症例を経験した。本研究では、発熱に伴う QT 延長および不整脈発症のメカニズムを明らかにするため、細胞電気生理学的検討を行った。

B. 研究方法

患者から約 10ml の末梢血を採取し遠心分離をかけ、コントロールとともにスクリーニングを行った。スクリーニングには Hi-Res Melting 法による遺伝子変異解析装置 LightScanner (Idaho Technology 社) を用いた。異常パターンを認めたサンプルについては、遺伝子異常同定法 (direct sequence 法)

を用いて、異常塩基の同定を行いアミノ酸の変化を確認した。

同定された KCNH2 遺伝子変異について、変異遺伝子発現ベクターを作成、CHO-K1 細胞にトランスフェクションさせ、パッチクランプ法にて電気生理学的特徴を検討した。細胞外液の温度を 25 度 (室温)、35 度 (生理学的温度)、40 度 (発熱時) に変化させ、発現電流の大きさ、チャネルキネティクスの評価を行った。

(倫理面への配慮)

本研究ではヒト遺伝子の解析を行うため、採血前に書面にて同意書をとって行った。不整脈関連心疾患の遺伝子解析については、金沢大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得た。

C. 研究結果

症例 1 は 47 歳女性で、以前薬剤性 QT 延長症候群と診断された。腎盂腎炎による発熱および失神を認めたため外来を受診した。心電図で著明な QT 延長を認め、ホルター心電

図で Torsades de pointes を認めた。解熱により QT 時間は正常化した。遺伝子解析で KCNH2 G584S 変異が認められた。

症例 2 は 2 歳男児で、生下時に洞性徐脈と診断された。微熱を伴う急性気管支炎に対してクラリスロマイシンが投与され、その 3 日後に高熱で再診した際、著明な QT 延長と Torsades de pointes が認められた。遺伝子解析で KCNH2 D609G 変異が認められた。

CHO 細胞に Kv11.1 変異チャネルを発現させたところ、G584S チャネルの発現電流は野生型と比較して有意に小であり、D609G チャネルでは明らかな発現電流が認められず、WT と共発現させた WT +D609G チャネルは野生型と比較して有意に小であった。細胞外液の温度を 35 度から 40 度に変化させ、末尾電流の大きさの比 (40 度における末尾電流/35 度における末尾電流) を比較したところ、野生型は 1.29 ± 0.06 (n=16)、G584S は 1.12 ± 0.05 (n=13)、WT+D609G は 1.10 ± 0.06 (n=10) であった。

次にチャネルの不活性化の評価を行った。35 度において、G584S あるいは WT+D609G の定常状態の不活性化曲線は、野生型と比べて陰性方向にシフトしていたが、有意差はみとめられなかった。一方、40 度において、両変異チャネルの定常状態の不活性化曲線は、野生型と比べて有意に陰性方向にシフトしていた。

D. 考察

本研究では、発熱時に著明な QT 延長が認められ、Kv11.1 チャネルの S5-pore 領域に遺伝子変異が認められた症例の発症メカニズムについて検討を行った。細胞電気生理学的検討の結果、変異チャネルでは温度依存性の発現電流の増大が認められず、それは変異チャネルの不活性化の増強によるものと考えられた。これまで発熱に伴う QT 延長症候群症例が 2 例報告されており、いずれも Kv11.1 チャネルの S5-pore 領域に遺伝子変異が認めら

れた。この領域に遺伝子変異を認める症例は、発熱時の著明な QT 延長に注意すべきであり、速やかな解熱が必要と考えられた。

E. 結論

Kv11.1 チャネルの S5-pore 領域に遺伝子変異を認める症例の中には、発熱時に著明な QT 延長と Torsades de pointes を呈する症例が存在する可能性がある。発熱時に不活性化の増強のため、外向きカリウム電流の増大が制限されていることがその原因と考えられた。

F. 研究発表 論文発表

1. Nagata Y, Konno T, Fujino N, Hoda tsu A, Nomura A, Hayashi K, Nakamura H, Kawashiri MA, Yamagishi M. Right ventricular hypertrophy is associated with cardiovascular events in hypertrophic cardiomyopathy: evidence from study with magnetic resonance imaging. *Can J Cardiol.* 2015 Jun;31(6):702-8. doi: 10.1016/j.cjca.2014.12.036. Epub 2015 Jan 24. Pub Med PMID: 25935883.
2. Tada H, Kawashiri MA, Yamagishi M, Hayashi K. Atrial fibrillation: an inherited cardiovascular disease—a commentary on genetics of atrial fibrillation: from families to genomes. *J Hum Genet.* 2016 Jan;61(1):3-4. doi: 10.1038/jhg.2015.63. Epub 2015 Jun 11
3. Konno T, Hayashi K, Fujino N, Oka R, Nomura A, Nagata Y, Hodatsu A, Sakata K, Furusho H, Takamura M, Nakamura H, Kawashiri MA, Yamagishi M. Electrocardiographic QRS Fragmentation as a Mar

- ker for Myocardial Fibrosis in Hypertrophic Cardiomyopathy. **J Cardiovasc Electrophysiol.** 2015 Oct;26(10):1081-7. doi: 10.1111/jce.12742. Epub 2015 Aug 11. PubMed PMID: 26102305.
4. ○ 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.** 2015 Oct;8(5):1095-104. doi: 10.1161/CIRCEP.114.002519. Epub 2015 Jun 30. PubMed PMID: 26129877.
 5. Nomura A, Tada H, Teramoto R, Konno T, Hodatsu A, Won HH, Kathiresan S, Ino H, Fujino N, Yamagishi M, Hayashi K. Whole exome sequencing combined with integrated variant annotation prediction identifies a causative myosin essential light chain variant in hypertrophic cardiomyopathy. **J Cardiol.** 2016 Feb;67(2):133-9. doi: 10.1016/j.jjcc.2015.09.003. Epub 2015 Oct 9. PubMed PMID: 26443374.
 6. Tada H, Kawashiri MA, Yoshida T, Teramoto R, Nohara A, Konno T, Inazu A, Mabuchi H, Yamagishi M, Hayashi K. Lipoprotein(a) in Familial Hypercholesterolemia With Protein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Gain-of-Function Mutations. **Circ J.** 2016 Jan 25;80(2):512-8. doi: 10.1253/circj.CJ-15-0999. Epub 2015 Dec 2. PubMed PMID: 26632531.
 7. Konno T, Nagata Y, Teramoto R, Fujino N, Nomura A, Tada H, Sakata K, Furusho H, Takamura M, Nakamura H, Kawashiri MA, Yamagishi M, Hayashi K. Usefulness of Electrocardiographic Voltage to Determine Myocardial Fibrosis in Hypertrophic Cardiomyopathy. **Am J Cardiol.** 2016 Feb 1;117(3):443-9. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.11.015. Epub 2015 Nov 19. PubMed PMID: 26705881.
 8. ○Hayashi K, Konno T, Fujino N, Itoh H, Fujii Y, Imi-Hashida Y, Tada H, Tsuda T, Tanaka Y, Saito T, MD, Ino H, Kawashiri M, Ohta K, Horie M, Yamagishi M. Impact of Updated Diagnostic Criteria for Long QT Syndrome on Clinical Detection of Diseased Patients: Results from Study of Patients Carrying Gene Mutations. **JACC: Clinical Electrophysiology.** 2016 in press

学会発表

1. Kenshi Hayashi, Hayato Tada, Masakazu Yamagishi. The role of common and rare genetic variants implicated in susceptibility to atrial fibrillation. 2015 Annual Convention & Scientific Session of the Taiwan Society of Cardiology/JCS-TSOC JOINT SESSION: ARRHYTHMIA IN STRUCTURAL HEART DISEASE
2. Kenshi Hayashi, Tadashi Nakajima, Shoichi Tange, Noboru Fujino, Ke

nji Sakata, Tetsuo Konno, Toyonobu Tsuda, Yoshihiro Tanaka, Takekatsu Saito, Masa-aki Kawashiri, Kunio Ohta, Yoshiaki Kaneko, Masahiko Kurabayashi, Masakazu Yamagishi.

Mechanisms of Fever-induced QT Prolongation in Patients with KCNH2 Mutations in the S5-pore Region. ESC CONGRESS 2015

3. Kenshi Hayashi, Noboru Fujino, Tetsuo Konno, Kenji Sakata, Takashi Fujita, Akihiko Hodatsu, Akihiro Nomura, Toyonobu Tsuda, Yoji Nagata, Yoshihiro Tanaka, Masa-aki Kawashiri, Masakazu Yamagishi. Hypertrophic Cardiomyopathy. 2015 8TH APHRS SCIENTIFIC SESSIONS

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

全エクソーム解析による先天性QT延長症候群患者の新規候補遺伝子の同定に関する研究

研究分担者 相庭 武司 国立循環器病研究センター心臓血管内科・不整脈科医長

QT延長症候群（LQTS）原因遺伝子に変異が認められなかった発症者とその血縁者 120 例、その血縁に属さない発症者 138 例の計 258 例に対して、次世代シーケンサーを用いて全エクソームシーケンス解析を行い、新たな原因遺伝子の同定を試みた。疾患原因の候補遺伝子と既知の原因遺伝子との関連性を調べ、発症者と非発症者との関連解析を行った結果、11 種の候補遺伝子を同定した。また、それらの変異の有無を確認したところ、見つかった変異のほとんどはカルモジュリン結合遺伝子で確認された。本研究により、カルモジュリン結合遺伝子が LQTS の発症に関与している可能性があることが分かった。

A. 研究背景・目的

先天性 QT 延長症候群（LQTS）は致死性遺伝性不整脈疾患の中で最も患者が多く約 2000 人に一人の頻度と言われる。これまでに少なくとも 15 種類の原因遺伝子が報告されており、そのほとんどが、カリウム、カルシウム、ナトリウムチャンネルといった膜貫通タンパク質の一種であるイオンチャンネルと、それらと関連のある遺伝子群であることが分かっている。しかし、約 3割の QT 延長症候群発症者は既知の原因遺伝子に変異が認められず、LQTS 全容を解明するためには、新規原因遺伝子の解明が不可欠である。そこで本研究では、全エクソームシーケンス解析を用いて QT 延長症候群の新規原因遺伝子の探索を行った。

B. 研究方法

LQTS の既知の原因遺伝子に変異が認められなかった 35 例の発症者とその血縁者からなる計 120 例（59 例の発症者と 61 例の非発症者）の血液から DNA を抽出し、全エクソームシーケンス解析を行った。LQTS の発症に関与していると思われる変異を選定するため、まず、疾患と関連がない一塩基多型（SNP）を除

外し次に、家系図から推定される遺伝形式に従うアミノ酸置換を伴った変異を同定した。なお本研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理原則、疫学研究に関する倫理指針、独立行政法人等個人情報保護法に基づく追記事項をはじめとする本邦における法的規制要件を遵守し実施した。

C. 研究結果

88 種の遺伝子から 92 個の変異を同定しました。同定した変異について、既知の原因遺伝子との関連性から 10 種（図 1）、発症者と非発症者との関連解析から 1 種、合計 11 種の遺伝子を LQTS の原因遺伝子の候補として同定した。この 11 種のうち 5 種はカルモジュリン（CaM）と相互作用する遺伝子であった。この割合は、全遺伝子のうち CaM と相互作用する遺伝子の割合と比べて統計学的に有意に多く、QT 延長症候群と CaM に相互作用する遺伝子には、強い関連があることが判明した。

同定した 11 種の遺伝子について既知の原因遺伝子に変異が認められなかった発症者とその血縁に属さない発症者 138 例を用いて変異を確認したところ、LQTS の発症に関与して