

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
（分担）研究報告書

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に関する
研究

研究分担者 林 研至 金沢大学付属病院 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さかった。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 延長を来た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 変異チャンネルを発現させたところ、G584S チャンネルの発現電流は野生型と比較して有意に小であり、D609G チャン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 チャン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。

次にチャン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、両変異チャン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 チャンネルの 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、変異チャン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 チャンネルの 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 チャンネルの 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

1.論文発表

1. Nagata Y, Konno T, Fujino N, Hodatsu 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. PubMed 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 Marker 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 Proprotein 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
2. 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, Kenji
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

作成上の留意事項

1. 「A. 研究目的」について
・厚生労働行政の課題との関連性を含めて記入すること。
2. 「B. 研究方法」について

(1) 実施経過が分かるように具体的に記入すること。

(2) 「(倫理面への配慮)」には、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と同意(インフォームド・コンセント)に関わる状況、実験に動物に対する動物愛護上の配慮など、当該研究を行った際に実施した倫理面への配慮の内容及び方法について、具体的に記入すること。倫理面の問題がないと判断した場合には、その旨を記入するとともに必ず理由を明記すること。

なお、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成25年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(平成26年文部科学省・厚生労働省告示第3号)、遺伝子治療臨床研究に関する指針(平成16年文部科学省・厚生労働省告示第2号)、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針(平成18年厚生労働省告示第425号)、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針(平成18年6月1日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知)及び申請者が所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守するとともに、あらかじめ当該研究機関の長等の承認、届出、確認等が必要な研究については、研究開始前に所定の手続を行うこと。

3. 「C. 研究結果」について
・当該年度の研究成果が明らかになるように具体的に記入すること。
4. 「F. 健康危険情報」について

・研究分担者や研究協力者の把握した情報・意見等についても研究代表者がとりまとめて総括研究報告書に記入すること。

5. その他

- (1) 日本工業規格A列4番の用紙を用いること。
- (2) 文字の大きさは、10～12ポイント程度とする。

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

書籍

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書 籍 名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|-----------------------|--------------------------|---------------------|-----------|------|-----|------|---------|
| 林 研至 今野 哲 井 山 昌 | WPW症候群における遺伝子異常の関与に関する研究 | 池田隆徳 / 清水 渉 / 高橋 尚彦 | 遺伝性不整脈症候群 | 南江堂 | 東京 | 2015 | 178-181 |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|-----------------|------------|------------|----|--------|------|
| 林 研至 多田 隼人 山岸正和 | 心房細動の遺伝子診断 | 循環器内科 | 78 | 60-67 | 2015 |
| 林 研至 山岸正和 | T波（含U波）を読む | Heart View | 19 | 95-103 | 2015 |
| | | | | | |