

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

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端者とその血縁者 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 例の発端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端者と

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 の発症に関与していると思われる変異を新たに 16 個同定した。そのうちの 14 個が CaM 結合遺伝子で確認され、LQTS の発症において CaM 結合遺伝子が重要な役割を担っている可能性があることが示唆された。

さらに RYR2 遺伝子では 9 か所で変異が同定され、RYR2 遺伝子に変異を持つ 9 症例は全て若年発症かつその家族は非発症者であるという特徴が確認された。また、RYR2 遺伝子に変異を持つ多くの発症者は運動時に同様の症状が現れ、その症状もその他の発症者と比べて重篤になる傾向があることが判明した。

D. 考察

エクソームシーケンス解析によってカルモジュリン結合遺伝子が QT 延長症候群の発症に関与している可能性があることが判明した。今回の研究から LQTS の新たな原因候補遺伝子となった 11 種の遺伝子は、今後の詳しい機能解析あるいは別な母集団を用いた replication study により QT 延長症候群の新規原因遺伝子として認められることが期待される。また、今回の発見が QT 延長症候群の発症メカニズム解明の手がかりになることが期待される。

E. 結論

これまで遺伝子型が不明であった QT 延長症候群の中にはカルモジュリン結合遺伝子が原因遺伝子として関係している可能性が示唆された。

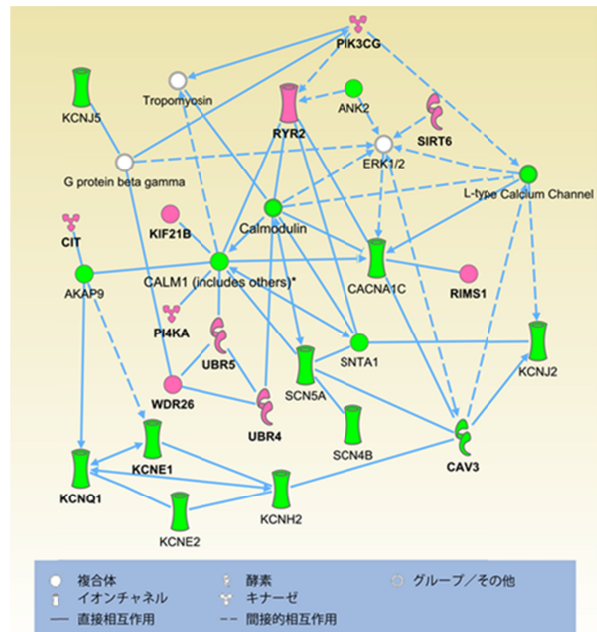


図1 既知原因遺伝子と候補原因遺伝子との相互作用ネットワーク

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 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.
2. Koizumi A, Sasano T, Kimura W, Miyamoto Y, **Aiba T**, Ishikawa T, Nogami A, Fukamizu S, Sakurada H, Takahashi Y, Nakamura H, Ishikura T, Koseki H, Arimura T, Kimura A, Hirao K, Isobe M, Shimizu W, Miura N, Furukawa T. Genetic defects in a His-Purkinje system transcription factor, IRX3, cause lethal cardiac arrhythmias. *Eur Heart J*. 2015 Oct 1.(in press)
3. 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.(in press)
- 4. Shigemizu D, **Aiba T**, Nakagawa H, Ozaki K, Miya F, Satake W, Toda T, Miyamoto Y, Fujimoto A, Suzuki Y, Kubo M, Tsunoda T, Shimizu W, Tanaka T. Exome Analyses of Long QT Syndrome Reveal Candidate Pathogenic Mutations in Calmodulin-Interacting Genes. *PLoS One*. 2015 Jul 1;10(7):e0130329.
5. Itoh H, Dochi K, Shimizu W, Denjoy I, Ohno S, **Aiba T**, Kimura H, Kato K, Fukuyama M,

- Hasagawa K, Schulze-Bahr E, Guicheney P, Horie M. **A Common Mutation of Long QT Syndrome Type 1 in Japan.** *Circ J.* 2015 Aug 25;79(9):2026-30.
6. 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 Aug;8(4):785-91.
7. 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 Fibrosis on Lethal Arrhythmic Events in Hypertrophic Cardiomyopathy Patients With Impaired Systolic Function.** *Circ J.* 2015;79(8):1733-41.
8. **Aiba T**, Noda T, Hidaka I, Inagaki M, Katare RG, Ando M, Sunagawa K, Sato T, Sugimachi M. Acetylcholine suppresses ventricular arrhythmias and improves conduction and connexin-43 properties during myocardial ischemia in isolated rabbit hearts. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2015 26(6):678-85
9. Feng N, Huke S, Zhu G, Tocchetti CG, Shi S, **Aiba T**, Kaludercic N, Hoover DB, Beck SE, Mankowski JL, Tomaselli GF, Bers DM, Kass DA, Paolocci N. Constitutive BDNF/TrkB signaling is required for normal cardiac contraction and relaxation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Feb 10;112(6):1880-5.
10. Miyamoto K, **Aiba T**, Kimura H, Hayashi H, Ohno S, Yasuoka C, Tanioka Y, Tsuchiya T, Yoshida Y, Hayashi H, Tsuboi I, Nakajima I, Ishibashi K, Okamura H, Noda T, Ishihara M, Anzai T, Yasuda S, Miyamoto Y, Kamakura S, Kusano K, Ogawa H, Horie M, Shimizu W. Efficacy and safety of flecainide for ventricular arrhythmias in patients with Andersen-Tawil syndrome with KCNJ2 mutations. *Heart Rhythm.* 2015 Mar;12(3):596-603. Epub 2014 Dec 10.

2. 学会発表

1. **Aiba T**, Makimoto H, Makiyama T, Watanabe H, Hayashi K, Morita H, Yoshinaga M, Kusano K, Miyamoto Y, Kamakura S, Yasuda S, Ogawa H, Makita N, Horie M, Shimizu W. Genetic-based Arrhythmic Risk in Patients with Congenital Long QT Syndrome from the Japanese LQTS Multicenter Registry 第79 回日本循環器学会学術集会 Late Breaking Cohort Studies 5 (大阪2015)
2. **Aiba T**, Toyoda F, Ono M, Ishibashi K, Wada M, Nakajima I, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Kamakura S, Kusano K, Sekine A, Tanaka T, Miyamoto Y, Matsuura H, Horie M, Shimizu W. A novel KCNJ3 mutation as a susceptibility for ventricular arrhythmias in long-QT Syndrome 第30回日本不整脈学会・第32回日本心電学会合同学術集会シンポジウム Inherited Arrhythmias -Bench to Bedside (京都 2015)
3. **Aiba T**, Shigemizu D, Ishibashi K, Wada M, Nakajima I, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satake W, Toda T, Kusano K, Kamakura S, Sekine A, Miyamoto Y, Tanaka T, Ogawa H, Shimizu W Calmodulin interacting genes as a novel candidate for pathogenesis of long-QT syndrome AHA Scientific Session 2015 (Orlando, Florida)

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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

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
相庭武司、草野研吾	QT延長症候群～遺伝子診断の最新知見～	磯部光章	循環器内科Vol 78 (4)	科学評論社	東京	2015年	396-404

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
Shigemizu D, Aiba T , Nakagawa H, Ozaki K, Miya F, Satake W, Toda T, Miyamoto Y, Fujimoto A, Suzuki Y, Kubo M, Tsunoda T, Shimizu W, Tanaka T.	Exome Analyses of Long QT Syndrome Reveal Candidate Pathogenic Mutations in Calmodulin-Interacting Genes.	PLoS One.	Jul 1;10(7)	e0130329	2015
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. 2015 Dec 28.	Eur Heart J.	Dec 28	In press	2015
Funasako M, Aiba T , Ishibashi K, Nakajima I, Miyamoto K, Iino 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	Dec 3	In press	2015

..