

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

研究分担者 蒔田直昌 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子生理学 教授

研究要旨

家族性洞不全症候群(SSS)の遺伝的背景と臨床的特徴を明らかにするために、日本人家族性 SSS 38 家系に対し、3 つの SSS 関連遺伝子(*SCN5A*, *HCN4*, *LMNA*)の遺伝子解析を行い、パッチクランプ法で新規変異の機能解析を行った。また既報の家族性 SSS を加え、*HCN4* 変異陽性 16 家系と *SCN5A* 変異陽性 32 家系の発端者の臨床像を非家族性 SSS 538 例とメタ解析した。その結果 38 家系中 2 家系に *HCN4* 変異を、3 家系に *SCN5A* 変異を同定した。新規変異 *HCN4*-R393H, *SCN5A*-N1354K, *SCN5A*-P1372R はいずれも機能低下を示した。*HCN4* 変異陽性群の発症年齢は非家族性より有意に低く、*SCN5A* 変異陽性例より有意に高かった。また *HCN4* 変異陽性例は心房細動、左室緻密化障害の合併が *SCN5A* よりも多く、ペースメーカー植え込み年齢が *SCN5A* (17.8±16.5 才)より有意に高かった。*HCN4* 変異陽性家族性 SSS は、心房細動と左室緻密化障害を高率に合併し、思春期以降発症するという特徴を持つ家族性 SSS のサブグループである。

A．研究目的

洞不全症候群(SSS)は頻度の高い不整脈で、多くは加齢や心疾患に合併して発症することが多い。しかし一部に家族性に発症する SSS があり、心筋 Na チャネル *SCN5A*・ペースメーカーチャネル *HCN4*・ラミン *LMNA* などの遺伝子変異が報告されている。我々は *SCN5A* を有する家族性 SSS は発症が極めて若く、男性が圧倒的に多いことをすでに報告している。一方 *HCN4* 変異は、心房細動(AF)との関連や、SSS における左室緻密化障害(LVNC)の合併との関連が報告されている。本研究は *HCN4* 変異を有する家族性 SSS の臨床像を、*SCN5A* 変異を有する家族性 SSS や非家族性 SSS との比較で明らかにすることである。

B．研究方法

日本人家族性 SSS 38 家系に対し、PCR-Sanger によるターゲットシーケンスによって SSS 関連遺伝子(*SCN5A*, *HCN4*, *LMNA*)の遺伝子解析を行った。新規 *HCN4*, *SCN5A* 変異は、ヒト cDNA のプラスミドに遺伝子変異を導入し tsA201 細胞に発現させ、全細胞パッチクランプで、それぞれペースメーカー電流(Ih)と Na 電流(INa)を測定した。本研究で同定した変異を含め *HCN4* 変異陽性発端者 16 人、*SCN5A* 変異陽性発端者 32 家系、非家族性 SSS 538 人の臨床情報を 8 つの既報論文から抽出し、メタ解析した。

(倫理面への配慮)

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

成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済通産省告示第 1 号) に準拠して実施した。

C . 研究結果

38 家系中 2 家系に *HCN4* 変異(R393H, G482R) を、3 家系に *SCN5A* 変異(S910K, N1354K, P1372R)を同定した。うち *HCN4*- R393H, *SCN5A*-N1354K, *SCN5A*-P1372R は新規変異だった。tsA-201 細胞に発現させた *HCN4*- R393H は電流がほとんどなく、正常型 *HCN4* と共発現させるとドミナントネガティブな機能抑制効果を示した。細胞内タラフィッキング異常田 cAMP に対する反応異常はなかった。*SCN5A*-N1354K, *SCN5A*-P1372R も機能低下を示した。

発症年齢は、*HCN4* 群:39.1±21.7 才、*SCN5A* 群: 20.0±17.6 才、孤発例 : 74.3±0.4 才で、*HCN4* 群は *SCN5A* 群より有意に遅く ($p<0.001$)、孤発群より有意に早かった ($P=0.003$)。AF の合併は *HCN4* 群: 43.8%、*SCN5A* 群 9.4%、($p=0.013$)、LVNC の合併は *HCN4* 群: 50%、*SCN5A* 0% ($p<0.001$)、ペースメーカー植え込み年齢は *HCN4* :43.5±22.1 才、*SCN5A* 群 17.8±16.5 才よりも有意に高いことが判明した ($p<0.001$)。

D . 考察

HCN4 変異の抑制機能の強い変異キャリアは必ずしも強い徐脈をしているわけではない。これは心拍数をコントロールする別の機序が、*HCN4* の機能障害を補償してる可能性が考えられる。一方、*HCN4* 変異が AF や LVNC を高率に合併する機序は不明である。しかし *HCN4* は、胎生期には第一心臓予定領域に特異的に発現し、この領域に発現する *HCN4*(+)細胞が原始心筒になることが知られている。*HCN4* の変異は原始心臓における心臓前駆細胞の分化に異常をきたし、それが LVNC のような構造的異常や、AF のような電気生理学的

異常をきたす可能性がある。

E . 結論

HCN4 変異陽性家族性 SSS は、AF と LVNC を高率に合併し、思春期以降発症するという特徴を持つ家族性 SSS のサブグループであることが明らかになった。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Ishikawa T, Makita N. et al. Sick sinus syndrome with *HCN4* mutations shows early onset and frequent association with atrial fibrillation and left ventricular noncompaction. **Heart Rhythm** 2017 (in press). doi:10.1016/j.hrthm.2017.01.020
2. Yagihara N, Makita N. et al. Variants in the *SCN5A* promoter associated with various arrhythmia phenotypes. **J Am Heart Assoc** 5:e003644, 2016.
3. Okata S, Makita N, et al. Embryonic type Na^+ channel beta-subunit, *SCN3B* masks the disease phenotype of Brugada syndrome. **Sci Rep** 6:34198, 2016.
4. Ishikawa T, Makita N. et al. Inherited bradyarrhythmia: A diverse genetic background. **J Arrhythmia** 32:352-358, 2016.
5. Daumy X, Makita N, et al. Targeted resequencing identifies TRPM4 as a major gene predisposing to progressive familial heart block type I. **Int J Cardiol** 207:349-358, 2016.

2. 学会発表

1. Makita N. Genetic Background of Inherited Bradyarrhythmia. Korean Heart Rhythm Society 8th Annual Scientific Session, 2016/07/08, KINTEX, Korea.
2. Makita N. Overview of Genes Related to Cardiac Conduction. Korean Heart Rhythm Society 8th Annual Scientific Session, 2016/07/08, KINTEX, Korea.
3. 蒔田直昌, 石川泰輔. Naチャンネル遺伝子のバリエーションと致死性不整脈の罹患性との関連. 第93回日本生理学会大会, 2016/03/23, 札幌市、札幌コンベンションセンター.

G . 知的所有権の取得状況

なし