

LMNA 心筋症における遺伝子変異に基づくリスク分類

研究分担者 大野聖子¹⁾、堀江 稔²⁾
研究協力者 西内 英³⁾、相庭武司⁴⁾、牧山 武³⁾
所 属 ¹⁾国立循環器病研究センター分子生物学部、²⁾滋賀医科大学呼吸循環器内科、
³⁾京都大学大学院医学研究科循環器内科学、
⁴⁾国立循環器病研究センター先端不整脈探索医学研究部

研究要旨

【目的】 LMNA 変異を原因とするラミン心筋症は伝導障害や洞不全症候群で発症し、拡張型心筋症に進行する疾患である。さらに致死性心室性不整脈を発症することが知られている。本研究では、LMNA 変異保持者において、予後予測因子を明らかにすること目的とする。**【対象と方法】** 45 家系 77 人の LMNA 変異キャリアを対象とした。対象者の遺伝子解析時の年齢は 45 ± 17 歳で、平均 49 か月間の経過観察を行った。**【結果】** LMNA 変異キャリア 77 人中、71 人が有症状だった。伝導障害を呈する人が最も多く (81%)、低心機能 (LVEF<50%) のキャリアは 45% だった。また 26% のキャリアが致死性心室性不整脈を呈した。経過観察中に 9 人の死亡が確認され、7 人が低心機能、2 人が突然死であった。31 家系に終止コドンを生じる Truncating mutation が同定され、14 家系にはアミノ酸が置換される missense mutation が同定された。変異タイプによる予後の違いを比較すると、truncating mutation キャリアのほうで発症年齢が若く、低心機能であることが明らかになった。

【結論】 Truncating mutation はラミン心筋症における表現型と関連しており、遺伝子解析が予後予測に有用であることが示唆された。

A. 研究目的

LMNA 遺伝子は A タイプと C タイプのラミンタンパクをコードしており、核膜の裏打ちタンパクとして機能している。そして LMNA 変異は心筋症だけでなく、全身の筋肉疾患や早老症など様々な疾患と関連していることが報告されている。心疾患では心筋伝導障害、心房細動、拡張型心筋症、そして致死性の心室不整脈を生じる。ラミン心筋症の心室性不整脈との関連については様々な報告があるが、伝導障害や心機能低下と関連した変異タイプによるリスクの報告はなく、本研究ではその点を明らかにすることを旨とする。

B. 研究方法

対象患者は全国の 6 施設に登録された 45 家系 77 人の LMNA 変異キャリア。LMNA 変異が同定された後、主治医によって平均 49 か月間 (11.1-95.9 か月) の経過観察が行われた。臨床症状は、左心機能低下 (low LVEF, EF<50%)、致死性心室不整脈、心房性不整脈 (Atrial arrhythmia, AA)、心臓伝導遅延 (Cardiac conduction disturbance, CCD) 等について検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析を含めた研究計画は倫理面に配慮して作成され、各施設の倫理委員会の承認をうけている。

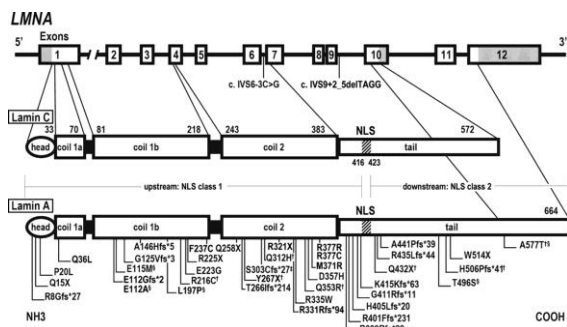
C. 研究結果

臨床像

45家系 77人の変異キャリアのうち 49人が男性であり、登録時年齢は 45 ± 16 歳、女性の登録時年齢は 41 ± 17 歳であった。同定された変異は 31家系 58人が Stop codon を生じる Truncation mutation (TM) であり、14家系 19人がアミノ酸置換を生じる Missense mutation (MM) であった。発端者では、登録時の左心機能低下者 (LVEF<50%) が TM で多かった (58% vs 21%)。

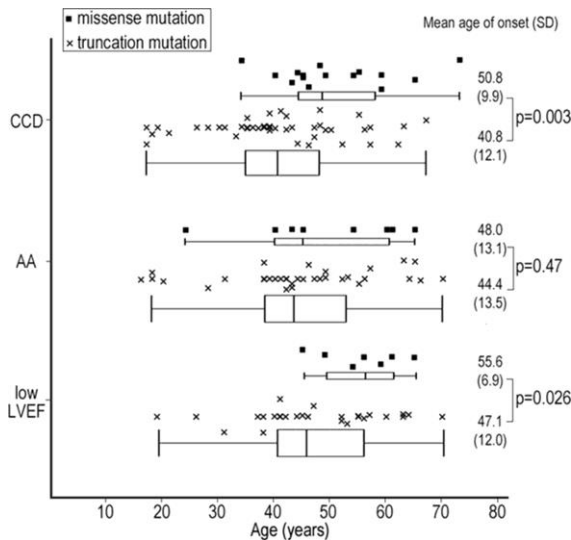
遺伝子解析結果

同定した 11個の MM と 26個の TM、計 37個の LMNA 変異のうち、23個 (62%) が新規変異であった。



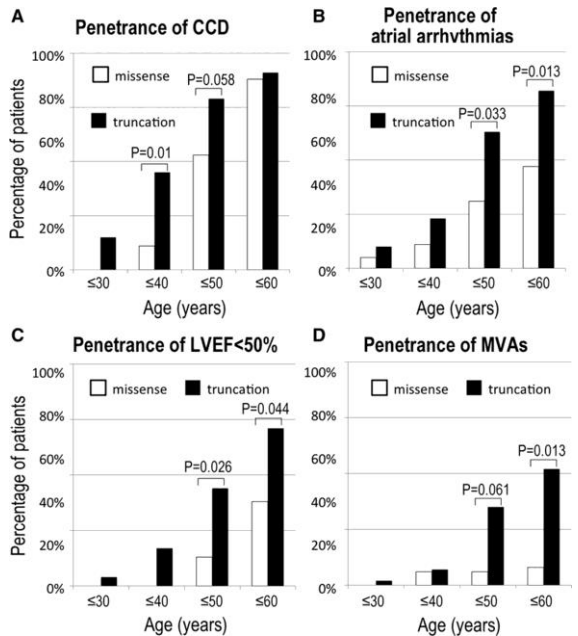
変異タイプによる臨床像の違い

TM キャリアと MM キャリアとの、CCD、AA、low LVEF の発症年齢 (下図) を比較した。



CCD と low LVEF は TM キャリアの方が MM キャリアと比較して低年齢で発症していた。ラミン心筋症は遅発性の疾患であり、変異キャ

リアであっても発症年齢に差が生じる。そのため、各症状の出現年齢を TM キャリアと MM キャリアで比較した (次図)。



CCD については TM キャリアの方が早期に発症するが、MM キャリアであっても 50 歳までには 90% 程度のキャリアが所見を呈していた。一方、Low LVEF と致死性心室不整脈は TM キャリアで有意に多く、50 歳までに約半数の TM キャリアが発症するのに対し、MM キャリアでの発症は非常に少なかった。

D. 考察

今回の研究で、TM キャリアは MM キャリアと比較し、重症の症状を呈することが多く、同じ病態であっても低年齢の発症であることが明らかになった。この結果から、LMNA 変異を同定することは、診断のみならず、発症前の予後予測にも活用できる可能性を示唆する。この臨床像の違いの原因として、TM ではラミンタンパクの発現量が減る (ハプロ不全) が、MM では機能低下はあるものの、機能維持をしている変異があるためと考えられる。

LMNA 心筋症においては、その重症度に性差が指摘されてきた。また Lmna-H222P のノックインマウスでもオスの予後が悪いことが指摘さ

れている。一方、Lmna のノックアウトマウスや Lmna-delK32 ノックインマウスでは性差は指摘されていない。今回の研究でも性差は指摘できず、変異による違いが存在するのかもしれない。

今回の結果では、TM キャリアの致死性心室不整脈発症が 50 歳までに 50% にも及ぶことが明らかになった。このことから、予防的な植え込み型除細動器 (ICD) 植え込みも検討が必要だが、今回の研究では ICD の予後改善効果について検討できておらず、さらなる研究が必要と考えられる。

E. 結論

LMNA 変異キャリアのうち、TM キャリアは MM キャリアと比較し、発症年齢が低く、Low LVEF 及び致死性心室不整脈の発症頻度が高い。そのため、遺伝子検査で変異タイプを同定することで、リスク層別化や予防的治療および突然死予防が可能になると考えられる。

<参考文献>

Nishiuchi S, et al.: Circulation: Cardiovascular Genetics, 10.2017

F. 研究発表

1. 論文発表

[英文]

1. Kuroda Y, Yuasa S, Watanabe Y, Ito S, Egashira T, Seki T, Hattori T, Ohno S, Kodaira M, Suzuki T, Hashimoto H, Okata S, Tanaka A, Aizawa Y, Murata M, Aiba T, Makita N, Furukawa T, Shimizu W, Kodama I, Ogawa S, Kokubun N, Horigome H, Horie M, Kamiya K, Fukuda K. Flecainide ameliorates arrhythmogenicity through NCX flux in Andersen-Tawil syndrome-iPS cell-derived cardiomyocytes. **Biochem Biophys Rep** 9: 245–256, 2017
2. Ishikawa T, Ohno S, Murakami T, Yoshida K, Mishima H, Fukuoka T, Kimoto H, Sakamoto R,

Ohkusa T, Aiba T, Nogami A, Sumitomo N, Shimizu W, Yoshiura KI, Horigome H, Horie M, Makita N. Sick sinus syndrome with HCN4 mutations shows early onset and frequent association with atrial fibrillation and left ventricular noncompaction. **Heart Rhythm** 14: 717-724, 2017

3. Fujii Y, Matsumoto Y, Hayashi K, Ding WG, Tomita Y, Fukumoto D, Wada Y, Ichikawa M, Sonoda K, Ozawa J, Makiyama T, Ohno S, Yamagishi M, Matsuura H, Horie M, Itoh H. Contribution of a KCNH2 variant in genotyped long QT syndrome: Romano-Ward syndrome under double mutations and acquired long QT syndrome under heterozygote. **J Cardiol** 70: 74-79, 2017
4. Yamamoto Y, Makiyama T, Harita T, Sasaki K, Wuriyanghai Y, Hayano M, Nishiuchi S, Kohjitani H, Hirose S, Chen J, Yokoi F, Ishikawa T, Ohno S, Chonabayashi K, Motomura H, Yoshida Y, Horie M, Makita N, Kimura T. Allele-specific ablation rescues electrophysiological abnormalities in a human iPS cell model of long-QT Syndrome with a CALM2 Mutation. **Hum Mol Genet** 26: 1670-1677, 2017
5. Ishibashi K, Aiba T, Kamiya C, Miyazaki A, Sakaguchi H, Wada M, Nakajima I, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Yamauchi T, Itoh H, Ohno S, Motomura H, Ogawa Y, Goto H, Minami T, Yagihara N, Watanabe H, Hasegawa K, Terasawa A, Mikami H, Ogino K, Nakano Y, Imashiro S, Fukushima Y, Tsuzuki Y, Asakura K, Yoshimatsu J, Shiraiishi I, Kamakura S, Miyamoto Y, Yasuda S, Akasaka T, Horie M, Shimizu W, Kusano K. Arrhythmia risk and β -blocker therapy in pregnant women with long QT syndrome. **Heart** 103: 1374-1379, 2017
6. Yamagata K, Horie M, Aiba T, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Yamagishi M, Makita N, Sakurada H, Tanaka T, Shimizu A, Hagiwara N, Kishi R, Nakano Y, Takagi M, Makiyama T, Fukuda K, Watanabe H, Morita H, Hayashi K, Kusano K, Kamakura S, Yasuda S, Ogawa H, Kapplinger JD, Ackerman MJ, Shimizu W. Genotype-phenotype correlation of SCN5A mutation for the clinical and electrocardiographic characteristics

- of probands with Brugada syndrome: A Japanese multicenter registry. **Circulation** 135: 2255-2270, 2017
7. Aoki H, Nakamura T, [Horie M](#), [Ohno S](#), Makiyama T, Takemura T. Cardiac conduction defects and brugada syndrome: A Family with overlap syndrome carrying a nonsense SCN5A mutation. **J Arrhythm** 33: 35-39, 2017
 8. Kimura Y, Noda T, Matsuyama T, Otsuka Y, Kamakura T, Wada M, Ishibashi K, Inoue Y, Miyamoto K, Okamura H, Nagase S, Aiba T, Kamakura S, Noguchi T, Anzai T, Satomi K, Wada Y, [Ohno S](#), [Horie M](#), Shimizu W, Yasuda S, Shimokawa H, Kusano K. Heart failure in patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: what are the risk factors? **Int J Cardiol** 241: 288-294, 2017
 9. Hayano M, Makiyama T, Kamakura T, Watanabe H, Sasaki K, Funakoshi S, Wuriyanghai Y, Nishiuchi S, Harita T, Yamamoto Y, Kohjitani H, Hirose S, Yokoi F, Chen J, Baba O, Horie T, Chonabayashi K, [Ohno S](#), Toyoda F, Yoshida Y, Ono K, [Horie M](#), Kimura T. The development of a patient-derived induced pluripotent stem cell model for the investigation of SCN5A-D1275N-Related cardiac sodium channelopathy. **Circ J** 81: 1783-1791, 2017
 10. Ueshima S, Hira D, Fujii R, Kimura Y, Tomitsuka C, Yamane T, Tabuchi Y, Ozawa T, Itoh H, [Horie M](#), Terada T, Katsura T. Impact of ABCB1, ABCG2, and CYP3A5 polymorphisms on plasma trough concentrations of apixaban in Japanese patients with atrial fibrillation. **Pharmacogenet Genomics** 27: 329-336, 2017
 11. Shirai Y, Goya M, [Ohno S](#), [Horie M](#), Doi S, Isobe M, Hirao K. Elimination of ventricular arrhythmia in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia by targeting “catecholamine-sensitive area”: a dominant-subordinate relationship between origin sites of bidirectional ventricular premature contractions. **Pacing Clin Electrophysiol.** 40: 600-604, 2017
 12. Sonoda K, [Ohno S](#), Otsuki S, Kato K, Yagihara N, Watanabe H, Makiyama T, Minamino T, [Horie M](#). Quantitative analysis of PKP2 and neighbouring genes in a patient with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy caused by heterozygous PKP2 deletion. **Europace** 19: 644-650, 2017
 13. Nishiuchi S, Makiyama T, Aiba T, Nakajima K, Hirose S, Kohjitani H, Yamamoto Y, Harita T, Hayano M, Wuriyanghai Y, Chen J, Sasaki K, Yagihara N, Ishikawa T, Onoue K, Murakoshi N, Watanabe I, Ohkubo K, Watanabe H, [Ohno S](#), Doi T, Shizuta S, Minamino T, Saito Y, Oginosawa Y, Nogami A, Aonuma K, Kusano K, Makita N, Shimizu W, [Horie M](#), Kimura T. Gene-based risk stratification for cardiac disorders in LMNA mutation carriers. **Circ Cardiovasc Genet** 10: e001603, 2017
 14. Wada Y, [Ohno S](#), Aiba T, [Horie M](#). Unique genetic background and outcome of non-Caucasian Japanese probands with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. **Mol Genet Genomic Med** 5: 639-651, 2017
 15. Kojima A, Shikata F, Okamura T, Higaki T, [Ohno S](#), [Horie M](#), Uchita S, Kawanishi Y, Namiguchi K, Yasugi T, Izutani H. Refractory ventricular fibrillations after surgical repair of atrial septal defects in a patient with CACNA1C gene mutation. **J Cardiothorac Surg** 12: 118, 2017
 16. Fujii Y, Itoh H, [Ohno S](#), Murayama T, Kurebayashi N, Aoki H, Blancard M, Nakagawa Y, Yamamoto S, Matsui Y, Ichikawa M, Sonoda K, Ozawa T, Ohkubo K, Watanabe I, Guicheney P, [Horie M](#). A type 2 ryanodine receptor variant associated with reduced Ca²⁺ release and short-coupled torsade de pointe ventricular arrhythmia. **Heart Rhythm** 14: 98-107, 2017
 17. Nakagawa Y, Nishikimi T, Sakai H, [Ohno S](#), Kinoshita H, Inazumi H, Moriuchi K, Kuwahara K, [Horie M](#), Kimura T. Macro-pro-B-type natriuretic peptide (proBNP) and hidden macro-N-terminal proBNP: Case report. **Clin Biochem** (in press)
 18. Saito A, [Ohno S](#), Nuruki N, Nomura Y, [Horie M](#), Yoshinaga M. Three cases of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with prolonged

- QT intervals including two cases of compound mutations. **J Arrhythmia** (in press)
19. Ozawa J, [Ohno S](#), Saito H, Saitoh A, Matsuura H, [Horie M](#). A novel CACNA1C mutation identified in a patient with Timothy syndrome without syndactyly exerts both marked loss-and-gain of function effects. **Heart Rhythm Case Reports** (in press)
 20. Wu J, Mizusawa Y, [Ohno S](#), Ding W-G, Higaki T, Wang Q, Makiyama T, Itoh H, Toyoda F, James AF, Hancox JC, Matsuura H, [Horie M](#). Who is the pathogenic culprit? A LQTS family with three compound genetic mutations. **Scientific Reports** (in press)
 21. Ueshima S, Hira D, Kimura Y, Fujii R, Tomitsuka C, Yamane T, Tabuchi Y, Ozawa T, Itoh H, [Ohno S](#), [Horie M](#), Terada T, Katsura T. Population pharmacokinetics and pharmacogenomics of apixaban in Japanese adult patients with atrial fibrillation. **Br J Clin Pharmacol** (in press)
 22. Fukumoto D, Ding W-G, Wada Y, Fujii Y, Ichikawa M, Takayama K, Fukuyama M, Kato K, Itoh H, Makiyama T, Omatsu-Kanbe M, Matsuura H, [Horie M](#), [Ohno S](#). Novel intracellular transport-refractory mutations in KCNH2 identified in patients with symptomatic long QT syndrome. **J Cardiol** 71: 401-408, 2018
 23. Yagi N, Itoh H, Hisamatsu T, Tomita Y, Kimura H, Fujii Y, Makiyama T, [Horie M](#), [Ohno S](#). A Challenge for Mutation Specific Risk Stratification in Long QT Syndrome Type 1. **J Cardiol** (in press)
 24. Sonoda K, [Ohno S](#), Ozawa J, Hayano M, Hattori T, Kobori A, Yahata M, Aburadani I, Watanabe S, Matsumoto Y, Makiyama T, [Horie M](#). Copy Number Variations of SCN5A in Brugada Syndrome. **Heart Rhythm** (in press)
 25. Miyata K, [Ohno S](#), Itoh H, [Horie M](#). Bradycardia is a Specific Phenotype of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Induced by RYR2 Mutations. **Intern Med** (in press)
- [和文]**
1. [大野聖子](#). 不整脈症候群の遺伝子解析による診断と治療への活用、**Medical Practice** Vol.34, No.6, 989-993, 2017
 2. [大野聖子](#). QT 延長症候群 — QT 時間だけでは決められない、**循環器ジャーナル 心電図診断スキルアップ** Vol65, No.2, 327-335, 2017
- 2. 学会発表**
- [国際学会]**
1. Wada Y, [Ohno S](#), Wuriyanghai Y, Makiyama T, [Horie M](#). Exercise Inducible Polymorphic Ventricular Tachycardia Depending on the Different RYR2 Mutation Spectrum. APHRS2017. (2017.9.14-17. Yokohama)
 2. Fukumoto D, [Ohno S](#), Wada Y, Fujii Y, Ichikawa M, Takayama K, Fukuyama M, Itoh H, Ding WG, Matsuura H, [Horie M](#). Novel N-Terminal KCNH2 Mutations Identified in Symptomatic Long QT Syndrome Patients. APHRS2017. (2017.9.14-17. Yokohama)
 3. Aiba T, [Ohno S](#), Ono M, Shigemizu D, Toyoda F, Miake J, Hagiwara A, Shinohara T, Okumura S, Toda T, Satake W, Tsunoda T, Shimamoto K, Sekine A, Takahashi A, Miyamoto Y, Tanaka T, Kusano K, [Horie M](#), Shimizu W. KCNJ3 N496H A Rare Variant in Japanese as a Cause of Susceptible Gene for Ventricular Fibrillation in Overlap Syndromes between LQT and CPVT. APHRS2017. (2017.9.14-17. Yokohama)
 4. Takayama K, [Ohno S](#), [Horie M](#). Severe Phenotype of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Caused by Double RYR2 Mutations. APHRS2017. (2017.9.14-17. Yokohama)
 5. Fukuyama M, [Ohno S](#), Takayama K, Ichikawa M, Fukumoto D, [Horie M](#). Novel RYR2 Mutations Causative for Long QT Syndromes. APHRS2017. (2017.9.14-17. Yokohama)
 6. Ichikawa M, [Ohno S](#), Fukumoto D, Takayama K, Wada Y, Fukuyama M, Makiyama T, Itoh H, [Horie M](#).

Next-Generation Sequencing Is One of the Promising Ways for Identifying Copy Number Variations in Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes. APHRS2017. (2017.9.14-17. Yokohama)

7. Ohno S. RYR2 Mutations in LQTS APHRS2017. (2017.9.14-17. Yokohama)
8. Ohno S. Genetics in ARVC/D (2017.9.14-17. Yokohama)
9. Ohno S. Pharmacological Therapy in Patients with ARVC (2017.9.14-17. Yokohama)
10. Ohno S., Ozawa J, Fukuyama M, Horie M. High frequency of CACNA1C mutation carriers in genotyped LQTS patients (2017. 8. 26-30. Spain)
11. Aoki H, Ohno S., Fukuyama M, Yoshinaga M, Horie M. SCN10A Mutations Related with Bradycardia and Conduction Block in Young Patients. ESC Congress 2017. (2017. 8. 26-30. Spain)
12. Fukuyama M, Ohno S., Takayama K, Ichikawa M, Horie M. Novel RYR2 mutations causative for long QT syndromes. ESC Congress 2017. (2017. 8. 26-30. Spain)
13. Ichikawa M, Ohno S., Fukumoto D, Takayama K, Wada Y, Fukuyama M, Makiyama T, Itoh H, Horie M. Identification of copy number variations by next generation sequencer in patients with inherited primary arrhythmia syndromes. ESC Congress 2017. (2017. 8. 26-30. Spain)
14. Takayama K, Ohno S., Ding W-G, Kise H, Hoshiai M, Matsuura H, Horie M. Early Repolarization Syndrome Caused by a de novo KCND3 Gain-of-Function Mutation. AHA2017. (2017.11.11-13. Anaheim.)

[国内学会]

1. 大野聖子. Can We Detect and Know All the Pathogenic Mutations by Next Generation Sequencer in Patients with Inherited Cardiovascular Diseases? 次世代シーケンサーで全部わかるの? JCS2017 (2017.3.17-19, 金沢)
2. 大野聖子. カテコラミン誘発多形性心室頻拍最近の話題小児循環器病学会 遺伝性不整脈のブレイクスルー (2017.7.7 浜松)

3. 大野聖子. 総論ーゲノム医学の基礎 第32回犬山不整脈カンファレンス (2017.8.19)

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