

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 萩原 誠久 東京女子医科大学 教授

研究要旨 遺伝性不整脈症候群のガイドライン作成には、遺伝子変異の特定、機能解析に基づく病態の詳細な検討、そして治療・管理法に関する検討が不可欠である。我々は平成 27 年度から 29 年度にかけて、当院で新規診断した遺伝性不整脈症候群の症例に対し、検討を行ったので報告する。

A．研究目的

遺伝性不整脈疾患の候補遺伝子のスクリーニングが短時間で可能となり、次世代シーケンサーを用いた網羅的解析も行われる時代となった。今まで診断のつかなかった症例に遺伝子変異という新たな情報が与えられ、遺伝性不整脈症候群の症例が増える中、ガイドラインの策定は急務である。遺伝子変異から病態を想定し、機能解析によってそれを裏付け、治療・管理法を決定することが我々の研究の目的である。

B．研究方法

我々は当施設通院中の遺伝性不整脈症候群の症例に対し、次の方法で検討を行った。

先天性房室ブロックに洞静止を合併する症例について、臨床病像を詳細に検討し、次世代シーケンサーを用いた遺伝子の網羅的解析を行った。更に、症例と同じ遺伝子変異を導入した培養細胞と、ノックアウト動物（マウス）を用いた機能解析を行った。

QT 延長症候群の妊娠例に対して、遺伝子変異、妊娠の経過、妊娠中の不整脈、薬物治療、ICD 作動などにつき検討した。

Brugada 症候群と QT 延長症候群のオーバーラップを示す家系に対し、遺伝子検索、臨床像の検討、薬物治療についての検討を行った。

（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。研究分担者は当大学倫理委員会の承認を得ている。

本研究では、インフォームド・コンセントの得られた罹患者及びその家族のみから末梢血を採取し、ゲノム DNA を抽出した。個人を特定できる情報を取り除き、代わりに患者識別番号でコード化することによって、試料や情報の由来する個人を特定できなくする匿名化を行った。マウスを用いた研究については、東京女子医大動物実験倫理委員会の承認を得て実験を行った。

C．研究結果

発端者は 20 歳女性、6 歳時に学校健診で II 型房室ブロック、14 歳で失神し、房室ブロックと心房停止の診断で人工ペースメーカー（VV I）の植込みを行った。母方の祖父は 37 歳、母は 17 歳時に、それぞれ洞不全症候群、房室ブロック + 心房停止の診断にて人工ペースメーカー植込みを行っている。弟（17 歳）も発端者と同様の経過を辿って現在心房停止であるが、無症状のため経過観察されている。発端者と母、弟には共通する骨格異常（下顎骨が小さい、歯牙欠損、指の変形）がみられ、一つの症候群と考えられた。

遺伝子解析ではコネキシン 45 遺伝子の 75 番目のアルギニンがヒスチジンに変異（R75H）し

ており、今までに報告のない新規変異と考えられる。パッチクランプ法を用いた機能解析では R75H は膜輸送能、チャネル形成能は障害されていない R75H はチャネルのカップリング確率がホモで 0%、ヘテロで 72.7% (野生型 100%) に低下しており、コンダクタンスもヘテロで 5.0 nS (野生型 24.2 nS) と有意に低下していた。Cx45KO マウスは、コントロールマウスに比較して、心電図には有意な変化を認めなかったが、洞結節回復時間 (SNRT) が有意 ($p=0.04$) に延長していた。

症例は 42 歳女性。29 歳時に遺伝子診断で KCNH2 の変異を認め、QT 延長症候群 2 型と診断された。3 回の失神歴があり、30 歳の時に ICD 植込みとなった。ICD 植込み後の 35 歳時に 1 妊娠 1 出産歴があった。前回の出産の際に分娩停止で緊急帝王切開となった。本症例は妊娠中の β 遮断薬内服中に $K3.6\text{mEq/l}$ であった 9 週 6 日で心室細動のため ICD ショック作動、37 週 2 日心室頻拍を認めた。今回、ICD の最小心拍数を 60/分に設定し、プロプラノロール 30mg 内服継続、血清カリウム値が 4.0mEq/L 以上を維持できるよう定期的に心電図および血清カリウム値の観察と管理を行った。出産においては怒責予防のため無痛分娩方針として、脊髄クモ膜下硬膜外併用麻酔でピピバカインと術後鎮痛管理としてポプスカインを使用した帝王切開により、不整脈イベントなく安全に出産できた。

症例は 34 歳女性。家族歴では父、父方伯父及び父方叔父が Brugada 症候群と診断されている。伯父は ICD 植込みを拒否し 30 歳代で突然死している。父と叔父は ICD を植え込んでいる。本人は失神、めまいの既往はなく、心電図上 QT 延長を認め、LP 陽性であるため外来で経過観察していた。運動負荷で心拍数増加に伴う QTc の延長は認めなかった。2017 年 7 月に父が癌で死去したのをきっかけに動悸が出現し、ホルタ

ー心電図では心室性期外収縮 (monomorphic, single のみ) が多発しており、右室流出路起源と考えられた。2018 年 2 月にカテーテルアブレーションを行い、退院となった。

遺伝子検査では本人、父、父方叔父 3 人に共通する SCN5A 遺伝子変異 (E1784K) を認めた。本人の妹は無症候であり遺伝子検査を希望しなかった。

D. 考察

遺伝性不整脈症候群のガイドライン作成には、診断、治療及び管理に対するエビデンスが必要であり、我々はそのエビデンスを蓄積するために日々患者とその家族と向き合っている。遺伝子検査技術が発達し、また遺伝性不整脈の症例の蓄積もあって、スクリーニングすべき候補遺伝子の数は増え続けている。候補遺伝子が全て正常であった場合に、次世代シーケンサーを用いた遺伝子の網羅的解析によって新たな遺伝子変異が発見されることがある。イオンチャネル遺伝子の他に、最近では遺伝性不整脈症例にギャップジャンクションの構成蛋白であるコネキシンの異常が発見される症例が報告されている。心筋活動電位の形成・伝播には、イオンチャネル、ギャップジャンクションの他にも、デスモゾームなど接着因子も関与しているため、それらを含めた網羅的解析が必要である。

また、病態解明のため、変異遺伝子を導入した培養細胞、トランスジェニックマウス、iPS 細胞などを用いた機能解析を治療法の開発に役立てることが重要である。遺伝子変異の解析は、診断を確定し治療法を選択する以外に、妊娠・出産・手術などに際しての管理法の確立や、原疾患以外の疾患に対して患者が将来服用するであろう薬剤の使用に関する注意を患者本人に伝えることで、リスクを減らす意味合いも持っている。

本研究により、今までに報告のないコネキシン 45 の変異症例を発見し、その機能解析から

病態を推測することができたが、治療法に関してはまだ更なる研究が必要である。また、QT延長症候群の妊娠出産例から、周産期の不整脈の発生、ICD作動の状況や、薬物治療による胎児への影響、無痛分娩が無事な出産に有効であったことなど、妊娠・出産の管理に役立つ多くのエビデンスを得ることができた。Brugada症候群とQT延長症候群のオーバーラップ症例では、SCN5Aの変異を持ちながら無症候の症例に対して、将来Ic群薬を避けた方がよいことを本人にアドバイスすることができた。これらの結果を遺伝性不整脈症候群のガイドライン作成に反映させていくことが我々の責務と考えている。

E. 結論

本研究では、遺伝性不整脈症候群の患者の遺伝子診断、新たに発見された遺伝子変異の機能解析による病態解明、妊娠・出産など特殊な状況における治療と管理、使用を避けた方がよい薬剤のリストアップなどを行い、多くの成果が得られた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Seki A, Ishikawa T, Daumy X, Mishima H, Barc J, Sasaki R, Nishii K, Saito K, Urano M, Ohno S, Otsuki S, Kimoto H, Baruteau A-E, Thollet A, Fouchard S, Bonnaud S, Parent P, Shibata Y, Perrin J-P, Le Marec H, Hagiwara N, Mercier S, Horie M, Probst V, Yoshiura K-I, Redon R, Schott J-J, Makita N. Progressive Atrial Conduction Defects Associated With Bone Malformation Caused by a Connexin-45 Mutation. *Journal of the Am Coll Cardiol.* July 18, 2017, 70 (3) 358-370.

2. Yamagata K, Horie M, Aiba T, Ogasawa 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, Ohno S, Fukuda K, Watanabe H, Morita H, Hayashi K, Kusano K, Kamakura S, Yasuda S, Ogawa H, Miyamoto Y, Kapplinger JD, Ackerman MJ, Shimizu W. Genotype-Phenotype Correlation of SCN5A Mutation for the Clinical and Electrocardiographic Characteristics of Proband With B

rugada Syndrome: A Japanese Multicenter Registry. *Circulation.* 2017 Jun 6;135(23):2255-2270

3. An overlap of Brugada syndrome and arrhythmic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. Kataoka S, Serizawa N, Kitamura K, Suzuki A, Suzuki T, Shiga T, Shoda M, Hagiwara N. *J Arrhythm.* 2016 Feb;32(1):70-3.

4. Connexin45 contributes to global cardiovascular development by establishing myocardial impulse propagation. Nishii K, Seki A, Kumai M, Morimoto S, Miwa T, Hagiwara N, Shibata Y, Kobayashi Y. *Mech Dev.* 2016 May;140:41-52.

5. Seki A, Nishii K, Hagiwara N. Gap junctional regulation of pressure, fluid force, and electrical fields in the epigenetics of cardiac morphogenesis and remodeling. *Life Sci.* 2015 May 15;129:27-34.

2. 学会発表

1. Impact of connexin45 knockout on the cardiac conduction system in different age adult mice. Akiko Seki, Nobuhisa Hagiwara. 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 平成27年7月29日 (水) 京都国際会議場.

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

特になし