

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

LMNA 遺伝子関連心筋症における遺伝型によるリスク層別化

研究分担者 牧山 武 京都大学 助教

研究要旨：LMNA 遺伝子は、核膜の裏打ち蛋白である lamin A, C をコードし、その遺伝子異常により laminopathy と呼ばれる様々な疾患を引き起こし、心臓では、拡張型心筋症+心臓伝導障害を呈することが知られている。我々は、日本最大規模の多施設コホート（77 症例、45 家系）における検討より、truncation mutation が心疾患早期発症のリスク因子であることを見出した。本知見により遺伝子解析は診断のみならずリスク層別化にも有用である可能性が示唆された。

A．研究目的

LMNA 遺伝子は、核膜の裏打ち蛋白である lamin A, C をコードし、核膜の構造保持や DNA 転写、遺伝子発現に重要な役割を果たす。本遺伝子異常は laminopathy と呼ばれる種々の疾患を引き起こし、特に心臓では、拡張型心筋症+心臓伝導障害を呈する。本疾患は、致死性不整脈や重症心不全の合併により予後不良であり、根本的治療法のない難治性疾患である。我々は、LMNA 関連心筋症の病態解明、予後指標の検討のため、日本最大規模の多施設コホート（77 症例、45 家系）における検討を行った。

B．研究方法

LMNA 変異の判明している 77 症例、45 家系において、遺伝型（truncation mutation or missense mutation）、表現型（心臓伝導障害、左室駆出率低下（EF<50%）、心房性不整脈、致死性心室性不整脈）に関して検討を行った。

（倫理面への配慮）

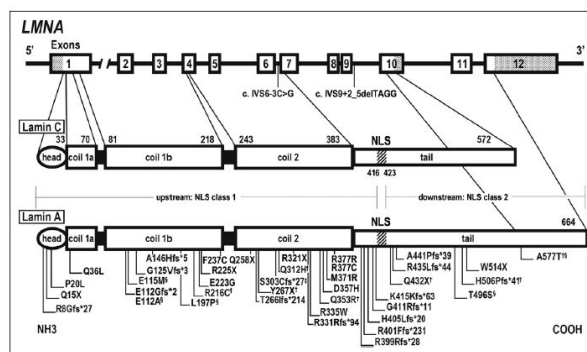
遺伝子解析は、施設の倫理委員会にて承認受け、インフォームドコンセントを行い施行した。

C．研究結果

遺伝子解析を施行した平均年齢は 45 ± 17 才であり、フォロー期間の中央値は 49 か月であった。77 例中、71 例（92%）において、心疾

患を認め、それぞれの表現型の頻度は、心臓伝導障害 81%、左室駆出率低下 45%、心房性不整脈 58%、致死性心室性不整脈 26%であった。フォローアップ期間中に、9 例（12%）死亡し、7 例は末期心不全死、2 例は突然死であった。遺伝子解析の結果、58 例（31 家系）に truncation mutation を検出し、19 例（14 家系）に missense mutation を認めた（図 1）。

図 1．検出した LMNA 変異の location



心臓伝導障害、左室駆出率低下は、truncation mutation 群にて missense mutation 群より有意に若年での発症を認めた（図 2、3）。

図2 . 77例におけるそれぞれの心疾患の発症年齢

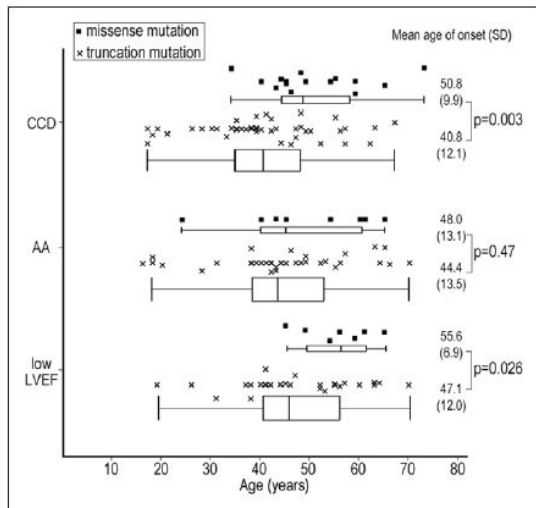
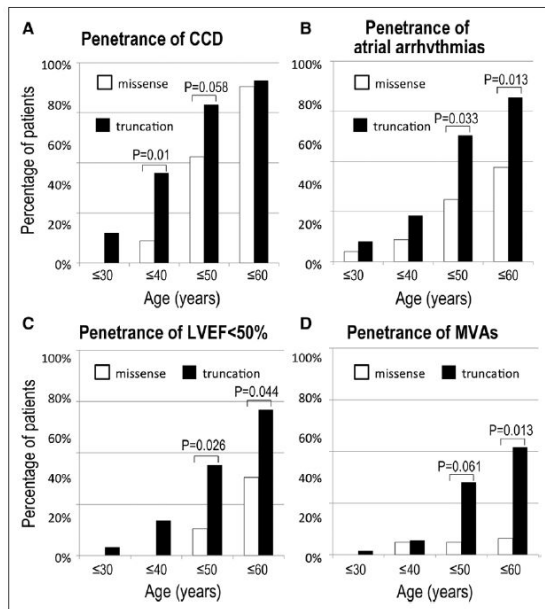


Figure 2. Age of onset in each cardiac phenotype in 77 LMNA (*lamin A/C*) mutation carriers with truncation mutation (x mark) and missense mutation (solid square mark). AA indicates atrial arrhythmias; CCD, cardiac conduction disturbance; and LVEF, left ventricular ejection fraction.

図3 . 各年代における心疾患の浸透率



また、多変量解析により、truncation mutation は、心臓伝導障害、心房性不整脈、左室駆出率低下早期発症のリスク因子であった(表)。

表 60才未満の各心疾患発症に関与する因子の検討 (Logistic regression model 解析)

| | No. of Patients With Phenotype | Parameter: Positive vs Negative | OR (95% CI) | P Value |
|---------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------|---------|
| | | | | |
| CCD (<50 y)* | | | | |
| Truncation mutation | 38 (79) vs 9 (53) | | 3.55 (1.06–12.33) | 0.04* |
| Proband | 29 (71) vs 18 (75) | | 0.94 (0.27–3.09) | 0.91 |
| Men | 29 (67) vs 18 (82) | | 0.43 (0.10–1.47) | 0.18 |
| Atrial arrhythmias | | | | |
| Truncation mutation | 31 (82) vs 7 (47) | | 5.18 (1.42–20.38) | 0.013* |
| Proband | 28 (72) vs 10 (71) | | 1.13 (0.24–4.95) | 0.87 |
| Men | 25 (69) vs 13 (76) | | 0.62 (0.13–2.56) | 0.52 |
| Low LVEF (≤50%) | | | | |
| Truncation mutation | 24 (71) vs 5 (38) | | 3.92 (1.03–16.55) | 0.045* |
| Proband | 22 (67) vs 7 (50) | | 2.28 (0.59–9.33) | 0.23 |
| Men | 18 (58) vs 11 (69) | | 1.76 (0.46–7.62) | 0.41 |

CCD indicates cardiac conduction disturbance; CI, confidence interval; LVEF, left ventricular ejection fraction; and OR, odds ratio.

*P value <0.05.

D . 考察

truncation mutation が心疾患の早期発症に関わるメカニズムとして、truncation mutation では、A-type lamin の haploinsufficiency (変異アレルからの蛋白は発現しない) になると考えられるが、missense mutation は変異アレルから産生されたタンパクが partial に機能を有するため症状が軽減されるのではないかと推察された。また、海外の遺伝型・表現型の解析では、男性にて予後不良である性差が報告されているが (Van Rijsingen et al. *JACC* 2011) 本研究では明らかな性差を認めなかった。この相違点に関して、人種差や我々のコホートでは truncation mutation が 75% (v.s. 45%) と多いことが関与し得ると考えられた。

limitation として、本研究は retrospective study であり、家族性の DCM、心臓伝導障害が遺伝子解析の対象となりやすいため本コホートは LMNA 変異による心筋症の全体像を反映していない可能性がある。また、本研

究では心筋症の主な原因であるサルコメア関連遺伝子に関して解析されていない。他には、変異によりエントリーした症例数が異なる、遺伝子解析されていない死亡した家族症例は本研究に含めていないため心イベントを過少評価している可能性等がある、

E . 結論

LMNA 関連心筋症において、truncation mutation は心疾患の早期発症に関与していると考えられた。遺伝子解析は診断のみならずリスク層別化にも有用である可能性が示唆された。

本研究は、*Circ Cardiovasc Genet.* 2017 に論文発表を行った。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. 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.* 2017 Dec;10(6). pii: e001603.doi:10.1161/CIRCGENETICS.116.001603.PMID:29237675 *Corresponding author
2. 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. Development of a Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cell Model for the Investigation of SCN5A-D1275N-Related Cardiac Sodium Channelopathy. *Circ J.* 2017 Jun 20. doi: 10.1253/circj.CJ-17-0064.PMID: 28637969 *Corresponding author
3. 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.* 2017 Mar 1. doi: 10.1093/hmg/ddx073. PMID: 28335032 * Corresponding author
4. 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, 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 Brugada Syndrome: A Japanese Multicenter Registry. *Circulation.* 2017 Jun 6;135(23):2255-2270. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027983. PMID: 28341781
5. Fukumoto D, Ding WG, 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.* 2017 Nov 13. pii: S0914-5087(17)30273-3. doi: 10.1016/j.jjcc.2017.10.004. [Epub ahead of print] PMID: 29146210
6. 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.* 2017 Jul;70(1):74-79.doi:10.1016/j.jjcc.2016.09.010. PMID: 27816319

2. 学会発表

1. 牧山 武, Symposium 5: Sudden Cardiac Death—Elucidation of Pathogenesis, Prediction, and Prevention—: Induced pluripotent stem cell-based modeling of inherited arrhythmias, 第 82 回日本循環器学会学術集会, 2018.3.23-25(3.23), 大阪, oral (E)
2. 牧山 武, Invited Symposium 66 (Basic/Genetic-10): Sodium Channel Diseases: Sodium channel diseases: AT/AF/DCM, APHRS2017 and JHRS2017, 2017.9.14-17(9.16), Yokohama, Japan, Chair/Speaker (E)
3. 牧山 武, General Symposium 3: Inherited arrhythmia syndromes: from bench to bedside: Modelling inherited arrhythmias using human iPS cells: a tool for developing a new therapeutic approach, the 10th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS2017) and the 64th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society (JHRS2017), 2017.9.14-17(9.15), Yokohama, Japan, Oral (E)
4. 牧山 武, Invited Symposium 67 (Basic/Genetic-11): iPS Cells in Arrhythmia Research: Modelling congenital long-QT syndrome type 8 using patient-derived iPS cells, APHRS2017 and JHRS2017, 2017.9.14-17(9.16), Yokohama, Japan, Chair/Speaker (E)
5. 西内 英, Gene-based Risk Stratification for Cardiac Disorders in LMNA Mutation Carriers, European Society of Cardiology (ESC) Congress 2017, 2017.8.26-30, Barcelona, Spain, Poster
6. 西内 英, Gene-based Risk Stratification for Cardiac Disorders in LMNA Mutation Carriers, 第 81 回日本循環器学会学術集会, 2017.3.17-19(3.18), 金沢, oral (E), featured research session
7. Wuriyanghai Yimin, Development of Homozygous *LaminA/C* Deficient Human Induced Pluripotent Stem Cell Model for Analyzing the Pathophysiological Mechanism of *Lamin A/C*-related Cardiomyopathy, 第 82 回日本循環器学会学術集会, 2018.3.23-25(3.23), 大阪, oral (E)
8. Wuriyanghai Yimin, Establishment of Homozygous LMNA Knockout Human Induced Pluripotent Stem Cells For Analyzing Disease-causing Mechanism of Laminopathies, American Heart Association (AHA) Scientific Sessions 2017, 2017.11.11-15 (11.14), Anaheim, United States, Poster
9. 西内 英, Abnormal Expressions of Cardiac Ion Channels-associated Genes in Lamin A/C-related Cardiomyopathy-specific Induced Pluripotent Stem Cell-derived Cardiomyocytes, 第 80 回日本循環器学会学術集会, 2016.3.18-20(3.18), 仙台, poster (E)

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 なし