

先天性 QT 延長症候群の原因遺伝子頻度に関する研究

研究分担者 大野聖子¹⁾

研究協力者 堀江 稔²⁾

所 属 ¹⁾国立循環器病研究センター分子生物学部

²⁾滋賀医科大学アジア疫学研究センター

研究要旨

【目的】先天性 QT 延長症候群 (LQTS) の原因として 17 個の遺伝子が報告されているが、変異キャリアの 90%は LQT1-3 に分類されると報告されている。本研究では、これまで稀とされていた遺伝型についても解析を行い、遺伝子毎の患者頻度を明らかにし、診断や治療に活用することを目指す。

【対象と方法】対象患者は、2015 年 11 月から 2018 年 9 月までの期間に遺伝子解析診断目的で滋賀医科大学に紹介・登録された、連続した 160 人の LQTS 発端者。全ての患者は次世代シーケンサー (NGS) を用いて、LQTS 関連遺伝子を含む 56 遺伝子について解析を行った。**【結果】**160 人中 110 人に変異を同定した。LQT1 の原因である *KCNQ1* と LQT2 の原因である *KCNH2* の変異をそれぞれ 48 人 (43.2%) と 34 人 (30.9%) に認めた。一方、LQT3 の原因である *SCN5A* 変異は 5 人 (4.5%) にしか同定しなかった。さらに非常に稀で重症とされてきた LQT8 の原因である *CACNA1c* 変異を 6 人 (5.4%)、LQT15 の原因である *CALM2* 変異を 2 人 (1.8%) に同定した。**【結論】**LQT8 は LQT3 と同等の頻度であり、LQTS の遺伝子解析で変異陰性とされた群については症状に応じて LQT8 や LQT15 の可能性を考慮する必要がある。

A. 研究目的

先天性 QT 延長症候群 (LQTS) は心電図で QT 延長を生じ、心室不整脈から突然死を来す遺伝性の疾患である。LQTS の原因として、これまで 17 個の原因遺伝子が報告されており、LQTS 患者の約 70%に遺伝子変異が同定される。さらに変異が同定された患者の約 90%は LQT1-3 の原因遺伝子である *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A* の変異を保持しているとされる。しかしながら、これらの頻度は従来法である Sanger 法で解析された時代の結果であり、次世代シーケンサーによる解析が主流になっている現在においては、その頻度が変化している可能性がある。そこで本研究では、連続した LQTS 患者について、すべての LQTS 関連遺伝子について網羅的に解析を行い、遺伝型の頻度を明らかにし、

診断や治療法選択に活用することを目的としている。

B. 研究方法

対象患者

2015 年 11 月から 2018 年 9 月までの期間に遺伝子解析診断目的で滋賀医科大学に紹介・登録された 160 人の LQTS 発端者。安静時 QTc 時間 > 460ms かつ Schwartz score > 3.0 を対象とした。

遺伝子解析法

すべての患者に対し、LQTS 関連遺伝子を含む 56 遺伝子について小型次世代シーケンサー (MiSeq) を用いて解析を行った。MiSeq で同定された変異は Sanger 法で確認を行った。同定された変異のうち、日本人コホートで報告さ

れている変異頻度 (Minor allele frequency, MAF) > 0.01 の変異は除外した。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究および遺伝子解析に関する倫理指針を遵守し、各施設の倫理審査委員会の承認を得て実施した。得られた被験者のデータや個人情報、研究責任者及び分担研究者の研究室にて管理され、秘密が厳守されることを保証したうえで研究を行った。

C. 研究結果

対象患者の年齢中央値は13 (0-68) 歳であり、16 人に心停止、47 人に失神の既往があった。解析を行った160人中110人に変異を同定した(表1)。

表1. 各遺伝型の人数と頻度

遺伝型	遺伝子	人数	頻度 (%)
LQT1	<i>KCNQ1</i>	48	43.6
LQT2	<i>KCNH2</i>	34	30.9
LQT3	<i>SCN5A</i>	5	4.5
LQT7	<i>KCNJ2</i>	4	3.6
LQT8	<i>CACNA1c</i>	6	5.5
LQT15	<i>CALM2</i>	2	1.8
-	<i>RYR2</i>	6	5.5
重複変異		5	4.5
変異なし		50	-

LQT1 と LQT2 の頻度はこれまでの報告とほぼ同様であったが、LQT3 が5人だったのに対し、LQT8 は6人であり、これまでの報告と異なり、LQT8 の頻度が高いことが明らかになった。また非常に稀と考えられていた LQT15 も2人存在した。

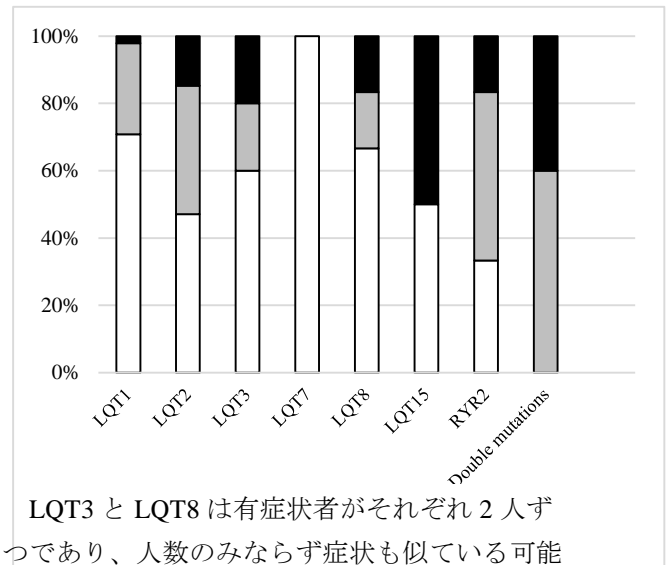
図1にそれぞれの遺伝型の症状についてまとめた。

LQT8 患者のうちのうち、有症状の2人に Timothy 症候群の原因として報告のある *CACANA1c* - G402S 変異を同定したが、心臓外

の症状は認めなかった。他の LQT8 患者は無症状であった。

RYR2 変異は6人に同定し、4人は運動や興奮時に心停止・失神を生じているため CPVT の可能性も否定できないが、無症状の2人を含め、QT 延長を認めていた。

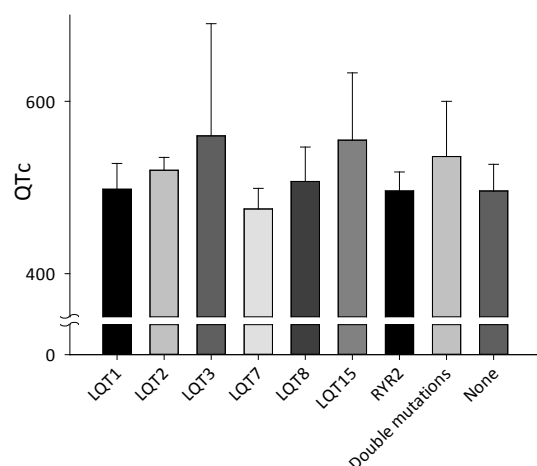
図1 各遺伝型の症状



LQT3 と LQT8 は有症状者がそれぞれ2人ずつであり、人数のみならず症状も似ている可能性が示唆される。

次に各遺伝型の QTc 時間を比較した (図2)。

図2 各遺伝型の QTc 時間



これまで Timothy syndrome で報告されていた心電図所見と異なり、LQT8 でも著明な QT 延長を呈することはなかった。

D. 考察

Sanger 法で解析を行っていた時代には、主要な原因遺伝子とされた LQT1, 2, 3 のスクリーニングのみを行なわれることが多く、それ以外の遺伝子については非常に稀と考えられてきた。しかし 2013 年に Boczek らが (Boczek NJ, et al.: *Circ Cardiovasc Genet*, 6:279-289,2013)、2014 年には我々も (Fukuyama M, et al.: *Europace*, 16:1828-1837,2014)、心臓外症状のない LQTS 患者に *CACNA1c* 変異保持者がいることを報告した。しかしながら、実際の頻度については調べられていない。LQT1-3 については遺伝型特異的な症状や治療法が報告されているが、LQT8 については未だ報告がない。今後、LQT8 のスクリーニングを進め、症例を集積することで、臨床的な特徴を明らかにしていくことが必要と考えられる。

E. 結論

次世代シーケンサーの時代になり、多くの遺伝子を一度にスクリーニングすることが可能になった。LQTS 患者の遺伝型を明らかにし、突然死を予防するためにも、LQT1-3 に限定しない遺伝子解析が必要であろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

[英文]

1. Yamada N, Asano Y, Fujita M, (他 4 名), Ohno S, (他 32 名). Mutant KCNJ3 and KCNJ5 Potassium Channels as Novel Molecular Targets in Bradyarrhythmias and Atrial Fibrillation. **Circulation**. 2019. In press
2. Shimizu W, Makimoto H, Yamagata K, (他 12 名), Ohno S, (他 22 名). Association of Genetic and Clinical Aspects of Congenital Long QT Syndrome With Life-Threatening Arrhythmias in Japanese Patients. **JAMA cardiol**. 2019;4(3):246-254. doi: 10.1001/jamacardio. 2018.4925.2019
3. Honda M, Tsuchimochi H, Hitachi K and Ohno S. Transcriptional cofactor Vgll2 is required for functional

- adaptations of skeletal muscle induced by chronic overload. **J Cell Physiol**. 2019. [Epub ahead of print]
4. Dharmawan T, Nakajima T, Ohno S, Iizuka T, Tamura S, Kaneko Y, Horie M and Kurabayashi M. Identification of a novel exon3 deletion of RYR2 in a family with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Ann Noninvasive Electrocardiol**. 2019:e12623.
 5. Yoshinaga M, Kucho Y, Ushinohama H, Ishikawa Y, Ohno S, and Ogata H. Autonomic Function and QT Interval During Night-Time Sleep in Infant Long QT Syndrome. **Circ J**. 2018;82:2152-2159.
 6. Yagi N, Itoh H, Hisamatsu T, Tomita Y, Kimura H, Fujii Y, Makiyama T, Horie M and Ohno S. A challenge for mutation specific risk stratification in long QT syndrome type 1. **J Cardiol**. 2018;72:56-65.
 7. Wuriyanghai Y, Makiyama T, Sasaki K, (他 12 名), Ohno S, Yoshida Y, Kimura T and Horie M. Complex aberrant splicing in the induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes from a patient with long-QT syndrome carrying KCNQ1-A344Aspl mutation. **Heart Rhythm**. 2018;15:1566-1574.
 8. Wu J, Mizusawa Y, Ohno S, et al. A hERG mutation E1039X produced a synergistic lesion on IKs together with KCNQ1-R174C mutation in a LQTS family with three compound mutations. **Sci Rep**. 2018;8:3129.
 9. Wakisaka KT, Tanaka R, Hirashima T, (他 7 名), Ohno S, Itoh M and Yamaguchi M. Novel roles of Drosophila FUS and Aub responsible for piRNA biogenesis in neuronal disorders. **Brain Res**. 2019;1708:207-219.
 10. Wakisaka KT, Ichianagi K, Ohno S, and Itoh M. Association of zygotic piRNAs derived from paternal P elements with hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*. **Mobile DNA**. 2018;9:7.
 11. Ueshima S, Hira D, Kimura Y, (他 6 名), Ohno S, Horie M, Terada T and Katsura T. Population pharmacokinetics and pharmacogenomics of apixaban in Japanese adult patients with atrial fibrillation. **Br J Clin Pharmacol**. 2018;84:1301-1312.
 12. Sonoda K, Ohno S, Ozawa J, Hayano M, Hattori T, Kobori A, Yahata M, Aburadani I, Watanabe S,

- Matsumoto Y, Makiyama T and Horie M. Copy number variations of SCN5A in Brugada syndrome. **Heart Rhythm**. 2018;15:1179-1188.
13. Seki S, Yamashita E, Tanoue K, Nuruki N, Sonoda M, Ohno S, Ishibashi-Ueda H, Tanaka Y and Yoshinaga M. Prediagnostic electrocardiographic and echocardiographic findings of biopsy-proven hypertrophic cardiomyopathy. **J Arrhythm**. 2018;34:643-646.
14. Saito A, Ohno S, Nuruki N, Nomura Y, Horie M and Yoshinaga M. Three cases of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with prolonged QT intervals including two cases of compound mutations. **J Arrhythm**. 2018;34:291-293.
15. Ozawa J, Ohno S, Saito H, Saitoh A, Matsuura H and Horie M. A novel CACNA1C mutation identified in a patient with Timothy syndrome without syndactyly exerts both marked loss-and-gain of function effects. **HeartRhythm Case Rep**. 2018;4:273-277.
16. Ozawa J, Ohno S, Fujii Y, Makiyama T, Suzuki H, Saitoh A and Horie M. Differential Diagnosis Between Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia and Long QT Syndrome Type 1-Modified Schwartz Score. **Circ J**. 2018;82:2269-2276.
17. Nakajima K, Aiba T, Makiyama T, Nishiuchi S, Ohno S, et al. Clinical Manifestations and Long-Term Mortality in Lamin A/C Mutation Carriers From a Japanese Multicenter Registry. **Circ J**. 2018;28:2707-2714.
18. Murayama T, Ogawa H, Kurebayashi N, Ohno S, Horie M and Sakurai T. A tryptophan residue in the caffeine-binding site of the ryanodine receptor regulates Ca²⁺ sensitivity. **Commun Biol**. 2018;1:98.
19. Miyata K, Ohno S, Itoh H and Horie M. Bradycardia is a Specific Phenotype of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Induced by RYR2 Mutations. **Intern Med (Tokyo, Japan)**. 2018;57:1813-1817.
20. Kise H, Ohno S, Kono Y, Yoshizawa M, Harama D, Okafuji A, Toda T, Koizumi K, Hoshiai M, Sugita K and Horie M. Electrical storm in an infant with short - coupled variant of torsade de pointes. **J Arrhythm**. 2018;34:315-318.
21. Hisamatsu T, Miura K, Ohkubo T, (他 6 名), Ohno S, Horie M and Ueshima H. Home blood pressure variability and subclinical atherosclerosis in multiple vascular beds: a population-based study. **J Hypertens**. 2018;36:2193-2203.
22. Harada M, Suzuki H, Ohno S, Ozawa J, Saitoh A and Horie M. Dynamic QT Changes in Long QT Syndrome Type 8. **Circ J**. 2018.
23. 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 and Ohno S. Novel intracellular transport-refractory mutations in KCNH2 identified in patients with symptomatic long QT syndrome. **J Cardiol**. 2018;71:401-408.
24. Fujita S, Nishida K, Irabu H, Nakagawa R, Futatani T, Igarashi N, Usuda K, Nagata Y, Ohno S, Horie M and Hatahaki K. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia managed as orthostatic dysregulation and epilepsy in 11- and 15-year-old sisters. **Pediatr Int**. 2018;60(11):998-1001.

[和文]

1. 大野聖子. 遺伝性不整脈の理解はどこまで進んだか 新しい臨床を開拓するための分子循環器病学 南山堂 2019;156-162
2. 大野聖子. 不整脈原性右室心筋症の重症度評価における遺伝子診断の意義 循環器内科 科学評論社 2018;84,668-673
3. 大野聖子. 循環器病研究の進歩 循環器病研究の進歩 協和企画 2018;39:58-65
4. 大野聖子. 不整脈原性右室心筋症 医学のあゆみ 医歯薬出版 2018;268:715-721
5. 大野聖子. 不整脈原性右室心筋症の遺伝子解析 循環器内科 科学評論社 2018;84:195-201

2. 学会発表

[国際学会]

1. Ohno S. "LQTS, Ventricular Arrhythmias and SCD Pathophysiology and Mechanisms Ion Channel Disorders" EHRA2018 Case-based session 18-20 March 2018 Barcelona, Spain
2. Ohno S. VT/VF: Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC): From Bench to Bedside APHRS2018 Symposium 17-20 October 2018 Taipei, Taiwan
3. Ohno S. "What is New in the Genetics of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy?" "APHRS2018 Symposium 17-20 October 2018 Taipei, Taiwan
4. Hattori T, Sonoda K, Horie M, Ohno S. High Frequency of De Novo KCNJ2 Mutations in Andersen-Tawil Syndrome Patients APHRS2018 Poster 17-20 October 2018 Taipei, Taiwan
5. Sonoda K, Ohno S., Hattori T, Horie M, Functional Change of an SCN5A Mutation Identified in the Patient with Short-Coupled Variant of Torsades de Pointes. APHRS2018 Poster 17-20 October 2018 Taipei, Taiwan

[国内学会]

1. Ohno S., Sonoda K, Ichikawa M, Yoshinaga M, Horie M. Detection of Copy Number Variations by Next Generation Sequencer, a Missing Genetic Defect 第82回日本循環器学会学術集会 プレナリーセッション (英語) 2018.3.23-3.25
2. Takayama K, Ohno S., Ding WG, Ashihara T, Kise H, Hoshi ai M, Matsuura H, Horie M. Early Repolarization Syndrome Caused by a de novo KCND3 Gain-of-Function Mutation 第82回日本循環器学会学術集会シンポジウム (英語) 2018.3.23-3.25
3. Fukumoto D, Ohno S., Makiyama T, Kubo T, Kitaoka H, Matsuura H, Horie M. Functional Analysis of Mutant Nav1.5 Channels Clarified Severe Phenotype of a Female Patient with Compound SCN5A Mutations. 第82回日本循環器学会学術集会 口頭 (英語) 2018.3.23-3.25

4. Hirose S, Makiyama T, Melgari D, (他9名), Ohno S., Yoshida Y, Horie M, Kimura T. Functional Analysis of Mutant Nav1.5 Channels Clarified Severe Phenotype of a Female Patient with Compound SCN5A Mutations. 第82回日本循環器学会学術集会 口頭 (英語) 2018.3.23-3.25
5. Wuriyanghai Y, Maiyama T, Nishiuchi S, (他8名), Ohno S., Horie M, Kimura T. 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 口頭 (英語) 2018.3.23-3.25
6. Takaki T, Inoue K, Ohno S., Makiyama T, Horie M, Yoshida Y. Action Potential Analysis in iPSC-derived Single Cardiomyocytes and Cardiomyocyte Monolayers Generated from LQTS Type1 Patients Using Membrane Potential Dye 第82回日本循環器学会学術集会 口頭 (英語) 2018.3.23-3.25
7. Niwa S, Hayashi K, Fujino N, Ohno S., Furusho H, Sakata K, Konno T, Tsuda T, Tada H, Nagata Y, Teramoto R, Nomura A, Tanaka Y, Takamura M, Kawashiri M, Horie M, Yamagishi M Genotype Distribution and Prognosis of Japanese Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia Patients 第82回日本循環器学会学術集会 口頭 (英語) 2018.3.23-3.25
8. Hoshi ai M, Kise H, Kono Y, Hoshizawa M, Koizumi K, Hirose S, Ohno S., Horie M, Sugita K, Toda T. Flecainide and Carvedilol could Prevent Ventricular Tachycardia Attack in a Female Case of Long QT Syndrome Associated with RYR2 Mutation 第82回日本循環器学会学術集会 口頭 (英語) 2018.3.23-3.25
9. Kashiwa A, Aiba T, Makimoto H, (他4名), Ohno S., (他10名). How should We Evaluate Arrhythmic Risk in Long QT Syndrome Type 1?: Data from a Nationwide Japanese LQT Registry 第82回日本循環器学会学術集会 ポスター (英語) 2018.3.23-3.25
10. Ozawa J, Ohno S., Watatnabe H, Sonoda K, Makiyama T, Suzuki H, Itoh H, Horie M. Clinical and Genetic Characteristics of Brugada Syndrome in Children

- Including Those Diagnosed at a School-based
Electrocardiographic Screening Program 第82回日
本循環器学会学術集会 ポスター (英語)
2018.3.23-3.25
11. Yamamoto Y, Maiyama T, Harita T, (他7名), Ohno S,
Chonabayashi K, Suda K, Yoshida Y, Horie M, Makita
N, Kimura T. The Inactivation of L-type Ca²⁺ Channel
was Impaired in Human iPSC Cell Model of Long-QT
Syndrome with CALM2-D134H Mutation. 第82回
日本循環器学会学術集会 ポスター (英語)
2018.3.23-3.25
12. Sonoda K, Ohno S, Takeru M, Horie M. Functional
Change of SCN5A Mutations Identified in the Patients
with Short-Coupled Variant of Torsades de Pointes 第
82回日本循環器学会学術集会 ポスター (日本語)
2018.3.23-3.25
13. Fukuyama M, Ohno S, Takayama K, Ichikawa M,
Fukumoto D, Horie M. How to Confirm the
Pathogenicity of Gene Variants in Inherited Primary
Arrhythmia Syndrome. 第82回日本循環器学会学
術集会 ポスター (日本語) 2018.3.23-3.25
14. Yagi N, Itoh H, Hisamatsu T, Ohno S, Horie M. A
Challenge for Mutation Specific Risk Stratification in
Long QT Syndrome Type 1 第82回日本循環器学会
学術集会 ポスター (日本語) 2018.3.23-3.25
15. Yokoi F, Makiyama T, Yamamoto Y, (他7名), Ohno S,
Toyoda F, Yoshinori Y, Makita N, Horie M, Kimura T.
I-cis-Diltiazem Enhances Slowed L-type Calcium
Channel Inactivation in CALM2-associated Long-QT
Syndrome iPSC Model 第82回日本循環器学会学
術集会 ポスター (日本語) 2018.3.23-3.25
16. Hayano M, Makiyama T, Kamakura T, (他8名), Ohno
S, Toyoda F, Yoshida Y, Horie M, Kimura T. Human
iPSC-Derived Myocyte Model of
SCN5A-D1275N-Related Cardiac Sodium
Channelopathy Reveals Diminished Sodium Currents
Resulting from Enhanced Protein Degradation 第
82回日本循環器学会学術集会 ポスター (日本語)
2018.3.23-3.25
17. Yagihara N, Watanabe H, Makita N, Horie M,
Shimizu W, Ohno S, Hasegawa K, Aiba T, Tanaka T,
Tsunoda T, Shigemizu D, Minamino T. Identification
of Mutations in Causative Genes for
Cardiomyopathies in Patients with Arrhythmia
Syndromes and Structurally Normal Heart 第82回日
本循環器学会学術集会 ポスター (日本語)
2018.3.23-3.25
18. 大野聖子, 和田悠子, 堀江稔. 不整脈原性右室心
筋症に特異的な遺伝子変異の病原性を考える
第4回日本心筋症研究会 ポスター 2018.6.2
19. 大野聖子. ゲノム医療を活用した不整脈診療 第
66回日本心臓病学会学術集会 シンポジウム
2018.9.7-9.9
20. 大野聖子. 遺伝性不整脈の遺伝子診断 第22回日
本心不全学会学術集会 シンポジウム
2018.10.11-10.13
21. 大野聖子. QT延長症候群の遺伝子解析と臨床へ
の活用 日本人類遺伝学会第63回大会 シンポジウ
ム 2018.10.10-10.13
22. 大野聖子, 中右弘一, 真鍋博美, 吉田葉子, 青木
寿明, 藤田修平, 牧山武, 堀江稔. 不整脈を呈す
る CALM2 変異キャリアの特徴 第23回日本小児
心電学会学術集会 口頭 (日本語) 2018.11.30-12.1
23. Ohno S, Ozawa J, Fukuyama M, Makiyama T, Horie
M. An NGS-based genotyping in LQTS; minor genes
are no longer minor 第83回日本循環器学会学術集
会 シンポジウム (英語) 2019.3.29-3.31
24. Ohno S, Sonoda K, Horie M. Genetic Background of
ARVC 第83回日本循環器学会学術集会 ミート・
ザ・エキスパート 2019.3.29-3.31
25. Ohno S. Clinical use of genetic analysis for the
inherited primary arrhythmia syndromes 第83回日
本循環器学会学術集会 会長特別企画 (英語)
2019.3.29-3.31

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 |