

遺伝性不整脈疾患におけるクリニカルシーケンスと遺伝子診断の臨床的意義に関する研究

研究分担者 相庭 武司

所 属 国立循環器病研究センター 臨床検査部

研究要旨

【目的】 LQTS 患者における次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析の臨床的意義について検討した。

【対象と方法】 617 例の LQTS 患者にサンガー法にて遺伝子検査を実施し、上記 LQT1~3 遺伝子が認められなかった患者については次世代シーケンサー (NGS) を用いた網羅的遺伝子解析を施行し、主要 3 遺伝子以外の疾患関連遺伝子がどの程度検出されるかを検討した。

【結果】 617 例の LQT 患者中、LQT1 : 186、LQT2 : 143、LQT3 : 35 と LQT1~3 がほぼ 6 割を占めたが、LQT1~3 の遺伝子に異常を認めなかった例について、NGS を用いて網羅的に遺伝子解析を実施した結果 ANK2、KCNE1、KCNJ2、CACNA1C、AKAP9 遺伝子のバリエーションが各 0.2~1.1%程度認められた。さらに LQTS と臨床診断されたが遺伝子型未定の患者のなかに、RYR2 遺伝子異常を有する患者が 1.3%認められた。約 3 割の患者は NGS を用いても原因遺伝子が同定不可能であった。

【結論】 NGS を使った網羅的解析を行ったとしても LQT の遺伝子診断率は数%程度しか向上しないが、初期診断では LQT とされている中には運動中の失神発作や突然死などを来すカテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT) 例が一定数存在することから、対象を絞ったうえで NGS によるパネル解析を行うことは意味があると考えられる。また網羅的解析まで行っても遺伝子型不明の LQT 例の予後については、遺伝子型が判明した患者に比べて良好と考えられる。

A. 研究目的

遺伝性不整脈症候群 (Inherited primary arrhythmia syndrome: IPAS) は、遺伝子異常により致死性不整脈 (心室頻拍 : VT や心室細動 : VF) を生じ心臓突然死を招く疾患群である。IPAS の多くが心筋イオンチャネルの異常によって生じるため「イオンチャネル病」とも呼ばれている。先天性 QT 延長症候群 (LQTS) は健康人の 0.1%に認められ最も頻度の高い IPAS である。LQTS 患者の約 70%で原因遺伝子が同定され、これまでに 17 の原因遺伝子が報告されているが、その多くが *KCNQ1* (LQT1)、*KCNH2* (LQT2) および *SCN5A* (LQT3) 遺伝子である。本研究では、LQTS 患者における遺伝子検査の臨床的意義について検討を行った。

B. 研究方法

我々は 617 例の LQTS 患者にサンガー法にて遺伝子検査を実施し、上記 LQT1~3 遺伝子が認められなかった患者については次世代シーケンサー (NGS) を用いた網羅的遺伝子解析を施行し、主要 3 遺伝子以外の疾患関連遺伝子がどの程度検出されるかを検討した。

(倫理面への配慮)

本研究内容は国立循環器病研究センターにおいて倫理委員会で承認済みである (M24-031-7)

C. 研究結果

LQT1~3 の遺伝子に異常を認めなかった例について、次世代シーケンサーを用いて網羅的に遺伝子解析を実施した結果 *ANK2*、*KCNE1*、*KCNJ2*、

CACNA1C、AKAP9 遺伝子のバリエントが各 0.2～1.1%程度認められた。さらに LQTS と臨床診断されたが遺伝子型未定の患者のなかに、RYR2 遺伝子異常を有する患者が 1.3%認められた

(図)。すなわち LQTS 患者の一部にはカテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT) とオーバーラップする患者が存在することが示された。一方で網羅的遺伝子解析まで行っても、主要 3 遺伝子以外で疾患原因あるいは関連する遺伝子異常を同定できる患者は数%に留まり、また残り 3 割近くの患者は遺伝子型未定となった。これら遺伝子型未定 (Genotype-unknown) の患者の予後は、遺伝子型が判明した

(Genotype-positive) 患者に比べて比較的良好であった。

図 LQTS (n=617) 例において遺伝子解析の結果同定された原因遺伝子

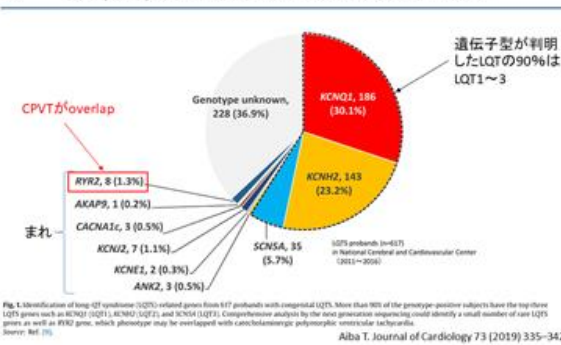


Fig. 4. Identification of long-QT syndrome (LQTS)-related genes from 617 probands with congenital LQTS. More than 90% of the genotype-positive subjects have the frequent LQTS genes such as KCNQ1 (LQTS1), KCNH2 (LQTS2), and SCN5A (LQTS3). Comprehensive analysis by the next generation sequencing could identify a small number of rare LQTS genes as well as RYR2 gene, which phenotype may be overlapped with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. Aiba T. Journal of Cardiology 73 (2019) 335-342

D. 考察

本研究から臨床的に LQTS と診断されても LQT1~3 の遺伝子異常が見つからない症例が 3 割以上いることが明らかとなった。NGS を使った網羅的解析を行ったとしても、遺伝子診断率は数%程度しか向上しないものの、LQT1 と同様に運動中の失神発作や、突然死などを来す遺伝性不整脈の CPVT が、初期診断では LQT とされている例が一定数存在することは無視できない。また網羅的解析まで行っても Genotype-unknown 例の予後については、遺伝子型が判明した患者に比べて良好であり、全ての遺伝性疾患の可能性を否定したわけではないが、現時点でのパネル等による網羅的解析によるスクリーニングでも異常を認めなかった症例の予

後は比較的良好であると考えられる。

E. 結論

IPAS のなかでも特に LQTS に対しては、臨床カルシークエンスは診断的意義のみならずリスク階層化や今後の治療戦略に極めて有用であることが本研究から示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

[英文]

- Werf C, Lieve K, Bos M, Lane C, Denjoy I, Roses-Noguer F, Aiba T, Wada Y, Ingles J, Leren I, Rudic B, Schwartz P, Maltret A, Sacher F, Skinner J, Krahn A, Roston T, Tfelt-Hansen J, Swan H, Robyns T, Ohno S, Roberts J, Berg M, Kammeraad J, Probst V, Kannankeril P, Blom N, Behr E, Borggreffe M, Haugaa K, Semsarian C, Horie M, Shimizu W, Till J, Leenhardt A, Ackerman M, Wilde A. Implantable Cardioverter-Defibrillators in Previously Undiagnosed Patients with Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Resuscitated from Sudden Cardiac Arrest. *Eur Heart J* 2019 (in press).
- Michowitz Y, Milman A, Andorin A, Sarquella-Brugada G, Gonzalez Corcia MC, Gourraud JB, Conte G, Sacher F, Juang JJM, Kim SH, Leshem E, Mabo P, Postema PG, Hochstadt A, Wijeyeratne YD, Denjoy I, Giustetto C, Mizusawa Y, Huang Z, Jespersen CH, Maeda S, Takahashi Y, Kamakura T, Aiba T, Arbelo E, Mazzanti A, Allocca G, Brugada R, Casado-Arroyo R, Champagne J, Priori SG, Veltmann C, Delise P, Corrado D, Brugada J, Kusano KF, Hirao K, Calo L, Takagi M, Tfelt-Hansen J, Yan GX, Gaita F, Leenhardt A, Behr ER, Wilde AAM, Nam GB, Brugada P, Probst V, Belhassen B. Characterization and Management of Arrhythmic Events in Young Patients With Brugada Syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(14):1756-1765.
- Nakagawa S, Aiba T*, Nakajima K, Kataoka N, Kamakura T, Wada M, Ishibashi K, Yamagata K, Inoue Y, Miyamoto K, Nagase S, Noda T, Miyamoto Y,

- Yasuda S, Shimizu W, Kusano K. Earthquake-Induced Torsade de Pointes in Long-QT Syndrome. **Circ J**. 2019;83(9):1968.
4. Shimizu W*, Makimoto H, Yamagata K, Kamakura T, Wada M, Miyamoto K, Inoue-Yamada Y, Okamura H, Ishibashi K, Noda T, Nagase S, Miyazaki A, Sakaguchi H, Shiraishi I, Makiyama T, Ohno S, Itoh H, Watanabe H, Hayashi K, Yamagishi M, Morita H, Yoshinaga M, Aizawa Y, Kusano K, Miyamoto Y, Kamakura S, Yasuda S, Ogawa H, Tanaka T, Sumitomo N, Hagiwara N, Fukuda K, Ogawa S, Aizawa Y, Makita N, Ohe T, Horie M, [Aiba T](#)*. 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. 2019
*Co-corresponding authors.
 5. Nagayama T, Nagase S, Kamakura T, Wada M, Ishibashi K, Inoue YY, Miyamoto K, Noda T, [Aiba T](#), Takaki H, Sugimachi M, Shimizu W, Noguchi T, Yasuda S, Kamakura S, Kusano K. Clinical and Electrocardiographic Differences in Brugada Syndrome With Spontaneous or Drug-Induced Type 1 Electrocardiogram. **Circ J**. 2019;83(3):532-539.
 6. Milman A, Hochstadt A, Andorin A, Gourraud JB, Sacher F, Mabo P, Kim SH, Conte G, Arbelo E, Kamakura T, [Aiba T](#), Napolitano C, Giustetto C, Denjoy I, Juang JJM, Maeda S, Takahashi Y, Leshem E, Michowitz Y, Rahkovich M, Jespersen CH, Wijeyeratne YD, Champagne J, Calo L, Huang Z, Mizusawa Y, Postema PG, Brugada R, Wilde AAM, Yan GX, Behr ER, Tfelt-Hansen J, Hirao K, Veltmann C, Leenhardt A, Corrado D, Gaita F, Priori SG, Kusano KF, Takagi M, Delise P, Brugada J, Brugada P, Nam GB, Probst V, Belhassen B. Time-to-first appropriate shock in patients implanted prophylactically with an implantable cardioverter-defibrillator: data from the Survey on Arrhythmic Events in Brugada Syndrome (SABRUS). **Europace**. 2019;21(5):802.
 7. Nagase S, Kamakura T, Kataoka N, Wada M, Yamagata K, Ishibashi K, Inoue YY, Miyamoto K, Noda T, [Aiba T](#), Izumi C, Noguchi T, Yasuda S, Shimizu W, Kamakura S, Kusano K. Low-Voltage Type 1 ECG Is Associated With Fatal Ventricular Tachyarrhythmia in Brugada Syndrome. **J Am Heart Assoc**. 2018;7(21):e009713.
 9. Baruteau AE, Kyndt F, Behr ER, Vink AS, Lachaud M, Joong A, Schott JJ, Horie M, Denjoy I, Crotti L, Shimizu W, Bos JM, Stephenson EA, Wong L, Abrams DJ, Davis AM, Winbo A, Dubin AM, Sanatani S, Liberman L, Kaski JP, Rudic B, Kwok SY, Rieubland C, Tfelt-Hansen J, Van Hare GF, Guyomarc'h-Delasalle B, Blom NA, Wijeyeratne YD, Gourraud JB, Le Marec H, Ozawa J, Fressart V, Lupoglazoff JM, Dagradi F, Spazzolini C, [Aiba T](#), Tester DJ, Zahavich LA, Beauséjour-Ladouceur V, Jadhav M, Skinner JR, Franciosi S, Krahn AD, Abdelsayed M, Ruben PC, Yung TC, Ackerman MJ, Wilde AA, Schwartz PJ, Probst V. SCN5A mutations in 442 neonates and children: genotype-phenotype correlation and identification of higher-risk subgroups. **Eur Heart J**. 2018;39(31):2879-2887.
 10. Milman A, Gourraud JB, Andorin A, Postema PG, Sacher F, Mabo P, Conte G, Giustetto C, Sarquella-Brugada G, Hochstadt A, Kim SH, Juang JJM, Maeda S, Takahashi Y, Kamakura T, [Aiba T](#), Leshem E, Michowitz Y, Rahkovich M, Mizusawa Y, Arbelo E, Huang Z, Denjoy I, Wijeyeratne YD, Napolitano C, Brugada R, Casado-Arroyo R, Champagne J, Calo L, Tfelt-Hansen J, Priori SG, Takagi M, Veltmann C, Delise P, Corrado D, Behr ER, Gaita F, Yan GX, Brugada J, Leenhardt A, Wilde AAM, Brugada P, Kusano KF, Hirao K, Nam GB, Probst V, Belhassen B. Gender differences in patients with Brugada syndrome and arrhythmic events: Data from a survey on arrhythmic events in 678 patients. **Heart Rhythm**. 2018;15(10):1457-1465.
 11. Gray B, Hasdemir C, Ingles J, [Aiba T](#), Makita N, Probst V, Wilde AAM, Newbury-Ecob R, Sheppard MN, Semsarian C, Sy RW, Behr ER. Lack of genotype-phenotype correlation in Brugada Syndrome and Sudden Arrhythmic Death Syndrome families with reported pathogenic SCN1B variants. **Heart**

- Rhythm.** 2018;15(7):1051-1057.
12. Michowitz Y, Milman A, Sarquella-Brugada G, Andorin A, Champagne J, Postema PG, Casado-Arroyo R, Leshem E, Juang JJM, Giustetto C, Tfelt-Hansen J, Wijeyeratne YD, Veltmann C, Corrado D, Kim SH, Delise P, Maeda S, Gourraud JB, Sacher F, Mabo P, Takahashi Y, Kamakura T, Aiba T, Conte G, Hochstadt A, Mizusawa Y, Rahkovich M, Arbelo E, Huang Z, Denjoy I, Napolitano C, Brugada R, Calo L, Priori SG, Takagi M, Behr ER, Gaita F, Yan GX, Brugada J, Leenhardt A, Wilde AAM, Brugada P, Kusano KF, Hirao K, Nam GB, Probst V, Belhassen B. Fever-related arrhythmic events in the multicenter Survey on Arrhythmic Events in Brugada Syndrome. **Heart Rhythm.** 2018;15(9):1394-1401.
 13. Kamakura T, Wada M, Ishibashi K, Inoue YY, Miyamoto K, Okamura H, Nagase S, Noda T, Aiba T, Yasuda S, Shimizu W, Kamakura S, Kusano K. Significance of Coronary Artery Spasm Diagnosis in Patients With Early Repolarization Syndrome. **J Am Heart Assoc.** 2018;7(4). pii: e007942.
 14. Inoue YY†, Aiba T†, Kawata H, Sakaguchi T, Mitsuma W, Morita H, Noda T, Takaki H, Toyohara K, Kanaya Y, Itoi T, Mitsunashi T, Sumitomo N, Cho Y, Yasuda S, Kamakura S, Kusano K, Miyamoto Y, Horie M, Shimizu W. Different responses to exercise between Andersen–Tawil syndrome and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Europace.** 2018;20(10):1675-1682. †equally contributed.
 15. Milman A, Andorin A, Gourraud JB, Sacher F, Mabo P, Kim SH, Maeda S, Takahashi Y, Kamakura T, Aiba T, Conte G, Juang JJM, Leshem E, Rahkovich M, Hochstadt A, Mizusawa Y, Postema PG, Arbelo E, Huang Z, Denjoy I, Giustetto C, Wijeyeratne YD, Napolitano C, Michowitz Y, Brugada R, Casado-Arroyo R, Champagne J, Calo L, Sarquella-Brugada G, Tfelt-Hansen J, Priori SG, Takagi M, Veltmann C, Delise P, Corrado D, Behr ER, Gaita F, Yan GX, Brugada J, Leenhardt A, Wilde AAM, Brugada P, Kusano KF, Hirao K, Nam GB, Probst V, Belhassen B. Age of First Arrhythmic Event in Brugada Syndrome: Data From the SABRUS (Survey on Arrhythmic Events in Brugada Syndrome) in 678 Patients. **Circ Arrhythm Electrophysiol.** 2017;10(12). pii: e005222.
 16. Yamagata K, Aiba T, Shimizu W. Response by Yamagata et al to Letter Regarding Article, "Genotype-Phenotype Correlation of SCN5A Mutation for the Clinical and Electrocardiographic Characteristics of Proband With Brugada Syndrome: A Japanese Multicenter Registry". **Circulation.** 2017;136(23):2289-2290.
 17. Nishiuchi S, Makiyama T*, Aiba T*, Nakajima K, Hirose S, Kohjitani F, 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-1 based Risk Stratification for Cardiac Disorders in LMNA Mutation Carriers. **Circ Cardiovasc Genet.** 2017;10(6). pii: e001603. *co-corresponding authors.
 18. Kitajima R, Aiba T*, Kamakura T, Ishibashi K, Wada M, Inoue Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Nagase S, Kataoka Y, Asami Y, Noguchi T, Yasuda S, Kusano K. Landiolol suppression of electrical storm of torsades de pointes in patients with congenital long-QT syndrome type 2 and myocardial ischemia. **J Arrhythm.** 2017;33(5):501-504. *corresponding author
 19. 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.** 2017;5(6):639-651.
 20. 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.** 2017;9:245-256.
21. Kimura Y, Takaki H, Inoue YY, Oguchi Y, Nagayama T, Nakashima T, Kawakami S, Nagase S, Noda T, Aiba T, Shimizu W, Kamakura S, Sugimachi M, Yasuda S, Shimokawa H, Kusano K. Isolated Late Activation Detected by Magnetocardiography Predicts Future Lethal Ventricular Arrhythmic Events in Patients With Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. **Circ J.** 2017;82(1):78-86.
22. Kamakura T, Wada M, Ishibashi K, Inoue YY, Miyamoto K, Okamura H, Nagase S, Noda T, Aiba T, Yasuda S, Kusano K. Impact of electrocardiogram screening during drug challenge test for the prediction of T-wave oversensing by a subcutaneous implantable cardioverter defibrillator in patients with Brugada syndrome. **Heart Vessels.** 2017;32(10):1277-1283.
23. Miyake A, Sakaguchi H, Miyazaki A, Miyoshi T, Aiba T, Shiraishi I. Successful prenatal management of ventricular tachycardia and second-degree atrioventricular block in fetal long QT syndrome. **HeartRhythm Case Rep.** 2016;3(1):53-57.
24. Kimura Y, Aiba T*, Sasano T, Furukawa T, Kusano K, Shimizu W. IRX3 variant as a modifier of Brugada syndrome with frequent ventricular fibrillation. **HeartRhythm Case Rep.** 2016;2(6):465-468.
*corresponding author.
25. Kimura Y, Noda T, Matsuyama TA, 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.** 2017;241:288-294.
26. 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;135(23):2255-2270.
27. 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, Shiraishi 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.** 2017;103(17):1374-1379.
*corresponding author
28. Miyazaki A, Sakaguchi H, Matsumura Y, Hayama Y, Noritake K, Negishi J, Tsuda E, Miyamoto Y, Aiba T, Shimizu W, Kusano K, Shiraishi I, Ohuchi H. Mid-Term Follow-up of School-Aged Children With Borderline Long QT Interval. **Circ J.** 2017;81(5):726-732.
29. 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.** 2017;14(5):717-724.

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 |