

遺伝性不整脈の網羅的遺伝子解析および不整脈重症度評価に関する研究

研究分担者 林 研至
所 属 金沢大学附属病院検査部

研究要旨

【目的】 遺伝性不整脈である Type 1 Brugada 症候群および早期発症心臓刺激伝導障害（CCSD）の網羅的遺伝子解析を行い、病的遺伝子変異を決定すること。病的遺伝子変異を決定する際に機能解析の有用性を明らかにすること。【対象と方法】 Type 1 Brugada 症候群 25 症例および CCSD 23 症例に対し網羅的遺伝子解析を行い、ACMG ガイドラインに基づいて見いだされた稀なバリエーションの病原性を評価した。【結果】 Type 1 Brugada 症候群 25 症例中 3 症例において、CCSD 23 症例中 11 症例において病的遺伝子変異を見出した。17 バリエーションの機能解析を行い、14 バリエーションに機能異常を認めた。【結論】 Type 1 Brugada 症候群の 12% および CCSD 症例の 48% に病的遺伝子変異を見出した。機能解析は重要性不明に分類されたバリエーションの病的意義を明らかにするため有用と考えられた。

A. 研究目的

本研究では Type 1 Brugada 症候群および早期発症心臓刺激伝導障害（CCSD）症例に対して網羅的解析を行い、機能解析を用いてその病原性を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

Type 1 Brugada 症候群 25 症例および CCSD 23 症例に対し網羅的遺伝子解析を行い、ACMG ガイドラインに基づいて見いだされた稀なバリエーションの病原性を評価した。イオンチャネル遺伝子バリエーションについてはパッチクランプ法を、非イオンチャネル遺伝子バリエーションについてはゼブラフィッシュを用いた機能解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究ではヒト遺伝子の解析を行うため、個人の人権の擁護に十分留意した。遺伝子解析については、金沢大学医薬保健研究域 ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会に課題名「遺伝性心血管疾患における集中的な遺伝子解析及び原因究明に関する研究」を申請し、H29 年 4 月 18 日に承認を得た。遺伝子解析に際しては、

インフォームドコンセントが得られた患者から末梢血を採取し、リンパ球ゲノム DNA を抽出するが、ゲノム DNA および得られる患者情報についてはすべて患者識別番号でコード化し、研究実施に関与しない個人識別管理者（医師）が厳重に管理し、遺伝子解析研究者にどの患者の試料であるかがわからない状態で研究を進めた。解析の終了した検体のデータについては、パスワード管理され、インターネットに接続されていないパーソナルコンピュータで管理して、情報が漏洩しないよう個人情報の保護に細心の注意をはらって行った。ゼブラフィッシュの飼育、管理、心臓の採取、パッチクランプ法を用いた実験は、動物実験の各種法令に基づいた「金沢大学動物実験規程」および「動物実験等に関わる飼養保管施設及び実験室の設置と運用に関する細則」に沿って手続きを行った。遺伝子組み換え生物に関わる実験についても同様に各種法令に基づいた「金沢大学遺伝子組換え実験安全管理規程」に添って手続きを行った。ともに医学倫理審査委員会に既に承認済みである。

C. 研究結果

網羅的遺伝子解析の結果、Type 1 Brugada 症候群 25 症例のうち、2 症例に *SCN5A* 変異、1 症例に *GPD1-L* 変異、1 症例に *SCN1B* 変異、1 症例に *TRPM4* 変異を見出した。パッチクランプを用いた機能解析の結果、*SCN5A* 2 変異および *GPD1-L* 変異は機能喪失変異であった。一方、*SCN1B* 変異は機能異常を認めなかった。Type 1 Brugada 症候群 25 症例中 3 症例に病的遺伝子変異を認めた。

CCSD23 症例において、26 個の不整脈・心筋症関連遺伝子の極めて稀なバリエーションを見出した。このうち、6 個のイオンチャネル遺伝子バリエーション (*KCNH2* バリエーション 1 個、*SCN5A* バリエーション 1 個、*SCN10A* バリエーション 4 個) において発現電流の異常を認め、5 つの非イオンチャネル遺伝子バリエーション (*LMNA* バリエーション 3 個、*EMD* バリエーション 2 個) において、変異を導入したゼブラフィッシュ胚の心拍数低下、心筋伝導速度の低下を認めた。CCSD23 症例中 11 人において病的遺伝子変異を見出した。

D. 考察

Type 1 Brugada 症候群で見いだされた 4 バリエーションおよび CCSD で見いだされた 13 バリエーションの機能解析を行いそれぞれ 3 バリエーションおよび 11 バリエーションに機能異常を認めた。機能異常を認めた 14 バリエーションのうち 10 バリエーションはもともと VUS と判定されており、機能解析結果を考慮した結果、最終的に likely pathogenic と判定された。

E. 結論

Type I Brugada 症候群の 12% および CCSD 症例の 48% に病的遺伝子変異を見出した。VUS の病的意義を明らかにするため、機能解析は有用と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

[英文]

1. [Hayashi K](#), Teramoto R, Nomura A, Asano Y, Beerens M, Kurata Y, Kobayashi I, Fujino N, Furusho H, Sakata K, Onoue K, Chiang DY, Kiviniemi TO, Buys E, Sips P, Burch ML, Zhao Y, Kelly AE, Namura M, Kita Y, Tsuchiya T, Kaku B, Oe K, Takeda Y, Konno T, Inoue M, Fujita T, Kato T, Funada A, Tada H, Hodatsu A, Nakanishi C, Sakamoto Y, Tsuda T, Nagata Y, Tanaka Y, Okada H, Usuda K, Cui S, Saito Y, MacRae CA, Takashima S, Yamagishi M, Kawashiri MA, Takamura M. Impact of functional studies on exome sequence variant interpretation in early-onset cardiac conduction system diseases. *Cardiovasc Res.* 2020. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

[国際学会]

1. [Hayashi K](#), Nomura A, Teramoto R, Asano Y, Beerens M, Kurata Y, Fujino N, Furusho H, Sakata K, Buys E, Sips P, Burch ML, Kelly AE, Kato T, Funada A, Tada H, Nakanishi C, Tsuda T, Okada H, MacRae2 CA, Takashima S, Yamagishi M, Kawashiri M, and Takamura M. Impact of functional studies on exome sequence variant interpretation in early-onset cardiac conduction system diseases. AHA Scientific sessions, Chicago, 2019

[国内学会]

1. [Hayashi K](#), Nomura A, Teramoto R, Asano Y, Fujino N, Furusho H, Sakata K, Kato T, Kato T, Takashima S, Yamagishi M, Kawashiri M, and Takamura M. Impact of functional studies on exome sequence variant interpretation in early-onset cardiac conduction system diseases. The 64th Annual Meeting of the Japan Society of Human Genetics, November 7-9, 2019 (Nagasaki)

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