

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

遺伝性不整脈疾患の遺伝子基盤に基づいた
病態解明と診断・治療法の開発に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 清水 渉
（国立循環器病研究センター）

平成 25（2013）年 3 月

・総括研究報告

遺伝性不整脈疾患の遺伝子基盤に基づいた病態解明と診断・治療法の開発に関する研究

国立循環器病研究センター 心臓血管内科 部長

清水 渉 1

・分担研究報告

1 . 日本における QT 延長症候群の原因遺伝子における創始者変異
海外データとの比較

滋賀医科大学 内科学講座（循環器・呼吸器） 教授

堀江 稔 9

2 . 遺伝性致死性不整脈の臨床的研究

筑波大学医学医療系 循環器内科 教授

青沼 和隆 22

3 . 進行性心臓伝導障害の新規原因遺伝子に関する研究

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子生理学 教授

蒔田 直昌 28

4 . 遺伝性不整脈の臨床診断、基礎及び臨床研究

東京女子医科大学 循環器内科 主任教授

萩原 誠久 32

5 . 学校心臓検診で診断された QT 延長症候群患児の遺伝学的背景に関する研究

国立病院機構鹿児島医療センター 小児科 部長

吉永 正夫 35

6 . 胎児・新生児期・乳児期に診断される先天性 QT 延長症候群の遺伝子型と臨床的特徴に関する研究

筑波大学医学医療系 教授・

筑波大学附属病院茨城県小児地域医療教育ステーション 部長

堀米 仁志 42

- 7 . カテコラミン誘発多形性心室頻拍 - 若年型と成人型の遺伝学的背景について -
日本大学医学部小児科学系 小児科学分野 准教授
住友 直方 4 8
- 8 . 致死性不整脈疾患の遺伝学的解析に関する研究
理化学研究所ゲノム医科学研究センター 副センター長
田中 敏博 5 3
- 9 . 遺伝性不整脈の臨床診断、臨床研究
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 先端循環器治療学講座 准教授
森田 宏 5 4
- 1 0 . ヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞に関する長期培養による成熟化の検討
京都大学大学院医学研究科 循環器内科学 助教
牧山 武 5 5
- 1 1 . 早期再分極症候群の臨床像と遺伝的背景に関する研究
新潟大学大学院医歯学総合病院 循環器内科 助教
渡部 裕 5 8
- 1 2 . 分子遺伝学的手法による心房細動発症機構の解明に関する研究
金沢大学大学院医薬保健研究域医学系 循環器内科 助教
林 研至 6 0
- 1 3 . 早期再分極症候群と Brugada 症候群の病態と長期予後に関する研究
国立循環器病研究センター 中央診療部門長 (内科系)
鎌倉 史郎 6 2
- 1 4 . 先天性心疾患の臨床情報データ・ベース化と遺伝子情報の統合による臨床・基礎総合研究
国立循環器病研究センター 小児循環器・周産期部門長
白石 公 6 5

15 . 遺伝性不整脈の遺伝子解析に関する研究 国立循環器病研究センター 予防健診部 部長 宮本 恵宏	66
16 . 遺伝性不整脈の臨床診断、遺伝子解析に関する基礎及び臨床研究 国立循環器病研究センター 心臓血管内科 医長 相庭 武司	68
17 . 疾患特異的 iPS 細胞を用いた先天性 QT 延長症候群の病態解明に関する研究 慶應義塾大学医学部 循環器内科 教授 福田 恵一	70
18 . 遺伝性不整脈のゲノム解析 国立循環器病研究センター 客員部長 関根 章博	72
. 研究成果の刊行に関する一覧表	75
. 研究成果の刊行物・別刷り	91

遺伝性不整脈疾患の遺伝子基盤に基づいた病態解明と診断・治療法の開発に関する研究

研究代表者 清水 渉 国立循環器病研究センター 心臓血管内科 部長

研究要旨

遺伝性不整脈疾患の病因は、心筋の活動電位を形成するイオンチャンネルとこれに関連する細胞膜蛋白、調節蛋白などをコードする遺伝子上の変異による機能障害であり、先天性QT延長症候群(LQTS)、Brugada症候群(特発性心室細動)、進行性心臓伝導障害(PCCD)、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)、QT短縮症候群(SQTS)、早期再分極症候群(ERS)などが含まれる。これらの原因遺伝子上には、多様な遺伝子変異、単一塩基多型(SNP)、コピー数多型(CNV)などが報告されており、原因遺伝子や遺伝子多様性を包括的に解析・データベース化し、これらの遺伝的基盤に基づいた病態解明や診断・治療法を選択、開発することは、テーラーメイド医療化を可能とし、心臓突然死を未然に予防、治療する上で大変重要な課題である。

本研究の第一の目的は、それぞれの遺伝性不整脈疾患の遺伝子診断をさらに継続し、遺伝子型、遺伝子変異、多型などの遺伝情報と臨床情報との関連を詳細に検討し、遺伝子基盤に基づいた患者管理と治療法を開発することである。H24年度は、先天性LQTS患者150例を新規登録しこれまでの症例と合わせて1000例を超える世界的にも最大規模のデータベースとなった。また、各分担研究者により他の遺伝性不整脈疾患でも症例登録を追加し、Brugada症候群患者約500例、PCCD 65家系、CPVT患者72例、ERS患者100例、小児科領域の先天性LQTS患者197例のデータベースとなった。

第二の目的は、同定された変異の機能解析を行い、これを臨床にフィードバックしリスク層別化と個別化治療に応用することである。その一つの方法として、iPS細胞由来心筋細胞を用いた機能解析があるが、H24年度までに先天性LQTS、Brugada症候群など遺伝性不整脈疾患患者108例からiPS細胞由来心筋細胞を作製し、一部その成果を報告した。

第三の目的は、新たな原因遺伝子や遺伝的修飾因子の同定であるが、H24年度は、家族集積性を認めるが変異が同定されていない先天性LQTS、Brugada症候群、PCCD、ERS患者を対象として次世代シーケンサを用いた網羅的全エクソン(Exome)解析を開始し、一部の疾患では新規の原因遺伝子候補が同定され、現在、変異として妥当性を検討中である。

研究分担者

堀江 稔	滋賀医科大学医学部 呼吸循環器内科学講座 教授	堀米仁志	筑波大学医学医療系 小児内科学 教授
青沼和隆	筑波大学医学医療系 循環器内科学 教授	住友直方	日本大学医学部 小児科学系 准教授
蒔田直昌	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 内臓機能生理学 教授	田中敏博	独立行政法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 副センター長
萩原誠久	東京女子医科大学 循環器内科 教授	森田 宏	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 循環器内科 准教授
吉永正夫	国立病院機構鹿児島医療センター 小児科 部長	牧山 武	京都大学大学院医学研究科 循環器内科学 助教

渡部 裕 新潟大学医歯学総合病院
循環器内科 助教
林 研至 金沢大学大学院医薬保健研究域
医学系 臓器機能制御学 助教
鎌倉史郎 国立循環器病研究センター
臨床検査部 部長
白石 公 国立循環器病研究センター
小児循環器部 部長
宮本恵宏 国立循環器病研究センター
予防健診部 部長
相庭武司 国立循環器病研究センター
心臓血管内科 医長
福田恵一 慶應義塾大学
循環器内科 教授
関根章博 国立循環器病研究センター
客員部長

A. 研究目的

本研究の第一の目的は、これまで蓄積された各遺伝性不整脈疾患データベースに加えて、さらに新規患者登録と遺伝子診断を施行し、遺伝子型、遺伝子変異、多型などの遺伝情報と臨床情報との関連を詳細に検討し、遺伝子基盤に基づいた患者管理と治療法を開発することである。本研究班の班員は、H18年以来、先天性QT延長症候群(LQTS)患者の遺伝情報と臨床情報を含む世界的にみても最大規模のデータベースを有し、これまで国内外の多施設共同研究により遺伝子型あるいは遺伝子変異部位別のリスク階層化および特異的治療法の可能性について報告してきた。また Brugada 症候群、進行性心臓伝導障害(PCCD)、早期再分極症候群(ERS)、小児科領域の先天性LQTS患者の遺伝情報を含んだデータベースを蓄積し、その成果を報告してきた。本研究班は、これらのデータベースをオールジャパン体制で共有しさらに発展させていくものとして開始された。

第二の目的は、同定された変異の機能解析を行い、これを臨床にフィードバックしリスク層別化と個別化治療に応用することである。これには、培養細胞を用いて遺伝子変異、多型の電気生理学的機能解析を施行し病態解明を行う方法と、遺伝子組み換え動物を用いて各疾患モデルを作製し、致死性不整脈の発生機序を検討する方法がある。一方、2007年に山中伸弥教授によって発見されたiPS細胞を活用した難治性

疾患研究が世界的に急速な勢いで進んでいる。各遺伝性不整脈疾患患者の皮膚線維芽細胞や血液細胞よりiPS細胞を樹立し、これを心筋細胞に分化誘導し、直接この心筋細胞の機能解析を行うことにより、患者ごとのテーラーメイド治療や病態解明が可能となっており、今後積極的にこれを推進していく。

第三の目的は、新たな原因遺伝子の同定や各疾患の発症に関与する遺伝的修飾因子の同定である。これには、家族集積性を認めるが変異が同定されていない各疾患について、Exome解析などの最新のアプローチ法を導入して解析を行う。

B. 研究方法

・対象疾患

臨床的に診断の確定した、(1)先天性LQTS、(2)Brugada症候群(特発性心室細動)、(3)PCCD、(4)カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)、(5)QT短縮症候群(SQTS)、(6)ERSを対象とした。臨床診断は、清水、堀江、青沼、蒔田、萩原、吉永、堀米、住友、森田、牧山、渡部、林、鎌倉、白石、相庭、福田が担当した。

・研究計画

1. 遺伝子変異、多型の同定

患者から遺伝子検索に関する十分な説明を行い書面でインフォームド・コンセントを得た後に、約10mlの末梢血を採取し遠心分離にかけ、白血球から遺伝子を採取した。これらの遺伝子に対し目的とする部位の遺伝子増幅(PCR)をかけ、コントロールとともにスクリーニングにかけた。スクリーニングにはWAVE解析装置(Transgenomic社)を利用した変性高速液体クロマトグラフィー(DHPLC法)を用いた。さらに異常バンドが認められた場合、遺伝子異常同定法(direct sequence法)を用いて、異常塩基の同定を行いアミノ酸の変化を確認した。家族の協力が得られる場合は家族の遺伝子変異の有無も検討し、臨床病態との関係を検討した。

2. 電気生理学的機能解析、疾患モデル、iPS細胞由来心筋細胞を用いた致死性不整脈の発生機序解明

遺伝子変異の機能解析には、Xenopus卵母細胞発現系による二電極膜電位固定法(K⁺チャ

ネル)、またはリポフェクタミンを用いた HEK297 あるいは CHO 細胞への発現系による whole-cell パッチクランプ法(K⁺チャンネル、Na⁺チャンネル)を用いて行い、電位依存性活性化、不活性化、脱活性化などを変異型と正常(野生型)の細胞で比較実験を行った。また、薬剤に対する IC50 を正常チャンネルと比較し、薬剤によるチャンネルキネティクスの変化などを検討した。機能解析は、清水、相庭、堀江、蒔田、萩原、牧山、渡部、林が担当した。また、同定された遺伝子基盤を背景に、清水、相庭、堀江、蒔田、牧山、渡部、萩原らの施設ですでに確立している動脈灌流心室筋切片標本や、遺伝子改変マウスを用いた遺伝性不整脈モデルを作成し、光マッピングなどを用いて致死性不整脈の発生機序を詳細に検討した。また、福田との共同研究により、先天性 LQTS、Brugada 症候群などの患者の皮膚線維芽細胞や血液細胞より iPS 細胞を樹立し、これを心筋細胞に分化誘導し、直接この心筋細胞の機能解析を行った。

3. 新たな原因遺伝子と遺伝的修飾因子の同定

家族集積性を認めるが変異が同定されていない各疾患の家系について、次世代シーケンスを用いた網羅的全エクソン(Exome)解析により塩基配列を同定し、(1) 未知の原因遺伝子、ならびに(2) 各疾患の発症に関与する遺伝的修飾因子を探索した。全エクソン・シーケンスでは、1 症例から膨大な数の変異・SNP の存在する遺伝子を同定できる。その中から本症候群の発症に関与する遺伝子を同定するには、同じ不整脈症状を有する一家系の複数症例におけるシーケンスの結果を比較検討した(田中、関根)。

(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。また本研究は、申請者・共同研究者がそれぞれの施設の倫理委員会の承認を得て行った。本研究では、インフォームド・コンセントの得られた患者から末梢血を採取し、ゲノム DNA を抽出する。患者の血液・ゲノム DNA などのサンプルは、氏名、生年月日、住所などの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。提供者と新たにつける符号との対応表は個別識別情報管理者が厳重に管理し、個人が特定できない状態で解析を行った。また、患者に遺伝子異常が確認された場合には、患者の同胞についても遺伝子検索をする必要があることがある。その場合にも十分な説明と同意を得て遺伝子カウンセリングを行った。

本研究に関する以下の研究計画については、国立循環器病研究センター倫理委員会審査にていずれも承認を得ている。

1. 遺伝性不整脈疾患の病因解明のための遺伝子解析と日本国内多施設登録 (H21 年 10 月 2 日承認)
2. 難治性不整脈患者からの iPS 細胞の樹立とそれを用いた疾患解析に関する研究 (H21 年 10 月 2 日承認)
3. 遺伝性不整脈疾患の病因解明のための遺伝子解析と日本国内多施設登録 研究計画変更 (H23 年 5 月 27 日承認)

C. 研究成果

・研究班全体としての研究成果

1. 遺伝子変異、多型の同定と遺伝的基盤に基づいた病態解明や診断・治療法の開発

本研究班は、H18 年以来、厚生労働科学研究費補助金による先天性 LQTS の登録研究(『致死性遺伝性不整脈疾患の遺伝子診断と臨床応用』(H18-ゲノム- 一般 -002): 主任研究者・清水、『先天性 QT 延長症候群の家族内調査による遺伝的多様性の検討と治療指針の決定』(H23-難治- 一般 -088): 主任研究者・堀江)により、先天性 LQTS 患者の遺伝情報と臨床情報を含むデータベースを蓄積し、これまで国内外の多施設共同研究により遺伝子型あるいは遺伝子変異部位別のリスク階層化および特異的治療法の可能性について報告してきた(Shimizu & Horie, Circ Res 2011, Shimizu et al. J Am Coll Cardiol 2009)。また清水は、Brugada 症候群の登録研究(H18-ゲノム- 一般 -002)で、400 例の遺伝情報を含むデータベースを有している。さらに鎌倉、青沼らは Brugada 症候群の調査研究(H22-難治- 一般 -144: 主任研究者・青沼)から、日本人の Brugada 症候群は欧米人とは異なる予後を示すことを報告し

てきた (Kamakura, et al, Circulation arrhythmia electrophysiol 2009)。また、蒔田、鎌倉、堀米、吉永らはこれまで難治性疾患克服研究事業の主任研究者として PCCD、ERS、小児科領域の先天性 LQTS 患者の遺伝情報を含んだデータベースを蓄積し (H22-難治- 一般-145: 主任研究者・蒔田、H23-難治- 一般-114: 主任研究者・鎌倉、H22-難治- 一般-053: 主任研究者・堀米)、その成果を報告してきた (Horigome, et al, Circulation arrhythmia electrophysiol 2010)。本研究班は、これらのデータベースをオールジャパン体制で共有しさらに発展させていくものとして開始された。H24 年度には、さらに先天性 LQTS 患者 150 例の登録を追加し 1000 例を超える先天性 LQTS としては世界的にも最大規模のデータベースとなっている(清水)。Brugada 症候群患者もさらに症例を追加し約 500 例の症例数となった(清水)。また、各分担研究者により他の遺伝性不整脈疾患でも症例登録を追加し、PCCD 65 家系(蒔田)、CPVT 患者 72 例(住友)、ERS 患者 100 例(鎌倉、渡部)、小児科領域の先天性 LQTS 患者 197 例(吉永、堀米、白石)のデータベースとなった。また、国内外の多施設共同研究により遺伝情報と臨床情報との関連を詳細に検討し、その成果を報告した (Shimizu W. Cardiac electrophysiology clinics. 2012, p.29-37, 論文発表 17,18,20-22,28,30,31)。

以上の研究成果により、清水と堀江は、米国、欧州、アジアの 3 大陸の不整脈学会で合同作成する遺伝性不整脈の診断基準・治療のガイドライン・ステートメント作成メンバーに選出されており、その内容は 2013 年に 3 大陸の不整脈学会誌(Heart Rhythm, Europace, J of Arrhythmia)に公開掲載予定となっている。

さらに、清水、青沼、堀江、蒔田、萩原、吉永、堀米、住友、鎌倉は、班長、班員、協力員として、「日本循環器学会の「QT 延長症候群(先天性・二次性)と Brugada 症候群の診療に関するガイドライン 2013 年度改訂版作成班」を作成し、2013 年に公開予定である。

2. iPS 細胞由来心筋細胞を用いた致死性不整脈の病態解明と新しい治療法の開発

本研究の第二の目的は、同定された変異の機能解析を行い、これを臨床にフィードバックしリスク層別化と個別化治療に応用することで

ある。その一つの方法として、iPS 細胞を活用した難治性疾患研究が世界的に急速な勢いで進んでいる。本研究班は福田との共同研究により、H24 年度までに先天性 LQTS、Brugada 症候群など遺伝性不整脈疾患患者 108 例から iPS 細胞由来心筋細胞を作製し、一部その成果を報告した(論文発表 23)。

また、本難治性疾患研究班は、文部科学省の再生医療実現化プロジェクト「疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究」の共同研究拠点課題の一つである『iPS 細胞を用いた遺伝性心筋疾患の病態解明および治療法開発』(代表研究者・小室一成) の協力研究機関に H24 年度指定された。

3. 新たな原因遺伝子と遺伝的修飾因子の同定

第三の目的である新たな原因遺伝子や各疾患の発症に関与する遺伝的修飾因子の同定を目的とし、H24 年度、田中、関根、蒔田との共同研究により、家族集積性を認めるが変異が同定されていない先天性 LQTS、Brugada 症候群、PCCD、ERS 患者で Exome 解析を開始し、一部の疾患では新規の原因遺伝子候補が同定され、現在、変異として妥当性を検討中である。

D. 考察

1991 年、第 11 番目染色体に連鎖する先天性 LQTS の大家系を報告されて以後 20 年に渡る遺伝子診断の急速な進歩により、先天性 LQTS に代表される遺伝性不整脈の多くが、心筋の活動電位を形成するイオンチャネルとこれに関連する細胞膜蛋白、調節蛋白などをコードする遺伝子上の変異によって発症することが判明した。つまりこれらの遺伝子変異によりイオンチャネル機能障害をきたし、特徴的な心電図変化やこれに基づく致死性不整脈を発症して心臓突然死の原因となる。特に先天性 LQTS では、臨床診断がついた患者の半数以上で原因遺伝子上に変異が同定され、遺伝子型と臨床症状(表現型)との関連(genotype-phenotype correlation)の詳細な検討により、遺伝子型別、あるいは遺伝子変異別の臨床症状や特異的治療、すなわちテーラーメイド治療がすでに可能な時代に突入している。

本研究の第一の目的である各遺伝性不整脈疾患の新規患者登録と遺伝子診断、および遺伝

子基盤に基づいた患者管理と治療法を開発については、先天性 LQTS、Brugada 症候群、PCCD、CPVT、ERS、小児科領域の先天性 LQTS と順調に新規患者登録を行った。国内外の多施設共同研究により遺伝情報と臨床情報との関連の検討も、前述の研究成果に上げたように、その成果を報告した。H25 年度も、症例登録をさらに追加し、遺伝的基盤に基づいた病態解明や診断・治療法の開発を進めていく。

第二の目的である致死性不整脈の病態解明と新しい治療法の開発については、世界的に急速な勢いで進んでいる iPS 細胞を活用した研究を特に重点的に行い、H24 年度までに先天性 LQTS、Brugada 症候群など遺伝性不整脈疾患患者 108 例から iPS 細胞由来心筋細胞を作製し、その成果を報告した。また本年度、本難治性疾患研究班は、文部科学省の再生医療実現化プロジェクト「疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究」の共同研究拠点課題の一つである『iPS 細胞を用いた遺伝性心筋疾患の病態解明および治療法開発』（代表研究者・小室一成）の協力研究機関に指定された。今後、この文部科学省の再生医療実現化プロジェクトとの連携をとりながら、中・長期的計画のもとに遺伝性不整脈疾患の iPS 細胞研究を進めていく。

第三の目的である新たな原因遺伝子や各疾患の発症に關与する遺伝的修飾因子の同定についても、近年急速な勢いで進歩している次世代シーケンサを用いた Exome 解析を開始し、家族集積性を認めるが変異が同定されていない先天性 LQTS、Brugada 症候群、PCCD、ERS 患者で Exome 解析を開始し、一部の疾患では新規の原因遺伝子候補が同定し、現在、変異として妥当性を検討中である。今後も、Exome 解析あるいは全ゲノム解析に特に重点を置き研究を進めていく。

E . 結論

各種遺伝性不整脈疾患の遺伝子診断を施行し、遺伝情報と臨床情報を含むデータベースを蓄積した。先天性 LQTS 患者では 1000 例を超える世界的にも最大規模のデータベースとなった。その他の遺伝性不整脈疾患でも症例登録を追加した。

先天性 LQTS、Brugada 症候群など遺伝性不整脈疾患患者から iPS 細胞由来心筋細胞を作製し、一部その成果を報告した。

家族集積性を認めるが変異が同定されていない先天性 LQTS、Brugada 症候群、PCCD、ERS 患者を対象として次世代シーケンサを用いた網羅的全エクソン(Exome)解析を開始し、一部の疾患では新規の原因遺伝子候補が同定された。

F . 健康危険情報 なし

G . 論文発表

1. **Shimizu W**, Ackerman MJ: Chapter 50, Provocative (drug) testing in inherited arrhythmias. in Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK (eds): Electrical Diseases of the Heart (Second edition): Genetics, Mechanisms, Treatment, Prevention, Part IV. Clinical rhythmology: Diagnostic methods and tools, p. -, Springer, Oxford, UK, 2013 (in press)
2. **Shimizu W**: Chapter 40, Acquired form of Brugada syndrome. in Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK (eds): Electrical Diseases of the Heart (Second edition): Genetics, Mechanisms, Treatment, Prevention, Part III. Secondary Hereditary and Acquired Cardiac Channelopathies, and Sudden Cardiac Death, p. -, Springer, UK, Oxford, 2013 (in press)
3. **清水 渉**: 23. 突然死の家族歴. (分担), 『あなたも名医! ああ~どうする?! この不整脈 - ずばっと解決しちゃいます』 (山下武志編集): p. 113-117, 日本医事新報社, 2012
4. **清水 渉**: 13章 循環器疾患 12. 不整脈 5) 心臓突然死 (先天性QT延長症候群、Brugada症候群、カテコールアミン誘発性多形性心室頻拍を含む). (分担), 内科学 (門脇 孝, 永井良三編集): p. 663-665, 西村書店, 2012
5. **清水 渉**: 巻頭トピックス7. 早期再分極とJ波症候群. (分担), 『循環器疾患 最新の治療 2012-2013』 (堀 正二, 永井良三編集): p.32-37, 医学書院, 2012
6. **清水 渉**: 第5章 不整脈. QT延長症候群・QT

- 短縮症候群.(分担) 『今日の循環器疾患治療指針』〔第3版〕(井上 博, 許 俊鋭, 檜垣寛男, 代田浩之, 筒井裕之編集): p.228-232, 2012
7. **清水 渉**: 第1章 心筋の電気生理. 14) 心室の活動電位の不均一性.(分担), 『不整脈学』(井上 博, 村川祐二編集): p. 52-54, 南江堂, 2012
 8. **清水 渉**: 第13章 特発性心室頻拍と遺伝性の致死性心室頻拍. 5) 臨床像から見た先天性QT延長症候群.(分担), 『不整脈学』(井上 博, 村川祐二編集): p. 496-499, 南江堂, 2012
 9. **清水 渉**: VI-3. QT延長症候群・QT短縮症候群.(分担)『不整脈学概論 専門医になるためのエッセンシャルブック』(池田隆徳, 山下武志編集): p.376-383, 2012
 10. **清水 渉**: 不整脈.(分担), 『南山堂医学大辞典 2011』: p. - , 南山堂, 2012 (印刷中)
 11. **清水 渉**: 刺激伝導障害(ブロック).(分担), 『南山堂医学大辞典 2011』: p. - , 南山堂, 2012 (印刷中)
 12. **清水 渉**: 5. 循環器系の疾患. 5.4 循環器疾患と遺伝子異常. 3) 遺伝性不整脈.(分担), 朝倉 『内科学』(矢崎義雄, 永井良三他編集): p. - , 朝倉書店, 2012 (印刷中)
 13. Kawata H, Noda T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, Isobe M, Kamakura S, **Shimizu W**: Effect of sodium-channel blockade on early repolarization in inferior/lateral leads in patients with idiopathic ventricular fibrillation and Brugada syndrome. *Heart Rhythm* 9: 77-83, 2012
 14. Makimoto H, Kamakura S, Aihara N, Noda T, Nakajima I, Yokoyama T, Doi A, Kawata H, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, **Shimizu W**: Clinical impact of the number of extrastimuli in programmed electrical stimulation in patients with Brugada type 1 electrocardiogram. *Heart Rhythm* 9: 242-248, 2012
 15. Miyoshi T, Maeno Y, Sago H, Inamura N, Yasukohchi S, Kawataki M, Horigome H, Yoda H, Taketazu M, Shozu M, Nii M, Kato H, Hayashi S, Hagiwara A, Omoto A, **Shimizu W**, Shiraiishi I, Sakaguchi H, Nishimura K, Ueda K, Katsuragi S, Ikeda T: Evaluation of transplacental treatment for fetal congenital bradyarrhythmia: A nationwide survey in Japan. *Circ J* 76: 469-476, 2012
 16. Nishimoto O, Matsuda M, Nakamoto K, Nishiyama H, Kuraoka K, Taniyama K, Tamura R, **Shimizu W**, Kawamoto T: Peripartum cardiomyopathy presenting with syncope due to Torsades de pointes: a case of long QT syndrome with a novel KCNH2 mutation. *Intern Med* 51: 461-464, 2012
 17. Makita N, Seki A, Sumitomo N, Chkourko H, Fukuhara S, Watanabe H, **Shimizu W**, Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA, Probst V, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ, Delmar M: A Connexin 40 mutation associated with a malignant variant of progressive familial heart block type-1. *Circ Arrhythmia and Electrophysiol* 5: 163-172, 2012
 18. Costa J, Lopes CM, Barsheshet A, Moss AJ, Migdalovich D, Ouellet G, McNitt S, Polonsky S, Robinson JL, Zareba W, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Platonov PG, **Shimizu W**, Towbin JA, Vincent GM, Wilde AA, Goldenberg I: Combined assessment of gender and mutation-specific information for risk stratification in type 1 long QT syndrome. *Heart Rhythm* 9: 892-898, 2012
 19. Baranchuk A, Nguyen T, Ryu MH, Femenía F, Zareba W, Wilde AAM, **Shimizu W**, Brugada P, Pérez-Riera AR: Brugada phenocopy: new terminology and proposed classification. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 17:299-314, 2012
 20. Barsheshet A, Goldenberg I, O-Uchi J, Moss AJ, Christian Jons C, **Shimizu W**, Wilde AA, McNitt S, Peterson DR, Zareba W, Robinson JL, Ackerman MJ, Cypress M, Gray DA, Hofman N, Kanters JK, Kaufman ES, Platonov PG, Qi M, Towbin JA, Vincent GM, Lopes CM: Mutations in cytoplasmic loops of the KCNQ1 channel and the risk of life-threatening events. Implications for mutation-specific response to beta-blocker therapy in type-1 long QT syndrome. *Circulation* 125: 1988-1996, 2012
 21. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A,

- Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, **Shimizu W**, Makita N: Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *International J Cardiol* 159: 238-240, 2012
22. Takigawa M, Kawamura M, Noda T, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Kamakura S, Sakaguchi T, Mizusawa Y, Itoh H, Horie M, **Shimizu W**: Seasonal and circadian distributions of cardiac events in genotyped patients with congenital long QT syndrome. *Circ J* 76: 2112-2118, 2012
 23. Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsuhashi T, Ohno Y, Tohyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, **Shimizu W**, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K: Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovasc Res* 95: 419-29, 2012
 24. **Shimizu W**: Clinical features of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* : - , 2013 (in press)
 25. Nakashima K, Kusakawa I, Yamamoto T, Hirabayashi S, Hosoya R, **Shimizu W**, Sumitomo N. A left ventricular noncompaction in a patient with long QT syndrome caused by a KCNQ1 mutation: a case report. *Heart Vessels* 28: 126-129, 2013
 26. Makimoto H, Satomi K, Wada M, **Shimizu W**: Double tachycardia after slow pathway ablation for atrioventricular nodal tachycardia: what is the mechanism? *J Cardiovasc Electrophysiol.* 24: 233-236, 2013
 27. Iguchi K, Noda T, Kamakura S, **Shimizu W**: Beneficial effects of cilostazol in a patient with recurrent ventricular fibrillation associated with early repolarization syndrome. *Heart Rhythm* : - , 2013 (in press)
 28. Watanabe H, Ohkubo K, Watanabe I, Matsuyama TA, Ishibashi-Ueda H, Yagihara N, **Shimizu W**, Horie M, Minamino T, Makita N: SCN5A mutation associated with ventricular fibrillation, early repolarization, and concealed myocardial abnormalities. *Int J Cardiol* : - , 2013 (in press)
 29. Miyoshi T, Kamiya CA, Katsuragi S, Ueda H, Kobayashi Y, Horiuchi C, Yamanaka K, Neki R, Yoshimatsu J, Ikeda T, Yamada Y, Okamura H, Noda T, **Shimizu W**: Safety and efficacy of implantable cardioverterdefibrillator during pregnancy and after delivery. *Circ J* : - , 2013 (in press)
 30. Mathias A, Moss AJ, Lopes CM, Barsheshet A, McNitt S, Zareba W, Robinson JL, Locati EH, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Platonov PG, Qi M, **Shimizu W**, Towbin JA, Michael Vincent G, Wilde AA, Zhang L, Goldenberg I: Prognostic implications of mutation specific QTc standard deviation in congenital long QT syndrome. *Heart Rhythm* : - , 2013 (in press)
 31. Villafañe J, Atallah J, Gollob MH, Maury P, Wolpert C, Gebauer R, Watanabe H, Horie M, Anttonen O, Kannankeril P, Faulkner B, Bleiz J, Makiyama T, **Shimizu W**, Hamilton R, Young ML: Long-term follow-up of a pediatric cohort with short QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 61: 1183-1191, 2013
 32. Takigawa M, Kiso K, Noda T, Kurita T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Nanasato M, Hirayama H, Kamakura S, **Shimizu W**, Ishida Y. Usefulness of scintigraphy to predict electrical storms in severe idiopathic dilated cardiomyopathy. *Ann Nucl Med* : - , 2013 (in press)

学会発表

1. **Shimizu W**: Relation to Brugada Syndrome. Joint symposium 2, J wave syndrome: From cell to bedside. Heart Rhythm Society 2012. Boston, USA. 2012.5. 10.
2. **Shimizu W**: ECG Diagnosis and Risk Stratification of Brugada Syndrome. THU-2012DE-3-2: Inherited Arrhythmias. 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session 2012, Taipei, 2012. 10. 4.
3. **Shimizu W**: Risk Stratification and ICD Implant

in Patients with Long QT Syndrome. Session II:
Dilemmas in prevention of Sudden Death. XV
International Symposium on Progress in Clinical
Pacing. EURO-JAPAN ARRHYTHMIA FORUM
(EJAF), Rome, 2012. 12. 6.

H .知的財産権の出願・登録情報(予定を含む)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
特になし。

3. その他

研究協力者

里見和浩、野田 崇、岡村英夫、山田優子、宮
本康二、中島育太郎、和田 暢、井口公平、岡
松秀治、小林 貴、船迫宴福、大塚陽介、川上
大志

(国立循環器病研究センター 心臓血管内科)

日本における QT 延長症候群の原因遺伝子における創始者変異 - 海外データとの比較 -

研究分担者 堀江 稔 滋賀医科大学 内科学講座（循環器・呼吸器） 教授

研究要旨：日本の3つの施設に集積された、遺伝子診断例、192例について、LQT1の創始者変異があるかどうかを検討した。A344Asplのヘテロ変異保有者が17名と全体の8.9%を占めた。一方、A344Asplの検討できた海外での頻度は、日本に比べて有意に低く、フランス2.1%($P<0.05$)、ドイツ0%($P<0.01$)、米国およびオランダ2.1%($P<0.0005$)であった。また、高頻度変異としてフランスではR231C、R591H、V254M、ドイツではS225Lが認められた。A344Asplキャリアの重症度は、既報で近傍にあるA341Vとその他のLQT1変異症例の丁度中間に位置するものであった。初発不整脈イベントを指標に、Kaplan-Meier曲線を描くと、3群間で有意差が認められ、A341Vで最も予後不良であった。各国でのLQT1臨床像を見ると、ホットスポットとなる変異が国によって異なるため、人種間の背景の違いを考慮する必要があると考えられた。

A. 研究目的

QT延長症候群は、心電図上QT間隔の延長、意識消失発作、torsade de pointes、心臓突然死を特徴とする遺伝性不整脈である。原因遺伝子は現在のところ13種類報告されており^{1,2}、遅延活性型カリウムチャネル(I_{Ks})をコードしている遺伝子であるKCNQ1の変異を原因とするタイプ(1型QT延長症候群：LQT1)が最も頻度が高い。

現在、LQT1の創始者変異(founder's mutation：FM)にはいくつかの報告がある。KCNQ1の細胞膜貫通領域のS6に位置する変異であるA341Vは、南アフリカのFMであり高い突然死率をもつ重症表現型として知られる³⁻⁵。一方、スウェーデンのY111C⁶や、フィンランドのG589D⁷は低い発症率を示す軽症表現型のFMである。

遺伝性不整脈疾患の遺伝子基盤に基づいた病態解明と診断・治療法の開発に関する研究班の研究の一環として、今回、我々は日本人のLQT1の発端者における遺伝子検査を行い、欧州や、既に報告されている米国およびオランダのデータ⁸と比較した。国や人種内の

FM・ホットスポット変異のデータを基に、より簡便に新規発症者の変異の同定・臨床重症度を特定出来る可能性を検討した。

B. 研究方法

滋賀医科大学・京都大学・国立循環器病センターにおいて遺伝子診断を行ったLQT1患者を対象とした。更にドイツのミュンスター大学およびフランスのピエール・マリー・キュリー(パリ第6)大学の協力を得て、各国のLQT1遺伝子変異頻度のデータを得て比較した。

臨床症候については、40歳までの不整脈関連イベント(意識消失、心停止、突然死)を発症と定義して、発症年齢、15歳以下の発症、致死的事件(心停止、突然死)の有無、Schwartzスコア3.5点以上を評価項目とした^{9,10}。遺伝子変異を重複して持っている患者(compound mutation)については臨床症候の評価から除いた。

(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)に準拠して実施する。また本

研究は、所属施設の倫理委員会の承認を得ている。

倫理委員会での承認状況：

滋賀医科大学：

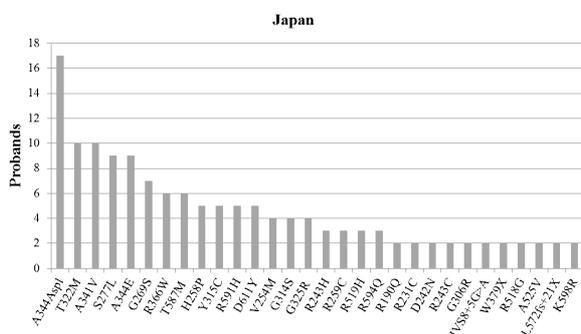
家族性不整脈症候群における遺伝子解析

(H21年9月29日更新) 承認番号: 21-50

C. 研究結果

日本人には合計 192 名の発端者で LQT1 遺伝子変異が認められた(図 1)。KCNQ1 に重複して遺伝子変異を持つ患者が 1 名あった。A344Aspl が最も高頻度であった(17 名、8.9%)。A344Aspl は、exon7 の最終コドンである 344 番目の塩基が G(グアニン)から A(アデニン)に変化していることで、スプライシングエラーを生じる変異であり、FM であると考えられた。

図 1

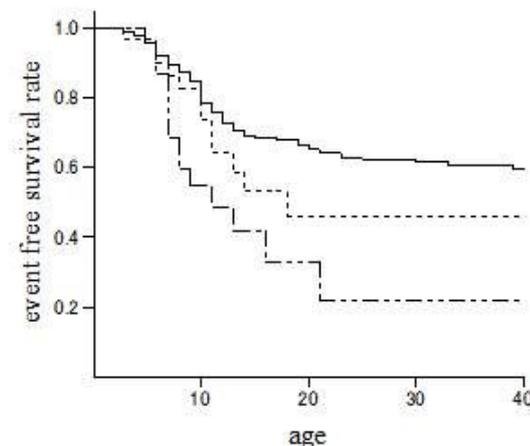


日本における A344Aspl の臨床像を A341V およびその他の変異と比較した(表 1)。発端者およびその家族のキャリアを含んだ評価とした。A344Aspl キャリア 31 人において 13 人(41.9%)で発症を認め、その発症年齢は 9.8 ± 4.1 歳。うち 11 人(35.5%)が 15 歳以下での発症であった。また、発症者 13 人中、11 人において運動誘発性のイベントであった。3 人(9.7%)で致死的事件が発生した。QTc 間隔は A344Aspl において 461 ± 30 ms であり、Schwartz スコアが 3.5 点以上は 17 人(54.8%)であった。

一方、A341V キャリアは、他国での報告⁵と同様に重症であり、A344Aspl キャリアは A341V とその他の中間に位置する重症度であった。QTc は A341V で有意に延長していた。初発不整脈イ

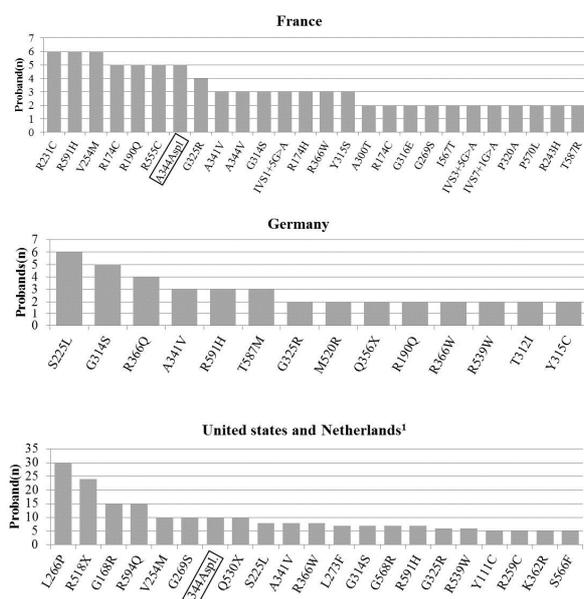
イベントについての Kaplan-Meier 曲線を描くと、3 群間で有意差が認められ、A341V で最も予後不良であった。(図 2)

図 2



また、図 1 と 3 に示すように、日本では A344Aspl、S277L、T322M、フランスでは R231C、R591H、V254M、ドイツでは S225L が高頻度変異であったが、A344Aspl については日本で有意に高頻度であった[フランス 2.1%($P < 0.05$)、ドイツ 0%($P < 0.01$)、米国およびオランダ 2.1%($P < 0.0005$)、表 2]

図 3

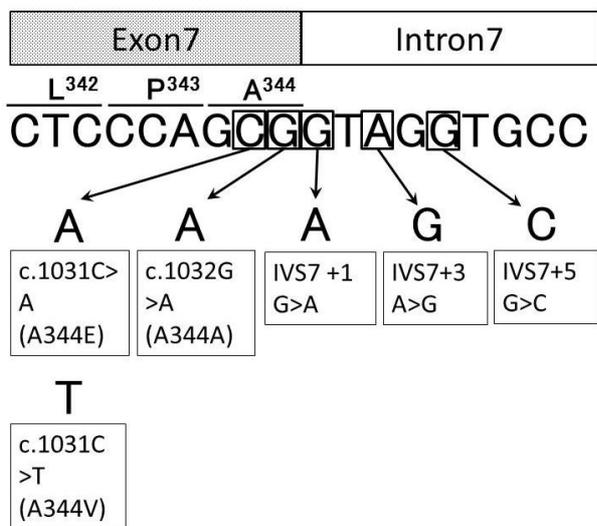


変異の種類と局在を比較すると、日本では他国に比べスプライシングエラーが多くみられ、米国とオランダでは pore region での変異が有意に高頻度であった(表 3)。

D. 考察

今回の研究で、exon 7 と intron 7 間のスプライシングエラーを生じる A344Aspl(c.1032G A) は、日本の LQT1 で最もよくみられる遺伝子変異であり、典型的な表現型を示した(図 4)。更に、A344Aspl はフランス、ドイツや米国およびオランダよりも、日本で有意に高い頻度であった。日本における A344Aspl を、南アフリカの A341V、スウェーデンの Y111C、フィンランドの G589D のような FM として、その遺伝学的背景と臨床像を示した。

図 4



コドン 344 に関連するスプライシング異常だけでなく、他の FM においても、メチル化シトシンが *KCNQ1* におけるホットスポットに関連する理由は不明のままである。A341V は 1022 番目の C が T に置換され、CpG ジヌクレオチドにおける 5 - メチルシトシンの偶発的脱アミノ化と一致している。

Murray ら¹⁴ は codon344 の CpG ジヌクレオチドが、変異のホットスポットである特徴をこう述べている:(1)独立した典型的な遷移の発生、

(2) 同じ遺伝子座に 2 回の塩基転換の発生、および (3) これらの変異が高頻度に発生すること。高等脊椎動物においては、シトシンの大半は 5 メチル化されていて、自発的脱アミノ化は、DNA 修復系によって処理されずチミンへの置換につながり、このように不可逆的な点突然変異へと、つまり CG が TG または CA のいずれかに置換される結果となる。

一方、Y111C は 332 番目の A が G に置換されることが原因で、G589D は 1766 番目の G が A に置換されることにより引き起こされる。これらの 2 つの突然変異は、CpG ジヌクレオチドとは無関係と思われる。Winbo ら⁶ は、Y111C は軽症の変異であることを報告し、軽度の機能変化が遺伝子変異の多様性をもたらす得ると述べており、FM になるための要素は、一つだけではないと考えられる。

LQT1 の臨床的重症度は、変異の種類または局在によって異なる。Moss ら⁹ は、膜貫通部、ミスセンスまたはドミナントネガティブ効果のある変異は、C 末端、または非ミスセンス、haploinsufficiency の変異よりも重篤な表現型に関連することを報告した。また、細胞質ループ (C-loop) の変異は、すべての変異の中で最重症であることが示されている¹⁰。これらの結果は、一施設で臨床表現型を検討するときコホートにおける突然変異の頻度統計は大きな影響を及ぼすことを示唆する。他の施設や人種の異なる国のデータを比較検討する上でも、コホートの多くを占めるホットスポット突然変異の表現型に留意する必要があると考えられた。

KCNQ1 の変異では、膜貫通部内の変異とドミナントネガティブ効果を持つ変異は重症であると従来知られている。より臨床症状が不良である患者にて、臨床像が軽い患者よりも選択的に遺伝子検索が行われるバイアスがあると考えられる。

E. 結論

LQT1 の変異の中で、A344Aspl は日本において欧州や米国とオランダより有意に高頻度であった。各国での LQT1 臨床像を見ると、ホットスポットが国によって異なるため、その人種間の背景を考慮する必要がある。

(表 1-3 については文末に掲載)

関連文献

1. Hedley PL, Jørgensen P, Schlamowitz S, Wangari R, Moolman-Smook J, Brink PA, Kanters JK, Corfield VA, Christiansen M. The genetic basis of long qt and short QT syndromes: A mutation update. *Hum Mutat.* 2009; 30: 1486-1511
2. Chopra N, Knollmann BC. Genetics of sudden cardiac death syndromes. *Curr Opin Cardiol.* 2011;26:196-203
3. Crotti L, Spazzolini C, Schwartz PJ, Shimizu W, Denjoy I, Schulze-Bahr E, Zaklyazminskaya EV, Swan H, Ackerman MJ, Moss AJ, Wilde AA, Horie M, Brink PA, Insolia R, De Ferrari GM, Crimi G. The common long-QT syndrome mutation *knq1/a341v* causes unusually severe clinical manifestations in patients with different ethnic backgrounds: Toward a mutation-specific risk stratification. *Circulation.* 2007;116:2366-2375
4. Brink PA, Schwartz PJ. Of founder populations, long QT syndrome, and destiny. *Heart Rhythm.* 2009; 6: S25-33
5. Brink PA, Crotti L, Corfield V, Goosen A, Durrheim G, Hedley P, Heradien M, Geldenhuys G, Vanoli E, Bacchini S, Spazzolini C, Lundquist AL, Roden DM, George AL, Schwartz PJ. Phenotypic variability and unusual clinical severity of congenital long-qt syndrome in a founder population. *Circulation.* 2005;112:2602-2610
6. Winbo A, Diamant UB, Rydberg A, Persson J, Jensen SM, Stattin EL. Origin of the swedish long QT syndrome *y111c/knq1* founder mutation. *Heart Rhythm.* 2011;8:541-547
7. Marjamaa A, Salomaa V, Newton-Cheh C, Porthan

- K, Reunanen A, Karanko H, Jula A, Lahermo P, Väänänen H, Toivonen L, Swan H, Viitasalo M, Nieminen MS, Peltonen L, Oikarinen L, Palotie A, Kontula K. High prevalence of four long QT syndrome founder mutations in the finnish population. *Ann Med.* 2009;41:234-240
8. Kapplinger JD, Tester DJ, Salisbury BA, Carr JL, Harris-Kerr C, Pollevick GD, Wilde AA, Ackerman MJ. Spectrum and prevalence of mutations from the first 2,500 consecutive unrelated patients referred for the familion long QT syndrome genetic test. *Heart Rhythm.* 2009;6:1297-1303
9. Moss AJ, Shimizu W, Wilde AA, Towbin JA, Zareba W, Robinson JL, Qi M, Vincent GM, Ackerman MJ, Kaufman ES, Hofman N, Seth R, Kamakura S, Miyamoto Y, Goldenberg I, Andrews ML, McNitt S. Clinical aspects of type-1 long-QT syndrome by location, coding type, and biophysical function of mutations involving the *knq1* gene. *Circulation.* 2007;115:2481-2489
10. Barsheshet A, Goldenberg I, O-Uchi J, Moss AJ, Jons C, Shimizu W, Wilde AA, McNitt S, Peterson DR, Zareba W, Robinson JL, Ackerman MJ, Cypress M, Gray DA, Hofman N, Kanters JK, Kaufman ES, Platonov PG, Qi M, Towbin JA, Vincent GM, Lopes CM. Mutations in cytoplasmic loops of the *knq1* channel and the risk of life-threatening events: Implications for mutation-specific response to β -blocker therapy in type 1 long-QT syndrome. *Circulation.* 2012;125:1988-1996
11. Itoh H, Shimizu W, Hayashi K, Yamagata K, Sakaguchi T, Ohno S, Makiyama T, Akao M, Ai T, Noda T, Miyazaki A, Miyamoto Y, Yamagishi M, Kamakura S, Horie M. Long QT syndrome with compound mutations is associated with a more severe phenotype: A Japanese multicenter study. *Heart Rhythm.* 2010; 7: 1411-1418
12. Westenskow P, Splawski I, Timothy KW, Keating MT, Sanguinetti MC. Compound mutations: A common cause of severe long-QT syndrome. *Circulation.* 2004;109:1834-1841

13. Mullally J, Goldenberg I, Moss AJ, Lopes CM, Ackerman MJ, Zareba W, McNitt S, Robinson JL, Benhorin J, Kaufman ES, Towbin JA, Barsheshet A. Risk of life-threatening cardiac events among patients with long QT syndrome and multiple mutations. *Heart Rhythm*. (in press)
14. Murray A, Donger C, Fenske C, Spillman I, Richard P, Dong YB, Neyroud N, Chevalier P, Denjoy I, Carter N, Syrris P, Afzal AR, Patton MA, Guicheney P, Jeffery S. Splicing mutations in *knq1*: A mutation hot spot at codon 344 that produces in frame transcripts. *Circulation*. 1999;100:1077-1084

F. 健康危険情報
なし

G. 論文発表

1. Villafane J, Atallah J, Gollob MH, Maury P, Wolpert C, Gebauer R, Watanabe H, Horie M, Anttonen O, Kannankeril P, Faulkner B, Bleiz J, Makiyama T, Hamilton R, Young ML. Long Term Follow-up of a Pediatric Cohort with Short QT Syndrome. *Journal of American College of Cardiology* (in press)
2. Wu J, Ding WG, Zang WJ, Matsuura H, Horie M. Irbesartan-mediated AT₁ receptor blockade attenuates hyposmotic-induced enhancement of IKs current and prevents shortening of action potential duration in atrial myocytes. *the Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. (in press)
3. Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshisige M, Hayashida Y, Miki D, Hayes C. N, Suzuki H, Tokuyama T, Oda N, Suenari K, Uchimura-Makita Y, Kajihara K, Sairaku A, Motoda C, Fujiwara M, Watanabe Y, Yoshida Y, Ohkubo K, Watanabe I, Nogami A, Hasegawa K, Watanabe H, Endo N, Aiba T, Shimizu W, Ono S, Horie M, Arihiro K, Tashiro S, Makita N, Kihara Y. A nonsynonymous polymorphism in Semaphorin 3A as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation. *PLOS Genetics* (in press)
4. Wang Q, Ohno S, Kato K, Fukuyama M, Makiyama T, Kimura H, Naiki N, Kawamura M, Hayashi H, Horie M. Genetic Screening of KCNJ8 in Japanese Patients with J-wave Syndromes or Idiopathic Ventricular Fibrillation. *Journal of Arrhythmia* (in press)
5. Ohno S, Nagaok I, Fukuyama M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Shimizu A, Horie M. Age-dependent clinical and genetic characteristics in Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Circulation Journal* (in press)
6. Watanabe H, Ohkubo K, Watanabe I, Matsuyama M, Ishibashi-Ueda H, Yagihara N, Shimizu W, Horie M, Minamino T, Makita N. SCN5A mutation associated with ventricular fibrillation, early repolarization, and concealed myocardial abnormalities. *International Journal of Cardiology* (in press)
7. Lin L, Horigome H, Nishigami N, Ohno S, Horie M, Sumazaki R. Drug-induced QT-interval prolongation and recurrent torsade de pointes in a child with heterotaxy syndrome and KCNE1 D85N polymorphism. *Journal of Electrocardiology* 45(6):770-3, 2012.
8. Miyamoto A, Hayashi H, Yoshino T, Kawaguchi T, Taniguchi A, Ito H, Sugimoto Y, Ito M, Makiyama T, Xue JQ, Murakami Y, Horie M. Clinical and electrocardiographic characteristics of patients with short QT interval in a large hospital-based population. *Heart Rhythm* 9(1): 66-74, 2012.
9. Hattori T, Makiyama T, Akao M, Ehara E, Ohno S, Iguchi M, Nishio Y, Sasaki K, Itoh H, Yokode M, Kita T, Horie M, Kimura T. A novel gain-of-function KCNJ2 mutation associated with short QT syndrome impairs inward

- rectification of Kir2.1 currents. *Cardiovasc Res.* 93(4): 666-673, 2012.
10. Makita N, Seki A, Sumitomo N, Fukuhara S, Watanabe H, Shimizu W, Bezzina CR., Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA.M, Probst V, Marec HL, Delmar M, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ. A. Connexin 40 mutation associated with a malignant variant of familial progressive heart block type-1. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* 5: 163-172, 2012.
 11. Wu J, Ding WG, Matsuura H, Horie M. Regulatory mechanisms underlying the modulation of GIRK1/GIRK4 heteromeric channels by P2Y receptors. *Pflugers Arch.* 463(4): 625-33, 2012.
 12. Aizawa Y, Sato A, Watanabe H, Chinushi M, Furushima H, Horie M, Kaneko Y, Imaizumi T, Okubo K, Watanabe I, Shinozaki T, Aizawa Y, Fukuda, Joo K, Haissaguerre M. Dynamicity of the J wave in idiopathic ventricular fibrillation with a special reference to pause-dependent augmentation of the J wave. *Journal of American College of Cardiology* 59(22): 1948-1953, 2012.
 13. Okayasu H, Ozeki Y, Fujii K, Takano Y, Saeki Y, Hori H, Horie M, Higuchi T, Kunugi H, Shimoda K. Pharmacotherapeutic determinants for QTc interval prolongation in Japanese patients with mood disorder. *Pharmacopsychiatry* 45(7):279-83, 2012.
 14. Kinoshita T, Asai T, Suzuki T, Matsubayashi K, Horie M. Time course and prognostic implications of QT interval in patients with coronary artery disease undergoing coronary bypass surgery. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 23(6): 645-9, 2012.
 15. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Response to Letter Regarding Article, "Electrocardiographic Characteristics and SCN5A Mutations in Idiopathic Ventricular Fibrillation Associated With Early Repolarization". *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 5(2):e60-1, 2012.
 16. Kimura H, Zhou J, Kawamura M, Itoh H, Mizusawa Y, Ding WG, Wu J, Ohno S, Makiyama T, Miyamoto A, Naiki N, Wang Q, Xie Y, Suzuki T, Tateno S, Nakamura Y, Zang WJ, Ito M, Matsuura H, Horie M. Phenotype Variability in Patients Carrying KCNJ2 Mutations. *Circulation Cardiovascular Genetics* 5: 344-353, 2012.
 17. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Int J Cardiol.* 159(3):238-40, 2012.
 18. Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsuhashi T, Ohno Y, Tohyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K. Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovascular research* 95: 419-429, 2012.
 19. Takigawa M, Kawamura M, Noda T, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Satomi K, Aiba T,

- Kamakura S, Sakaguchi T, Mizusawa Y, Itoh H, Horie M, Shimizu W. Seasonal and Circadian Distributions of Cardiac Events in Genotyped Patients With Congenital Long QT Syndrome. *Circulation Journal* 76(9):2112-8, 2012.
20. Nakajima T, Wu J, Kaneko Y, Ohno S, Irie T, Ding WG, Matsuura H, Kurabayashi M, Horie M. KCNE3 T4A as a genetic background of Brugada-pattern electrocardiogram. *Circulation Journal* 76(12):2763-72, 2012.
 21. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Taniguchi A, Naiki N, Sugimoto Y, Ito M, Xue JQ, Murakami Y, Horie M. Prognostic implications of progressive cardiac conduction disease. *Circulation Journal* 77(1):60-7, 2012.
 22. Kaneshiro T, Naruse Y, Nogami A, Tada H, Yoshida K, Sekiguchi Y, Murakoshi N, Kato Y, Horigome H, Kawamura M, Horie M, Aonuma K. Successful catheter ablation of bidirectional ventricular premature contractions triggering ventricular fibrillation in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with RyR2 mutation. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* 5; e14-e17, 2012.
 3. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Kimura H, Miyamoto A, Makiyama T, Itoh H, Itoh M, Horie M. Novel CACNA1C mutations identified in Japanese patients caused both Brugada syndrome and Idiopathic Ventricular Fibrillation without QT shortening. *ESC CONGRESS 2012 (2012.08.25-29, Munich, Germany)*
 4. Horie M. Hypertension and atrial fibrillation involvement of RAS, role of candesartan - *The 1st International Forum of Wuhan Geriatrics Society 2012 (2012.09.22, 2012 Wuhan, China)*
 5. Horie M. Inherited arrhythmia in Asia. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
 6. Sasaki K, Makiyama T, Wuryanghai Y, Chen J, Kamakura T, Kimura T, Yoshida Y, Yamanaka S, Ohno S, Horie M. One year assessment of ion channel gene expression in cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*

学会発表

1. Makita N, Makiyama T, Seki A, Nogami A, Ohkubo K, Watanabe I, Shimizu W, Watanabe H, Sumitomo N, Horie M, Delmar M. Clinical features and genetic basis of 63 patients with progressive cardiac conduction defect. *The Heart Rhythm Society's 33rd Annual Scientific Sessions (2012.05.09-12, Boston, MA, U.S.A.)*
2. Kimura H, Ohno S, Itoh H, Kawamura M, Naiki N, Wang Q, Makiyama T, Ito M, Horie M. KCNJ2-R218Q/W is a hot spot with strong phenotype in Andersen-tawil syndrome. *The Heart Rhythm Society's 33rd Annual Scientific Sessions (2012.05.09-12, Boston, MA, U.S.A.)*
7. Horie M. Acquired long QT syndrome. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
8. Ohno S, Nishio Y, Nagaoka I, Fukuyama M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Shimizu A, Horie M. Age dependent clinical and genetic characteristics in Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRS) in conjunction with The 8th*

Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)

9. Wang Q, Ohno S, Miyamoto A, Ding WG, Wu J, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Matsuura H, Horie M. Functional analysis of novel KCNH2. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
10. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dohchi K, Kimura H, Hasegawa K, Wang Q, Itoh H, Makiyama T, Horie M. Mutations identified in Brugada syndrome patients with or without ventricular fibrillation. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
11. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Horie M. A Rare KCNE1 Polymorphism, D85N, is a Genetic Modifier in Congenital Long QT Syndrome. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
12. Makiyama T, Sasaki K, Kamakura T, Shizuta S, Cheng J, Wuriyanghai Y, Ohno S, Itoh H, Horie M, Kimura T. Genotype-Phenotype Relationships in Patients with Familial Bradyarrhythmias; SCN5A Versus LMNA Gene Mutations. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
13. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Ito M, Horie M. CACNA1C Mutations in Japanese Patients with Brugada Syndrome or Idiopathic Ventricular Fibrillation. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
14. Fumimoto T, Fukuda M, Katoh T, Shimizu A, Ueyama T, Yoshiga Y, Doi M, Matuzaki M, Ohno S, Horie M. The Smaller R/S Ratio in Lead I is Characteristic of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia in Patients having Desmosomal Gene Mutations. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
15. Kamakura T, Makiyama T, Wuriyanghai Y, Chen J, Sasaki K, Shizuta S, Hasegawa K, Ohno S, Horie M, Kimura T. Genetic Backgrounds in Patients with Early-Onset and Familial Atrial Fibrillation. *The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan)*
16. Aiba T, Toyoda F, Makita N, Matsuura H, Makimoto H, Yamagata K, Horie M, Fukushima N, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano KF, Yamagishi M, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara N, Sumitomo N, Kamakura S, Shimizu W. Biophysical Properties of Na Channel in the S5-S6 High Risk LQT3 Mutations of the Long QT Syndrome. *AHA Scientific Sessions 2012 . (2012.11.03-07, Los Angeles, California, U.S.A.)*
17. Yagihara N, Watanabe H, Atack TC, Ohno S, Shimizu W, Chatel S, Koopmann TT, Ping Yang, Marylyn D Ritchie, Turner S, Hasegawa K, Wakasugi M, Onodera O, Kuwano R, Duboscq-Bidot L, Horie M, Schott JJ, Takayama M, Nakano Y, Bezzina CR, Wilde

- AAM, Momotsu T, Endo N, Darbar D, Roden DM, Makita N. Arrhythmia-associated variants in the *SCN5A* promoter and regulatory regions. *AHA Scientific Sessions 2012* . (2012.11.03-07, Los Angeles, California,U.S.A.)
18. Yamada Y, Sakaguchi T, Nakajima I, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Anzai T, Ishihara M, Yasuda S, Ogawa H, Kamakura S, Horie M, Shimizu W. Different response to exercise testing between Andersen-Tawil syndrome and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *AHA Scientific Sessions 2012* . (2012.11.03-07, Los Angeles, California,U.S.A.)
 19. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Naiki N, Taniguchi A, Sugimoto Y, Itoh M, Murakami Y, Horie M. Prognostic significance of temporal increase in QRS duration and morphological development of QRS complex. *AHA Scientific Sessions 2012* . (2012.11.03-07, Los Angeles, California,U.S.A.)
 20. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Hattori T, Makiyama T, Toyoda F, Ding WG, Chinushi M, Matsuura H, Horie M. Novel *KCNQ1* missense mutation associated with juvenile-onset atrial fibrillation. *AHA Scientific Sessions 2012* . (2012.11.03-07, Los Angeles, California,U.S.A.)
 21. Watanabe H, Werf Cv, Roses-Noguer F, Viskin S, Sumitomo N, Veltmann C, Rosso R, Bhuiyan Z, Till J, Kannankeril P, Horie M, Knollmann B, Wilde A. Effects of flecainide on exercise-induced arrhythmias and recurrences in genotype-negative patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *AHA Scientific Sessions 2012* . (2012.11.03-07, Los Angeles, California,U.S.A.)
 22. 堀江 稔：心筋イオンチャネル病：疾患群としての概要と発症機序。 厚生労働科学研究難治性疾患克服研究事業奨励研究分野3班合同ワークショップ (2012.01.22 大阪)
 23. Hattori T , Makiyama , Ohno S, Sasaki K, Kamakura T, Hayashi H, Itoh H, Horie M, Kimura T. Genetic analysis of candidate gene mutations in patients with short QT syndrome. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
 24. Sato A, Watanabe H, Louise H, Makiyama T, Shimizu W, Sonoda K, Hasegawa K, Yagihara N, Iijima K, Izumi D, Furushima H, Roden DM. , Horie M, Chinushi M, Aizawa Y. The various unusual phenotypes and overlaps caused by a D1275N mutation in *SCN5A*. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
 25. Hattori T, Makiyama T, Akao M, Ehara E, Ohno S, Iguchi M, Sasaki K, Kamakura T, Itoh H, Horie M, Kimura T. Overexpression of heterozygous *KCNJ2-M301K* channels identified in short QT syndrome abbreviated action potential durations in neonatal rat ventricular myocytes. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
 26. Dochi K, Ohno S, Itoh H, Itoh M, Horie M. Clinical characterisation of the patient with a common splicing mutation, *KCNQ1-A344A*. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
 27. Naiki N, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Kawaguchi T, Taniguchi A, Sugimoto Y, Itoh M, Horie M. Comparison of J Wave and Interventricular Conduction Defect: Mechanistic Insights into Arrhythmogenic J Wave. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
 28. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Naiki N, Taniguchi A, Sugimoto Y, Itoh M, Horie M. Clinical impact of supra-ventricular and ventricular progressive cardiac conduction disturbance on heart failure hospitalization.

29. Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Naiki N, Taniguchi A, Sugimoto Y, Itoh M, Horie M. Prognostic Value of Temporal Increase in QRS Duration: Does QRS Morphology Matter? 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
30. Dochi K, Kawamura M, Naiki N, Ohno S, Itoh M, Horie M. Combination therapy with beta-blocker and flecainide effectively prevents ventricular arrhythmias in CPVT patients with RyR2 mutations. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
31. Aizawa Y, Sato A, Hasegawa K, Chinushi M, Furushima H, Sato M, Horie M, Imaizumi T, Watanabe I, Aizawa Y, Fukuda K, Kaneko Y, Kurabayashi M, Shinozaki T, Aonuma K, Kuwano H, Haissaguerre M. Dynamicity of J Wave in Idiopathic Ventricular Fibrillation with a Special Reference to Pause-dependent Augmentation of J Wave. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
32. Makiyama T, Yoshida Y, Sasaki K, Kamakura T, Hattori T, Shizuta S, Doi T, Ohno S, Horie M, Yamanaka S, Kimura T. Analysis of Cardiomyocytes Differentiated from Disease-specific Induced Pluripotent Stem Cells in Lamin A/C-related Cardiomyopathy. 第76回日本循環器学会学術集会 (2012.03.16-18 福岡)
33. Horie M, Ohno S, Nagaoka I, Fukuyama M, Kimura H, Itoh H : Genetic Background for Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/ Dysplasia (ARVC/D) in Japan. 第27回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
34. 大久保公恵、渡辺一郎、奥村恭男、園田和正、永嶋孝一、真野博明、小船雅義、中井俊子、國本 聡、平山篤志、堀江 稔 : ダイエットが契機となり Torsades de Pointes を発症したと考えられる QT 延長症候群の 1 症例。第 27 回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
35. 小澤友哉、伊藤 誠、市川麻理、加藤浩一、道智賢市、宮本 証、中澤優子、芦原貴司、杉本喜久、堀江 稔 : 先天性心疾患の根治術後に乳頭筋起源の心室頻拍を認めた症例。第 27 回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
36. 中島 忠、金古善明、入江忠信、加藤寿光、飯島貴史、倉林正彦、呉 捷、大野聖子、福山 恵、堀江 稔、丹下正一 : 本邦 Brugada 症候群の遺伝的異質性 : 遺伝子型に基づくりスク層別化およびマネジメント戦略の構築に向けて。 第 27 回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
37. 蒔田直昌、堀江 稔、清水 渉、住友直方、関 明子、牧山 武、渡部 裕、赤星正純 : 進行性心臓伝導障害の全国レジストリー。 第 27 回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
38. 相庭武司、牧本久樹、山形研一郎、中島育太郎、宮本康二、山田優子、岡村英夫、野田 崇、里見和浩、石原正治、安斉俊久、安田 聡、小川久雄、鎌倉史郎、宮本恵宏、清水 渉、堀江 稔、小川 聡、相澤義房、大江 透、草野研吾、山岸正和、蒔田直昌。田中敏博、牧山 武、吉永正夫、萩原誠久、住友直方 : 先天性 QT 延長症候群における遺伝子変異領域と予後・治療の選択。 第 27 回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
39. 伊藤英樹、Berthet Myriam、Maugenre Svetlana、Guicheney Pascale、Denjoy Isabelle、Didier Klug、水澤有香、Hofman Nynke、Wilder Arthur、牧山 武、Tezenas Sophie、Schulze-Bahr Eric、清水 渉、堀江 稔 : QT 延長症候群における変異遺伝子の伝達乖離 多施設国際共同研究 第 27 回日本不整脈学会学術大会 (2012.07.05-7 横浜)
40. 林 秀樹、飛田 良、柴田沙智子、澁川武志、平岩康之、木下妙子、長谷川奏恵、大

野聖子、川村美朋子、道智賢市、牧山 武、小澤友哉、伊藤 誠、堀江 稔：心肺蘇生後、心臓リハビリテーションを施行し ICD を植え込み復学に成功したカテコラミン感受性多形心室頻拍症。第 25 回京滋奈良ハートリズム研究会 (2012.07.21 京都)

41. 児玉浩志、浅田紘平、芦原貴司、小澤友哉、中澤優子、伊藤英樹、伊藤 誠、堀江 稔：心室細動による ICD 作動抑制にキニジン内服が著効した SCN5A 陰性の Brugada 症候群の一例。第 25 回京滋奈良ハートリズム研究会 (2012.07.21 京都)
42. 福山 恵、大野聖子、長谷川奏恵、加藤浩一、道智賢市、服部哲久、川村美朋子、木村紘美、伊藤英樹、山本 孝、伊藤 誠、堀江 稔：日本人の遺伝性不整脈患者における表現型とカルシウムチャンネル遺伝子変異との関係について。第 10 回呼吸循環器フォーラム (2012.08.04 滋賀)
43. 堀江 稔：遺伝性不整脈の診断・治療。第 37 回東海不整脈研究会 (2012.09.15 愛知)
44. 堀江 稔：心房細動の Up to Date 遺伝子異常から最近の抗凝固療法まで 第 29 回日本心電学会学術集会(2012.10.12-13 千葉)
45. 文本朋子、清水昭彦、上山 剛、古賀康裕、土居正浩、福田昌和、加藤孝佳、石口博智、堀江 稔、松崎益徳：デスモゾーム関連淡泊の遺伝子変異を認めた不整脈源性右室心筋症の心電図的特徴 第 29 回日本心電学会学術集会(2012.10.12-13 千葉)
46. 堀江 稔：iPS 細胞を利用した疾患研究の可能性。第 143 回草津栗東医師会循環器研究会 (2012.12.05 滋賀)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
研究協力者(国内)

滋賀医科大学

道智賢一、林 秀樹、伊藤英樹、大野聖子、川村美朋子、川口民郎、内貴乃生、木村紘美、王 琦

研究協力者(海外)

Eric Schulze-Bahr

Institut für Genetik von Herzerkrankungen (IfGH) Department of Cardiovascular Medicine, Division of Cardiology, University Hospital Münster, Münster, Germany

Pascale Guicheney

Inserm-UPMC UMR_S 956, Génétique, Pharmacologie et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires

Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, Site de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

表 1

日本の3施設における A344Aspl と A341V およびそのほか LQT1 のまとめ

	A344Aspl	A341V	Others	<i>P</i> value
Genotype - positive patients, n	31	24	290	-
Proband, n	14	7	147	-
Female gender, n (%)	14 (45.2)	16 (66.7)	184 (63.5)	0.191
Median age at onset, y	9.8 ± 4.1	9.4 ± 4.5	14.7 ± 14.2	0.787
CA/SCD, n (%)	3 (9.7)	5 (20.8)	20 (6.9)	0.021
Symptomatic, n (%)	13 (41.9)	14 (58.3)	98 (33.8)	0.049
≤ 15y of age, n (%)	11 (35.5)	12 (50)	77 (26.6)	0.047
< 40 y of age, n (%)	12 (38.7)	14 (58.3)	90 (31.0)	0.025
Exercise trigger, n (%)	11 (33.3)	13 (52)	66 (22.1)	0.003
Other trigger, n (%)	3 (9.1)	0	20 (6.7)	0.362
Median follow-up, y (IQR)	23 (10 - 35)	26 (9 - 36)	25 (10 - 39)	-
HR	67.6 ± 2.2	67.1 ± 2.5	67.4 ± 0.7	0.989
QTc, ms	461 ± 30	497 ± 40	474 ± 46	0.011
≤ 440ms, n (%)	5 (16.1)	0	57 (19.7)	0.027
≥ 500ms, n (%)	4 (12.9)	10 (41.7)	65 (22.4)	0.044
cQTp, ms	389 ± 31	406 ± 23	387 ± 47	0.136
cQTp-e, ms	72 ± 17	92 ± 31	87 ± 34	0.045
Schwartz score	3.2 ± 1.7	5.0 ± 2.4	3.1 ± 2.0	< 0.0001
≥ 3.5	17 (54.8)	18 (75.0)	122 (42.1)	0.004
< 1	1 (3.2)	1 (4.2)	36 (12.4)	0.221

CA=cardiac arrest, SCD=sudden cardiac death, IQR=interquartile range. P values are compared among three groups by ANOVA.

表 2

各国における A344Aspl の頻度

	Total LQT1 mutations	A344Aspl (%)	<i>P</i> value
Japan	192	17(8.9)	
France	163	4(2.5)	0.0109*
Germany	81	0	0.0057*
America and Netherlands ⁽⁷⁾	465	10(2.1)	<0.0001*

*values compared with Japan

表 3

LQT1 変異の各国での詳細

	Japan	France	Germany	United States and Netherlands ⁽⁸⁾
Mutation type				
Missense	146 (75.3)	123 (74.1)	66 (80.5)	336 (72.3)
Nonmissense				
Nonsense	6 (3.1)	5 (3.0)	3 (3.7)	48 (10.3)*
Frameshift	6 (3.1)	14 (8.4)*	8 (9.8)*	35 (7.5)*
splicing error	33 (17.0)	21 (12.7)	4 (4.9)*	36 (7.7)*
Deletion	3 (1.5)	3 (1.8)	1 (1.2)	6 (1.3)
Insertion	0	0	0	4 (0.9)
Location				
N-terminus	0	0	0	2 (0.4)
Transmembrane	90 (46.4)	60 (36.1)	31 (37.8)	219 (47.1)
Cytoplasmic loop	30 (15.5)	30 (18.0)	11 (13.4)	37 (8.0)*
pore region	15 (7.7)	22 (13.3)	13 (15.9)*	68 (14.6)*
C-terminus	59 (30.4)	53 (31.9)	27 (32.9)	139 (29.9)

(8)Kapplinger and Tester, et al. Heart Rhythm 2009; 6: 1297-1303.

*significant difference compared to Japan at chi-test

遺伝性致死性不整脈の臨床的研究

研究分担者 青沼 和隆 筑波大学医学医療系 循環器内科 教授
研究協力者 村越 伸行 筑波大学医学医療系 循環器内科 講師

研究要旨

(1) 12誘導心電図の下壁誘導あるいは側壁誘導のJ波増高を示す早期再分極症候群が報告され、心室細動による突然死を来す可能性のある症候群として注目されているが、その病的意義については十分にわかっていない。発症24時間以内に経皮的冠動脈インターベンションを施行した急性心筋梗塞(AMI) 964症例のうち、発症前の心電図を解析できた220例(69±11歳, 男性163例)を対象に、発症前心電図における早期再分極所見とVF発生の関連を解析した。AMI発症前心電図で34例(16%)において早期再分極所見が認められ、その所見がAMI発症48時間以内の持続性VF発生の独立した予測因子であることを明らかにした。(2) カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)は、運動や情動的興奮等に伴い多形性心室頻拍や心室細動を生じて突然死を来す疾患であり、突然死を予防しうる確実な治療は未だ確立されていない。本研究では、リアノジン受容体タイプ2遺伝子変異を伴うCPVT 症例に対して、トリガーとなる心室性期外収縮を標的としたカテーテルアブレーションが心室頻拍・心室細動の抑制に有効である可能性があることを初めて報告した。

A. 研究目的

現在、日本では年間約5万~7万例の心臓突然死が発生していると推定される。その主な原因は虚血性心疾患であるが、約70~80%を占める欧米と異なり、日本では約30%程度であり、その他、拡張型心筋症、肥大型心筋症、心サルコドース、催不整脈性右室心筋症などの心筋疾患に加え、Brugada(ブルガダ)症候群、QT延長症候群、特発性心室細動、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍などの遺伝性致死性不整脈疾患が多く含まれる¹⁾。

本研究では、これらの突然死を来しうる遺伝性致死性不整脈疾患の臨床的特徴を明らかにするとともに、適切な診断法およびリスク評価法の確立と、新たな治療法の開発を目的とした。

近年、12誘導心電図の下壁誘導(II, III, aVF誘導)あるいは側壁誘導(I, aVL, V4-V6誘導)のJ波増高を示す早期再分極症候群(early repolarization syndrome)が報告され²⁾、ブルガダ症候群同様、心室細動による突然死を来す可能性のある症候群として注目されている。しかし、12誘導心電図における早期再分極所見は、古くから若年健常者に多く認められる所見として認識されており、その病的意義については十分にわかっていない。本研究1は、早期再分極症候群の疫学的実態と急性心筋梗塞発症時における病的意義を明らかにすることを目的とした。

また、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)は、運動や情動的興奮等に伴い多形性心室頻拍(PVT)

や心室細動(VF)を生じ、突然死を来す悪性疾患である³⁾。CPVTに対する一般的な治療法はblockerを中心とした薬物療法であるが、しばしば突然死予防のため植え込み型除細動器(ICD)が選択される。しかしながら、ICDのショックによるカテコラミン放出からelectrical stormを惹起し、突然死を予防できなかった例も報告されており⁴⁾、CPVTにおいて突然死を予防しうる確実な治療は未だ確立されていない。本研究2はリアノジン2型受容体(ryanodine receptor type 2: RyR2)遺伝子異常を伴うCPVTに対するカテーテルアブレーションの有用性を検討した。

B. 研究方法

(研究1)

早期再分極と心筋梗塞急性期の心室細動発症との関連

2006年4月から2010年8月までに筑波大学附属病院を含む3施設で急性心筋梗塞の診断で発症後24時間以内に経皮的冠動脈インターベンション(PCI)を施行した964症例をスクリーニングした。そのうちAMI発症前の心電図を評価することができた220例(69±11歳, 男性163例)を対象とした。患者はAMI発症48時間以内に持続性VFが出現したかどうかで分類され、それぞれの群で臨床データを比較した。持続性VFとは30秒以上続くVFもしくは電気的除細動を要したVFと定義した。心電図上の早期再分極はQRS-ST接合部の0.1mV以上の上昇

(notch 型, slur 型) が連続した 2 つ以上の誘導(下壁誘導もしくは側壁誘導)で観察された場合と定義した。また、早期再分極をさらに誘導(下壁型、側壁型、下壁・側壁型)、振幅(0.1mV 以上, 0.2mV 以上)、波形(notch 型, slur 型)、ST 部分(upsloping 型, horizontal/descending 型)に分類し、VF 発生との関連につき検討した。

(研究 2)

カテコラミン誘発性多形性心室頻拍に対するカテテルアブレーション治療の効果

対象は失神歴あるいは心肺停止歴を有し、臨床的に両方向性心室性期外収縮(VPC)あるいはPVTを認め、CPVTと診断された6症例。全例心臓電気生理学検査を施行し、isoproterenol またはepinephrineによる薬物負荷試験を施行した。3D electroanatomic mapping (CARTO)、pace mappingにてVPC/PVTの起源を同定し、高周波カテテルアブレーションを施行した。アブレーション後の臨床経過を観察し、VPC/PVTの発生を運動負荷心電図・ホルター心電図により評価した。

(倫理面への配慮)

両研究とも関係する病院の臨床倫理審査委員会の承認を得た上で、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針など関連法規に則って行った。患者への十分な説明と同意を得て、個人情報と連結可能匿名化し、適切な情報管理を行うなど、倫理面への十分な配慮を行った。

C. 研究結果

(研究 1)(表 1)

早期再分極と心筋梗塞急性期の心室細動発症との関連

220 症例のうち 21 症例(10%)で AMI 発症 48 時間以内の持続性 VF が観察された。VF 発生群は非発生群に比べ男性が多く(95% vs 72%; $p < 0.05$)、病変枝数が多く(2.0 ± 0.8 vs 1.7 ± 0.8 ; $p < 0.05$)、発症から来院までの時間が短く(195 ± 235 min vs 406 ± 406 min; $p < 0.001$)、来院時の Killip class が大きかった(2.7 ± 1.3 vs 1.4 ± 0.8 ; $p < 0.001$)。早期再分極は 34 症例(16%)に認められ、VF 発生群においてその合併頻度は有意に高かった(48% vs. 12%; $p < 0.001$)。多変量解析では、早期再分極の合併(odds ratio (OR)= 7.30; 95% confidence interval (CI)= 2.21–24.14; $p < 0.01$)、発症から来院までが 180 分以内(OR= 3.77; 95%CI= 1.13–12.59; $p < 0.05$)、来院時 Killip class が II 以上(OR= 13.60; 95% CI = 3.43–53.99; $p < 0.001$) が VF 発生の独立した予測因子であった。早期再分極の詳細を検討すると、下壁誘導のもの、振幅が高いもの、Notch 型のもの、Horizontal/descending 型の

ものが VF 発生と有意な関連を認めた。

(研究 2)(表 2)

リアノジン受容体変異を有するカテコラミン感受性多形性心室頻拍に対するカテテルアブレーション治療の効果

電気生理検査では、6例5例で二方向性VPCおよびPVTが誘発された。誘発されたVPC・PVTは計11箇所起源を認め、左脚後枝領域($n = 3$; 27%)、左脚前枝領域($n = 2$; 18%)、左室流出路($n = 2$; 18%)、右室流出路($n = 2$; 18%)、左室自由壁($n = 2$; 18%)であった。これらの部位へのカテテルアブレーションを施行し、急性期VT誘発性の抑制が得られ、また明らかな治療に伴う合併症は認められなかった。また、6例中4例でICD植込みを行った。カテテルアブレーション後 2.5 ± 2.5 年の観察において、東日本大震災直後に心肺停止となり蘇生された1例を除き、6例中5例(83%)で失神およびPVT/VFの出現なく経過した。

D. 考察

(研究 1)

早期再分極と心筋梗塞急性期の心室細動発症との関連

本研究では以下の知見が得られた。(1)AMI患者の約15%において、発症前12誘導心電図で早期再分極が認められた。(2)AMI発症48時間以内にVFを発症した患者の約50%において、発症前心電図で早期再分極が認められた。(3)12誘導心電図における早期再分極の存在はAMI発症早期のVF発生のリスクの増加に有意に関連していた。下壁誘導のもの、振幅が高いもの、Notch 型のもの、Horizontal / descending 型のもものが VF 発生と有意な関連を認めた。(4)AMI発症早期に44%の症例で早期再分極が消失または認識不能となった。(5)発症前に早期再分極が認められなかった群ではAMI後に早期再分極が新たに出現した例はなかった。

これまでの報告で、特発性VF患者において、(1)下壁誘導のJ波が多く認められること、(2)より高電位のJ波が認められること、(3)slur型よりnotch型の方が特異度が高いこと、(4)Horizontal / descending型を呈する群で不整脈死のリスクが高いこと、が報告されている^{5,6)}。急性心筋梗塞を対象とした本研究でも同様の結果であり、このような12誘導心電図所見はVF発症のリスク増加に関連している可能性がある。

早期再分極所見がAMI時のVF発生に関わっている機序として、早期再分極症候群の機序同様、Itoチャネルなどの密度勾配が関与している可能性が示唆される⁷⁾。心電図のJ波形成にはNaチャネル・Caチャネルの他、外向きKチャネルであるItoチャネル、IK-ATPチャネル、IK-Achチャネルが関与している。このうち外向き一過性KチャネルであるItoチャネル

は AMI 時の VF 発生に関与していることが報告されている。AMI 発症以前から、心室間あるいは心筋層間に Ito チャネルの密度勾配がある場合、早期再分極所見を呈すると考えられるが、このような症例が AMI になると、Ito チャネルの密度勾配が増強し、VF が発生しやすくなる可能性が考えられる。

(研究 2)

カテコラミン誘発性多形性心室頻拍に対するカテテルアブレーション治療の効果

カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)は、運動や情動的興奮等に伴い多形性心室頻拍(PVT)や心室細動(VF)を生じ、突然死を来す悪性疾患であり、関連する遺伝子異常としてリアノジン受容体2型(ryanidine receptor type 2: RyR2)遺伝子およびカルセクエストリン(calsequestrin: CASQ2)遺伝子が報告されている。CPVT に対する一般的な治療法は 遮断薬を中心とした薬物療法であり、またフレカイニドやベラパミルの有効性も報告されているが、突然死予防のため植え込み型除細動器(ICD)が選択されるケースが多い^{8),9)}。しかしながら、ICDのショックによるカテコラミン放出からelectrical stormを惹起し、突然死を予防できなかった例も報告されており⁴⁾、CPVT において突然死を予防しうる確実な治療は未だ確立されていない。CPVTにおけるVFおよびPVT発症の機序については、局所的なプルキンエネットワークから発生するdelayed afterdepolarizationによるtriggered activityが原因であることがRyR2ノックインマウスを用いた研究から明らかにされているが¹⁰⁾、VFの機序なのか、単なるtriggerの起源なのかは不明である。今回、我々はCPVT 症例において、VF およびPVT のtrigger となるVPC/PVT に対するカテテルアブレーションにより、PVT・VF が抑制されうる可能性を初めて報告した。遺伝子異常に伴う不整脈基質に対するカテテルアブレーションの効果は確立されてはいないが、薬物療法に抵抗性の失神やICD 植え込み後の適切作動・突然死予防に対する高い効果が期待できる。

E. 結論

- (1) 12 誘導心電図における下壁誘導の早期再分極の存在は AMI 急性期の VF 発生リスクを増大させることが示唆された。
- (2) 遺伝子変異を伴うCPVT症例におけるVPC/VTに対して、カテテルアブレーションが有効である可能性が示唆された。

(参考文献)

- 1) 相澤義房他. 心臓突然死の予知と予防法のガイドライン. *Circulation J.* 69(Suppl. IV):1209-1252, 2005.
- 2) Haissaguerre M, et al. Sudden cardiac arrest

associated with early repolarization. *New Engl J Med.* 358:2016-2023, 2008.

- 3) Priori SG, Napolitano C, Tiso N, Memmi M, Vignati G, Bloise R, Sorrentino V, Danieli GA. Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (*hRyR2*) underlie catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation.* 103:196-200, 2001.
- 4) Mohamed U, Gollob MH, Gow RM, Krahn AD. Sudden cardiac death despite an implantable cardioverter-defibrillator in a young female with catecholaminergic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm.* 3:1486-1489, 2006.
- 5) Priori SG, et al. Natural history of Brugada syndrome; Insights for risk stratification and management. *Circulation.* 105: 1342-1347, 2002.
- 6) Kamakura S, et al. Long-term prognosis of probands with Brugada-pattern ST-elevation in leads V1-V3. *Circ Arrhythmia Electrophysiol.* 2:495-503, 2009.
- 7) Tikkanen JT, et al. Long-term outcome associated with early repolarization on electrocardiography. *New Engl J Med.* 361: 2529-2537, 2009.
- 8) Rosso R, et al. Risk of sudden cardiac death among young individuals with J waves and early repolarization: putting the evidence into perspective. *Heart Rhythm.* 8: 923-929, 2011.
- 9) Antzelevitch C. Genetic, molecular, and cellular mechanisms underlying the J wave syndromes. *Circ J.* 76: 1054-1065, 2012
- 10) Sumitomo N, Harada K, Nagashima M, Yasuda T, Nakamura Y, Aragaki Y, Saito A, Kurosaki K, Jouo K, Koujiro M, Konishi S, Matsuoka S, Oono T, Hayakawa S, Miura M, Ushinohama H, Shibata T, Niimura I. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: electrocardiographic characteristics and optimal therapeutic strategies to prevent sudden death. *Heart.* 89:66-70, 2003
- 11) Watanabe H, Copra N, Laver D, Hwang HS, Davis SS, Roach DE, Duff HJ, Roden DM, Wilde AAM, Knollmann BC. Flecainide prevents catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in mice and humans. *Nat Med.* 15:380-383, 2009.
- 12) Cerrone M, Noujaim SF, Tolkacheva EG, Talkachou A, O'Connell R, Berenfeld O, Anumonwo J, Pandit SV, Vikstrom K, Napolitano C, Priori SG, Jalife J. Arrhythmogenic mechanisms in a mouse model of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circ Res.* 101: 1039-1048, 2007.

F.健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Naruse Y, Tada H, Harimura Y, Hayashi M, Noguchi Y, Sato A, Yoshida K, Sekiguchi Y, Aonuma K. Early repolarization is an independent predictor of occurrences of ventricular fibrillation in the very early phase of acute myocardial infarction. **Circulation Arrhythm Electrophysiol.** 5(3): 506-513, 2012

2) Kaneshiro T, Naruse Y, Nogami A, Tada H, Yoshida K, Sekiguchi Y, Murakoshi N, Kato Y, Horigome H, Kawamura M, Horie M, Aonuma K: Successful catheter ablation of bidirectional ventricular premature contractions triggering ventricular fibrillation in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with RyR2 mutation. **Circulation Arrhythm Electrophysiol.** 5(1):e14-17, 2012

2. 学会発表

1) 金城貴士, 成瀬代士久, 中野恵美, 黒木健志, 井藤葉子, 町野 毅, 山崎 浩, 常岡秀和, 五十嵐都, 吉田健太郎, 関口幸夫, 多田 浩, 青沼和隆, 加藤愛章, 堀米 仁, 合屋雅彦, 野上昭彦. リアノジン受容体遺伝子異常を伴うカテコラミン誘発性多形性心室頻拍に対するカテーテルアブレーションの有用性. 第27回日本不整脈学会. 2012年7月7日. 神奈川・横浜

2) Naruse Y, et al. Early Repolarization Is an Independent Predictor of Occurrences of Ventricular Fibrillation in the Very Early Phase of Acute Myocardial Infarction. 第17回日本心電学会学術集会. 2012年10月13日. 千葉・幕張

H. 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

表 1. 心室細動発生に対する単変量・多変量解析

	単変量		多変量	
	オッズ比 (95% 信頼区間)	<i>p</i> 値	オッズ比 (95% 信頼区間)	<i>p</i> 値
年齢, 1 年毎	0.983 (0.945–1.022)	0.381	0.964 (0.912–1.019)	0.198
男性	7.832 (1.027–59.754)	0.047	7.353 (0.663–81.538)	0.104
発症から来院まで 180 分以内	2.468 (0.978–6.227)	0.056	3.767 (1.127–12.587)	0.031
Killip 分類 > I	7.653 (2.815–20.807)	<0.001	13.598 (3.425–53.990)	<0.001
ピーク CK > 3000 U/L	2.495 (0.989–6.291)	0.053	0.691 (0.212–2.252)	0.540
罹患冠動脈数 >1	2.629 (0.980–7.052)	0.055	3.257 (0.926–11.460)	0.066
ST 上昇型心筋梗塞	5.677 (0.741–43.492)	0.095	2.574 (0.223–29.695)	0.449
高血圧	1.448 (0.508–4.130)	0.489	0.636 (0.176–2.305)	0.491
糖尿病	1.295 (0.521–3.219)	0.579	0.752 (0.231–2.454)	0.637
喫煙	1.374 (0.554–3.406)	0.493	0.937 (0.307–2.861)	0.908
早期再分極	6.629 (2.546–17.256)	<0.001	7.305 (2.210–24.144)	0.001

表2. カテコラミン誘発性多形性心室頻拍に対してカテーテルアブレ - ション治療を行った症例

症例	年齢	性別	RyR2 変異	初発年齢	初発症状	初回診断
1	13	女	+	7	失神	神経調節性失神
2	18	女	+	6	失神	洞不全
3	18	女	+	6	失神	てんかん
4	38	女	+	7	失神	てんかん
5	18	男	未	18	心肺停止	
6	13	女	+	7	失神	発作性心房細動

症例	不整脈タイプ	標的部位	アブレ - ション結果
1	bidirectional VT/VF	左脚前枝、左脚後枝	停止
2	polymorphic VPCs/AF	右室流出路	抑制
3	polymorphic VPCs	左室側壁基部、右室流出路、左脚後枝	抑制
4	bidirectional VT/VF	左脚後枝、左室流出路(左冠尖)	停止
5	polymorphic VPCs	左脚前枝、左室流出路、左室側壁基部	抑制
6	multifocal AT	肺静脈、冠静脈洞	停止

進行性心臓伝導障害の新規原因遺伝子に関する研究

研究分担者 蒔田 直昌 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子生理学 教授

研究要旨 進行性心臓伝導障害(PCCD)は、心臓刺激伝導系の進行性変性によってペースメーカー植え込みや突然死の原因となる稀な致死性遺伝性不整脈である。本研究の目的は、PCCD家系の分子基盤を解明するために、既知のPCCD原因遺伝子に異常のない家系に対して網羅的エクソーム解析を行い、新規原因遺伝子を解明することである。国内外のPCCD発端者57例（男37人女20人）の遺伝子解析で、心筋Naチャンネル(*SCN5A*) 13個、ラミンA/C (*LMNA*)に12個、コネキシン40 (*GJA5*)に1個を同定した。変異が同定されなかった2家系のエクソーム解析を行った、PCCD大家系に第2染色体上の遺伝子Xの変異を同定した。またもう一つの家系で明らかになった第16染色体上の遺伝子Yについてその他のPCCD家系でスクリーニングしたところ、1症例に遺伝子Yの別のミスセンス変異が同定された。現在これら2つの遺伝子X・Yについて、新規原因遺伝子としての妥当性を国際共同研究体制で検討している。

A．研究目的

進行性心臓伝導障害(PCCD)は、進行性の房室ブロック・脚ブロックという心電図所見を特徴とし、心臓刺激伝導系の線維変性によって突然死をきたす稀な致死性不整脈で、Lenégre-Lev 病ともよばれる。PCCD に特徴的な心電図のうち右脚ブロックは正常亜型として健常人にも認められるため、明白な家族歴がなければ、単回的心電図だけでハイリスクグループを発症前に特定するのは極めて困難である。また、Brugada 症候群や拡張型心筋症の合併例の報告もあることから、PCCD の分子病態を解明し、迅速かつ有効な診断法を確立し、心臓伝導障害による突然死を予防することは重要な課題である。

本研究の目的は、PCCD の分子基盤を明らかにするために、まずこれまで集積した家系のゲノムを用いて既知の原因遺伝子をスクリーニングする。次いで、変異が同定されない家系に対して網羅的エクソーム解析を行い、新規原因遺伝子を解明する。

B．研究方法

インフォームドコンセントの得られた PCCD 発端者 57 症例（日本人 47 人、トルコ人 10 人；男 37 人・女 20 人、平均 55.8±24.1 歳）及びその家族 41 症例を対象に、末梢血ゲノム DNA を抽出し、遺伝子解析を行った。対象遺伝子は、Na チャンネル(*SCN5A*, *SCN1B*, *SCN2B*, *SCN3B*, *SCN4B*)、K チャンネル(*KCNQ1*, *KCNH2*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *KCNJ8*, *HCN4*)、コネキシン(*GJA1*, *GJCL*, *GJA5*)、ラミン A/C(*LMNA*)、転写因子(*IRX3*, *TBX5*,

NKX2.5)である。各遺伝子のエクソン周囲を PCR で増幅し直接シーケンス法でスクリーニングした。これらの遺伝子に変異を認めなかった発端者のうち家族性が明白な2家系においてエクソーム解析を行った。エクソームの情報下記で候補となった遺伝子について、家族のゲノムも含めサンガー法で再シーケンス解析を解析した。（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。

C．研究結果

*SCN5A*のcodingエクソン領域に11個、5'非翻訳領域に1個、プロモータ領域に1個の変異を同定した。codingエクソン変異11個のうち8個はミスセンス変異で、3個は1塩基欠損によるフレームシフト欠失変異だった。プロモータ変異(g.-115G>T)のプロモータ活性をルシフェラーゼ法で測定したところ、正常配列に比べて73%低下していることが判明し、*SCN5A*の転写活性が著しく低下していなう。*LMNA*では、変異12個のうち6個がミスセンス変異、フレームシフト欠失5個、スプライシング変異1個だった。*GJA5*はPurkinje線維に強くするギャップ結合だが、その変異はコンダクタンスを1/40に低下する機能異常を有していた。

候補遺伝子アプローチによって変異が同定されなかったPCCD症例のうち、比較的大きな2家系(A・B)を選定しエクソーム解析を行った。dbSNP, 1000ゲノムデータベースに登録されたバリエーション

をフィルター処理後、循環生理への関与が推測される遺伝子のミスセンスバリエーション、欠失・挿入バリエーションを候補として20個ずつ選定した。それぞれバリエーションについての家族の遺伝型をサンガー法で確認し、表現型と一致の見られるものを変異の候補とした。

家系Aは罹患者17人・非罹患者7人のゲノムが保存されている大家系で、エクソーム解析によって第2染色体上の遺伝子Xが候補遺伝子としてリストアップされた。遺伝子Xのミスセンス変異L80Vの遺伝型は家系内で遺伝型と完全に cosegregate していた。L80VはdbSNP、1000ゲノムに登録されておらず、フランス人241人にも認めないため疾患遺伝子変異であることが示唆されたが、日本人1,304人中24人(0.9%)に同定された。したがってL80Vが人種得着的な多型で、遺伝子Xそのものは真の疾患遺伝子に物理的近傍に存在している可能性が高い。今後さらなる精査によって真の疾患遺伝子の解明をめざす。

家系Bは罹患者3人・非罹患者3人で、第16染色体上の遺伝子Yの変異が臨床像と cosegregate した。別のPCCD家系の患者40人のゲノムを用いて遺伝子Yを再シーケンシングしたところ、1症例に異なるミスセンス変異が同定され、遺伝子Yは新たな原因遺伝子である可能性が示唆された。

D . 考察

SCN5AとLMNAは最も頻度の高いPCCDの原因遺伝子である。遺伝子変異はアミノ酸置換や欠失、スプライシング異常によってタンパクの構造を・機能を変化させるだけでなく、プロモータ活性の低下による転写異常も新たな病態であることが判明した。

エクソームによって2つの遺伝子が新規原因遺伝子候補として同定された。これらが疾患遺伝子であることを確定するためには、より多くのPCCD症例において同一遺伝子上の変異を同定することが必要である。これらの遺伝子は巨大なため、サンガー法によるスクリーニングは困難で、次世代シーケンサーを用いたターゲット再シーケンシングを行う予定、その準備中である。

また、家系Aについては、遺伝子X周辺のさらに詳細な遺伝子解析を行い、原因遺伝子を究明すると同時に(フランスINSERM Schott博士との共同研究)、患者末梢血からiPS心筋細胞を作製し、その機能解析を行う予定である(本研究班員、京都大学牧山武助教との共同研究)。

E . 結論

候補遺伝子アプローチによって、PCCDの約4割の症例に遺伝子変異を同定した。そのうちSCN5A LMNAが最も頻度が多かった。エクソーム解析によって2つの新たな疾患遺伝子候補が見つかった。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Watanabe H, Makita N, Tanabe N, Watanabe T, Aizawa Y. Electrocardiographic abnormalities and risk of complete atrioventricular block. *Int J Cardiol.* 2012;155:462-464
2. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Response to Letter Regarding Article, "Electrocardiographic Characteristics and SCN5A Mutations in Idiopathic Ventricular Fibrillation Associated With Early Repolarization". *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:e60-e61
3. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Int J Cardiol.* 2012;159:238-240
4. Makita N, Seki A, Sumitomo N, Chkourko H, Fukuhara S, Watanabe H, Shimizu W, Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA, Probst V, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ, Delmar M. A connexin40 mutation associated with a malignant variant of progressive familial heart block type I. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:163-172
5. Delmar M, Makita N. Cardiac Connexins, Mutations and Arrhythmias. *Curr Opin Cardiol.* 2012;27:236-241
6. Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsuhashi T, Ohno Y, Tohyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K. Disease characterization

- using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovasc Res.* 2012;95:419-429
- Watanabe H, Ohkubo K, Watanabe I, Matsuyama TA, Ishibashi-Ueda H, Yagihara N, Shimizu W, Horie M, Minamino T, Makita N. SCN5A mutation associated with ventricular fibrillation, early repolarization, and concealed myocardial abnormalities. *Int J Cardiol.* in press
 - Ishikawa T, Sato A, Marcou CA, Tester DJ, Ackerman MJ, Crotti L, Schwartz PJ, On YK, Park JE, Nakamura K, Hiraoka M, Nakazawa K, Sakurada H, Arimura T, Makita N, Kimura A. A Novel Disease Gene for Brugada Syndrome: Sarcolemmal Membrane-Associated Protein Gene Mutations Impair Intracellular Trafficking of hNav1.5. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:1098-1107
 - Ishikawa T, Takahashi N, Ohno S, Sakurada H, Nakamura K, On YK, Park JE, Makiyama T, Horie M, Arimura T, Makita N, Kimura A. A Novel SCN3B Mutation Associated with Brugada Syndrome Affects Intracellular Trafficking and Function of Nav1.5. *Circ J.* in press
 - Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshisige M, Hayashida Y, Miki D, Hayes CN, Suzuki H, Tokuyama T, Oda N, Suenari K, Uchimura-Makita Y, Kajihara K, Sairaku A, Motoda C, Fujiwara M, Watanabe Y, Yoshida Y, Ohkubo K, Watanabe, I Nogami A, Hasegawa K, Watanabe H, Endo N, Aiba T, Shimizu W, Ono S, Horie W, Arihiro K, Tashiro S, Makita N, Kihara Y. A nonsynonymous polymorphism in Semaphorin 3A as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation. *PLOS Genet.* in press
 - Shimada T, Ohkubo K, Abe K, Watanabe I, Makita N. A novel 5' splice site mutation of SCN5A associated with Brugada syndrome resulting in multiple cryptic transcripts. *Int J Cardiol.* 2012; 158: 441-3
 - 蒔田直昌：特発性心室細動とJ波症候群の遺伝子診断 CIRCULATION Up-to-Date 7:20-25,2012
 - 蒔田直昌：早期再分極とJ波症候群：オーバービュー．心臓 44:1226-1231,2012
 - Makita N. Phenotypic overlap of lethal arrhythmias associated with cardiac sodium mutations. Individual-specific or mutation-specific? . *Genes and Cardiovascular Function.* 2012:185-196
 - 蒔田直昌：遺伝子とチャネルからみた先天性QT延長症候群 不整脈学 南江堂（井上博 村川裕二編集）491-495, 2012
 - 学会発表
 - Makita N. Genetic Diagnosis of Hereditary Lethal Arrhythmias. The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 2012年3月17日, Fukuoka Japan.
 - Makita N. Is it the Prime Time to Treat the Patients with Early Repolarization? The 5th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, 2012年10月5日, Taipei Taiwan.
 - Aiba T, Makimoto H, Yamagata K, Horie M, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano K, Yamagishi M, Makita N, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara N, Sumitomo N, Kamakura S, Miyamoto Y, Yasuda S, Shimizu W. Brugada Syndrome Mutation Site-specific Differences in Arrhythmic Risk in the LQT3 Form of Congenital Long QT Syndrome. The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 2012年3月16日, Fukuoka Japan
 - Ishikawa T, Sato A, Arimura T, Sakurada H, Makita N, Kimura A. A Novel Mechanism of Brugada Syndrome: Mutation of Sarcolemmal Membrane-associated Protein (SLMAP) Gene Impaired hNav1.5 Function. The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. 2012年3月16日, Fukuoka Japan.
 - Makita N, Makiyama T, Seki A, Nogami A, Ohkubo K, Watanabe I, Shimizu W, Watanabe H, Sumitomo N, Horie M, Delmar M. Clinical features and genetic basis of 63 patients with progressive cardiac conduction defect. *Heart Rhythm* 9: S249, 2012 (Heart Rhythm Society, Boston, USA)
 - Makita N. “Molecular and Physiological Basis of Familial Progressive Heart Block Type-I” The 1st HD Physiology International Symposium: Integrative Multi-level Systems Biology for In silico Cardiology and Pharmacokinetics, 2012年1月21日, Tokyo Japan
 - Yagihara N, Yagihara N, Watanabe H, Aizawa T, Ohno S, Shimizu W, Chatel S, Koopmann T, Yang P, Hasegawa K, Wakasugi M, Onodera O, Kuwano R, Duboscq-Bidot L, Redon R, Horie M, Schott J, Takayama M, Nakano Y, Bezzina C, Momotsu T, Endo N, Darbar D, Roden D, Makita N. Arrhythmia-associated variant in the SCN5A promoter and regulatory regions. (American Heart Association Annual Meeting, Los Angeles USA)
 - Aiba T, Toyoda F, Makita N, Matsuura H, Makimoto H, Yamagata K, Hoire M, Fukushima N, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano K, Yamagi

shi M, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara N, Sumitomo N, Kamakura S, Shimizu W. Biophysical Properties of Na Channel in the S5-S6 High Risk LQT3 Mutations of the Long QT Syndrome. (American Heart Association Annual Meeting, Los Angeles, USA)

H . 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

(研究協力者)

野上明彦 (横浜労災病院)

関 明子 (東京女子医大)

Can Hasdemir (Ege University School of Medicine, Turkey)

Jean-Jacques Schott (INSERM, Nantes, France)

遺伝性不整脈疾患の遺伝子基盤に基づいた病態解明と診断・治療法の開発に関する研究

研究分担者 萩原 誠久 東京女子医科大学 循環器内科 主任教授

研究要旨 本年度は当施設に通院中の進行性心臓伝導障害(PCCD)の2家系について、臨床像、体表面心電図の検討と候補遺伝子解析を行った。PCCDの診断基準としては二束ブロック、2型2度房室ブロック、高度房室ブロック、完全房室ブロックを持つ、あるいは失神などの徐脈による症状またはペースメーカー植え込みの既往歴や家族歴を持つ症例とした。2家系17症例の理解と協力が得られた。家系1は2例の突然死と3例のペースメーカー植え込み症例があり、14例中9例が右脚ブロックを示した。これら罹患者のうち数例に於いて、ペースメーカー植え込み時期の一致や、心房心筋症に類似した病態がみられた。遺伝子解析は現在進行中であるが、現時点では候補遺伝子Aの異常が認められた。家系2では、現在のところ発端者を含め3例の協力が得られた。発端者は心室細動からの蘇生例であり、心電図では右脚ブロックを認めた。右室心筋生検で脂肪浸潤を認めており、確定診断には至らないが、不整脈源性右室心筋症の可能性もある症例である。この症例に候補遺伝子Bの変異が認められ、正常心電図を示す2例にはこの変異は認められなかった。この遺伝子異常は他施設の2家系のPCCD症例に発見されたものと同じであった。

A. 研究目的

遺伝性不整脈疾患の原因遺伝子の解明及び病態との関連を解析し、診断・治療に役立てること。

B. 研究方法

当施設循環器内科に通院中の遺伝性不整脈疾患の家系について、病歴と臨床像、体表面心電図の検討（当施設）及び遺伝子解析（長崎大学）を行い、罹患者及び非罹患者の比較を行った。

PCCDの診断基準としては、二束ブロック、2型2度房室ブロック、高度房室ブロック、完全房室ブロックを持つ、または失神などの徐脈による症状またはペースメーカー植え込みの既往歴や家族歴を持つ症例とし、器質的心疾患があっても、徐脈による症状・病態がそれに先立っている、あるいは徐脈の関与が疑われる症例は除外しないものとした。遺伝子解析は長崎大学 蒔田直昌教授に依頼した。（倫理面への配慮）以下の全てについて被検者に説明し同意を得た上で研究に参加して頂いた。

研究への参加は任意であること、同意しなくても不利益を受けないこと、同意は撤回できること

研究の意義（背景）、目的、対象、方法、実施期間、予定被験者数

研究に参加することにより期待される利益、起こりえる不利益

個人情報を含めた試料等の取扱い、保存期間と廃棄方法、研究方法等の閲覧

研究成果の発表および特許が発生した場合の取扱い

研究に係る被験者の費用負担、研究資金源と利益

相反

研究の組織体制、研究に関する問い合わせ、苦情等の相談窓口（連絡先）

被験者に健康被害が発生した場合の対応と補償の有無

C. 研究結果

進行性心臓伝導障害の2家系計17人について臨床像、心電図及び遺伝子異常について検討した。家系1は、2例の突然死と3例のペースメーカー植え込み症例を含み、体表面心電図では14例中9例が右脚ブロックを示した。ペースメーカー植え込みを行った3例は同胞で、植え込みの原因疾患は2例が房室ブロック、1例が洞機能不全症候群であった。いずれも植え込み時期が60歳後半であったことも興味深い。突然死した2例も55歳と60歳であり比較的高齢である。また、房室ブロックの2例では、心臓超音波検査の結果、心房心筋症に類似した病態を認めた。この家系について、長崎大学で現在詳細な遺伝子解析が進行中である。現時点では、右脚ブロックを示した9例については、いずれも第2染色体上にある候補遺伝子Aの変異を認めており、正常心電図を示した残りの5例にはこの遺伝子異常はみられていない。

家系2は発端者が心室頻拍・心室細動による失神のため植え込み型除細動器を植え込んだ症例である。現在のところ、この家系内では、心電図、採血に協力を得られた親族は発端者を含め3例である。そのうち、失神の既往があり、右脚ブロックを示しているのは発端者のみで、他2例は無症状で正常心電図であった。発端者は右室心筋生検で脂肪浸潤を

認めており、確定診断には至らないが、不整脈源性右室心筋症 (ARVC/D) の可能性もある。この家系についても、現在遺伝子解析が進行中であり、現段階では発端者に第16染色体上の候補遺伝子Bのミスセンス変異が認められ、他2例にはこの変異は認められなかった。この遺伝子異常は他施設の2家系のPCCD症例に発見されたものと同じである。

D . 考察

家系1の中で、ペースメーカー植え込みを行っている罹患者の2例に於いて、心臓超音波検査の結果、心房心筋症に類似した病態を認めた。心筋細胞や刺激伝導系の構築、細胞間の連絡に何等かの異常がある可能性もある。また、この2例と同胞を含めた罹患者3例に於いて、植え込み時期の一致がみられること、突然死の2例もそれに近い年齢であることから、伝導障害の進行・発症には加齢など他の因子が関与していることも考えられる。罹患者にみられる候補遺伝子Aの変異は非罹患者には認められておらず、病態に関与している可能性がある。

家系2については、候補遺伝子Bの変異が罹患者に認められ、非罹患者には認められなかったこと、この遺伝子変異が別のPCCDの2家系でみられた変異と一致していることは大変興味深く、PCCDの原因遺伝子として確立する可能性もある。まだ症例数が3例と少ないため、今後も親族の理解と協力を得て例数を増やして検討する必要がある。

E . 結論

進行性心臓伝導障害の2家系について、臨床像、心電図及び遺伝子異常について検討した。家系1では突然死、伝導障害によるペースメーカー植え込み、心房心筋症に類似した病態がみられた。右脚ブロック型心電図を示す罹患者において、遺伝子解析の結果、第2染色体上にある候補遺伝子Aの変異が認められた。家系2では、ARVC/Dの疑いがあり心室頻拍、心室細動による植え込み型除細動器植え込みを行った右脚ブロック症例において、第16染色体上にある候補遺伝子Bの変異が認められ、非罹患者には変異は認められなかった。いずれの家系においても、罹患者に認められた遺伝子変異は非罹患者には認められないことから、これらの遺伝子変異が病態に関与していると考えられるが、現在も詳細な遺伝子解析が進行中であり、結果が確定するまでは結論を待たなくてはならない。

G . 研究発表

1. 論文発表

1: Ejima K, Shoda M, Miyazaki S, Yashiro B, Wakisaka O, Manaka T, Hagiwara N. Localized reentrant tachycardia in the aorta contiguity

region mimicking perimitral atrial flutter in the context of atrial fibrillation ablation. *Heart Vessels*. 2012 Oct 19. Epub

2: Makita N, Seki A, Sumitomo N, Chkourko H, Fukuhara S, Watanabe H, Shimizu W, Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA, Probst V, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ, Delmar M. A connexin40 mutation associated with a malignant variant of progressive familial heart block type I. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012 Feb;5(1):163-72.

3: Sekiguchi H, Ii M, Jujo K, Thorne T, Ito A, Klyachko E, Hamada H, Kessler JA, Tabata Y, Kawana M, Asahi M, Hagiwara N, Losordo DW. Estradiol promotes neural stem cell differentiation into endothelial lineage and angiogenesis in injured peripheral nerve. *Angiogenesis*. 2012 Sep 2;16(1):45-58

4: Momose M, Miyake Y, Fukushima K, Nakajima T, Kondo C, Hagiwara N, Sato A, Uchigata Y, Sakai S. Prognostic Value of (123)I-Betamethyl-p-Iodophenyl-Pentadecanoic Acid Single-Photon Emission Computed Tomography in Diabetic Patients With Suspected Ischemic Heart Disease. *Circ J*. 2012 Oct 25;76(11):2633-9.

5: Matsuura K, Wada M, Shimizu T, Haraguchi Y, Sato F, Sugiyama K, Konishi K, Shiba Y, Ichikawa H, Tachibana A, Ikeda U, Yamato M, Hagiwara N, Okano T. Creation of human cardiac cell sheets using pluripotent stem cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Aug 24;425(2):321-7.

6: Ejima K, Shoda M, Manaka T, Hagiwara N. Ratchet syndrome. *Intern Med*. 2012;51(9):1139.

7: Yashiro B, Shoda M, Tomizawa Y, Manaka T, Hagiwara N. Long-term results of a cardiovascular implantable electronic device wrapped with an expanded polytetrafluoroethylene sheet. *J Artif Organs*. 2012 Sep;15(3):244-9.

8: Sekiguchi H, Ii M, Jujo K, Renault MA,

Thorne T, Clarke T, Ito A, Tanaka T, Klyachko E, Tabata Y, Hagiwara N, Losordo D. Estradiol triggers sonic-hedgehog-induced angiogenesis during peripheral nerve regeneration by downregulating hedgehog-interacting protein. Lab Invest. 2012 Apr;92(4):532-42.

9: Naganuma M, Shiga T, Sato K, Murasaki K, Hashiguchi M, Mochizuki M, Hagiwara N. Clinical outcome in Japanese elderly patients with non-valvular atrial fibrillation taking warfarin: a single-center observational study. Thromb Res. 2012 Jul;130(1):21-6.

2. 学会発表

1. 鈴木敦, 志賀剛, 江島浩一郎, 眞中哲之, 庄田守男, 中居賢司, 笠貫宏, 萩原誠久. 除細動器付き両室ペーシング治療を行った非虚血性心疾患患者における再分極異常と致死性不整脈との関連性. 第 60 回日本心臓病学会学術集会 2012.09.15
2. 眞中哲之, 庄田守男, 江島浩一郎, 八代文, 貫敏章, 加藤賢, 中野智彰, 萩原誠久. 両室同時ペーシング機能付き植込み型除細動器植込みにおける左室 4 極電極リードの初期使用経験. 第 5 回植込みデバイス関連冬季大会 2013.02.23
3. 眞中哲之, 庄田守男, 市川やよい, 江島浩一郎, 八代文, 柳下大悟, 脇坂収, 萩原誠久. ペースメーカー植込み患者の管理における遠隔モニタリングの有用性. 第 27 回日本不整脈学会学術大会 2012.07.07
4. 鈴木敦, 志賀剛, 江島浩一郎, 鈴木豪, 眞中哲之, 庄田守男, 中居賢司, 笠貫宏, 萩原誠久. 両心室ペーシング植込み患者における Tpeak-Tend と心室性不整脈. 第 29 回日本心電学会学術集会 2012.10.13
5. 江島浩一郎, 庄田守男, 八代文, 眞中哲之, 萩原誠久. Ratchet syndrome. 第 27 回日本不整脈学会学術大会 2012.07.07
6. 江島浩一郎, 庄田守男, 眞中哲之, 中野智彰, 樋口諭, 吉田健太郎, 貫敏章, 八代文, 加藤賢, 萩原誠久. 持続性心房細動に対する拡大肺静脈隔離後に僧帽弁周囲を巡回する興奮伝搬を呈した大動脈基部 左房接合部関連心房頻拍の 1 例. 日本不整脈学会カテテル・アブレーション関連秋季大会 2012 2012.11.23
7. 加藤賢, 江島浩一郎, 庄田守男, 眞中哲之, 八代文, 貫敏章, 吉田健太郎, 樋口諭, 明石まどか, 中野智彰, 磯田徹, 萩原誠久. 拡大肺静脈隔離術後に左房 肺静脈間ではなく左房 肺

静脈前庭部間の伝導再開で心房細動の再発を認めた 1 例. 日本不整脈学会カテテル・アブレーション関連秋季大会 2012 2012.11.23

8. 中野智彰, 萩原誠久, 庄田守男, 眞中哲之, 江島浩一郎, 八代文, 加藤賢, 貫敏章, 吉田健太郎, 樋口諭, 明石まどか, 磯田徹. 大動脈僧帽弁連合部の減衰伝導特性を示す室房副伝導路により治療抵抗性 PJRT が初発した 80 歳男性の 1 例. 日本不整脈学会カテテル・アブレーション関連秋季大会 2012 2012.11.23
9. 貫敏章, 江島浩一郎, 庄田守男, 眞中哲之, 八代文, 加藤賢, 吉田健太郎, 樋口諭, 明石まどか, 中野智彰, 磯田徹, 萩原誠久. 単純 CT 画像を用いた CARTO MERGE による心房細動アブレーション: 造影剤使用不能な高度腎機能障害症例に対する試み. 日本不整脈学会カテテル・アブレーション関連秋季大会 2012 2012.11.23
10. 樋口諭, 庄田守男, 中野智彰, 吉田健太郎, 貫敏章, 加藤賢, 八代文, 江島浩一郎, 眞中哲之, 萩原誠久. 通電中に時計回転から反時計回転に興奮伝導様式が変化した心房粗動の 1 例. 日本不整脈学会カテテル・アブレーション関連秋季大会 2012 2012.11.23
11. 鈴木豪, 鈴木敦, 志賀剛, 長沼美代子, 萩原誠久. QOL による発作性心房細動の薬物療法効果評価についての検討. 第 33 回日本臨床薬理学会 2012.11.29
12. 加藤賢, 庄田守男, 眞中哲之, 江島浩一郎, 八代文, 貫敏章, 吉田健太郎, 萩原誠久. 高度の癒着を認め、様々な経路からのアプローチによりリード抜去を行ったペースメーカーポケット感染の一例 第 226 回日本循環器学会関東甲信越地方会 2013.02.01
13. 貫敏章, 眞中哲之, 庄田守男, 江島浩一郎, 八代文, 加藤賢, 吉田健太郎, 樋口諭, 神波裕, 中野智彰, 萩原誠久. 右心耳に留置した心房リードの波高が alternative に変化した 2:1 房室ブロックの 1 例. 第 5 回植込みデバイス関連冬季大会 2013.02.23

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特になし

学校心臓検診で診断されたQT延長症候群患児の遺伝学的背景に関する研究

研究分担者 吉永正夫 国立病院機構鹿児島医療センター小児科部長

研究要旨

【背景】学校心臓検診（以下、心検）により多くのQT延長を示す児童生徒が抽出される。しかし、学校心臓検診によりQT延長症候群と診断され、遺伝子診断が行われた例の遺伝学的背景についての検討がなされていない。

【対象と方法】遺伝学的検査を依頼された血族関係のない18歳以下の117例の小児例を対象とした。このうち学校心臓検診により診断された69例を心検抽出群とした。疾患対照として、症状出現、家族検診、または他疾患で経過観察中にQT延長症候群と診断された48例を病院由来群とした。変異はradical mutation、high probability of pathogenicity、uncertain significanceに分類した。病院由来群のうちの2例が突然死した。心検抽出群69例中50例（72%）、病院由来群48例中23例（50%）に遺伝子変異が確認された。KCNQ1またはKCNH2に変異が見つかった49例をみると、心検抽出群33部位中31部位（94%）、病院由来群16部位中15部位（94%）の変異がradical mutation and/or high probability of pathogenicityであった。両群間のQTc値、QT延長症候群の家族歴、家族内の突然死歴に差を認めなかったが、QT延長症候群に関連する症状は診断前（9/69 vs 31/48, $p<0.0001$ ）および診断後（12/69 vs 17/48, $p=0.03$ ）ともに心検抽出群が病院由来群より有意に頻度が低かった。

【結論】今回の結果により、学校心臓検診はQT延長症候群患児の早期発見、診断後の症状出現防止に効果的であり、検診で抽出された患児であっても病院由来群と同様の経過観察が重要であると考えられた。

A. 研究目的

QT延長症候群（LQTS）は心筋の再分極異常を伴い、心電図上のQT延長と倒錯型心室頻拍による失神、突然死、救命された心停止を示す遺伝性疾患の一つである^{1,2)}。現在まで13の遺伝子型が報告されている^{3,4)}。QT延長症候群の遺伝学的背景については多くの報告があるが、ほとんどが症状を有するprobandや家族検診からの解析であり、また小児期と成人でのデータを組み合わせた報告である^{2,5-9)}。

日本では小学校、中学校、高校の各1年生に対する心電図検診が行われている。中学1年生時のQT延長を示す頻度は約1:1,200程度と考えられる¹⁰⁾。心臓検診によって抽出された群と症状があり病院を受診した群での臨床症状の報告¹¹⁾はあるが、心電図でスクリーニングされた患者での遺伝学的背景に関する報告は限られている¹²⁻¹⁴⁾。従って、心電図でスクリーニングされた患者と症状があって受診した患者との間で遺伝学的に差があるかどうか不明である。

遺伝学的検査の観点からみると、健康人に機能異常を伴わないsingle nucleotide variantsが存在するために、病的な変異かどうか決定できないことがある^{15,16)}。遺伝学的解析を行うと、どの研究でもde novo mutationが見つかるが^{12,17,18)}、設備の整った研究所でないと、すべてのde novo mutationsに対して電気生理学的検討を行うことは困難である。最近、KCNQ1とKCNH2に関して、mutationの部位から遺伝学的検査結果の解釈に関するアルゴリズムが提唱された¹⁶⁾。

そこで、本研究では学校心臓検診でスクリーニングされ、遺伝子診断を受けた児童生徒の遺伝学的特徴を明らかにし、心臓検診以外で診断され、遺伝子診断された群の遺伝学的特徴と比較することを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象

LQTS患児のうち、鹿児島大学医学部小児科（1993年11月~2005年3月）、または国立病院機構

鹿児島医療センター小児科(2005年4月~20012年12月)に遺伝子学的検査を依頼された血縁関係のない18歳以下の117名を対象とした。うち、学校心臓検診で抽出された69名を心検抽出群とした。疾患対象として、症状出現、家族検診、他の理由で受診中偶然に診断された例を病院由来群とした。失神、突然死、救命された心停止をLQTS関連症状とした。

2. 遺伝学的診断

書面を用いて informed consent を得た後、静脈血を採取しDNAを得た。*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2*, *KCNJ2*, *CAV3* について PCR products を精製後、ABI3130x1 Genetic Analyzer (ABI, Warrington, UK)を用いて direct sequence を行った。Timothy syndrome の症状を認める時には *CACNA1C* を、hyperaldosteronism を認める時には *KCNJ5* の direct sequence も行った。single nucleotide polymorphisms と報告されているものは除外した。ただし、G643S 変異 (*KCNQ1*) および D85N 変異 (*KCNE1*) は K 電流の30%程度の減少が報告されているため、mutations に加えた。

3. High probability of pathogenicity

変異を Giudicessi ら¹⁶⁾の報告に従い、radical mutation, of high probability of pathogenicity, of uncertain significance に分類した。splice-site, nonsense, frame-shift, および insertion/deletions を radical mutation とした¹⁶⁾。*KCNQ1* C-terminal の subunit assembly domain (SAD), *KCNH2* N-terminal の Per-Arnt-Sim (PAS) domain, PAS-associated C-terminal (PAC) domain, *KCNH2* C-terminal の cyclic nucleotide-binding domain (cNBD) にある変異を本研究での high probability of pathogenicity とした。*KCNQ1* の transmembrane/linker/pore と C-terminal regions, *KCNH2* の transmembrane/linker/pore regions 部にある変異も high probability of pathogenicity とした¹⁶⁾。残りの変異は uncertain significance とした。

4. 統計学的解析

平均値の差の検定、頻度の検定にはそれぞれ Mann-Whitney *U* test または Fisher's exact probability test を用いた。解析には IBM SPSS Statistics Version 21.0 (IBM Japan, Ltd., Tokyo)を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は1993年11月から2005年3月までは鹿児島大学医学部倫理委員会、2005年4月以降は国立病院機構鹿児島医療センター倫理委員会の承認を得て行った。また書面を用いて informed consent を得た。

C. 研究結果

心検抽出群69名、病院由来群48例の特徴を表1に示した。性、平均QTc値、LQTSの家族歴、突然死の家族歴、経過観察期間に差はなかった。平均年齢は病院由来群が有意に低かった。診断前の症状の既往、診断後の症状出現は心検抽出群が病院由来群より有意に低かった(それぞれ $p<0.001$, $p=0.03$)。

心検抽出群69例中50例(72%)、病院由来群48例中23例(50%)に変異が検出された。*KCNQ1*、*KCNH2*、*SCN5A*の頻度については両群間に差を認めなかった(表2)。

KCNQ1、*KCNH2*について、変異が high probability of pathogenicity に存在するか検討した(表3)。*KCNQ1*では心検抽出群18部位、病院由来群9部位ともに high probability of pathogenicity 部位に存在した。*KCNH2*では心検抽出群15部位中13部位(87%)、病院由来群7部位中6部位(86%)が high probability of pathogenicity 部位に位置していた。*KCNQ1*、*KCNH2*を合わせると、心検抽出群が33部位中31部位(94%)、病院由来群が16部位中15部位(94%)が high probability of pathogenicity 部位に位置していた。

D. 考察

心検抽出群の変異部位は、病院由来群と同様、ほとんどが high probability of pathogenicity 部位に位置していた。QTc値、LQTSの家族歴、突然死の家族歴、経過観察期間は両群で差を認めなかったが、診断前の症状既往および診断後の症状出現率は心検抽出群が病院由来群より有意に低かった。

心電図を用いたスクリーニングにより診断されたLQTSの遺伝学的背景に関するデータは少ない。Schwartz らは43,080名の新生児のLQTSスクリーニングを行い、うち16名の新生児の遺伝学的検査を行っている¹²⁾。*KCNQ1*、*KCNH2*、*KCNE1*、*KCNE2*がそれぞれ8例、5例、1例、1例、digenic

mutation 例 (*KCNQ1* および *KCNH2*) が 1 例あったと報告している。

日本においては 1994 年から学校心臓検診が小学校・中学校・高校の 1 年生に義務付けられ、心電図スクリーニングが行われている。この中で Hayashi らは 7,961 名の学童から 3 名に変異を確定し、3 名とも *KCNH2* であったと報告している¹³⁾。Yasuda らは LQTS 患児 13 例に遺伝学的検査を行い 8 例に変異を認め、8 例とも *KCNQ1* であり、うち 7 例が心臓検診から抽出された例であった¹⁴⁾。

本研究では 117 例の LQTS 患児のうち、69 例が心臓抽出群であり、比較的大きな集団での検討が可能であった。変異部位からみると *KCNQ1* は全て high probability of pathogenicity 部位、*KCNH2* でも 87% が high probability of pathogenicity 部位であり、病院由来群とほぼ同頻度を示した。QTc 値、家族歴、経過観察期間にも差を認めなかったが、診断前の症状既往、診断後の症状出現率は心臓抽出群が有意に頻度は低かった。これは学校心臓検診による心電図スクリーニングが LQTS の早期診断および症状出現に効果的であることを示していると同時に、心臓抽出群であっても症状受診群と同様な経過観察を行っていくべきであることを示していると考えられた。

E. 結論

学校心臓検診による心電図スクリーニングは LQTS 患児の早期発見と症状出現の予防に効果的であると考えられた。また、心臓抽出群であっても病院由来群と同様の経過観察が必要であることを示していると考えられた。

Disclosure

本報告書の内容は現在投稿中の下記論文、Yoshinaga M, Kucho Y, Sarantuya J, Ninomiya Y, Horigome H, Ushinohama H, Shimizu W, Minoru Horie. Genetic characteristics of children and adolescents with long QT syndrome diagnosed by school-based electrocardiographic screening program. の内容より研究報告書作成のため抜粋している。従って、originality は上記論文になる。

[参考文献]

1. Schwartz PJ, Crotti L, Insolia R. Long-QT

- syndrome: from genetics to management. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:868-77.
2. Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, et al. Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med.* 2003; 348:1866-74.
3. Ackerman MJ, Mohler PJ. Defining a new paradigm for human arrhythmia syndromes: phenotypic manifestations of gene mutations in ion channel- and transporter-associated proteins. *Circ Res.* 2010; 107:457-65.
4. Yang Y, Yang Y, Liang B, et al. Identification of a Kir3.4 mutation in congenital long QT syndrome. *Am J Hum Genet.* 2010; 86:872-80.
5. Spazzolini C, Mullally J, Moss AJ, et al. Clinical implications for patients with long QT syndrome who experience a cardiac event during infancy. *J Am Coll Cardiol.* 2009 Aug 25;54(9):832-7.
6. Goldenberg I, Moss AJ, Peterson DR, et al. Risk factors for aborted cardiac arrest and sudden cardiac death in children with the congenital long-QT syndrome. *Circulation.* 2008 Apr 29;117(17):2184-91.
7. Liu JF, Jons C, Moss AJ, et al. International Long QT Syndrome Registry. Risk Factors for Recurrent Syncope and Subsequent Fatal or Near-Fatal Events in Children and Adolescents With Long QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2011 Feb 22;57(8):941-50.
8. Hobbs JB, Peterson DR, Moss AJ, et al. Risk of aborted cardiac arrest or sudden cardiac death during adolescence in the long-QT syndrome. *JAMA.* 2006 Sep 13;296(10):1249-54.
9. Sauer AJ, Moss AJ, McNitt S, et al. Long QT syndrome in adults. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49:329-37.
10. Fukushige T, Yoshinaga M, Shimago A, et al. Effect of age and overweight on the QT interval and the prevalence of long QT syndrome in children. *Am J Cardiol.* 2002; 89:395-398.
11. Yoshinaga M, Nagashima M, Shibata T, et al. Who is at risk for cardiac events in young patients with long QT syndrome? *Circ J.* 2003; 67:1007-1012.
12. Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, et al. Prevalence of the congenital long-QT syndrome.

Circulation. 2009;120:1761-7

13. Hayashi K, Fujino N, Uchiyama K, et al. Long QT syndrome and associated gene mutation carriers in Japanese children: results from ECG screening examinations. *Clin Sci (Lond)*. 2009;117:415-24.
14. Yasuda K, Hayashi G, Horie A, et al. Clinical and electrophysiological features of Japanese pediatric long QT syndrome patients with KCNQ1 mutations. *Pediatr Int*. 2008;50:611-4.

G . 研究発表

1. 論文発表

- (1) Yoshikane Y, Yoshinaga M, Hamamoto K, Hirose S. A case of long QT syndrome with triple gene abnormalities: Digenic mutations in KCNH2 and SCN5A and gene variant in KCNE1. **Heart Rhythm**. 2012 Dec 10. [Epub ahead of print]
- (2) Yoshinaga M, Kucho Y, Sarantuya J, Ninomiya Y, Horigome H, Ushinohama H, Shimizu W. Genetic Characteristics of Children and Adolescents with Long QT Syndrome Diagnosed by School-Based Electrocardiographic Screening Programs. (in submission)
- (3) 吉永正夫 . 乳児突然死症候群と QT 延長症候群 . **日本小児科学会雑誌**. 2013;117(1):44-48.
- (4) 吉永正夫 , 長嶋正實 . 自動計測とマニュアル計測での QT 時間の差に関する検討 . **心電図**. 2013; 32(5): (in press)

2. 学会発表 (国際学会)

- (1) Yoshinaga M Long QT syndrome: Diagnosis, Prevalence, Risk prediction, and Treatment in the Pediatric Population. **The 4th Congress of Asia-Pacific Pediatric Society**, Taiwan, 2012.4.6.
- (2) Yoshinaga M Early Root of Cardiovascular risks. **The 4th Congress of Asia-Pacific Pediatric Society**, Taiwan, 2012.4.7.
- (3) Yoshinaga M, Kucho Y, Horigome H, Ushinohama H, Ishikawa S, Yoshikane Y. Genetic background of long QT syndrome in infants, children, and adolescents. **The 46th Annual Meeting of the Association for European Pediatric and Congenital Cardiology** 2012, Istanbul, 2012.5.24
- (4) Yoshinaga M, Kucho Y, Ninomiya Y, Tanaka Y.

Predictive factors for future symptoms and dropout in patients with long QT syndrome in a single pediatric cardiovascular center in Japan. **The 46th Annual Meeting of the Association for European Pediatric and Congenital Cardiology** 2012, Istanbul, 2012.5.26

- (5) Yoshinaga M, Ninomiya Y, Tanaka Y, Tanoue K, Nuruki N, Sonoda M. Body mass index and body mass index Z score trajectories from birth to adolescence. **Scientific Sessions of American Heart Association** 2012, Los Angeles, 2012.11.6.
- (6) Yoshinaga M, Ninomiya Y, Tanaka Y, Tanoue K, Nuruki N, Sonoda M. Electrocardiographic Screening of One-Month-Old Infants with High Risk for Sudden Death in Japan. **Scientific Sessions of American Heart Association** 2012, Los Angeles, 2012.11.7.
- (7) Aiba T, Toyoda F, Makita N, Matsuura H, Makimoto H, Yamagata K, Horie M, Fukushima N, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano KF, Yamagishi M, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara N, Sumitomo N, Kamakura S, Shimizu W. Biophysical Properties of Na Channel in the S5-S6 High Risk LQT3 Mutations of the Long QT Syndrome. **Scientific Sessions of American Heart Association** 2012, Los Angeles, 2012.11.7.

3. 学会発表 (国内学会)

- (1) 吉永正夫 , 牛ノ濱大也、佐藤誠一、堀米仁志、田内宣生、住友直方、白石裕比湖、野村裕一、長嶋正實 . 1 か月健診時における心電図スクリーニングによる乳児突然死予防に関する研究 . 第 115 回**日本小児科学会学術集会**, 福岡市、平成 24 年 4 月 22 日
- (2) 田内宣生、吉永正夫 , 長嶋正實、住友直方、上野倫彦、堀米仁志、立野 滋、泉田直己、岩本真理、高橋良明、牛ノ濱大也、西原栄起 . 肥大型心筋症を標的とする学校心臓検診心電図所見 . ST-T の異常 . 第 48 回**日本小児循環器学会学術集会**, 京都市、平成 24 年 7 月 5 日
- (3) 大橋啓之、淀屋典子、大槻祥一郎、澤田博文、早川豪俊、駒田美弘、太田邦雄、市田路子、新井正基、高橋 努、新垣義夫、牛ノ濱大也、

- 立野 滋、佐藤誠一、鈴木嗣敏、檜垣高史、岩本眞理、**吉永正夫**、長嶋正實、住友直方、児童生徒の院外心停止への対応のパラダイムシフト：小児へのAEDの有効性、学校の役割、病因論的基礎、今後の課題。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月5日
- (4) 太田邦雄、清水直樹、新田雅彦、丸山征四郎、住友直方、牛ノ濱大也、小穴慎二、岡本吉生、佐藤誠一、三谷義英、**吉永正夫**。日本の小児蘇生学の現状と今後の課題。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月5日
- (5) 岩本眞理、田内宣生、長嶋正實、**吉永正夫**、住友直方、上野倫彦、堀米仁志、立野 滋、泉田直己、高橋良明、牛ノ濱大也。肥大型心筋症の心電図の検討(第2報)。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月5日
- (6) **吉永正夫**、九町木綿、Sarantuya J、堀米仁志、牛ノ濱大也、石川司朗、福見大地、田内宣生、吉兼由佳子、長嶋正實。小児期QT延長症候群の遺伝学的背景に関する研究。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月6日
- (7) **吉永正夫**。QT延長症候群のスクリーニングおよび管理基準(特に運動処方基準)に関する研究。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月6日
- (8) 二宮由美子、九町木綿、田中裕治、**吉永正夫**。QT延長症候群患児の症状出現およびドロップアウトの予測因子に関する単一施設での検討。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月6日
- (9) 岩本眞理、**吉永正夫**、泉田直己、住友直方、高橋良明、富田 英、長嶋正實、山内邦昭、新垣義夫、上野倫彦、牛ノ濱大也、太田邦雄、佐藤誠一、田内宣生、高木純一、立野 滋、檜垣高史、堀米仁志、市田落子、白石裕比湖。先天性心疾患の学校生活管理指導指針ガイドライン(平成23年度改定)。第48回**日本小児循環器学会学術集会**、京都市、平成24年7月6日
- (10) 櫛木大祐、**吉永 正夫**、九町木綿、古城圭馴美、田中祐治。LQT-13(KCNJ5)が判明した1例。第60回**日本心臓病学術集会**、金沢市、平成24年9月15日
- (11) 中江広治、櫛木大祐、九町木綿、古城圭馴美、田中祐治、**吉永 正夫**。LQT13(KCNJ5)の1例。第17回**日本小児心電学研究会**、沖縄、平成24年10月20日
- (12) 二宮由美子、九町木綿、田中裕治、**吉永正夫**。学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群患児の症状出現の予測因子に関する単一施設での検討。第113回**日本循環器学会九州地方会**、熊本、平成24年12月8日

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表1 発端者の特徴

	心検抽出群*	病院由来群*	p value
症例数	69	48	
診断年齢	10.4 ± 3.4	7.4 ± 6.0	0.04
診断年齢 (中央値、範囲)	12.2 (6.2 18.8)	8.9 (0 17.2)	
性 (男子/女子)	36/33	27/21	0.66
平均 QT 時間 (ms) [†]	466 ± 51	442 ± 83	0.09
平均 RR 時間 (ms) [†]	887 ± 170	802 ± 261	0.09
QTc (Bazett) (ms ^{1/2}) [†]	496 ± 40	502 ± 543	0.84
症状の既往	9 (13 %)	31 (65 %)	<0.0001
診断後の症状 [†]	12 (17 %)	17 (35 %)	0.03
LQTS の家族歴 [‡]	27 (39 %)	18 (38 %)	>0.99
突然死の家族歴 [‡]	5 (7 %)	7 (15 %)	0.23
観察期間 [†]	4.6 ± 4.9	5.2 ± 5.7	0.36

*: 心検抽出群は学校心臓検診でスクリーニングされ、QT 延長症候群と診断された群。病院由来群は症状出現、家族検診、または偶然診断された群。

†: 平均値 ± 標準偏差。

‡: 人数 (%)

略語 ; LQTS, QT 延長症候群, SD, 30 歳未満の突然死。

表2 検出された変異

	心検抽出群	病院由来群	Total
Proband 数	69	48	117
変異検出数	50 (72%)	23 (50%)	73 (62%)
<i>KCNQ1</i>	24 (48 %)*	11 (48 %)*	35 (48 %)
<i>KCNH2</i>	16 (32 %)	6 (30 %)	22 (30 %)
<i>SCN5A</i>	12 (24 %)	5 (26 %)	17 (23 %)
<i>KCNE1</i>	1 (2%)	4 (17%)	5 (7%)
<i>KCNJ2</i>	2 (4 %)	0 (0 %)	2 (3 %)
<i>CACNA1c</i>	0 (0 %)	1 (4 %)	1 (1 %)
<i>KCNJ5</i>	1 (2 %)	0 (0 %)	1 (1 %)

Multiple mutations 7 (14 %) 5 (22 %) 12 (16 %)

複数の変異があった場合、それぞれの遺伝子にカウントした。

*; 変異が見つかった例数 (%)。

表 3 両群での high probability of pathogenicity の頻度

遺伝子	変異の分類	心検抽出群	病院由来群
<i>KCNQ1</i> ^{‡§}	Radical mutation*	4	1
	High probability†	14	8
	Variants of uncertain significance‡	0	0
<i>KCNH2</i> [‡]	Radical mutation* & high probability†	1	1
	Radical mutation*	5	1
	High probability†	7	4
	Variants of uncertain significance‡	2	1

*; Radical mutations は splice-site, nonsense, frame-shift, and insertion/deletions とした。

†; KCNQ1 C-terminal の subunit assembly domain (SAD), KCNH2 N-terminal の Per-Amt-Sim (PAS) domain, AS-associated C-terminal (PAC) domain, KCNH2 C-terminal の cyclic nucleotide-binding domain (cNBD) にある変異を本研究での high probability of pathogenicity とした。KCNQ1 の transmembrane/linker/pore と C-terminal regions, KCNH2 の transmembrane/linker/pore regions 部にある変異も high probability of pathogenicity とした

§; Variant of uncertain significance は radical mutation でもなく、high probability of pathogenicity 部位にも位置しないものとした。

胎児・新生児期・乳児期に診断される先天性QT延長症候群の 遺伝子型と臨床的特徴に関する研究

研究分担者 堀米 仁志 筑波大学医学医療系 教授
筑波大学附属病院茨城県小児地域医療教育ステーション 部長

研究要旨

胎児・新生児期・乳児期に心室頻拍や房室ブロックを伴って発症する先天性QT延長症候群（LQTS）は重症に経過することが多い。我が国におけるその発生状況、遺伝的背景、臨床経過を明らかにするため、小児循環器科医を対象とした全国アンケート調査を継続して行った。その結果、全国42施設から計80例の登録があった。診断時期は胎児期が24例、新生児期が37例、乳児期が19例で、新生児期では特に日齢0-2に診断される症例が多かった。診断契機のなかで頻度が高かったのは心室頻拍、LQTの家族歴、房室ブロック、洞性徐脈の4者で、これらのうち2項目以上を伴う症例ではLQTSを疑う必要があると考えられた。遺伝子検査は80例中58例（68%）で施行され、そのうち44例（72.5%）で遺伝子型が同定された。心室頻拍、torsades de pointes (Tdp)、房室ブロックを合併して緊急の治療を必要としたのはLQTS2型（KCNH2変異）、3型（SCN5A変異）および遺伝子型未確定例がほとんどを占めた。死亡例7例中6例も遺伝子型未確定例であった。これらの重症不整脈合併例のなかで家族歴があったのは約1/3の症例であり、家族歴の存在から発症を予測できない症例が多いことも示された。したがって、難治性不整脈合併例では、遺伝子型が未確定であっても、早期からβ遮断剤、メキシレチン、マグネシウムを主体とした多剤抗不整脈薬治療を積極的に行うとともに、徐脈誘発性の心室頻拍を繰り返す症例では、新生児・乳児であっても遅滞なくペースメーカ・植込み型除細動器治療を行うことが推奨される。

A．研究目的

胎児・新生児期・乳児期に心室頻拍や房室ブロックを伴って発症する先天性QT延長症候群(LQTS)は重症に経過し、難治性のことが多いと考えられているが、従来、わが国におけるその発生状況、遺伝的背景、臨床経過は明らかでなかった。2009年から、著者らは初めてLQTS早期診断例の全国アンケート調査を行い、その途中経過を報告した(Horigome H, et al: CircArrhythm Electrophysiol 2010)。しかし、その時点までに登録された症例数は十分とは言えず、その診断基準、治療法は十分確立されたとは言えない。

また、分子生物学の進歩により、最近のわが国の乳児死因第3位(または4位)を占める乳児突然死症候群(SIDS)の一部はLQTSを代表とする遺伝性不整脈が原因となっていることが明らかとなり、遺伝情報と臨床情報を統合した新たな効果的介入法の確立が強く求められている。そこで本研究では、これらの疾患の新たな診断、治療アルゴリズムを確立することを目的として、発生状況、治療状況、予後についての全国調査を継続し、遺伝情報と臨床情報とを詳細に検討した。

B．研究方法

胎児・新生児期から乳児期早期に発症するLQTの

調査は、日本小児循環器学会評議員、日本小児心電学研究会幹事の施設を中心に、全国の主要な周産期・小児循環器施設を対象として、以前から本研究分担者が中心となって行っている調査を継続する形で行った。はじめに再度、症例の有無を調査し(一次調査)、新たな症例があると回答した施設を対象として詳細な調査を行った(二次調査)。二次調査の項目は下記の通りである。

施設名、症例の施設内匿名化番号、イニシャル、生年月、性

診断時の年齢(日齢・月齢)または妊娠週数

臨床症状(胎児・新生児期の不整脈、心拍数、失神、痙れん、心不全、救命された心停止、その他)

心電図所見と不整脈(心拍数、発症時心電図上のQT時間、洞性徐脈、心室心拍、倒錯型心室頻拍、房室ブロック、その他の不整脈)

家族歴の有無(先天性QT延長症候群、その他の不整脈、突然死など)及びその予後

遺伝子型

治療内容:急性期治療及び慢性期治療

(薬物治療:種類、投与量、投与開始時年齢、投与期間)

(デバイス治療:ペースメーカー、植込み式除細動器などの種類と施行時年齢)

観察期間と予後(生存/死亡、心停止による神経学的後遺症の有無)

これらの全国調査によって登録された胎児・新生児期・乳児期発症のLQTについて、特に遺伝的背景に注目して臨床経過、治療とその効果、予後について解析した。LQTSのSIDSへの関与については、文献的に報告されているSIDSの遺伝子変異の種類と、今回の調査で登録された症例の遺伝子変異との関連を考察した。

<倫理面への配慮>

遺伝性不整脈の全国調査は「疫学研究」に該当すると考えられ、「疫学研究指針」の適用範囲内と考えられる。本調査は筑波大学附属病院倫理委員会に倫理審査申請し、承認を得ている(管理番号:H19-157)。これまでに集積した遺伝子診断例および新たに診断された例については、いずれも臨床データを匿名化した上で再構築し、データベース化して公開することについて、あらためて各研究協力施設において患者、家族の同意を得るものとした。

C. 研究結果

胎児・新生児期から乳児期早期に発症したLQTの臨床像と遺伝子型

胎児・新生児期から乳児期早期に発症したLQTの全国調査に対して、全国42施設から80例の登録があった。診断時期は胎児期が24例、新生児期が37例、乳児期が19例であった。診断契機のなかで頻度が高かったは心室頻拍、LQTの家族歴、房室ブロック、洞性徐脈の4者で、それ以外に痙攣/失神、救命された心停止、チアノーゼ/蒼白などであった。突然死例または救命された心停止例も14例にみられた。

(表1)

表1 LQTが最初に診断された(または疑われた)時期と契機

	胎児期	新生児期	乳児期	n (%)
VT/TdP	7 (29)	13(35)	3(16)	23 (29)
家族歴	2 (8)	14(38)	4(21)	20 (25)
房室ブロック	7 (29)	8(22)	4(21)	19 (24)
洞性徐脈	11 (54)	6(22)	0(0)	17 (21)
痙攣/失神	-	4(11)	4(21)	8 (10)
救命された心停止	-	2(6)	5(26)	7 (9)
心電図でのQT延長	-	3(8)	3(16)	6 (8)
チアノーゼ/蒼白	-	3(8)	1(5)	4 (5)
	24(30)	37(46)	19(24)	*重複あり

遺伝子検査は80例中58例(68%)で施行され、そのうち44例(72.5%)で遺伝子型が同定された(図1)。遺伝子型別の心拍数、QTc値、不整脈の合併率、家族歴の有無について表2に示した。心室頻拍、torsades de pointes (Tdp)、房室ブロックを合併して

緊急の治療を必要としたのは先天性QT延長症候群2型(KCNH2変異)、3型(SCN5A変異)および遺伝子変異を同定できなかった症例がほとんどを占めた。これらのタイプにおける家族歴の存在は25~33%であり、家族歴の存在から発症を予測できない症例が多かった。一方、先天性QT延長症候群1型(KCNQ1変異)は洞性徐脈が主な症状で、緊急治療を要する不整脈を合併することはほとんどなく、家族歴の存在が診断の契機となることが多かった。

図1 遺伝子検査の結果

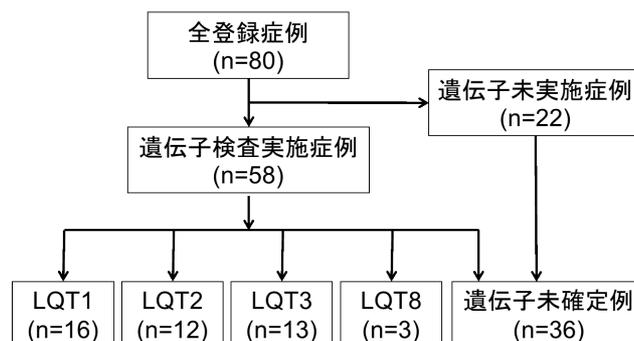


表2 遺伝子型別の心拍数、QTc値、不整脈の合併率、家族歴の有無

房室ブロックを伴ったLQT

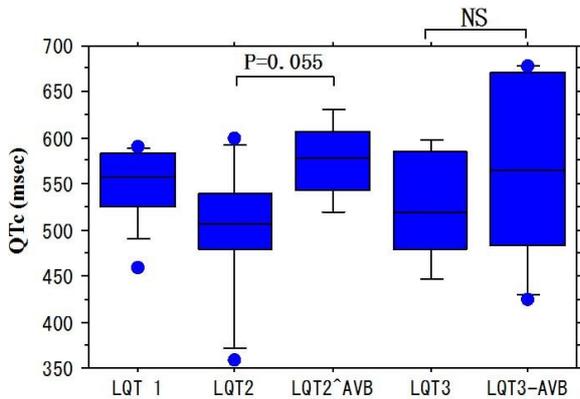
本研究で登録された胎児・新生児期から乳児期早

	LQT1 (n = 16)	LQT 2 (n = 12)	LQT 3 (n = 13)	LQT8 (n = 3)	Unidentified (n = 36)
心拍数, bpm	115±18	99±36	98±40	102±38	101±33
QTc (Bazett), msec	544±39	526±72	527±92	528±92	539±68
不整脈					
洞性徐脈,* n (%)	3(19)	1 (8)	1 (8)	0 (0)	12 (33)
房室ブロック,* n (%)	1 (6)	5 (42)	6 (46)	3 (100)	12 (33)
VT/TdP,* n (%)	0 (0)	9 (75)	10 (77)	2 (67)	10 (28)
家族歴, n(%)	13 (81)	4 (33)	4 (31)	0 (0)	9 (25)

* 重複あり

期診断例のなかで、(機能的2:1)房室ブロックを伴った症例は28例で、その遺伝子型はほとんどがLQT2、LQT3、LQT8及び遺伝子型未判明のものであった(表2)。一般的には、その多くはQT時間が非常に長いために房室伝導が機能的にブロックされると考えられているため、各遺伝子型において、房室ブロックを伴う例と伴わない例のQT時間を比較した。その結果、LQT2では房室ブロックを伴う方がQT時間がやや長い傾向があったものの、LQT3では明らかな差はなかった。また、LQT1と他の遺伝子型のQT時間を比べてみると、LQT3、LQT2症例に著明に長い症例が含まれたものの、群間比較では有意に長いということとはなかった。(図2)

図2 房室ブロックを伴ったLQT症例の遺伝子型別QT時間



胎児・新生児期から乳児期早期に発症したLQTの治療の現況

胎児・新生児期から乳児期早期に発症する重症型LQTでは心室頻拍、torsade de pointes、2:1機能的房室ブロックなど重症な不整脈を伴うことが多く、早期から多剤薬物療法、ペースメーカーを含めた積極的な治療を必要とすることが多い。本研究で登録された症例の治療状況を表3に示した。

急性期治療の対象となったのはほとんどがLQT2, LQT3, LQT8及び遺伝子型が同定されなかった症例であり、β遮断薬、リドカイン、マグネシウムを中心とした多剤薬物療法が行われ、一部の症例ではそれにペースメーカーを組合せて治療されていた。これらの症例では、維持療法としてもβ遮断薬とメキシレチンの経口投与が継続され、一部の症例でペースメーカー治療が追加されていた。LQT1では周産期から乳児期には重症不整脈がほとんどないため、約半数の症例で、予防治療としてβ遮断薬が投与されているにとどまった。

表3 遺伝子型別の治療状況

	LQT1 (n = 16)	LQT 2 (n = 12)	LQT 3 (n = 13)	LQT8 (n=3)	Unidentified (n = 36)
急性期治療					
β遮断薬, n (%)	0 (0)	0 (0)	2 (15)	0 (0)	2 (6)
メキシレチン, n (%)	0 (0)	2 (17)	1 (8)	1 (33)	2 (6)
リドカイン, n (%)	1 (6)	2 (17)	6 (46)	0 (0)	6 (17)
マグネシウム, n (%)	0 (0)	4 (36)	4 (31)	0 (0)	4 (12)
ペースメーカー, n (%)	0 (0)	2 (17)	5 (38)	0 (0)	4 (12)
維持療法					
β遮断薬, n (%)	7 (44)	12 (100)	10 (77)	2 (67)	20 (56)
メキシレチン, n (%)	1 (6)	6 (50)	11 (85)	1 (33)	17 (42)
ペースメーカー, n (%)	0 (0)	2 (17)	5 (38)	0 (0)	3 (8)
ICD, n (%)	0 (0)	0 (0)	2 (15)	0 (0)	1 (3)

死亡例

死亡例は7例 (8.8%) であった (表4)。そのう

症例	死亡時期	診断時期	遺伝子型	治療内容
1	8日	在胎31週	未確定	Lido, ISP, PM
2	57日	在胎36週	未確定	BB, Mexil
3	57日	1日	LQT8	BB
4	22か月	1か月	未確定	BB, Mexil, PM
5	2年	1か月	未確定	BB, Mexil, Lido, ISP, PM
6	4年	0日	未確定	BB, Mexil, ISP
7	5年	4日	未確定	-

ち6例は遺伝子未確定例であり、LQT2, LQT3は含まれなかった。ほとんどの症例で多剤薬物療法が施行されていた。

表4 死亡例

D. 考察

本研究で得られた最も重要な知見は、早期発症の先天性QT延長症候群の80%以上が胎児期(妊娠後期)から新生児期に発症し、新生児期の中でも生後0~2日に一番の発症ピークがあったこと、その多くが心室頻拍・Tdpや機能的房室ブロック、失神、けいれん、心停止など重症な症状を呈して診断されるため、緊急の対応を必要としていたことである。また、遺伝子変異のタイプに特徴があり、多くは2型または3型(一部8型)の先天性QT延長症候群であることが示された。しかし、家族歴があったのはその約1/3に留まり、周産期から新生児期の重症な臨床経過を予測されていたものは少なかった。一方、1型の先天性QT延長症候群は80%以上が家族歴陽性で、出生後早期にスクリーニングとして心電図検査を施行されて診断された症例が多く、早期から治療を要する重症な不整脈を呈したものはほとんどなかった。

我が国では従来、先天性QT延長症候群は小学校入学時の心電図検診で初めて診断される例や、小児期から思春期にかけて失神などの症状を呈して診断される例が多く、遺伝子型では1型が最多で、2型、3型がそれに続くことが知られている。しかし、胎児期~乳児期に重症な不整脈を呈して診断されるものは遺伝子型別の頻度が異なり(2型、3型が大半を占める)、難治性のものが多く、緊急の対応を必要とするにもかかわらず、家族歴からは発症を予測できないことが判明した。新生児期~乳児期の心電図検診は行われていないため、症状がなければその時期に心電図で診断されることはない。また、胎児では胎児心磁図など特殊な方法を用いない限りQT時間を計測することは困難である。その観点からは、今回、胎児期~新生児期にQT延長症候群を疑う徴候として、持続性徐脈、間歇的頻拍、房室ブロックが重要であることが示されたのは、今後、LQTSの早期診断に役立つものと考えられる。

機能的房室ブロック(特に2:1ブロック)は早期発症のLQTに特徴的にみられる不整脈として知られている。これは、QT延長(再分極過程の延長)の程度が強いため2:1で心室の不応期に当たり、房室伝導が機能的にブロックされることが原因と考えられている。しかし、本研究におい

て房室ブロックを伴う例と伴わない例の QT 時間を各遺伝子型において比較した結果、必ずしも QT 延長の程度が強い症例に房室ブロックが発生しやすいわけではないことが明らかとなった。LQT2 や LQT3 では QT 時間が著明に延長していても房室ブロックを伴うことがあり、LQT1 では QT 延長が強くても房室ブロックはほとんど起きない。このことは、QT 延長の程度以外にも、房室結節自体のイオンチャネル分布の違いなど、他の因子が関与していることを示唆していた。

治療に関しては、重症な不整脈に対する急性期治療と慢性期不整脈予防の治療に分けて考える必要がある。救急治療の現場で遺伝子型をすぐに知ることは困難であるが、今回の調査では β 遮断剤、メキシレチン、マグネシウムを組み合わせた積極的な多剤治療法の有効性が示された。また、徐脈誘発性の心室性不整脈例では、新生児期、乳児期であってもペースメーカー治療を遅滞なく施行すべきであると考えられた。特に機能的房室ブロックを伴う LQT の治療においてペースメーカーは重要な役割を果たすことが報告されている。今回の登録症例と、米国とフランスにおける過去の報告例の治療内容を比較した (表 4)。

表 4 房室ブロックを伴う早期発症 LQT に対する治療と予後の比較

報告者	Japan Circ A/E 2010	Aziz Heart Rhythm 2010	Lupoglazoff JACC 2004
n	28	12	15
QTc (B)ms	578±80	616±99	558±62
遺伝子型	LQT2,3,8,ND	LQT2,3,ND	LQT2, ND
B-blocker使用	19/28	12/12	14/15
Mexiletine使用	19/28	3/12	0/15
ペースメーカー	10/28 (ICD1)	11/12 (ICD3)	13/15
死亡数(%)	5/28 (18%) LQT8 1 gene(-) 4	0/12 (0%)	3/15 (20%) LQT2 1 gene(-) 2

ND: not determined

その結果、我が国ではペースメーカー使用例が明らかに少なく、 β 遮断剤とメキシレチンを主体とした薬物療法のみで管理されている症例が多かった。欧米においてペースメーカー使用によって救命率が向上していることを考えると、ペースメーカー治療の適応基準についてもさらに検討していく必要があると思われる。

慢性期治療においては、できるかぎり遺伝子検査を行い、遺伝子型に基づいた抗不整脈薬を選択することが重要である。同じタイプの QT 延長症候群であっても、変異の種類によって薬剤の効果

は異なるため、変異部位や変異の種類による詳細な治療アルゴリズムを確立していくことが望まれる。

E . 結論

胎児期から乳児期に発症する先天性 QT 延長症候群の全国調査により、早期から重症不整脈を呈する症例の多くは 3 型及び 2 型であり、難治例が多いことが判明した。心電図所見としては QT 時間の延長、特徴的な T 波形態、洞性徐脈、間歇的な心室頻拍・Tdp、房室ブロックが重要である。特に洞性徐脈を見逃さないことが必要である。これらの症例の 2/3 以上は家族内発症を伴わないため、家族歴の存在から予測できない場合も少なくない。したがって、難治性不整脈に対しては、遺伝子型が未確定であっても、早期から 遮断剤、ナトリウムチャネル遮断薬 (メキシレチン)、マグネシウムを主体とした多剤抗不整脈薬治療を行うことが推奨される。また、徐脈誘発性の心室頻拍を繰り返す症例では、新生児であっても遅滞なくペースメーカー・植込み型除細動器治療を行うことが救命のために必要となる。慢性期治療においては詳細な遺伝子型に基づいて薬剤を選択することが重要である。

G . 研究発表

論文発表

- Mitchell JL, Cuneo BF, Etheridge SP, **Horigome H**, Weng HY, Benson DW: Fetal Heart Rate Predictors of Long QT Syndrome. Circulation 126: 2688-2695, 2012
- Lin L, **Horigome H**, Nishigami N, Ohno S, Horie M, Sumazaki R: Drug-induced QT-interval prolongation and recurrent torsade de pointes in a child with heterotaxy syndrome and KCNE1 D85N polymorphism. J Electrocardiol 45: 770-3, 2012
- Kato Y, **Horigome H**, Takahashi-Igari M, Sumitomo N, Aonuma K: Tachycardia associated with twin atrioventricular nodes in an infant with heterotaxy and interruption of inferior vena cava. Pacing Clin Electrophysiol 35(10): e302-5, 2012
- Kaneshiro T, Naruse Y, Nogami A, Tada H, Yoshida K, Sekiguchi Y, Murakoshi N, Kato Y, **Horigome H**, Kawamura M, Horie M, Aonuma K: Successful catheter ablation of bidirectional ventricular premature contractions triggering ventricular fibrillation in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with RyR2

mutation. Circ Arrhythm Electrophysiol 5(1): e14-7, 2012

5. Chida A, Shintani M, Yagi H, Fujiwara M, Kojima Y, Sato H, Imamura S, Yokozawa M, Onodera N, **Horigome H**, Kobayashi T, Hatai Y, Nakayama T, Fukushima H, Nishiyama M, Doi S, Ono Y, Yasukouchi S, Ichida F, Fujimoto K, Ohtsuki S, Teshima H, Kawano T, Nomura Y, Gu H, Ishiwata T, Furutani Y, Inai K, Saji T, Matsuoka R, Nonoyama S, Nakanishi T: Outcomes of childhood pulmonary arterial hypertension in BMPR2 and ALK1 mutation carriers. Am J Cardiol, 110(4): 586-93, 2012
6. Kato Y, Takahashi-Igari M, Inaba T, Sumazaki R, **Horigome H**: Comparison of PR intervals determined by fetal magnetocardiography and pulsed Doppler echocardiography. Fetal Diagn Ther 32(1-2): 109-15, 2012
7. **Horigome H**, Katayama Y, Yoshinaga M, Kato Y, Takahashi H, Sumazaki R: Significant associations among hemostatic parameters, adipokines, and components of the metabolic syndrome in Japanese preschool children. Clin Appl Thromb Hemost 18(2): 189-94, 2012
8. 石川康宏、堀畑 聡、**堀米仁志**、戸田 浩、章 忠: 第3世代の wavelet と独立成分分析による心電図・心磁図の解析. 心臓 44 suppl 1: 21-28, 2012
9. Miyoshi T, Maeno Y, Sago H, Inamura N, Yasukohchi S, Kawataki M, **Horigome H**, Yoda H, Taketazu M, Shozu M, Nii M, Kato H, Hayashi S, Hagiwara A, Omoto A, Shimizu W, Shiraishi I, Sakaguchi H, Nishimura K, Ueda K, Katsuragi S, Ikeda T: Evaluation of transplacental treatment for fetal congenital bradyarrhythmia: - nationwide survey in Japan -. Circ J 76(2): 469-76, 2012

著書・総説

1. **堀米仁志**: QT 延長症候群. 小児疾患の診断治療基準、小児内科、44 (増刊号): pp522-3、2012、東京医学社、東京

学会発表

1. 高橋実穂、**堀米仁志**、林 立申、中村昭宏、加藤愛章、金井雄、西村一記、齋藤誠、宮園弥生、須磨崎亮: 先天性横隔膜ヘルニアにおける肺高血圧症の中期予後. 第115回日本小児科学会学術集会 2012/4/20、福岡
2. 林 立申、**堀米仁志**、中村昭宏、加藤愛章、高橋実穂、須磨崎亮: 乳幼児期徐脈性不整脈

に対する Cilostazol の使用経験. 第115回日本小児科学会学術集会 2012/4/20、福岡

3. 加藤愛章、高橋実穂、林 立申、中村昭宏、**堀米仁志**: 胎児不整脈診断における心磁図の意義. 第27回日本生体磁気学会大会 2012/5/31、東京・北千住
4. 加藤愛章、**堀米仁志**、住友直方、鈴木博、竹田津未生、牛ノ濱広也、高橋一浩、高橋秀人、吉永正夫、長嶋正實: 胎児~乳児期発症の先天性QT延長症候群の臨床像(全国調査結果の続報). 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会 2012/7/5、京都
5. 中村昭宏、**堀米仁志**、林 立申、加藤愛章、高橋実穂、須磨崎亮: 新しい3D心エコー法を用いたFallot四徴症術後の右室容積と肺動脈弁逆流率の評価. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会 2012/7/5、京都
6. 林 立申、**堀米仁志**、高橋実穂、西上奈緒子、齋藤博太、中村昭宏、加藤愛章、金本真也、平松祐司、堀江稔: KCNE1 D85N多型を背景に持ち、薬剤投与後に予期せぬQT延長を来した2小児例. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会 2012/7/5、京都
7. **堀米仁志**: ワークショップ・小児循環器専門医の育成環境を考える、大学病院小児科における小児循環器専門医の育成. 第48回日本小児循環器学会総会・学術集会 2012/7/5、京都
8. 金城貴士、成瀬代士久、中野恵美、黒木健志、井藤葉子、町野 毅、山崎 浩、常岡秀和、五十嵐都、吉田健太郎、関口幸夫、多田浩、青沼和隆、加藤愛章、**堀米仁志**、合屋雅彦、野上昭彦: リアノジン受容体遺伝子異常を伴うカテコラミン誘発性多形性心室頻拍に対するカテーテルアブレーションの有用性. 第27回日本不整脈学会学術集会 2012/7/6、横浜
9. カテーテルアブレーションにより心室同期不全が改善したWPW症候群の男児例. 加藤愛章、**堀米仁志**、高橋実穂、林 立申、中村昭宏、青沼和隆: 第17回日本小児心電学研究会 2012/10/19、那覇
10. 塩野淳子、石踊 巧、村上 卓、日高大介、新井順一、**堀米仁志**、山下文男、藤木 豊、清水 渉、堀江 稔: 有症状の先天性QT延長症候群患者の出産に関する問題第17回日本小児心電学研究会 2012/10/19、那覇
11. Nakamura A, Seo Y, Ishizu T, **Horigome H**, Sumazaki R, Aonuma K: Left ventricle Longitudinal Strain was Reduced in Subclinical Patient with Repaired ToF. AHA scientific sessions 2012, 2012/11/7, Los Angeles

- 1 2 . 高橋実穂、**堀米仁志**、加藤愛章、林 立申、中村昭宏、金井 雄、西村 一、宮園弥生、小倉 剛、小嶋真奈、濱田洋実：胎児期外収縮の管理と予後.第 18 回日本胎児心臓病学会. 2月 17-18 日、2012 年、つくば
- 1 3 . 加藤愛章、高橋実穂、林 立申、中村昭宏、**堀米仁志**：胎児心磁図を用いた母体抗 SS-A 抗体陽性の胎児における PR interval の経時的評価. 第 18 回日本胎児心臓病学会. 2月,2012 年、つくば
- 1 4 . 今井綾子、林 立申、竹内秀輔、中村昭宏、加藤愛章、高橋実穂、**堀米仁志**：肺動脈性肺高血圧の 2 小児例に対するアンプリセンタンの使用経験.第 18 回日本小児肺循環研究会. 2月,2012 年、東京

H . 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

カテコラミン誘発多形性心室頻拍-若年型と成人型の遺伝学的背景について-

研究分担者 住友 直方 日本大学医学部小児科学系 小児科学分野准教授

研究要旨

【目的】本邦におけるカテコラミン誘発多形性心室頻拍の遺伝学的特徴を知ることが本研究の目的である。

【対象】本研究に賛同が得られ、症例の登録が行われた78例(平均年齢 11.2 ± 8.2 歳、男26例、女52例)に対し、20歳以下で発症した若年型(69例;88%)と、25歳以上で発症した成人型(7例;9%)について、遺伝学的背景、家族内発症を検討した。

【結果】成人型では検索を行ったのは4例で3例(75%)にRyR2遺伝子異常を認めた。若年型では、遺伝子検索を行った30例中24例(80%)にRyR2遺伝子異常を、2例(6.7%)にCASQ2遺伝子異常を認めた。成人型では家族内発症を認めたものはいなかったが、若年型では4家系(6%)に家族内発症を認めた。

【結語】カテコラミン誘発多形性心室頻拍は、遺伝子診断による遺伝子異常の発見率が高く、遺伝子診断が確定診断に有用である。多くはRyR2遺伝子異常であるが、若年型ではCASQ2遺伝子異常も3%にみられる。家族内発症例は少なく、成人型では家族内発症は認められず、若年型の6%に家族内発症を認めた。

A. 研究目的

本邦におけるカテコラミン誘発多形性心室頻拍の遺伝学的特徴を知ることが本研究の目的である。

B. 研究方法

本邦の主要施設へアンケートを送り、患者の情報を集め、臨床的特徴、治療内容、遺伝子解析の実態、家族歴、予後について検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断に当たっては、その必要性、生じうる不利益について、患者及び保護者に充分説明し、文書による同意を得た上で行った。

C. 研究結果

対象は78例(平均年齢 11.2 ± 8.2 歳、男26例;33%、女52例;67%)である。(図1)

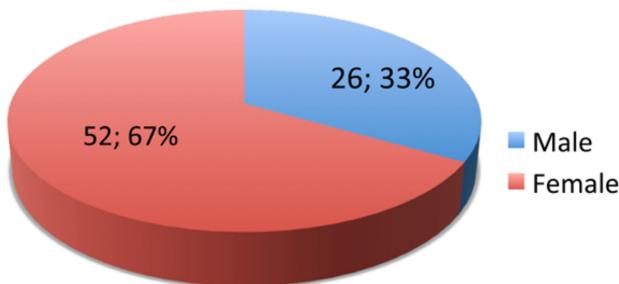
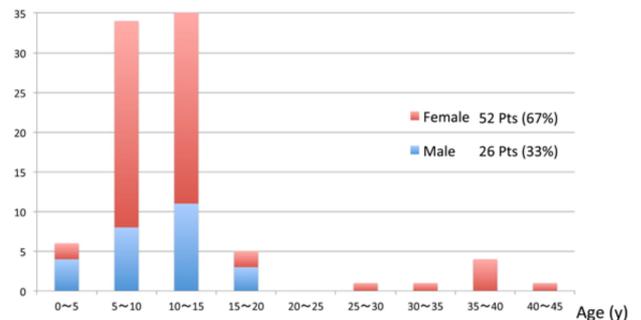


図1 対象の性別

対象の年齢分布を図2に示す。ほとんどは5歳~15歳(69例;88%)であったが、25歳以上の成人例も7例(9%)存在した。20歳以下の群を若年型、25歳以上の群を成人型とし、検討を行った。

性別の比較では、若年型の男女比は37:63であったが、成人型では全例女性であった。

図2 年齢分布



遺伝子検索は全体の34例(43%)に行われており、検索が行われた症例の中で、遺伝子異常を認めたものは29例(85%)存在した。この29例の中で、発見された遺伝子異常はリアノジン受容体(RyR2)27例(93%)、カルセクエストリン(CASQ2)2例(7%)であった。

遺伝子診断の結果を成人型と若年型で比較検討した。成人型では検索を行った4例中3例(75%)にRyR2遺伝子異常を認めたが、CASQ2遺伝子異常を認めたものはいなかった。遺伝子異常を認めなかった症例は1例(25%)であった。

若年型では、遺伝子検索を行った30例中24例(80%)にRyR2遺伝子異常を、2例(6.7%)にCASQ2遺伝子異常を認めた。遺伝子異常を認めなかった例は4例(5%)であり、若年型では、遺伝子異常を認める割合が多いことが分かった。(図3)

家族内発症の有無を成人型と若年型で比較検討した。成人型では家族内発症を認めたものはいなかったが、若年型では4家系(6%)に家族内発症を認めた。(図4)

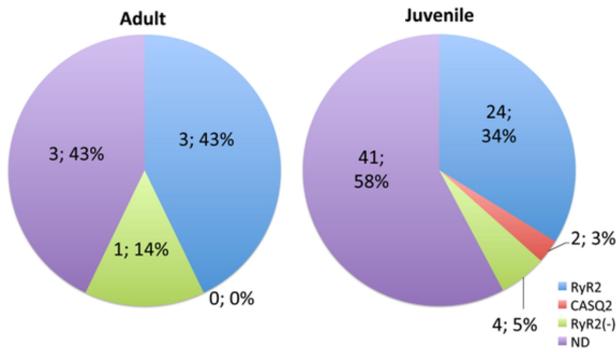


図3 成人型と若年型の遺伝子診断結果
 RyR2:リアノジン受容体異常あり、CASQ2:カルセクエ
 ストリン受容体異常あり、RyR2(-):リアノジン受容体異
 常なし、ND:遺伝子検査未施行

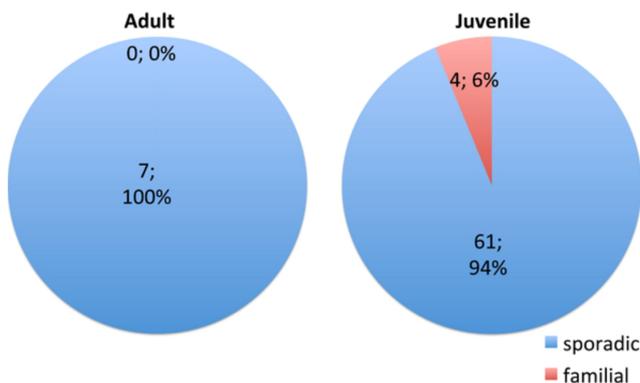


図4 成人型と若年型の家族歴
 sporadic: 孤発例、familial: 家族内発症 (遺伝性)

D. 考察

欧米の報告では、若年型の症例では男女差はなかったが^{1,2}、本邦では若干女性が多い傾向が見られた³。成人型は本邦も女性のみであり、欧米の報告と一致する。^{4,5}

遺伝子異常の検出率は89%と非常に高く、本症の遺伝子検査の有用性を裏付ける結果と考えられる。

成人型で検出された遺伝子異常は、RyR2異常が75%、遺伝子異常を認めなかった例が25%であったのに対し、若年型ではRyR2遺伝子異常が80%、CASQ2遺伝子異常が6.7%、遺伝子異常を認めなかった例が5%であり、CASQ2遺伝子異常を認めた場合には若年発症例が多いことが示された。

欧米での報告では、成人型ではRyR2遺伝子異常を認める割合が少ないと報告されている^{4,5}。この傾向は本邦の人種差によるものかどうか、今後成人例の登録を増やすことによりはっきりすると思われる。

家族内発症 (遺伝性) の検討では、成人型はすべて孤発例であり、若年型では6%に家族内発症を認めた。本症は遺伝性不整脈であるが、発症例の多くはde novoの変位によると考えられ、家族内発症は、生存例の子に発症したのと考えられた。

この原因の一つは、本症の認知される以前の例では、本症と診断されず、十分な運動規制、薬剤投与が行われておらず、結果として死亡例が多かったことが考えられる。

もう一つの要因として、本邦では少子化という特徴が

ある。常染色体優性遺伝形式では子供での発症率が50%であるが、常染色体劣性遺伝では発症率は非常に低く、両親がheteroの保因者であっても25%である。このため、子供の数が多し程、有病者の数が増えることになる。

今後症例数を増やし、治療の変化による予後の差、成人型と若年型の予後の違い、などを検討する予定である。

E. 結論

カテコラミン誘発多形性心室頻拍は、遺伝子診断による遺伝子異常の発見率が高く、遺伝子診断が確定診断に有用である。多くはRyR2遺伝子異常であるが、若年型ではCASQ2遺伝子異常も3%にみられる。家族内発症例は少なく、成人型では家族内発症は認められず、若年型の6%に家族内発症を認めた。

文献

1. Leenhardt A, Lucet V, Denjoy I, Grau F, Ngoc DD, Coumel P. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in children. *Circulation*. 1995;91:1512-1519
2. Priori SG, Napolitano C, Memmi M, Colombi B, Drago F, Gasparini M, DeSimone L, Coltorti F, Bloise R, Keegan R, Cruz Filho FE, Vignati G, Benatar A, DeLogu A. Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation*. 2002;106:69-74
3. Sumitomo N, Harada K, Nagashima M, Yasuda T, Nakamura Y, Aragaki Y, Saito A, Kurosaki K, Jouo K, Koujiro M, Konishi S, Matsuoka S, Oono T, Hayakawa S, Miura M, Ushinohama H, Shibata T, Niimura I. Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: electrocardiographic characteristics and optimal therapeutic strategies to prevent sudden death. *Heart* 2003; 89:66-70
4. Priori SG, Napolitano C, Memmi M, Colombi B, Drago F, Gasparini M, DeSimone L, Coltorti F, Bloise R, Keegan R, Cruz Filho FE, Vignati G, Benatar A, DeLogu A. Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation*. 2002; 106:69-74
5. Sy RW, Gollob MH, Klein GJ, Yee R, Skanes AC, Gula LJ, Leong-Sit P, Gow RM, Green MS, Birnie DH, Krahn AD. Arrhythmia characterization and long-term outcomes in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm*. 2011; 8:864-871

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mitani Y, Ohta K, Yodoya N, Otsuki S, Ohashi H, Sawada H, Nagashima M, Sumitomo N, Komada Y: Public access defibrillation improved the outcome after out-of-hospital cardiac arrest in school-age children: a nationwide, population-based Utstein registry study in Japan. *Europace*. 2013; (in press)
2. Fukunaga H, Akimoto K, Furukawa T, Takahashi K, Kishiro M, Shimizu T, Kamiyama H, Sumitomo N. Improvement in non-tachycardia induced cardiac failure after radiofrequency catheter ablation in a child with a right-sided accessory pathway. *Heart and Vessels*. 2013;28: (in press)
3. Watanabe H, van der Werf C, Roses-Noguer F, Adler A, Sumitomo N, Veltmann C, Rosso R, Bhuiyan ZA, Bikker H, Kannankeril PJ, Horie M, Minamino T, Viskin S, Knollmann BC, Till J, Wilde AA. Effects of Flecainide on Exercise-Induced Ventricular Arrhythmias and Recurrences in Genotype-Negative Patients with Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. *Heart Rhythm*. 2012
4. Nakashima K, Kusakawa I, Yamamoto T, Hirabayashi S, Hosoya R, Shimizu W, Sumitomo N. A left ventricular non-compaction in a patient with long QT syndrome caused by a KCNQ1 mutation – a case report –. *Heart and Vessels*. 26: (in press), 2012.
5. Aizawa Y, Horie M, Inoue H, Kamakura S, Katoh T, Masunori Matsuzaki M, Takuro Misaki T, Yuji Murakawa M, Satoshi Ogawa S, Ken Okumura K, Sumitomo N, Yoshinaga M, Chinushi M, Fujiki A, Furushima H, Ikeda T, Ito M, Kuga K, Kusano K, Niwano S, Nohara R, Sasaki S, Shimizu A, Shimizu W, Shoda M, Hori M, Nakazawa M, Sugimoto T, Yamaguchi T. Guidelines for Risks and Prevention of Sudden Cardiac Death (JCS 2010) – Digest Version –, *Circ J* 2012; 76: 489 – 507.
6. Kato Y, Horigome H, Takahashi-Igari M, Sumitomo N, Aonuma K. Tachycardia associated with twin atrioventricular nodes in an infant with heterotaxy and interruption of inferior vena cava, *Pacing and Clinical Electrophysiology*, 32: (in press), 2012
7. Makita N, Seki A, Sumitomo N, Fukuhara S, Watanabe H, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Probst V, Hagiwara N, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ. A Germline Mutation of Connexin40 Associated with A Juvenile Variant of Familial Progressive Heart Block Type-1. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2012; 5: 163-72

2. 学会発表

1. Sumitomo N: Invited Lecture, Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in children, 4th Congress of the Asia-Pacific Pediatric Cardiac Society, Taipei, Taiwan, 2012.4.4-7
2. Sumitomo N: Invited Lecture, SIDS and QT prolongation, 4th Congress of the Asia-Pacific Pediatric Cardiac Society, Taipei, Taiwan, 2012.4.4-7
3. 住友直方: 特別講演「学校心臓検診と小児不整脈」、第4回 Heart-Care 連携会、八王子、2012.4.16
4. 住友直方: 特別講演「カテコラミン誘発多形性心室頻拍とその亜型」、第40回埼玉不整脈ペーシング研究会、大宮、2012.6.2
5. 住友直方: 特別講演「学校心臓検診と小児不整脈」、第128回日本小児科学会静岡地方会、静岡、2012.6.3
6. 住友直方: 特別講演「小児不整脈の治療」、第28回循環器科連携カンファレンス、横浜、2012.6.29
7. Sumitomo N: Invited Lecture, Part I: Case sharing, Topic 1: Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Basic concept, ablation, and safety concerns -, Asia-Pacific Heart Rhythm Society 2012, Taipei, Taiwan, 2012.10.6
8. Sumitomo N: Invited Lecture, The catheter ablation of ventricular tachyarrhythmias in children without structural heart disease, Topic 2: Catheter ablation for tachyarrhythmias in childhood, Asia-Pacific Heart Rhythm Society 2012, Taipei, Taiwan, 2012.10.6
9. 住友直方: 専門医から学ぶ不整脈の臨床「小児の不整脈」、平成24年度 認定心電検査技師セミナー

- 一研修会、東京、2012.10.27
10. 住友直方: 特別講演「小児不整脈治療の進歩」、第 123 回信州小児臨床談話会、松本、2012.11.17
 11. 住友直方: アブレーションセミナー「先天性心疾患に伴う心室性不整脈」、宇部、2012.11.24
 12. 住友直方: 特別講演「学校健診 気をつける不整脈、小児のカテーテルアブレーション」、第 12 回港北小児循環器カンファレンス、横浜、2012.12.4
 13. 鮎沢 衛、住友直方、中村隆広、福原淳示、市川理恵、松村昌治、宮下理夫、金丸 浩、岡田 知雄、麦島秀雄: 学校心臓検診の歴史と現状、第115回日本小児科学会、福岡、2012.4.21
 14. 蒔田直昌、堀江 稔、清水 渉、住友直方、関 明子、牧山 武、渡部 祐、赤星正純: シンポジウムII、遺伝性不整脈の臨床from bench to bedside、進行性心臓伝導障害の全国レジストリー、第27回日本不整脈学会、横浜、2012.7.6
 15. 相庭武司、牧元久樹、山形研一郎、中島育太郎、宮本康二、山田優子、岡村英夫、野田 崇、里見和浩、石原正治、安斉俊久、安田 聡、小川久雄、鎌倉史郎、宮本恵宏、清水 渉、堀江 稔、小川聡、相澤義房、大江 透、草野研吾、山岸正和、蒔田直昌、田中敏博、牧山 武、吉永正夫、萩原誠久、住友直方: シンポジウムII、遺伝性不整脈の臨床from bench to bedside、先天性QT延長症候群における遺伝子変異領域と予後・治療の選択、第27回日本不整脈学会、横浜、2012.7.6
 16. 蒔田直昌、堀江 稔、清水 渉、住友直方、関 明子、牧山 武、渡部 裕、赤星正純: シンポジウムII、「遺伝性不整脈の臨床from bench to bedside」進行性心臓伝導障害の全国レジストリー、第27回日本不整脈学会、横浜、2012.7.6
 17. 相庭武司、牧元久樹、山形研一郎、中島育太郎、宮本康二、山田優子、岡村英夫、野田 崇、里見和浩、石原正治、安斉俊久、安田 聡、小川久雄、鎌倉史郎、宮本恵宏、清水 渉、堀江 稔、小川 聡、相澤義房、大江 透、草野研吾、山岸正和、蒔田直昌、田中敏博、牧山 武、吉永正夫、萩原誠久、住友直方: シンポジウムII、「遺伝性不整脈の臨床 from bench to bedside」先天性 QT 延長症候群における遺伝子変異領域と予後・治療の選択、第 27 回日本不整脈学会、横浜、2012.7.6
 18. Ayusawa M, Sumitomo N, Abe Y, Nakamura T, Fukuhara J, Ichikawa R, Matsumura M, Kanamaru H, Okada T, toh S, Mugishima H: Unexpected Sudden Cardiac Death Under School Supervision in Japan, 46th Annual Meeting of the Association for European Paediatric and Congenital Cardiology, Istanbul, Turkey, 2012.5.25
 19. 加藤愛章、堀米仁志、住友直方、鈴木博、竹田津未生、牛ノ濱大也、高橋一浩、高橋秀人、吉永正夫、長嶋正實: 胎児～乳児期発症の先天性QT延長症候群の臨床像(全国調査結果の続報、第48回日本小児循環器学会、京都、2012.7.6
 20. 岩本眞理、田内宣生、長嶋正實、吉永正夫、住友直方、上野倫彦、堀米仁志、立野滋、泉田直己、高橋良明、牛ノ濱大也、日本小児循環器学会学校心臓検診拡大委員会: 肥大型心筋症の心電図の検討(第2報)、第48回日本小児循環器学会、京都、2012.7.6
 21. 金丸 浩、唐澤賢祐、鮎沢 衛、住友直方、麦島秀雄、近藤千里、小児核医学研究会アンケート調査WG: 胎児～乳児期発症の先天性QT延長症候群の臨床像(全国調査結果の続報)、第48回日本小児循環器学会、京都、2012.7.6
 22. 櫻村太陽、田所秋宏、相澤利彦、中澤康弘、遠藤裕二、神山 浩、住友直方: 小児カテーテルアブレーションにおける、患者被曝、透視線量の低減に関する検討、第60回日本心臓病学会、金沢、2012.9.15
 23. 牛ノ濱大也、住友直方: 無冠尖からの高周波通電が有効であった心室頻拍の小児例、第17回日本小児心電学研究会、沖縄、2012.10.19
 24. 野村亜希子、住友直方、大熊洋美、阿部百合子、中村隆広、市川理恵、福原淳示、松村昌治、宮下理夫、神山 浩、鮎沢衛、麦島秀雄: 心室期外収縮による不整脈源性心不全に対しアブレーションが奏効した心房中隔欠損術後の1例、第17回日本小児心電学研究会、沖縄、2012.10.19
 25. 三谷義英、太田邦雄、淀谷典子、大槻祥一郎、大橋啓之、澤田博文、長嶋正實、住友直方: ウツタイムデータから見た最近の日本の小中学生の心原性院外心停止の疫学像、第17回日本小児心電学研究会、沖縄、2012.10.20
 26. Watanabe H, van der Werf C, Roses-Noguer F, Viskin S, Sumitomo N, Veltmann C, Rosso R, Bhuiyan ZA, Till J, Kannankeril PJ, Horie H, Knollmann BC, Wilde AAM: Effects of Flecainide on Exercise-Induced Arrhythmias and Recurrences in Genotype-Negative

Patients with Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia, American Heart Association Scientific Session 2012, Los Angeles, USA, 2012.11.6

27. Mitani Y, Ohta K, Yodoya N, Otsuki S, Ohashi H, Sawada H, Nagashima M, Sumitomo N, Komada Y: Public Access Defibrillation Improved the Outcome after Out-Of-Hospital Cardiac Arrests in School-Age Children: A Nationwide, Population-Based, Utstein Registry Study in Japan, American Heart Association Scientific Session 2012, Los Angeles, USA, 2012.11.7

28. Aiba T, Toyoda F, Makita N, Matsuura H, Makimoto H, Yamagata K, Horie M, Fukushima N, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano K, Yamagishi M, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara N, Sumitomo N, Kamakura S, Shimizu W: Biophysical Properties of Na Channel in the S5-S6 High Risk LQT3 Mutations of the Long QT Syndrome, American Heart Association Scientific Session 2012, Los Angeles, USA, 2012.11.7

29. 大熊洋美、住友直方、渡邊拓史、阿部百合子、中村隆広、福原淳示、市川理恵、松村昌治、宮下理夫、神山 浩、鮎沢 衛、岡田知雄、麦島秀雄、福永英生：心房心筋炎を期に偽性心室頻

拍、房室回帰頻拍を発症したと考えられる WPW 症候群の幼児例、第 25 回臨床不整脈研究会、東京、2013.1.12

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

致死性不整脈疾患の遺伝学的解析に関する研究

研究分担者 田中 敏博 理化学研究所ゲノム医科学研究センター 副センター長

研究要旨

致死性不整脈疾患の遺伝的背景を解明するために、患者のDNAサンプル約200症例を用いてエクソーム解析を施行した。現時点で複数の候補遺伝子を同定した。今後は家系内発症者のサンプルを用いて絞り込みを行う予定である。

A．研究目的

QT延長症候群を始めとする難治性不整脈疾患では心室細動など血行動態を悪化させる心室性不整脈の生じる危険性が高くなり、失神発作さらには突然死の原因となる。QT延長症候群については、遺伝子異常が同定されるのは患者全体の半分にも満たず、遺伝的要因の解明は不十分である。近年のゲノム情報取得技術の長足の進歩により、ゲノム上の遺伝子領域のうちアミノ酸をコードする部分(エクソン)を一挙に解析することが可能となった(エクソーム解析)。この手法を用いることにより、仮説を置かない形で新規原因遺伝子を同定できる可能性がある。このエクソーム解析により、不整脈疾患の分子遺伝学的背景を探る端緒とするのが本研究の目的である。

B．研究方法

国立循環器病研究センターにおいて収集したQT延長症候群の患者191症例のゲノムDNAを用いて、エクソーム解析を行った。
(倫理面への配慮)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき、関係する機関の倫理審査委員会に研究計画を提出し、承認を得た。

C．研究結果

1サンプルにつき、平均で17,242箇所(17,242 single nucleotide variation)のSNV (single nucleotide variation)を認め、そのうちでアミノ酸変化を伴うものは8,130箇所であった。一般集団との比較により、患者集団全体で28,002箇所にも及ぶ、アミノ酸変化を伴うSNVを認め、

D．考察

今回の解析においては、非常に多数のSNVが同定されたが、これは家系例ではなく、孤発例を用いたため、絞り込みができなかったことが原因の一つと考えられる。その他、本疾患の特徴である、多彩な遺伝的要因 (genetic heterogeneity) も大きな要因の一つであろう。家系例を調べることにより、同一家系内の複数の発症者を比較することが可能となり、候補遺伝子の絞り込みができると考えられる。

E．結論

QT延長症候群の患者のゲノムDNAを用いてエクソーム解析を行った。孤発例の検索により、患者集団全体で28,002箇所にも及ぶSNVを認め、絞り込みを行うために、今後は家系例を用いてエクソーム解析を行う予定である。

G．研究発表

1．論文発表

- Okada Y, et al. Common variants at CDKAL1 and KLF9 are associated with body mass index in east Asian populations. *Nature Genetics*, 44:302-306, 2012
- Wen W, et al. Meta-analysis identifies common variants associated with body mass index in east Asians. *Nature Genetics*, 44:307-311, 2012

2．学会発表

なし
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H．知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1．特許取得

- なし
- 実用新案登録
 - なし
 - その他
- なし

遺伝性不整脈の臨床診断、臨床研究

研究分担者 森田 宏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 先端循環器治療学講座、准教授

研究要旨 遺伝性不整脈の一つである Brugada 症候群での不整脈発生のリスク評価を行い、症状、QRS の異常、早期再分極、ST 自然変動が致死的不整脈発生の独立した危険因子であった。これらの指標を用い、リスク評価の層別化が可能と考えられた。

A．研究目的

遺伝性不整脈の多くは最初に心電図で診断されることが多いが、実際に致死的不整脈を発症するかどうかは後天的要因も関与するため、リスク評価を正確に行い、治療介入を行うかを決定する必要がある。

B．研究方法

当院通院中の遺伝性不整脈疾患を有する患者（QT 延長症候群、Brugada 症候群、J 波 症候群など）に対して、日常診療で一般に行われる検査の組み合わせで、致死的不整脈の発生予測が出来るかどうかを検討。

（倫理面への配慮）侵襲的な検査は十分なインフォームドコンセントを行い、遺伝子検索は当院倫理委員会承諾を得て行っている

C．研究結果

Brugada 症候群患者 321 例での検討では、致死的不整脈発生の予測因子として、症状（ハザード比 HR 10.5 倍）、多棘性 QRS（HR 2.7 倍）、下側壁誘導早期再分極（HR 3.0 倍）、0.2mV 以上の ST 自然変動（HR 10.7 倍）の項目が独立した危険因子であった。

D．考察

十二誘導心電図で得られた新しい心電図指標である、多棘性 QRS 波形や ST 変動などが電気生理学的に不安定な状態や心筋障害などの器質的变化を示し、Brugada 症候群での致死的不整脈発生を予測できる

と考えられた。これらの指標の組み合わせで、効率よく不整脈発生の予測を行える可能性が考えられた。

E．結論

多棘性 QRS、早期再分極、ST 自然変動の指標を複数有するものでは、致死的不整脈発生が高率であった。

F．健康危険情報

G．研究発表

1. 論文発表
別紙参照
2. 学会発表
 - 1) 森田 宏: 第 27 回日本不整脈学会学術大会 2012 年 7 月
 - 2) Morita H, et al. 33rd Annual Scientific Session of Heart Rhythm Society, Boston, 2012

H．知的財産権の出願・登録状況 （予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

ヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞に関する長期培養による成熟化の検討

分担研究者 牧山 武 京都大学大学院医学研究科循環器内科学 助教

研究要旨 ヒト人工多能性幹（induced pluripotent stem: iPS）細胞は、移植治療、疾患の病態解明への有用性が期待され、現在、非常に盛んな研究が行われている。ヒト iPS 細胞由来分化心筋は、成人心筋に比べ未熟であることが研究応用への妨げとなっており、今回、我々は、1年までの長期接着培養における組織学的、遺伝子発現の成熟化を検討した。電子顕微鏡を用いた解析では、経時的にサルコメアの緻密化、A、H、I帯の形成を認めたが、成熟心筋にみられるM帯に関しては、1年にてようやく一部の心筋に認めるのみであった。M帯関連蛋白は、ヒト成人心筋に比べて遺伝子発現が低く、組織学的所見と合致した。本研究では、初めてM帯を形成したiPS細胞由来分化心筋を認めたが、成熟化は緩徐で、不完全であり、より効率的な成熟化法の開発が必要であると考えられた。

A. 研究目的

ヒト人工多能性幹（induced pluripotent stem: iPS）細胞は、移植治療、疾患の病態解明への有用性が期待され、現在、非常に盛んな研究が行われている。心疾患に関する方用に関しては、成人心筋に比べ未熟であることが研究応用への妨げとなっており、今回、我々は、1年までの長期接着培養における組織学的、遺伝子発現の成熟化を検討した。

B. 研究方法

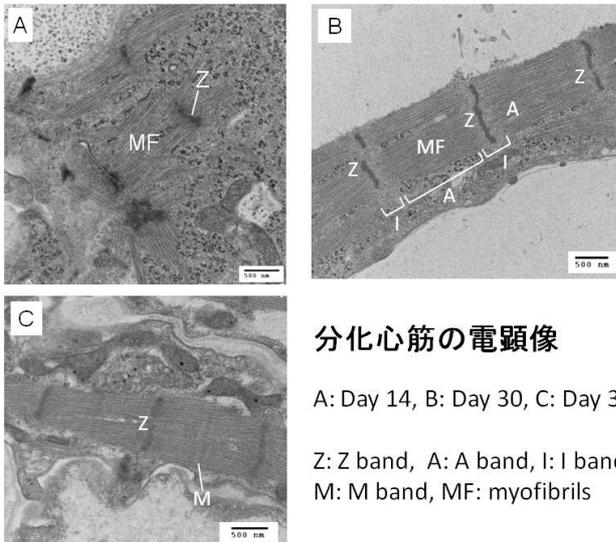
健康人皮膚より樹立した線維芽細胞に、山中4因子（OCT3/4、SOX2、KLF4、c-MYC 遺伝子）をレトロウイルスにて導入し作製された iPS 細胞株（201B7）を用いた。胚様体形成法（Yang et al. Nature 2008）を用いて心筋分化し、14、30、60、90、180、360日の分化心筋の解析を行った。（接着培養）電子顕微鏡、免疫染色を用いた組織学的解析、定量的RNA解析を用いた遺伝子発現解析を行った。

C. 研究結果

ヒトiPS細胞は、心筋分化開始後、day 8より自己拍動を開始し、day 360まで胚様体は自己拍動を続

けたが、拍動数の減少を認めた。（day 30, 73.2 ± 34.9 bpm, $n=41$ vs. day 360, 32.2 ± 14.2 bpm, $n=42$, $p < 0.0001$ ）酵素処理にてばらした単一心筋細胞の細胞面積は増加していた。（day 30, $3277.4 \pm 1679.5 \mu\text{m}^2$ vs. day 360, $4067.9 \pm 1814.6 \mu\text{m}^2$, $p=0.01$ ）自己拍動のある胚様体における心筋細胞の割合を検討するため、microdissection後、酵素処理を行い、免疫染色を行った。心筋トロポニンI陽性の心筋細胞を、day 30, 61% ($n=213$), day 360, 64% ($n=191$) 認め、他に、 β -tubulin陽性の線維芽細胞、 α -SMA陽性の神経細胞を認めた。また、day 360では、MLC2v陽性、MLC2a陰性細胞が36%から60%に増加し、心室筋への成熟化傾向を示した。電子顕微鏡を用いた組織学的解析では、day14では、サルコメアが粗であるが、day30以降密になり、A、I帯の出現を認めた。day 60からday 90にて、H帯が出現し、day 360にてようやく一部の心筋にてM帯を認めた。（図）

遺伝子発現の解析では、M帯関連蛋白(LRRC39, MYOM1, MYOM2)は、成人心筋に比べて低下し、経時的増加も少なく、電子顕微鏡によるサルコメアの成熟化の遅延に合致する結果であった。



分化心筋の電顕像

A: Day 14, B: Day 30, C: Day 360

Z: Z band, A: A band, I: I band, M: M band, MF: myofibrils

D. 考察

本研究は、ヒト iPS 細胞由来分化心筋の長期接着培養における成熟過程を明らかにした。day 30 と day 360 の比較にて、細胞面積の増加や拍動数の低下を認め成熟化の進行と考えられた。遺伝子発現でも、MLC2v 陽性、MLC2a 陰性細胞数が増加し、成熟化傾向を示した。day 360 にてようやく M 帯のある心筋細胞を認めたが、割合は数%と少なく、緩徐な成熟過程であると考えられた。要因としては、ヒト成人心にある液性因子、機械的ストレスなどの欠除が要因と推察された。

本研究の limitation として、micro dissection で胚様体を切りとり RNA 定量を行ったが、胚様体には非心筋細胞も含まれている。心筋トロポニン I 陽性の心筋細胞が、約 60%であった。但し、microdissection 後、3 日間培養後に解析しており、その間に非心筋細胞は増加することを考慮すると実際の割合はそれより高いと考えられた。

E. 結論

幹細胞由来分化心筋の未熟さは以前より指摘されているが、本研究では、長期培養にて初めて M 帯を形成した iPS 細胞由来分化心筋を認めた。但し、成熟化は緩徐で不完全であり、より効率的な成熟化法の開発が必要であると考えられた。

(本研究は Kamakura T, Makiyama T et al. *Circ J* 2013 に発表)

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kamakura T, Makiyama T, Sasaki K, Yoshida Y, Wuriyanghai Y, Chen J, Hattori T, Ohno S, Kita T, Horie M, Yamanaka S, Kimura T. Ultrastructural Maturation of Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in a Long-Term Culture.. *Circ J*. 2013 Feb 9.

Villafañe J, Atallah J, Gollob MH, Maury P, Wolpert C, Gebauer R, Watanabe H, Horie M, Anttonen O, Kannankeril P, Faulkner B, Bleiz J, Makiyama T, Shimizu W, Hamilton R, Young ML. Long-Term Follow-Up of a Pediatric Cohort With Short QT Syndrome.. *J Am Coll Cardiol*. 2013 Jan 25.

Ishikawa T, Takahashi N, Ohno S, Sakurada H, Nakamura K, On YK, Park JE, Makiyama T, Horie M, Arimura T, Makita N, Kimura A. Novel SCN3B Mutation Associated With Brugada Syndrome Affects Intracellular Trafficking and Function of Nav1.5. *Circ J*. 2012 Dec 21.

Hattori T, Makiyama T, Akao M, Ehara E, Ohno S, Iguchi M, Nishio Y, Sasaki K, Itoh H, Yokode M, Kita T, Horie M, Kimura T. A novel gain-of-function KCNJ2 mutation associated with short QT syndrome impairs inward rectification of Kir2.1 currents. *Cardiovasc Res*. 2012 Mar 15;93(4):666-73.

Kimura H, Zhou J, Kawamura M, Itoh H, Mizusawa Y, Ding WG, Wu J, Ohno S, Makiyama T, Miyamoto A, Naiki N, Wang Q, Xie Y, Suzuki T, Tateno S, Nakamura Y, Zang WJ, Ito M, Matsuura H, Horie M. Phenotype variability in patients carrying KCNJ2 mutations. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012 Jun;5(3):344-53.

Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S,

Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Int J Cardiol.* 2012 Sep 6;159(3):238-40.

in Cardiomyocytes derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells, 第77回日本循環器学会学術集会, 横浜, 3.15-17, 2013.

Yimin Wuriyanghai: Identification of Cardiomyocytes Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells using a Cardiac Specific Lentiviral Vector, 第77回日本循環器学会学術集会, 横浜, 3.15-17, 2013.

2. 学会発表

牧山 武: Phenotypic characteristics between SCN5A and LMNA mutation carriers in familial bradyarrhythmic disorders. The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Taipei, Taiwan, 10.3-6, 2012.

牧山武: Disease Modeling in Human Induced Pluripotent Stem Cells -Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia-, 第77回日本循環器学会学術集会, 横浜, 3.15-17, 2013.

鎌倉 令: One-year assessment of the ultrastructural changes of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, European Society of Cardiology (ESC) Congress, Munich, Germany, 8.25-29, 2012.

鎌倉 令: Genetic Backgrounds in Patients with Early-Onset and Familial Atrial Fibrillation, The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Taipei, Taiwan, 10.3-6, 2012.

佐々木 健一: One Year Assessment of Ion Channel Gene Expression in Cardiomyocytes derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells, The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Taipei, Taiwan, 10.3-6, 2012.

佐々木 健一: O Ca²⁺ Imaging of Cardiomyocytes Differentiated from Human Induced Pluripotent Stem Cells in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia, 第77回日本循環器学会学術集会, 横浜, 3.15-17, 2013.

佐々木 健一: One Year Assessment of Ion Channel Gene Expression

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他

早期再分極症候群の臨床像と遺伝的背景に関する研究

研究分担者 渡部 裕 新潟大学大学院医歯学総合病院 循環器内科 助教

研究要旨

近年、早期再分極症候群という新しい疾患概念が提唱されたが、その臨床像や遺伝的背景に関する知見は十分ではない。そこで、国内の複数の共同研究施設より早期再分極症候群の症例を集積し臨床像の解明と心室細動発作の危険因子の検索を行った。早期再分極症候群において、若年発症、突然死の家族歴並びにElectrical Stormの既往が心室細動発作の危険因子であることを解明した。これらの危険因子を持つ症例では、より嚴重な心室細動発作と突然死の要望が必要であることが示唆された。

A. 研究目的

近年、心電図の早期再分極が特発性心室細動に關与するという早期再分極症候群という新しい疾患概念が提唱されたが、その臨床像や遺伝的背景に関する知見は十分ではない。

B. 研究方法

国内の複数の共同研究施設より早期再分極症候群の症例を集積し、臨床像を検討し心室細動発作の危険因子の検索を行った。
(倫理面への配慮)

各施設の倫理委員会の承認を得た上でデータは不可逆的匿名化した上で、解析に用いた。

C. 研究結果

53例の早期再分極症候群の症例のうち、突然死の家族歴があるものは13%であり、Electrical Stormを17例で認めた。また4例ではSCN5A遺伝子の変異が同定された。多変量解析にて、様々な臨床像や遺伝的背景のうち、若年発症、突然死の家族歴とElectrical Stormの既往が心室細動発作の危険因子であった。

D. 考察

早期再分極症候群における心室細動発作の新たな危険因子を同定した。これらの危険因子を持つ症例では、より嚴重な心室細動発作と突然死の要望が必要であることが示唆された。

E. 結論

早期再分極症候群において、若年発症、突然死の家族歴並びにElectrical Stormの既往が心室細動発作の危険因子であった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Watanabe H, Yagihara N, Aizawa Y, Kodama M, Tanabe N, Watanabe T. The cholesterol paradox in atrial fibrillation.

Circ J. 2012;76:1538

2. Watanabe H, Ohkubo K, Watanabe I, Matsuyama TA, Ishibashi-Ueda H, Yagihara N, Shimizu W, Horie M, Minamino T, Makita N. Scn5a mutation associated with ventricular fibrillation, early repolarization, and concealed myocardial abnormalities. *Int J Cardiol.* 2012
3. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Int J Cardiol.* 2012;159:238-240
4. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Response to letter regarding article, "electrocardiographic characteristics and

- scn5a mutations in idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization". *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;Accepted:e60-e61
5. Watanabe H, Makita N, Tanabe N, Watanabe T, Aizawa Y. Electrocardiographic abnormalities and risk of complete atrioventricular block. *Int J Cardiol.* 2012;155:462-464
 6. Watanabe H, Aizawa Y. Letter by watanabe and aizawa regarding article, "blood lipid levels, lipid-lowering medications, and the incidence of atrial fibrillation: The atherosclerosis risk in communities (aric) study". *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:e80
 7. Sato A, Chinushi M, Suzuki H, Numano F, Hanyu T, Iijima K, Watanabe H, Furushima H. Long qt syndrome with nocturnal cardiac events caused by a kcnh2 missense mutation (g604s). *Intern Med.* 2012;51:1857-1860
 8. Makita N, Seki A, Sumitomo N, Chkourko H, Fukuhara S, Watanabe H, Shimizu W, Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, Makiyama T, Baruteau A, Baron E, Horie M, Hagiwara N, Wilde AA, Probst V, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ, Delmar M. A connexin40 mutation associated with a malignant variant of progressive familial heart block type i. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2012;5:163-172
 9. Hasegawa K, Sato A, Watanabe H, Furushima H, Chinushi M, Aizawa Y. Early repolarization and its modification by preexcitation in two patients with intermittent wolff-parkinson-white syndrome. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2012
 10. Furushima H, Chinushi M, Iijima K, Hasegawa K, Sato A, Izumi D, Watanabe H, Aizawa Y. Is the coexistence of sustained st-segment elevation and abnormal q waves a risk factor for electrical storm in implanted cardioverter defibrillator patients with structural heart diseases? *Europace.* 2012;14:675-681
 11. Chinushi M, Sato A, Iijima K, Suzuki K, Hiroshi F, Izumi D, Watanabe H, Kanae H, Aizawa Y. Exercise-related qt interval shortening with a peaked t wave in a healthy boy with a family history of sudden cardiac death. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2012
 12. Aizawa Y, Sato A, Watanabe H, Chinushi M, Furushima H, Horie M, Kaneko Y, Imaizumi T, Okubo K, Watanabe I, Shinozaki T, Fukuda K, Joo K, Haissaguerre M. Dynamicity of the j-wave in idiopathic ventricular fibrillation with a special reference to pause-dependent augmentation of the j-wave. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59:1948-1953
2. 学会発表
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

分子遺伝学的手法による心房細動発症機構の解明に関する研究

研究分担者 林 研至 金沢大学大学院医薬保健研究域医学系 循環器内科 助教

孤立性心房細動症例の15%に家族歴が認められるとされ、2003年にKCNQ1遺伝子変異による家族性心房細動が報告されて以来、さまざまな遺伝子異常が報告されている。本研究では、孤立性心房細動症例に対して遺伝子解析および機能解析を行い、遺伝子異常の意義を明らかにすることを目的とした。孤立性心房細動患者72例(男性53例、平均発症年齢 46 ± 11 歳)を対象とし、KCNQ1, KCNH2, KCNE2, KCNA5, KCNJ2, SCN5A, SCN1B, SCN2B, SCN3B, GJA5, NPPA各遺伝子について遺伝子解析を行った。イオンチャネル遺伝子に変異が認められた場合、CHO細胞もしくはHEK293細胞に変異チャネルを発現させ、パッチクランプ法にて電気生理学的特徴を検討した。17例(24%)に心房細動の家族歴が認められ、8例に徐脈性不整脈、3例にBrugada症候群の合併が認められた。遺伝子解析の結果、2種類のKCNH2変異(T436M, T895M)と2種類のKCNA5変異(H463R, T527M)を同定した。また、2種類の新しい遺伝子多型(SCN5A R986Q, SCN1B T189M)と、心房細動発症と関わりがあると報告のある4種類の遺伝子多型(KCNH2 K897T, KCNE1 S38G, SCN5A H558R, SCN5A R1193Q)を同定した。21例にこれらの遺伝子変異もしくは多型が認められた。電気生理学的検討で、KCNH2 T436M, T895MおよびSCN1B T189Mは機能獲得異常と考えられ、KCNA5 H463RおよびSCN5A R986Qは機能喪失異常と考えられた。孤立性心房細動症例において機能異常を伴う心筋イオンチャネルの5つの遺伝子異常が認められ、これらは心房細動発症に関与している可能性があると考えられた。

A. 研究目的

孤立性心房細動症例に対して遺伝子解析および機能解析を行い、遺伝子異常の意義を明らかにすることを目的として研究を行った。

B. 研究方法

孤立性心房細動患者(高血圧、明らかな器質的心疾患、甲状腺機能異常を認めない65歳未満の症例)72例(男性53例、平均発症年齢 46 ± 11 歳)を対象とした。患者の末梢白血球よりゲノムDNAを抽出し、KCNQ1, KCNH2, KCNE2, KCNA5, KCNJ2, SCN5A, SCN1B, SCN2B, SCN3B, GJA5, NPPAのexon領域についてPCR法を用いて増幅した。Hi-Res Melting法を用いて遺伝子スクリーニングを行い、異常パターンを認めたサンプルについては、オートシーケンサーを用いて塩基配列異常を決定した。同定した遺伝子変異の機能解析を行うため、部位特定突然変異導入法を用いて変異cDNAを作成し、変異チャネルをCHO細胞またはHEK293細胞に発現させ、パッチクランプ法にて電気生理学的特徴を検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析については、金沢大学医薬保健研究域等 ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会に

課題名「不整脈関連遺伝子の解析」を申請し、承認を得た。研究実施に関与しない個人識別管理者が厳重に管理し、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ーで管理して、情報が漏洩しないよう個人情報保護に細心の注意をはらって行った。

C. 研究結果

孤立性心房細動患者72例中17例(24%)に心房細動の家族歴が認められた。22例が慢性心房細動であり、8例に徐脈性不整脈、3例にBrugada症候群の合併が認められた。遺伝子解析の結果、2種類のKCNH2変異(T436M, T895M)と2種類のKCNA5変異(H463R, T527M)を同定した。また、2種類の新しい遺伝子多型(1例にSCN5A R986Qおよび2例にSCN1B T189M)と、心房細動発症と関わりがあると報告のある4種類の遺伝子多型(4例にKCNH2 K897T, 7例にKCNE1 S38G, 2例にSCN5A H558R, 7例にSCN5A R1193Q)を同定した。72例中21例(29%)にこれらの遺伝子変異もしくは多型が認められた。KCNH2 T436M変異は38歳に発症し慢性心房細動の62歳男性に認められ、心房細動の家族歴が認められた。KCNH2 T895M変異は40歳より

動悸を自覚し発作性心房細動の59歳男性に認められ、心房細動の家族歴が認められた。*KCNA5* H463R変異は51歳より動悸を自覚し発作性心房細動の62歳女性で同定された。*KCNA5* T527M変異は49歳に発症し発作性心房細動と洞不全症候群の56歳男性で同定され、*KCNA5*変異の他に*KCNH2* K897T多型と*SCN5A* R1193Qが認められた。*KCNH2* T895M変異および*KCNA5* H463R変異の発端者において心房細動に対するカテテルアブレーションが施行された。また、*KCNA5* T527M変異の発端者において、洞不全症候群に対してペースメーカー植込み術が施行された。パッチクランプ法による電気生理学的検討で、*KCNH2* T436M、T895Mおよび*SCN1B* T189Mのそれぞれの発現電流は野生型と比べて有意に大であり、これらの変異は機能獲得異常と考えられた。*KCNA5* H463Rは野生型*KCNA5* に対してdominant-negative suppressionを示し発現電流の著しい低下が認められ、*SCN5A* R986Qの発現電流は野生型と比べて有意に小であり、これらの変異は機能喪失異常と考えられた。

D. 考察

心房細動の家族歴のある17例のうち13例で遺伝子変異および多型が認められず、本研究で解析した遺伝子以外の遺伝子異常が原因である可能性があり、次世代シーケンサ-などによる検討が必要と考えられた。

E. 結論

孤立性心房細動症例において機能異常を伴う5つの心筋イオンチャネルの遺伝子異常が認められ、これらは心房細動発症に関与している可能性があると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

Liu L, Hayashi K, Kaneda T, Ino H, Fujino N, Uchiyama K, Konno T, Tsuda T, Kawashiri MA, Ueda K, Higashikata T, Shuai W, Kupersmidt S, Higashida H, Yamagishi M. A novel mutation in the transmembrane nonpore region of the *KCNH2* gene causes severe clinical manifestations of long QT syndrome. *Heart Rhythm*. 2013 Jan;10(1):61-7.

2. 学会発表

The 27th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society / Symposium II, 遺伝性不整脈の臨床 from bench to bedside / 孤立性心房細動に認められる遺伝子異常とその意義 / 林 研至, 津田豊暢, 井野秀一, 谷 賢之, 劉 莉, 藤野 陽, 今野哲雄, 川尻剛照*, 倉田康孝, 東田陽博, 山岸正和

American Heart Association SCIENTIFIC SESSIONS 2012 / Functional Characterization of Cardiac Ion Channel Gene Variants in Lone Atrial Fibrillation / Kenshi Hayashi, Satoyuki Tani, Li Liu, Hidekazu Ino, Noboru Fujino, Tetsuo Konno, Akihiko Hodatsu, Toyonobu Tsuda, Akihiro Inazu, Haruhiro Higashida, Masa-aki Kawashiri, and Masakazu Yamagishi / Nov. 3-7, 2012, Los Angeles, CA

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

早期再分極症候群と Brugada 症候群の病態と長期予後に関する研究

研究分担者 鎌倉 史郎 国立循環器病研究センター 中央診療部門長（内科系）

研究要旨 心室細動を伴う早期再分極症候群と Brugada 症候群を全国規模で登録し、種々の検査を施行して、両症候群の病態と長期予後を検討した。この1年間で計130例を登録でき、その経過観察では両症候群とも、同等で不良な予後を呈していた。早期再分極症候群の後ろ向き検討では、本症候群が全く異なった2つの病態から構成されている可能性が示唆され、前壁誘導のJ波の存在が予後を決定していると考えられた。Brugada 症候群の検討では、電気生理学検査での2連発以下での早期期外刺激による心室性不整脈誘発が、全 Brugada 症候群のみならず、失神群、無症候群の不良な予後予測に有用であると考えられた。

A. 研究目的

Brugada 症候群は、V1-V3 誘導の特異な ST 上昇を特徴とし、青壮年男性が夜間に心室細動(VF)のために突然死する疾患である。一方、早期再分極(early repolarization)症候群は、下側壁誘導におけるJ波を特徴とする突然死疾患である。前者は1992年にBrugadaにより病態が報告されてからすでに20年を経た疾患であるのに対し、後者は2008年にHaissaguerreらにより提唱された未だ新しい疾患ともいえる。現在、欧米では、Brugada 症候群と早期再分極症候群とは同一の遺伝的背景、再分極異常に基づいて表現型だけが異なる疾患群との考え方が主流であるが、Na チャネル遮断薬に対する反応や有病率等の疫学は、両者で大きく異なっている。また Brugada 症候群では再分極異常だけでなく、脱分極異常が大きな役割を果たしているとの研究結果や、早期再分極症候群においても、再分極ではなく脱分極に異常があるとの報告も近年相次いでおり、その病像は未だ混沌としている。本研究では早期再分極症候群と Brugada 症候群を全国的な規模で集積し、後ろ向きと前向きに予後を観察し、同時に種々の心電図検査、電気生理学検査、遺伝子検査等を行って両症候群の病態、機序と、予後を解明することを目的とする。

B. 研究方法

本研究では、1)Haissaguerre らの定義した早期

再分極症候群、すなわち、VFの既往を有し、
、aVF 誘導と 、aVL、V4-V6 誘導のうち、2 誘導以上で notch または slur 波形を呈する 1mm 以上の J 波増高を有する症例と、2)VF の既往のある Brugada 症候群を登録する。可能な例でピルジカインド等の c 群薬負荷試験を行い、前胸部誘導での Type1 波形の出現状況を観察する。全例で突然死家族歴と失神歴を聴取し、心蘇生歴のある例では VF の出現時間、出現状況を把握する。必須検査として高位肋間心電図、心エコー図、ホルター心電図、運動負荷検査を、一部の例に加算平均心電図、心磁図検査を行い、同意の得られた例では電気生理学的検査により、心室性不整脈の誘発を右室心尖部と流出路から行う。誘発に用いる期外刺激数は 3 連発までとし、最短連結期間隔は 180msec とする。また、登録症例のうち、同意を得られた症例では末梢血を採取し、ゲノム DNA を抽出する。心筋に発現する Brugada 症候群関連の遺伝子 (SCN5A,CACNA1C 等) を PCR で増幅し、DNA シークエンサーで遺伝子異常を同定する。

これらの結果に基づいて、両症候群の病態と、遺伝子解析を行い、その相違を明らかにすると共に、後ろ向き、ならびに前向きの予後調査結果から、これらの疾患の予後予測指標を明らかにする。

C. 研究結果

この1年間において、過去の研究での登録症例を含め、計130例(VFを伴う早期再分極症候群:49例、VFを伴うBrugada症候群:81例)を登録できた。平均16±11月の前向き経過観察では、VFを伴う早期再分極症候群49例中の6例と、VFを伴うBrugada症候群81例中8例にICD適切作動が生じており、VF再発率には両群間で差を認めなかった。

早期再分極症候群では、前壁誘導のJ波の意義を検討した。VFを伴う下側壁早期再分極症候群31例にNaチャンネル遮断薬を投与し、その反応から1)下側壁誘導(II,III,aVF,I,aVL,V4-V6)のJ波と前壁誘導(V1-V3)にJ波(saddleback型ST上昇またはnotch)を認めるERS(A)群(39%)、2)下側壁誘導にのみJ波を認めるB群(61%)の2群に分類し、それぞれの病態、予後を検討した。その結果、下側壁誘導以外に前壁誘導にJ波を有するERS(A)群では、主として夜間にVF発作が生じ、平均92ヶ月間の経過観察中にVFを繰り返して予後が悪かったのに対し、下側壁誘導にのみJ波を有するERS(B)群は、そのほとんどが体動時にVF発作が生じ、心事故も有意に少なかった。また、ERS(A)群では、高位側壁誘導(I,aVL)にJ波を有する例が多く、Naチャンネル遮断薬負荷により、軽度のJ波上昇を示す例が多かった。

Brugada症候群では、電気生理学検査(EPS)での早期刺激数の意義を検討した。計108例のType1 Brugada症候群に最大3連発までの心室早期期外刺激を加えて、心室性不整脈を誘発し、VFまたは15連発以上の多形性VTが誘発された期外刺激数と長期予後との関係を調べた。その結果、3連発での誘発を含む全体の誘発性と予後とは関連がなかったが、1~2連発刺激で誘発された群の予後は、誘発されなかった群に比べ有意に悪かった。この関係は無症候群、失神群でも認められたことから、EPSでの2連発以下での心室性不整脈誘発性はBrugada症候群の有用な予後指標になると考えられた。

D. 考 察

今回の検討により、早期再分極症候群が全く異なる2つの病態から構成されており、約40%はBrugada症候群と類似した病態と不良な予後を示し、残りの約60%は特発性心室細動に類似した病

態と良好な予後を示すことが判明した。しかもそれらは前壁誘導で主として非Type1、つまりsaddleback型のJ波を示すか否かで病態と予後が決定されることが判明した。この結果からは、前壁のJ波を合併した早期再分極症候群では、Brugada症候群と同様に、主として再分極異常からVFが発生することが推定されるが、下側壁誘導だけにJ波をもつ早期再分極症候群は従来の機序では説明が困難な、ある種の脱分極異常に基づいて、VFが生じる可能性が示唆された。また、純粋な下側壁早期再分極症候群ではAntzelevitchらが指摘したような、J波分布別の重症度分類があてはまらないことも確認された。ただ、今回の検討は少数例での検討であるため、多数例での検証が必要と考えられた。今後、本研究が進み、早期再分極症候群の概念が整理されれば、さらに機序の理解が進むと考えられた。

Type1 Brugada症候群のEPSでのVF誘発性に関してBrugadaらは、初期の報告から一貫して予後指標になりうるとの見解を示していたが、一方でPriori・Eckardtらの登録研究などをまとめたメタ解析や、循環器病委託研究などでは予後推定に有用との結果は出てなく、最近報告されたFINGER研究、PRELUDE研究でも否定的な結果を示していた。しかしながら、これまでの研究では、3連発刺激を含むすべての誘発性の有無と予後とを比較していたため、本研究では、早期期外刺激数別に予後を検討したところ、1,2連発で簡単に心室性不整脈が誘発される例の予後が悪いことが判明した。また、この関係は無症候群・失神群でも認められた。これまで、Brugada症候群の中で、無症候、失神例では、その予後推定において信頼できる予知指標がなかった。しかしながら、EPSがBrugada無症候、失神群の有用な予後予知指標になりうることを判明した。この結果に対して、PrioriらはPRELUDE研究の中で、誘発された刺激数と予後との関係には有意な差がなかったと述べている。しかしながら、彼らの誘発法は我々のように一貫した手法を用いていない。このためPRELUDE研究の誘発法では誘発刺激数と予後との関係を評価しえないと考えられる。

E. 結 論

VFを伴う早期再分極症候群とBrugada症候群はほぼ同様に不良な予後を呈していた。早期再分極症候群は全く異なった2つの病態から構成されている可能性があり、前壁誘導でのJ波が予後を決定していると考えられた。Type1 Brugada症候群では、電気生理学検査での2連発以下での早期期外刺激による心室性不整脈誘発が、全Brugada症候群のみならず、失神群、無症候群の不良な予後予測に有用であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kawata H, Noda T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, Isobe M, **Kamakura S**, Shimizu W: Effect of sodium-channel blockade on early repolarization in inferior/lateral leads in patients with idiopathic ventricular fibrillation and Brugada syndrome. *Heart Rhythm* 9: 77-83, 2012
2. Makimoto H, **Kamakura S**, Aihara N, Noda T, Nakajima I, Yokoyama T, Doi A, Kawata H, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Shimizu W: Clinical impact of the number of extrastimuli in programmed electrical stimulation in patients with Brugada type 1 electrocardiogram. *Heart Rhythm* 9: 242-248, 2012
3. Watanabe H, Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, Makiyama T, Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, **Kamakura S**, Horie M, Aizawa Y, Shimizu W, Makita N. Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization. *Int J Cardiol.* 2012;159:238-40.
4. Kamakura T, Kawata H, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, **Kamakura S**, kimura T, Shimizu W.

Significance of latent anterior early repolarization in patients with inferolateral early repolarization syndrome. *J Am Coll Cardiol* in revision.

5. **鎌倉史郎**: 心室細動.山口徹・北原光夫・福井次夫(編),今日の治療指針2012年版,医学書院,東京,2012;351-352
6. **鎌倉史郎**: 早期再分極症候群.井上博・村川祐二(編),不整脈学,南江堂,東京,2012:517-520
7. **鎌倉史郎**: J波症候群.永井良三・許俊鋭・鄭忠和・澤芳樹(編),循環器疾患の最新医療,先端医療技術研究所,東京,2012:126-128

2. 学会発表

1. **Kamakura S**: Debate:Could Brugada syndrome be treated without ICD; Con. 5th APHRS 2012, Taipei,2012.10.4
2. **鎌倉史郎**: Jwave(波)症候群.第76回日本循環器学会学術集会モーニングレクチャー,福岡,2012
3. Kobayashi T, **Kamakura S**, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Yasuda S, Shimizu W. Distribution of J waves on 87-lead body surface map in patients with inferolateral early repolarization syndrome. ESC Congress 2012, Munich, 2012
4. Iwakami N, **Kamakura S**, Okamura H, Noda T, Satomi K, Shimizu W, Takaki H, Sugimachi M. Is J-wave a manifestation of ventricular repolarization abnormality? AHA2012, Los Angeles, 2012, *Circulation* 2012;126:A10813
5. Aiba T, Yokoyama T, **Kamakura S**, Takaki H, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Shimizu W, Sugimachi M. Noninvasive evaluation of arrhythmic substrate in the Brugada syndrome using high resolution magnetocardiography. AHA2012, Los Angeles, 2012, *Circulation* 2012;126:A15888.

先天性心疾患の臨床情報データ・ベース化と遺伝子情報の統合による臨床・基礎総合研究

研究分担者 白石 公 国立循環器病研究センター 小児循環器・周産期部門長

研究要旨：研究要旨：我々は先天性心疾患の原因遺伝子を明らかにする目的で、患児および家族の末梢血リンパ球をEBウイルスにより株化し遺伝子解析を行っている。通算約150例の検体を採取して心臓形態形成に重要な遺伝子を解析した結果、先天性心疾患患児に、*KRAS*, *RAF1*, *PTP11*, *CFC1*における遺伝子変異を検出した。

A．研究目的：

先天性心疾患の病因は、胎児の遺伝情報の異常（染色体異常、染色体部分欠失、遺伝子変異）、母体の環境要因（ウイルス感染、奇形性のある）挙げられているが、約85%は、原因不明の多因子遺伝と考えられている。すなわち複数の遺伝子異常と環境要因により引き起こされると考えられている。今回私たちは、先天性心疾患を引き起こす遺伝子および環境要因を明らかにし、発症予防につなげることを最終目的として、先天性心疾患患者およびその家族から末梢血を採取し、心臓形態形成に重要な遺伝子を解析するとともに、患者の臨床情報を集積する研究を行っている。

B．研究方法

先天性心疾患患者および家族より末梢血を採取し、リンパ球を分離した後にEBウイルスにより株化（不死化）を行う。まず始めに、新生児を含む幼小児例での採血のため、1~2mlの少量採血からの株化が可能かどうかの基礎実験を行った（京都府立医科大学ゲノム医学教室：田代 啓教授に依頼）。その後、実際には株化されたリンパ球からDNAを分離して、形態形成に重要な遺伝子（*Nks2.5*, *GATA4*, *Tbx1*, *Tbx5*, *Lefty2*, *Nodal*, *Pitx2*, *KRAS*, *RAF1*, *CFC1*, *PTP11*など）のシーケンズを行い、その異常を同定するとともに、患者の臨床情報、母体の妊娠中の環境要因なども調査した（国立循環器病研究センター研究所分子生物学部：森崎隆幸部長ならびに森崎裕子室長が担当）。

（倫理面への配慮）

本研究は国立循環器病研究センター倫理委員会の承認のもとに実施されたとともに、厚生労働省の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成20年12月1日改訂）に基づき実施されている。患者および代諾者である両親には同意を得て採血と遺伝子解析を行うとともに、遺伝子解析の任意撤回の自由も保障されている。

C．研究結果

少量採決による株化が可能であることが明らかになったとともに、常温による保管で関連施設から血液を搬送しても株化の効率に影響ないことも明らか

かとなった。この方法によりこれまでに通算約150例の先天性心疾患の患者および家族から血液を採取しリンパ球の株化を行った。現在までに心臓形態形成に重要な遺伝子を解析した結果、先天性心疾患患児に、*KRAS*, *RAF1*, *PTP11*, *CFC1*における遺伝子変異を検出した。

D．考察

これらの遺伝子異常には過去に報告されて以来ものも含まれており、今後その遺伝学的意義を解析するとともに臨床症状（先天性心疾患）との関連について検討を行う予定である。

E．結論

先天性心疾患の原因遺伝子を明らかにするとともに先天性心疾患の発症予防を目指して、患児および家族の末梢血リンパ球をEBウイルスにより株化し遺伝子解析をおこない、数種類の遺伝子異常を見いだした。今後は先天性心疾患の発症率を少しでも低下させる研究を手がける予定である。

G．研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H．知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記すべきものなし

遺伝性不整脈の遺伝子解析に関する研究

研究分担者 宮本 恵宏 国立循環器病研究センター 予防健診部 部長
研究協力者 太田 直孝 国立循環器病研究センター 臨床検査部 主任臨床検査技師

研究要旨 遺伝性不整脈疾患は、致死性不整脈を発症し、心臓突然死を引き起こす疾患である。遺伝性不整脈疾患は、先天性 QT 延長症候群 (LQTS)、Brugada症候群 (特発性心室細動)、進行性心臓伝導障害 (PCCD)、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT)、QT 短縮症候群 (SQTS)などが含まれるが、LQTSの原因遺伝子はすでに10以上ある。しかし、遺伝子診断で同定される原因遺伝子の殆どがLQT1(KCNQ1)、LQT2(KCNH2)、LQT3(SCN5A)であり、我々の施設ではLQT1、LQT2、LQT3、LQT7の遺伝子変異の同定をPCR直接シーケンス法でおこなっている。2012年のLQTSの遺伝子検査を行った発端者数は122例であり、その内LQT1遺伝子に変異の同定された症例は25例、LQT2遺伝子に変異の同定された症例は25例、LQT3遺伝子に変異の同定された症例は5例、LQT7遺伝子に変異の同定された症例は2例であった。我々の施設では2000年より遺伝子検査を行っているが、遺伝子変異の同定率は54%である。今後は、次世代シーケンス法により見逃されていた変異の同定も考慮する必要がある。

A．研究目的

遺伝性不整脈疾患は、致死性不整脈を発症し、心臓突然死を引き起こす疾患である。遺伝性不整脈疾患の成因は、心筋のイオンチャネルとこれに関連する細胞膜蛋白、調節蛋白などをコードする遺伝子上の変異による機能障害であり、先天性 QT 延長症候群 (LQTS)、Brugada症候群 (特発性心室細動)、進行性心臓伝導障害 (PCCD)、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT)、QT 短縮症候群 (SQTS)などが含まれる。

なかでも LQTS はすでに 10 以上の原因遺伝子が報告されているが、同定される原因遺伝子の殆どが LQT1(KCNQ1)、LQT2(KCNH2)、LQT3(SCN5A)である。また、新たな LQTS の原因遺伝子を同定するためにも、LQT1(KCNQ1)、LQT2(KCNH2)、LQT3(SCN5A)のスクリーニングが必須である。本研究では PCR 直接シーケンス法による LQT1、LQT2、LQT3 に LQT7 を加えた検討について報告する。

B．研究方法

LQT1遺伝子KCNQ1は染色体11p15.5に存在し、15個のエクソンからなる遺伝子であり、LQT2遺伝子KCNH2は染色体7q35-36にあり、15個のエクソンからなる遺伝子であり、LQT3遺伝子SCN5Aは染色体3p21-24に存在し28個のエクソンからなる。LQT7遺伝子はKCNJ2で染色体17q23に存在する2個のエクソンからなる遺伝子である。

我々はLQT1、LQT2、LQT3、LQT7に対してそれぞれ19対、15対、29対、4対のPCRプライマーセットを作成し、遺伝子の全エクソン領域をPCR直接シーケンス法で両方向からシーケンスを行った。

(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に準拠して実施する。また本研究は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患者から末梢血を採取し、ゲノムDNAを抽出した。患者の血液・ゲノムDNAなどのサンプルは、氏名、生年月日、住所などの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。提供者と新たにつける符号との対応表は個別識別情報管理者が厳重に管理し、個人が特定できない状態で解析を行った。また、患者に遺伝子異常が確認された場合には、患者の同胞についても遺伝子検索をする必要があることがある。その場合にでも十分な説明と同意を得て遺伝子カウンセリングを行った。

C．研究結果

2012年のLQTS遺伝子検査を行った発端者数は122例であり、その内LQT1遺伝子に変異の同定された症例は25例、LQT2遺伝子に変異の同定された症例は25

例、LQT3遺伝子に変異の同定された症例は5例、LQT7遺伝子に変異の同定された症例は2例であった。

D．考察

2012年のLQTSの遺伝子検査での変異の同定率は約47%であった。我々の施設では2001年より2012年まで743例のLQTS発端者に対して遺伝子検査をおこない、402例に変異を同定しており、変異の同定率は54%である。2000年にSplawskiらが262例のLQTSで68%に変異を同定したと報告しているが(Circulation. 2000;102:1178-1185.)その後、Davidらは541例のLQTS症例に対して変異が同定されたのは39%(Heart Rhythm 2005;2:507-517)、Jamieらも2500例の発端者で遺伝子変異の同定率を36%と報告している(Heart Rhythm 2009;6:1297-1303)。

我々の施設では2000年よりほぼ50%に変異を同定している。これは、臨床的診断が同一基準で行われていることが主な理由と考えられる。しかし、今後は、塩基配列の決定技術の進歩により、PCR直接シーケンス法では見逃されていた変異が同定されることが予想される。

E．結論

PCR直接シーケンス法によるLQTSの遺伝子変異のスクリーニングでは約50%に遺伝子変異が同定された。

G．研究発表

1. 論文発表 Morisaki H, Yamanaka I, Iwai N, Miyamoto Y, Kokubo Y, Okamura T, Okayama A, Morisaki T: CDH13 Gene Coding T-Cadherin Influences Variations in Plasma Adiponectin Levels in the Japanese Population. Hum Mutat 33(2) : 402-10, 2012

2. 学会発表

なし

H．知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

遺伝性不整脈の臨床診断、遺伝子解析に関する基礎及び臨床研究

研究分担者 相庭 武司 国立循環器病研究センター心臓血管内科・不整脈科医長

研究要旨

先天性QT 延長症候群(LQTS)は心電図でのQT 時間延長に伴いTorsade de Pointes(TdP)と呼ばれる致死性の心室性不整脈を引き起こし、失神発作や突然死の原因となる疾患である。変異のある遺伝子の種類により現在1~13 のタイプに分類されているが、LQT1~3 型が9 割を占める。遺伝子診断率の向上(50~70%)により遺伝子型と表現型との関連や、さらに同じ遺伝子型でも変異部位別の重症度の違いが検討されてきている。国内の多施設登録研究によって遺伝子型のみならず変異部位による特異的な重症度の評価・治療方法の選択が可能になりつつある。しかし、同一家系内で同じ遺伝子異常を有しているにもかかわらず、心事故の発症リスクに差が認められることも珍しくなく、遺伝子の変異だけですべてが説明可能なわけではない。本研究ではまずこれまでの国内登録研究のデータベースをもとに日本人のQT延長症候群の遺伝子型と表現形(心電図異常など)の関係を明らかにし、さらに変異部位別の予後やβ遮断薬に対する治療抵抗性などを明らかにする。さらにはパッチクランプ実験によるイオンチャネル機能解析を行い、その原因となる分子生物学的基盤を明らかにする。今後は年齢、性差や遺伝子多型の存在などさまざまな修飾因子を考慮し、それに基づく個別リスク評価と治療法の選択が可能となると思われる。

A. 研究目的

先天性QT 延長症候群(LQTS)では遺伝子診断により遺伝子型に沿った特異的な生活指導や治療が実践されつつある。一方で同じ遺伝子型でも変異の種類や領域によって治療効果や予後に差があるなど十分に解明されていない点も多い。そこで本研究では先天性QT 延長症候群多施設登録(厚生労働省研究班)データベースをもとに各遺伝子型(LQT1~3)の遺伝子変異領域と予後、治療効果について検討した。

B. 研究方法

遺伝子型の判明している先天性LQTS患者950例(LQT1:408、LQT2:386、LQT3:112例)における遺伝子異常の特徴と心イベント、治療、予後について検討した。

本研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理原則、疫学研究に関する倫理指針、独立行政法人等個人情報保護法に基づく追記事項をはじめとする本邦における法的規制要件を遵守し実施する。

C. 研究結果

LQT1(変異計64箇所、発端者:203、家族:205例)では170例に失神の既往があり、そのうち33例(19%)が致死性(心停止、VF)イベントであった。80%の心事故は運動または水泳中で、情動ストレスや安静時の発作は5%以下であった。変異部位ではC末端の比ベ膜貫通領域の変異にイベントの発生が多く、特に致死性イベントはS4-S5 inner loop やS5-pore-S6の変異の患者に多くみられた。β遮断薬

内服後のイベントは18例/158例(11%)に認め、その72%はS5-pore-S6部位の変異であった。

LQT2(変異計172箇所、発端者:219、家族:167例)では190例に失神の既往があり、そのうち52例(27%)が致死性イベントであった。心事故の誘因に運動(10%)は少なく、6割以上が情動ストレス(32%)か安静・睡眠中(32%)で、致死性イベントの半数は安静・睡眠中であった。β遮断薬後も35例/178例(20%)に失神を認めその40%は致死性イベントであった。イベントはS5-pore-S6の変異の患者はそれ以外の変異よりも多く、かつ治療抵抗性であった。

LQT3(変異計32箇所、発端者:66、家族51例)では34例が失神の既往あり、そのうち15例(44%)は致死性イベントであった。心事故は安静・睡眠中(55%)や情動ストレス時(21%)に多く、運動中(10%)は少ない。93%の致死性イベントは安静・睡眠中に生じており、その多くが初回発作であった。発端者、QT時間、S5-S6変異が独立した予後規定因子であるが、致死性イベントに対してはS5-S6変異がそれ以外の変異の7.3倍の危険を認めた。

D. 考察

先天性LQTSでは遺伝子診断率の向上(50~70%)により、遺伝子型と表現型との関連や、さらに同じ遺伝子型でも変異部位別の重症度の違いが検討されてきており、遺伝子型のみならず変異部位による特異的な診断・治療方法の選択が可能になりつつある。

しかし、同一家系内で同じ遺伝子異常を有しているにもかかわらず、心事故の発症リスクに差が認められることも珍しくなく、遺伝子の変異だけですべてが説明可能なわけではない。今後は年齢、性差や遺伝子多型の存在などさまざまな修飾因子を考慮し、それに基づく個別リスク評価と治療法の選択が可能となると思われる。

E. 結論

LQT1～3では各遺伝子変異部位から予後、治療効果についてある程度予測可能になりつつある。中でも各チャンネルのポア領域の変異は重症度予測として有用である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Aiba T, Barth AS, Hesketh GG, Hashimoto YL, Chakir K, Tunin RS, Greenstein JL, Winslow RL, Kass DA, Tomaselli GF. Cardiac Resynchronization Therapy Improves Altered Na Channel Gating in Canine Model of Dyssynchronous Heart Failure. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2013 May 6. (Epub)
- 2) Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshishige M, Hayashida Y, Miki D, Hayes CN, Suzuki H, Tokuyama T, Oda N, Suenari K, Uchimura-Makita Y, Kajihara K, Sairaku A, Motoda C, Fujiwara M, Watanabe Y, Yoshida Y, Ohkubo K, Watanabe I, Nogami A, Hasegawa K, Watanabe H, Endo N, Aiba T, Shimizu W, Ohno S, Horie M, Arihiro K, Tashiro S, Makita N, Kihara Y. A Nonsynonymous Polymorphism in Semaphorin 3A as a Risk Factor for Human Unexplained Cardiac Arrest with Documented Ventricular Fibrillation. *PLoS Genet*. 2013 Apr;9(4):e1003364.
- 3) Das S, Aiba T, Rosenberg M, Hessler K, Xiao C, Quintero PA, Ottaviano FG, Knight AC, Graham EL, Boström P, Morrisette MR, del Monte F, Begley MJ, Cantley LC, Ellinor PT, Tomaselli GF, Rosenzweig A. Pathological role of serum- and glucocorticoid-regulated kinase 1 in adverse ventricular remodeling. *Circulation*. 2012 Oct 30;126(18):2208-19.
- 4) Takigawa M, Kawamura M, Noda T, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Kamakura S, Sakaguchi T, Mizusawa Y, Itoh H, Horie M, Shimizu W. Seasonal and circadian distributions of cardiac events in genotyped patients with congenital long QT syndrome. *Circ J*. 2012;76(9):2112-8. Epub 2012 Jun 23.
- 5) Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y,

Yamakawa H, Matsushashi T, Ohno Y, Toyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K. Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. *Cardiovasc Res*. 2012 Sep 1;95(4):419-29.

- 6) Aiba T, Tomaselli G. Electrical remodeling in dyssynchrony and resynchronization. *J Cardiovasc Transl Res*. 2012 Apr;5(2):170-9.
- 7) Sachse FB, Torres NS, Savio-Galimberti E, Aiba T, Kass DA, Tomaselli GF, Bridge JH. Subcellular structures and function of myocytes impaired during heart failure are restored by cardiac resynchronization therapy. *Circ Res*. 2012 Feb 17;110(4):588-97.
- 8) Kawata H, Noda T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, Isobe M, Kamakura S, Shimizu W. Effect of sodium-channel blockade on early repolarization in inferior/lateral leads in patients with idiopathic ventricular fibrillation and Brugada syndrome. *Heart Rhythm*. 2012 Jan;9(1):77-83.
- 9) Makimoto H, Kamakura S, Aihara N, Noda T, Nakajima I, Yokoyama T, Doi A, Kawata H, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Shimizu W. Clinical impact of the number of extrastimuli in programmed electrical stimulation in patients with Brugada type 1 electrocardiogram. *Heart Rhythm*. 2012 Jan;9(1):77-83.

2. 学会発表

- 1) Aiba T, Toyoda F, Makita N, Matsuura H, Makimoto H, Yamagata K, Horie M, Fukushima N, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano F K, Yamagishi M, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara N, Sumitomo N, Kamakura S, Shimizu W. Biophysical Properties of Na Channel in the S5-S6 High Risk LQT3 Mutations of the Long QT Syndrome. *AHA* 2012

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

疾患特異的iPS細胞を用いた先天性QT延長症候群の病態解明に関する研究

研究分担者 福田 恵一 慶應義塾大学医学部 循環器内科 教授

研究要旨

遺伝性不整脈疾患の病態解明にあたり、研究分担者の所属する慶應義塾大学病院循環器内科を外来通院または入院加療を行った患者に対し、当該疾患を有している者に対し、書面にて説明と同意を得た上で遺伝子解析目的の採血を行った。これまでに111人のサンプルが集まっており、うち20人で変異同定が可能であった。QT延長症候群に関しては型毎に疾患特異的iPS細胞を作成し、不整脈の病態解明、薬効評価などを行った。疾患特異的iPS細胞を用いた解析は、従来のパッチクランプを用いた解析と結果が一致し、本解析は有用な手段であることが明らかとなった。

A．研究目的

遺伝性不整脈疾患は突然死の原因となるためその病態解明および早期診断、有効な治療法の検索は急務である。実際に当該疾患の患者において原因遺伝子を同定した上で、疾患特異的iPS細胞を作成し、各種研究、解析を行うことで速やかな実臨床へのフィードバックが可能となる。

B．研究方法

慶應義塾大学病院循環器内科を外来通院または入院加療を行っている患者に対し、QT延長症候群、ブルガダ症候群、家族性心房細動、家族性ペースメーカー症候群などの当該疾患を有している者に対し、書面にて説明と同意を得た上で遺伝子解析目的の採血を行った。また1型QT延長症候群の家系に関しては疾患特異的iPS細胞を作成し、不整脈の病態解明、薬効評価などを行った。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析にあたり、本研究の目的、方法、同意書などは慶應義塾大学病院の倫理委員会によって承認されたものである。なお遺伝子解析にあたり研究対象全患者には書面を用いて説明を行い同意書を得た。

C．研究結果

これまでに111人のサンプルが集まっている。疾患の主な内訳はQT延長症候群27例、ブルガダ症候群18例、家族性心房細動10例であった。うち20人で変異同定が可能であった。

D．考察

疾患特異的iPS細胞を作製した1型QT延長症候群の患者での基礎的検討では、IKr遮断薬であるE4031はコントロールおよび患者由来iPS細胞でFPDを延長させ、不整脈が発生した。またIKs遮断薬であるchromanol 293Bは患者由来のiPS細胞のFPDは延長させず、本患者におけるIKsの障害が示唆された。

E．結論

この新しい解析手段は従来のパッチクランプを用いた解析と結果が一致し、本解析は有用な手段であることが示された。

G．研究発表

1. 論文発表

- 1) Egashira T, Yuasa S, Fukuda K. Novel insights into disease modeling using induced pluripotent stem cells. *Biol Pharm Bull.* 2013;36(2):182-8.
- 2) Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsushashi T, Ohno Y, Toyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S, Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, Makita N, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, Fukuda K. Disease characteriz

ation using LQTS-specific induced pluripotent stem cells. Cardiovasc Res. 2012 Sep 1;95(4):419-29.

- 3) Seki T, Yuasa S, Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from a small amount of human peripheral blood using a combination of activated T cells and Sendai virus. Nat Protoc. 2012 Mar 15;7(4):718-28.

2. 学会発表

- 1) 相澤義泰, 高月誠司, 木村雄弘, 西山信大, 福本耕太郎, 谷本陽子, 谷本耕司郎, 三好俊一郎, 鈴木誠, 横山泰廣, 池主雅臣, 相澤義房, 福田恵一. 完全右脚ブロックを呈する特発性心室細動症例の臨床的および心電図学的特徴の検討. 第27回日本不整脈学会学術集会. 2012年7月6日(金). 神奈川県横浜市.
- 2) 湯浅慎介. Disease Modeling Using Human iPS Cells. 第60回日本心臓病学会学術集会. 2012年9月16日. 石川県金沢市.
- 3) 稲川浩平、相澤義泰、高月誠司、勝俣良紀、西山崇比古、木村雄弘、西山信大、福本耕太郎、谷本陽子、谷本耕司郎、湯浅慎介、西森健雄、稲垣雅行、有村卓朗、木村彰方、三田村秀雄、福田恵一. 家族性WPW症候群の1家系における臨床像の検討. 第29回日本心電学会学術集会. 2012年10月12日. 千葉県幕張市.
- 4) Keiichi Fukuda. Keynote Lecture: Use on iPS Cells for the Evaluation of Familial Sudden Death Syndrome. APHRS2012. Taipei, Taiwan.
- 5) Keiichi Fukuda. Generation of Disease-Specific iPS Cells from Circulating Blood Cell Using Sendai Virus. APHRS2012. Taipei, Taiwan.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

遺伝性不整脈のゲノム解析

研究分担者 関根 章博 国立循環器病研究センター 客員部長

研究要旨

Brugada症候群は重篤な不整脈から死に至る可能性の高い疾患であり、原因究明することで、予測診断や新規医療の実現に寄与するものと考えられる。申請者らは当該疾患を罹患した多くの家系を所持している。分担者はこの家系検体を中心に当該疾患の遺伝的発症原因遺伝子（座位）を同定するために次世代シーケンサー（NGS）を用いた全exon解析に着手した。H24年度はNGSデータの取得と解析（bioinformatics）法を確立を目指し、4家系を用いてシステム構築を実施し、広域exon塩基配列の決定ならびにshort variations(配列の短い多型および変異)の抽出を実現し、計画を達成した。少ない家系数の解析では原因は絞り込めないことは当初より推察していたが、予想通り100座を超える座位が候補となった。平成25年度に別の家系および個々の罹患者、さらにコントロール検体の解析を行い、原因遺伝子の同定を実施する計画である。

A．研究目的

Brugada症候群の遺伝的発症原因遺伝子（座位）を同定するために当該疾患の家系および個々の検体を用いて次世代シーケンサーによる全exon解析を実施する。本年度（平成24年度）は本アプローチが可能となるよう次世代シーケンサーの遂行および解析システムを構築すると共に、可能な限り多くの解析検体を追加することを目標とする。なお、解析実施に伴い原因が同定されれば、予測診断や早期治療を目指し当該疾患の個別化医療の実現を目指す。

B．研究方法

Brugada症候群と診断された患者さんおよびそのご家族の同意が得られた後、血液からゲノムDNAを抽出し、covarisによるDNA断片化を行い、exonキャプチャーにて広域exon領域を抽出する。これを試料として次世代シーケンサー（Illumina社HiSEQ1000;以下NGS)による広域exon配列決定をpair-end法により実施する。配列決定はbioinformaticsにより行うが、この際、raw dataはCASAVAにてFastqデータに、さらにBWA/bowtieにてマッピングを、Picardにて重複除去を、GATK/Samtoolsにて多型検出を、Pindelにてゲノム構造異常を検出し、さらに配列の決定できない領域はPindelにてアノテーションを実施するとともに

に独自開発プログラムにてホローアップする。得られた多型や構造異常から当該疾患と関連するものを抽出するために、家系検体ではノンパラメトリック解析を、個々の検体では家系解析から得られた多数の候補座位の確認ならびに相関解析にて原因座位を同定する。

（倫理面への配慮）

すでに当該研究における倫理申請・承認を得ると共に、患者さんには十分な説明を行った上で同意を得て研究に活用している。また、常時「撤回」の機会があり、研究に賛同できない場合には以降の情報を削除する。また、NGSから得られる情報は個人の身体的特徴ともなるため、解析に用いる試料は匿名化の上、解析に用いる機器および解析計算機は立入りの制限のかかった管理室内に設置し、インターネット非接続下で実施している。連結は個人情報管理者のみが実施できる体制で取組んでいる。

C．研究結果

本年度はBrugada症候群を罹患した患者さんを含む4家系について全exon解析を実施した。この4家系の罹患者を中心として、exon配列の決定ならびに多型（short variations）の抽出は研究方法に従い実現し、計画通りに進んだと判断している。ところで、Brugada症候群はいずれの家系ともに優性遺伝継承（両親のいずれかが罹患しているとそのお子

さんの一部に罹患する)によって発症することが強く疑われるが、保因者x罹患患者から劣性遺伝型で発症する可能性も疑って解析を実施している。解析対象者の塩基配列および多型(short variations)情報は全て取得できたが、現状4家系の解析では100座を超える候補座位が浮上している。このことは試験開始前からすでに予測していたことで、本年度に研究協力をお願いしていた別の家系および個々の患者さんの検体の解析を組合わせて平成25年度に原因究明を行う予定でいる。

D . 考察

平成24年度までに報告されたshort variations(配列の短い多型と変異)数は約5,500万にのぼり、これにstructure variations(配列の長い多型)が追加される。この中からBrugada症候群となる原因を同定することになるので、擬陽性を掴む可能性がある。これを回避するには、解析に耐えうる症例数とコントロール検体の確保が重要となる。申請者らはこれまでに多くのBrugada症候群の検体を整備するとともに、5000例を超すコントロールサンプルを所持している。原因座位の信憑性を高めるには、家系間で共有する座位、個々Brugada症候群に多くみられる配列、Brugada症候群を含まないコントロール群の中に同定されない配列を決定する必要があるが、これらの準備が整ったといえ、H25年度にこれらの解析を進めることで原因が究明されるものと推察している。

E . 結論

平成24年度は当初の目的であったNGSによる全exon解析のシステムを完成させ、同時に検出力を確保するための検体の収集を実現でき、計画通りに進んでいると判断している。すでにH25年度に実施する解析検体やスケジュールも決定しており、本年度構築したNGSによる解析によって原因座位がexon上に存在すれば同定できる見込みとなった、但し、万が一、原因がexon上に存在しない可能性もあるので、解析については、exon領域のみならず、NGSによる全ゲノム解析からのゲノム構造異常による発症原因へのアプローチならびに迅速なゲノム広域へのアプローチであるGWAS(Genome-Wide Association Study)のシステムも構築し、全exon解析で原因が究明されな場合の対応策も確保した。

F .健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshimura K et al (3rd author) : B-type natriuretic peptide as an independent correlate of nocturnal voiding in Japanese women. *Neurourol Urodyn* , 2012 (PMID: 22532404)
2. Hotta K et al (last author) : Association between type 2 diabetes genetic susceptibility loci and visceral and subcutaneous fat area as determined by computed tomography. *J Hum Genet.* 57:305-310, 2012
3. Li H. et al. (13th author) : Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians. *Diabetologia.* 55:981-995, 2012
4. Hotta K et al (last author) : Genetic variations in the CYP17A1 and NT5C2 genes are associated with a reduction in visceral and subcutaneous fat areas in Japanese women *J Hum Genet.* 57:46-51, 2012
5. Hotta K et al (last author) : Computed tomography analysis of the association between the SH2B1 rs7498665 single-nucleotide polymorphism and visceral fat area *J Hum Genet.* 56:716-719, 2011
6. Hotta K et al (last author) : Association of variations in the FTO, SCG3 and MTMR9 genes with metabolic syndrome in a Japanese population. *J Hum Genet.* 56:647-651, 2011

2. 学会発表

なし

H . 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

原因が同定されれば予測診断のための特許を申請する予定でいる。

2. 実用新案登録

3. その他

Brugada症候群の原因座位が明らかになれば、当該領域専門医と連携し、国立循環器病研究センターにてリスク遺伝子型を所持するかを調査できる体制としたい。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Shimizu W, Ackerman MJ	Provocative (drug) testing in inherited arrhythmias.	Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK (eds)	Electrical Diseases of the Heart (Second edition)	Springer,	Oxford , UK,	2013	in press
Shimizu W	Acquired form of Brugada syndrome.	Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK (eds)	Electrical Diseases of the Heart (Second edition)	Springer	UK, Oxford ,	2013	in press
清水 渉	23. 突然死の家族歴. (分担)	山下武志	あなたも名医! ああ~どうする?! この不整脈 - ずばっと解決しちゃいます	日本医事新報社	東京	2012	113-117
清水 渉	13章 循環器疾患 12. 不整脈 5) 心臓突然死 (先天性QT延長症候群, Brugada症候群, カテコールアミン誘発性多形性心室頻拍を含む). (分担)	門脇 孝, 永井良三	内科学	西村書店	新潟	2012	663-665
清水 渉	巻頭トピックス7. 早期再分極とJ波症候群. (分担),	堀 正二, 永井良三	循環器疾患最新の治療 2012-2013	医学書院	東京	2012	32-37
清水 渉	第5章 不整脈. QT延長症候群・QT短縮症候群.(分担)	井上 博, 許俊鋭, 檜垣實男, 代田浩之, 筒井裕之	今日の循環器疾患治療指針(第3版)	医学書院	東京	2012	228-232
清水 渉	第1章 心筋の電気生理. 14) 心室の活動電位の不均一性. (分担)	井上 博, 村川祐二	不整脈学	南江堂	東京	2012	52-54
清水 渉	第 13 章 特発性心室頻拍と遺伝性の致死性心室頻拍. 5) 臨床像から見た先天性 QT 延長症候群. (分担)	井上 博, 村川祐二	不整脈学	南江堂	東京	2012	496-499

<u>清水 渉</u>	VI-3. QT 延長症候群・QT 短縮症候群. (分担)	池田隆徳, 山下武志	不整脈学概論 専門医になるためのエッセンシャルブック	メジカルビュー社	東京	2012	376-383
<u>清水 渉</u>	不整脈. (分担)		南山堂医学大辞典2011	南山堂	愛知	2012	印刷中
<u>清水 渉</u>	刺激伝導障害(ブロック). (分担),,; 南山堂,		南山堂医学大辞典2011	南山堂	愛知	2012	印刷中
<u>清水 渉</u>	5. 循環器系の疾患. 5.4 循環器疾患と遺伝子異常. 3) 遺伝性不整脈. (分担)	矢崎義雄, 永井良三他	内科学	朝倉書店	東京	2012	印刷中
<u>Hayashi H, Horie M.</u>	Prognostic value of P wave for developing atrial fibrillation.	Choi JI	Atrial Fibrillation - Basic Research and Clinical Applications	INTECH	Croatia	2012	189-198
<u>Horie M</u>	Pipette perfusion technique.	Okada Y	Patch Clamp Techniques : from Beginning to Advanced Protocol.	Springer	Germany	2012	219-228
<u>堀江 稔</u>	不整脈の遺伝子異常	井上 博, 村川裕二	不整脈学	南江堂	東京	2012	221-225
<u>堀江 稔</u>	遺伝子疾患としての心房細動	井上 博, 村川裕二	不整脈学	南江堂	東京	2012	405-409
<u>堀江 稔</u>	不整脈	藤田次郎, 大屋祐輔	Nuesing Mook 74 - 慢性疾患の急性増悪と その対応	株式会社学研マーケティング	東京	2012	44-53
<u>Makita N.</u>	Phenotypic overlap of lethal arrhythmias associated with cardiac sodium mutations. Individual-specific or mutation-specific?	Ostadal B.	Genes and Cardiovascular Function	Springer	New York	2012	185-196

蒔田直昌	遺伝子とチャネルからみた先天性 QT 延長症候群	井上 博, 村川裕二	不整脈学	南江堂	東京	2012	491-495
萩原誠久	不整脈源性右室心筋症	井上 博,許俊鋭,檜垣實男, 代田浩之,筒井裕之	今日の循環器疾患治療指針 第3版	医学書院	東京	2013	618-620
萩原誠久	洞不全症候群	堀 正二, 永井良三	循環器疾患最新の治療 2012-2013	南江堂	東京	2012	307-311
堀米仁志	QT 延長症候群	『小児内科』 『小児外科』編 集委員会共編	小児内科 Vol.44 2012 年増刊号 小児疾患の診断治療基準 第4版	東京医学社	東京	2012	522-523
金丸 浩, 住友直方	就学・学校生活での注意事項	奥村 謙	ペースメーカー・ICD・CRT/CRT-D トラブルシューティングからメンタルケアまで	Medical View 社	東京	2012	222-227
住友直方	WPW 症候群	大関武彦, 古川 漸, 横田俊一郎, 水口雅	今日の小児治療指針第15版	医学書院	東京	2012	502-503
住友直方	小児の PBLs と PALS、小児の不整脈	笠貫 宏, 野々木宏, 高木厚	心肺蘇生・心血管救急ガイドブック、ガイドラインに基づく実践診療	南江堂	東京	2012	24-27, 115-118
住友直方	カテコラミン誘発多形性心室頻拍 (CPVT)	井上 博, 村川裕二	不整脈学	南江堂	東京	2012	511-516
阿部百合子, 住友直方	小児期不整脈の問題点	井上博,許俊英,檜垣實男, 代田浩之,筒井裕之	今日の循環器疾患治療指針 第3版	医学書院	東京	2013	264-268
鎌倉史郎	心室細動	山口徹, 北原光夫, 福井次夫	今日の治療指針 2012 年版	医学書院	東京	2012	351-352
鎌倉史郎	早期再分極症候群	井上博, 村川祐二	不整脈学	南江堂	東京	2012	517-520
鎌倉史郎	J 波症候群.	永井良三, 許俊鋭, 鄭忠和, 澤芳樹	循環器疾患の最新医療	先端医療技術研究所	東京	2012	126-128

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawata H, Noda T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, Isobe M, <u>Kamakura S</u> , <u>Shimizu W</u>	Effect of sodium-channel blockade on early repolarization in inferior/lateral leads in patients with idiopathic ventricular fibrillation and Brugada syndrome.	Heart Rhythm	9	77-83	2012
Makimoto H, <u>Kamakura S</u> , Aihara N, Noda T, Nakajima I, Yokoyama T, Doi A, Kawata H, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, <u>Aiba T</u> , <u>Shimizu W</u>	Clinical impact of the number of extrastimuli in programmed electrical stimulation in patients with Brugada type 1 electrocardiogram.	Heart Rhythm	9	242-248	2012
Miyoshi T, Maeno Y, Sago H, Inamura N, Yasukohchi S, Kawataki M, <u>Horigome H</u> , Yoda H, Taketazu M, Shozu M, Nii M, Kato H, Hayashi S, Hagiwara A, Omoto A, <u>Shimizu W</u> , <u>Shiraishi I</u> , Sakaguchi H, Nishimura K, Ueda K, Katsuragi S, Ikeda T	Evaluation of transplacental treatment for fetal congenital bradyarrhythmia: A nationwide survey in Japan.	Circulation Journal	76	469-476	2012
Nishimoto O, Matsuda M, Nakamoto K, Nishiyama H, Kuraoka K, Taniyama K, Tamura R, <u>Shimizu W</u> , Kawamoto T	Peripartum cardiomyopathy presenting with syncope due to Torsades de pointes: a case of long QT syndrome with a novel KCNH2 mutation.	Intern Med	51	461-464	2012
<u>Makita N</u> , Seki A, <u>Sumitomo N</u> , Chkourko H, Fukuhara S, <u>Watanabe H</u> , <u>Shimizu W</u> , Bezzina CR, Hasdemir C, Mugishima H, <u>Makiyama T</u> , Baruteau A, Baron E, <u>Horie M</u> , Hagiwara N, Wilde AA, Probst V, Le Marec H, Roden DM, Mochizuki N, Schott JJ, Delmar M	A Connexin 40 mutation associated with a malignant variant of progressive familial heart block type-1.	Circ Arrhythmia and Electrophysiol	5	163-172	2012

Costa J, Lopes CM, Barsheshet A, Moss AJ, Migdalovich D, Ouellet G, McNitt S, Polonsky S, Robinson JL, Zareba W, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Platonov PG, <u>Shimizu W</u> , Towbin JA, Vincent GM, Wilde AA, Goldenberg I	Combined assessment of sex- and mutation-specific information for risk stratification in type 1 long QT syndrome.	Heart Rhythm	9	892-898	2012
Baranchuk A, Nguyen T, Ryu MH, Femenía F, Zareba W, Wilde AAM, <u>Shimizu W</u> , Brugada P, Pérez-Riera AR	Brugada phenocopy: new terminology and proposed classification.	Ann Noninvasive Electrocardiol	17	299-314	2012
Barsheshet A, Goldenberg I, O-Uchi J, Moss AJ, Christian Jons C, <u>Shimizu W</u> , Wilde AA, McNitt S, Peterson DR, Zareba W, Robinson JL, Ackerman MJ, Cypress M, Gray DA, Hofman N, Kanters JK, Kaufman ES, Platonov PG, Qi M, Towbin JA, Vincent GM, Lopes CM	Mutations in cytoplasmic loops of the KCNQ1 channel and the risk of life-threatening events. Implications for mutation-specific response to beta-blocker therapy in type-1 long QT syndrome.	Circulation	125	1988-1996	2012
<u>Watanabe H</u> , Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, <u>Makiyama T</u> , Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, <u>Kamakura S</u> , <u>Horie M</u> , Aizawa Y, <u>Shimizu W</u> , <u>Makita N</u>	Clinical characteristics and risk of arrhythmia recurrences in patients with idiopathic ventricular fibrillation associated with early repolarization.	International J Cardiol	159	238-240	2012
Takigawa M, Kawamura M, Noda T, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Satomi K, <u>Aiba T</u> , <u>Kamakura S</u> , Sakaguchi T, Mizusawa Y, Itoh H, <u>Horie M</u> , <u>Shimizu W</u>	Seasonal and circadian distributions of cardiac events in genotyped patients with congenital long QT syndrome.	Circulation Journal	76	2112-2118	2012
Egashira T, Yuasa S, Suzuki T, Aizawa Y, Yamakawa H, Matsuhashi T, Ohno Y, Tohyama S, Okata S, Seki T, Kuroda Y, Yae K, Hashimoto H, Tanaka T, Hattori F, Sato T, Miyoshi S, Takatsuki S,	Disease characterization using LQTS-specific induced pluripotent stem cells.	Cardiovasc Res	95	419-429	2012

Murata M, Kurokawa J, Furukawa T, <u>Makita N</u> , <u>Aiba T</u> , <u>Shimizu W</u> , <u>Horie M</u> , Kamiya K, Kodama I, Ogawa S, <u>Fukuda K</u>					
<u>Shimizu W</u>	Clinical features of Brugada syndrome.	J Arrhythmia	29	65-70	2013
Nakashima K, Kusakawa I, Yamamoto T, Hirabayashi S, Hosoya R, <u>Shimizu W</u> , <u>Sumitomo N</u>	A left ventricular noncompaction in a patient with long QT syndrome caused by a KCNQ1 mutation: a case report.	Heart Vessels	28	126-129	2013
Makimoto H, Satomi K, Wada M, <u>Shimizu W</u>	Double tachycardia after slow pathway ablation for atrioventricular nodal tachycardia: what is the mechanism?	J Cardiovasc Electrophysiol.	24	233-236	2013
Iguchi K, Noda T, <u>Kamakura S</u> , <u>Shimizu W</u>	Beneficial effects of cilostazol in a patient with recurrent ventricular fibrillation associated with early repolarization syndrome.	Heart Rhythm	10	604-606	2013
<u>Watanabe H</u> , Ohkubo K, Watanabe I, Matsuyama TA, Ishibashi-Ueda H, Yagihara N, <u>Shimizu W</u> , <u>Horie M</u> , Minamino T, <u>Makita N</u>	SCN5A mutation associated with ventricular fibrillation, early repolarization, and concealed myocardial abnormalities	Int J Cardiol	165	e21-e23	2013
Miyoshi T, Kamiya CA, Katsuragi S, Ueda H, Kobayashi Y, Horiuchi C, Yamanaka K, Neki R, Yoshimatsu J, Ikeda T, Yamada Y, Okamura H, Noda T, <u>Shimizu W</u>	Safety and efficacy of implantable cardioverterdefibrillator during pregnancy and after delivery.	Circulation Journal	77	1166-1170	2013
Mathias A, Moss AJ, Lopes CM, Barsheshet A, McNitt S, Zareba W, Robinson JL, Locati EH, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Platonov PG, Qi M, <u>Shimizu W</u> , Towbin JA, Michael Vincent G, Wilde AA, Zhang L, Goldenberg I	Prognostic implications of mutation specific QTc standard deviation in congenital long QT syndrome.	Heart Rhythm	10	720-725	2013

Villafañe J, Atallah J, Gollob MH, Maury P, Wolpert C, Gebauer R, <u>Watanabe H</u> , <u>Horie M</u> , Anttonen O, Kannankeril P, Faulknier B, Bleiz J, <u>Makiyama T</u> , <u>Shimizu W</u> , Hamilton R, Young ML	Long-term follow-up of a pediatric cohort with short QT syndrome.	J Am Coll Cardiol	61	1183-1191	2013
Takigawa M, Kiso K, Noda T, Kurita T, Yamada Y, Okamura H, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Nanasato M, Hirayama H, <u>Kamakura S</u> , <u>Shimizu W</u> , Ishida Y.	Usefulness of scintigraphy to predict electrical storms in severe idiopathic dilated cardiomyopathy.	Ann Nucl Med		in press	2013
Wu J, Ding WG, Zhao J, Zang WJ, Matsuura H, <u>Horie M</u> .	Irbesartan-mediated AT1 receptor blockade attenuates hyposmotic-induced enhancement of IKs current and prevents shortening of action potential duration in atrial myocytes.	Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System.		in press	
Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshisige M, Hayashida Y, Miki D, Hayes C. N, Suzuki H, Tokuyama T, Oda N, Suenari K, Uchimura-Makita Y, Kajihara K, Sairaku A, Motoda C, Fujiwara M, Watanabe Y, Yoshida Y, Ohkubo K, Watanabe I, Nogami A, Hasegawa K, <u>Watanabe H</u> , Endo N, <u>Aiba T</u> , <u>Shimizu W</u> , Ono S, <u>Horie M</u> , Arihiro K, Tashiro S, <u>Makita N</u> , Kihara Y.	A nonsynonymous polymorphism in Semaphorin 3A as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation.	PLOS Genetics	9	e1003364	2013
Wang Q, Ohno S, Kato K, Fukuyama M, <u>Makiyama T</u> , Kimura H, Naiki N, Kawamura M, Hayashi H, <u>Horie M</u> .	Genetic Screening of KCNJ8 in Japanese Patients with J-wave Syndromes or Idiopathic Ventricular Fibrillation.	Journal of Arrhythmia		in press	
Ohno S, Nagaok I, Fukuyama M, Kimura H, Itoh H, <u>Makiyama T</u> , Shimizu A, <u>Horie M</u> .	Age-dependent clinical and genetic characteristics in Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia.	Circulation Journal		in press	
Lin L, <u>Horigome H</u> , Nishigami N, Ohno S,	Drug-induced QT-interval prolongation and	Journal of	45(6)	770-3	2012

<u>Horie M</u> , Sumazaki R.	recurrent torsade de pointes in a child with heterotaxy syndrome and KCNE1 D85N polymorphism.	Electrocardiology			
Miyamoto A, Hayashi H, Yoshino T, Kawaguchi T, Taniguchi A, Ito H, Sugimoto Y, Ito M, <u>Makiyama T</u> , Xue JQ, Murakami Y, <u>Horie M</u> .	Clinical and electrocardiographic characteristics of patients with short QT interval in a large hospital-based population.	Heart Rhythm	9(1)	66-74	2012
Hattori T, <u>Makiyama T</u> , Akao M, Ehara E, Ohno S, Iguchi M, Nishio Y, Sasaki K, Itoh H, Yokode M, Kita T, <u>Horie M</u> , Kimura T.	A novel gain-of-function KCNJ2 mutation associated with short QT syndrome impairs inward rectification of Kir2.1 currents.	Cardiovasc Res.	93(4)	666-673	2012
Wu J, Ding WG, Matsuura H, <u>Horie M</u> .	Regulatory mechanisms underlying the modulation of GIRK1/GIRK4 heteromeric channels by P2Y receptors.	Pflugers Arch.	463(4)	625-33	2012
Aizawa Y, Sato A, <u>Watanabe H</u> , Chinushi M, Furushima H, <u>Horie M</u> , Kaneko Y, Imaizumi T, Okubo K, Watanabe I, Shinozaki T, Aizawa Y, Fukuda, Joo K, Haissaguerre M.	Dynamicity of the J wave in idiopathic ventricular fibrillation with a special reference to pause-dependent augmentation of the J wave.	J Am Coll Cardiol	59(22)	1948-53	2012
Okayasu H, Ozeki Y, Fujii K, Takano Y, Saeki Y, Hori H, <u>Horie M</u> , Higuchi T, Kunugi H, Shimoda K.	Pharmacotherapeutic determinants for QTc interval prolongation in Japanese patients with mood disorder.	Pharmacopsychiatry	45(7)	279-283	2012
Kinoshita T, Asai T, Suzuki T, Matsubayashi K, <u>Horie M</u> .	Time course and prognostic implications of QT interval in patients with coronary artery disease undergoing coronary bypass surgery.	J Cardiovasc Electrophysiol	23(6)	645-649	2012
<u>Watanabe H</u> , Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, <u>Makiyama T</u> , Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, <u>Kamakura S</u> ,	Electrocardiographic Characteristics and SCN5A Mutations in Idiopathic Ventricular Fibrillation Associated With Early Repolarization".	Circulation Arrhythmia and Electrophysiology.	4(6)	874-881	2012

<u>Horie M</u> , Aizawa Y, <u>Shimizu W</u> , <u>Makita N</u> .					
Kimura H, Zhou J, Kawamura M, Itoh H, Mizusawa Y, Ding WG, Wu J, Ohno S, <u>Makiyama T</u> , Miyamoto A, Naiki N, Wang Q, Xie Y, Suzuki T, Tateno S, Nakamura Y, Zang WJ, Ito M, Matsuura H, <u>Horie M</u> .	Phenotype Variability in Patients Carrying KCNJ2 Mutations.	Circulation Cardiovascular Genetics.	5	344-353	2012
Nakajima T, Wu J, Kaneko Y, Ashihara T, Ohno S, Irie T, Ding WG, Matsuura H, Kurabayashi M, <u>Horie M</u> .	KCNE3 T4A as a genetic background of Brugada-pattern electrocardiogram.	Circulation Journal	76(12)	2763- 2772	2012
Kawaguchi T, Hayashi H, Miyamoto A, Yoshino T, Taniguchi A, Naiki N, Sugimoto Y, Ito M, Xue JQ, Murakami Y, <u>Horie M</u> .	Prognostic implications of progressive cardiac conduction disease.	Circulation Journal	77(1)	60-67	2013
Kaneshiro T, Naruse Y, Nogami A, Tada H, Yoshida K, Sekiguchi Y, Murakoshi N, Kato Y, <u>Horigome H</u> , Kawamura M, <u>Horie M</u> , <u>Aonuma K</u> .	Successful catheter ablation of bidirectional ventricular premature contractions triggering ventricular fibrillation in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia with RyR2 mutation.	Circulation Arrhythmia and Electrophysiology	5	e14-e17	2012
Naruse Y, Tada H, Harimura Y, Hayashi M, Noguchi Y, Sato A, Yoshida K, Sekiguchi Y, <u>Aonuma K</u>	Early repolarization is an independent predictor of occurrences of ventricular fibrillation in the very early phase of acute myocardial infarction	Circulation Arrhythm Electrophysiol	5(3)	506-513	2012
<u>Watanabe H</u> , <u>Makita N</u> , Tanabe N, Watanabe T, Aizawa Y.	Electrocardiographic abnormalities and risk of complete atrioventricular block.	Int J Cardiol	155	462-4	2012
<u>Watanabe H</u> , Nogami A, Ohkubo K, Kawata H, Hayashi Y, Ishikawa T, <u>Makiyama T</u> , Nagao S, Yagihara N, Takehara N, Kawamura Y, Sato A, Okamura K, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, <u>Kamakura S</u> , <u>Horie M</u> , Aizawa Y, <u>Shimizu W</u> , <u>Makita N</u> .	Response to Letter Regarding Article, "Electrocardiographic Characteristics and SCN5A Mutations in Idiopathic Ventricular Fibrillation Associated With Early Repolarization"	Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology	5	e60-e61	2012

Delmar M, <u>Makita N.</u>	Cardiac Connexins, Mutations and Arrhythmias	Curr Opin Cardiol	27	236-241	2012
Ishikawa T, Sato A, Marcou, C. A, Tester, D. J, Ackerman, M. J, Crotti L, Schwartz, P. J, On, Y. K, Park, J. E, Nakamura K, Hiraoka M, Nakazawa K, Sakurada H, Arimura T, <u>Makita N</u> , Kimura A.	A Novel Disease Gene for Brugada Syndrome: Sarcolemmal Membrane-Associated Protein Gene Mutations Impair Intracellular Trafficking of hNav1.5.	Circ Arrhythm Electrophysiol	5	1098-107	2012
Ishikawa T, Takahashi N, Ohno S, Sakurada H, Nakamura K, On YK, Park JE, <u>Makiyama T</u> , <u>Horie M</u> , Arimura T, <u>Makita N</u> , Kimura A.	Novel SCN3B Mutation Associated With Brugada Syndrome Affects Intracellular Trafficking and Function of Nav1.5	Circulation Journal			in press
Shimada T, Ohkubo K, Abe K, Watanabe I, <u>Makita N.</u>	A novel 5' splice site mutation of SCN5A associated with Brugada syndrome resulting in multiple cryptic transcripts	Int J Cardiol	158	441-3	2012
<u>蒔田 直昌</u>	特発性心室細動とJ波症候群の遺伝子診断	CIRCULATION Up-to-Date	7	20-25	2012
<u>蒔田 直昌</u>	早期再分極とJ波症候群: オーバービュー	心臓	44	1226-1231	2012
Ejima K, Shoda M, Miyazaki S, Yashiro B, Wakisaka O, Manaka T, <u>Hagiwara N</u>	Localized reentrant tachycardia in the aorta contiguity region mimicking perimitral atrial flutter in the context of atrial fibrillation ablation.	Heart Vessels	(Epub)		2012
Sekiguchi H, Ii M, Jujo K, Thorne T, Ito A, Klyachko E, Hamada H, Kessler JA, Tabata Y, Kawana M, Asahi M, <u>Hagiwara N</u> , Losordo DW.	Estradiol promotes neural stem cell differentiation into endothelial lineage and angiogenesis in injured peripheral nerve.	Angiogenesis.	16(1)	45-58	2012
Momose M, Miyake Y, Fukushima K, Nakajima T, Kondo C, <u>Hagiwara N</u> , Sato A, Uchigata Y, Sakai S.	Prognostic Value of (123)I-Betamethyl-p-Iodo phenyl-Pentadecanoic Acid Single-Photon Emission Computed Tomography in Diabetic Patients With Suspected Ischemic Heart Disease.	Circulation Journal	76(11)	2633-9.	2012
Matsuura K, Wada M, Shimizu T, Haraguchi Y, Sato F, Sugiyama K,	Creation of human cardiac cell sheets using	Biochem Biophys Res Commun.	425(2)	321-7	2012

Konishi K, Shiba Y, Ichikawa H, Tachibana A, Ikeda U, Yamato M, <u>Hagiwara N</u> , Okano T.	pluripotent stem cells.				
Yashiro B, Shoda M, Tomizawa Y, Manaka T, <u>Hagiwara N</u> .	Long-term results of a cardiovascular implantable electronic device wrapped with an expanded polytetrafluoroethylene sheet.	J Artif Organs.	15(3)	244-9	2012
Sekiguchi H, Ii M, Jujo K, Renault MA, Thorne T, Clarke T, Ito A, Tanaka T, Klyachko E, Tabata Y, <u>Hagiwara N</u> , Losordo D.	Estradiol triggers sonic-hedgehog-induced angiogenesis during peripheral nerve regeneration by downregulating hedgehog-interacting protein.	Lab Invest.	2(4)	532-42	2012
Naganuma M, Shiga T, Sato K, Murasaki K, Hashiguchi M, Mochizuki M, <u>Hagiwara N</u> .	Clinical outcome in Japanese elderly patients with non-valvular atrial fibrillation taking warfarin: a single-center observational study.	Thromb Res.	130(1)	21-6	2012
Yoshikane Y, <u>Yoshinaga M</u> , Hamamoto K, Hirose S.	A case of long QT syndrome with triple gene abnormalities: Digenic mutations in KCNH2 and SCN5A and gene variant in KCNE1.	Heart Rhythm	Dec 12	Epub ahead of print	2012
<u>Yoshinaga M</u> , Kucho Y, Sarantuya J, Ninomiya Y, <u>Horigome H</u> , Ushinohama H, <u>Shimizu W</u> .	Genetic Characteristics of Children and Adolescents with Long QT Syndrome Diagnosed by School-Based Electrocardiographic Screening Programs.	In submission			
<u>吉永正夫</u>	乳児突然死症候群とQT延長症候群	日本小児科学会雑誌	117(1)	44-48	2013
<u>吉永正夫</u> , <u>長嶋正實</u> .	自動計測とマニュアル計測でのQT時間の差に関する検討.	心電図	32(5)	427-435	2013
Mitchell JL, Cuneo BF, Etheridge SP, <u>Horigome H</u> , Weng HY, Benson DW	Fetal Heart Rate Predictors of Long QT Syndrome	Circulation	126	2688-2695	2012
Kato Y, <u>Horigome H</u> ,	Tachycardia associated	Pacing Clin	35(10)	e302-5	2012

Takahashi-Igari M, <u>Sumitomo N</u> , <u>Aonuma K</u>	with twin atrioventricular nodes in an infant with heterotaxy and interruption of inferior vena cava	Electrophysiol			
Chida A, Shintani M, Yagi H, Fujiwara M, Kojima Y, Sato H, Imamura S, Yokozawa M, Onodera N, <u>Horigome H</u> , Kobayashi T, Hatai Y, Nakayama T, Fukushima H, Nishiyama M, Doi S, Ono Y, Yasukouchi S, Ichida F, Fujimoto K, Ohtsuki S, Teshima H, Kawano T, Nomura Y, Gu H, Ishiwata T, Furutani Y, Inai K, Saji T, Matsuoka R, Nonoyama S, Nakanishi T	Outcomes of childhood pulmonary arterial hypertension in BMPR2 and ALK1 mutation carriers.	Am J Cardiol	110(4)	586-93	2012
Kato Y, Takahashi-Igari M, Inaba T, Sumazaki R, <u>Horigome H</u>	Comparison of PR intervals determined by fetal magnetocardiography and pulsed Doppler echocardiography	Fetal Diagn Ther	32(1-2)	109-15	2012
<u>Horigome H</u> , Katayama Y, <u>Yoshinaga M</u> , Kato Y, Takahashi H, Sumazaki R	Significant associations among hemostatic parameters, adipokines, and components of the metabolic syndrome in Japanese preschool children.	Clin Appl Thromb Hemost	18(2)	189-94	2012
石川康宏、堀畑 聡、 <u>堀米仁志</u> 、戸田 浩、章 忠	第3世代のwaveletと独立成分分析による心電図・心磁図の解析.	心臓	44 suppl 1	21-28	2012
Nakashima K, Kusakawa I, Yamamoto T, Hirabayashi S, Hosoya R, <u>Shimizu W</u> , <u>Sumitomo N</u>	A left ventricular non-compaction in a patient with long QT syndrome caused by a KCNQ1 mutation – a case report –	Heart Vessels	26	In press	2012
<u>Watanabe H</u> , van der Werf C, Roses-Noguer F, Adler A, <u>Sumitomo N</u> , Veltmann C, Rosso R, Bhuiyan ZA, Bikker H, Kannankeril PJ, <u>Horie M</u> , Minamino T, Viskin S, Knollmann BC, Till J, Wilde AA	Effects of Flecainide on Exercise-Induced Ventricular Arrhythmias and Recurrences in Genotype-Negative Patients with Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia	Heart Rhythm	9	In press	2012
Fukunaga H, Akimoto K, Furukawa T, Takahashi K,	Improvement in non-tachycardia induced	Heart Vessels	28	In press	2013

Kishiro M, Shimizu T, Kamiyama H, <u>Sumitomo N</u>	cardiac failure after radiofrequency catheter ablation in a child with a right-sided accessory pathway				
Mitani Y, Ohta K, Yodoya N, Otsuki S, Ohashi H, Sawada H, Nagashima M, <u>Sumitomo N</u> , Komada Y	Public access defibrillation improved the outcome after out-of-hospital cardiac arrest in school-age children: a nationwide, population-based Utstein registry study in Japan	Europace		In press	2013
Okada Y, Kubo M, Ohmiya H, Takahashi A, Kumasaka N, Hosono N, Maeda S, Wen W, Dorajoo R, Go MJ, Zheng W, Kato N, Wu J-Y, Lu Q, GIANT consortium, Tsunoda T, Yamamoto K, Nakamura Y, Kamatani N, <u>Tanaka T</u>	Common variants at CDKAL1 and KLF9 are associated with body mass index in east Asian populations	Nature Genetics	44	302-306	2012
Wen W, Cho YS, Zheng W, Dorajoo R, Kato N, Qi L, Chen CH, Delahanty RJ, Okada Y, Tabara Y, Gu D, Zhu D, Haiman CA, Mo Z, Gao YT, Seang Saw MS, Go MJ, Takeuchi F, Chang LC, Kokubo Y, Liang J, Hao M, Marchand LL, Zhang Y, Hu Y, Wong TY, Long J, Han BG, Kubo M, Yamamoto K, Su MH, Miki T, Henderson BE, Song H, Tan A, He J, Ng DPK, Cai Q, Tsunoda T, Tsai FJ, Iwai N, Chen GK, Shi J, Xu J, Sim XL, Xiang YB, Maeda S, Ong RTH, Li C, Nakamura Y, Aung T, Kamatani N, Liu JJ, Lu W, Yokota M, Seielstad M, Fann CSJ, The GIANT Consortium, Wu JY, Lee JY, Hu F, <u>Tanaka T</u> , Tai ES, Shu XO	Meta-analysis identifies common variants associated with body mass index in east Asians	Nature Genetics	44	307-311	2012
<u>森田 宏</u>	J波症候群及びBrugada症候群の活動電位、心電図、電気生理学的検査の特徴	心電図	32	S4-56-71	2012
<u>森田 宏</u>	早期再分極症候群とJ波症候群—細胞学的成因について	心臓	44	1232-1236	2012
Take Y, <u>Morita H</u>	Identificaiton of high-risk syncope related to	Heart Rhythm	9	752-759	2012

	ventricular fibrillation in patients with Brugada syndrome				
<u>Morita H</u>	The compound mutation, a model for acquired long QT syndrome	Journal of Cardiology Cases	6	e187-e188	2012
Take Y, <u>Morita H</u>	Fragmented QRS: what is the meaning?	Indian Pacing and Electrophysiology Journal	12	213-225	2012
<u>Morita H</u>	Ion channel complex disease in long QT syndrome	Heart Rhythm	10	In press	2013
Wada T, <u>Morita H</u>	Clinical outcome and risk stratification in Brugada syndrome	J Arrhythmia	29	In press	2013
Kamakura T, <u>Makiyama T</u> , Sasaki K, Yoshida Y, Wuriyanghai Y, Chen J, Hattori T, Ohno S, Kita T, Horie M, Yamanaka S, Kimura T.	Ultrastructural Maturation of Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in a Long-Term Culture.	Circulation Journal	77(5)	1307-14	2013
Liu L, <u>Hayashi K</u> , Kaneda T, Ino H, Fujino N, Uchiyama K, Konno T, Tsuda T, Kawashiri MA, Ueda K, Higashikata T, Shuai W, Kupersmidt S, Higashida H, Yamagishi M.	A novel mutation in the transmembrane nonpore region of the KCNH2 gene causes severe clinical manifestations of long QT syndrome.	Heart Rhythm.	1	61-7	2013
Fujino N, Konno T, <u>Hayashi K</u> , Hodatsu A, Fujita T, Tsuda T, Nagata Y, Kawashiri MA, Ino H, Yamagishi M.	Impact of Systolic Dysfunction in Genotyped Hypertrophic Cardiomyopathy.	Clin Cardiol.	36(3)	160-5	2013
Kamakura T, Kawata H, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, <u>Aiba T</u> , Takaki H, Aihara N, <u>Kamakura S</u> , kimura T, <u>Shimizu W</u> .	Significance of latent anterior early repolarization in patients with inferolateral early repolarization syndrome.	J Am Coll Cardiol			
Morisaki H, Yamanaka I, Iwai N, <u>Miyamoto Y</u> , Kokubo Y, Okamura T, Okayama A, Morisaki T.	CDH13 Gene Coding T-Cadherin Influences Variations in Plasma Adiponectin Levels in the Japanese Population.	Hum Mutat.	33(2)	402-10	2012
<u>Aiba T</u> , Barth AS, Hesketh GG, Hashamboy YL, Chakir K, Tunin RS, Greenstein JL, Winslow RL, Kass DA, Tomaselli GF.	Cardiac Resynchronization Therapy Improves Altered Na Channel Gating in Canine Model of	Circ Arrhythm Electrophysiol.	May 6	(Epub)	2013

	Dyssynchronous Heart Failure.				
Das S, <u>Aiba T</u> , Rosenberg M, Hessler K, Xiao C, Quintero PA, Ottaviano FG, Knight AC, Graham EL, Boström P, Morissette MR, del Monte F, Begley MJ, Cantley LC, Ellinor PT, Tomaselli GF, Rosenzweig A.	Pathological role of serum- and glucocorticoid-regulated kinase 1 in adverse ventricular remodeling.	Circulation	126(18)	2208-19	2012
<u>Aiba T</u> , Tomaselli G.	Electrical remodeling in dyssynchrony and resynchronization.	J Cardiovasc Transl Res	5(2)	170-9.	2012
Sachse FB, Torres NS, Savio-Galimberti E, <u>Aiba T</u> , Kass DA, Tomaselli GF, B ridge JH.	Subcellular structures and function of myocytes impaired during heart failure are restored by cardiac resynchronization therapy.	Circ Res	110(4)	588-97	2012
Egashira T, Yuasa S, <u>Fukuda K</u> .	Novel insights into disease modeling using induced pluripotent stem cells.	Biol Pharm Bull.	36(2)	182-8	2013
Seki T, Yuasa S, <u>Fukuda K</u> .	Generation of induced pluripotent stem cells from a small amount of human peripheral blood using a combination of activated T cells and Sendai virus. Nat Protoc.	Nat Protoc.	7(4)	718-28	2012
Yoshimura K, Nakayama T, <u>Sekine A</u> , Matsuda F, Kosugi S, Yamada R, Shimizu Y, Kanematsu A, Yoshimura K, Ogawa O; Nagahama Cohort Research Group.	B-type natriuretic peptide as an independent correlate of nocturnal voiding in Japanese women.	Neurourology and urodynamics	31	1266-12	2012
Hotta K, Kitamoto A, Kitamoto T, Mizusawa S, Teranishi H, So R, Matsuo T, Nakata Y, Hyogo H, Ochi H, Nakamura T, Kamohara S, Miyatake N, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Yoneda M, Nakajima A, Funahashi T, Miyazaki S, Tokunaga K, Masuzaki H, Ueno T, Chayama K, Hamaguchi K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Sakata T, Tanaka K,	Association between type 2 diabetes genetic susceptibility loci and visceral and subcutaneous fat area as determined by computed tomography.	Journal of human genetics	57	305-310	2012

Matsuzawa Y, Nakao K, <u>Sekine A.</u>					
Li H, Kilpeläinen TO, Liu C, Zhu J, Liu Y, Hu C, Yang Z, Zhang W, Bao W, Cha S, Wu Y, Yang T, <u>Sekine A</u> , Choi BY, Yajnik CS, Zhou D, Takeuchi F, Yamamoto K, Chan JC, Mani KR, Been LF, Imamura M, Nakashima E, Lee N, Fujisawa T, Karasawa S, Wen W, Joglekar CV, Lu W, Chang Y, Xiang Y, Gao Y, Liu S, Song Y, Kwak SH, Shin HD, Park KS, Fall CH, Kim JY, Sham PC, Lam KS, Zheng W, Shu X, Deng H, Ikegami H, Krishnaveni GV, Sanghera DK, Chuang L, Liu L, Hu R, Kim Y, Daimon M, Hotta K, Jia W, Kooner JS, Chambers JC, Chandak GR, Ma RC, Maeda S, Dorajoo R, Yokota M, Takayanagi R, Kato N, Lin X, Loos RJ.	Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians.	Diabetologia	55	981-995	2012
Hotta K, Kitamoto A, Kitamoto T, Mizusawa S, Teranishi H, Matsuo T, Nakata Y, Hyogo H, Ochi H, Nakamura T, Kamohara S, Miyatake N, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Yoneda M, Nakajima A, Funahashi T, Miyazaki S, Tokunaga K, Masuzaki H, Ueno T, Chayama K, Hamaguchi K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Sakata T, Tanaka K, Matsuzawa Y, Nakao K, <u>Sekine A</u>	Genetic variations in the CYP17A1 and NT5C2 genes are associated with a reduction in visceral and subcutaneous fat areas in Japanese women.	Journal of Human Genetics	57	46-51	2012