

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25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 清水 渉

平成26（2014）年5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

日本医科大学内科学（循環器内科学）教授

清水 渉 1

. 分担研究報告

1. 遺伝性不整脈における L 型カルシウムチャンネル サブユニットをコードする *CACNA1C* 遺伝子の関与

滋賀医科大学内科学講座（循環器・呼吸器）教授

堀江 稔 1 5

2. 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

筑波大学医学医療系 循環器内科 教授

青沼 和隆 2 1

3. 家族性洞不全症候群の遺伝子基盤に関する研究

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子遺伝学 教授

蒔田 直昌 2 9

4. QT 延長症候群における不整脈器質に関する高分解能心電図を用いた研究

東京女子医科大学 循環器内科 教授

萩原 誠久 3 3

5. 遺伝性不整脈疾患の遺伝子解析とその応用

慶應義塾大学 循環器内科 教授

福田 恵一 3 5

6. 遺伝性不整脈の臨床診断・臨床症状

鹿児島医療センター 小児科 部長

吉永 正夫 3 7

7. 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～特に機能的 2:1 房室ブロックを伴う
症例の治療の現況と予後～
筑波大学医学医療系小児 教授
堀米 仁志・・・47
8. カテコラミン誘発多形性心室頻拍の遺伝学的特徴・予後に関する検討
日本大学医学部 小児科学系 准教授
住友 直方・・・53
9. QT 延長症候群のエクソームシーケンス解析
東京医科歯科大学 疾患バイオリソースセンター 教授
田中 敏博・・・58
10. 遺伝性不整脈の変異と臨床リスクの関連についての検討
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
先端循環器治療講座 教授
森田 宏・・・59
11. QT 延長症候群 1 型スプライシング異常症例におけるヒト iPS 細胞由来分化
心筋細胞を用いた解析
京都大学大学院医学研究科 循環器内科学 助教
牧山 武・・・62
12. 新たな不整脈の原因遺伝子としての *SCN5A* プロモーター領域の役割
新潟大学医歯学総合病院 循環器内科 助教
渡部 裕・・・65
13. 先天性 QT 延長症候群診断基準改定版の有用性に関する検討
金沢大学大学院医薬保健研究域医学系
循環器内科学 助教
林 研至・・・67
14. 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 臨床検査部 部門長
鎌倉 史郎・・・69

15. 小児期発症遺伝性不整脈 - 新生児期 QT 延長症候群 - に関する研究
国立循環器病研究センター 小児循環器部 部長
白石 公 7 3
16. 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 7 5
17. 多施設登録研究による先天性 QT 延長症候群の日本人の臨床ならびに遺伝子型のエビデンス
国立循環器病研究センター 心臓血管内科 医長
相庭 武司 7 7
18. 遺伝性不整脈のゲノム広域解析アプローチによる原因探索に関する研究
国立循環器病研究センター ゲノム遺伝子学 客員部長
関根 章博 8 0
19. セマフォリン 3A 遺伝子変異と関連する特発性心室細動発症の分子病態メカニズムの解明
広島大学医歯薬学総合研究科 循環器内科 助教
中野 由紀子 8 3
20. 家族歴を有する心房細動症例における心房細動の電気生理学的機序に関する研究
日本医科大学内科学 (循環器内科学) 准教授
宮内 靖史 8 6
- . 研究成果の刊行に関する一覧表 8 7
- . 研究成果の刊行物・別刷り 1 0 6

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 日本医科大学内科学（循環器内科学）教授

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、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、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、各遺伝性不整脈疾患の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。H25年度は、先天性QT延長症候群(LQTS)では、さらに症例を追加し、1123例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500例、胎児・新生児期・小児期の先天性LQTS(乳児突然死症候群も含む)221例、進行性心臓伝導障害(PCCD)78例、家族性徐脈症候群73例、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)80例、QT短縮症候群(SQTS)12例、早期再分極症候群(ERS)54例、特発性心室細動(IVF)83例、心房細動(AF)120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。その方法として、iPS細胞由来心筋細胞を用いた機能解析があり、H25年度は、先天性LQTS7例、Brugada症候群1例、先天性LQTS/Brugada合併1例、PCCD2例、CPVT2例、ERS2名の計15例の患者からiPS細胞を作製し、分化誘導した心筋細胞の機能解析を行い、不整脈発生機序を解明した。

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り、H25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全エクソン(Exome)解析を施行し、新規の原因遺伝子候補が同定された。またBrugada症候群では、ゲノムワイド関連解析(GWAS)を施行し、新規の原因遺伝子候補としてSCN10AとHEY2を同定した。

研究分担者		先端循環器治療講座 教授
堀江 稔	滋賀医科大学内科学講座 (循環器・呼吸器)教授	牧山 武 京都大学大学院医学研究科 循環器内科学 助教
青沼和隆	筑波大学医学医療系 循環器内科 教授	渡部 裕 新潟大学医歯学総合研究科 循環器内科 助教
蒔田直昌	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子遺伝学 教授	林 研至 金沢大学大学院医薬保健研究域 医学系 循環器内科学 助教
萩原誠久	東京女子医科大学 循環器内科 教授	鎌倉史郎 国立循環器病研究センター 臨床検査部 部門長
福田恵一	慶應義塾大学 循環器内科 教授	白石 公 国立循環器病研究センター 小児循環器部 部長
吉永正夫	鹿児島医療センター 小児科 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
堀米仁志	筑波大学医学医療系小児 教授	相庭武司 国立循環器病研究センター 心臓血管内科 医長
住友直方	日本大学医学部 小児科学系 准教授	
田中敏博	東京医科歯科大学 疾患バイオリソースセンター 教授	
森田 宏	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	

関根章博 国立循環器病研究センター
ゲノム遺伝子学 客員部長
中野由紀子 広島大学医歯薬学総合研究科
循環器内科 助教
宮内靖史 日本医科大学内科学(循環器内科学)
准教授

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。申請者の清水、堀江、蒔田、萩原、福田、吉永、森田、牧山、渡部、林らは、H18 年以来、厚生労働科学研究費補助金による先天性 QT 延長症候群 (LQTS) の登録研究 (H18-ゲノム-一般 -002: 主任研究者・清水、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 (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、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 (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。

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。これには従来、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った。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新たな病態解明が可能となった。これまでに、分担研究者の福田との共同研究により、先天性 LQTS、Brugada 症候群などの患者から iPS 細胞由来心筋細胞を作製し、その成果を報告してきたが (Egashira, et al, Cardiovasc Res 2012)、本研究ではさらにこれを積極的に推進していくことを目的とした。

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、次世代シーケンサを用いた網羅的全ゲノム解析や全エクソン (Exome) 解析、あるいはゲノムワイド関連解析 (GWAS) などの最新のアプローチ法を用いて解析する方法がある。すでに田中、関根、蒔田との共同研究により、既報の原因遺伝子に変異の同定されない先天性 LQTS 患者で Exome 解析を開始していたが、本研究では積極的にこれを推進していくことを目的とした。

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 (3) PCCD、(4) 家族性徐脈症候群、(5) カテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT)、(6) QT 短縮症候群 (SQTS)、(7) ERS、(8) 特発性心室細動 (IVF)、(9)心房細動 (AF)を対象とした。臨

床診断は、清水、堀江、青沼、蒔田、萩原、福田、吉永、堀米、住友、森田、牧山、渡部、林、鎌倉、白石、相庭、中野、宮内が担当した

・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^+ チャンネル)、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、中野が担当した。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、牧山は、先天性LQTS、Brugada症候群、PCCD、CPVT、ERS患者の皮膚線維芽細胞や血液細胞よりiPS細胞由来心筋細胞を作製し、

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. 次世代シーケンサを用いた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遺伝性不整脈疾患の家系について、次世代シーケンサ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、蒔田)。また、遺伝性不整脈疾患群と対照群でGWASを施行し、未知の原因遺伝子を探索した(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。

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

H25年度は、先天性LQTS患者では、さらに症例登録を追加し、1123例の世界的にも最大規模のデータベースとなった(図1)。

図1 厚生労働科学研究班 (2006~2013年)
Japanese Congenital LQTS Multicenter Registry

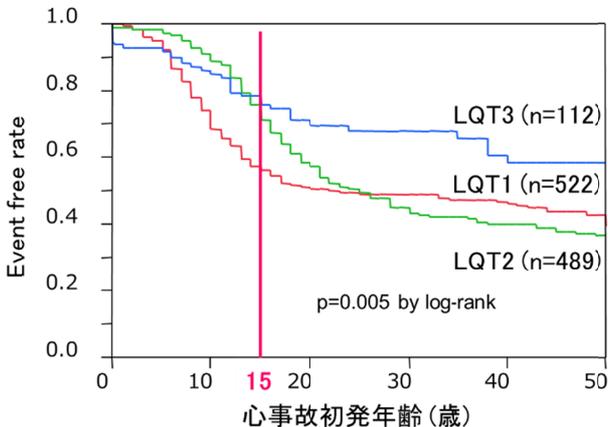
先天性QT延長症候群患者 1123例
発端者 615例、家族 508例
LQT1 (KCNQ1) 522例
LQT2 (KCNH2) 489例
LQT3 (SCN5A) 112例

経過観察
心事故 (失神、心肺停止、心室細動)



現在、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最適な治療法について解析中である(清水、相庭、図2)。

図2 遺伝子型別の心事故初発年齢
- 厚生労働科学研究班 (2006~2013年) -



Brugada 症候群患者もさらに症例を追加し 500 例の登録数となり、SCN5A 変異の有無による重症度評

価・リスク階層化について解析中である(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および開始し、胎児・新生児期・小児期の先天性 LQTS 患者 (乳児突然死症候群も含む) 221 例 (吉永、堀米、白石)、PCCD 患者 78 例 (蒔田)、家族性徐脈症候群患者 73 例 (牧山、蒔田)、CPVT 患者 80 例 (住友)、SQTS 患者 12 例 (渡部、清水)、ERS 患者 54 例 (鎌倉、清水、渡部)、IVF 患者 83 例 (中野)、AF 患者 120 例 (林)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(論文発表 3,5-7,11,12,14,16,18,27,29,34,45,49,57-59)。

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・治療のコンセンサスステートメント作成メンバーに選出された。清水は Brugada 症候群に関するコンセンサスステートメントを 2013 年 5 月 10 日に米国デンバーで開催された米国心調律学会 (Heart Rhythm 2013) で発表し(学会発表 2)、またコンセンサスステートメントは 3 大陸の不整脈学会誌 (Heart Rhythm、Europace、J of Arrhythmia) に掲載された(論文発表 8-10)。

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、2014 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。本研究班では福田との共同研究により、すでに先天性 LQTS 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、その成果を報告してきた (Egashira, et al, Cardiovasc Res 2012)。H25 年度は、先天性 LQTS 7 例、Brugada 症候群 1 例、先天性 LQTS/Brugada 合

併 1 例、PCCD 2 例、CPVT 2 例、ERS 2 名の計 15 例の患者から iPS 細胞を作製した。さらに iPS 細胞から分化誘導した心筋細胞の機能解析を行い、不整脈発生機序を証明した (論文発表 31,44)。福田は 2 型先天性 LQTS 患者の iPS 細胞由来心筋細胞の機能解析を行った (論文発表 31)。また、牧山も CPVT 患者から iPS 細胞を作製し、分化誘導した心筋細胞の Ca 動態を解析しその成果を報告した (学会発表 21,51,52)。

本難治性疾患研究班は、H24 年度から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、遺伝性不整脈疾患担当分担研究者・福田)の協力研究機関に指定されており、同プロジェクトとの連携も取りながら活動した。

3. 新たな原因遺伝子と遺伝的修飾因子の同定

第三の目的は、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である。H25 年度は、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 患者において次世代シーケンサを用いた Exome 解析を施行した。この結果、PCCD の 2 家系で、原因遺伝子候補として結合織関連遺伝子 X,Y を同定した (蒔田) (論文発表 28)。遺伝子 Y では、刺激伝導系が緑色蛍光で光る *contactin2*-GFP 融合タンパクトランスジェニックマウスの心筋において、その発現局在を確認した。遺伝子 Y は胎生早期には心室筋全層に発現していたが、発育とともに次第に心内膜側に集中するようになり、生後は刺激伝導系に局在することが確認された。また、既報の原因遺伝子変異が同定されない先天性 LQTS 家系でも、新規の原因遺伝子候補が同定され、現在機能解析を施行し変異として妥当性を検討中である (関根、清水、相庭)。さらに、海外との Brugada 症候群における GWAS 共同研究で、新規の原因遺伝子候補として *SCN10A* と *HEY2* を同定した (論文発表 11)。

D . 考察

本研究の第一の目的である各遺伝性不整脈疾患の遺伝子変異・多型の同定と遺伝的基盤に基づいた病態解明、診断・治療法の開発については、H25 年度は、先天性 LQTS (胎児・新生児期・小児期を含む)、Brugada 症候群、PCCD、家族性徐脈症候群、CPVT、SQTS、ERS、IVF、AF 患者において、新規患者の遺伝子診断および多施設登録を行った。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検討し、その成果を報告した。特に先天性 LQTS のデータベースは、世界的にも最大規模のデータベースであり、今後も継続して症例登録を行い、日本人独自の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必要があると考えられる。

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、H25 年度は、iPS 細胞を活用した研究に重点をおいて施行した。新たに遺伝性不整脈疾患患者 15 例の iPS 細胞由来心筋細胞を作製しその成果を報告した。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』の協力研究機関に指定されており、今後も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つつ、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と遺伝的修飾因子の同定については、次世代シーケンサを用いた Exome 解析と GWAS を施行した。Exome 解析により、PCCD 家系においては新規の原因遺伝子候補を同定した。また先天性 LQTS においても、原因遺伝子候補を同定し、その妥当性を検討中である。また、GWAS により、Brugada 症候群において、新規の原因遺伝子候補として *SCN10A* と *HEY2* を同定した。今後も引き続き Exome 解析あるいは全ゲノム解析、GWAS 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 1123 例の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 iPSC 細胞由来心筋細胞を作製し、不整脈発生機序を証明した。

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 Exome 解析を施行し、新規の原因遺伝子候補が同定された。また、Brugada 症候群では、GWAS を施行し、新規の原因遺伝子候補として *SCN10A* と *HEY2* を同定した。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Shimizu W: Clinical features of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* 29: 65-70, 2013
2. Shimizu W: Update of diagnosis and management in inherited cardiac arrhythmias. *Circ J* 77(12): 2867-2872, 2013
3. 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
4. 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* 10: 604-606, 2013
5. 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* 65: e21-e23, 2013
6. 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* 10: 720-725, 2013
7. 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
8. Priori SG, Wilde AA, Horie M, Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, Shimizu W, Tomaselli G, Tracy C: HRS/EHRA/APHS Expert Consensus Statement on the Diagnosis and Management of Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes: Document endorsed by HRS, EHRA, and APHS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013. *Heart Rhythm* 10(12): 1932-1963, 2013
9. Priori SG, Wilde AA, Horie M, Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, Shimizu W, Tomaselli G, Tracy C: Executive summary: HRS/EHRA/APHS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes. *Europace* 15(10): 1389-1406, 2013
10. Priori SG, Wilde AA, Horie M, Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, Shimizu W, Tomaselli G, Tracy C: Executive summary: HRS/EHRA/APHS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes. *J Arrhythmia*: September 6, doi: 10.1016/j.joa.2013.07.002 [E-pub ahead of

print]

11. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud JB, Simonet F, Verkerk AO, Schwartz PJ, Crotti L, Dagradi F, Guicheney P, Fressart V, Leenhardt A, Antzelevitch C, Bartkowiak S, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Behr ER, Bastiaenen R, Tfelt-Hansen J, Olesen MS, Käåb S, Beckmann BM, Weeke P, Watanabe H, Endo N, Minamino T, Horie M, Ohno S, Hasegawa K, Makita N, Nogami A, Shimizu W, Aiba T, Froguel P, Balkau B, Lantieri O, Torchio M, Wiese C, Weber D, Wolswinkel R, Coronel R, Boukens BJ, Béziau S, Charpentier E, Chatel S, Despres A, Gros F, Kyndt F, Lecointe S, Lindenbaum P, Portero V, Violleau J, Gessler M, Tan HL, Roden DM, Christoffels VM, Le Marec H, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R: Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet* 45:1044-1049, 2013
12. Duchatelet S, Crotti L, Peat RA, Denjoy I, Itoh H, Berthet M, Ohno S, Fressart V, Monti MC, Crocama C, Pedrazzini M, Dagradi F, Vicentini A, Klug D, Brink PA, Goosen A, Swan H, Toivonen L, Lahtinen AM, Kontula K, Shimizu W, Horie M, George AL, Trégouët DA, Guicheney P, Schwartz PJ: Identification of a KCNQ1 Polymorphism Acting as a Protective Modifier against Arrhythmic Risk in Long QT Syndrome. *Circ Cardiovasc Genet* 6(4): 354-361, 2013
13. Kamakura T, Kawata H, Nakajima I, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, Kamakura S, Kimura T, Shimizu W: Significance of Non-Type 1 Anterior Early Repolarization in Patients with Inferolateral Early Repolarization Syndrome. *J Am Coll Cardiol* 62(17): 1610-1618, 2013
14. 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* 9(4): e1003364, 2013
15. Kawata H, Morita H, Yamada Y, Noda T, Satomi K, Aiba T, Isobe M, Nagase S, Nakamura K, Fukushima Kusano K, Ito H, Kamakura S, Shimizu W: Prognostic significance of early repolarization in inferolateral leads in Brugada patients with documented ventricular fibrillation: A novel risk factor for Brugada syndrome with ventricular fibrillation. *Heart Rhythm* 10: 1161-1168, 2013
16. Kawakami H, Aiba T, Yamada T, Okayama H, Kazatani Y, Konishi K, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kamakura S, Makita N, Shimizu W: Variable phenotype expression with a frameshift mutation of the cardiac sodium channel gene SCN5A. *J Arrhythmia* 29: 291-295, 2013
17. Yoshinaga M, Ushinohama H, Sato S, Tauchi N, Horigome H, Takahashi H, Sumitomo N, Kucho Y, Shiraishi H, Nomura Y, Shimizu W, Nagashima M: Electrocardiographic screening of 1-month-old infants for identifying prolonged QT intervals. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 6(5): 932-938; 2013
18. Ohno S, 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. *Circ J* 77: 1534-1542, 2013
19. Dochi K, Watanabe H, Kawamura M, Miyamoto A, Ozawa T, Nakazawa Y, Ashihara T, Ohno S, Hayashi H, Ito M, Sakazaki H, Kawata H, Ushinohama H, Kaszynski RH, Minamino T, Sumitomo N, Shimizu W, Horie: Flecainide reduces ventricular arrhythmias via a mechanism that differs from that of β -blockers

- in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Arrhythmia* 29(5): 255-260, 2013
20. 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. *J Arrhythmia* 29: 261-264, 2013
 21. Horie M, Ohno S. Genetic basis of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* 29: 71-76, 2013
 22. Hayashi H, Murakami Y, Horie M. Pitfall of the meta-analysis regarding early repolarization pattern. *J Am Coll Cardiol* 62: 86, 2013
 23. Murakoshi N, Aonuma K: Epidemiology of arrhythmias and sudden cardiac death in Asia. *Circ J* 77(10): 2419- 2431, 2013
 24. Hiraoka M, Takagi M, Yokoyama Y, Sekiguchi Y, Aihara N, Aonuma K: Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study Investigators. Prognosis and risk stratification of young adults with Brugada syndrome. *J Electrocardiol* 6(4): 279-283, 2013
 25. Sekiguchi Y, Aonuma K, Takagi M, Aihara N, Yokoyama Y, Hiraoka M: Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study (J-IVFS) Investigators. New clinical and electrocardiographic classification in patients with idiopathic ventricular fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 24(8): 902-908, 2013.
 26. Doki K, Homma M, Kuga K, Aonuma K, Kohda Y. SCN5A promoter haplotype affects the therapeutic range for serum flecainide concentration in Asian patients. *Pharmacogenet Genomics*. 23(7): 349-354, 2013.
 27. Takagi M, Aonuma K, Sekiguchi Y, Yokoyama Y, Aihara N, Hiraoka M; Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study (J-IVFS) Investigators. The prognostic value of early repolarization (J wave) and ST-segment morphology after J wave in Brugada syndrome: multicenter study in Japan. *Heart Rhythm*. 10(4): 533-539, 2013
 28. Makita N: Paradigm shifts in the genetics of inherited arrhythmias: Using next-generation sequencing technologies to uncover hidden etiologies. *J Arrhythmia* 29: 305-307, 2013
 29. 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* 77: 959-967, 2013
 30. Chen IP, Fukuda K, Fusaki N, Iida A, Hasegawa M, Lichtler A, Reichenberger EJ. Induced pluripotent stem cell reprogramming by integration-free sendai virus vectors from peripheral blood of patients with craniometaphyseal dysplasia. *Cell Reprogram*. 15(6): 503-513, 2013
 31. Okata S, Yuasa S, Yamane T, Furukawa T, Fukuda K. The generation of induced pluripotent stem cells from a patient with KCNH2 G603D, without LQT2 disease associated symptom. *J Med Dent Sci*. 60(1): 17-22, 2013
 32. Wada R, Muraoka N, Inagawa K, Yamakawa H, Miyamoto K, Sadahiro T, Umei T, Kaneda R, Suzuki T, Kamiya K, Tohyama S, Yuasa S, Kokaji K, Aeba R, Yozu R, Yamagishi H, Kitamura T, Fukuda K, Ieda M. Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110(31): 12667-12672, 2013.
 33. Egashira T, Yuasa S, Fukuda K. Novel insights into disease modeling using induced pluripotent stem cells. *Biol Pharm Bull*. 36(2): 182-188, 2013
 34. 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* 10:600-603, 2013
 35. Ninomiya Y, Yoshinaga M, Kucho Y, Tanaka Y: Risk factors for symptoms in long QT syndrome in a single pediatric center. *Peadiatr Int* 55:277-282, 2013
 36. Yoshinaga M: Prevalence of sudden death and out-of-hospital cardiac arrest in infants, children, and adolescents; what does it imply? *Circ J* 77; 2475-2476, 2013

37. Cuneo BF, Etheridge SP, Horigome H, Sallee D, Moon-Grady A, Weng HY, Ackerman MJ, Benson DW: Arrhythmia phenotype during fetal life suggests long-QT syndrome genotype: Risk stratification of perinatal long-QT syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 6(5): 946-951, 2013
38. Cuneo BF, Strasburger JF, Yu S, Horigome H, Hosono T, Kandori A, Wakai RT: In utero diagnosis of long QT syndrome by magnetocardiography. *Circulation.* 128(20): 2183-2191, 2013
39. Roden D, Behr ER, Ritchie MD, Tanaka T, Käab S, Crawford DC, Nicoletti P, Floratos A, Sinner MF, Kannankeril PJ, AA. M. Wilde, Bezzina CR, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Guicheney P, Bishopric NH, Marshall V, Shakir S, Dalageorgou C, Bevan S, Jamshidi Y, Bastiaenen R, Myerberg RJ, Schott J-J, Camm AJ, Steinbeck G, Norris K, Altman RB, Tatonetti N, Jeffery S, Kubo M, Nakamura Y, Shen Y, George, Jr. AL: Genome wide analysis of drug-induced Torsades de Pointes: lack of common variants with large effect sizes. *PLoSOne* 13:08180R2, 2013
40. Morita H, Zipes DP, Wu J. Experimental Mechanisms of Arrhythmias in Brugada Syndrome. in Wu J and Wu J (ed): Sudden Death: Causes, Risk Factors and Prevention. pp 39-59, Nova Science Publishers, NY. 2013
41. Wada T, Morita H. Clinical outcome and risk stratification in Brugada syndrome. *J Arrhythmia* 29:100-109, 2013
42. Morita H. Ion channel complex disease in long QT syndrome. *Heart Rhythm* 10: 738-739, 2013
43. Kato K, Makiyama T, Wu J, Ding WG, Kimura H, Naiki N, Ohno S, Itoh H, Nakanishi T, Matsuura H, Horie M: Cardiac channelopathies associated with infantile fatal ventricular arrhythmias: From the cradle to the bench. *J Cardiovasc Electrophysiol* 25(1): 66-73, 2014
44. 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* 77(5): 1307-1314, 2013
45. Nakajima S, Makiyama T, Hanazawa K, Kaitani K, Amano M, Hayama Y, Onishi N, Tamaki Y, Miyake M, Tamura T, Kondo H, Motooka M, Izumi C, Nakagawa Y, Horie M: A novel SCN5A mutation demonstrating a variety of clinical phenotypes in familial sick sinus syndrome. *Intern Med* 52(16): 1805-1808, 2013
46. 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* 10: 542-547, 2013
47. Watanabe H, Minamino T. Role of mutations in I-type calcium channel genes in brugada syndrome, early repolarization syndrome, and idiopathic ventricular fibrillation associated with right bundle branch block. *Circ J* 77: 1689-1690, 2013
48. Watanabe H, Minamino T. Similarities and differences of clinical characteristics between brugada syndrome and early repolarization syndrome. *Journal of Arrhythmia* 29: 134-137, 2013
49. Liu L, Hayashi K, Kaneda T, Ino H, Fujino N, Uchiyama K, Konno T, Tsuda T, Yamagishi M, Kawashiri MA, Ueda K, Higashikata T, Shuai W, Kupershmidt 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* 10: 61-67, 2013
50. Kamakura S: Epidemiology of Brugada syndrome in Japan and rest of the world. *J Arrhythmia* 29: 52-55, 2013
51. Kamakura S: Two decades of progress in the understanding of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* 29: 51, 2013

52. 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, 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, Sakata T, Tanaka K, Matsuzawa Y, Nakao K, Sekine A: Replication study of 15 recently published Loci for body fat distribution in the Japanese population. *J Atheroscler Thromb* 20: 336-350, 2013
53. 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』(矢崎義雄総編集): p.424-428, 朝倉書店, 2013
54. Shimizu W: Editorial comment. Importance of clinical analysis in this era of new technology of molecular genetic screening. *J Am Coll Cardiol* 2014 (in press)
55. 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, 2014 (in press)
56. 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, 2014 (in press)
57. Yoshinaga M, Kucho Y, Sarantuya J, Ninomiya Y, Horigome H, Ushinohama H, Shimizu W, Horie M: Genetic characteristics of children and adolescents with long-QT syndrome diagnosed by school-based electrocardiographic screening programs. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 7(1): 107-112, 2014
58. Kokunai Y, Nakata T, Furuta M, Sakata S, Kimura H, Aiba T, Yoshinaga M, Osaki Y, Nakamori M, Itoh H, Sato T, Kubota T, Kadota K, Shindo K, Mochizuki H, Shimizu W, Horie M, Okamura Y, Ohno K, Takahashi MP: A Kir3.4 mutation causes Andersen-Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1. *Neurology* 82(3): 1058-1064, 2014
59. Bando S, Soeki T, Matsuura T, Niki T, Ise T, Yamaguchi K, Taketani Y, Iwase T, Yamada H, Wakatsuki T, Akaike M, Aiba T, Shimizu W, Sata M: Congenital long QT syndrome with compound mutations in the KCNH2 gene. *Heart Vessels* 2014 (in press)
60. Wu J, Naiki N, Ding WG, Ohno S, Kato K, Zang WJ, Delisle BP, Matsuura H, Horie M. A molecular mechanism for adrenergic-induced long QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2014 (in press)
61. Lubitz SA, Lunetta KL, Lin H, Arking DE, Trompet S, Li G, Krijthe BP, Chasman DI, Barnard J, Kleber ME, Dörr M, Ozaki K, Smith AV, Müller M, Walter S, Agarwal SK, Bis JC, Brody JA, Chen LY, Everett BM, Ford I, Franco OH, Harris TB, Hofman A, Kääb S, Mahida S, Kathiresan S, Kubo M, Launer LJ, MacFarlane PW, Magnani JW, McKnight B, McManus DD, Peters A, Psaty BM, Rose LM, Rotter JJ, Silbernagel G, Smith JD, Sotoodehnia N, Stott DJ, Taylor K, Tomaschitz A, Tsunoda T, Uitterlinden AG, VanWagoner DR, Völker U, Völzke H, Murabito JM, Sinner MF, Gudnason V, Felix SB, März W, Chung M, Albert CM, Stricker BH, Tanaka T, Heckbert SR, Jukema JW, Alonso A, Benjamin EJ, Ellinor PT: Novel Genetic Markers Associate with Atrial Fibrillation Risk in Europeans and Japanese. *J Am Coll Cardiol* 2014 (in press)
62. Nakagawa K, Nagase S, Morita H, Ito H. Left ventricular epicardial electrogram recordings in idiopathic ventricular fibrillation with inferior and lateral early repolarization. *Heart Rhythm* 2014 (in press)
63. Kawashiri MA, Hayashi K, Konno T, Fujino N, Ino H, Yamagishi M: Current perspectives in genetic cardiovascular disorders: from basic to clinical

aspects. Heart Vessels. 2014 (in press)

64. 清水 渉: QT延長症候群 (分担), 『今日の治療指針』2014年版 (山口 徹、北原光夫、福井次矢編集): p.374-375, 医学書院, 2014
65. 清水 渉: X 不整脈. 11. QT延長症候群. (分担), 循環器疾患最新の治療2014-2015 (堀 正二、永井良三編集): p. 305-308, 南江堂, 2014

2. 学会発表

1. Shimizu W: Genetic Mutation of Brugada Syndrome. In relation to Early Repolarization Syndrome. HRS-JHRS Joint Session. Revisit of Brugada Syndrome: From Basic Mechanism to Catheter Ablation. Heart Rhythm Society 2013. Denver, USA. 2013. 5. 9.
2. Shimizu W: Recommendations on the Diagnosis and Management of Brugada Syndrome. Special Session. The 2013 Expert Consensus Statement on the Diagnosis and Management of Inherited Arrhythmias. Heart Rhythm Society 2013. Denver, USA. 2013. 5. 10.
3. Shimizu W: Let's discuss my most difficult clinical case. EHRA Europace 2013. Athens, Greece, 2013. 6. 23.
4. Shimizu W: Brugada syndrome. Sudden Cardiac Death Session 2 Reduction of SCD in Inherited Cardiac Disorders. 6th APHRS CARDIO RHYTHM 2013, Hong Kong, China, 2013. 10. 4.
5. Adler A, Olde Nordkamp L, Crotti L, Schwartz P, Castelletti S, Rudic B, Schimpf R, Veltmann C, Shimizu W, Antzelevitch C, Belhassen B, Tan H, Wide A, Viskin S: Empiric quinidine for asymptomatic Brugada syndrome-preliminary result of an international registry. The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions 2013, Denver, Colorado, USA, 2013.5.8.
6. Sumitomo N, Shimizu W, Aragaki Y, Horigome H, Aonuma K, Sakurada H, Watanabe H, Nishizaki M, Kamakura S, Hiraoka M: Advancement of treatment in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia –multicenter study in Japan. The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions 2013, Denver, Colorado, USA, 2013.5.8.
7. Funasako M, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Kamakura S, Anzai T, Isihara M, Yasuda S, Ogawa H, Miyamoto Y, Shimizu W: Diagnostic value of mexiletine infusion test for detecting type3 congenital long QT syndrome (LQT3). The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions 2013, Denver, Colorado, USA, 2013.5.8.
8. Kawakami H, Aiba T, Okayama H, Kazatani Y, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kamakura S, Makita N, Shimizu W: Variable expressivity of phenotype in the V1764FSX1786 mutation of cardiac sodium channel SCN5A. The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions 2013, Denver, Colorado, USA, 2013.5.8.
9. Ohno S, Hasegawa K, Makiyama T, Doi S, Horie M: Different regulation of IKs channels by two KCNE 1 C-terminus variants predicts the QTc response to the exercise stress. The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions 2013, Denver, USA. 2013. 5. 8-11.
10. Horigome H, Kato Y, Yoshinaga M, Sumitomo N, Ushinohama H, Iwamoto M, Takahashi K, Shiono J, Tauchi N, Izumida N, Nagashima M: A nationwide questionnaire survey on clinical characteristics and genetic background of congenital long-QT syndrome diagnosed in fetal and neonatal life. The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions 2013, Denver, USA. 2013. 5. 10.
11. Morita H, Wada T, Miyaji K, Nakagawa K, Tanaka M, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kusano K, Ito H: Fever not only unmasks Brugada-type ECG but also exaggerates depolarization abnormality. The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions 2013, Denver, USA. 2013. 5. 9.
12. Ohno S, Omura M, Kawamura M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Ushinohama H, Makita N, Horie M: Exon-3 deletion of RyR2 encoding cardiac ryanodine

- receptor related to left ventricular non-compaction (LVNC) with ventricular arrhythmia and bradycardia. EHRA Europace 2013. Athens, Greece. 2013.6. 23-26.
13. Ohno S, Fukuyama M, Itoh H, Makiyama T, Horie M: Copy number variation in KCNQ1 gene were frequently identified in the pediatric patients of long QT syndrome and caused exercise related QT prolongation. ESC Congress 2013. Amsterdam, The Netherlands. 2013. 8. 31-9. 4.
 14. Yoshinaga M, Kucho Y, SarantuyaJ, 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. ESC Congress 2013, Amsterdam, The Netherlands. 2013. 9. 1.
 15. Horie M: Genetic Testing in ARVC. Genetic and Inherited Syndrome 1-Update on Clinical Applications of Genetic Testing. 6th APHRS & CardioRhythm 2013. Hong Kong, China. 2013. 10. 3-6.
 16. Kamakura T, Ishibashi K, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Shimizu W, Takaki H, Anzai T, Ishihara M, Yasuda S, Ogawa H, Kamakura S, Kusano K: Clinical aspects and prognosis of elderly patients with Brugada syndrome. American Heart Association (AHA), Dallas, Texas, USA, 2013 11.20
 17. Iwakami N, Aiba T, Kamakura S, Takaki H, Ishibashi K, Nakajima I, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kusano K, Shimizu W, Sugimachi M: Noninvasive evaluation of benign and malignant early repolarization with a new concept of late potentials in the high resolution magnetocardiography. American Heart Association (AHA), Dallas, Texas, USA, 2013 11.19
 18. Hasegawa K, Watanabe H, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Ashihara T, Hayashi H, Horie M: The High Prevalence of Early Repolarization in Genotyped Long QT Syndrome. American Heart Association (AHA), Dallas, Texas, USA, 2013.11.16-20
 19. Yoshinaga M. ECG screening program for prevention of sudden cardiac death: Benefits, Risks, and Costs. The Japanese experience. American Heart Association (AHA), Dallas, Texas, USA, 2013. 11. 20.
 20. Ayusawa M, Sumitomo N: Risk index of sudden death by long QT syndrome and Wolff-Parkinson-White syndrome in school, Resuscitation Science Symposium 2013, American Heart Association (AHA), Dallas, Texas, USA, 2013. 11. 17.
 21. Sasaki K, Makiyama T: Modeling catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia using human induced pluripotent stem cells: A promising tool for drug discovery. American Heart Association (AHA), Dallas, Texas, USA, 2013. 11. 16-20.
 22. Haayshi K, Fujino N, Konno T, Tsuda T, Imi (Hashida) Y, Saito T, Ohta K, Ino, H, Kawashiri M, Yamagishi M: Impact of new LQTS diagnostic criteria on detection of long QT syndrome with carrying gene mutations. American Heart Association (AHA), Dallas, Texas, USA, 2013. 11. 16-20.
 23. Nakano Y: Nonsynonymous polymorphism in Semaphorin 3A as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation. American Heart Association (AHA), Dallas, Texas, USA, 2013.11. 18.
 24. 清水 渉: Genotype-Phenotype Correlation in Inherited Cardiac Arrhythmias from Japanese Multicenter Registry of Congenital Long QT Syndrome and Brugada Syndrome. Meet the Expert 2 「ゲノム研究最前線：循環器領域でのオーダーメイド医療は可能か?」第77回日本循環器学会学術集会 (横浜), 2013. 3. 15. Circulation Journal 77 (Suppl I), 2013.
 25. 清水 渉: Drug-Induced Lethal Ventricular Tachyarrhythmias – Acquired Form of Congenital Long QT Syndrome and Brugada Syndrome. Morning Lecture 08 「薬剤性不整脈の診断と対処」第77回日本循環器学会学術集会 (横浜), 2013. 3. 16. Circulation Journal 77 (Suppl I), 2013.
 26. 清水 渉: Role of Provocative Testing in Inherited

- Cardiac Arrhythmia Syndromes - Congenital Long QT Syndrome and Brugada Syndrome -. Meet the Expert 12 「非侵襲的検査による心臓突然死予測」第77回日本循環器学会学術集会 (横浜), 2013. 3. 15. Circulation Journal 77 (Suppl I), 2013.
27. 清水 渉: 心房細動治療としてのβ遮断薬療法循環器疾患治療におけるβ遮断薬の位置づけ ファイアースайд: 第61回日本心臓病学会学術集会 (熊本) 2013. 9. 21
28. 清水 渉: 遺伝性不整脈の遺伝子検査の進歩 循環器領域における遺伝子検査と看護 日本循環器学会共催セッション: 第10回日本循環器看護学会学術集会 (東京) 2013. 9. 29
29. 清水 渉: 心房細動治療としてのβ遮断薬療法ランチョンセミナー 第30回日本心電学会学術集会 (青森), 2013. 10.11.
30. 清水 渉: 心房細動治療における抗凝固療法-抗凝固薬の使い分け- ランチョンセミナー 第50回記念日本臨床生理学会総会 (東京) 2013. 11.9.
31. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Hattori T, Makiyama T, Toyoda F, Ding WG, Chinushi M, Matsuura H, Horie M: A Novel KCNQ1 missense mutation identified in a patient with juvenile-onset atrial fibrillation causes constitutive open IKs channel. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜) 2013.3.15-17.
32. Horie M, Ohno S, Itoh H, Hayashi H, Kimura H, Hattori T, Kawamura M, Naiki N, Dochi K, Hasegawa K, Makiyama T: Genetic and acquired background of fatal arrhythmias. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜) 2013.3.15-17.
33. Wang Q, Ohno S, Miyamoto A, Itoh H, Ding WG, Wu Jie, Kimura H, Makiyama T, Matsuura H, Horie M: Gain of function in IKr channels caused by three novel KCNH2 mutations which were identified in patients with Brugada-like ECG. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜) 2013.3.15-17.
34. Kato K, Makiyama T, Kimura H, Naiki N, Itoh H, Ohno S, Horie M: Sick sinus syndrome prevalence in Japanese sodium channelopathy. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜) 2013.3.15-17.
35. Sekiguchi Y, Takagi M, Aihara N, Yokoyama Y, Aonuma K, Hiraoka M: New mechanism of ventricular arrhythmias in the patients with idiopathic ventricular fibrillation; from the J-IVFS database. 第77回日本循環器学会学術集会(横浜), 2013. 3. 15.
36. Kaneshiro T, Kato Y, Sekiguchi Y, Tada H, Nogami A, Goya M, Takagi M, Horigome H, Aonuma K: Prognostic effects of catheter ablation targeting the triggering arrhythmia in inherited catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia and Brugada syndrome. 第77回日本循環器学会学術集会(横浜), 2013. 3. 15.
37. 蒔田直昌. 第18回日本小児心電学会特別講演「致死性不整脈の遺伝子基盤に関する新展開」(宮崎) 2013. 11. 30
38. 福田恵一・山田和生招聘講演：iPS細胞およびGWAS研究から見えてくる遺伝性QT延長症候群を巡る諸問題の現状と将来展望．第30回日本心電学会学術集会．(弘前) 2013. 10. 11.
39. 吉永正夫、九町木綿、牛ノ濱大也、堀米仁志、清水 渉、堀江 稔．学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群患児の遺伝学的特徴．第61回日本心臓病学会学術集会 (熊本) 2013. 9. 22.
40. 吉永正夫、佐藤誠一、牛ノ濱大也、住友直方、堀米仁志、岩本眞理、田内宣生、長嶋正實．心臓検診で抽出されるQT延長症候群 (LQTS) 患児の症状出現予測に関する研究．第30回日本心電学会学術集会 (弘前) 2013. 10. 12.
41. 加藤 愛章, 高橋 実穂, 林立申, 中村 昭宏, 石川 伸行, 今川 和生, 野崎 良寛, 関口 幸夫, 青沼 和隆, 堀米 仁志: カテコラミン誘発多形性心室頻拍に対する非薬物治療. 第49回日本小児循環器学会総会・学術集会 (東京) 2013. 7. 11.
42. 二宮由美子、九町木綿、田中裕治、吉永正夫、岩本眞理、牛ノ濱大也、住友直方、堀米仁志、長嶋正實: 学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群の遺伝学的特徴の検討、シンポジウムI Chanelopathyの管理-そのエビデンス、第49回日本小児循環器学会 (東京) 2013. 7. 12.
43. Harrell DT, Tominaga I, Abe K, Watabe T, Oginosawa Y, Okishige K, Abe H, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Makita N: Clinical and genetic characteristics of

- short QT syndrome in Japan. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜), 2013. 3. 16.
44. 牛ノ濱大也、石川友一、中村 真、佐川浩一、石川央朗、住友直方 : Catecholaminergic-induced VT(CPVT)に対する新しい薬物治療. 第49回日本小児循環器学会 (東京) 2013. 7. 12.
45. 小森暁子、住友直方、加藤雅崇、趙 麻未、渡辺拓史、大熊洋美、阿部百合子、市川理恵、福原淳示、松村昌治、神山 浩、鮎沢 衛、高橋昌里 : 当院管理中のQT延長症候群の特徴、第30回日本心電学会 (青森) 2013. 10. 12.
46. 森田 宏. Back to the history -Importance of family history of sudden death in Brugada syndrome-. シンポジウム5 「New Insights: from Diagnosis to Treatment in Patients with Ventricular Fibrillation without Structural Heart Disease 」第28回日本不整脈学会学術大会 (東京)、2013. 7.5.
47. Wada T, Morita H, Kubo M, Nakagawa J, Tanaka M, Nishii N, Nagase N, Nakamura K, Kono K, Kusano K, Ito H. The Investigation about the Indication of Implantable Cardioverter Defibrillator Implantation in Patients with Brugada Syndrome for Primary Prevention. シンポジウム7 「Novel Strategy: Dealing with Sudden Cardiac Death」. 第28回日本不整脈学会学術大会 (東京) 2013. 7. 6.
48. Morita H, Miyaji K, Take Y, Nakagawa K, Tanaka M, Nishii N, Nagase S, Kusano K, Ito H. Fever Not Only Unmasks Brugada-Type ECG but Also Exaggerates Depolarization Parameters. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜) 2013.3.17.
49. Tokioka K, Kusano K, Morita H, Miyoshi T, Nishii N, Hashimoto K, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Itoh H. Depolarization and Repolarization Abnormalities are Independently Associated with Ventricular Fibrillation Episodes in Brugada Syndrome. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜) 2013. 3. 17.
50. 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
51. 佐々木健一, 牧山 武: 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
52. 佐々木健一, 牧山 武: One year assessment of ion channel gene expression 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
53. Yimin W, 牧山 武 : 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
54. 牧山 武: iPS細胞由来の不整脈疾患モデル心筋細胞. 学術委員会指定トピックス「iPS細胞の臨床応用—現状と展望—」第30回日本心電学会学術集会(弘前), 10. 11-13, 2013
55. 渡部 裕: Variants in SCN5A promoter and regulatory regions associated with various arrhythmias. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜) 2013. 3. 15.
56. 中野由紀子: 1141-3C>A Polymorphism is linked to H558R polymorphism: Genetic modulators of Brugada syndrome. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜) 2013. 3. 17.
- H . 知的財産権の出願・登録情報 (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

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)
分担研究報告書

遺伝性不整脈における L 型カルシウムチャンネル α サブユニットをコードする *CACNA1C* 遺伝子の関与

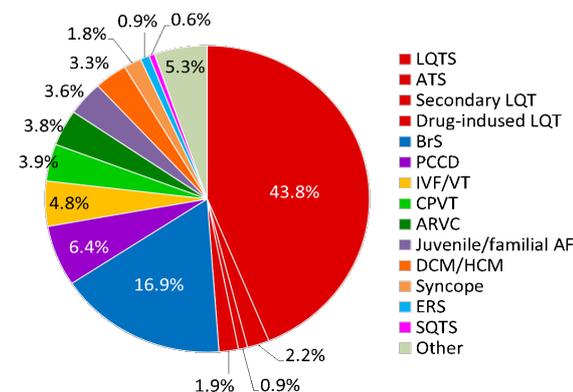
研究分担者 堀江 稔 滋賀医科大学 内科学講座(循環器・呼吸器) 教授

研究要旨：滋賀医科大学・京都大学に遺伝子解析目的にて登録された約 1300 家系より、BrS・ERS・SQTS・IVF と診断された 312 名の発端者および LQTS を疑われた 278 名の発端者を抽出し、*CACNA1C* 遺伝子を解析した。結果、6 名の BrS 家系に 5 種の変異、7 名の LQTS 家系に 5 種の変異を同定した。BrS 家系に同定された 5 変異のうち 1 変異(*CACNA1C*-R632R)は塩基置換部位が *CACNA1C*-exon14 の 1 塩基目に存在しており、スプライシングエラーを生じるものと考えられた。*CACNA1C*-R632R 保有者家系の mRNA 定量解析を行い、NMD により mRNA 発現量の低下を引き起こし、機能低下を呈することを確認した。LQTS 家系に同定された 5 変異については、パッチクランプ法を用いた機能解析を行い、2 変異については明らかな機能亢進が示され、Timothy 症候群の心臓外兆候を呈さない変異保有者が存在することを発見した。本研究は、遺伝性不整脈を有する日本人コホートにおける *CACNA1C* 変異の関与を明らかにしたものである。

A. 研究目的

遺伝性不整脈は、心臓の興奮・伝導・収縮に関わる蛋白群をコードする遺伝子の異常により、蛋白の機能が障害され、結果として多様な不整脈を起こす病気である。当初より調べられたのは QT 延長症候群である。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 16 種類報告されている。さらに、特異な胸部誘導 V1-3 における ST 上昇と心室細動を特徴とする Brugada 症候群やカテコラミン感受性多型性心室頻拍など、10 近い不整脈の原因遺伝子が同定されている。われわれは、1996 年から、家族性不整脈症候群に注目し、表 1(次ページ)のような疾患について詳しい病像とゲノムを集積している。また、そのうち現時点で、遺伝子診断されたコホートについて、内訳を右の図 1 に示す。

L 型心筋カルシウムチャンネル(L-type Calcium Channel: LTCC) α サブユニットをコードする *CACNA1C* 遺伝子変異が引き起こす遺伝性不整脈疾患の代表



的なものとして、チャンネル機能亢進による Timothy 症候群(8 型 QT 延長症候群:LQT8)¹とチャンネル機能低下による 3 型 Brugada 症候群(BrS3)²が挙げられる。近年では、QT 短縮症候群(SQTS)³や早期再分極症候群(early repolarization syndrome: ERS)⁴、特発性心室細動との関与も指摘されている。LTCC は 4 つのサブユニットから構成される巨大タンパクであり⁵、その遺伝子解析及び遺伝子変異から生じる異常タンパクの解析は非常に困難なため、他のイオンチャンネル異常と比較して、報告されている遺伝子異常も少ない。いずれも欧米からの報告であり、日本人を始めとするアジア人種での報告はなかった。

図 1：遺伝子診断例の内訳

今回、我々は遺伝性不整脈を有する日本人コホートにおける *CACNA1C* 変異を同定し、変異保持者の表現型、及び遺伝子変異によるチャンネルの機能変化について比較検討した。

B . 研究方法

原因遺伝子の検索目的にて滋賀医科大学循環器内科および京都大学大学院循環器内科学講座に登録された約 1800 家系(表 1)より、BrS・ERS・SQTS・IVFと診断された 312 名の発端者(家系)、および臨床的に QT 延長症候群が疑われ、かつ他の原因遺伝子が同定されていない 278 名の発端者をそれぞれ抽出し、*CACNA1C* 遺伝子を解析した。

LTCC は遺伝子量が多いため、検索ではまず高解像度融解(High Resolution Melting: HRM)曲線分析でスクリーニングを実施し、遺伝子変異の可能性が指摘される発端者を抽出したのち、DNA ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法で遺伝子配列を読んで詳細を確認した。

同定された変異のうち、スプライシング変異については、発端者および家族より新たに新鮮末梢血を採取し、mRNA を抽出した。RT-PCR により mRNA から cDNA 合成を行い、direct sequence 法による配列確認および LightCycler®を用いて、advanced relative quantification 法による定量解析を行った。

また、LQTS 患者に同定された *CACNA1C* 変異については、whole-cell patch-clamp 法を用いて、同定した遺伝子変異がチャンネルに及ぼす機能変化を確認した。

(表 1 : 症例コホートの内訳)

(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

LQTS	773	
ATS	39	
Secondary	16	(hypo-K, hypo-Mg, anorexia, SAH, etc...)
Drug-induced LQT	34	
BrS	298	
PCCD	113	(Juvenile PMI, familial PMI, A-V block)
IVF/VT	84	
CPVT	69	
ARVC	67	
Juvenile/familial AF	64	
DCM/HCM	58	(HCM;16)
Syncope	31	
ERS	16	
SQTS	10	
Other	93	MuPVCs, family history of Sudden death, Fabry

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：

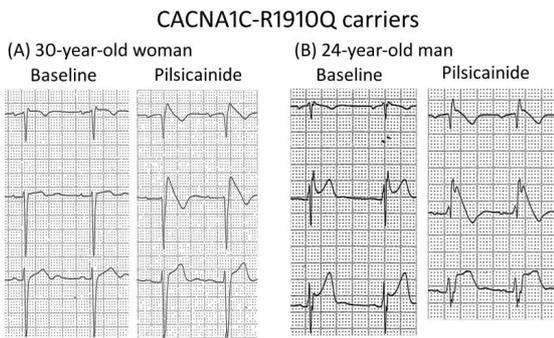
家族性不整脈症候群における遺伝子解析
(H21 年 9 月 29 日更新)承認番号: 21-50)

C . 研究結果

Brugada 症候群における *CACNA1C* 変異

我々のコホートにおいては、BrS の 6 家系(2.2%)から 5 種の *CACNA1C* 変異(N547S, R632Rspl, R1780H, C1855Y and R1910Q(2 家系))が確認された。うち 2 例は、有症候性であった。注目したのは、安静時心電図では異常を認めなかったが失神を繰り返し、ピルシカイニド投与下で著明な coved 型の ST 上昇が確認された女性患者と、無症状であったが安静時に saddleback 型の ST 上昇を認め、ピルシカイニド投与下で coved 型の ST 上昇が認められた男性患者であった。図 2 に 2 名の心電図を示す。彼らは同じ R1910Q 変異を保持していた。これは、Brugada 症候群は圧倒的に男性患者が多いとされているが、遺伝子変異の保持率は男女で変わらないことを裏付ける結果であった。⁶

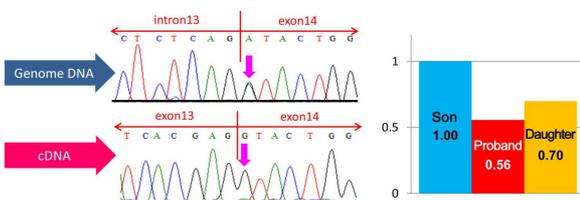
図 2



5 変異のうち 1 変異(*CACNA1C*-R632R)は塩基置換部位が *CACNA1C*-exon14 の 1 塩基目に存在しているスプライシング変異であった。*CACNA1C*-R632R 保有者の臨床経過としては 27 歳時に心室細動を来し、電気生理学検査でも心室細動が再現されたため植え込み型除細動器(ICD)の植え込みが為されていた。家系内の遺伝子検索では、発端者の長女に同変異が同定された。発端者の第 2 子である長男には変異は認めなかった。変異保持者である発端者及び長女から得た cDNA を direct sequence にて解析したところ、変異アレルが消失していた(図 3 左)。

これは、変異アレルがナンセンス変異依存 mRNA 分解機構(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)によって排除されたことを示唆する結果であった。NMD による mRNA 発現量低下を証明するために行った定量解析では、同家系内の変異非保持者(長男)と比較して、変異保持者(発端者及び長女)の *CACNA1C*-mRNA 発現量がそれぞれ約 44%(発端者)、約 30%(長女)減少していた(図 3 右)。⁷

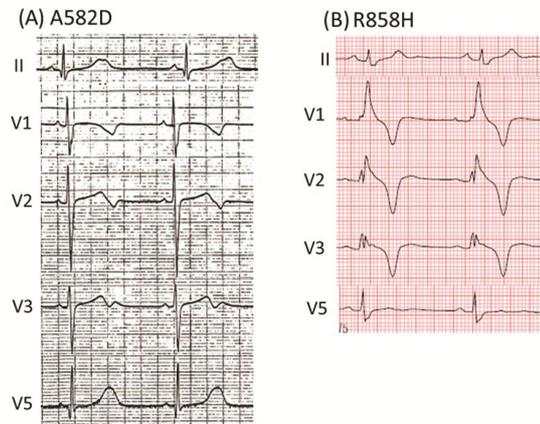
図 3



QT 症候群における *CACNA1C* 変異

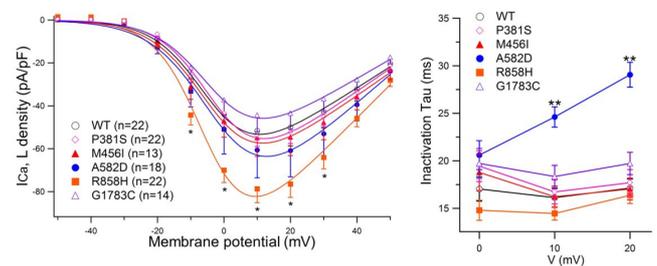
遺伝子スクリーニングにおいて、5 つの新たな *CACNA1C* 変異(P381S, M456I, A582D, R858H(3 家系), G1783C)を 7 家系に同定した(2.5%) (表 2)。図 4 に示すように、変異保有者の 12 誘導心電図には、QT 時間の延長に加えて不明瞭な T 波終末やノッチを呈する T 波を認めるものがあった。

図 4



機能解析では、R858H 変異ではチャネル活性化時のカルシウム電流が正常チャネルに比べて有意に増加していた。一方、A582D 変異では活性化時のカルシウム電流量は変化がなかったが、不活性化が有意に遅延していた(図 5)。

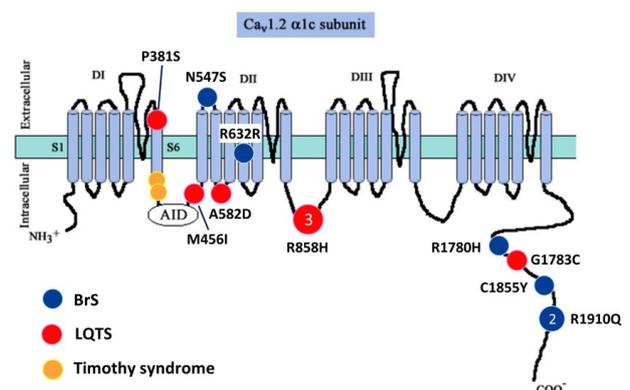
図 5



D. 考案

今回の研究で、日本人コホートにおける遺伝性不整脈患者の *CACNA1C* 変異頻度を示すことができた。下の図 6 に、今回同定できた *CACNA1C* 全 10 変異の Topology を示す。

図 6



本研究では、BrS における *CACNA1C* 変異の頻度は 2%台であり、欧米の 8-10%という報告と比較する

と低かった。しかし、有症候性の女性患者が含まれていたことや、CACNA1C スプライシング変異に対する NMD の関与を証明できたことは新たな発見であった。

遺伝性不整脈分野におけるスプライシング変異の代表的なものとして LQTS type1 で同定された KCNQ1-A344A 変異があるが、この変異は NMD を生じない⁸。一方で NMD については、LQTS type2 において KCNH2 遺伝子のナンセンス変異から NMD が惹起されるという報告がある⁹。また、これまでの BrS における LTCC 変異の報告は、アミノ酸変異を伴うチャネル機能異常によるものであった。本研究は、BrS 患者において、NMD を呈する CACNA1C スプライシング変異について初めて報告したものである。

一方で CACNA1C 変異による機能亢進異常は、Timothy 症候群(TS)の原因として報告されており、本症は多臓器にわたる特徴的かつ重篤な身体症状を引き起こすとされてきた。また頻度は非常に稀であり、CACNA1C-G402S・G406R の二種類のみの報告であった。2013 年に Boczek らは、whole-exome sequencing を用いたスクリーニングにて 4 種の CACNA1C variants を同定し、TS の心臓外兆候を呈さない LQT8 が存在する可能性を示した¹⁰。本研究では、古典的な Sanger 法を用いて、他の遺伝子異常が同定できない LQTS 患者において 5 種の CACNA1C 変異を同定し、その頻度はこれまで報告されてきた LQT1-3 以外の LQTS で同定される遺伝子頻度よりも高かった。また変異保持者の表現型、及び遺伝子変異によるチャネルの機能変化についても明らかにした。とりわけ CACNA1C-A582D 変異においては、Domain II 2-3 細胞内 linker に存在する変異は BrS 等を含めても報告がなく、機能解析では興味深い結果を示した。不活性化の遅延するタイプの機能亢進であり、TS における G406R 変異の機能障害と近似しているが、A582D 患者は QTc の著明な延長以外は症状を有していなかった。

E . 結論

BrS においては、日本人コホートでは欧米に比して CACNA1C 変異の頻度は低かったが、CACNA1C のスプライシング変異および NMD による mRNA 発現量の減少が LTCC 機能低下を惹起し、BrS を呈

するという新たなメカニズムの存在が示された。また LQTS については、CACNA1C 変異は Timothy 症候群にみられるような重篤な身体症状を合併しない LQTS 患者においても同定され、その頻度はこれまで報告されてきた LQT1-3 以外の LQTS で同定される遺伝子頻度よりも高かった。他に原因遺伝子が同定されない LQTS 患者において、CACNA1C 変異の検索は臨床的に重要であると考えられた。

関連文献

1. Splawski I, Timothy KW, Sharpe LM, Decher N, Kumar P, Bloise R, Napolitano C, Schwartz PJ, Joseph RM, Condouris K, Tager-Flusberg H, Priori SG, Sanguinetti MC, Keating MT. Ca(v)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell*. 2004;119:19-31
2. Berne P, Brugada J. Brugada syndrome 2012. *Circ J*. 2012;76:1563-1571
3. Antzelevitch C, Pollevick GD, Cordeiro JM, Casis O, Sanguinetti MC, Aizawa Y, Guerchicoff A, Pfeiffer R, Oliva A, Wollnik B, Gelber P, Bonaros EP, Burashnikov E, Wu Y, Sargent JD, Schickel S, Oberheiden R, Bhatia A, Hsu LF, Haïssaguerre M, Schimpf R, Borggreffe M, Wolpert C. Loss-of-function mutations in the cardiac calcium channel underlie a new clinical entity characterized by ST-segment elevation, short QT intervals, and sudden cardiac death. *Circulation*. 2007;115:442-449
4. Burashnikov E, Pfeiffer R, Barajas-Martinez H, Delpón E, Hu D, Desai M, Borggreffe M, Haïssaguerre M, Kanter R, Pollevick GD, Guerchicoff A, Laiño R, Marieb M, Nademanee K, Nam GB, Robles R, Schimpf R, Stapleton DD, Viskin S, Winters S, Wolpert C, Zimmern S, Veltmann C, Antzelevitch C. Mutations in the cardiac L-type calcium channel associated with inherited J-wave syndromes and sudden cardiac death. *Heart Rhythm*. 2010;7:1872-1882
5. Catterall WA. Structure and function of voltage-sensitive ion channels. *Science*. 1988;242:50-61

6. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Kimura H, Makiyama T, Itoh H, Ito M, Horie M. L-type calcium channel mutations in Japanese patients with inherited arrhythmias. *Circ J*. 2013;77:1799-1806
 7. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Shirayama T, Itoh H, Horie M. Nonsense-mediated mRNA decay due to a calcium splicing mutation in a patient with brugada syndrome. *Heart Rhythm*. 2013
 8. 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 KCNQ1: A mutation hot spot at codon 344 that produces in frame transcripts. *Circulation*. 1999;100:1077-1084
 9. Gong Q, Zhang L, Vincent GM, Horne BD, Zhou Z. Nonsense mutations in hERG cause a decrease in mutant mRNA transcripts by nonsense-mediated mRNA decay in human long-QT syndrome. *Circulation*. 2007;116:17-24
 10. Boczek NJ, Best JM, Tester DJ, Giudicessi JR, Middha S, Evans JM, Kamp TJ, Ackerman MJ. Exome sequencing and systems biology converge to identify novel mutations in the L-type calcium channel, CACNA1C, linked to autosomal dominant long QT syndrome. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013;6:279-289
- G . 研究発表
1. 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 M-L. Long Term Follow-up of a Pediatric Cohort with Short QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 61(11): 1183-91, 2013.
 2. 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. *J Arrhythmia* 29: 261-264, 2013.
 3. Ohno S, 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. *Circ J* 77: 1534-1542, 2013.
 4. Duchatelet S, Crotti L, Peat R, Denjoy I, Itoh H, Berthet M, Ohno S, Fressart V, Monti C, Crocimo C, Pedrazzini M, Dagradi F, Vicentini A, Klug D, Brink P, Goosen A, Heikki S, Toivonen L, Lahtinen A, Kontula K, Shimizu W, Horie M, George Jr. AL, Tregouet DA, Guicheney P, Schwartz PJ. Identification of a KCNQ1 polymorphism acting as a protective modifier against arrhythmic risk in long QT syndrome. *Circ Cardiovasc Genet* 6: 354-61, 2013.
 5. Dochi K, Watanabe H, Kawamura M, Miyamoto A, Ozawa T, Nakazawa Y, Ashihara T, Ohno S, Hayashi H, Ito M, Sakazaki H, Kawata H, Ushinohama H, Kaszynski RH, Minamino T, Sumitomo N, Shimizu W, Horie M. Flecainide reduces ventricular arrhythmias via different actions from β -blockers in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *J Arrhythmia* 29: 255-260, 2013.
 6. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dohchi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, Makiyama T, Sumitomo N, Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, Aonuma K, Horigome H, Honda T, Yoshinaga M, Ito M, Horie M. Genetic background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan. *Circ J* 77: 1705-1713, 2013.
 7. 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*. 10: 542-547, 2013.
 8. Horie M, Ohno S. Genetic basis of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* 29: 71-76, 2013.
 9. 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*. 77(5): 1307-14, 2013.
 10. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud JB, Simonet F, Verkerk AO, Schwartz PJ, Crotti L, Dagradi F, Guicheney P, Fressart V, Leenhardt A, Antzelevitch C, Bartkowiak S, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Behr ER, Bastiaenen R, Tfelt-Hansen J, Olesen MS, Kääh S, Beckmann BM, Weeke P, Watanabe H, Endo N, Minamino T, Horie M, Ohno S, Hasegawa K, Makita N, Nogami A, Shimizu W, Aiba T, Froguel P, Balkau B, Lantieri O, Torchio M, Wiese C, Weber D, Wolswinkel R, Coronel R, Boukens BJ, Bézieau S, Charpentier E, Chatel S, Despres A, Gros F, Kyndt F, Lecoq S, Lindenbaum P, Portero V, Violleau J, Gessler M, Tan HL, Roden DM, Christoffels VM, Marec HL, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R. Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet* 45(9): 1044-9, 2013.

11. Hayashi H, Murakami Y, Horie M. Pitfall of the meta-analysis regarding early repolarization pattern. J Am Coll Cardiol. 62: 86, 2013.
 12. Smith JL, Relej AR, Nataraj PS, Bartos DC, Schroder EA, Moss AJ, Ohno S, Horie M, Anderson CL, January CT, Delisle BP. Pharmacological Correction of Long QT-linked Mutations in KCNH2 (hERG) Increases the Trafficking of Kv11.1 Channels Stored in the Transitional ER. Am J Physiol -Cell Physiology 305: C919-30, 2013.
 13. Priori SG, Wilde AA, Horie M, Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, Shimizu W, Tomaselli G, Tracy C. HRS/EHRA/APHRS Expert Consensus Statement on the Diagnosis and Management of Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes: Document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPC in June 2013. Heart Rhythm. 10: 1932-63, 2013.
 14. Priori SG, Wilde AA, Horie M, Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, Shimizu W, Tomaselli G, Tracy C; Document Reviewers, Ackerman M, Belhassen B, Estes NA 3rd, Fatkin D, Kalman J, Kaufman E, Kirchhof P, Schulze-Bahr E, Wolpert C, Vohra J, Refaat M, Etheridge SP, Campbell RM, Martin ET, Quek SC. Executive summary: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes. Europace. 15(10): 1389-406, 2013.
 15. Hayashi H, Shibukawa T, Horie M. Restoration of aberrant conduction induced by premature ventricular contractions. Intern Med. 52:1425, 2013.
 16. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Aiba T, Nakano Y, Shimizu W, Matsuura H, Horie M. A rare KCNE1 polymorphism, D85N, as a genetic modifier of long QT syndrome. J Arrhythmia 2014 (in press)
- ventricular non-compaction (LVNC) with ventricular arrhythmia and bradycardia. EHRA EUROPACE 2013 (2013.06.23- 26, Athens, Greece)
4. Fukuyama M, Wang Q, Kato K, Ohno S, Kimura H, Makiyama T, Itoh H, Ito M, Matsuura H, Horie M. Novel CACNA1C mutations in Long QT syndrome patients- The subtype of Long QT syndrome type 8. Denis Escande Symposium 2013(2013.8.30-31, Amsterdam, The Netherlands)
 5. Ohno S, Fukuyama M, Itoh H, Makiyama T, Horie M. Copy number variation in KCNQ1 gene were frequently identified in the pediatric patients of long QT syndrome and caused exercise related QT prolongation. ESC CONGRESS 2013(2013.8.31-9.4, Amsterdam, The Netherlands)
 6. Horie M: Genetic and Molecular Basis of ARVC. VT Workshop 2-ARVC Session. 6th APHRS & CardioRhythm 2013.(2013.10.03-06, Hong Kong, China)
 7. Horie M: Genetic Testing in ARVC. Genetic and Inherited Syndrome 1-Update on Clinical Applications of Genetic Testing. 6th APHRS & CardioRhythm 2013.(2013.10.03-06, Hong Kong, China)
 8. Ohno S, Wang Q, Hasegawa K, Itoh H, Makiyama T, Horie M. Phenotypic characterization of three patients with lethal arrhythmia related to KCNH2-R148W missense mutation. 6th APHRS & CardioRhythm 2013.(2013.10.03-06, Hong Kong, China)
 9. Hasegawa K, Watanabe H, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Ashihara T, Hayashi H, Horie M. The High Prevalence of Early Repolarization in Genotyped Long QT Syndrome. AHA Scientific Sessions 2013 . (2013.11.16-20, Dallas, Texas, U.S.A.)

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)

大野聖子 (滋賀医科大学 呼吸循環器内科)

2. 学会発表

1. Ohno S, Hasegawa K, Makiyama T, Doi S, Horie M. Different regulation of IKS channels by two KCNE 1 C- terminus variants predicts the QTc response to the exercise stress. The Heart Rhythm Society's 34th Annual Scientific Sessions (2013.05.08-11, Denver, CO, U.S.A.)
2. Itoh H, Berthet M, Fressart V, Denjoy I, Maugendre S, Klug D, Mizusawa Y, Makiyama T, Hofman N, Husemann A, Shimizu W, Wilde AA, Schulze-Bahr E, Horie M, du Montcel ST, Guicheney P. Asymmetry of parental origin in Long QT syndrome. European Human Genetics Conference (2013.06.08-11, Paris, France)
3. Ohno S, Omura M, Kawamura M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Ushinohama H, Makita N, Horie M. Exon-3 deletion of RyR2 encoding cardiac ryanodine receptor related to left

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 青沼 和隆 筑波大学医学医療系 循環器内科 教授

研究要旨

(1) Brugada症候群は前胸部誘導の特徴的な心電図所見により診断される症候群であり、東アジア人男性の心臓突然死の原因として重要と考えられる。本研究では、タイプ1のBrugada症候群と診断された460症例(平均年齢 52 ± 14 歳、93.9%男性)の平均 50 ± 32 ヶ月の予後を調査した。タイプ1のBrugada症候群の心事故(心臓突然死またはVF)発生率は心停止蘇生例・心室細動既往例で年8.4%、失神群で年1.7%、無症候性で年0.3%であった。また下側壁誘導でのJ波合併は心事故発生の独立した予測因子であった。

(2) 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 \pm 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。

(3) 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、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、心サルコドーシス、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。

Brugada(ブルガダ)症候群はアジア人男性に多く、右側胸部誘導における右脚ブロックとST上昇という特徴的な心電図変化を示し、心室細動による突然死を来しうる症候群である。一般的に心停止蘇生例では心事故発生率が高率であり、心停止あるいは心室細動の既往のあるブルガダ症候群では、植込み型除細動器(ICD)の適応となる。一方、失神の既往のある症例や無症候例は長期予後が比較的良好という報告が多いものの、なお議論の余地がある。本研究1では、日本全国の医療機関から登録された典型的なBrugada症候群の

データベースを解析し、予後を明らかにするとともに、予後に関連することを目的とした。

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2は、早期再分極症候群の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。

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り、加えて心停止例などの高リスク群には植え込み型除細動器(ICD)が選択されるが、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3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)

Brugada症候群の長期予後調査

2002年2月から2011年1月までに全国の医療機関から特発性心室細動研究会(J-IVFS)事務局に登録されたBrugada症候群(タイプ1)の発端例460例を対象とした。症例を心停止蘇生例・心室細動例(VF群)、失神例(syncope群)、無症候例(asymptomatic群)の3群に分け、心事故発生の有無を観察した。心事故発生に関連する臨床的・電気生理学的因子を明らかにするために多変量解析を行った。

(研究 2)

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。AMI発症48時間以内に持続性VFが出現したかどうかで患者をVF発生群・非発生群に分類し、それぞれの群で臨床データを比較した。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 3)

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。全例遺伝子解析、心臓電気生理学検査、および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)

いずれの研究も関連施設の臨床倫理審査委員会の承認を得た上で、ヒトゲノム・遺伝子解析研究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)

Brugada症候群の長期予後調査

本研究で解析対象としたタイプ1のBrugada症候群と診断された460症例の平均年齢は52±14歳で、432例(93.9%)は男性で、突然死の家族歴は107例(23%)で認められた。VF群は84例(心停止蘇生例も含む)、syncope群は104例、asymptomatic群は244例であった。平均50±32ヶ月のフォローアップ中、心事故(心臓突然死またはVF)の発生は、VF群で27例(32%)、syncope群で8例(7%)、asymptomatic群で3例(1%)であり、年次発生率はVF群で8.4%、syncope群1.7%、asymptomatic群0.3%であった(図1)。

多変量解析では、有症候性(hazard ratio (HR)=12.7; 95% confidence interval (CI)=4.5-53.4; p<0.0001)、下壁および側壁誘導でのJ波の合併(HR>10.0; 95%CI=1.4-10.2)、水平型STを伴うJ波の合併(HR>10.0; 95%CI=1.9-20.2)、QRS>90ms(HR=3.57; 95%CI=1.4-12.2)、AFの既往(HR=2.12; 95%CI 1.0-4.3)が心事故の有意な予測因子であった。

(研究 2)

早期再分極と心筋梗塞急性期の心室細動発症との関連 (表1)

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 3)

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例中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箇所に起源を認め、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ー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。カテー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。

4 考察

(研究 1)

Brugada症候群の長期予後調査

本研究では、タイプ1のBrugada症候群の心事故(心臓突然死またはVF)発生率は心停止蘇生例・心室細動既往例で年8.4%、失神群で年1.7%、無症候性で年0.3%であった。これは、欧州を中心とした登録研究であるFINGER registryの報告(心停止蘇生例・心室細動既往群で年7.7%、失神例で年1.9%、無症候性で年0.5%)とよく一致している⁵⁾。無症候性Brugada症候群の3～5年の中長期的な予後は概ね良好だが、年0.5%程度の心事故発生リスクが推定され、心臓突然死予防のためにさらなるリスク層別化が必要であると考えられる。本研究では、Brugada症候群において、下壁・側壁誘導のJ波の合併が独立した心事故発生の危険因子であることが明らかになった。無症候性Brugada症候群であっても多誘導でJ波が合併している場合、より慎重な対応が必要と考えられる。

(研究 2)

早期再分極と心筋梗塞急性期の心室細動発症との関連 (表2)

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チャン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。心電図のJ波形成にはNaチャンネル・Caチャンネルの他、外向きKチャンネルであるItoチャンネル、IK-ATPチャンネル、IK-Achチャンネルが関与している。このうち外向き一過性KチャンネルであるItoチャンネルはAMI時のVF発生に関与していることが報告されている⁷⁾。AMI発症以前から、心室間あるいは心筋層間にItoチャン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チャン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 3)

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¹⁰⁾から明らかにされているが、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に対するカテーテルアブレーションにより、PVT・VFが抑制され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ー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) Brugada 症候群の心事故発生率は、心室細動発症例では年約 8%、失神群では約 2%、無症候性群では約 0.3%であった。J 波合併は心事故発生の独立した予測因子であった。(2) 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。(3) 遺伝子変異を伴う CPVT 症例における VPC/VT に対して、カテー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) Probst V, Veltmann C, Eckardt L, Meregalli PG, Gaita F, Tan HL, et al. Long-term prognosis of patients diagnosed with Brugada syndrome: Results from the FINGER Brugada Syndrome Registry. *Circulation.* 2010;121:635-643

6) Tikkanen JT, et al. Long-term outcome associated with early repolarization on electrocardiography. *New Engl J Med.* 361: 2529-2537, 2009.

7) Antzelevitch C. Genetic, molecular, and cellular mechanisms underlying the J wave syndromes. *Circ J.* 76: 1054-1065, 2012

8) 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

9) 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.

10) 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.

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Hiraoka M, Takagi M, Yokoyama Y, Sekiguchi Y, Aihara N, Aonuma K: Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study Investigators. Prognosis and risk stratification of young adults with Brugada syndrome. *J Electrocardiol* 6(4): 279-83, 2013
2. Sekiguchi Y, Aonuma K, Takagi M, Aihara N, Yokoyama Y, Hiraoka M: Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study (J-IVFS) Investigators. New clinical and electrocardiographic classification in patients with idiopathic ventricular fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.*24(8):902-8, 2013.
3. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dochi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, Makiyama T, Sumitomo N, Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, Aonuma K, Horigome H, Honda T, Yoshinaga M, Ito M, Horie M. Genetic background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan. *Circ J* 77(7):1705-13, 2013
4. Doki K, Homma M, Kuga K, Aonuma K, Kohda Y. SCN5A promoter haplotype affects the therapeutic range for serum flecainide concentration in Asian patients. *Pharmacogenet Genomics.* 23(7):349-54, 2013.
5. Takagi M, Aonuma K, Sekiguchi Y, Yokoyama Y, Aihara N, Hiraoka M; Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study (J-IVFS) Investigators. The prognostic value of early repolarization (J wave) and ST-segment morphology after J wave in Brugada syndrome: multicenter study in Japan. *Heart Rhythm.* 10(4):533-9, 2013.
6. Murakoshi N, Aonuma K:. Epidemiology of arrhythmias and sudden cardiac death in Asia. *Circ J* 77(10): 2419-31, 2013
7. JCS Joint Working Group. Guidelines for clinical cardiac electrophysiologic studies (JCS 2011). *Circ J.* 77(2):497-518, 2013.

2 . 学会発表

1. Sumitomo N, Shimizu W, Aragaki Y, Hrigome H, Aonuma K, Sakurada H, Watanabe H, Nishizaki M,

- Kamakura S, Hiraoka M: Advancement of Treatment in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia - Multicenter Study in Japan - 34th Annual Scientific Sessions of HeartRhythm Society (Denver,U.S.A.) 2013
2. Naruse Y, Tada H, Harimura Y, Ishibashi M, Takeyasu N, Sato A, Hoshi T, Sekiguchi Y, Aonuma K: Clinical Impact of Early Repolarization on the Occurrence of Sustained Ventricular Tachyarrhythmias and Sudden Death in the Chronic Phase of Acute Myocardial Infarction. 34th Annual Scientific Sessions of Heart Rhythm Society (Denver,U.S.A.) 2013
 3. Ruwald MH, Okumura K, Kimura T, Aonuma K, Shoda M, Kutiyifa V, McNitt S, Zareba W, Moss AJ: Clinical Predictors For Syncope And Subsequent Clinical Outcome In The MADIT-RIT Trial. 34th Annual Scientific Sessions of Heart Rhythm Society (Denver,U.S.A.) 2013
 4. Sekiguchi Y, Takagi M, Aihara N, Yokoyama Y, Aonuma K, Hiraoka M: New Mechanism of Ventricular Arrhythmias in the Patients with Idiopathic Ventricular Fibrillation; from the J-IVFS Database第77回日本循環器学会学術集会(横浜) 2013
 5. Kaneshiro T, Kato Y, Sekiguchi Y, Tada H, Nogami A, Goya M, Takagi M, Horigome H, Aonuma K: Prognostic Effects of Catheter Ablation Targeting the Triggering Arrhythmia in Inherited Chatecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia and Brugada Syndrome第77回日本循環器学会学術集会(横浜) 2013
 6. 安達 亨,五十嵐都,山崎 浩,黒木健志,町野 毅,井藤葉子,油井慶晃,関口幸夫,野上昭彦,青沼和隆. 遅延電位に一致した複数の心室瘤をCARTOSOUNDにて検出できた基礎心疾患不明の心室頻拍症例 .第3回関東アプリケーションフロンティア(東京) 2013
 7. 瀬川将人,戸田 直,崔 元吉,高木祐介,湊谷 豊,山本義人,杉 正文,青沼和隆,下川宏明. Isoproterenol投与がelectrical stormのコントロールに有効であったJ wave syndromeの一例 .第11回特発性心室細動研究会(J-IVFS)(東京) 2013

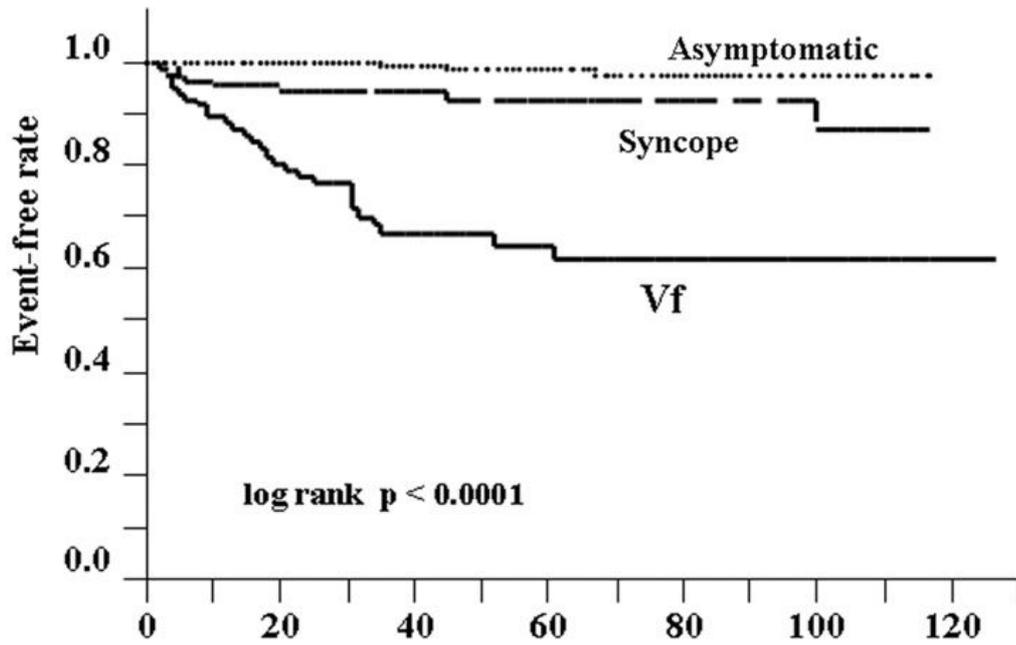
H . 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

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)

村越 伸行 (筑波大学医学医療系循環器内)

図 1. Brugada 症候群 460 例の予後 (J-IVF study)



Number at risk

Months of Follow-up

Asymptomatic	267	228	141	87	60	24	1
Syncope	109	92	60	43	26	18	2
Vf	84	61	38	26	15	13	2

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

表2 - 1 患者背景

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	-	18	心肺停止	
6	13	女	-	7	失神	発作性心房細動

表2 - 2 電気生理学的所見

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

表2 - 3 臨床経過

症例	内服薬	ICD	臨床経過
1	Propranolol	+	アブレーション 2 年後 VF 再発 ICD
2	Nadolol, Flecainide	-	VF
3	Nadolol	+	VPC/VT に対し 2nd session 施行 再発なし
4	Bisoprolol	+	再発なし
5	Bisoprolol	+	再発なし
6	Atenolol	-	再発なし

家族性洞不全症候群の遺伝子基盤に関する研究

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 分子遺伝学 教授

研究要旨

家族性洞不全症候群(SSS)はまれな徐脈性不整脈で、一部の症例に心筋NaチャンネルSCN5AやペースメーカーチャンネルHCN4の遺伝子変異が報告されているが多くの症例では原因が未解明である。近年、ゲノムワイド関連解析から、安静時心拍数やSSSの発症に α -ミオシン重鎖(α -MHC)遺伝子MYH6が関連していることが報告された。本研究の目的は、家族性SSSの遺伝子解析と変異の機能異常と臨床像の比較検討によって、家族性SSSの新たな分子病態を解明することである。家族性SSS 15家系の遺伝子解析で5家系に6個のSCN5A変異と1家系に新規MYH6変異を同定した。SCN5A変異はいずれもNaチャンネル特性を低下させる異常を示した。家族性SSS 29例のメタ解析から、SCN5Aを有するSSSの発症は極めて若年で男性が多いことが判明した。またSSS 1家系で同定したMYH6の欠失変異を心筋細胞に発現させるとサルコメアが破壊されることから、遺伝性不整脈の新たな分子基盤として、心筋サルコメア障害を介する系が存在することが推測された。

A. 研究目的

洞不全症候群(SSS)は頻度の高い徐脈性不整脈様々な心疾患や老化に伴って発症することが多い。しかしまれに、若年発症や家族内発症を示す家族性SSSも見られる。家族性SSSの原因としては、これまでに心筋Naチャンネル遺伝子SCN5Aやペースメーカー遺伝子HCN4の変異が報告されている。また最近のゲノムワイド関連解析から、SSSの発症に α -ミオシン重鎖(α -MHC)遺伝子MYH6が関与していることも報告されている。

本研究の目的は、家族性SSS家系の遺伝子解析を行い、同定した変異の機能と臨床像の比較検討によって、その分子病態を解明することである。

B. 研究方法

インフォームドコンセントの得られた家族性SSS発端者15症例とその家族を対象に、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)、Kチャンネル(KCNJ3, HCN4)、コネキシン(GJA1, GJCL, GJA5)、ラミンA/C(LMNA)、 α -ミオシン重鎖(MYH6)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。また非家族性SSS症例の臨床像は、長崎大学・日本大学・横浜労災病院から心疾患の合併のないSSS症例538例を集積し解析した。

SCN5A変異はtsA-201細胞の発現系を用いwhole-cell patch clamp法でNa電流を測定した。MYH6変異の*in silico* simulationはSwiss-Plotを用いた。正常または変異 α -MHCのGFP融合プラスミドを新生ラット心筋細胞にトランスフェクション

し、抗actinin抗体を用いて免疫染色後、共焦点顕微鏡でサルコメアの構造を分析した。

(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

1. SCN5A変異と機能異常

15家系の家族性SSSのうち5家系に以下の6個のSCN5A変異を同定した。1) in-frame欠失挿入変異(801_803delMSN/insS)とM1880Vの複合ヘテロ変異, 2) R219H, 3) 2塩基欠失変異(L1786fsX2), 4) D1275N, 5) E1784Kである。D1275N, E1784KはNa電流を低下させるloss-of-functionの機能異常を有することがすでに判明している。本研究では、1)~3)の4つのSCN5A変異のNaチャンネル特性を解析した。その結果、L1786fsX2は無機能で、残りの3つの変異はいずれも正常SCN5Aよりも電流密度が低下し、不活性化または活性化の電位依存性がそれぞれ過分極側、脱分極側に偏位していた。以上から、今回同定した6つのSCN5A変異はいずれもNa電流を低下させるloss-of-functionの特性を有することが判明した。

2. SCN5A変異と発症年齢、性差

家族性SSS発端者の平均発症年齢は35.5歳(n=15)で、非家族性SSSの74.3歳(n=538)に比べ有意に若年であった。SCN5A変異の有無で比較すると、SCN5Aキャリアの平均発症年齢は12.4歳(n=5)で、非キャ

リア47.0歳(n=10)より有意に若かった。これらの知見を再確認するために、既報のSCN5A陽性家族性SSS発端者14人を含めた29家系でメタ解析したところ、SCN5Aキャリアは有意に若年発症(20.9歳)であるとともに、強い男性優位性(23/29, 79.3%)を示すことが判明した。さらに、Brugada症候群やQT延長症候群の合併を除いた家族性SSS発端者11名では、その傾向がさらに強かった(7.8歳、男性91%)

3. MYH6変異解析・機能解析

最近のGWASから、MYH6が安静時脈拍数と関連すること、SSS発症の危険性を高める遺伝子多型が存在することが判明している。我々はMYH6が家族性SSSの新規疾患遺伝子であるか否かを探るために、既知の疾患遺伝子(SCN5A, HCN4)に変異がない家族性SSS発端者9人を選択し、PCR・サンガー法でMYH6変異スクリーニングを行った。その結果、ペースメーカーを植え込んだ62歳女性の発端者に、in-frame 3塩基欠損によって1アミノ酸が脱落する欠失変異(delE933)が同定された。母親はすでに死亡しているが同様にペースメーカーを植え込んでいた。子孫がないためそれ以上の家族性は確認できない。

MYH6は心房筋に強く発現する α -ミオシン重鎖(α -MHC)の遺伝子である。このアミノ酸欠損変異delE933は、ミオシン結合タンパクC(MyBP-C)と機能的結合に重要な役割を果たすS2領域に存在し、進化的に極めて保存性の高い α ヘリックス上に存在していた。In silico simulationではdelE933はこの α ヘリックスに大きな構造変化をもたらすことが予測された。

α -MHCのアイソフォームである β -MHCの遺伝子MYH7には、300種以上の肥大型心筋症・拡張型心筋症の遺伝子変異が報告されている。一方MYH6変異の報告は少ないが、A1366Dなど先天性心疾患の原因となる一部の变異は、心筋細胞に発現させるとサルコメアの破壊をもたらすことがすでに知られている。また、最近のGWASから、MYH6バリエーションR721Wは、SSS発症の危険性と関連することが確認されている。しかしMYH6のバリエーションがどのようにして洞機能不全をもたらすかは未解明である。そこで我々は、今回同定したSSSのMYH6変異delE933、GWASでSSSとの連関が示されたバリエーションR721W、先天性心疾患変異A1366Dを新生ラット心筋細胞に発現させ、サルコメア構造の形態的变化を共焦点顕微鏡で観察した。その結果、正常MYH6は過剰発現させても心筋サルコメア構造は保存されるが、delE933、R721W、A1366DのMYH6変異・バリエーションはいずれも、心筋細胞のサルコメアを破壊することが判明した。

D. 考察

15家系の家族性SSSと既知の14家系を加えたメタ解析と、SSSの遺伝子変異・機能異常から、家族性

SSSのSCN5A変異は機能低下型の機能異常を有すること、若年男性の発症が極めて多いことが判明した。Naチャネルの機能異常と男性優位性には、Brugada症候群との類似性を認める。SCN5A陽性のSSS症例が将来Brugada症候群を発症するかどうかは長期の経過観察が必要だが、若年発症のSSSの少なくとも一部にBrugada症候群の危険性を有する症例があることは示唆される。

α -MHCは主として心房筋に発現する。MYH6変異がどのように洞機能不全を発症するかは不明であるが、今回我々がSSSに同定したMYH6変異がサルコメアの破壊をもたらしたことから、MYH6の変異による家族性SSSの発症機転として心房筋のサルコメア破壊が関与している可能性が考えられる。事実、MYH6変異を発現するゼブラフィッシュでは心房筋の一部が収縮欠損が報告されている。以上から、SSSと関連するMYH6の遺伝子変異やバリエーションは、心房筋のサルコメアの破壊を介して洞結節機能を障害し、SSSを発症するという新たなメカニズムが推測された。

E. 結論

先天性SSSのもっとも強い分子基盤はSCN5Aの遺伝子異常であり、変異を有する症例は極めて若年で男性が多いという特徴を有している。さらに、SSSの新たな分子基盤としてMYH6変異による心房筋サルコメアの破壊があげられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Abe K, Machida T, Sumitomo N, Yamamoto H, Ohkubo K, Watanabe I, Makiyama T, Fukae S, Kohno M, Harrell DT, Ishikawa T, Tsuji Y, Nogami A, Watabe T, Oginosawa Y, Abe H, Maemura K, Motomura H, Makita N. Sodium channelopathy underlying familial sick sinus syndrome with early onset and predominantly male characteristics. Circ Arrhythm Electrophysiol; in revision
2. Makita N, Yagihara N, Crotti L, Johnson CN, Beckmann BM, Shigemizu D, Lichtner P, Ishikawa T, Aiba T, Homfray T, Behr ER, Klug D, Denjoy I, Mastantuono E, Theisen D, Tsunoda T, Satake W, Toda T, Nakagawa H, Tsuji Y, Tsuchiya T, Yamamoto H, Miyamoto Y, Endo N, Kimura A, Ozaki K, Motomura H, Suda K, Tanaka T, Schwartz PJ, Meitinger T, Käb S, Guicheney P, Bhuiyan ZA, Shimizu W, Watanabe H, Chazin WJ, George, AL Jr. Novel calmodulin (CALM2) mutations associated with congenital arrhythmia susceptibility. Circ Cardiovasc Genet; in revision
3. Ohno S, Omura M, Kawamura M, Kimura H, Itoh H, Makiyama T, Ushinohama H, Makita N, Horie M. Exon 3 deletion of RYR2 encoding cardiac ryanodine receptor is associated with left ventricular non-compaction. Europace. 2014;in press

4. Katsuomi G, Shimizu W, Watanabe H, Noda T, Nogami A, Ohkubo K, Makiyama T, Takehara N, Kawamura Y, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Makita N, Minamino T. Efficacy of bepridil to prevent ventricular fibrillation in severe form of early repolarization syndrome. *Int J Cardiol*. 2014
 5. Yoshida M, Ando S, Chishaki A, Makita N, Hasegawa Y, Narita S, Momii H, Kadokami T. Normal dose of pilsicainide showed marked negative inotropic effects in a patient who had no underlying heart disease. *J Arrhythmia*. 2013:in press
 6. 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;165:e21-23
 7. 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;9:e1003364
 8. Makita N. Paradigm shifts in the genetics of inherited arrhythmias: Using next-generation sequencing technologies to uncover hidden etiologies. *J Arrhythmia*. 2013;29:305-307
 9. Kawakami H, Aiba T, Yamada T, Okayama H, Kazatani Y, Konishi K, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kamakura S, Makita N, Shimizu W. Variable phenotype expression with a frameshift mutation of the cardiac sodium channel gene *SCN5A*. *J Arrhythmia*. 2013;29:291-295
 10. 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*. 2013;77:959-967
 11. Hasegawa K, Ohno S, Itoh H, Makiyama T, Aiba T, Nakano Y, Shimizu W, Matsuura H, Makita N, Horie M. A rare *KCNE1* polymorphism, D85N, as a genetic modifier of long QT syndrome. *J Arrhythmia*. 2013
 12. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud J-B, Simonet F, Verkerk AO, Schwartz PJ, Crotti L, Dagradi F, Guicheney P, Fressart V, Leenhardt A, Antzelevitch C, Bartkowiak S, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Behr ER, Bastiaenen R, Tfelt-Hansen J, Olesen MS, Kaab S, Beckmann BM, Weeke P, Watanabe H, Endo N, Minamino T, Horie M, Ohno S, Hasegawa K, Makita N, Nogami A, Shimizu W, Aiba T, Froguel P, Balkau B, Lantieri O, Torchio M, Wiese C, Weber D, Wolswinkel R, Coronel R, Boukens BJ, Bezieau S, Charpentier E, Chatel S, Despres A, Gros F, Kyndt F, Lecoite S, Lindenbaum P, Portero V, Violleau J, Gessler M, Tan HL, Roden DM, Christoffels VM, Marec HL, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R. Common variants at *SCN5A-SCN10A* and *HEY2* are associated with brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet*. 2013;45:1044-1049
 13. Abe Y, Sumitomo N, Okuma H, Nakamura T, Fukuhara J, Ichikawa R, Matsumura M, Miyashita M, Kamiyama H, Ayusawa M, Watanabe M, Joo K, Makita N, Horie M. Successful control of life-threatening polymorphic ventricular tachycardia by radiofrequency catheter ablation in an infant. *Heart Vessels*. 2013:1-5
 14. 蒔田直昌. 遺伝性不整脈研究の黎明期とその後の急速な展開. 日本心電学会 30 年の軌跡. 2013:154-157
 15. 蒔田直昌. 心臓伝導障害の遺伝子基盤. 不整脈 2013. 2013:12-22
 16. 蒔田直昌. 【致死性不整脈診療の最前線】致死性不整脈診療 遺伝性心臓伝導障害. 最新医学. 2013;68:1588-1596
 17. 蒔田直昌. 【イオンチャネル病のすべて】進行性心臓伝導障害. 医学のあゆみ. 2013;245:802-809
 18. 蒔田直昌. 難治性不整脈の遺伝子解析. 循環器専門医. 2013;21:3-8
2. 学会発表
 1. Sonoda K, Watanabe H, Ashihara T, Sato A, Yagihara N, Otuki S, Hasegawa K, Katsuomi G, Iijima K, Izumi D, Furushima H, Horie M, Makita N, Minamino T. A loss-of-function mutation in *SCN5A* associated with monomorphic ventricular tachycardia in Brugada syndrome. 6th APHRS Cardio Rhythm 2013. 2013年10月4日, Hong Kong
 2. Nakao M, Kobayashi S, Makita N. Familial neurally mediated syncope. Venice Arrhythmias 2013. 2013年10月28日, Venice, Italy
 3. Nakano Y, Chayama K, Ochi H, Toshishige M, Tokuyama T, Oda N, Uchimura-Makita Y, Kajihara K, Sairaku A, Motoda C, Fujiwara M, Watanabe Y, Kawazoe H, Ikenaga H, Matsumura S, Oda N, Suenari K, Yoshida Y, Ohkubo K, Watanabe I, Nogami A, Watanabe H, Hasegawa K, Aiba T, Ohno S, Shimizu W, Horie M, Tashiro S, Makita N, Kihara Y. Nonsynonymous polymorphism in semaphorin 3a as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation. American

Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月18日,Dallas, Texas

4. Makita N, Yagihara N, Crotti L, Johnson CN, Beckermann B, Shigemizu D, Watanabe H, Ishikawa T, Aiba T, Mastantuono E, Tsunoda T, Nakagawa H, Tsuji Y, Tsuchiya T, YamamotoH, Miyamoto Y, Endo N, Kimura A, Ozaki K, Motomura H, Suda K, Tanaka T, Schwartz PJ, Meitinger T, Käb S, Shimizu W, Chazin W, George AL. CALM2 mutations associated with atypical juvenile long QT syndrome. American Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月18日,Dallas, Texas
5. Makita N. Genetic mutation. Venice Arrhythmias 2013.2013年10月28日, Venice, Italy
6. Makita N. Is it the prime time to treat the patients with early repolarization? 6th APHRS Cardio Rhythm 2013.2013年10月4日, Hong Kong
7. Kawakami H, Aiba T, Okayama H, Kazatani Y, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kamakura S, Makita N, Shimizu W. Variable expressivity of phenotype in the V1764fsx1786 mutation of cardiac sodium channel *SCN5A*. Heart Rhythm Society 34th Annual Scientific Sessions.2013年5月9日, Denver USA
8. Katsumi G, Shimizu W, Watanabe H, Noda T, Nogami A, Ohkubo K, Takehara N, Kawamura Y, Hosaka Y, Makiyama T, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Makita N, Minamino T. Efficacy of bepridil to prevent ventricular fibrillation in early repolarization syndrome. American Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月20日,Dallas, Texas
9. Ishikawa T, Nogami A, Kowase S, Kimura A, Makita N. A cardiac β -myosin heavy chain (*MYH6*) mutation impairing sarcomere structure responsible for familial sick sinus syndrome. American Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月17日,Dallas, Texas
10. Harrell DT, Tominaga I, Abe K, Watabe T, Oginosawa Y, Okishige K, Abe H, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Makita N. Clinical and genetic characteristics of short qt syndrome in japan. The

77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.2013年3月16日,Yokohama Japan

11. Harrell DT, Tominaga I, Abe K, Watabe T, Oginosawa Y, Abe H, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Makita N. Clinical manifestations and electrophysiological characteristics of K channel mutations responsible for short QT syndrome. Heart Rhythm Society 34th Annual Scientific Sessions.2013年5月9日, Denver USA
12. Harrell DT, Takano M, Uno K, Makita N. Clinical manifestations and electrophysiological characteristics of K channel mutations responsible for short QT syndrome. 第90回日本生理学会大会.2013年3月29日, 東京
13. Barc J, Bezzina C, Mizusawa Y, Remme C, Gourraud J, Verkerk A, Schwartz P, Guicheney P, Antzelevitch C, Schulze-Bahr E, Behr E, Tfelt-Hanson J, Kaab S, Watanabe H, Horie M, Makita N, Shimizu W, Froguel P, Roden D, Christoffels V, Gessler M, Wilde A, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R. Genome-wide association analysis identifies 3 common variants predisposing to Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. American Heart Association Scientific Sessions 2013.2013年11月18日,Dallas, Texas

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)
野上昭彦 (横浜労災病院)
渡辺一郎 (日本大学)

QT延長症候群における不整脈基質に関する高分解能心電図を用いた研究

研究分担者 萩原 誠久 東京女子医科大学 循環器内科 教授

研究要旨

本年度は当施設で植込み型除細動器(ICD)植込み術を施行したQT延長症候群(LQT)患者4名を対象として、ベクトル合成187チャンネル高分解能心電図(187-ch SAVP-ECG)を用いた再分極異常に関する検討を行った。187-ch SAVP-ECGは、12誘導心電図とともにMason-Likar誘導を用いて10分間の心電図を記録し、187チャンネルの合成心電図における再分極指標(RTc)、T-wave current alternans(TWCA)の二次元機能図解析法が可能である。LQTの診断でICD植込み術を施行した4名の患者のうち、Torsade-de-pointesの既往があり、当院でLQTと診断されICD植込み術を施行された57歳の女性患者1名は、遺伝子異常は指摘されていないものの、植込み後も心室頻拍/心室細動による作動を繰り返し、内服治療でもコントロール困難な症例であった。12誘導心電図によるQT時間は415msと延長を認めた。187-ch SAVP-ECGによる計測では、RTc dispersionは89ms、TWCA値は30.2%と高い値を示した。ICDの適切作動を認めていない他3名のLQT患者における187-ch SAVP-ECGの計測値は、RTc dispersionは92, 99, 107msと高い値を示したのに対して、TWCA値は4.2, 14.7, 16%と頻回作動を来した症例に比し低い値を示した。LQT患者において、187-ch SAVP-ECGによる再分極指標は致死性不整脈との関連性が示唆された。

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

当施設循環器内科で植込み型除細動器(ICD)植込み術を施行したQT延長症候群(LQT)患者4名を対象として、ベクトル合成187チャンネル高分解能心電図(187-channel signal-averaged vector-projected high resolution electrocardiograph; 187-ch SAVP-ECG)を用いた再分極異常に関する検討を行った。ICDによる作動の有無と再分極指標との関連性の有無を検討した横断的観察研究である。

187-ch SAVP-ECGも用い、12誘導心電図とともにMason-Likar誘導を用いて10分間の心電図を記録した。同一記録での187チャンネルの合成心電図における再分極指標として、RT時間のばらつき(RTc dispersion)、Tp-e時間のばらつき(Tp-e dispersion)およびT-wave current alternans(TWCA)の二次元機能図解析法が可能である。

C．研究結果

4例のLQT患者のうち1例(57歳、女性)でICDの適

切作動を認めた。上記一例は、12誘導心電図でのQT時間は415msと延長を認め、Adams-Stokes症状を伴うTorsade de Pointes(Tdp)を認め、ICD植込み術を施行された患者で、遺伝子異常は認められず、薬物によるコントロールが困難であった。同患者の187-ch SAVP-ECGによる解析結果は、RTc dispersionは89ms、Tp-e dispersionは48ms、TWCAは30.2%と高値を示した。一方、他の作動を認めていない11例のLQT患者の内訳は、LQT2(24歳、男性)、LQT2(34歳、男性)、LQT3(38歳、女性)であった。LQT3の一例は心肺停止蘇生後のICD植込み例で、QT時間も488msと延長を示していたが、ICDの適切作動は認めていない。上記3例の187-ch SAVP-ECGによる計測値は、RTc dispersionは92～107ms、Tp-e dispersionは56～105msと高値を示し、TWCAは4.2～16%とICD適切作動を認めた一例に比して低値であった。

D．考察

ICD植込み術を施行したLQT患者における187-ch SAVP-ECGを用いて、再分極指標の評価を行った。4例ともにRTc dispersionおよびTp-e dispersionは高値であったが、ICD適切作動を認めた1例では、RTc dispersionが高値であるとともにTWCAも高値を

示した。187-ch SAVP-ECGを用いたこれまでの検討によると、Nakaiらは健人に比してLQT患者でRTc dispersionの高値とともに、TWCAも高値を示したと報告している。今回我々の検討でもLQTの4例におけるRTc dispersionは高値を示した。TWCAに関しては、Nakaiらの報告における健常人では $0.5 \pm 0.2\%$ と低値を示しているが、今回対象としたLQT患者4例におけるTWCA値は4.2～30.2%と健常人に比して高値を示していることが分かる。ICD適切作動を示した1例におけるTWCA値が他の3例に比して高いTWCA値を示したことは、LQT患者における致死性不整脈のリスク評価の一つとしてTWCAに關与する再分極異常が關与していることが示唆された。今後、LQT患者におけるTWCAを含めたリスク因子の前向きな検討が必要である。

E . 結論

ICD植込み術を施行したLQT患者4名を対象として、12誘導心電図および187-ch SAVP-ECGによる再分極指標の評価を行った。いずれの例でもRTc dispersionは高いばらつきを示したが、TWCAはICD適切作動を認めなかった3例に比して、適切作動を認めた1例で高い値を示した。適切作動を認めた例では明らかな遺伝子異常が認められていないが、Tdpの既往があり、12誘導心電図におけるQT延長を示しており、さらなる詳細な検討が必要である。また、LQT患者における致死性不整脈のリスク評価は未だ明確なものがなく、様々な再分極指標を含めた詳細な検討が今後も必要である。

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 and Vessels. 2013; 28(4):56-59.
2. Fujita E, Nakanishi T, Nishizawa T, Hagiwara N,

Matsuoka R. Mutations in the cardiac troponin T gene show various prognoses in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy. Heart and Vessels. 2013; 28(6): 785-94.

3. Hagiwara N. Sleep-disordered breathing and cardiac arrhythmias. Circ J. 2013; 77(6): 1401-2.

2. 学会発表

1. 鈴木 敦, 鈴木 豪, 志賀 剛, 庄田守男, 中居賢司, 笠貫 宏, 萩原誠久. たこつぼ心筋症に心室細動を併発したBugada症候群の一例—DREAM ECGによる検討. 第33回日本ホルター・ノンインベシブ心電学研究会. 東京. 2013.6.8
2. Nakai K, Ito M, Komatsu T, Suzuki A, Shiga T, Hagiwara N. Two-Dimensional Dominant High-Frequency Map and Disease Characterization by 187ch Signal-Averaged Vector-Projection ECG. The 28th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society. Tokyo. 2013.7.5
3. Terajima Y, Shimizu T, Tsuruyama S, Sekine H, Ishii H, Yamazaki K, Okano T, Hagiwara N. Safety and Effectiveness of Innovative Tissue Therapy for Porcine Myocardial Infarction Using Autologous Skeletal myoblast sheets. The 28th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society. Tokyo. 2013.7.5

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)
西井明子 (東京女子医科大学 循環器内科)

遺伝性不整脈疾患の遺伝子解析とその応用

研究分担者 福田 恵一 慶應義塾大学 循環器内科 教授

研究要旨

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。当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当該疾患を有している者に対し、説明と同意を得た上で遺伝子解析目的の採血を行った。QT延長症候群患者の家系において1型1名、2型2名、3型/ブルガダ合併1名、7型3名の患者からiPS細胞を作製した。1型では疾患特異的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、 I_{Kr} 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 I_{Ks} 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 I_{Ks} の障害が示唆された。3型/ブルガダ合併の患者由来ではLQT3型の表現型の再現が可能であったがブルガダ症候群の表現型の再現は不可能であった。7型の患者ではCa過負荷が観察され不整脈源性のメカニズムを証明した。

A. 研究目的

遺伝性不整脈疾患の突然死の原因の病態解明および早期診断、有効な治療法の検索を目的とする。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。またその結果を速やかに実臨床へフィードバックする。

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1,2,3,7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

QT延長症候群患者の家系において1型1名、2型2名、3型/ブルガダ合併1名、7型3名の患者からiPS細胞を作製した。1型では疾患特異的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、

I_{Kr} 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 I_{Ks} 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 I_{Ks} の障害が示唆された。3型/ブルガダ合併の患者由来ではLQT3型の表現型の再現が可能であった。SCN3Bのノックダウンによりブルガダ症候群の表現型の再現が可能であった。7型の患者ではCa過負荷が観察され不整脈源性のメカニズムを証明した。

D. 考察

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。

E. 結論

疾患特異的iPS細胞の作成により、不整脈の病態解明、薬効評価などが可能になった。また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、本解析は遺伝性不整脈疾患の病態解明において有用な手段であることが確立された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 藤田 淳, 福田 恵一. 【心不全の最前線】 治す心不全とiPS細胞の展望. Heart View 18巻1号 Page 101-105.
2. 関倫久, 福田 恵一. 循環器疾患における再生医療の展望 循環器領域での再生医療の実践に

- むけて．循環plus 14巻 1号 Page10-12 ．
3. 福田恵一．再生医学・再生医療の最前線 iPS細胞の循環器領域への臨床応用．日本内科学会雑誌 102巻9号 Page2232-2240 ．
 4. 黒田裕介, 福田恵一 ．【iPSの樹立とその応用病態解析】心疾患と疾患特異的iPS細胞 ．Medical Science Digest 39巻11号 Page 518-521 ．
 5. Seki T, Yuasa S, Kusumoto D, Kunitomi A, Saito Y, Tohyama S, Yae K, Kishino Y, Okada M, Hashimoto H, Takei M, Egashira T, Kodaira M, Kuroda Y, Tanaka A, Okata S, Suzuki T, Murata M, Fujita J, Fukuda K. Generation and characterization of functional cardiomyocytes derived from human T cell-derived induced pluripotent stem cells. PLoS One. 2014;9(1):e85645
 6. Ohno Y, Yuasa S, Egashira T, Seki T, Hashimoto H, Tohyama S, Saito Y, Kunitomi A, Shimoji K, Onizuka T, Kageyama T, Yae K, Tanaka T, Kaneda R, Hattori F, Murata M, Kimura K, Fukuda K. Distinct iPS Cells Show Different Cardiac Differentiation Efficiency. Stem Cells Int. 2013; 2013: 659739.
 7. Chen IP, Fukuda K, Fusaki N, Iida A, Hasegawa M, Lichtler A, Reichenberger EJ. Induced pluripotent stem cell reprogramming by integration-free sendai virus vectors from peripheral blood of patients with craniometaphyseal dysplasia. Cell Reprogram. 2013;15(6):503-13.
 8. Okata S, Yuasa S, Yamane T, Furukawa T, Fukuda K. The generation of induced pluripotent stem cells from a patient with KCNH2 G603D, without LQT2 disease associated symptom. J Med Dent Sci. 2013;60(1):17-22.
 9. Wada R, Muraoka N, Inagawa K, Yamakawa H, Miyamoto K, Sadahiro T, Umei T, Kaneda R, Suzuki T, Kamiya K, Tohyama S, Yuasa S, Kokaji K, Aeba R, Yozu R, Yamagishi H, Kitamura T, Fukuda K, Ieda M. Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(31):12667-72.
 10. 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. 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. 福田恵一 ．山田和生招聘講演：iPS細胞およびGWAS研究から見えてくる遺伝性QT延長症候群を巡る諸問題の現状と将来展望 ．第30回日本心電学会学術集会 ．2013年10月11日 ．青森県弘前市 ．
 3. 福田恵一 ．ランチョンセミナー：iPS細胞の循環器領域への臨床応用 ．第30回日本心電学会学術集会 ．2013年10月11日 ．青森県弘前市 ．
 5. Fukuda K. Keynote Lecture: Use on iPS Cells for the Evaluation of Familial Sudden Death Syndrome. APHRS2012. Taipei, Taiwan.
 6. Fukuda K. 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
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
(研究協力者)
相澤義泰 (慶應義塾大学 循環器内科)

遺伝性不整脈の臨床診断・臨床症状

吉永正夫 鹿児島医療センター 小児科 部長

研究要旨

【背景】 乳児期、幼児期、小児期の QT 延長症候群の臨床診断・臨床症状については不明な点が多い。乳児期、学童期の QT 延長症候群の臨床的/遺伝学的診断と臨床症状について研究した。

【方法および結果】

1. 乳児(1か月)健診時における QT 延長スクリーニングに関する検討

日本の8地域において1か月健診時の心電図を新生児4285名で記録した。前方視的研究から暫定値 $QTc \geq 470$ ms が有用であった。この基準の妥当性を検討するため、 QTc 値 460~470 ms を示す乳児も経過観察した。1か月健診時、5名の乳児が $QTc \geq 470$ ms を示した。経過観察により4名の乳児が QT 延長症候群と診断された。4名の乳児とも症状は示さず、QT 延長症候群の家族歴もなかった。4名中3名に遺伝学的検査が行われ、1名の患児に *KCNH2* の変異が見つかった。 $QTc \geq 470$ ms を示した1名と460~470 ms を示した2名の QTc 値は正常化した。本研究により WPW 症候群と心筋緻密化障害を持つ乳児1名を症状出現前にスクリーニングできた。

2. 学校心臓検診でスクリーニングされる QT 延長症候群患児の遺伝学的検討

遺伝学的検査を依頼された18歳以下の117名を対象とした。うち69名が学校心臓検診で診断されており、心検群とした。48名は、LQTS 関連症状、家族検診、偶然に診断された群であり、臨床群とした。変異は radical mutation、病原性の高い変異、重要度が不明確な変異に分類した。臨床群の2名が突然死した。変異が断定できたのは心検群50名(72%)、臨床群23名(48%)であった。*KCNQ1* および *KCNH2* の変異のうち、心検群は33変異中31変異(94%)、臨床群は16変異中15変異(94%)が radical mutation もしくは病原性の高い変異であった。心検群と臨床群で QTc 値、LQTS の家族歴、突然死の家族歴、経過観察期間に差を認めなかったが、診断前の LQTS 関連症状出現 (9/69 vs 31/48, $p < 0.0001$)、診断後の症状出現 (12/69 vs 17/48, $p = 0.03$) とともに心検群が臨床群より有意に低かった。

3. 単一医療機関での QT 延長症候群患児の予後に関する研究

対象は2005年4月から2012年8月の間に当院を受診した20歳未満のLQTS患児のうち、最近2年間に受診歴がある146名(M:F=72:74)とした。統計学的解析には重回帰または多重ロジスティック解析を用いた。学校心臓検診抽出群は103名、症状があり受診した群は15名、その他が28名だった。1患児が死亡した。診断後の症状出現を予測する因子は長い QTc 値 ($p = 0.01$)、LQTS 関連症状の既往 ($p = 0.04$)、および長い経過観察期間 ($p = 0.03$) であった。診断後の反復する症状出現を予測する因子は怠薬 ($p = 0.02$) のみであった。また学校心臓検診抽出群に限局すると、診断後に LQTS 関連症状が出現したのは9例(9%)、症状出現までの平均期間は 3.1 ± 2.7 年(0.1 - 7.1 年)であった。症状出現を予測する因子は長い経過観察期間のみであった($p = 0.04$)。

【結論】

1. 乳児（1 か月）健診時における QT 延長スクリーニングに関する検討

ヨーロッパでも示されたように、日本においても新生児期心電図により QT 延長症候群をスクリーニングすることができることが示された。新生児期心電図スクリーニングは他の心疾患の診断にも有用である。

2. 学校心臓検診でスクリーニングされる QT 延長症候群患児の遺伝学的背景

本研究のデータは学校心臓検診が LQTS の早期診断と症状出現前の介入に効果的であることを示している。学校心臓検診でスクリーニングされた患児も臨床群と同様に注意深く観察する必要がある

3. 単一医療機関での QT 延長症候群患児の予後に関する研究

治療を開始している例では、症状を繰り返さないために急薬防止が重要である。LQTS 患児は思春期、若年成人まで経過観察とともに症状が出現する確率は高くなる。学校心臓検診で抽出された患児においてもドロップアウトしないようにするための新たな戦略が必要となる。

これらの研究により小児期の QT 延長症候群の臨床診断・臨床症状の概要が明らかにされ、今後の研究の進展に寄与すると考えられた。

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。現在まで 13 の遺伝子型が報告されている。QT 延長症候群の遺伝学的背景、臨床症状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 probands 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。

本分担研究では 1 か月健診時における QT 延長症候群の診断方法・頻度、学校心臓検診でスクリーニングされる患児の遺伝学的背景、単一施設での QT 延長症候群患児の予後について研究した。

B. 研究方法

1. 乳児（1 か月）健診時における QT 延長スクリーニングに関する検討

(1) 対象

2010 年 6 月から 2011 年 3 月まで、全国 8 地域 16 産科病院において 4,319 名の 1 か月健診児を対

象とした。研究は全ての参加医療機関の倫理委員会承認を受けた場合にのみ行った。

(2) 心電図記録と QT 間隔の測定方法

12 誘導心電図を 25 mm/s の速度で記録した。V5 誘導を用い洞調律の連続 3 心拍の QT 間隔、RR 間隔を測定した。測定は全て同一の医師 (M.Y.) が行った。

(3) Preliminary Study でのスクリーニング/フォローアップ方法

乳児の QT 間隔の補正方法としては $QTc = QT/RR^{0.43}$ が適切であり、スクリーニング基準としては 0.44 以上を QT 延長とするのが適切であった。そこで全地域において QTc 値 0.44 以上は QT 延長としてフォローした。また診断基準が適切か検討するため全地域で 0.43 以上 0.44 未満の乳児、参加者が最も多かった鹿児島地区では 0.42 以上 0.43 未満も再検査を行った。

(4) Bazett 補正でのスクリーニング

全世界的には Bazett 補正が行われることが多いため、Bazett 補正でのスクリーニングも検討した。Bazett 補正では QTc 値 0.47 以上を QT 延長とす

るのが妥当と考えられた。

(5) フォローアップ方法

日本の新生児期・乳児期の QT 延長症候群のデータでは 遮断剤とメキシレチンを併用が有効であるという報告があるため、治療が必要と考えられる場合、遮断剤とメキシレチンを併用した。

(6) 遺伝学的解析

主治医が必要と考え、保護者が希望する場合、遺伝学的解析を行った。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、ABI 3130 x1 Genetic Analyzer (ABI, Warrington, UK)を用いて direct sequence を行った。

(7) 統計学的解析

スクリーニングに適切な QTc 値の検討には positive predictive value, negative predictive value を用いた。

2. 学校心臓検診でスクリーニングされる QT 延長症候群患児の遺伝学的背景

(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~2012 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臨床群とした。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、ABI 3130 x1 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。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。

3. 単一医療機関での QT 延長症候群患児の予後に関する研究

(1) 対象

2005 年 4 月から 2012 年 8 月までに国立病院機構鹿児島医療センター小児科を受診した 20 歳未満の連続した 204 名の患児を対象とした。診断基準は

- 1) Bazett 補正での QTc 値 ≥ 0.46
- 2) Fridericia 補正の年齢別 Cutoff 値
- 3) 乳児用 Cutoff 値

を用いた。定期的受診が 24 か月以上ない場合は Dropout とした。

(2) 心電図記録と QT 間隔の測定方法

12 誘導心電図を 25 mm/s の速度で記録した。V5 誘導を用い洞調律の連続 3 心拍の QT 間隔、RR 間隔を測定した。測定は全て同一の医師 (M.Y.) が行った。

(3) フォローアップ方法

フォローは American Heart Association および日本小児循環器学会の勧告に従って行った。同一の医師 (M.Y.) が行った。

(4) 遺伝学的検査

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。

(5) 統計学的解析

データは平均値 ± 標準偏差で示した。平均値の差、頻度の差の検定には Mann-Whitney U-test, Fisher's exact probability test を用いた

(倫理面への配慮)

これらの研究は 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

1. 乳児 (1 か月) 健診時における QT 延長スクリーニングに関する検討

(1) 最終対象者

参加者のうち、洞調律で連続 3 心拍の QT/RR 間隔を測定できた 4285 名 (男児 2148 名、女児 2038 名、性別不明 100 名) を対象にした。WPW 症候

群、完全脚ブロックの患児は除外した。

(2) QT 間隔

男児の QT 間隔、心拍数、QTc 値の平均はそれぞれ 253 ± 17 ms、 160 ± 16 beats per minute、 410 ± 19 ms であり、女児はそれぞれ 255 ± 17 ms、 158 ± 16 beats per minute、 413 ± 19 ms であった。

(3) QT 延長を示した乳児

1 か月健診時に QTc 値 ≥ 0.47 を示したのは 5 名であり、最終的には 4 名が QT 延長と診断された。うち 2 名は QTc 値が 0.50 以上に延長したため治療を開始した。

(4) 遺伝学的検査

QT 延長と診断された 4 名のうち、3 名の家族が遺伝学的検査を希望した。うち 1 名から KCNH2 遺伝子の frame shift 変異 (3065 delT, L1021 fs+34X) が検出された。

(5) 乳児期 QT 延長の Cutoff 値について

positive predictive value, negative predictive value からは Cutoff 値として QTc ≥ 0.47 が best であり、次善として QTc ≥ 0.46 が妥当と考えられた。

(6) その他の心疾患児のスクリーニング

1 か月健診時、WPW 症候群でスクリーニングされ、心筋緻密化障害と診断された男児が 1 名いた。初診時の駆出率は 50% ~ 60%であったが、フォロー中 2 か月時に 30%未満に急激に悪化した。カルベジロールとエナラプリルで治療され、現在 65%までに回復している。駆出率が著明に低下した時点でも患児の状態は元気そうであり、心電図スクリーニングで抽出されていなければ予後不良な状態になっていたと考えられた。

2. 学校心臓検診でスクリーニングされる QT 延長症候群患児の遺伝学的背景

心検抽出群 69 名、臨床群 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。平均年齢は臨床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臨床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%)、臨床群 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、臨床群 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%)、臨床群 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%)、臨床群が 16 部位中 15 部位 (94%) が high probability of pathogenicity 部位に位置していた。

3. 単一医療機関での QT 延長症候群患者の予後に関する研究

(1) 最終対象者

Dropout 58 例を除いた 146 例 (男子 72 例、女子 74 例) の平均年齢は 9.8 ± 5.5 歳であった。遺伝子診断は 62 例 (42%) に行われ、42% (68%) で判明した。LQT1 が 43%、LQT2 が 24%、LQT3 が 12%、LQT5 が 4.8%、LQT7 および LQT13 が 2.4% であった。複数の変異をもっていたのは LQT1+LQT2 が 2.4%、LQT1+LQT3 が 4.8%、LQT2+LQT3 が 2.4% であった。薬物治療を受けていたのは 25 例 (全体の 17%) であった。

(2) 有症状者について

16 例に診断確定後に QT 延長症候群関連の症状が出現した。診断後の症状出現のリスクファクタを multiple logistic regression analysis で検討すると長い QTc 値 ($p=0.01$)、LQTS 関連症状の既往 ($p=0.04$)、および長い経過観察期間 ($p=0.03$) であった。

(3) 反復する症状出現者

薬物治療を受けた 25 名のうち、反復する症状出現のリスクファクタは急薬 ($p=0.02$) であった。

(4) Dropout を予測する因子について

58 例 (28%) が dropout していた。Dropout の有意なリスクファクタは存在しなかった。Dropout

例の平均観察期間は 1.9 ± 2.6 年、定期観察持続例は 4.1 ± 5.2 年であった。

D. 考察

1. 乳児 (1 か月) 健診時における QT 延長スクリーニングに関する検討

イタリアで行われた 44 596 名の乳児において LQTS 患者は 17 名 (16 例は遺伝子変異の存在、1 例は家族歴の存在) であり、頻度は 1:2534 と報告されている。遺伝子診断できていない QTc 値 ≥ 0.45 の乳児がいるので、実際的には 1:2000 に近い値であると推測している。

乳児の QT 延長のスクリーニング率をみると、本研究でのスクリーニング率が若干高い結果になっている QTc 値 ≥ 0.47 以上はイタリアが 0.07%、本研究が 0.12%、QTc 値 ≥ 0.46 以上はイタリアが 0.14%、本研究が 0.20% になっている。これは心電図記録日の差と考えられた。イタリアでの記録日は生後 15~25 日の記録であり、本研究では 1 か月健診時 (平均 32 生日) である。乳児期の QT 間隔は生後 6~11 週が最も長いことから、本研究での頻度が高くなったと考えられる。

2. 学校心臓検診でスクリーニングされる QT 延長症候群患者の遺伝学的背景

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。Yasuda らは LQTS 患者 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。

本研究では 117 例の LQTS 患者のうち、69 例が心検抽出群であり、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、臨床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検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、心検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。

3. 単一医療機関での QT 延長症候群患児の予後に関する研究

QT 延長症候群患者では長いQTc 値、症状の既往は将来の症状出現の危険因子であることはよく知られている。本研究の結果、長い経過観察期間も症状出現の危険因子となっていることから、Dropout を防ぐことが重要と考えられた。ただ、Dropout の有無で初診時の臨床所見の差はなく、今後の検討課題と言える。

また、治療を開始した場合、頻回の症状出現の危険因子は怠薬のみであった。治療を開始する場合、服薬を続けるよう患児・家族への十分な説明が必要である。

E . 結論

1. 乳児 (1 か月) 健診時における QT 延長スクリーニングに関する検討

ヨーロッパでも示されたように、日本においても新生児期心電図により QT 延長症候群をスクリーニングすることができることが示された。新生児期心電図スクリーニングは他の心疾患の診断にも有用である。

2. 学校心臓検診でスクリーニングされる QT 延長症候群患児の遺伝学的背景

本研究のデータは学校心臓検診がLQTSの早期診断と症状出現前の介入に効果的であることを示している。学校心臓検診でスクリーニングされた患児も臨床群と同様に注意深く観察する必要がある

3. 単一医療機関での QT 延長症候群患児の予後

に関する研究

治療を開始している例では、症状を繰り返さないために怠薬防止が重要である。LQTS 患児は思春期、若年成人まで経過観察とともに症状が出現する確率は高くなる。学校心臓検診で抽出された患児においてもドロップアウトしないようにするための新たな戦略が必要となる。

これらの研究により小児期の QT 延長症候群の臨床診断・臨床症状の概要が明らかにされ、今後の研究の進展に寄与すると考えられた。

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. 2013;10(4):600-3.
2. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dochi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, Makiyama T, Sumitomo N, Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, Aonuma K, Horigome H, Honda T, Yoshinaga M, Ito M, Horie M. Genetic Background of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia in Japan. Circ J. 2013; 77(7):1705-13.
3. Ninomiya Y, Yoshinaga M, Kucho Y, Tanaka Y. Risk factors for symptoms in long QT syndrome in a single pediatric center. Peadiatr Int, 2013;55(3):277-282.
4. Yoshinaga M. Prevalence of sudden death and out-of-hospital cardiac arrest in infants, children, and adolescents; what does it imply? Circ J. 2013 Oct;77(10):2475-2476.
5. Yoshinaga M, Ushinohama H, Sato S, Tauchi N, Horigome H, Takahashi H, Sumitomo N, Kucho Y, Shiraishi H, Nomura Y, Shimizu W, Nagashima M. Electrocardiographic screening of 1-month-old infants for identifying prolonged

- QT intervals. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2013 Oct;6(5):932-8. doi: 10.1161/CIRCEP.113.000619. Epub 2013 Sep 13..
6. Yoshinaga M, Kucho Y, Sarantuya J, Ninomiya Y, Horigome H, Ushinohama H, Shimizu W, Horie M. Genetic Characteristics of Children and Adolescents with Long QT Syndrome Diagnosed by School-Based Electrocardiographic Screening Programs. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2014;7(1):107-12.
 7. Kokunai Y, Nakata T, Furuta M, Sakata S, Kimura H, Aiba T, Yoshinaga M, Osaki Y, Nakamori M, Itoh H, Sato T, Kubota T, Kadota K, Shindo K, Mochizuki M, Shimizu W, Horie M, Okamura Y, Ohno K, Takahashi MP. A Kir3.4 mutation causes Andersen-Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1. *Neurology* 2014 Feb 26. [Epub ahead of print]
 8. 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): 427-435.
 9. 吉永正夫, 泉田直己, 岩本眞理, 牛ノ濱大也, 住友直方, 田打宣生, 高橋良明, 富田 英, 長嶋正實, 堀米仁志, 山内邦明, 日本小児循環器学会学校心臓検診委員会 . 器質的心疾患を認めない不整脈の学校生活管理指導ガイドライン (2013年改訂版) . 日本小児循環器学会雑誌, 2013;29(6):277-290.
 10. 吉永正夫 . 心臓突然死のリスク評価のパラメータ . HRT, HRV, QT時間の日内変動 - 自律神経の関与の面から - . 臨床医のための循環器診療, 2013;18:43-47.
 11. 吉永正夫, 長嶋正實 . Timothy 症候群 . 医学のあゆみ, 2013;245(9):821-824.
 12. 吉永正夫 . 学校心臓検診 . 日本小児循環器学会雑誌, 2013;29(5):212-217.
1. 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. European Society of Cardiology Congress (ESC) 2013, Amsterdam, 2013.9.1
 2. Yoshinaga M, Sato S, Ushinohama H, Sumitomo N, Iwamoto M, Tauchi N, Nagashima M. Risk factors predicting the future presence of long QT syndrome-related symptoms in pediatric patients diagnosed by screening programs in Japan. 6th Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), Hong Kong, 2013.10.3
 3. Tanoue K, Yoshinaga M, Tanaka Y, Ninomiya Y. A male adolescent with hypertrophic cardiomyopathy who showed a Brugada-like electrocardiogram at the first visit. 6th Asia Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), Hong Kong, 2013.10.4
 4. Yoshinaga M. ECG screening program for prevention of sudden cardiac death: Benefits, Risks, and Costs. The Japanese experience. Scientific Session 2013 American Heart Association (AHA), Dallas, 2013.11.20
 5. 二宮由美子, 田中祐治, 吉永正夫 . 学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群患児の遺伝学的特徴 . 第153回日本小児科学会鹿児島地方会, 鹿児島市, 平成25年6月9日
 6. 二宮由美子, 九町木綿, 田中祐治, 吉永正夫, 岩本眞理, 牛ノ濱大也, 住友直方, 堀米仁志, 長嶋正實 . 学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群患児の遺伝学的特徴の検討 . 第49回日本小児循環器学会総会・学術集会, 東京都, 平成25年7月11日
 7. 吉永正夫, 九町木綿, 二宮由美子, 田中祐治 . 学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群患児の遺伝学的特徴の検討 . 第24回九州不整脈検討会, 福岡, 平成25年7月27日
 8. 吉永正夫, 九町木綿, 牛ノ濱大也, 堀米仁志, 清水 渉, 堀江 稔 . 学校心臓検診で抽出さ
2. 学会発表

れた QT 延長症候群患児の遺伝学的特徴．第
61 回日本心臓病学会学術集会、熊本市、平成
25 年 9 月 14 日 22 日

9. 吉永正夫、佐藤誠一、牛ノ濱大也、住友直方、
堀米仁志、岩本眞理、田内宣生、長嶋正實．
心臓検診で抽出される QT 延長症候群
(LQTS) 患児の症状出現予測に関する研究．
第 30 回日本心電学会学術集会、青森市、平成
25 年 10 月 12 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*	臨床群*	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。臨床群は症状出現、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	臨床群	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	臨床群
<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-Arnt-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。

F. 健康危険情報

なし

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
～特に機能的2:1房室ブロックを伴う症例の治療の現況と予後～

研究分担者 堀米 仁志 筑波大学医学医療系小児 教授

研究要旨

先天性 QT 延長症候群 (LQTS) の一部は胎児・新生児期・乳児期から心室頻拍、房室ブロック、著明な徐脈を伴って発症し、早期から重症な経過を辿ることがある。われわれの全国調査によれば、遺伝子型確定例の多くは LQT2 (KCNH2 変異) と LQT3 (SCN5A 変異) で一部が LQT8 (CACNA1C 変異、Timothy 症候群) であったが、遺伝子検査未施行例、施行したが未確定の症例も多く含まれた。これらの早期発症 LQT にみられる不整脈として洞性徐脈、2:1 房室ブロック (AVB)、torsade de pointes (TdP) があるが、特に房室ブロックは早期発症 LQT に特徴的である。これは QT 延長の程度が強いために不応期が延長して起きる機能的なブロックと考えられている。しかし、この特殊な AVB の臨床経過、心電図所見の経過、治療の現況と予後については十分なデータはない。そこで、従来から継続している全国調査のデータベースから AVB を伴う早期発症 LQT 症例を抽出し、それらの診断の契機、臨床経過、心電図所見の経過、遺伝的背景、治療の現況と生命予後について追加調査を行った。

日本小児循環器学会評議員を対象として開始した「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全国調査」では、現在までに全国55施設から計88例の登録があった。そのうち(2:1)AVBを伴って発症したのは28例で、追加調査に協力が得られた20例を対象とした。診断時期は、胎児期7例、新生児期9例、それ以降の乳児期が4例であった。遺伝子型ではLQT1:2例、LQT2:2例、LQT3:3例、LQT8:2例、遺伝子検査未施行:6例、施行されたが未確定例が4例であった。心室拍数は60～143bpm、QT時間は302～700msec (Fridericia補正QTc=467～700msec)、失神の既往または心室頻拍 (VT) / torsade de pointes (dp) がみられた症例は9例(47%)に達した。(2:1)AVBの合併は必ずしもQT延長の程度と相関せず、LQT2やLQT3ではQT時間の著明な延長がなくてもAVBを伴うことがあり、LQT1ではQT延長が強くてもAVB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。また、乳児期を過ぎるとQT延長の程度は同様であっても、2:1AVBの頻度は明らかに減る傾向が認められた。これらの症例では、β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が行われ、一部の症例では早期からペースメーカー治療が追加されていたが、遺伝子型未確定例を中心に、5例の死亡例があった。我が国では欧米に比して重症例に対するペースメーカーやICD治療の頻度が低いことも一因と推定された。

結論として、早期発症LQTSの診断契機として重要なのは洞性徐脈、心室頻拍、房室ブロック、LQTの家族歴の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。特に胎児徐脈はLQTS早期診断の重要な契機の一つである。一方、重症例であっても家族歴があったのは約1/3の症例で、家族歴の存在から発症を予測できない症例が多いことにも注意すべきである。したがって、難治性不整脈合併例では、遺伝子検査の施行率を上げるとともに、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薬物治療を積極的に行うことが重要である。また、特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デバイス治療を行うことが推奨されると考えられた。

A . 研究目的

胎児・新生児期・乳児期から心室頻拍 / torsade de pointes (TdP)、房室ブロック(AVB)を伴って発症する先天性 QT 延長症候群 (LQTS) は重症な経過をたどることが多く、特殊な一群と考えられている。われわれが日本小児循環器科のある施設を対象として 2009 年から行った全国調査によれば、遺伝子型確定例の多くは LQT2 (KCNH2 変異) と LQT3 (SCN5A 変異) で一部が LQT8 (CACNA1C 変異、Timothy 症候群) であったが、遺伝子検査未施行例、施行したが未確定の症例も多く含まれた(Horigome H, et al: Circ Arrhythm Electrophysiol 2010)。これらの早期発症 LQT にみられる不整脈として洞性徐脈、2:1AVB、TdP が重要であるが、特に AVB は早期発症 LQT に特徴的である。これは通常、QT 延長の程度が強いために不応期が延長して起きる機能的なブロックと考えられている。しかし、この特殊な AVB の臨床経過、心電図所見の経過、治療の現況と予後については十分なデータはない。全国調査はその後登録症例数が増加し、80 例を超えているため、そのデータベースから AVB を伴う早期発症 LQT 症例を抽出し、それらの診断の契機、臨床経過、心電図所見の経過、遺伝的背景、治療の現況と生命予後について追加調査を行った。

一方、近年、乳児突然死症候群(sudden infant death syndrome, SIDS) 患者の死亡後の遺伝子解析 (molecular autopsy) が世界的に行われるようになり、SIDSの一部(およそ10%)はLQTSが原因となっていることが明らかとなった。SIDSはわが国においても乳児死因の第3位から4位を占めているため、その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。SIDSから検出されるLQTSの遺伝子変異で最も頻度の高い遺伝子変異はLQT3のSCN5A変異であり、2:1AVBを伴う重症LQTSがSIDSと関連していることも十分推測される。

以上のことから、今回は特にAVBを伴う早期発症LQTSの新たな診断、治療アルゴリズムの確立を目指して、我が国におけるその発生状況、遺伝的背景、臨床経過、心電図所見の経過、治療の現況と生命予後について検討した。

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、日本小児心電学会幹事の施設を中心に、全国の主要な小児循環器・周産期施設を対象として、以前から本研究分担者が中心となって調査を継続している。はじめに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、および追加調査の項目は下記の通りである。

<二次調査項目>

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、痙攣、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)

<(機能的2:1)房室ブロックを伴った症例に対する追加調査項目>

出生前・出生から1年以内(乳児期)にみられた症状・不整脈

満1歳以降にみられた症状・不整脈

心電図所見:初診時、日齢29~1年以内(乳児期)、最終受診近くのQT時間と不整脈

房室ブロックの経過:最後にAVB(1度は除く)が確認された年齢

(機能的2:1)AVBを伴った症例については、遺伝子型、QT時間の長期的変化およびAVBの持続期間、ペースメーカー・ICD治療の有無、予後について検討した。

<倫理面への配慮>

本研究は「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)。集積された症例については、いずれも遺伝情報を含めた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の二次調査項目の結果については、平成24年度の分担研究報告書に記載したため、本項では省略する。

(機能的2:1) AVBを伴った症例の結果は以下の通りである。

診断時期

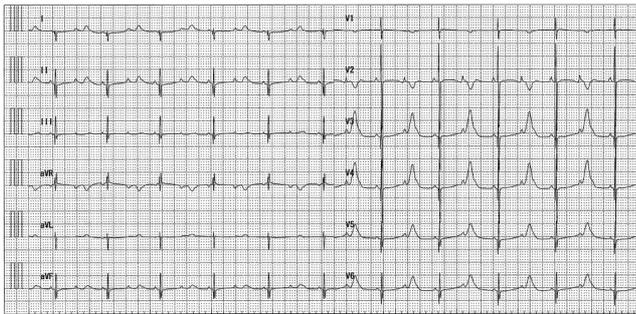
(機能的2:1) AVBを伴った症例は20例。診断時期は胎児期が7例、新生児期が9例、1か月以降の乳児期が4例であった。

心電図所見等

心拍数(心室拍数)は60~143(平均82)bpm、QTcは467~700(平均511)msecであった。また、経過中VT/TdPが記録されたのは20例中10例(50%)、失神やaborted cardiac arrest(ACA)がみられたものを含めると20例中8例(40%)に達した。

心電図の具体例を図1(LQT8)に示した。

図1 LQT8新生児の心電図

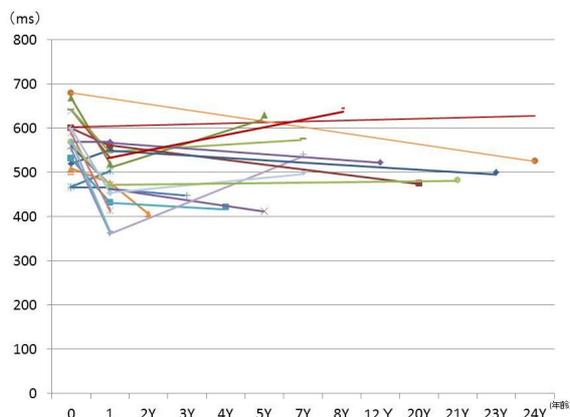


著明なQT延長と機能的2:1AVBが見られる。

QT時間の推移

図2にQT時間の推移を示した。ほとんどの症例で加齢に伴う有意な短縮は認められなかった。

図2 QTcの経時変化

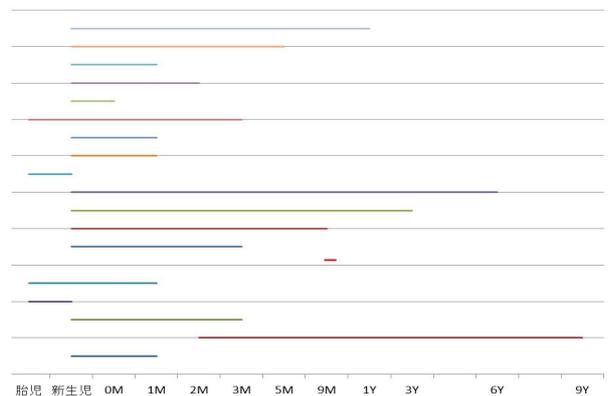


2:1房室ブロックの推移

図3に初めに(機能的)2:1AVBが診断された時期と、最後に記録された年齢を示した。後者は生後2日から6歳で、データが得られた20例中9例で乳児期前半に記録されたのが最後で、生後9か月以降は確認されなかった。

ただし、ホルター心電図を定期的に施行されていた症例が少ないことや、ペースメーカー植込み術を行われていて、自己心拍での状況の確認が容易でない症例も含まれるため、症例によってはさらに長期にわたって持続していた可能性はある。

図3 AVBの持続期間



遺伝子型

遺伝子検査は13例で施行され、変異が検出されたのは9例であった。LQT1(KCNQ1変異)2例、LQT2(KCNH2変異)2例、LQT3(SCN5A変異)3例、LQT8(CACNA1C変異)2例、および遺伝子変異を同定できなかった症例が10例であった。LQTSまたは突然死・SIDS・原因不明の子宮内胎児死亡などの家族歴があったものは20例中5例(25%)と低く、家族歴の存在から発症を予測できない症例が多かった。

表1 遺伝子型

Case	診断時期	初診時QTc	Family history	LQT type	遺伝子型
1	新生児期 13日	420	なし	LQT2	KCNH2-G572S
2	乳児期 2か月	600	なし	LQT3	SCN5A-S633L
3	新生児期 1日	640	なし	LQT8	CACNA1C
4	胎児期 20週	561	あり	LQT1	
5	胎児期 30週	302	なし	LQT1	KCNQ1-G168A, SCN5A-C3269T
6	新生児期 0日	620	なし	LQT8	CACNA1C
7	胎児期 28週	560	突然死の家族歴	LQT3	SCN5A-A1186T
8	胎児期 34週	490	なし	LQT2	KCNH2-G628S
9	新生児期 0日	672	なし	LQT3	SCN5A-V1763M
10	胎児期 28週	700	なし	LQT2	KCNH2-G628S
11	新生児期 2日	480	なし	ND	ND
12	小児期 9歳2か月	500	なし	ND	ND
13	胎児期 37週	380	なし	ND	ND
14	胎児期 18週	480	あり	ND	ND
15	新生児期 1日	428	突然死の家族歴	ND	ND
16	乳児期 2か月	340	なし	なし	ND
17	新生児期 4日	445	あり	なし	ND
18	乳児期 10か月	680	なし	なし	ND
19	新生児期 1日	600	なし	なし	ND
20	新生児期 1日	520	なし	なし	ND

胎児・新生児期から乳児期早期に発症した2:1房室

ブロックを伴う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VT、Tdp、機能的2:1AVB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2:1AVBを伴う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、メキシレチン、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、薬剤療法が行われていなかった。

表2 2:1AVBを伴うLQTSの遺伝子型別の治療状況

	LQT1 (n=2)	LQT2 (n=3)	LQT3 (n=3)	LQT8 (n=2)	Unidentified (n=10)
急性期治療					
β遮断薬, n(%)	0(0)	1(0)	0(0)	1(50)	0(0)
メキシレチン, n(%)	0(0)	2(67)	1(33)	1(50)	1(10)
リドカイン, n(%)	0(0)	1(33)	1(33)	0(0)	1(10)
マグネシウム, n(%)	0(0)	2(67)	1(33)	0(0)	1(10)
ペースメーカー, n(%)	0(0)	2(67)	0(0)	0(0)	0(0)
維持療法					
β遮断薬, n(%)	0(0)	3(100)	2(67)	2(100)	7(70)
メキシレチン, n(%)	0(0)	3(100)	3(100)	2(100)	6(60)
リドカイン, n(%)	0(0)	2(67)	0(0)	0(0)	0(0)
ペースメーカー, n(%)	0(0)	1(33)	2(67)	1(50)	1(10)
ICD, n(%)	0(0)	0(0)	2(67)	0(0)	0(0)

死亡例

死亡例は5例(26.3%)であった(表3)。そのうち4例は遺伝子未確定例であり、同定されていたのはLQT8が1例のみであった。ほとんどの症例で多剤薬物療法が施行されていた。

表3 2:1AVBを伴うLQTSの死亡例

症例	死亡時期	診断時期	遺伝子型	治療内容
1	5年	1日	LQT8	BB, Mexil, PM
2	26年	10か月	未確定	BB, Mexil
3	57日	1日	未確定	BB
4	7年	1日	未確定	-
5	4年	2か月	未確定	BB, Mexil

D. 考察

胎児・新生児期から乳児期早期に発症するLQTの全国調査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った。特に家族歴があったのは約1/3の症例に留まり、出生前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ことを考えると、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、房室ブロックの3者が重要であることがわかった。

機能的2:1AVBを伴う症例における遺伝子検査は施行率が低かったか、施行されても同定されなかった症例が多く、それぞれLQT1型が2例、2型が2例、3型が3例、8型が2例にとどまった。一方、LQT1型は、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かったが、早期から治療を要する重症な不整脈を呈したものはなかった。

機能的AVB(特に2:1AVB)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)の程度が強いために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AVB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AVB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なくてもAVBを伴うことがあり、LQT1ではQT延長が強くてもAVB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。機能的AVBを伴うLQT症例のQT時間は明らかな短縮を示さないにも関わらず乳児期を過ぎる多くの症例でAVBが見られなくなることもこれを裏付けていた。

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 (Japan については平成 24 年度報告書から再集計・改変)

報告者	Japan	Aziz	Lupoglazoff
	2013	Heart Rhythm 2010	JACC 2004
n	20	12	15
QTc(B)ms	573±64	616±99	558±62
遺伝子型	LQT1,2,3,8,ND	LQT2, 3, ND	LQT2, ND
B-blocker使用	15/20	12/12	114/15
Mexiletine使用	14/20	3/12	0/15
ペースメーカ	5/20	11/12(ICD3)	13/15
	5/20	0/12(0%)	3/15(20%)
死亡数 (%)	LQT8		LQT2 1
	gene(-)4		gene(-) 2

ND: not determined

その結果、我が国ではペースメーカ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、AVB 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 β 遮断剤、Na 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、特に 2:1AVB を伴う症例では、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 (ICD) 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

1 . 論文発表

1. Yoshinaga M, Ushinohama H, Sato S, Tauchi N, Horigome H, Takahashi H, Sumitomo N, Kucho Y, Shiraishi H, Nomura Y, Shimizu W, Nagashima M. Electrocardiographic Screening of 1-Month-Old Infants for Identifying Prolonged QT Intervals. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2013, 6 (5): 932-8
2. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dochi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, Makiyama T, Sumitomo N, Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, Aonuma K, Horigome H, Honda T, Yoshinaga M, Ito M, Horie M: Genetic background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan. *Circ J*. 2013, 77(7): 1705-13
3. Cuneo BF, Etheridge SP, Horigome H, Sallee D, Moon-Grady A, Weng HY, Ackerman MJ, Benson DW: Arrhythmia Phenotype During Fetal Life Suggests Long-QT Syndrome Genotype: Risk Stratification of Perinatal Long-QT Syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2013, 6(5): 946-51
4. Yoshinaga M, Ushinohama H, Sato S, Tauchi N, Horigome H, Takahashi H, Sumitomo N, Kucho Y, Shiraishi H, Nomura Y, Shimizu W, Nagashima M: Electrocardiographic Screening of 1-Month-Old Infants for Identifying Prolonged QT Intervals. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2013, 6(5): 932-8
5. Cuneo BF, Strasburger JF, Yu S, Horigome H, Hosono T, Kandori A, Wakai RT: In Utero Diagnosis of Long QT Syndrome by Magnetocardiography. *Circulation*. 2013, 128(20): 2183-91
6. 堀米 仁志, 石川 康宏, 加藤 愛章, 中村 昭宏, 岩本 眞理, 住友 直方, 吉永 正夫: 独立成分文政期を用いた先天性 QT 延長症候群の T 波

の解析 主成分分析との診断精度の比較 .日本心臓病学会誌. 2013, 8(1): 14-25

7. 堀米仁志：高橋 一浩: 先天性 QT 延長症候群 3 型. 小児内科.45(6). 1107-1110. 2013
8. 堀米仁志： . 不整脈 QT 延長症候群, QT 短縮症候群. 小児科診療. 76(11). 1779-1787. 2013

2 . 学会発表

1. Horigome H, Kato Y, Yoshinaga M, Sumitomo N, Ushinohama H, Iwamoto M, Takahashi K, Shiono J, Tauchi N, Izumida N, Nagashima M: A nationwide questionnaire survey on clinical characteristics and genetic background of congenital long-QT syndrome diagnosed in fetal and neonatal life. Heart Rhythm Society 2013. Denver, USA. 2013.5.10.
2. Sumitomo N, Shimizu W, Aragaki Y, Horigome H, Aonuma K, Sakurada H, Watanabe H,

Nishizaki M, Kamakura S, Hiraoka M: Advancement of treatment in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular tachycardia -multicenter Study in Japan-. Heart Rhythm Society 2013. Denver, USA. 2013.5.10.

3. 加藤愛章、高橋実穂、林立申、中村昭宏、石川伸行、今川和生、野崎良寛、関口幸夫、青沼和隆、堀米仁志: カテコラミン誘発多形性心室頻拍に対する非薬物治療、第 49 回日本小児循環器学会総会・学術集会、東京 2013.7.11.

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新津頻拍の遺伝学的特徴・予後に関する検討

研究分担者 住友直方 日本大学医学部 小児科学系 准教授

研究要旨

本邦におけるカテコラミン誘発多形性心室頻拍(CPVT)の遺伝学的特徴・予後・治療の進歩を知るために本研究を行った。対象症例は79例(平均年齢 11.2 ± 8.2 歳、男27例；34%、女52例；66%)である。遺伝子検索は全体の35例(44%)に行われており、30例(86%)に遺伝子異常を認め、リアノジン受容体(RyR2)28例(93%)、カルセクエストリン(CASQ2)2例(7%)であった。家族歴は4家系(6%)に認めた。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。2000年代の発症例は1900年代の発症例に比較して有意に予後がよかった($p=0.022$)。この予後の改善にはフレカイニドの投与が関与していることが考えられた。

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(CPVT)の遺伝学的特徴・予後・治療の進歩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。

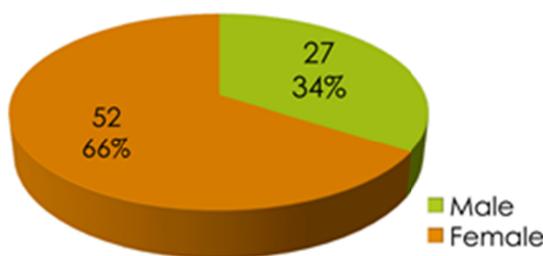
(倫理面への配慮)

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79例(平均年齢 11.2 ± 8.2 歳、男27例；34%、女52例；66%)である。(図1)

図1 対象の性別

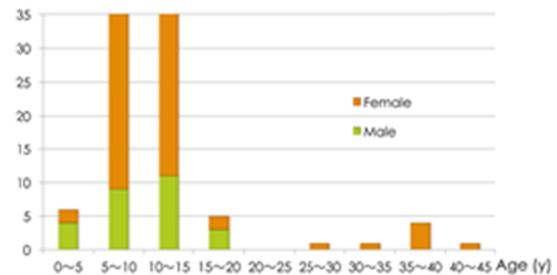


1. 患者背景と遺伝子異常、家族歴

対象の年齢分布を図2に示す。ほとんどは5歳～15歳(72例；91%)であったが、25歳以上の成人例も7例(9%)存在した。

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。

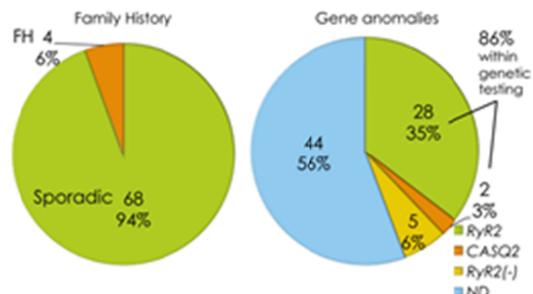
図2 年齢分布



遺伝子検索は全体の35例(44%)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30例(86%)存在した。この30例の中で、発見された遺伝子異常はリアノジン受容体(RyR2)28例(93%)、カルセクエストリン(CASQ2)2例(7%)であった。

家族歴は4家系(6%)に認め、多くの例が弧発発症例であった。

図3 家族歴と遺伝子異常の割合



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

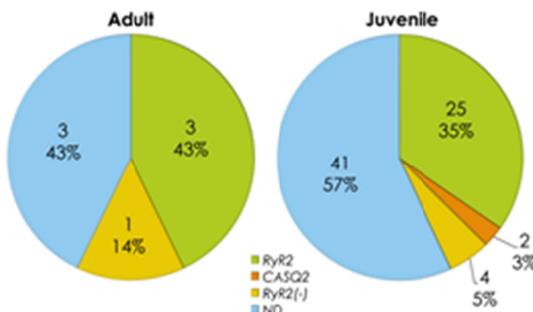
2. 若年型と成人型の比較

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。

遺伝子診断の結果は、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、CASQ2遺伝子異常を認めなかった。遺伝子異常を認めなかった症例は1例(25%)であった。

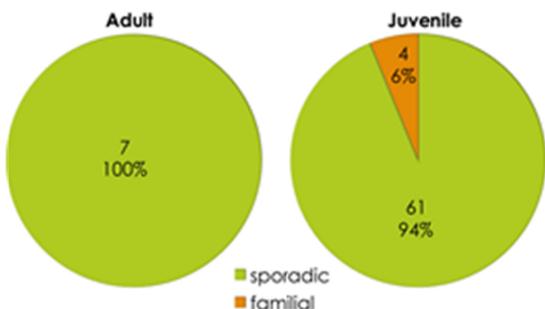
若年型では、遺伝子検索を行った31例中25例(80%)にRyR2遺伝子異常を、2例(6.7%)にCASQ2遺伝子異常を認め、遺伝子異常を認めなかった例は4例(5%)であり、若年型では、遺伝子異常を認める割合が多いことが分かった。(図4)

図4 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
成人型と若年型での家族内発症の有無の比較では、成人型では家族内発症を認めなかったが、若年型では4家系(6%)に家族内発症を認めた。(図5)

図5 成人型と若年型の家族歴



sporadic: 孤発例、familial: 家族内発症(遺伝性)

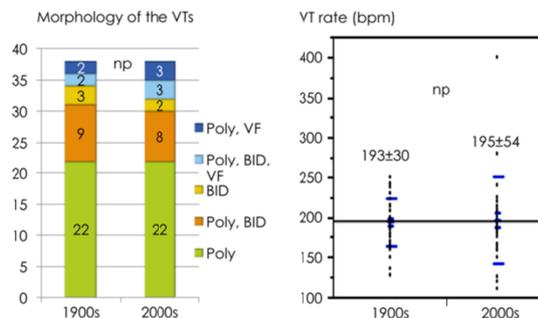
3. 2000年以前と以後の症例の予後の比較

2000年以前の発症例(38例)と、以後の発症例(41例)で、予後を比較検討した。

まず、対象のVTに差がないかどうかを検討するために、2群のVT波形を比較検討したが、2群間の波形に差は認めなかった。

(図6左)また、2群間のVT心拍数を比較したが、1900年代では193±30bpm、2000年代では195±54bpmであり、有意差は認めなかった。(図6右)

図6 2000年前後でのVTの波形とVT心拍数の比較



左:1900年代と2000年代でのVT波形の比較

右:1900年代と2000年代のVT心拍数の比較

Poly:多形性VT; BID:2方向性VT; VF:心室細動

2群の予後を比較したところ、2000年代には死亡例がなく、2000年代の発症例は1900年代の発症例に比較して有意に予後がよかった(p=0.022)。(図7)

何が予後の改善に影響を与える因子であるかを検討した。

遮断薬(図8左)、Kチャンネル遮断薬(図8右)、Caチャンネル遮断薬(図9左)、Naチャンネル遮断薬(図9右)の使用率には有意差は認めなかった。

図7 1900年代と2000年代発症例の予後の比較

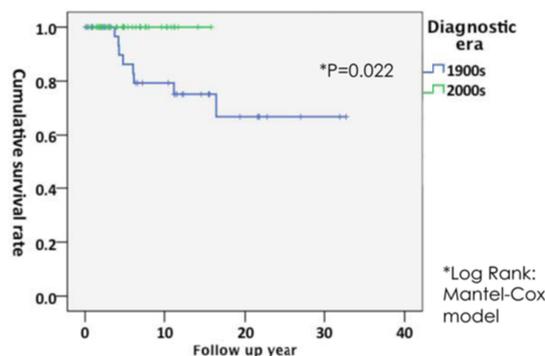
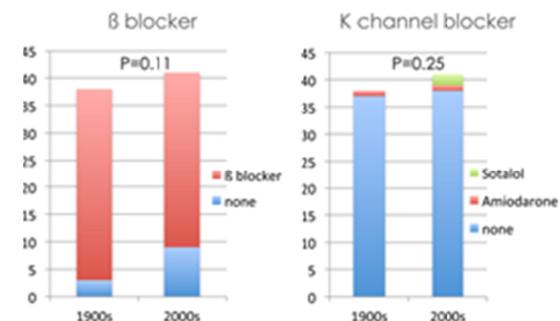


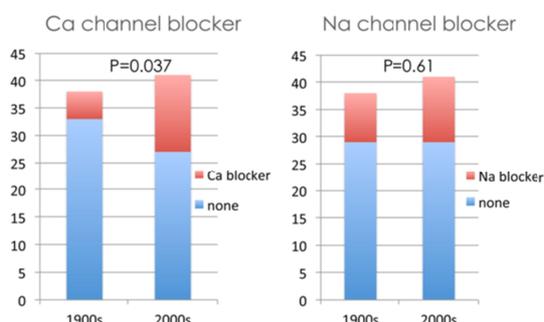
図8 1900年代と2000年代発症例における遮断薬とKチャンネル遮断薬の投与率の比較



左: 遮断薬投与率の比較

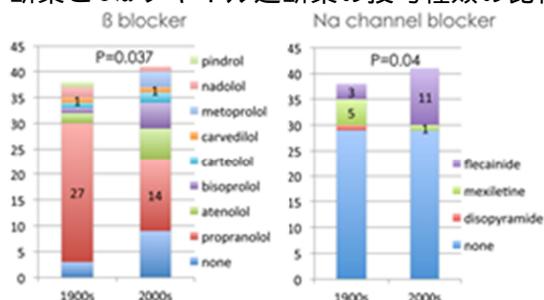
右: Kチャンネル遮断薬投与率の比較

図9 1900年代と2000年代発症例におけるCaチャンネル遮断薬とNaチャンネル遮断薬の投与率の比較



左：Ca チャネル遮断薬投与率の比較
右：Na チャネル遮断薬投与率の比較

図 10 1900年代と2000年代発症例における遮断薬とNaチャネル遮断薬の投与種類の比較

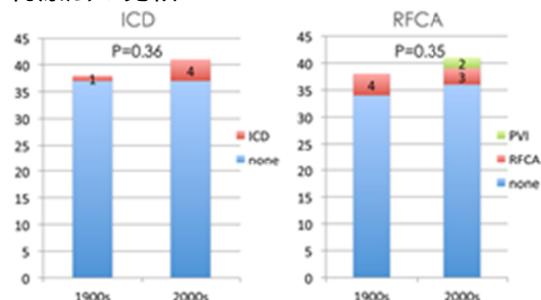


左：遮断薬の投与種類の比較
右：Kチャネル遮断薬投与種類の比較

遮断薬とNaチャネル遮断薬の投与薬剤の種類を比較したところ、遮断薬には2群間で有意差がなかったが(図10左)、Naチャネル遮断薬では2000年代発症例でフレカイニドが有意に多く使用されていた($p=0.04$)。(図10右)

非薬物療法の比較では、植込み型除細動の植込み率(図11左)、高周波カテーテルアブレーションの施行率(図11右)には両群で有意差は認めなかった。

図 11 1900年代と2000年代発症例における非薬物療法の比較



左：植込み型除細動植込み率の比較
右：高周波カテーテルアブレーション施行率の比較

ICD：植込み型除細動、RFCA：経皮的カテーテルアブレーション、PVI：肺静脈隔離術

D. 考察

1) 性差について

CPVTの性差について欧米では、男女差はないと報告されているが、本邦では女性が多い傾向が見られた¹。一方、成人型は欧米の報告で女性に多いとされているが、本邦症例も女性のみであり、欧米の報告と一致する。

若年型、成人型で女性が多い理由は定かではないが、男性発症例が重症であり、死産もしくは乳幼児期に死亡している可能性も考えられる。

2) 遺伝子診断について

CPVTの遺伝子診断は非常に有用である。本研究でも、遺伝子診断を行った症例での遺伝子異常の検出率は86%と非常に高い。現在まだ研究室レベルでの検査であるが、適切な治療、管理、突然死の予防を行う上でも、CPVTの遺伝子診断を行うための、保険医療体制の充実が必要と考えられる。

成人型で遺伝子検査を行った症例のうち、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。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ものと考えられた。

本邦で家族発症例が少ない理由として、少子化が影響している可能性がある。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。

3) 予後に関して

近年、CPVTの予後が改善していることが本研究で明らかになった。種々の因子が関与していることが考えられるが、本症の認知される以前は、CPVT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。

治療との関連で検討した結果、フレカイニドの投与が予後の改善に大きく影響していることがはっきりした。

フレカイニドはCPVTに対して有効性が報告されている⁶⁻⁸。フレカイニドは遺伝子異常の陽性^{6,7}、陰性⁸のどちらに対しても有効とされているが、長期

予後に関する効果は検討されていない。

今後これらの症例の長期予後、さらなる有効薬剤の検討を行う予定である。

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。CPVTの予後は近年改善しており、フレカイニドの投与が大きく影響していることが考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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*. 10: 542-7, 2013
2. JCS Joint Working Group (Ogawa S, Aizawa Y, Aonuma K, Hirai M, Iesaka Y, Inoue H, Ishikawa T, Kamakura S, Kato T, Kobayashi Y, Kosakai Y, Kumagai K, Kurita T, Nakazato Y, Okumura K, Shoda M, Sugi K, Sumitomo N, Takatsuki S, Takayanagi K, Watanabe I, Chinushi M, Fujiki A, Iwasa A, Kobayashi Y, Kuga K, Nagase S, Ohnishi S, Satomi K, Tanno K, Yasuda M): Guidelines for Clinical Cardiac Electrophysiologic Studies (JCS 2011) – Digest Version –, *Circ J* 2013; 77: 497 – 518
3. Yoshinaga M, Ushinohama H, Sato S, Tauchi N, Horigome H, Takahashi H, Sumitomo N, Kucho Y, Shiraishi H, Nomura N, Shimizu W, Nagashima M: Electrocardiographic screening of 1-month-old infants for identifying prolonged QT intervals, *Circ Arrhythm Electrophysiol* 6:932-8, 2013
4. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dochi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, Makiyama T, Sumitomo N, Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, Aonuma K, Horigome H, Honda T, Yoshinaga M, Ito M, Horie M: Genetic Background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan. *Circ J* 77: 1705-13, 2013
5. 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* 10(4):542-7, 2013
6. 堀米仁志、石川康宏、加藤愛章、中村昭宏、岩本眞理、住友直方、吉永正夫：独立成分分析を用いた先天性QT延長症候群のT波の解析—主成分分析との診断精度の比較—。 *J Cardiol Japanese Edition*. 8:14-25, 2013
 7. 吉永正夫、泉田直己、岩本眞理、牛ノ濱大也、住友直方、田内宣生、高橋良明、富田 英、長嶋正實、堀米仁志、山内邦昭、阿部勝己、新垣義夫、上野倫彦、太田邦雄、佐藤誠一、高木純一、立野 滋、檜垣高史：器質的心疾患を認めない不整脈の学校生活管理指導ガイドライン（2013年改訂）、*日本小児循環器学会雑誌* 29: 277-290, 2013
 8. 住友直方：小児科医の挑戦「小児不整脈の夜明けから現在まで」、(分担)『*日本心電学会30年の軌跡*』(編集 日本心電学会30周年記念誌編集委員会): p. 310-317, 2013

2. 学会発表

1. Aiba T, Makimoto H, Yamagata K, Toyoda F, Matsuura H, Horie M, Ogawa S, Aizawa Y, Ohe T, Kusano K, Yamagishi M, Makita N, Tanaka T, Makiyama T, Yoshinaga M, Hagiwara M, Sumitomo N, Kamakura S, Miyamoto Y, Shimizu W: Symposium 3, Genetic Background of Inherited Arrhythmias in Asia, Clinical and Genetic Features of Japanese Patient with Congenital Long QT Syndrome, The 77th Japanese Circulation Society, Yokohama, 2013.3.15
2. Ushinohama H, Sumitomo N: Patients with heterotaxy syndrome have miscellaneous arrhythmia substrates congenitally, In Key Piubts Concerning Pediatric Arrhythmia: Treating Patients Now and in the Future, Symposium 10, 28th Annual Meeting of Japanese Heart Rhythm Society, Tokyo, 2013.7.
3. Harrell DT, ITominaga I, Abe K, Watabe T, Oginosawa Y, Okishige K, Abe H, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Makita N: Clinical and Genetic Characteristics of Short QT Syndrome in Japan, The 77th Japanese Circulation Society, Yokohama, 2013.3.16
4. Horigome H, Kato Y, Shiono J, Yoshinaga M, Sumitomo N, Ushinohama H, Iwamoto M,

- Takahashi K, Tauchi N, Izumida N, Nagashima M: A Nationwide Survey on Clinical Characteristics and Genetic Background of Congenital Long-QT Syndrome Diagnosed in Fetal and Neonatal Life, 31st Annual meeting Heart Rhythm 2013, Denver, 2013.5.9
5. Harrell DT, Tominaga I, Abe K, T Watabe T, Oginosawa Y, Abe H, Sumitomo N, Uno K, Takano M, Makita N: Clinical Manifestations and Electrophysiological Characteristics of K Channel Mutations Responsible for Short QT Syndrome, 31st Annual meeting Heart Rhythm 2013, Denver, 2013.5.9
 6. Sumitomo N, Shimizu W, Aragaki Y, Hrigome H, Aonuma K, Sakurada H, Watanabe H, Nishizaki M, Kamakura S, Hiraoka M: Advancement of Treatment in Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia - Multicenter Study in Japan, 31st Annual meeting Heart Rhythm 2013, Denver, 2013.5.9
 7. Komori A, Sumitomo N, Cho A, Okuma H, Abe Y, Nakamura T, Fukuhara J, Ichikawa R, Matsumura M, Kamiyama H, Ayusawa M, Takahashi S: Genetic background and management of long QT syndrome, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Hongkong, 2013, 10.3
 8. Yoshinaga M, Sato S, Ushinohama H, Sumitomo N, Iwamoto M, Tauchi N, Nagashima M: Risk factors predicting the future presence of long QT syndrome-related symptoms in pediatric patients diagnosed by screening programs in Japan, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Hongkong, 2013, 10.3
 9. Sasaki K, Makiyama T, Yoshida Y, Hideki Itoh, Kawamura M, Sumitomo N, Miura, M Harita T, Nishiuchi S, Hayano M, Yamamoto Y, Wuriyanghai Y, Chen J, Kamakura, T Hattori T, Ohno S, Horie M: Modeling Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia Using Human Induced Pluripotent Stem Cells: A Promising Tool for Drug Discovery, American Heart Association Scientific Session 2013, Dallas, USA, 2013.11.18
 10. Ayusawa M, Sumitomo N: Risk Index of Sudden Death by Long QT Syndrome and Wolff-Parkinson-White Syndrome in School, ReSuscitation Science Symposium 2013, Dallas, USA, 2013.11.17
 - 二宮由美子、九町木綿、田中裕治、吉永正夫、岩本眞理、牛ノ濱大也、住友直方、堀米仁志、長嶋正實：学校心臓検診で抽出されたQT延長症候群の遺伝学的特徴の検討、シンポジウムI Chanelopathyの管理-そのエビデンス、第49回日本小児循環器学会、東京、2013.7.12
 11. 牛ノ濱大也、石川友一、中村 真、佐川浩一、石川央朗、住友直方：Catecholaminergic-induced VT (CPVT)に対する新しい薬物治療、第 49 回日本小児循環器学会、東京、2013.7.12
 12. 小森暁子、住友直方、加藤雅崇、趙麻未、渡辺拓史、大熊洋美、阿部百合子、市川理恵、福原淳示、松村昌治、神山浩、鮎沢衛、高橋昌里：当院管理中の QT 延長症候群の特徴、第 30 回日本心電学会、青森、2013.10.12
 13. 堀米仁志、林 立申、加藤愛章、岩本眞理、後藤浩子、高橋一浩、小澤綾佳、江畑亮太、生駒雅信、松永 保、稲井 慶、鈴木 博、鈴木浩、高木純一、吉永正夫、住友直方、長嶋正實：胎児期から乳児期に機能的房室ブロックを伴って発症した先天性 QT 延長症候群の治療と予後-追加調査結果を含めて-、第 18 回日本小児心電学会、宮崎、2013.11.29
- 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

QT延長症候群のエクソームシーケンス解析

研究分担者 田中 敏博 東京医科歯科大学 疾患バイオリソースセンター 教授

研究要旨

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い、アミノ酸変化を伴う遺伝子変化を8,130箇所同定した。家系例を用いたパスウェイ解析において、有望な原因遺伝子候補群を同定した。

A. 研究目的

QT延長症候群は致死性不整脈疾患のひとつであり、心電図上QT時間の延長をきたすことを特徴とする。これまでの遺伝子解析研究の成果により、約6割の患者に遺伝子変異を認める。しかしながら、残りの患者については原因遺伝子が判明しない。新たな原因遺伝子同定のために、最新のゲノム解析手法であるエクソーム解析を行った。

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延長症候群の患者のうち、原因遺伝子が発見されていない191症例のゲノムDNAを用いて、ゲノム上の遺伝子のエクソン部分をすべてシーケンスした。非患者のデータベースを用いて、候補遺伝子の絞り込みを行った。また、複数のDNAが得られている家系を用いてsegregationの有無から判断する絞り込みも行った。さらにパスウェイ解析を行い、得られた結果の妥当性を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は研究実施機関である国立循環器病研究センター、理化学研究所、および東京医科歯科大学においてそれぞれ倫理審査委員会での承認を受けた後に当該機関での研究を開始した。

C. 研究結果

1 サンプルにつき、平均で17,242箇所のSNV(single nucleotide variation)を認めた。そのうち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を認めた。複数のDNAサンプルが得られている家系を用いて、候補遺伝子群の絞り込みを行い、加えてパスウェイ解析により9

種類の新規原因遺伝子の候補を同定した。

D. 考察

遺伝学的に独立したサンプルのみを用いた解析では、候補となる遺伝子が非常に多く、絞り込みが困難であったが、家系を用いた解析により、ある程度の絞り込みに成功したと考えられる。

E. 結論

QT延長症候群の患者のゲノムDNAを用いて、エクソーム解析およびパスウェイ解析を行い、9種類の新規原因遺伝子候補を同定した。

G. 研究発表

- 論文発表
 - Tanaka T, et al. Novel Genetic Markers Associate with Atrial Fibrillation Risk in Europeans and Japanese. Journal of the American College of Cardiology, in press
 - Tanaka T, et al. Genome wide analysis of drug-induced Torsades de Pointes: lack of common variants with large effect sizes. PLoS One 13:08180R2, 2013
 - Tanaka T, et al. Meta-analysis identifies six new susceptibility loci for atrial fibrillation. Nature Genetics 44:670-675, 2012

- 学会発表
特記なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

- 特許取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他
なし

遺伝性不整脈の変異と臨床リスクの関連についての検討

研究分担者 森田 宏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 先端循環器治療講座 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として、突然死の家族歴に注目し、遺伝子解析や心室細動発症リスクの評価を行った。突然死家族年齢のカットオフ値を求め、突然死家族歴の予後に及ぼす影響を検討した。

A. 研究目的

多くの遺伝性不整脈は常染色体優性遺伝であり、1/2の確率で遺伝する可能性がある。実際に家系内の異常は発端者の診断後、心電図の記録や遺伝子解析をすることで保因者かどうか判明する機会が多い。同一家系内で同様の疾患や突然死がある場合、同じ遺伝子異常を有していると考えられ、致死的な発作を来すリスクが一般に高いと考えられる。このため、日常臨床の場においても、突然死の家族歴など病歴の聴取は重要である。しかしながら実際に発症するかどうかは加齢や自律神経変動、ストレスなど後天的な要因も多く、突然死の家族歴が明らかなリスクを示さないとするデータも多い。先天性QT延長症候群では小児期から思春期にかけて発症する機会が多く、若年での発症は遺伝的要因が重要と考えられるが、Brugada症候群では心室細動発症は青年期以降、特に中高年で多く、後天的な要因も発症に関与している可能性がある。実際、Brugada症候群では突然死の家族歴の有無はその発端者の予後予測因子とならないとする報告もみられる。この研究ではBrugada症候群患者における突然死の家族歴の意義、リスク評価の可能性、遺伝子や心電図異常との関連性を検討した。

B. 研究方法

当院の遺伝性不整脈疾患を有する患者489名(QT延長症候群、Brugada症候群、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍など)の登録データよりBrugada症候群患者362例の突然死家族歴の有無で各種指標を検討：症状・心室細動の有無、心電図指標(自然タイプ1ST上昇、分裂性QRS波形、J波)、加算平均心電図、電気生理学検査及び遺伝子解析(心筋Naチャンネル遺伝子SCN5A)。また突然死家族の年齢のROC解析よりカットオフ値を求め、発端者の致死的不整脈の発生予測が出来るかどうかを検討した。

(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っている。遺伝子検索は当院倫理委員会承認を得て、十分な説明を行い同意書を得て行っている。

C. 研究結果

Brugada症候群患者362例の内、初診時の症状は無症候例246例、失神例97例、心室細動19例で、経過中に心室細動を発症・再発したものはそれぞれ7例(3%)、17例(18%)、12例(63%)であった。突然死の家族歴は126例(35%)で、無症候例の27%、失神例の17%、心室細動例の21%にみられ、突然死家族の年齢は0.1~94歳(平均44歳)であった。各種臨床指標では突然死家族歴を有する例でSCN5A変異陽性例が多い傾向が見られた($p=0.088$)が、その他の指標は有意差を認めなかった。突然死の家族歴有無は全体では予後予測因子とはならず、症状別にみると失神例で突然死の家族歴を有する場合、予後不良の傾向が見られた($p=0.055$)。突然死家族の年齢で発端者の心室細動有無をROC曲線で検討すると、突然死年齢が48歳未満とすると心室細動有無予測の感度・特異度が良好であった。家族歴の突然死年齢を48歳未満に絞ると、家族歴を有するものは62例(17%)となった。突然死家族歴(<48歳)の有無で各臨床指標を検討すると、家族歴を有するものでは有意にSCN5A変異率が高率(31%、 $p<0.01$)、心電図指標で早期再分極を有する機会が多く(32%、 $p<0.05$)、心室細動や加算平均心電図での陽性率も高い傾向にあった。全症例では突然死家族歴(<48歳)を有する方が経過中の心室細動発生が多い傾向が見られ($p=0.0057$)、特に失神例では突然死家族歴(<48歳)を有するものは有意に予後不良であった($p<0.01$ 、発症率7%/年、ハザード比4.11)。

D. 考察

Brugada症候群では濃厚な突然死の家族歴を有する症例があるものの、家族歴そのものは予後予測因

子とならないとする報告が多い。これまでの報告では、家族歴の有無を1)年齢に限らず全て含むもの、2)若年でカットオフ値を設定するもの(45歳未満、40歳未満、35歳以下など)であった。今回の検討では家族歴で全年齢を含む場合、家族歴有無は予後予測因子とならなかった。また過去の報告である年齢のカットオフ値を用いてみると、同様の条件では家族歴は予後予測因子とならなかった。カットオフ値を48歳にすることで特に失神例で家族歴は強い予後予測因子となった。これは高齢では心筋梗塞や脳卒中など他の原因による突然死が多い割合となるが50歳前後では、Brugada症候群による突然死と他の原因の突然死が入り乱れている可能性があり、年齢を48歳で区切ること、最も効果的に家系内のBrugada症候群による突然死を拾い出せたものと思われる。またこの年齢でのカットオフ値を用いることで、心電図異常のパラメーターや遺伝子変異との関連性もみられ、致死的な不整脈発生前に遺伝的要素が大きく関与していると考えられた。

E . 結論

48歳未満突然死家族歴を有するものは、心電図異常や心筋 Na チャネル遺伝子変異を有する場合が多く、経過中の心室細動発生について予後予測因子となることが示唆された。

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. Tokioka K, Kusano KF, Morita H, Miura D, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Ito H, Ohe T. Depolarization and Repolarization Abnormalities are Synergistically Associated with Fatal Arrhythmic Events in Patients with Brugada Syndrome. *J Am Coll Cardiol*, 2014, in press.
2. Nakagawa K, Nagase S, Morita H, Ito H. Left ventricular epicardial electrogram recordings in idiopathic ventricular fibrillation with inferior and lateral early repolarization. *Heart Rhythm*. 2014;11:314-7.
3. Kawata H, Morita H, Yamada Y, Noda T, Satomi K, Aiba T, Isobe M, Nagase S, Nakamura K, Fukushima Kusano K, Ito H, Kamakura S, Shimizu W. Prognostic significance of early repolarization in inferolateral leads in Brugada patients with documented ventricular fibrillation: a novel risk factor for Brugada syndrome with ventricular fibrillation. *Heart Rhythm*. 2013;10:1161-1168.
4. Wada T, Morita H. Clinical outcome and risk stratification in Brugada syndrome. *J Arrhythmia*. 2013;29:100-109.
5. Morita H. Ion channel complex disease in longQT

syndrome. *Heart Rhythm*. 2013;10:738-739

2. 学会発表

1. Morita H. Back to the History-Importance of Family History of Sudden Death in Brugada Syndrome- 第28回日本不整脈学会学術大会、東京2013.
2. Morita H, Wada T, Miyaji K, Nakagawa K, Tanaka M, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kusano K, Ito H. Fever not Only Unmasks Brugada-type ECG but also Exaggerates Depolarization Abnormality. *Heart Rhythm* 34th Annual Scientific Session. Denver, 2013.
3. Morita H, Zipes PD, Morita ST, Wu J. Isolation of canine coronary sinus musculature from the atria prevents atrial fibrillation. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
4. Nagase N, Tanaka M, Nakagawa K, Wada T, Kubo M, Nishii N, Nakamura K, Morita H, Kohno K, Kusano K, Ito H. Difference of left ventricular epicardial electrogram with and without a history of ventricular fibrillation in patients with infero-lateral early repolarization. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
5. Nakagawa K, Nagase N, Morita H, Tanaka M, Wada T, Nishii N, Watanabe A, Nakamura K, Kohno K, Kusano K, Itoh H, Ohe T. Amelioration of relative conduction delay in right ventricle improves electrocardiogram from type-1 to type-2 in patients with Brugada syndrome. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
6. Wada T, Morita H, Nakagawa K, Tanaka M, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Kusano K, Ito H. Late Potential after Sodium-Channel Blocker Test is a New Predictor for Lethal Arrhythmic Event in Brugada Syndrome. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
7. Tokioka K, Kusano K, Morita H, Miyoshi T, Nishii N, Hashimoto K, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Itoh H. Depolarization and Repolarization Abnormalities are Independently Associated with Ventricular Fibrillation Episodes in Brugada Syndrome. The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.
8. Morita H, Miyaji K, Take Y, Nakagawa K, Tanaka M, Nishii N, Nagase S, Kusano K, Ito H. Fever

Not Only Unmasks Brugada-Type ECG but Also Exaggerates Depolarization Parameters The 77th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. Yokohama, 2013.

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

QT 延長症候群 1 型スプライシング異常症例におけるヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞を用いた解析

研究分担者 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ている。今回、我々は、QT延長症候群1型スプライシング異常症例 (KCNQ1-A344A) において、疾患特異的iPS細胞を用いた疾患表現型の再現、スプライシング異常のメカニズムに関して解析した。多電極アレイを用いた電気生理学的解析では、カテコラミン負荷による反応が分化心筋にて再現できた。また、スプライシング異常に関しては、末梢血リンパ球の解析では認められなかった新たな異常なスプライシングパターンを検出した。このような疾患特異的iPS細胞を用いた解析方法は、今まで困難であったヒト心筋での解析が可能となり、新たな知見が得られる有用な方法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、特に分化心筋を用いることにより、ヒト心筋での解析が可能となる有力な tool である。今回、我々は、QT 延長症候群 1 型スプライシング異常症例において、表現型の再現、スプライシングメカニズムの検討を行った。

B. 研究方法

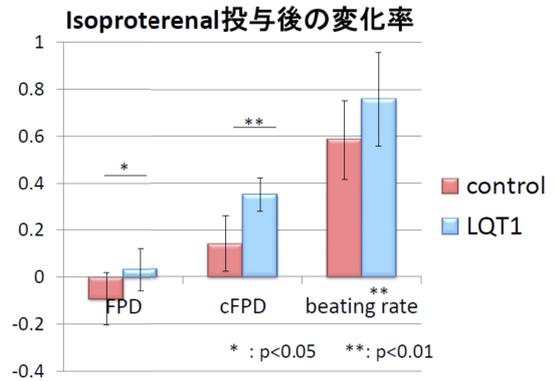
心肺蘇生歴のある QT 延長症候群 1 型、KCNQ1-A344A ヘテロ異常の検出されている患者の末梢血リンパ球に山中 4 因子 (OCT3/4, SOX2, KLF4, c-MYC 遺伝子) を electroporation 法にて導入し、iPS 細胞を作製した。胚様体形成法 (Yang et al. Nature 2008) を用いて心筋分化し、電気生理学的解析として、多電極アレイ (multielectrode array) を用いた。また、スプライシングパターンをみるため、分化心筋より RNA 抽出、cDNA を作製し、TA クローニング法を用い、cDNA のクローニング、シーケンシングによる塩基配列の解析を行った。

C. 研究結果

<多電極アレイを用いた電気生理学的解析>

心筋分化開始後、6週±2週のヒトiPS細胞由来分化心筋を用いて多電極アレイを用いた電気生理学的解析を行った。図1のように、isoproterenol 1μM負荷にて、健常人iPS細胞由来分化心筋に比べ、QT間隔に相当するcFPD値の有意な増加を認め、LQT1の表現型が再現されていることが確認できた。

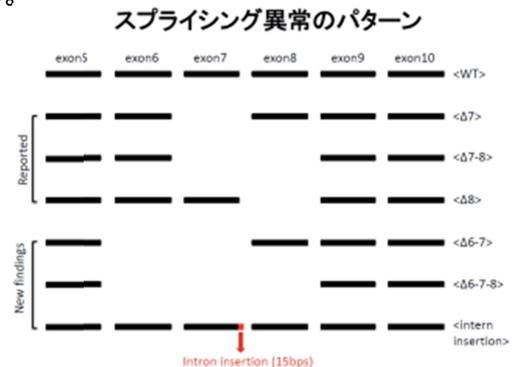
図1



<スプライシングパターンの解析>

KCNQ1-A344Aはexon 7の最後の塩基がGからAに変化する異常であり、以前、我々は、患者末梢血リンパ球を用いた解析で、3つのtypeのexon skipping (exon7, 7-8, 8 skipping)が生じていることを報告した。(Tsuji et al. JMCC 2007) 患者iPS細胞由来分化心筋を用いた解析では、図2のように新たに3つの異常なスプライシングパターン (exon 6-7, 6-7-8 skipping, intron insertion) が検出された。現在、各 splicing産物の定量、I_{Ks}電流減少への影響を検討している。

図2



D . 考察

本研究において、ヒト iPS 細胞由来分化心筋を用いた LQT1 の表現型の再現、疾患発症メカニズムの解析を行った。多電極アレイを用いた解析にて表現型が再現されるのを確認し、発症メカニズムの解明として、既存の血液検体の解析では検出できなかった新たな異常スプライシングパターンを分化心筋を用いて検出できた。以上の知見は新たな解析 tool であるヒト iPS 細胞の有用性を示すものであり、今後さらなる応用が期待される。

E . 結論

ヒト iPS 細胞由来分化心筋を用いた LQT1 症例の解析にて既存の末梢血を用いた解析では検出できなかった新たなスプライシング異常に関する知見が明らかとなった。今後のヒト iPS 細胞のさらなる応用が期待される。(本研究は第 78 回日本循環器学会学術集會にて発表予定)

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. 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;77(5):1307-14.
 2. Kato K, Makiyama T, Wu J, Ding WG, Kimura H, Naiki N, Ohno S, Itoh H, Nakanishi T, Matsuura H, Horie M. Cardiac Channelopathies Associated with Infantile Fatal Ventricular Arrhythmias: From the Cradle to the Bench. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2013
 3. Hasegawa K, Ohno S, Ashihara T, Itoh H, Ding WG, Toyoda F, Makiyama T, Aoki H, Nakamura Y, Delisle BP, Matsuura H, Horie M. A novel KCNQ1 missense mutation identified in a patient with juvenile-onset atrial fibrillation causes constitutively open IKs channels. *Heart Rhythm*. 2013 S1547-5271(13)01136-3.
 4. Nakajima S, Makiyama T, Hanazawa K, Kaitani K, Amano M, Hayama Y, Onishi N, Tamaki Y, Miyake M, Tamura T, Kondo H, Motooka M, Izumi C, Nakagawa Y, Horie M. A novel SCN5A mutation demonstrating a variety of clinical phenotypes in familial sick sinus syndrome. *Intern Med*. 2013;52(16):1805-8.
 5. Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dochi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, Makiyama T, Sumitomo N, Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, Aonuma K, Horigome H, Honda T, Yoshinaga M, Ito M, Horie M. Genetic background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan. *Circ J*. 2013;77(7):1705-13.
 6. Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Kimura H, Makiyama T, Itoh H, Ito M, Horie M. L-type calcium channel mutations in Japanese patients with inherited arrhythmias. *Circ J*. 2013;77(7):1799-806.
 7. Ohno S, 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. *Circ J*. 2013;77(6):1534-42.
 8. Villafañe J, Atallah J, Gollob MH, Maury P, Wolpert C, Gebauer R, Watanabe H, Horie M, Anttonen O, Kannankeril P, Faulknier B, Bleiz J, Makiyama T, Shimizu W, Hamilton RM, Young ML. Long-term follow-up of a pediatric cohort with short QT syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61(11):1183-91.
 9. 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*. 2013;77(4):959-67.
 10. 牧山 武: イオンチャネル病のすべて. 各論. QT短縮症候群. (分担), 『医学のあゆみ』(堀江 稔編集): p. 773-780, 南江堂, 2013
 11. 牧山 武: 致死性不整脈診療の最前線. 致死性不整脈診療 各論. 家族性徐脈症候群. (分担), 『最新医学』: 68号7巻, 最新医学社, 2013
 12. 牧山 武: 疾患特異的iPS細胞を用いた遺伝性心疾患研究. 心電図 vol 33. Supple 3. 2013
- ### 2 . 学会発表
1. Sasaki K, Makiyama T et al.: Modeling Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia using Human Induced Pluripotent Stem Cells: A Promising Tool for Drug Discovery, American Heart Association Scientific Sessions 2013, Dalas, USA, 10.16-20, 2013
 2. Yimin W, Makiyama T et al.: Identification of Cardiomyocytes Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells using a Cardiac Specific Promoter Lentiviral Vector, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRs) Scientific

- Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
3. Chen Jiarong, Makiyama T et al.: Cardiac sodium channel mutation may induce epinephrine/exercise triggered QT prolongation, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
 4. Nishiuch H, Makiyama T et al.: Lamin A/C Related Cardiomyopathy due to the R377R Synonymous Mutation Causing the Splicing Abnormality, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
 5. Harita T, Makiyama T et al.: SCN5A mutations associated with familial atrial fibrillation without structural heart diseases, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
 6. Hayano M, Makiyama T et al.: SCN5A mutations associated with Dilated Cardiomyopathy, The 6th Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) Scientific Session, Hong Kong, China, 10.3-6, 2013.
 7. 牧山 武: iPS 細胞由来の不整脈疾患モデル心筋細胞. 学術委員会指定トピックス「iPS 細胞の臨床応用—現状と展望—」第 30 回日本心電学会学術集会(青森), 10.11-13, 2013
 8. Yimin W, Makiyama T et.: Modeling of long-QT syndrome type 1 caused by a splicing mutation using human iPS cells, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 9. Nishiuch H, Makiyama T et al.: The Relationship Between the Type of Mutations in Lamin A/C Gene and Cardiac Phenotype-Genetic Risk Factor for Dilated Cardiomyopathy-, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 10. Harita T, Makiyama T et al.: The Association Between the Hereditary Factor of Atrial Fibrillation and the Recurrent Atrial Arrhythmias after Catheter Ablation Therapy, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 11. Hayano M, Makiyama T et al.: Cardiac Na⁺ Channel Gene Mutations associated with Dilated Cardiomyopathy, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 12. Sasaki K, Makiyama T et al.: Modeling Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia using Human Induced Pluripotent Stem Cells: A Promising Tool for Drug Discovery, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
 13. Yamamoto Y, Makiyama T et al.: Electrophysiological characteristics of human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes in a Long-Term culture, 第 78 回日本循環器学会学術集会, 東京, 3.21-23, 2014
- 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

新たな不整脈の原因遺伝子としての SCN5A プロモーター領域の役割

研究分担者 渡部 裕 新潟大学医歯学総合研究科 循環器内科 助教

研究要旨

様々な不整脈に罹患した1,298例においてSCN5Aプロモーター領域の遺伝子検査を行なった。Brugada症候群、特発性心室細動、洞不全症候群、心臓伝導障害ないしは心房細動に罹患した症例においてSCN5Aプロモーターの変異を同定し、SCN5Aプロモーター領域の遺伝子変異は新たな不整脈の原因となることが示された。

A. 研究目的

心臓ナトリウムチャンネル遺伝子SCN5Aのプロモーター領域の変異による特発性心室細動や伝導障害といった様々な不整脈症候群発症への関与について明らかにすること。

B. 研究方法

様々な不整脈に罹患した 1,298 例においてSCN5A プロモーター領域の遺伝子検査を行い、変異の機能異常を検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析を行うにあたり書面による同意を得て採血を行った。検体は連結可能匿名化して遺伝子解析を行った。

C. 研究結果

Brugada症候群14例、特発性心室細動5例、洞不全症候群1例、心臓伝導障害3例、心房細動6例の合計29例でSCN5Aプロモーターの変異を同定した。ルシフェラーゼアッセイを用いた変異プロモーターの機能解析では、野生型と比較して変異プロモーターの活性が低下していた。ChIPSeq解析では大部分のプロモーター変異は、転写因子結合部位に存在していた。

D. 考察

SCN5A のエクソン領域の変異は、ナトリウム電流の低下から様々な不整脈を来しうる重要な遺伝的原因である。今回の検討にて、プロモーター領域の変異がナトリウムチャンネルの発現を低下させて、不整脈の発症に関与していることが示唆された。これにより、突然死の予知と予防に重要な知見が明らかとなった。また、エクソン以外の領域が疾患発症に関与していることを新たに示した。

E. 結論

SCN5A プロモーター領域の変異は様々な種類の不整脈の遺伝的原因であった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sato A, Watanabe H, Sonoda K, Chinushi M, Tsuda T, Izumi D, Furushima H, Minamino T. Augmentation of the j wave by rapid pacing in a patient with vasospastic angina. Int J Cardiol. 2014
2. Katsuumi G, Shimizu W, Watanabe H, Noda T, Nogami A, Ohkubo K, Makiyama T, Takehara N, Kawamura Y, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, Horie M, Aizawa Y, Makita N, Minamino T. Efficacy of bepridil to prevent ventricular fibrillation in severe form of early repolarization syndrome. Int J Cardiol. 2014
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. 2013;10:542-547
4. 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;165:e21-23

5. Watanabe H, Minamino T. Role of mutations in l-type calcium channel genes in brugada syndrome, early repolarization syndrome, and idiopathic ventricular fibrillation associated with right bundle branch block. *Circ J*. 2013;77:1689-1690
6. Watanabe H, Minamino T. Similarities and differences of clinical characteristics between brugada syndrome and early repolarization syndrome. *Journal of Arrhythmia*. 2013;29:134-137
7. 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, Shimizu W, Hamilton RM, Young ML. Long-term follow-up of a pediatric cohort with short qt syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61:1183-1191
8. 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;9:e1003364
9. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud JB, Simonet F, Verkerk AO, Schwartz PJ, Crotti L, Dagradi F, Guicheney P, Fressart

V, Leenhardt A, Antzelevitch C, Bartkowiak S, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Behr ER, Bastiaenen R, Tfelt-Hansen J, Olesen MS, Kaab S, Beckmann BM, Weeke P, Watanabe H, Endo N, Minamino T, Horie M, Ohno S, Hasegawa K, Makita N, Nogami A, Shimizu W, Aiba T, Froguel P, Balkau B, Lantieri O, Torchio M, Wiese C, Weber D, Wolswinkel R, Coronel R, Boukens BJ, Bezieau S, Charpentier E, Chatel S, Despres A, Gros F, Kyndt F, Lecoq S, Lindenbaum P, Portero V, Violleau J, Gessler M, Tan HL, Roden DM, Christoffels VM, Le Marec H, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R. Common variants at scn5a-sc10a and hey2 are associated with brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nature genetics*. 2013;45:1044-1049

2. 学会発表

1. Yagihara N, Watanabe H, Stéphanie Chatel, Phil Barnet, Wataru Shimizu, Minoru Horie, Jean-Jacques Schott, Connie R. Bezzina, Tooru Minamino, Naomasa Makita, MD. Mutations in the SCN5A Promoter associated with Brugada syndrome. ESC2013

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

先天性QT延長症候群診断基準改定版の有用性に関する検討

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 循環器内科学 助教

研究要旨

先天性QT延長症候群(LQTS)の臨床診断基準が2011年に改訂され、運動負荷後回復期QTcが新たな評価項目として追加された。本診断基準改定版について、特に遺伝子保因者を検出する有用性について検討を行った。

QT延長などを認め心精査目的に当院に紹介された症例のうち、運動負荷心電図検査、遺伝子解析を含む精査を行い得た84例(男性45例、平均発症年齢 16 ± 13 歳)を対象とした。84症例中22症例(26%)が安静時12誘導心電図でQTc480ミリ秒以上を示し、39症例(46%)が負荷後回復期4分においてQTc480ミリ秒以上を示した。遺伝子解析の結果、8種類のKCNQ1遺伝子変異を14症例に、10種類のKCNH2遺伝子変異を13症例に、1種類のSCN5A遺伝子変異を1症例に認めた。

従来の診断基準では33症例(39%)が低い可能性、35症例(42%)が疑い、16症例(19%)が確実と診断された。一方、改訂版では確実症例が有意に増加した(30症例、 $P<0.05$)。従来の診断基準で確実と診断された16症例中14症例に遺伝子変異を認め(88%)、改訂版で診断された30症例中24症例に遺伝子変異を認めた。(80%)。従来の診断基準による遺伝子変異推定の感度は50%(14/28)で特異度は96%(54/56)であった。一方、改訂版による遺伝子変異推定の感度は86%(24/28)で特異度は89%(50/56)であった。

LQTS診断基準改訂版は、遺伝子変異を認める潜在性のLQTS症例をLQTS確実と診断するのに有用であると考えられる。

A. 研究目的

先天性QT延長症候群(LQTS)はSchwartzらによって報告された診断基準に基づいて臨床的に診断される。本診断基準は2011年に改訂され、運動負荷後回復期のQTcが新たな評価項目として追加された。本診断基準改定版について、特に遺伝子保因者を検出する有用性について検討を行った。

B. 研究方法

QT延長あるいは/または異常な病歴、家族歴を認め、心精査目的に当院に紹介された症例のうち、運動負荷心電図検査、遺伝子解析を含む精査を行い得た84例(男性45例、平均発症年齢 16 ± 13 歳)を対象とした。LQTSリスクスコアを従来の診断基準と改訂版を用いて算出した。また、患者の末梢白血球よりゲノムDNAを抽出し、KCNQ1, KCNH2, KCNE1, KCNE2, KCNJ2, SCN5Aのexon領域についてPCR法を用いて増幅し、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。また、平均59カ月間臨床経過を追跡した。

(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

症例の臨床的特徴と心電図

84症例中13%にLQTSの家族歴を認め、9%に心事故(失神あるいは心停止)を認めた。安静時12誘導心電図で22症例(26%)がQTc480ミリ秒以上を示した。

遺伝子解析の結果、8種類のKCNQ1遺伝子変異を14症例に、10種類のKCNH2遺伝子変異を13症例に、1種類のSCN5A遺伝子変異を1症例に認めた。

運動負荷心電図では84症例中39症例が負荷後回復期4分においてQTc480ミリ秒以上を示した。運動後回復期にQTc480ミリ秒以上を示した症例の安静時QTcは、QTc480ミリ秒未満の症例と比較し有意に延長していた。遺伝子変異を認めた28症例中23症例(82%)が運動後回復期QTc480ミリ秒以上であった。

KCNQ1 遺伝子変異を認めた14症例のうち、13症例が運動後回復期QTc480ミリ秒以上であり、QTc480ミリ秒未満はわずか1症例であった。一方、KCNH2 遺伝子変異を認めた13症例のうち、9症例が運動後回復期QTc480ミリ秒以上であり、QTc480ミリ秒未満は4症例であった。なお、SCN5A 遺伝子変異を認めた1症例の運動後回復期QTcは480ミリ秒以上であった。

新旧の診断基準によるLQTS診断

従来の診断基準では33症例(39%)が低い可能性、35症例(42%)が疑い、16症例(19%)が確実と診断された。一方、改訂版では確実症例が有意に増加した(30症例、 $P<0.05$)。

LQTS 遺伝子変異保因者の頻度と両診断基準による遺伝子変異予測

従来の診断基準で確実と診断された16症例中14症例に遺伝子変異を認め(88%)、改訂版で診断された30症例中24症例に遺伝子変異を認めた(80%)。遺伝子変異の頻度について両群で有意差は認められなかった。また、遺伝子変異を認めた14症例が従来の診断基準で疑いあるいは低い可能性と診断されていた。

従来の診断基準による遺伝子変異推定の感度は50%(14/28)で特異度は96%(54/56)であった。一方、改訂版による遺伝子変異推定の感度は86%(24/28)で特異度は89%(50/56)であった。

症例の臨床経過と両診断基準で確実と診断された症例の予後

84症例中9症例は当院受診時に心事故の既往があり有症候性であった。無症候性75症例のうち、3症例で経過観察中に心事故が認められた。

従来の診断基準で確実と診断された16症例中10症例(63%)で心事故が認められ、一方、改訂版で確実と診断された30症例中12症例(40%)で心事故が認められ、両群で有意差は認められなかった。

D . 考察

従来の診断基準で確実と診断されたのは16症例だったのに対し、改訂版で確実と診断されたのは30症例と有意に増加した。一方、確実と診断された症例のうち遺伝子変異をそれぞれ88%、80%に認め、その頻度は同等であった。診断基準改訂版では、運動負荷後回復期4分のQTcが480ミリ秒以上の場合、1点に加算される。今回、遺伝子変異を認めた28症例中23症例(82%)が運動後回復期QTc480ミリ秒以上であり、1点に加算されていた。従来の診断基準で疑いと診断された遺伝子変異保因者が新しい診断

基準では確実と診断されたため、新旧の診断基準の間に遺伝子変異頻度の有意差が生じなかったのではないかと考えられる。なお、本検討ではSCN5A 遺伝子変異保因者が1例と少なく、今後症例を増やして検討を行う必要がある。

E . 結論

LQTS 診断基準改訂版は、遺伝子変異を認める潜在的なLQTS 症例をLQTS 確実と診断するのに有用であると考えられる。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1 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 Kawashiri MA, Hayashi K, Konno T, Fujino N, Ino H, Yamagishi M. Current perspectives in genetic cardiovascular disorders: from basic to clinical aspects. Heart Vessels. 2013 Aug 2. [Epub ahead of print]
- 3 林 研至, 津田豊暢, 川尻剛照, 山岸正和. 家族性心房細動. 最新医学 2013; 68 1626-1634

2. 学会発表

1. Hayashi K, Fujino N, Konno T, Tsuda T, Nagata Y, Saito T, Ohta K, Ino H, Kawashiri M, Yamagishi M: ラウンドテーブルディスカッション (6), 学校心臓検診は潜在的な心疾患の診断に有用か / Long QT Syndrome Mutation Carriers in Japanese School Children and Their Clinical Course. 第77回日本循環器学会学術集会 (横浜), 2013. 3. 15.

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 臨床検査部 部門長

研究要旨

心室細動(VF)を伴う早期再分極症候群とBrugada症候群を多施設で登録し、種々の検査を施行して、両症候群の病態と長期予後を前向きならびに後ろ向きに検討した。この2年間でVFを伴う早期再分極症候群を54例、VFを伴うBrugada症候群を77例、その他62例の計193例を登録できた。約2年半の経過観察ではVFを伴う場合は両症候群共、同等で不良な予後を呈した。早期再分極症候群の後ろ向き検討では、Brugada症候群に性質が類似して予後の不良な群と、性質が異なり予後の良好な群に分類され、高位肋間を含む前壁誘導(V1-V3)での非type1のJ波の有無によりその予後が決定されることが判明していたが、前向き予後調査でもそれを裏付ける結果が得られた。

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、 I_{scd} 、 I_{aVF} 誘導と I_{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、または既往のない Brugada 症候群を登録する。可能

な例でピルジカイニド等の Ca^{2+} 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 2 年間に於いて、過去の研究での登録症例を含め、計 193 例(VF を伴う早期再分極症候群:54 例、VF を伴う Brugada 症候群:77 例、その他 62 例) を登録できた。平均 29.8 ± 8.7 月の前向き予後調査では、VF を伴う早期再分極症候群 54 例中の 9 例(17%)と、VF を伴う Brugada 症候群 77 例中 10 例(13%)に VF による ICD 適切作動が生じていたが、VF 再発率には両群間で有意差を認めなかった。また、Brugada 症候群のうち、失神既往のある 30 例中 2 例(7%)に ICD 適切作動が生じていたが、無

症候 27 例には VF が生じていなかった。早期再分極症候群のうちで VF を生じていたのは、高位肋間を含む V1-V3 誘導で非 type 1 の ST 上昇を伴っていた例が 6 例、伴っていなかった例が 3 例であった。しかしながら後者の 3 例中 1 例は short QT 症候群を合併しており、あとの 2 例では高位肋間心電図を記録できてなく、また 1 例では Na チャネル遮断薬による薬物負荷が施行されていなかった。

遺伝子検査は 111 例に施行されており、うち 18 例で SCN5A 等の遺伝子変異が認められた。このうち SCN5A 変異のあった 2 例で VF が再発していた。

早期再分極症候群では、前壁誘導の J 波の意義を後ろ向きに検討した。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 12 例(39%)、2) 下側壁誘導にのみ J 波を認める B 群 19 例(61%)の 2 群に分類し、type 1Brugada 症候群(BS 群)40 例、基礎疾患を伴わない特発性心室細動(IVF 群)13 例を比較対照群として、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)群と BS 群では、主として夜間に VF 発作が生じ、それぞれ 90 ヶ月、104 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)群と IVF 群とは、そのほとんどが体動時に VF 発作が生じ、それぞれ 76 ヶ月、82 ヶ月の経過観察期間中の心事故発生率は有意に少なかった。

また、ERS(A)群のうち VF 再発があった 7 例中 6 例では、高位側壁誘導(I,aVL)に J 波を有していた。一方、水平型または下降型 ST は早期再分極症候群の不良な予後を予測する有用な指標ではなかった。VF 再発に対する治療に関しては、ERS(A)群の 1 例でキニジンが、1 例でシロスタゾールが、1 例でデノパミンが有効であったが、ベプリジルは 3 例中 1 例のみが有効であったにすぎなかった。

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 type 1、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、再分極異常、または脱分極異常から VF が発生する

ことが推定されたが、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上、Tikkanen らが指摘した J 波に続く ST 変化(水平型または下降型)も必ずしも不良な予後に結びつかないことが確認された。ただ、今回の検討は少数例での後ろ向き研究であるため、多数例での前向き研究による検証が必要と考えられた。

本研究におけるこれらの疾患群での多施設共同の前向き予後調査は、その検証の意味がある。未だ約 2 年半という短い観察期間ではあるが、前向き予後では後ろ向きの検討と同様な結果が示されつつある。すなわち、VF を伴った早期再分極症候群の 17% に再発が生じ、これは VF を伴う Brugada 症候群の 13% とほぼ同等の高い再発率であった。また、VF を再発した早期再分極症候群 9 例中 6 例が前壁誘導に非 type 1 の J 波を有していた。さらに、残りの 2 例は高位肋間心電図が記録されていない、または薬物負荷検査が施行されてなく、非 type 1 の J 波を伴っていた可能性のある症例であった。その上、両検査が施行済みで下側壁誘導のみに J 波の存在が判明している症例の中で、唯一 VF が再発した 1 例は short QT 症候群を合併していた。つまり早期再分極ではなく QT 短縮により VF を生じた可能性を否定できなかった。以上より、早期再分極症候群の中で予後が不良であるのは、前壁誘導で非 type 1 の J 波(主として saddleback 型 ST 上昇)を伴う例に限定される、あるいはそうでない純粋な下側壁早期再分極は極めて良好な予後を示す可能性が再確認された。今後、より長期に早期再分極症候群例を経過観察することにより、前壁誘導での非 type 1 波形の意義が明確になると共に、本症候群の機序の理解がすすむと考えられた。

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る 2 つの病態から構成されており、前壁誘導での非 type 1 の J 波の存在が早期再分極症候群の不良な予後を決定している可能性が、後ろ向き研究ならびに前向き研究の両者から推測された。

G . 研究発表

1 . 論文発表

1. Kamakura S. Necessity of face-to-face encounters with recipients of cardiovascular implantable electronic devices with remote monitoring. *Circ J* 2013; 77:2691-2693.

2. Kamakura S. Epidemiology of Brugada syndrome in Japan and rest of the world. *J Arrhythmia* 2013; 29:52-55.
 3. Kamakura S. Two decades of progress in the understanding of Brugada syndrome. *J Arrhythmia* 2013;29:51
 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 non-type 1 anterior early repolarization in patients with inferolateral early repolarization syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62: 1610-1618.
 5. Okamura H, Yasuda S, Sato S, Ogawa K, Nakajima I, Noda T, Shimahara Y, Hayashi T, Onishi Y, Kobayashi J, Kamakura S, Ogawa H, Shimizu W. Initial experience using Excimer laser for the extraction of chronically implanted pacemaker and implantable cardioverter defibrillator leads in Japanese patients. *J Cardiol*. 2013 ; 62:195-200.
 6. Doi A, Satomi K, Makimoto H, Yokoyama T, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Aiba T, Aihara N, Yasuda S, Ogawa H, Kamakura S, Shimizu W. Efficacy of additional radiofrequency applications for spontaneous dissociated pulmonary vein activity after pulmonary vein isolation in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2013 ; 24:894-901.
 7. Kawata H, Morita H, Yamada Y, Noda T, Satomi K, Aiba T, Isobe M, Nagase S, Nakamura K, Fukushima Kusano K, Ito H, Kamakura S, Shimizu W. Prognostic significance of early repolarization in inferolateral leads in Brugada patients with documented ventricular fibrillation: A novel risk factor for Brugada syndrome with ventricular fibrillation. *Heart Rhythm* 2013; 10: 1161-8.
 8. 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; 27:407-15.
 9. Kawata H, Satomi K, Yamagata K, Kamakura S. Successful slow pathway ablation in a patient with a rare unroofed type coronary sinus. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2013; 36:e100-2.
 10. 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; 10:604-6.
 11. 鎌倉史郎：心室細動．井上博・許俊鋭・檜垣實男・代田浩之・筒井裕之(編),今日の循環器疾患治療指針，医学書院,東京,2013;226-228．
 12. 鎌倉史郎：Brugada症候群．井上博・許俊鋭・檜垣實男・代田浩之・筒井裕之(編),今日の循環器疾患治療指針，医学書院,東京,2013;232-235．
 13. 鎌倉史郎：Brugada症候群．*医学のあゆみ* 2013;245:782-789.
 14. 鎌倉史郎：Brugada波形．*日本医事新報* 2013;4670:33-39.
1. 学会発表
 1. Kamakura S:Unsolved issues in J-wave and inferolateral early repolarization syndrome.第77回日本循環器学会学術集会featured reserch session, 横浜,2013
 2. Kamakura S:Could Brugada syndrome be treated without ICD; Workshop, 6th APHS, Hong Kong,2013
 3. Iwakami N, Aiba T, Kamakura S, Takaki H, Nakajima I, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Shimizu W, Sugimachi M. Noninvasive evaluation of benign or malignant early repolarization pattern using high resolution magnetocardiography. ESC Congress 2013, Amsterdam, 2013
 4. Kamakura T, Ishibashi K, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Shimizu W, Takaki H, Anzai T, Ishihara M, Yasuda S, Ogawa H, Kamakura S, Kusano F K. Clinical aspects and prognosis of elderly patients with Brugada Syndrome. AHA 2013, Dallas, 2013
 5. Iwakami N, Aiba T, Kamakura S, Takaki H, Ishibashi K, Nakajima I, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kusano F K, Shimizu W, Sugimachi M. Noninvasive evaluation of benign and malignant early repolarization with a new concept of late potentials in the high resolution magnetocardiography. AHA2013, Dallas, 2013
 6. 鎌倉令、金山純二、上島彩子、木次紗也子、大塚陽介、川上大志、船迫宴福、石橋耕平、中島育太郎、宮本康二、山田優子、岡村英夫、野田崇、里見和浩、相庭武司、高木洋、草野研吾、鎌倉史郎．高齡者 Brugada 症候群の臨床的特徴の検討．第30回日本心電学会学術集会，青森 2013

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

小児期発症遺伝性不整脈 - 新生児期 QT 延長症候群 - に関する研究

研究分担者：白石 公 国立循環器病研究センター 小児循環器部 部長

研究要旨

近年、小児期遺伝性不整脈の診断は徐々に若年化しており、新生児期に QT 延長症候群 (LQT) の診断に至る例がある。実際、2006-2013 年に当院で新生児 13 例が LQT との診断に至った。うち 4 例は、新生児期から房室ブロックや Torsades de Pointes (TdP) などの重症不整脈をおこした。経過観察期間 4.1 ± 2.1 年で、重症例は 3 例 (75%) に TdP を、全例 (100%) に癲癇と発達障害を合併した。一方、非重症例 9 例ではいずれの合併もなかった。新生児期発症重症 LQT の治療法の構築と、癲癇・発達障害との関連の解明が今後の課題である。

A. 研究目的

遺伝性不整脈疾患の代表的な疾患である QT 延長症候群は、若年者に発症することが多いが、一部は新生児期より重篤な不整脈が見られることがある。本研究では、遺伝性不整脈疾患のうち新生児期に症状を呈し、遺伝子診断された症例について検討した。

B. 研究方法

2006 年から 2013 年の間に、効率循環器病研究センターにおいて、新生児期（生後 1 ヶ月以内）に QT 延長症候群 (LQT) と診断された症例について、診療録をもとに後方視的に検討した。

(倫理面への配慮)

なお遺伝子診断は国立循環器病研究センター倫理委員会の承諾のもとに実施した。

C. 研究結果

2006 年から 2013 年の間に国立循環器病研究センターにおいて、新生児 13 例が LQT と遺伝子診断された。うち 4 例は新生児期から房室ブロックや Torsades de Pointes (TdP) などの重症不整脈を発症した。経過観察期間 4.1 ± 2.1 年で、重症例は 3 例 (75%) に TdP を、全例 (100%) に癲癇と発達障害を合併した。一方、非重症例 9 例ではいずれの合併もなかった。

D. 考察

今回の検討より、今後は全国的に症例の詳細な情報を収集し、新生児期発症重症 LQT の臨床経過をまとめ、適切な治療法を構築するとともに、合併症もしくは続発症としての癲癇・発達障害との関連について解明することが必要と考えられた。

E. 結論

新生児期に重篤な不整脈を呈する LQT 患者では、不整脈のコントロールとともに、癲癇や発達障害に関する十分な注意が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyazaki A, Sakaguchi H, Ohuchi H, Yasuda K, Tsujii N, Matsuoka M, Yamamoto T, Yazaki S, Tsuda E, Yamada O The clinical characteristics of sudden cardiac arrest in asymptomatic patients with congenital heart disease. Heart Vessels [Epub ahead of print], 2013.
2. Miyazaki A, Sakaguchi H, Ohuchi H, Yamamoto T, Igarashi T, Negishi J, Toyota N, Kagisaki K, Yagihara T, Yamada O. The incidence and characteristics of supraventricular tachycardia in left atrial isomerism: A high incidence of atrial fibrillation in young patients. Int J Cardiol 166: 375-80, 2013.

2. 学会発表

1. Miyazaki A: Device-based therapy for pediatric cardiology population –Japanese single center experience- In 6th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session, Hong Kong, China. 2013. 10. 3.
2. 山本哲也, 坂口平馬, 宮崎 文, 小野 晋, 三好剛一, 吉松 淳, 大内秀雄: 重症先天性 LQTS の胎児治療の一例. 第 18 回日本小児心電学会 (宮崎) 2013. 11. 29.
3. 宮崎 文: 小児のチャネル病. 第 59 回大阪小児循環器談話会・第 7 回大阪学校心臓検診勉強会 (大阪), 2013. 7. 27.

4. 三好剛一, 前野泰樹, 稲村 昇, 安河内聰, 川滝元良, 堀米仁志, 与田仁志, 新居元基, 賀藤均, 坂口平馬, 白石 公: 心構造異常を伴う胎児除脈性不整脈についての検討(胎児除脈の胎児治療に関する現状調査2002-2008より) 第49回日本小児循環器学会(東京) 2013. 7. 11.

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)

宮崎 文、坂口平馬、大内秀雄

(国立循環器病研究センター小児循環器科)

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

研究要旨

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 以上あるが、我々の施設では LQT1、LQT2、LQT3 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。保健診療での先天性 LQTS 症候群の遺伝子検査は 2012 年 164 例、2013 年 122 例 (10 月まで) であった。また、今回は次世代シーケンサーでの解析をおこなうため、検体の保管・DNA 抽出についての精度の検証をおこなった。

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。本研究では当センターにおける PCR 直接シーケンス法による LQTS 遺伝子検査の状況について報告する。

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。

我々は LQT1、LQT2、LQT3 に対してそれぞれ 19 対、15 対、29 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ている。

(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

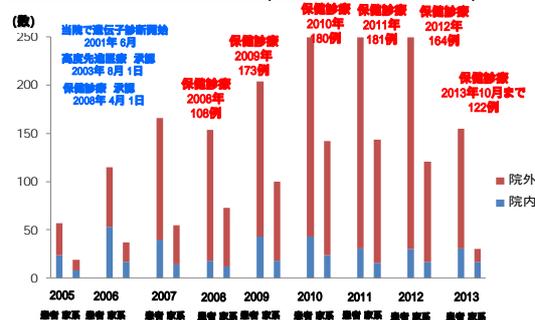
いる。本研究では、インフォームド・コンセントの得られた患者から末梢血を採取し、ゲノム DNA を抽出した。患者の血液・ゲノム DNA などのサンプルは、氏名、生年月日、住所などの個人を特定できる情報を取り除き、代わりに患者識別番号でコード化によって、試料や情報の由来する個人を特定できなくする「匿名化」を行った。提供者と新たにつける符号との対応表は個別識別情報管理者が厳重に管理し、個人が特定できない状態で解析を行った。

C. 研究結果

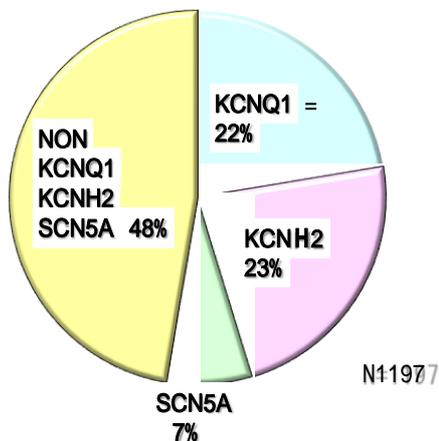
当センターでは 2005 年より LQTS 遺伝子検査を行っている。(下図)

これまでに遺伝子変異が明らかになった症例は約 50% である。

年度別の患者および家系数 (先天性 QT 延長症候群)

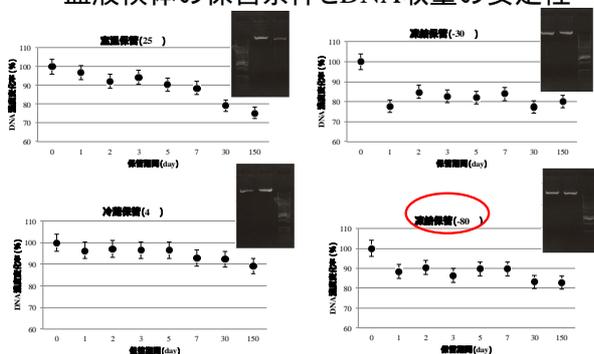


遺伝子変異陽性率

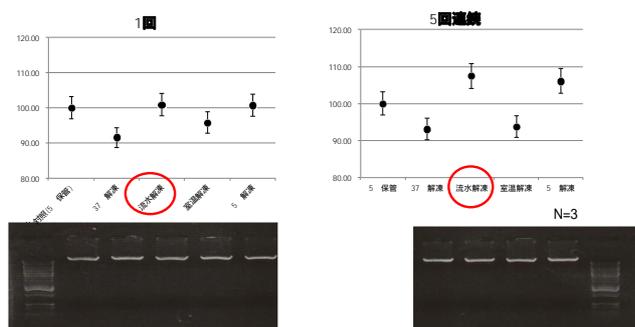


本年度は血液検体の保管条件によるDNA収量の変化を検討した。血液検体は4度保存状態で比較的安定した収量が確保され、-80度保管で流水で融解を繰り返しても大きな影響を受けないことがわかった。

血液検体の保管条件とDNA収量の安定性



融解条件 (-80度凍結検体) による影響



D. 考察

現在、先天性QT延長症候群、ブルガダ症候群の検査について、サンガー法によるシーケンスでの主要な3つの遺伝子をスクリーニングしている。今後次世代シーケンサーの導入をすすめ、多遺伝子のスクリーニング法を確立していく必要がある。

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。今後次世代シーケンスを取り入れた遺伝子検査法の確立をすすめる。

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
なし

多施設登録研究による先天性 QT 延長症候群の日本人の臨床ならびに遺伝子型のエビデンス

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

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LQTS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、遺伝子型と臨床症状(表現型)との関連(genotype-phenotype correlation)が詳細に検討され、遺伝子型別の臨床的特徴が明らかとなっている。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。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我が国における各遺伝子型(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

2005年~2012年までに遺伝子検査よりLQT1~3型と診断された合計1123例(発端者615例、家族508例)を登録し、心臓イベント(失神、心停止、心室細動)との関係を比較検討した。

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した。

C. 研究結果

LQT1(変異計84箇所、発端者:274、家族:248例)では212例に失神の既往があり、そのうち40

例(19%)が致死性(心停止、VF)イベントであった。72%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/184例(10%)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:275、家族:214例)では239例に失神の既往があり、そのうち66例(28%)が致死性イベントであった。心事故の誘因に運動(11%)は少なく、6割以上が情動ストレス(33%)か安静・睡眠中(29%)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37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

遺伝子型と心イベント

日本人の登録研究では LQT1 ~ 3 の遺伝子型が判明した 1100 例の約半数が発端者で残りが家族であった。各遺伝子型の頻度は LQT1:2:3 型が 4:4:1 の割合で概ねこれまでの報告通りであった。初回心事故の発症年齢は LQT1 型が LQT2、LQT3 型に比べて若く、LQT1 患者では 20 歳以降の初回発症は比較的少ないとされているが、日本人のデータでも LQT1 患者の初回心イベントは平均 13 歳と LQT2 (19 歳)、LQT3 (17 歳) に比べて若年であった。

生涯心事故発生率については、Zareba らは LQT1、LQT2 型で LQT3 型に比べ高いと報告しているが、Priori らは LQT1 型では非浸透患者が多く、LQT2、LQT3 型の心事故発生率が高いとしている。我々の登録研究では心事故全体の発生頻度は LQT2 (50%)、LQT1 (43%)、LQT3 (30%) の順に多いが、一方で心停止や心室細動などの致死性イベントの割合は LQT3 (44%)、LQT2 (27%)、LQT1 (19%) と LQT3 型が高い。すなわち LQT3 型ではイベントの頻度は比較的少ないものの一旦生じたとき重篤で、致死的な心事故の危険性は LQT3 型で高いといえる。

心イベントのきっかけは、LQT1 型は運動中が 70% と最も多く、LQT2 型では突然の覚醒や感情ストレスが 35%、睡眠中や安静時が 35%、LQT3 型では 55% が睡眠・安静時であり、概ねこれまでの報告同様であった。

遺伝子変異部位、変異タイプによる重症度評価

LQT1 型では、*KCNQ1* 遺伝子上の変異部位、変異タイプ、変異の機能異常が重症度に及ぼす影響が検討されている。変異部位別では、膜貫通領域 (transmembrane) に変異を有する LQT1 患者は C 末端 (C-terminus) 領域に変異を有する LQT1 患者に比べて心事故発生率が有意に高く、QT 時間も有意に長いことが報告されている。また、変異タイプの約 80% はミスセンス変異であるが、ミスセンス変異を有する患者は非ミスセンス変異を有する患者に比べて有意差は認めないが心事故発生率が高いとも言われる。さらに機能的に dominant negative effect を示す LQT1 患者はそれ以外の LQT1 患者に比べて、心事故発生率が高いことも報告されている。

LQT2 型でも、*KCNH2* 遺伝子上の変異部位と変異タイプを含めた重症度評価が報告されており、膜貫通 pore 領域のミスセンス変異患者が最も重症であるが、C 末端領域に変異を有する患者では、ミスセンス変異に比べてフレームシフト変異やナンセンス変異などのノンミスセンス変異の方が重症であることも明らかとなった。日本人の登録研究におい

ても変異部位と重症度、予後について検討を行っているが LQT1,2 とも概ねこれまでの報告と同様の結果が得られている。

LQT3 型では LQT1,2 に比べて症例数も少なく、さらに LQT3 の原因遺伝子である *SCN5A* は LQT3 以外に Brugada 症候群や進行性心臓伝導障害 (PCCD) など多彩な表現型を呈することもあり、その変異部位と予後との関係は十分検討されていなかった。我々が日本人の登録研究から行った検討では、LQT3 型のセグメント 5-6 間の pore 領域における変異では、それ以外の場所に比べて明らかに致死性の心イベントが多い結果が得られた。

今後は遺伝子型にとどまらず、各遺伝子型の変異部位や変異タイプなどを考慮した治療が行われていくものと考えられる。またいわゆる hot spot と呼ばれる一部の遺伝子変異部位では非常に多数の家系、患者が見つかることがある。特に LQT1 では *KCNQ1* 遺伝子上の一部の変異部位に多くの症例が見つかり、これは欧米からの報告と必ずしも一致せず人種の違いが影響している可能性もある。日本人の LQT1 ではこのような hot spot の変異はその他の変異部位に比べてイベント発生頻度が高い可能性がある。

E . 結論

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、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。しかしながら同じ遺伝子異常を有している家族でも、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全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様々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。

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud JB, Simonet F, Verkerk AO, Schwartz PJ, Crotti L, Dagradi F, Guicheney P, Fressart V, Leenhardt A, Antzelevitch C, Bartkowiak S, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Behr ER, Bastiaenen R, Tfelt-Hansen J, Olesen MS, Käab S, Beckmann BM, Weeke P, Watanabe H, Endo N, Minamino T, Horie M, Ohno S, Hasegawa K, Makita N, Nogami A, Shimizu W, Aiba T, Froguel P, Balkau B, Lantieri O, Torchio M, Wiese C, Weber D, Wolswinkel R, Coronel R, Boukens BJ,

Bézieau S, Charpentier E, Chatel S, Despres A, Gros F, Kyndt F, Lecointe S, Lindenbaum P, Portero V, Violleau J, Gessler M, Tan HL, Roden DM, Christoffels VM, Le Marec H, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R . Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death . Nat Genet 2013 Sep;45(9):1044-9 .

2. Kawakami T, Aiba T, Yamada T, Okayama H, Kazatani Y, Konishi K, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, Kamakura S, Makita N, Shimizu W. Variable expressivity of phenotype in a frameshift mutation of cardiac sodium channel SCN5A. J Arrhythmia 2013;29: 291-295.
3. Kamakura T, Kawata H, Nakajima I, Yamada Y, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Aiba T, Takaki H, Aihara N, Kamakura S, Kimura T, Shimizu W . Significance of non-type 1 anterior early repolarization in patients with inferolateral early repolarization syndrome . J Am Coll Cardiol . 2013;62(17):1610-8 .
4. 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;9(4):e1003364 .

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

遺伝性不整脈のゲノム広域解析アプローチによる原因探索に関する研究

研究分担者 関根章博 国立循環器病研究センター ゲノム遺伝子学 客員部長

研究要旨

Brugada症候群の新規遺伝要因を探索するために、既知原因遺伝子を保有しない16小家系32人のexome解析を、原因不明type1以上の重症度を有する個々80検体 (vs一般集団約2,000例) のGWAS (Omni2.5M) による相関解析を実施し、前者と統合したが、約300座位程度の候補座位に絞れたが、原因の特定に至らなかった。ただ、本試験を通じて、Brugada症候群には多くの原因座位の存在が推察され、これを打開するために、今後は検体数を増加し、大家系を集めての解析が有効であることが判明した。

A. 研究目的

遺伝性の疑いの高い重篤な不整脈、特にBrugada症候群を中心にAF、LQT、SQT、IVF、AVB、ALQTS、CCDの新規原因遺伝子の探索をゲノム広域解析を用いて実施する。

B. 研究方法

本研究事業を通じて収集された検体の中から、既に確立された原因遺伝子診断にて、原因不明と判定された症例についてゲノム広域解析を実施した。家系検体については広域exon解析をIllumina社のexonキャプチャーを用いてpair-end法によるシーケンスをHiSEQ1000にてcoverage 100を目指して実施した、一方、個々の検体については、Illumina社Omni2.5MchipによるGWAS (Genome-Wide Association Study) にて行い、既に所持する約2,000例の一般集団を対照して相関解析を行った。なお、解析対象となった家系は以下の通りである。

Brugada症候群 (6家系、32人)

< + 80例の個々検体 >

AF (5家系、16人)

LQT (1家系、3人)

SQT (4家系、10人)

IVF (2家系、8人)

AVB (2家系、5人)

ALQTS (2家系、5人)

CCD (1家系、3人)

一方、試験開始前から新規原因遺伝子の探索は困難が予想されていたので、解析の戦略は家系と個々検体の解析を統合して行う計画とした(以下)。

家系解析(exon seq.)

↓

個々検体の解析 (Omni2.5M chip)

↓
両者共有する座位の特定

↓
ホームデータベース・公開情報から
common多型の除去

↓
原因座位の絞り込み

(倫理面への配慮)

ゲノム研究については三省合同指針を遵守した倫理申請ならびに承認を得た上で、患者さんの同意の下、実施した。検体および診療情報等、研究に用いる試料・情報については個人識別情報(氏名、住所、電話番号等)を匿名化の上で研究に用いた。また、次世代シーケンサーおよび計算機・データサーバーについてはインターネット非接続下にて複数の施錠可能な部屋および立入り管理の行える研究室内で実施して、限られた研究メンバーによる閲覧のみとしてあるので(複製できない)、盗難・漏洩・紛失に伴う被害は著しく低い環境下で研究を遂行している。

C. 研究結果

Brugada症候群については、type1以上の重症度を有する個々80検体を疾患群とし、既に所持する一般集団(対照群)1,998例との相関解析を実施した結果、 p 値 $>10^{-8}$ 以下の候補遺伝子座が約1,000となり、候補の絞り込みはできなかった。一方、Brugada症候群を有する6家系、32人の全exonシーケンスによるノンパラメトリック家系解析を実施し、前記相関解析の結果と統合した結果、候補座位は約300に絞られたが、特定は困難であった。

一方、同様にAF、LQT、SQT、IVF、AVB、ALQTS、CCDの広域exonシーケンスを用いたノンパラメトリック家系解析も候補座位の絞り込みはできな

なし（原因遺伝子が同定されれば申請予定）
2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

セマフォリン 3A 遺伝子変異と関連する特発性心室細動発症の分子病態メカニズムの解明

研究分担者 中野由紀子 広島大学医歯薬学総合研究科 循環器内科 助教

研究要旨

心室細動発症における自律神経の関与が報告されてきた。心交感神経の抑制因子であるセマフォリン3A (*SEMA3A*)遺伝子と特発性心室細動の関連について検討した。特発性心室細動83例と健常人2958人において*SEMA3A*遺伝子の検討を行い、特発性心室細動症例では*SEMA3A*遺伝子SNP I334V (rs138694505A>G)の保因率が有意に高いことを発見した。(リスクアレル15.7% vs 5.6%, P=0.0004, OR 3.08, 95%CI 1.67–5.7)。 *SEMA3A*遺伝子I334Vにより、心臓の神経支配の変容が起こり特発性心室細動の発症に関与していることを推測した。

A. 研究目的

特発性心室細動は心臓突然死の重要な原因であるが、その分子レベルでの発症機構は明らかにされていない部分も多い。心室細動発症における自律神経の関与が報告されてきた^{1,2}。セマフォリン 3A (*SEMA3A*)は、心内膜・心外膜への交感神経分布の抑制因子であり、*SEMA3A* ノックアウトマウスや過剰発現マウスでは心臓での自律神経が無秩序となり、突然死を起こすことが報告されている³。我々の目的は、*SEMA3A* 遺伝子と特発性心室細動の関連について検討することである。

B. 研究方法

Region	IVF			control			Odds ratio	95%CI	P*	P _{ns} ^b
	AA	AG	GG	AA	AG	GG				
Western Japan	45	7	0	1943	101	1	2.9	1.3-6.7	0.007	
	86.5%	13.5%	0.0%	95.0%	5.0%	0.0%				
Eastern Japan	25	6	0	850	60	2	3.3	1.3-8.3	0.008	
	80.6%	19.4%	0.0%	93.2%	6.6%	0.2%				
Combined ^c							3.08	1.67-5.70	0.0004	0.86

^aSEMA3A: semaphorin 3A, UCA: unexplained cardiac arrest.
^bP^{*} value of chi-square test in dominant model.
^cResult of Bonferroni-Dunn test.
^dCombined meta-analysis was performed using the Mantel-Haenszel method.

当院と滋賀医科大学・長崎大学・新潟大学・国立循環器病センターでエントリーした特発性心室細動83例と健常人2958人において*SEMA3A*遺伝子のリシークエンスを行った。*SEMA3A* 遺伝子の SNP の有無による、臨床的特徴、心電図や心室遅延電位の各指標、右心室生検組織における心臓交感神経分布の違いについて検討を行った。鶏胎生交感神経節と *SEMA3A* 遺伝子の SNP

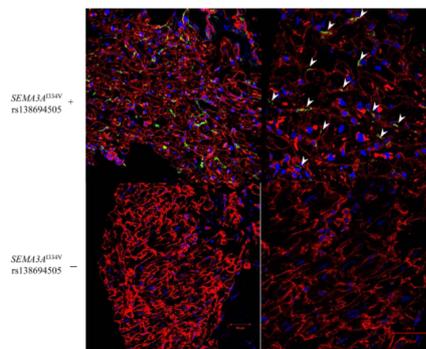
を発現させた HEK 細胞の共培養を行い、交感神経の伸長の程度の比較を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、学内のヒトゲノム・遺伝子解析研究審査を受けて認可されており、定期的な審査も受けている。被験者の血液は、分析前に個人情報情報を削り、かわりに新しく符号をつけ、被験者との符号を結びつける対応表は広島大学循環器内科にて厳重に保管している。方法は個人情報管理者のみがアクセス可能なスタンドアローンのパーソナルコンピュータのハードディスクに保存し鍵のかかる、研究室に保存している。倫理委員会での承認状況：広島大学：不整脈および高血圧疾患における遺伝子異常の検索(承認番号：医倫ヒ-52)

C. 研究結果

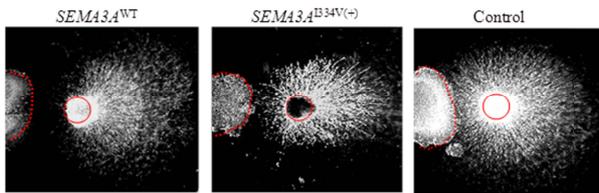
特発性心室細動症例では*SEMA3A*遺伝子SNP I334V (rs138694505A>G)の保因率が有意に高いことを発見した。(リスクアレル15.7% vs 5.6%, P=0.0004, OR 3.08, 95%CI 1.67–5.7)。



*SEMA3A*遺伝子I334Vを有する症例では、右心室心内膜生検組織で、通常は心外膜側にしか存在しないはずの心臓 交感神経が心内膜側まで延長し交感神経分布の異常をきたしていた。

(*SEMA3A*遺伝子I334Vを有する症例、図上では交感神経THの心内膜側への発現が認められる。図の緑がanti TH、赤がVinculin)

In vitroの実験においても、*SEMA3A*遺伝子



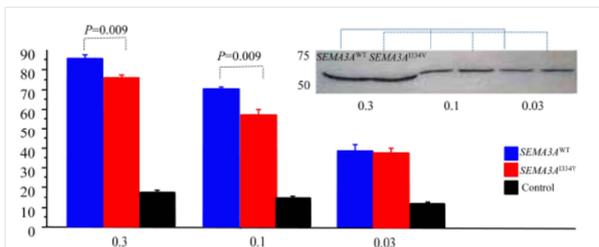
I334Vを発現させたベクターを鶏胎生交感神経節と共培養すると、I334Vを有さない正常のもの(WT)よりも神経伸長の抑制作用が弱くなっていることを明らかにした。

左: *SEMA3A*遺伝子wild typeでは神経伸長が抑制されている。

中: *SEMA3A*遺伝子I334V(+)⁺では神経伸長抑制作用が低下している。

右: コントロールベクターでは神経伸長を抑制するものがないので神経は各方向に伸長していることを明らかにした。

各図共、左が*SEMA3A*遺伝子発現させたHEK細胞、右は交感神経節(dorsal root ganglion, DRG) 途絶した神経の数の割合を定量したところ、同様に*SEMA3A*遺伝子I334V(+)⁺ではwild typeよりも神経の伸長抑制作用が低下していた。



D. 考察

今回の検討で、ヒト心臓において、*SEMA3A*遺伝子I334Vにより、心臓の神経支配の変容が起こり特発性心室細動の発症に関与していることを推測した。

特発性心室細動は蘇生された心室細動症例のうちで器質的心疾患を有する症例やチャンネル病などが除外されて初めて診断される疾患であり、心電図的診断などあらかじめの診断が出来ない疾患である。これまで特発性心室細動に関する遺伝子としてKCNJ8遺伝子やDPP6遺伝子の報告がされているが、その報告は少ない^{5,6}。

今回我々は、心室細動の発症と自律神経の関与が広く知られていることより、交感神経伸長抑制因子である*SEMA3A*遺伝子に着目した。

*SEMA3A*は心臓交感神経の伸長を抑制し心内膜側には神経が伸長しないようにして、心内膜、心外膜の神経分布勾配を保っている。*SEMA3A*を過剰発現させても、欠損させても、神経分布のバランスを崩し、突然死することが報告されている³。今回、日本の色々なエリアからの特発性心室細動症例と健常人の比較において、*SEMA3A*遺伝子I334Vが特発性心室細動症例において有意に多いことが明らかになった。実際、I334Vを有する特発性心室細動症例では、心臓交感神経分布の異常を認めており、in vitroの実験でも、I334はWTよりも心系伸長抑制作用が減弱しており、この遺伝子の異常が特発性心室細動発症および病態に関与している可能性がある。

この結果は我々の知る限り世界初であり、今後の特発性心室細動の病態解明および、心臓突然死の予防という観点において大変有意義である

関連文献

1. Smith ML, Hamdan MH, Wasmund SL, Kneip CF, Joglar JA, et al. (2010). High-frequency ventricular ectopy can increase sympathetic neural activity in humans. *Heart Rhythm* 7: 497–503.

2. Nishisato K, Hashimoto A, Nakata T, Doi T, Yamamoto H, et al. (2010). Impaired cardiac sympathetic innervation and myocardial perfusion are related to lethal arrhythmia quantification of cardiac tracers in patients with ICDs. *J Nucl Med* 51: 1241–1249.
3. Ieda M, Kanazawa H, Kimura K, Hattori F, Ieda Y, et al. (2007). Sema3A maintains normal heart rhythm through sympathetic innervation patterning. *Nature Med* 13: 604–612.
4. Haissaguerre M, Chatel S, Sacher F, Weerasooriya R, Probst V, et al. (2009). Ventricular fibrillation with prominent early repolarization associated with a rare variant of KCNJ8/KATP channel. *Cardiovasc Electrophysiol* 20: 93–98.
5. Alders M, Koopmann TT, Christiaans I, Postema PG, Beekman L, et al. (2009). Haplotype-sharing analysis implicates chromosome 7q36 harboring DPP6 in familial idiopathic ventricular fibrillation. *Am J Hum Genet* 84: 468–476.

G . 研究発表

1. 論文発表

1. 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 poly- morphism in Semaphorin 3A as a risk factor for human unexplained cardiac arrest with documented ventricular fibrillation. *PLOS Genetics* 2013;9(4):e1003364.

2. Tokuyama T, Nakano Y, Awazu A, Uchimura-Makita Y, Fujiwara M, Watanabe Y, Sairaku A, Kajihara K, Motoda C, Oda N, Kihara Y. Deterioration of the circadian variation of heart rate variability in Brugada syndrome may contribute to the pathogenesis of ventricular fibrillation. *J Cardiol.* 2014; S0914-5087

2 . 学会発表

1. Nakano Y, et al.: Nonsynonymous Polymorphism in *Semaphorin 3A* as a Risk Factor for Human Unexplained Cardiac Arrest with Documented Ventricular Fibrillation. AHA 2013. Dallas, USA. 2013.11. 18.

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
なし
3. その他
なし

家族歴を有する心房細動症例における心房細動の電気生理学的機序に関する研究

研究分担者 宮内靖史 日本医科大学内科学(循環器内科学)准教授

研究要旨

心房細動のカテーテル心筋焼灼術施行症例を調査、家族歴を有する頻度は1.4%、機序は家族性心房細動症例の報告と同様に肺静脈以外の心房異常自動能の頻度が高く、遺伝子異常を背景とする心房細動症例が想定以上に多いと考えられ遺伝子基盤に基づいたアプローチの重要性が示唆された。

A. 研究目的

心房細動(AF)の機序は症例毎に異なる。本研究では家族性AF症例におけるAFの電気生理学的特徴を検討する。

B. 研究方法

平成25年度に当施設で心房細動に対してカテーテル心筋焼灼術(CA)を行う器質的心疾患のない心房細動症例において家族歴(FH)を詳細に聴取し3親等以内の心房細動の有無を確認。CA時に判明したAFの機序を家族歴の有無で比較した。(倫理面への配慮)
診療・治療への介入はなくプライバシーに十分に配慮した。

C. 研究結果

対象147例のうちAFのFHを有する症例は2例(1.4%)のみであったため過去6年前までさかのぼり15例を追加。FHを有する計17例はFHのない145例に比し有意に年齢が低く(54±11 vs. 64±10歳, p=0.003)、発作性AFの比率が有意に高かった(88% vs. 56%, p=0.009)。肺静脈に異常自動能を認めた症例は同等(88% vs. 86%)であったが、肺静脈および上大静脈以外の部位に異常自動能の発生する症例が有意に高かった(59% vs. 4%, p<0.0001)

D. 考察

家族性心房細動は稀と考えられている。当施設でのCA対象のAF症例の1.3%においてFHを有し、それらの電気生理学的特徴は過去に報告されている家族性AFにおける原因遺伝子(KCNE2, KCNJ2, KCNA5, SCN5A)の異常によってもたらされる可能性のある心房異

常自動能の占める頻度が高く、遺伝子異常によるAF症例の頻度は想定以上に高いことが示唆される。

E. 結論

遺伝子異常が発生に関与するAF症例はこれまでの想定以上に高くAF診療において遺伝子を基盤としたアプローチの重要性が示唆される。

G. 研究発表

1. 論文発表
1. Uetake S, Miyauchi Y, Shimizu W. et al. Frequency analysis of surface electrocardiograms in patients with persistent atrial fibrillation: Correlation with the intracardiac ECGs and implication radiofrequency catheter ablation. J Arrhythmia in press
2. 学会発表
1. Tsuboi I, Miyauchi Y, Hayashi M, Shimizu W. et al. Different response to intravenous adenosine for revealing arrhythmogenic foci between patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation undergoing catheter ablation. Circ J 2014, 78(Suppl 1)

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

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
清水 渉	X 不整脈. 11. QT 延長症候群	堀 正二, 永 井良三	循環器疾患最新 の治療 2014-2015	南江堂	東京	2014	305-308
清水 渉	QT延長症候群	山口 徹, 北 原光夫, 福井 次矢	『今日の治療指 針』2014年版	医学書院	東京	2014	374-375
Shimizu W, Ackerman MJ	Chapter 50, Provocative (drug) testing in inherited arrhythmias.	Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK	Electrical Diseases of the Heart (Second edition): Genetics, Mechanisms, Treatment, Prevention, Part IV. Clinical rhythmology: Diagnostic methods and tools	Springer	Oxford, UK	2014	in press
Shimizu W	Chapter 40, Acquired form of Brugada syndrome.	Gussak I, Antzelevitch C, Wilde A, Powell B, Ackerman MJ, Shen WK	Electrical Diseases of the Heart (Second edition): Genetics, Mechanisms, Treatment, Prevention, Part III. Secondary Hereditary and Acquired Cardiac Channelopathies, and Sudden Cardiac Death	Springer	Oxford, UK	2014	in press
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	矢崎義雄総編 集	朝倉 『内科学』	朝倉書店	東京	2013	424-428
堀江 稔	梗塞後不整脈	堀 正二, 永井 良三	循環器疾患最新 の治療 2014-2015	南江堂	東京	2014	77-81
堀江 稔	イオンチャン ネル病としての心 房細動	杉本恒明, 井 上 博	不整脈2013	メディカル レビュー社	東京	2013	111-118

青沼和隆	カテーテル・アブレーション	山口 徹, 北原三夫, 福井次矢	今日の治療指針	医学書院	東京	2013	331-33
関口幸夫, 青沼和隆	緊急を要する不整脈の処置	井上 博, 許俊悦, 檜垣寛男, 代田浩之, 筒井裕之	今日の循環器疾患治療指針	医学書院	東京	2013	85-88
時田直昌	遺伝性不整脈研究の黎明期とその後の急速な展開	日本心電学会30周年記念誌編集委員会	日本心電学会30年の軌跡	日本心電学会	東京	2013	154-157
萩原誠久	不整脈源性右室心筋症	井上 博, 許俊鋭, 檜垣寛男, 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
藤田 淳, 福田恵一	【心不全の最前線】 治す 心不全とiPS細胞の展望	福田恵一	Heart View	メジカルビュー社	東京	2014	101-105
関 倫久, 福田恵一	循環器疾患における再生医療の展望 循環器領域での再生医療の実践にむけて	福田恵一	循環器Plus	メディカルトリビューン	東京	2013	10-12
黒田裕介, 福田恵一	【iPSの樹立とその応用病態解析】 心疾患と疾患特異的iPS細胞	中畑龍俊	Medical Science Digest	ニューサイエンス社	東京	2013	518-521
岩本眞理, 住友直方, 高橋英子, 長嶋正實, 茂呂修平, 吉永正夫	心臓病に対する学校生活管理指導表の活用	長嶋正實	心疾患児 学校生活管理指導のしおり 学校・学校医用品 平成24年改訂	学校保健会	東京	2013	7-11
堀米仁志, 高橋一浩	先天性QT延長症候群3型	小黒正榮	小児内科	東京医学社	東京	2013	1107-1110
堀米仁志	不整脈 QT延長症候群, QT短縮症候群	堀江康弘	小児科診療	診断と治療社	東京	2013	1779-1787
住友直方	WPW症候群	大関武彦, 古川漸, 横田俊一郎, 水口 雅	Electrical Diseases of the Heart (Second edition)	医学書院	東京	2013	502-503
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, 檜垣寛男, 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

住友直方	小児のPBLsとPALS,小児の不整脈	笠貴 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 ポケット判	南江堂	東京	2013	24-27 115-118
田中敏博	循環器疾患と遺伝子異常 虚血性心疾患	矢崎義雄	朝倉内科学 第10版	朝倉書店	東京	2013	420-421
田中敏博	ゲノム解析テクノロジー	清水 渉	最新医学 致死性不整脈診療の最前線	最新医学社	大阪	2013	1520-1524
Morita H, Zipes DP, Wu J	Experimental Mechanisms of Arrhythmias in Brugada Syndrome	Wu J, Wu J	Sudden Death: Causes, Risk Factors and Prevention	Nova Science Publishers, Inc	NY, USA	2013	39-59
牧山 武	イオンチャネル病のすべて. 各論. QT短縮症候群	堀江 稔	医学のあゆみ	南江堂	東京	2013	773-780
牧山 武	致死性不整脈診療の最前線. 致死性不整脈診療各論. 家族性徐脈症候群	清水 渉	最新医学68号7巻	最新医学社	東京	2013	1611-1618
鎌倉史郎	心室細動	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	医学書院	東京	2013	226-228
鎌倉史郎	Brugada症候群	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	医学書院	東京	2013	232-235
相庭武司, 清水 渉	QT延長症候群: 遺伝子タイプ別の病態, 予後, 治療方法	堀江 稔	医学のあゆみ イオンチャネル病のすべて	医歯薬出版	東京	2013	766-772
相庭武司	後天性QT延長症候群	清水 渉	最新医学 致死性不整脈診療の最前線	最新医学社	大阪	2013	68-76
関根章博	内分泌代謝疾患のゲノム, エピゲノム解析	中尾一和	最新内分泌代謝学	診断と治療社	東京	2013	67-71
宮内靖史, 清水 渉	植え込み型除動器 (ICD・CRTD) の現状と問題点	小室一成 佐地勉 坂田隆造 赤坂隆史	Annual Review 循環器	中外医学社	東京	2014	186-193

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Shimizu W</u>	Editorial comment. Importance of clinical analysis in this era of new technology of molecular genetic screening.	J Am Coll Cardiol		In press	2014
<u>Yoshinaga M</u> , <u>Kucho Y</u> , <u>Sarantuya J</u> , <u>Ninomiya Y</u> , <u>Horigome H</u> , <u>Ushinohama H</u> , <u>Shimizu W</u> , <u>Horie M</u>	Genetic characteristics of children and adolescents with long-QT syndrome diagnosed by school-based electrocardiographic screening programs.	Circ Arrhythm Electrophysiol	7	107-112	2014
<u>Kokunai Y</u> , <u>Nakata T</u> , <u>Furuta M</u> , <u>Sakata S</u> , <u>Kimura H</u> , <u>Aiba T</u> , <u>Yoshinaga M</u> , <u>Osaki Y</u> , <u>Nakamori M</u> , <u>Itoh H</u> , <u>Sato T</u> , <u>Kubota T</u> , <u>Kadota K</u> , <u>Shindo K</u> , <u>Mochizuki H</u> , <u>Shimizu W</u> , <u>Horie M</u> , <u>Okamura Y</u> , <u>Ohno K</u> , <u>Takahashi MP</u>	A Kir3.4 mutation causes Andersen-Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1.	Neurology	82	1058-1064	2014
<u>Bando S</u> , <u>Soeki T</u> , <u>Matsuura T</u> , <u>Niki T</u> , <u>Ise T</u> , <u>Yamaguchi K</u> , <u>Taketani Y</u> , <u>Iwase T</u> , <u>Yamada H</u> , <u>Wakatsuki T</u> , <u>Akaike M</u> , <u>Aiba T</u> , <u>Shimizu W</u> , <u>Sata M</u>	Congenital long QT syndrome with compound mutations in the KCNH2 gene.	Heart Vessels		In press	2014
<u>Shimizu W</u>	Clinical features of Brugada syndrome.	J Arrhythmia	29	65-70	2013
<u>Shimizu W</u>	Update of diagnosis and management in inherited cardiac arrhythmias.	Circ J	77	2867-2872	2013
<u>Nakashima K</u> , <u>Kusakawa I</u> , <u>Yamamoto T</u> , <u>Hirabayashi S</u> , <u>Hosoya R</u> , <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
<u>Iguchi K</u> , <u>Noda T</u> , <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> , <u>Ohkubo K</u> , <u>Watanabe I</u> , <u>Matsuyama TA</u> , <u>Ishibashi-Ueda H</u> , <u>Yagihara N</u> , <u>Shimizu W</u> , <u>Horie M</u> , <u>Minamino T</u> , <u>Makita N</u>	SCN5A mutation associated with ventricular fibrillation, early repolarization, and concealed myocardial abnormalities.	Int J Cardiol	65	e21-e23	2013

Mathias A, Moss AJ, Lopes CM, Barshesht 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
Priori SG, Wilde AA, <u>Horie M</u> , Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, <u>Shimizu W</u> , Tomaselli G, Tracy C	HRS/EHRA/APHRS Expert Consensus Statement on the Diagnosis and Management of Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes: Document endorsed by HRS, EHRA, and APHRS in May 2013 and by ACCF, AHA, PACES, and AEPCC in June 2013.	Heart Rhythm	10	1932-1963	2013
Priori SG, Wilde AA, <u>Horie M</u> , Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, <u>Shimizu W</u> , Tomaselli G, Tracy C	Executive summary: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes.	Europace	15	1389-1406	2013
Priori SG, Wilde AA, <u>Horie M</u> , Cho Y, Behr ER, Berul C, Blom N, Brugada J, Chiang CE, Huikuri H, Kannankeril P, Krahn A, Leenhardt A, Moss A, Schwartz PJ, <u>Shimizu W</u> , Tomaselli G, Tracy C	Executive summary: HRS/EHRA/APHRS expert consensus statement on the diagnosis and management of patients with inherited primary arrhythmia syndromes	J Arrhythmia	E-pub	September 6, doi:10.1016/j.joa.2013.07.002	2013

<p>Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, Remme CA, Gourraud JB, Simonet F, Verkerk AO, Schwartz PJ, Crotti L, Dagradi F, Guicheney P, Fressart V, Leenhardt A, Antzelevitch C, Bartkowiak S, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Behr ER, Bastiaenen R, Tfelt-Hansen J, Olesen MS, Käab S, Beckmann BM, Weeke P, <u>Watanabe H</u>, Endo N, Minamino T, <u>Horie M</u>, Ohno S, Hasegawa K, <u>Makita N</u>, Nogami A, <u>Shimizu W</u>, <u>Aiba T</u>, Froguel P, Balkau B, Lantieri O, Torchio M, Wiese C, Weber D, Wolswinkel R, Coronel R, Boukens BJ, Bézieau S, Charpentier E, Chatel S, Despres A, Gros F, Kyndt F, Lecointe S, Lindenbaum P, Portero V, Violleau J, Gessler M, Tan HL, Roden DM, Christoffels VM, Le Marec H, Wilde AA, Probst V, Schott JJ, Dina C, Redon R</p>	<p>Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death.</p>	<p>Nat Genet</p>	<p>45</p>	<p>1044-1049</p>	<p>2013</p>
<p>Duchatelet S, Crotti L, Peat RA, Denjoy I, Itoh H, Berthet M, Ohno S, Fressart V, Monti MC, Crocamo C, Pedrazzini M, Dagradi F, Vicentini A, Klug D, Brink PA, Goosen A, Swan H, Toivonen L, Lahtinen AM, Kontula K, <u>Shimizu W</u>, <u>Horie M</u>, George AL, Tréguët DA, Guicheney P, Schwartz PJ</p>	<p>Identification of a KCNQ1 Polymorphism Acting as a Protective Modifier against Arrhythmic Risk in Long QT Syndrome.</p>	<p>Circ Cardiovasc Genet</p>	<p>6</p>	<p>354-361</p>	<p>2013</p>

Kamakura T, Kawata H, Nakajima I, 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 Non-Type 1 Anterior Early Repolarization in Patients with Inferolateral Early Repolarization Syndrome.	J Am Coll Cardiol	62	1610-1618	2013
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, <u>Watanabe H</u> , Endo N, <u>Aiba T</u> , <u>Shimizu W</u> , Ohno 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 Genet	9	e1003364	2013
Kawata H, <u>Morita H</u> , Yamada Y, Noda T, Satomi K, <u>Aiba T</u> , Isobe M, Nagase S, Nakamura K, Fukushima Kusano K, Ito H, <u>Kamakura S</u> , <u>Shimizu W</u>	Prognostic significance of early repolarization in inferolateral leads in Brugada patients with documented ventricular fibrillation: A novel risk factor for Brugada syndrome with ventricular fibrillation.	Heart Rhythm	10	1161-1168	2013
Kawakami H, <u>Aiba T</u> , Yamada T, Okayama H, Kazatani Y, Konishi K, Nakajima I, Miyamoto K, Yamada Y, Okamura H, Noda T, Satomi K, <u>Kamakura S</u> , <u>Makita N</u> , <u>Shimizu W</u>	Variable phenotype expression with a frameshift mutation of the cardiac sodium channel gene SCN5A.	J Arrhythmia	29	291-295	2013
<u>Yoshinaga M</u> , Ushinohama H, Sato S, Tauchi N, <u>Horigome H</u> , Takahashi H, <u>Sumitomo N</u> , Kucho Y, Shiraishi H, Nomura Y, <u>Shimizu W</u> , Nagashima M	Electrocardiographic screening of 1-month-old infants for identifying prolonged QT intervals.	Circ Arrhythm Electrophysiol	6	932-938	2013

Dochi K, <u>Watanabe H</u> , Kawamura M, Miyamoto A, Ozawa T, Nakazawa Y, Ashihara T, Ohno S, Hayashi H, Ito M, Sakazaki H, Kawata H, Ushinohama H, Kaszynski RH, Minamino T, <u>Sumitomo N</u> , <u>Shimizu W</u> , <u>Horie M</u>	Flecainide reduces ventricular arrhythmias via a mechanism that differs from that of β -blockers in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia.	J Arrhythmia	29	255-260	2013
Wu J, Naiki N, Ding WG, Ohno S, Kato K, Zang WJ, Delisle BP, Matsuura H, <u>Horie M</u>	A molecular mechanism for adrenergic-induced long QT Syndrome.	J Am Coll Cardiol		In press	2014
Kato K, <u>Makiyama T</u> , Wu J, DingW-G, Kimura H, Nauki N, Ohno S, Itoh H, Nakanishi T, Matsuura H, <u>Horie M</u>	Cardiac channelopathies associated with infantile fatal ventricular arrhythmias, from the cradle to the bench.	J Cardiovasc Electrophysiol	25	66-73	2014
Bartos DC, Giudicessi JR, Tester DJ, Ackerman MJ, Ohno S, <u>Horie M</u> , Gollob MH, Burgess DE, Delisle BP	A KCNQ1 Mutation Contributes to the Concealed Type 1 Long QT Phenotype by Limiting the Kv7.1 Channel Conformational Changes Associated with PKA Phosphorylation.	Heart Rhythm	11	459-68	2014
Araki A, Katsuno M, Suzuki K, Banno H, Suga N, Hashizume A, Mano T, Hijikata Y, Nakatsuji H, <u>Watanabe H</u> , <u>Makiyama T</u> , Ohno S, Fukuyama M, Morimoto S, <u>Horie M</u> , Sobue G	Brugada syndrome in spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA).	Neurology		In press	2014
Hasegawa K, Ohno S, Ashihara T, Itoh H, Ding WG, Toyoda F, <u>Makiyama T</u> , Aoki H, Nakamura Y, Delisle BP, Matsuura H, <u>Horie M</u>	A novel KCNQ1 missense mutation identified in a patient with juvenile-onset atrial fibrillation causes constitutively open IKs channels.	Heart Rhythm	11	67-75	2014
Zhou J, Ding WG, <u>Makiyama T</u> , Miyamoto A, Matsumoto Y, Kimura H, Tarutani Y, Zhao J, Wu J, Zang WJ, Matsuura H, <u>Horie M</u>	A Novel HCN4 Mutation, G1097W, is associated with atrioventricular block.	Circ J		In press	2014

Sakata S, Kurata Y, Li P, Notsu T, Morikawa K, Miake J, Higaki K, Yamamoto Y, Yoshida A, Shirayoshi Y, Yamamoto K, <u>Horie M</u> , Ninomiya H, Kanzaki S, Hisatome I	Instability of KCNE1-D85N that causes long QT syndrome: stabilization by verapamil.	PACE		In press	2014
Wang Q, Ohno S, Ding WG, Fukuyama M, Miyamoto A, Itoh H, Makiyama T, WuJ, Bai J, Hasegawa K, Shinohara T, Takahashi N, Shimizu A, Matsuura H, <u>Horie M</u>	Gain-of-Function KCNH2 Mutations in Patients with Brugada Syndrome.	J Cardiovasc Electrophysiol		In press	2014
Hasegawa K, Ohno S, Kimura H, Itoh H, <u>Makiyama T</u> , Yoshida Y, <u>Horie M</u>	Mosaic KCNJ2 Mutation in Andersen-Tawil syndrome: Targeted DeepSequencing is Useful for the Detection of Mosaicism.	Clinical Genetics		In press	2014
Smith JL, Relej AR, Nataraj PS, Bartos DC, Schroder EA, Moss AJ, Ohno S, <u>Horie M</u> , Anderson CL, January CT, Delisle BP	Pharmacological Correction of Long QT-linked Mutations in KCNH2 (hERG) Increases the Trafficking of Kv11.1 Channels Stored in the Transitional ER.	Am J Physiol -Cell Physiol	305	C919-30	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.	J Arrhythmia	29	261-264	2013
<u>Horie M</u> , Ohno S	Genetic basis of Brugada syndrome.	J Arrhythmia	29	71-76	2013
Hayashi H, Murakami Y, <u>Horie M</u>	Pitfall of the meta-analysis regarding early repolarization pattern.	J Am Coll Cardiol	62	86	2013
Murakoshi N, <u>Aonuma K</u>	Epidemiology of arrhythmias and sudden cardiac death in Asia.	Circ J	77	2419- 2431	2013
Hiraoka M, Takagi M, Yokoyama Y, Sekiguchi Y, Aihara N, <u>Aonuma K</u> : Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study Investigators	Prognosis and risk stratification of young adults with Brugada syndrome.	J Electrocardiol	6	279-283	2013
Sekiguchi Y, <u>Aonuma K</u> , Takagi M, Aihara N, Yokoyama Y, Hiraoka M: Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study Investigators	New clinical and electrocardiographic classification in patients with idiopathic ventricular fibrillation.	J Cardiovasc Electrophysiol	24	902-908	2013

Doki K, Homma M, Kuga K, <u>Aonuma K</u> , Kohda Y	SCN5A promoter haplotype affects the therapeutic range for serum flecainide concentration in Asian patients.	Pharmacogenet Genomics	23	349-354	2013
Kawamura M, Ohno S, Naiki N, Nagaoka I, Dochi K, Wang Q, Hasegawa K, Kimura H, Miyamoto A, Mizusawa Y, Itoh H, <u>Makiyama T</u> , <u>Sumitomo N</u> , Ushinohama H, Oyama K, Murakoshi N, <u>Aonuma K</u> , <u>Horigome H</u> , Honda T, <u>Yoshinaga M</u> , Ito M, <u>Horie M</u>	Genetic background of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in Japan.	Circ J	77	1705-1713	2013
Takagi M, <u>Aonuma K</u> , Sekiguchi Y, Yokoyama Y, Aihara N, Hiraoka M; Japan Idiopathic Ventricular Fibrillation Study (J-IVFS) Investigators	The prognostic value of early repolarization (J wave) and ST-segment morphology after J wave in Brugada syndrome: multicenter study in Japan.	Heart Rhythm	10	533-539	2013
Murakoshi N, <u>Aonuma K</u>	Epidemiology of arrhythmias and sudden cardiac death in Asia.	Circ J	77	2419-2431	2013
JCS Joint Working Group	Guidelines for clinical cardiac electrophysiologic studies (JCS 2011)	Circ J	77	497-518	2013
Abe K, Machida T, <u>Sumitomo N</u> , Yamamoto H, Ohkubo K, Watanabe I, <u>Makiyama T</u> , Fukae S, Kohno M, Harrell DT, Ishikawa T, Tsuji Y, Nogami A, Watabe T, Oginosawa Y, Abe H, Maemura K, Motomura H, <u>Makita N</u>	Sodium channelopathy underlying familial sick sinus syndrome with early onset and predominantly male characteristics.	Circ Arrhythm Electrophysiol		In revision	2014

<u>Makita N</u> , Yagihara N, Crotti L, Johnson CN, Beckmann BM, Shigemizu D, Lichtner P, Ishikawa T, <u>Aiba T</u> , Homfray T, Behr ER, Klug D, Denjoy I, Mastantuono E, Theisen D, Tsunoda T, Satake W, Toda T, Nakagawa H, Tsuji Y, Tsuchiya T, Yamamoto H, <u>Miyamoto Y</u> , Endo N, Kimura A, Ozaki K, Motomura H, Suda K, Tanaka T, Schwartz PJ, Meitinger T, Käb S, Guicheney P, Bhuiyan ZA, <u>Shimizu W</u> , <u>Watanabe H</u> , Chazin WJ, George, AL Jr	Novel calmodulin (CALM2) mutations associated with congenital arrhythmia susceptibility.	Circ Cardiovasc Genet		In press	2014
Ohno S, Omura M, Kawamura M, Kimura H, Itoh H, <u>Makiyama T</u> , Ushinohama H, <u>Makita N</u> , Horie M	Exon 3 deletion of RYR2 encoding cardiac ryanodine receptor is associated with left ventricular non-compaction.	Europace		In press	2014
Yoshida M, Ando S, Chishaki A, <u>Makita N</u> , Hasegawa Y, Narita S, Momii H, Kadokami T	Normal dose of pilsicainide showed marked negative inotropic effects in a patient who had no underlying heart disease.	J Arrhythmia		In press	2014
Abe Y, <u>Sumitomo N</u> , Okuma H, Nakamura T, Fukuhara J, Ichikawa R, Matsumura M, Miyashita M, Kamiyama H, Ayusawa M, Watanabe M, Joo K, <u>Makita N</u> , <u>Horie M</u>	Successful control of life-threatening polymorphic ventricular tachycardia by radiofrequency catheter ablation in an infant.	Heart Vessels		In press	2014
<u>Makita N</u>	Paradigm shifts in the genetics of inherited arrhythmias: Using next-generation sequencing technologies to uncover hidden etiologies.	J Arrhythmia	29	305-307	2013
Ishikawa T, Takahashi N, Ohno S, Sakurada H, Nakamura K, Ono 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.	Circ J	77	959-967	2013
<u>蒔田直昌</u>	心臓伝導障害の遺伝子基盤	不整脈 2013		12-22	2013

蒔田直昌	【致死性不整脈診療の最前線】 致死性不整脈診療 遺伝性心臓 伝導障害	最新医学	68	1588-1596	2013
蒔田直昌	【イオンチャネル病のすべて】 進行性心臓伝導障害	医学のあゆみ	245	802-809	2013
蒔田直昌	難治性不整脈の遺伝子解析	循環器専門医	21	3-8	2013
Nakajima T, Kimura F, Kajimoto K, Kasanuki H, <u>Hagiwara N</u>	Utility of ECG-gated MDCT to differentiate patients with ARVC/D from patients with ventricular tachyarrhythmias.	J Cardiovasc Comput Tomogr	7	223-233	2013
Fujita E, Nakanishi T, Nishizawa T, <u>Hagiwara N</u> , Matsuoka R	Mutations in the cardiac troponin T gene show various prognoses in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy.	Heart Vessels	28	785-794	2013
Shiga T, Hashiguchi M, Naganuma M, Suzuki A, <u>Hagiwara N</u>	Contributing factors to the apparent clearance of bepridil in patients with paroxysmal or persistent atrial fibrillation: analysis using population pharmacokinetics.	Ther Drug Monit	35	367-373	2013
Seki T, Yuasa S, Kusumoto D, Kunitomi A, Saito Y, Tohyama S, Yae K, Kishino Y, Okada M, Hashimoto H, Takei M, Egashira T, Kodaira M, Kuroda Y, Tanaka A, Okata S, Suzuki T, Murata M, Fujita J, <u>Fukuda K</u>	Generation and characterization of functional cardiomyocytes derived from human T cell-derived induced pluripotent stem cells.	PLoS One	9	e85645	2014
Ohno Y, Yuasa S, Egashira T, Seki T, Hashimoto H, Tohyama S, Saito Y, Kunitomi A, Shimoji K, Onizuka T, Kageyama T, Yae K, Tanaka T, Kaneda R, Hattori F, MurataM, Kimura K, <u>Fukuda K</u>	Distinct iPS Cells Show Different Cardiac Differentiation Efficiency.	Stem Cells Int	E-pub		2013
Chen IP, <u>Fukuda K</u> , Fusaki N, Iida A, Hasegawa M, Lichtler A, Reichenberger EJ	Induced pluripotent stem cell reprogramming by integration-free sendai virus vectors from peripheral blood of patients with craniometaphyseal dysplasia.	Cell Reprogram	15	503-13	2013
Okata S, Yuasa S, Yamane T, Furukawa T, <u>Fukuda K</u>	The generation of induced pluripotent stem cells from a patient with KCNH2 G603D, without LQT2 disease associated symptom	J Med Dent Sci	60	17-22	2013

Wada R, Muraoka N, Inagawa K, Yamakawa H, Miyamoto K, Sadahiro T, Umei T, Kaneda R, Suzuki T, Kamiya K, Tohyama S, Yuasa S, Kokaji K, Aeba R, Yozu R, Yamagishi H, Kitamura T, <u>Fukuda K</u> , Ieda M	Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors.	Proc Natl Acad Sci USA	110	12667-12672	2013
Egashira T, Yuasa S, <u>Fukuda K</u>	Novel insights into disease modeling using induced pluripotent stem cells.	Biol Pharm Bull	36	182-188	2013
<u>福田 恵一</u>	再生医学・再生医療の最前線 iPS細胞の循環器領域への臨床 応用	日本内科学会雑誌	102	2232-2240	2013
Mitani Y, Ohta K, Ichida F, Nii M, Arakaki Y, Ushinohama H, Takahashi T, Ohashi H, Yodoya N, Fujii E, Ishikura K, Tateno S, Sato S, Suzuki T, Higaki T, Iwamoto M, <u>Yoshinaga M</u> , Nagashima M, Sumitomo N	Circumstances and Outcomes of Out-Of-Hospital Cardiac Arrest in Elementary and Middle School Students in the Era of Public-Access Defibrillation: Implications for Emergency Preparedness in Schools.	Circ J	78	701-707	2014
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	10	600-603	2013
Ninomiya Y, <u>Yoshinaga M</u> , Kucho Y, Tanaka Y	Risk factors for symptoms in long QT syndrome in a single pediatric center.	Peadiatr Int	55	277-282	2013
<u>Yoshinaga M</u>	Prevalence of sudden death and out-of-hospital cardiac arrest in infants, children, and adolescents; what does it imply?	Circ J	77	2475-2476	2013
<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	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	7-35	2013
<u>吉永正夫</u> , <u>泉田直己</u> , <u>岩本眞理</u> , <u>牛ノ濱大也</u> , <u>住友直方</u> , <u>田打宣生</u> , <u>高橋良明</u> , <u>富田英</u> , <u>長嶋正實</u> , <u>堀米仁志</u> , <u>山内邦明</u> , 日本小児循環器学会学校心臓検診委員会	器質的心疾患を認めない不整脈の学校生活管理指導ガイドライン (2013年改訂版)	日本小児循環器学会雑誌	29	277-290	2013

吉永正夫	心臓突然死のリスク評価のパラメータ・HRT,HRV,QT時間の日内変動 - 自律神経の関与の面から -	臨床医のための循環器診療	18	43-47	2013
吉永正夫, 長嶋正實	Timothy症候群	医学のあゆみ	245	821-824	2013
堀米仁志, 石川康宏, 加藤愛章, 中村昭宏, 岩本眞理, 住友直方, 吉永正夫	独立成分文政期を用いた先天性QT延長症候群のT波の解析 主成分分析との診断精度の比較	日本心臓病学会誌	8	14-25	2013
Cuneo BF, Strasburger JF, Yu S, <u>Horigome H</u> , Hosono T, Kandori A, Wakai RT	In Utero Diagnosis of Long QT Syndrome by Magnetocardiography. Circulation.	Circulation	128	2183-2191	2013
Cuneo BF, Etheridge SP, <u>Horigome H</u> , Sallee D, Moon-Grady A, Weng HY, Ackerman MJ, Benson DW	Arrhythmia Phenotype During Fetal Life Suggests Long-QT Syndrome Genotype: Risk Stratification of Perinatal Long-QT Syndrome.	Circ Arrhythm Electrophysiol	6	946-951	2013
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	15	1256-1266	2013

<p>Lubitz SA, Lunetta KL, Lin H, Arking DE, Trompet S, Li G, Krijthe BP, Chasman DI, Barnard J, Kleber ME, Dörr M, Ozaki K, Smith AV, Müller M, Walter S, Agarwal SK, Bis JC, Brody JA, Chen LY, Everett BM, Ford I, Franco OH, Harris TB, Hofman A, Kääb S, Mahida S, Kathiresan S, Kubo M, Launer LJ, MacFarlane PW, Magnani JW, McKnight B, McManus DD, Peters A, Psaty BM, Rose LM, Rotter JI, Silbernagel G, Smith JD, Sotoodehnia N, Stott DJ, Taylor K, Tomaschitz A, Tsunoda T, Uitterlinden AG, VanWagoner DR, Völker U, Völzke H, Murabito JM, Sinner MF, Gudnason V, Felix SB, März W, Chung M, Albert CM, Stricker BH, <u>Tanaka T</u>, Heckbert SR, Jukema JW, Alonso A, Benjamin EJ, Ellinor PT</p>	<p>Novel genetic markers associate with atrial fibrillation risk in Europeans and Japanese.</p>	<p>J Am Coll Cardiol</p>		<p>In press</p>	<p>2014</p>
<p>Behr ER, Ritchie MD, <u>Tanaka T</u>, Kääb S, Crawford DC, Nicoletti P, Floratos A, Sinner MF, Kannankeril PJ, AA. M. Wilde, Bezzina CR, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Guicheney P, Bishopric NH, Marshall V, Shakir S, Dalageorgou C, Bevan S, Jamshidi Y, Bastiaenen R, Myerberg RJ, Schott J-J, Camm AJ, Steinbeck G, Norris K, Altman RB, Tatonetti N, Jeffery S, Kubo M, Nakamura Y, Shen Y, George, Jr. AL</p>	<p>Genome wide analysis of drug-induced Torsades de Pointes: lack of common variants with large effect sizes.</p>	<p>PLoS One</p>	<p>13</p>	<p>08180R2</p>	<p>2013</p>

Tokioka K, Kusano KF, <u>Morita H</u> , Miura D, Nishii N, Nagase S, Nakamura K, Kohno K, Ito H, Ohe T	Depolarization and Repolarization Abnormalities are Synergistically Associated with Fatal Arrhythmic Events in Patients with Brugada Syndrome.	J Am Coll Cardiol	63	In press	2014
Nakagawa K, Nagase S, <u>Morita H</u> , Ito H	Left ventricular epicardial electrogram recordings in idiopathic ventricular fibrillation with inferior and lateral early repolarization.	Heart Rhythm	11	314-317	2014
Wada T, <u>Morita H</u>	Clinical outcome and risk stratification in Brugada syndrome.	J Arrhythmia	29	100-109	2013
<u>Morita H</u>	Ion channel complex disease in long QT syndrome.	Heart Rhythm	10	738-739	2013
上岡 亮, 森田 宏	Brugada症候群と特発性心室細動	レジデント	7	91-100	2014
森田 宏	Brugada症候群	最新医学	68	1579-1587	2013
Kato K, <u>Makiyama T</u> , Wu J, Ding WG, Kimura H, Naiki N, Ohno S, Itoh H, Nakanishi T, Matsuura H, <u>Horie M</u>	Cardiac channelopathies associated with infantile fatal ventricular arrhythmias: From the cradle to the bench.	J Cardiovasc Electrophysiol	25	66-73	2014
<u>Kamakura T</u> , <u>Makiyama T</u> , Sasaki K, Yoshida Y, Wuriyanghai Y, Chen J, Hattori T, Ohno S, Kita T, <u>Horie M</u> , Yamanaka S, Kimura T	Ultrastructural maturation of human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in a long-term culture.	Circ J	77	1307-1314	2013
Nakajima S, <u>Makiyama T</u> , Hanazawa K, Kaitani K, Amano M, Hayama Y, Onishi N, Tamaki Y, Miyake M, Tamura T, Kondo H, Motooka M, Izumi C, Nakagawa Y, <u>Horie M</u>	A novel SCN5A mutation demonstrating a variety of clinical phenotypes in familial sick sinus syndrome.	Intern Med	52	1805-1808	2013
Fukuyama M, Ohno S, Wang Q, Kimura H, <u>Makiyama T</u> , Itoh H, Ito M, <u>Horie M</u>	L-type calcium channel mutations in Japanese patients with inherited arrhythmias.	Circ J	77	1799-1806	2013
Ohno S, Nagaoka 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.	Circ J	77	1534-1542	2013
牧山 武	疾患特異的iPS細胞を用いた遺伝性心疾患研究	心電図	33, Suppl e 3	5012-5022	2013

Katsuumi G, <u>Shimizu W</u> , <u>Watanabe H</u> , Noda T, Nogami A, Ohkubo K, Makiyama T, Takehara N, Kawamura Y, Hosaka Y, Sato M, Fukae S, Chinushi M, Oda H, Okabe M, Kimura A, Maemura K, Watanabe I, Kamakura S, <u>Horie M</u> , Aizawa Y, <u>Makita N</u> , Minamino T	Efficacy of bepridil to prevent ventricular fibrillation in severe form of early repolarization syndrome.	Int J Cardiol	E-pub		2014
<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, 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	10	542-547	2013
<u>Watanabe H</u> , Minamino T	Role of mutations in l-type calcium channel genes in brugada syndrome, early repolarization syndrome, and idiopathic ventricular fibrillation associated with right bundle branch block.	Circ J	77	1689-1690	2013
<u>Watanabe H</u> , Minamino T	Similarities and differences of clinical characteristics between brugda syndrome and early repolarization syndrome.	J Arrhythmia	29	134-137	2013
<u>渡部 裕</u> , <u>南野 徹</u>	不整脈症候群ならびに心臓電気生理学における遺伝学研究的の進歩.	血管	36	63-68	2013
<u>渡部 裕</u> , <u>南野 徹</u>	早期再分極症候群の特徴	最新医学.	68	422-428	2013
Kawashiri MA, <u>Hayashi K</u> , Konno T, Fujino N, Ino H, Yamagishi M	Current perspectives in genetic cardiovascular disorders: from basic to clinical aspects.	Heart Vessels	29	129-141	2014
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	61-67	2013
<u>林 研至</u> , <u>津田豊暢</u> , <u>川尻剛照</u> , <u>山岸正和</u>	家族性心房細動	最新医学	68	1626-1634	2013

<u>Kamakura S</u>	Epidemiology of Brugada syndrome in Japan and rest of the world.	J Arrhythmia	29	52-55	2013
<u>Kamakura S</u>	Two decades of progress in the understanding of Brugada syndrome.	J Arrhythmia	29	51	2013
<u>鎌倉史郎</u>	Brugada症候群	医学のあゆみ	245	782-789	2013
<u>鎌倉史郎</u>	Brugada波形	日本医事新報	4670	33-39	2013
<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 Dyssynchronous Heart Failure.	Circ Arrhythm Electrophysiol.	6	546-554	2013
Yamazaki T, Yamori M, Asai K, Nakano-Araki I, Yamaguchi A, Takahashi K, <u>Sekine A</u> , Matsuda F, Kosugi S, Nakayama T, Inagaki N, Bessho K: Nagahama Study Collaboration Group	Mastication and risk for diabetes in a Japanese population: a cross-sectional study.	PLoS One	8	e64113	2013
Tabara Y, Takahashi Y, Kohara K, Setoh K, Kawaguchi T, Terao C, Igase M, Yamada R, Kosugi S, <u>Sekine A</u> , Miki T, Nakayama T, Matsuda F: Nagahama Study Group	Association of Longer QT Interval With Arterial Waveform and Lower Pulse Pressure Amplification: The Nagahama Study.	Am J Hypertens	26	973-980	2013
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, 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, Sakata T, Tanaka K, Matsuzawa Y, Nakao K, <u>Sekine A</u>	Replication study of 15 recently published Loci for body fat distribution in the Japanese population.	J Atheroscler Thromb	20	336-350	2013

<p>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, 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, Sakata T, Tanaka K, Matsuzawa Y, Nakao K, <u>Sekine A</u>, Hotta K</p>	<p>NUDT3 rs206936 is associated with body mass index in obese Japanese women.</p>	<p>Endocr J</p>	<p>60</p>	<p>991-1000</p>	<p>2013</p>
<p>Tokuyama T, <u>Nakano Y</u>, Awazu A, Uchimura M, Makita Y, Fujiwara M, Watanabe Y, Sairaku A, Kajihara K, Motoda C, Oda N, Kihara Y</p>	<p>Deterioration of the circadian variation of heart rate variability in Brugada syndrome may contribute to the pathogenesis of ventricular fibrillation.</p>	<p>J Cardiol</p>	<p>13</p>	<p>385-387</p>	<p>2014</p>
<p>Sairaku A, Yoshida Y, <u>Nakano Y</u>, Kihara Y</p>	<p>Ablation of atrial fibrillation in Brugada syndrome patients with an implantable cardioverter defibrillator to prevent inappropriate shocks resulting from rapid atrial fibrillation.</p>	<p>Int J Cardiol</p>	<p>168</p>	<p>5273-5276</p>	<p>2013</p>