

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19375

研究課題名(和文) 心筋Naチャンネル(Nav1.8)異常を伴う遺伝性心臓突然死症候群のメカニズム解明

研究課題名(英文) Mechanism of Inherited Arrhythmia Syndrome with SCN10A mutation

研究代表者

福山 恵 (FUKUYAMA, MEGUMI)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：60625771

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：心臓突然死症候群患者において、心筋ナトリウムチャンネル蛋白の一種であるNav1.8をコードするSCN10A遺伝子の変異を検索し、変異がもたらす臨床像(心電図変化や症状など)への影響について検索した。

SCN5A遺伝子異常を有するブルガダ症候群患者において、SCN10A遺伝子変異が加わることでより重篤な症状を呈していた(心室細動、不整脈による死亡など) 全ての心臓突然死症候群患者において、SCN10A遺伝子変異を有する患者をピックアップし、危険度予測ソフトを用いて解析した結果、予測ソフトで危険と判定された変異保持者の方が、致死性不整脈発症率や死亡率が圧倒的に高かった。上記2点が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：I have investigated SCN10A polymorphisms in patients with inherited primary arrhythmia syndrome (IPAS), and their clinical characteristics.

1) Our SCN5A mutation carriers (except LQTS) with additional SCN10A SNPs were significantly symptomatic and more experience fatal arrhythmic attacks. Multiple genetic hits by SCN5A and SCN10A variants may result in a severer loss-of-function of voltage-gated sodium channels and thereby more malignant phenotypes. 2) We identified rare SCN10A variants in patients with IPAS, and half of them were suspected as deleterious using the prediction software. Most of patients with deleterious SNPs suffered from severe symptom. More than half of them experienced fatal arrhythmic attacks and 30% are deceased. Rare SNPs of SCN10A predicted as deleterious by prediction software might modify clinical severity of carriers.

I clarified these phenomena in our study.

研究分野：医学系循環器内科学

キーワード：遺伝性不整脈症候群 遺伝子 心筋ナトリウムチャンネル SCN10A Nav1.8

1. 研究開始当初の背景

近年のゲノムプロジェクトをはじめとした分子生物学の発展により、この20年で遺伝性疾患の研究は格段に進化した。遺伝性不整脈の分野では、1990年代半ばにQT延長症候群(LQTS)の原因遺伝子が初めて同定され、現在では13の遺伝子が報告されている。

また同じ遺伝性不整脈であるブルガダ症候群(BrS)は日本人に多く、特に壮年期の男性に心室細動を来し、突然死に至ることが知られており、現在までに15の原因遺伝子が報告されている。その中でもナトリウムチャンネル(SCN5A)の遺伝子異常が最も多く報告されているが、SCN5A変異が同定されるのは、典型的なBrS患者の20%以下である。したがって日本人に頻度の高いBrSにおいて、原因遺伝子の検索を実施し、症状・発症経路を解明することは、壮年期男性の突然死を予防するための喫緊の課題である。

我々はこれまで、世界的にも有数の約3700人の遺伝性不整脈患者コホートを集積しており、そのうち約400家系がBrSである。このコホートを活用し、私はBrSの原因遺伝子として注目されていたCACNA1Cの遺伝子解析を行い、日本で初めて統括的な報告をした。また特異なBrSとして、アミノ酸置換を伴わない変異でありながら、mRNAのスプライスエラーおよびナンセンス変異依存mRNA分解機構(NMD)によって生じるmRNA発現量低下をCACNA1Cで報告している。しかしながら、BrSにおけるCACNA1C遺伝子変異の頻度は2.2%に過ぎず、BrSの原因として他の遺伝的要因が関与していることが考えられた。

そこで着目したのがSCN10A遺伝子である。SCN10A遺伝子によってコードされるNav1.8蛋白は、4つのサブユニットから構成される大きなタンパクである。これまで、末梢神経細胞に主に存在し、痛みのメカニズムに関与しているとされてきた。しかし近年になり心筋細胞にも存在し、刺激電導系に関与することが明らかとなった。また2013年には、オランダとの共同研究において我々のグループはNature Genetics誌にBrSにナトリウムチャンネルをコードするSCN10Aの一塩基多型が関与していることを報告した(Bezzina CR, et al. Nat Genet. 2013 Nov;45(11):1409)。まだ非常に新しい報告であるため、解明されたメカニズムは非常に少ない。しかし心臓の活動電位においてNav1.8は非常に重要な働きをもっており、BrSにおけるSCN10A遺伝子異常の検索は必須であると考えられている。

2. 研究の目的

遺伝性心臓突然死症候群は、基礎疾患のない若年者に突然死を来す疾患であり、その原因解明と治療法の確立は焦眉の課題である。代表的なものとしてQT延長症候群やブルガダ症候群(BrS)が挙げられ、これらはカリウ

ムチャンネルやナトリウムチャンネルをコードする遺伝子の変異が原因となることが報告されている。2013年に我々のグループはナトリウムチャンネル蛋白Nav1.8をコードするSCN10A遺伝子のバリエーションとBrSとの関連を報告した。本研究は、未だ不明である日本人コホートのBrS患者におけるSCN10A変異の解析を通じて遺伝性心臓突然死症候群のメカニズム解明、及び早期診断・治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

①これまでに我々が集積した遺伝性心臓突然死症候群、約3700人のコホートにおいて、これまでに得られた知見から患者の病態を再評価するとともに心電図上の特徴を確認し、急性冠症候群による突然死とされてきた症例や、特発性心室細動症例を再検討する。また明らかに家族性に発症し、特徴的な遺伝性不整脈の所見を呈しながら遺伝子異常を同定できていない症例を抽出し、SCN10Aの変異を検索する。

②High Resolution Melting(HRM)法を用いることで、大量のサンプルを短時間でスクリーニングすることが可能になった。HRM法にて異常を認めた症例に対し、direct sequence法を用いて、遺伝子変異を同定する。また、必要に応じて、従来当施設でも行っていた熱変性高速液体クロマトグラフィー法(DHPLC)などのスクリーニング法も併用する。

③SCN10A遺伝子異常を同定後、これまでに我々が報告した他のイオンチャンネル異常を持った心臓突然死症候群症例と、臨床像の違いを検討する。SCN10A遺伝子のバリエーションにより、心筋電導障害を呈するという報告があり、変異保持者については心電図的な特徴についても解析する。さらに特徴的なブルガダ型の心電図を呈する症例から、J波を呈する症例まで多様性に富みながら、異常チャンネルの機能との関係はいまだ明らかにされていない。すでに実験モデルでは原因となるチャンネル異常により、薬剤感受性が違うことが示されており、実際の症例における薬剤感受性の違いによる治療法の選択、いわゆるテイラーメイド医療が可能となるのかを検討する。

遺伝子異常が発見された場合、培養細胞に変異チャンネルを発現させ、疾患発症に関与していると考えられる電気生理学的な異常を解析する。BrSで同定されるナトリウムチャンネル変異は、すべて内向きのナトリウム電流が減少し、いわゆるloss of functionを呈している。これらの変異はすべて細胞内にあり、機能異常の背景には他のaccessory subunitとの結合異常が生じている可能性がある。機能異常を示す変異を元に、ナトリウムチャンネル機能に影響を及ぼす配列も明らかにしていく。さらに患者リンパ球からiPS由来心筋細胞を樹立し、心筋活動電位やタンパクの相互作用の解析をすすめる。

④これらの解析を集積し、遺伝性心臓突然死症候群の早期発見及びリスク分類に活用し、治療法の確立を目指す。

4. 研究成果

①原因遺伝子変異が同定されていないBrS患者240名においてSCN10A変異の解析を行い、6名に変異を同定した。6名中4名が重篤な臨床症状(致死性不整脈や繰り返す失神発作)を呈していた。平成27年当時、BrSにおけるSCN10A遺伝子変異の同定は国内では初の報告であり、また海外からの報告もまだ2,3編しかなかった。本内容を報告した論文『Novel SCN10A variants associated with Brugada syndrome.』がEuropace誌に採択された。

②その後更に、SCN5A遺伝子変異とSCN10A変異との相互関連、臨床像への影響について解析を進めた。LQTSを除いたSCN5A変異保持者(BrS・洞不全症候群(SSS)・BrS+SSS・特発性心室細動(IVF))48名においてSCN10A遺伝子多型を検索した。結果、低頻度のSCN10A遺伝子多型(rare SNP)を併せ持ったSCN5A変異保持者の方が有意差を以て重篤な臨床像(心室細動など)を呈していた。この結果については同年6月にイタリア・ミラノで開催された国際学会『Europace(European Heart Rhythm Association)2015』にて口述発表を行った。

③平成28年度に入り、対象をBrSのみでなく家族性不整脈症候群全体に拡大した。BrS・LQTS・IVF・早期再分極症候群(ERS)・若年性心房粗細動・原因不明の心臓突然死患者560名を対象に、SCN10A遺伝子変異の有無を検索した。Minor Allele Frequency(MAF)0.01未満の稀なバリエーション保因者のみを抽出したところ、24種のバリエーションが63名に同定された。これらのバリエーションを変異の有害性予測ソフトであるCADDスコアで解析し、有害と予測された変異は14種類であり、それらの変異を有するキャリアは32名であった。32名のうち25名(78%)は心室細動や多型性心室頻拍、心臓突然死などの重篤な臨床像を呈していた。SCN10A遺伝子変異を有する患者63名のうちこれらの症状を呈していたのは33名であった。すなわち、有症候性の33名のうち25名(76%)が、CADDスコアで有害と判定されたバリエーションを有していた。この結果から、家族性不整脈症候群において、CADDスコアが高いSCN10A遺伝子バリエーションは、致死性不整脈イベントの発生など臨床像の重症度に関与している可能性が示唆された。

この結果については、2016年8月にイタリア・ローマで開催された欧州心臓病学会2016、及び2017年3月に石川県金沢市で開催された日本循環器学会学術集会総会にて発表を行っている。

④その他、SCN10A遺伝子以外のQT延長症候

群に関する原因遺伝子について他研究者の補助を行い、共同演者・共著者として多数の学会発表及び論文作成の補助に寄与した(次項目参照)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

① Phenotypic Variability of ANK2 Mutations in Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes
Circulation Journal. 2016; in press [査読有] [IF=4.124]

Ichikawa M, Aiba T, Ohno S, Shigemizu D, Ozawa J, Sonoda K, Fukuyama M, Itoh H, Miyamoto Y, Tsunoda T, Makiyama T, Tanaka T, Shimizu W, Horie M.

<http://doi.org/10.1253/circj.CJ-16-0486>

② Multigenerational Inheritance of Long QT Syndrome Type 2 in a Japanese Family.
Internal Medicine. 2016; 55(3):259-62 [査読有]

Ichikawa M, Ohno S, Fujii Y, Ozawa J, Sonoda K, Fukuyama M, Kato K, Kimura H, Itoh H, Hayashi H, Horie M.

<http://doi.org/10.2169/internalmedicine.55.6014>

③ Novel SCN10A Variants Associated with Brugada Syndrome

Europace, 2016, 18;(6):905-11 [査読有] [IF=4.021]

Fukuyama M, Ohno S, Makiyama T, Horie M
<http://dx.doi.org/10.1093/europace/euv078>

④ A Common Mutation of Long QT Syndrome Type 1 in Japan.

Circulation Journal, 2015, 79;(9):2026-2030 [査読有] [IF=4.124]

Itoh H, Dochi K, Shimizu W, Denjoy I, Ohno S, Aiba T, Kimura H, Kato K, Fukuyama M, Hasegawa K, Schulze-Bahr E, Guicheney P, Horie M.

<http://doi.org/10.1253/circj.CJ-15-0342>

[学会発表](計3件)

① 福山 恵, Rare Single Nucleotide Polymorphism of SCN10A in Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes
第81回日本循環器学会学術集会総会
2017年03月17日~2017年03月19日
石川県金沢市

② Fukuyama M, Rare Single Nucleotide Polymorphism of SCN10A in Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes
ESC CONGRESS 2016 (国際学会)

2016年08月27日~2016年08月31日
Rome, Italy

③ **Fukuyama M.**, *SCN10A* polymorphisms are associated with the clinical severity of probands with sodium channelopathies. Europace 2015 (国際学会), 2015年06月21日～2015年06月24日 Milan, Italy

堀江 稔 (HORIE, Minoru)
大野 聖子 (OHNO, Seiko)

※その他共同演者として7件(国際学会6件、国内学会1件)

[図書] (計1件)

① **福山 恵**, 科学評論社
『循環器内科』
第77巻4号第11章 (345~352頁) 2015年
「特殊なQT延長: Andersen症候群・Timothy症候群」

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福山 恵 (FUKUYAMA, Megumi)
滋賀医科大学・医学部・助教
研究者番号: 60625771

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者