

令和 6 年 7 月 1 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08420

研究課題名（和文）次世代シーケンスを用いた致死性不整脈の新たな原因遺伝子の探索

研究課題名（英文）Investigation of new causative genes of lethal arrhythmia using next-generation sequencing

研究代表者

八木原 伸江（Yagihara, Nobue）

新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：70750347

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：150例余りの不整脈症候群および不整脈を合併した心筋症の症例において、次世代シーケンスの手法を用いて原因遺伝子の同定を行った。全ゲノムや全エクソームの解析では、疾患とは関連のない変異や多型が多数同定されることが予測される。そのため、心筋に発現するイオンチャネル等のタンパクや、心筋の発生や維持に重要な役割を果たすタンパク等の遺伝子にターゲットを絞ることにより、病原性が高いと考えられる変異の同定を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

突然死を来しうる不整脈症候群の多くは遺伝性であることが知られているが、既知の原因遺伝子の解析を行っても変異が同定されないことは多く、原因遺伝子の解明は十分とは言えない。より多くの不整脈の症例で病原性が高いと考えられる原因遺伝子を同定するための独自のアッセイを構築した。既知の原因遺伝子に変異が同定された症例を除外した。Brugada症候群では2種、QT延長症候群では15種の新規の原因遺伝子の候補が同定された。

研究成果の概要（英文）：We used next-generation sequencing techniques to identify causative genes in over 150 patients with arrhythmia syndromes and cardiomyopathy complicated by arrhythmia.

Whole-genome or whole-exome analysis is expected to identify a large number of mutations and polymorphisms that are not related to diseases. Therefore, we aimed to identify mutations that are considered to be highly pathogenic by targeting proteins such as ion channels expressed in the myocardium and genes such as proteins that play an important role in the development and maintenance of myocardium.

研究分野：循環器学

キーワード：不整脈 次世代シーケンス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我が国の突然死の頻度は年間 10 万人以上と推定されており、心臓突然死はその半数以上にのぼる。心臓突然死の多くは健康で社会に貢献している年代に生じるため、社会的な損失が大きい。また、若年者の突然死は、器質的心疾患を有していない特発性不整脈が大半を占めており、発症前に大きな既往のない症例が多い。このような不整脈症候群の多くは遺伝性であることが知られているが、その原因遺伝子や不整脈発症の機序の解明は未だ十分とはいえない。最も研究の進んでいる QT 延長症候群でも遺伝子変異が同定される症例は約 70% で、日本人に頻度の高い Brugada 症候群においては、原因遺伝子に変異が同定されるのは 20% 程度の症例にとどまる。

また、家族性の心筋症の中には、若年より不整脈を合併し、突然死の原因となることも多い。近年、次世代シーケンスによる全エクソンあるいは全ゲノムの遺伝子解析が広く行われるようになってきた。しかし、同定された変異が不整脈の発症に寄与するかどうかは不明であることも多い。

### 2. 研究の目的

不整脈症候群や家族性の心筋症は遺伝性疾患であることが知られている。しかし、これらの疾患群の遺伝的背景や発症機序は未だ十分に解明されていない。

本研究の第一の目的は、不整脈症候群や、不整脈を合併した心筋症の症例を新潟大学医歯学総合病院循環器内科および小児科、国内の他施設からも多数の症例を集積し、その臨床的特徴や心電図所見、その他の検査データを解析し、不整脈の発症を予知し予防する方法を確立することである。

第二の目的は、次世代シーケンスの手法を用いて不整脈症候群における新たな原因遺伝子の特定および機能解析を行うことである。

第三の目的は、遺伝子検査および機能解析により得られた結果を臨床にフィードバックし、個々の症例に応じた個別化医療を確立することである。

### 3. 研究の方法

新潟大学医歯学総合病院ならびに国内の医療機関等で診療を受けた不整脈の症例、種々の心筋症で不整脈を合併した症例を多数集積し、それらの症例の遺伝学的背景、心電図所見等の臨床データの解析を施行する。不整脈イベントの発症時の状況等から、今後のイベント発生の予測因子を検討する。

これらの不整脈症例に対して、次世代シーケンスの手法を用いて遺伝子の検索を行う。次世代シーケンスを用いた網羅的な遺伝子検索では、疾患とは関係のない変異が多数同定され、その病的意義の解釈が困難な場合が多い。そのため、心筋細胞に発現するイオンチャネルやその修飾タンパク、心臓の発生や維持に重要な役割を担う転写因子や転写調節因子等をターゲットとして構築した独自の次世代シーケンスのアッセイを使用する。同定された変異は、SIFT や Polyphen2 等の機能予測プログラムを用いてその病原性を予測する。

臨床所見や遺伝子解析の結果を個々の症例に還元し、遺伝子型に基づいた不整脈発症のリスク層別化、薬物治療の選択等の個別化医療に応用する。

### 4. 研究成果

QT 延長症候群 60 例、Brugada 症候群 29 例、特発性心室細動 11 例、QT 短縮症候群 3 例、洞不全症候群 7 例、拡張型心筋症 5 例、肥大型心筋症 13 例、その他複数の不整脈を合併した症例を含め、計 155 例に対して次世代シーケンシングによる遺伝子検索を行った。

それぞれの疾患における既知の原因遺伝子にアミノ酸置換や欠失/挿入等の変異が同定された症例は 45 例であった。この中で、病原性を有する既報の変異や、機能予測プログラムでタンパクの機能に変化が生じる可能性が高いと考えられる変異を有する症例は 9 例 (QT 延長症候群 7 例、Brugada 症候群 2 例) であった。これらの症例は、同定された原因遺伝子の変異が病院である可能性が高いと考えられることから、新規の原因遺伝子の検索からは除外した。同一の疾患で、2 種類以上の機能予測プログラムで機能異常が生じると予測される変異が複数の症例で同定された既知の原因遺伝子ではない遺伝子は、Brugada 症候群で 2 種、QT 延長症候群で 15 種であった。これらの遺伝子には、これらの疾患の原因遺伝子ではないイオンチャネルや、心筋細胞の転写因子、心筋の発生の過程に関与するタンパク等が含まれており、従来は拡張型心筋症や先天性心疾患の原因遺伝子として知られている遺伝子が含まれていた。

今回変異が同定された遺伝子は、これら 2 つの疾患の新規の原因遺伝子の候補となり得ると考えられた。

従来、網羅的な次世代シーケンスの手法では、原因遺伝子の候補を絞ることに多くの時間と労力を必要としていた。

今回用いた手法は、疾患の新たな原因遺伝子を同定する際の候補遺伝子の絞り込みに活用できる可能性があると思われる。

本研究では、同定された変異の機能解析を行い、新規の原因遺伝子であるかどうかを評価することまでを目標としていたが、研究者の環境が変化したことにより、変異の同定以降の研究を遂行することは困難となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 光希  (Sato Akinori)  (40600044)	新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員    (13101)	
研究分担者	南野 徹  (Minamino Tohru)  (90328063)	順天堂大学・医学部・教授    (32620)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関