

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24591040

研究課題名(和文)心房細動患者における薬剤性QT延長の新たな評価法の確立と遺伝的背景の解析

研究課題名(英文) Noble method for evaluation of the drug induced QT prolongation in patients with atrial fibrillation and associated gene abnormality

研究代表者

水牧 功一 (Mizumaki, Koichi)

富山大学・臨床研究・倫理センター・特命准教授

研究者番号：90313618

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：ホルター心電図を用いて、心房細動患者の新たなQT 間隔変動の評価法を確立した。また、発作性心房細動例ではQT間隔は心房細動により短縮、洞調律復帰後に延長し薬剤性QT 延長によるtorsades pointes (TdP)に關与することを明らかにした。さらにTdPを発症した薬剤性QT延長症候群の心房細動患者にKCNE1遺伝子の単一塩基多型(SNP) G38Sが認められ、ホルター心電図とG38 SNPを発現させたsingle cellの電気生理学的検討によりG38 SNPは遺伝性QT延長症候群(LQT2)と同様のQT延長をきたすことが示された。

研究成果の概要(英文)：We established reliable methods for assessing QT/RR relation during atrial fibrillation (AF) using Holter ECG. Moreover, in patients with paroxysmal AF, bradycardia-dependent QT prolongation was attenuated during AF, and was corrected and gradually augmented along with continuation of SR, especially in patients receiving antiarrhythmic drugs. This could increase the risk of developing torsade de pointes (TdP). In both in vivo and in vitro studies, patients with KCNE1(G38S) had a rate-dependent repolarization abnormality similar to patients with LQT2, and therefore may have a potential risk to develop TdP.

研究分野：循環器内科

キーワード：QT延長症候群 心房細動 ホルター心電図 遺伝子解析 イオンチャネル

1. 研究開始当初の背景

薬剤による QT 間隔の延長は多形性心室頻拍(Torsade de pointes: TdP)を生じ突然死の危険性がある。薬剤性 QT 延長は、主に心筋細胞膜の外向き K⁺電流の一種である IKr 電流(遅延整流 K⁺電流の速い成分)の低下が原因となる(Antzelevitch C, et al. Heart Rhythm 2005)。IKr 電流の低下は頻脈時には減弱、徐脈時には増強する“逆頻度依存性効果”が認められる。このため心房細動を洞調律に復帰させる目的で IKr 遮断作用を有する抗不整脈薬投与した場合、心房細動頻脈時には明らかでなかった QT 延長が、洞調律復帰後の徐脈時に顕著となり TdP を生じることがある。従って、心房細動患者に QT 延長をきたしうる薬剤を投与する場合は、洞調律より嚴重な心電図チェックが必要となる。しかし、心房細動時には頻脈時に QT 延長が認められにくく RR 間隔が不定のため QT 間隔の正確に計測が困難なことから、心房細動患者における TdP の発生を予知することは洞調律時より困難である。

QT 間隔は心拍数により変動するため心拍数による補正 QT 間隔(QTc=QT/RR, Bazett 補正)が広く用いられているが頻脈時や徐脈時の補正に問題がある。近年、Holter 心電図を用いた 24 時間の QT 間隔の自動解析が可能となり、QT/RR 関係の解析が行われるようになった。心房細動患者でも QT/RR 関係の評価が試みられているが、同一例で洞調律と心房細動時の QT/RR 関係は異なり心房細動時の QT/RR 関係の評価法はいまだ確立されていない。

先天性 QT 延長症候群は心筋細胞膜のイオンチャンネルに関連した遺伝子異常による遺伝性不整脈疾患であり、現在まで 12 個もの責任遺伝子が同定され、50-70%にそれらの遺伝子異常が見いだされる。一方、TdP を生じた薬剤性 QT 延長症候群において 20 例中 8 例(40%)にイオンチャンネルに関連した遺伝子異常が見いだされ IKr チャンネルをコードする KCNH2 の変異が多かった(Itoh H, et al. Circ Arrhythmia Electrophysiol 2009)。本研究では 24 時間ホルター心電図の QT/RR 関係の解析から、心房細動患者で薬剤により QT 間隔の心拍依存性の変動に異常を認めた症例で、遺伝子検索を行い遺伝子異常が見られた場合には、その遺伝子がコードするチャンネル異常と QT/RR 関係の異常の関係を検討することにより、ホルター心電図を用いた表現型から背景にある遺伝子異常の推定が可能となり意義が大きい。

2. 研究の目的

薬剤により心電図上 QT 間隔が過度に延長すると先天性 QT 延長症候群と同様に致死的不整脈である多形性心室頻拍(Torsade de pointes: TdP)をきたす危険性がありその予防は重要であるが、同じ薬剤であっても QT 延長や TdP の出現に関しては個体差が大きく

その予知は容易ではない。一方、高齢化が進むわが国では心房細動を有する患者が増加し、その患者に QT 延長の原因となる薬剤が投与される機会も増加している。心房細動患者では不規則な心拍が TdP を起こし易くするのみならず、通常的心電図による QT 時間の測定が難しく QT 延長を正しく評価できない問題がある。本研究では心房細動患者の 24 時間ホルター心電図を用いた QT/RR 関係の評価方法を比較検討し、心房細動患者における新たな QT 間隔変動の評価法を確立する。また心房細動患者の薬剤性 QT 延長の背景となる遺伝子異常の有無を検討し、ホルター心電図による QT/RR 関係から遺伝子異常の推測を試み、TdP の予防に役立てることを目的とする。

3. 研究の方法

1)心房細動の患者の 24 時間ホルター心電図を用いた QT/RR 関係の解析法の確立
無投薬および抗不整脈薬投与中の発作性心房細動の患者の 24 時間ホルター心電図で、心房細動発作時と洞調律時の興計 RR 関係を解析する。心房細動では 1 心拍毎に変動する RR 間隔が QT 間隔に及ぼす影響を評価するため、a) 1 心拍毎の QT/RR 関係、b) 15 秒間の平均の QT/RR 関係、c) 1 心拍毎の QT 間隔とその 1~10 心拍前の平均 RR 間隔との関係、d) 1 心拍毎の QT 間隔と modified RR 間隔(Larrouae CE, et al. Heart Rhythm 2006)との関係を自動解析、洞調律時との比較検討し洞調律時の QT 間隔の予測に適した、心房細動における QT/RR 関係の新たな解析法を確立する。

2)心房細動患者の QT/RR 関係への 群抗不整脈薬の効果の検討
IKr チャンネル遮断作用を有する 群抗不整脈薬(アミオダロン、ソタロール、ベプリジル)は、持続性心房細動の洞調律化の目的で投与されるが、その投薬前後で 24 時間ホルター心電図での QT/RR 関係を解析し、心房細動中の QT/RR 関係への 群抗不整脈薬の効果を検討する。さらにこれらの投薬によって洞調律に復帰した患者では洞調律での QT/RR 関係と比較、薬剤性 QT 延長症候群の主な原因とされる IKr 電流の低下が心房細動中の QT/RR 関係に及ぼす影響を明らかにする。

3)薬剤性 QT 延長症候群と遺伝子異常の解析

薬剤性 QT 延長症候群の危険性のある薬剤(循環器系、非循環器系)が投与されている患者で、同意のもと 24 時間ホルター心電図を施行し QT/RR 関係を解析する。当施設で以前 422 例の健常者の QT 時間のデータベースを基に、年齢、性別をマッチさせた健常者の QT/RR 関係と比較し異常の有無を判定する(図 2)。健常者の平均値±標準偏差の 2 倍以上 QT/RR 関係の偏位を認める例で同意が得られた症例の遺伝子解析を行う。

4. 研究成果

1) 心房細動の患者の 24 時間ホルター心電図を用いた QT/RR 関係の解析法の確立

発作性心房細動 25 例を対象に 24 時間ホルター心電図を解析装置(SCM-8000)で 2 時間以上持続する心房細動発作時と洞調律時の QT 間隔(CM5 誘導)を自動計測した。一次回帰直線による QT-RR 関係の解析において RR 間隔を a) 1 心拍毎、b) 1~10 心拍前の平均 RR 間隔、c) modified RR 間隔 (Larrouae CE et al. Heart Rhythm 2006)を用いた 3 種類を解析し同一記録日の洞調律と比較した。その結果 10 心拍平均の QT/RR 関係が洞調律復帰後の QT/RR 関係を最もよく反映していた(図 1)。この結果は Heart Rhythm Society's 33rd Annual Scientific Sessions, 2012, Boston で発表した。

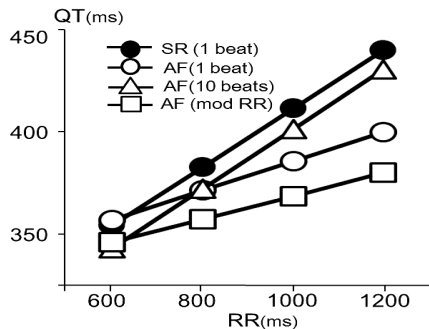


図 1 洞調律(SR)(1 心拍)、心房細動(AF)時 1 心拍毎、1~10 心拍前の平均 RR 間隔、modified RR 間隔を用いた QT-RR 関係

2) 発作性心房細動における QT-RR 関係の変動

発作性心房細動中には一心拍ごとの QT/RR 関係は心房細動の持続によって変動を認めため QT/RR 関係の経時的変動を検討した。その結果、QT/RR 関係の slope は AF 発作 0-1 時間より 4-5 時間では小さくなったが洞調律に復帰後 0-1 時間より 4-5 時間で増大し AF 開始前のレベルに復帰した。この傾向は QT 延長をきたす抗不整脈薬を内服した症例でより顕著となった。以上より、PAF 例では AF 持続により QT が短縮し洞調律復帰後は徐々に QT 延長し、薬剤性 QT 延長による torsade des pointes (TdP)に關与することが示された(図 2)(Yamaguchi Y, et al. Pacing Clin Electrophysiol 2015; 38:1418-1424)。

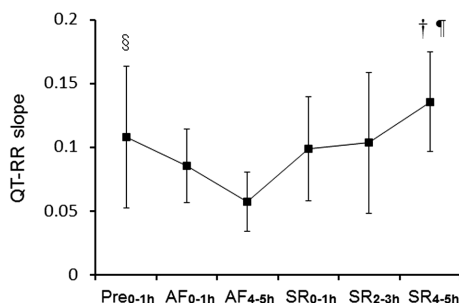


図 2 発作性心房細動中、および洞調律復帰後の QT-RR slope (1 心拍)の経時変化 § P < 0.05, † P < 0.001 versus AF_{4-5h}(AF₄₋₅

時間), † P < 0.05 versus AF_{0-1h}(AF₀₋₁ 時間)。

3) KCNE1(G38S)と薬剤性 QT 延長症候群

薬剤性 QT 延長症候群の持続性心房細動患者で torsade des pointes (TdP) を認めた症例の遺伝子解析で KCNE1 遺伝子の単一塩基多型(SNP)KCNE1(G38S)が認められた。本例の Holter 心電図での QT/RR slope は正常例に比較して増大し、徐脈時の QT 延長の増強が認められた(図 3)(Yamaguchi Y, et al. J Electrocardiol 2016; 49: 94-98)。

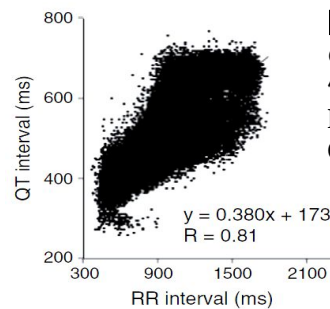


図 3 TdP 発症直後の持続性心房細動例(72 歳女性)の Holter ECG での QT-RR 関係

そこで KCNE1(G38S)が QT 延長症候群に關与する可能性について検討した。

洞調律調律の症例での 24 時間ホルター心電図での検討

QT-RR 関係の傾きは KCNE1(G38S)群を有し他の遺伝子異常やアミノ酸置換を伴う単一塩基多型を認めなかった 4 例では、LQT2 群と同様に健常群、LQT1 群と比べ有意に増大していた。また、LQT1、LQT2 群と同様に、KCNE1(G38S)群では頻脈時、徐脈時ともに QT 間隔が健常群より有意に延長した(図 4)(Yamaguchi Y, et al. Heart Vessels 2016; 31, in press)。

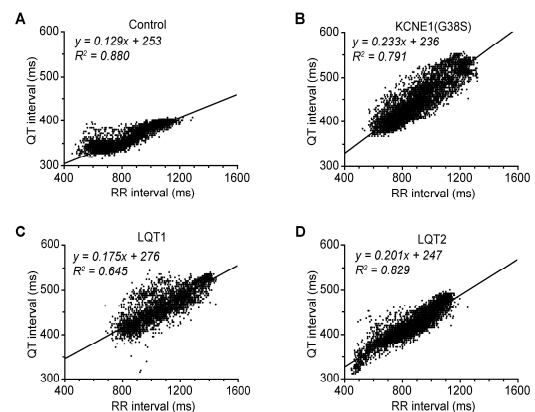


図 4 対照群(control)(A), KCNE1(G38S)群(B), LQT1 群(C), LQT2 群(D)の QT-RR 関係

KCNE1(G38S)を発現させた single cell を用いた電気生理学的検討

パッチクランプ法による機能解析では、KCNE1(G38S)は KCNH2 チャネル電流量を 34% 低下させた(P<0.05)。また、KCNH2 チャネルブロッカーの E4031 に対する感受性の亢進(P<0.05)と、細胞外 K⁺濃度低下に対する

inactivation gate の変化の増強を認めた。*KCNQ1* チャネル電流量は野生株と比べ有意差はなかったが、電位依存性の低下(約 13mV)を認めた($P < 0.01$)。*KCNE1(G38S)* と野生株の共発現では *KCNH2* 電流の低下、*KCNQ1* チャネルの電位依存性の低下がそれぞれ減弱した。*KCNE1(G38S)* は *KCNH2* 電流を抑制し、さらに Ikr blocker や低 K 血症によりその程度が増大した。すなわち、*KCNE1(G38S)* は QT 延長を起しやす条件において LQT2 と同様の QT 延長をきたし TdP のリスクがあることが示唆された(Yamaguchi Y, et al. *Circ J* 2014; 78: 610-618)。
以上の結果より *KCNE1(G38S)* に対する in vivo()と in vitro()での潜在的な病因を認め、QT 延長症候群に關与する可能性が考えられた。

4) 持続性心房細動患者の QT/RR 關係への群抗不整脈薬の効果と遺伝子異常

持続性心房細動の 15 例を対象に血群抗不整脈薬の投薬前後で Holter 心電図での QT/RR 關係(10 心拍平均を解析し、群薬投与前後で QT/RR slope が 0.05 以上増大し、かつ群薬投与後に 0.2 以上に増大した 8 例で遺伝子解析を施行した。その結果、*KCNH2* をはじめとする LQTS の原因遺伝子の異常は認められなかったが、前述の *KCNE1* 遺伝子の SNP (G38S:1 例, D85N:1 例)が認められた。

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 6 件)

1. Yamaguchi Y, Mizumaki K, Hata Y, Sakamoto T, Nakatani Y, Kataoka N, Ichida E, Inoue H, Nishida N. (2016) Latent pathogenicity of the G38S polymorphism of *KCNE1* K+ channel modulator. *Heart Vessels*. 31 (in press) 査読有り
DOI: 10.1007/s00380-016-0859-1
2. Yamaguchi Y, Mizumaki K, Hata Y, Inoue H. (2016) Abnormal repolarization dynamics in a patient with *KCNE1(G38S)* who presented with torsades de pointes. *J Electrocardiol*. 49, 94-98. 査読あり
DOI:10.1016/j.jelectrocard.2015.10.002.
3. Yamaguchi Y, Mizumaki K, Nishida K, Sakamoto T, Kataoka N, Nakatani Y, Inoue H. (2015) Time-Dependent Changes in QT Dynamics after Initiation and Termination of Paroxysmal Atrial Fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 38,1418-1424. 査読有り
DOI: 10.1111/pace.12746.
4. Yamaguchi Y, Nishide K, Kato M, Hata Y,

Mizumaki K, Kinoshita K, Nonobe Y, Tabata T, Sakamoto T, Kataoka N, Nakatani Y, Ichida E, Mori H, Fukurotani K, Inoue H, Nishida N. (2014) Glycine/Serine polymorphism at position 38 influences *KCNE1* subunit's modulatory actions on rapid and slow delayed rectifier K+ currents. *Circ J*. 78, 610-618. 査読有り
DOI: 10.1253/circj.CJ-13-1126

5. Kinoshita K, Komatsu T, Nishide K, Hata Y, Hisajima N, Takahashi H, Kimoto K, Aonuma K, Tsushima E, Tabata T, Yoshida T, Mori H, Nishida K, Yamaguchi Y, Ichida E, Fukurotani K, Inoue H, Nishida N. (2014) A590T mutation in *KCNQ1* C-terminal helix D decreases IKs channel trafficking and function but not Yotiao interaction. *J Mol Cell Cardiol*. 72, 273-280. 査読有り
DOI: 10.1016/j.yjmcc.2014.03.019.
6. Kimoto K, Kinoshita K, Yokoyama T, Hata Y, Komatsu T, Tsushima E, Nishide K, Yamaguchi Y, Mizumaki K, Tabata T, Inoue H, Nishida N, Fukurotani K. (2013) Characterization of a novel mutant *KCNQ1* channel subunit lacking a large part of the C-terminal domain. *Biochem Biophys Res Commun*. 440, 283-288. 査読有り
DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.09.075.

[学会発表](計 8 件)

1. Mizumaki K, Kataoka N, Yamaguchi Y, Nakatani Y, Sakamoto T, Tsujino Y, Nishida K. Postprandial Augmentation of J-wave Elevation in Patients with Idiopathic Ventricular Fibrillation. 第 80 回日本循環器学会学術集会, 2016 年 3 月 18-20 日, 仙台
2. Mizumaki K, Nishida K, Yamaguchi Y, Nakatani Y, Kataoka N, Sakamoto T, Inoue H. Regional Heterogeneity in Bradycardia-Dependent Augmentation of J Wave Elevation in Patients With Idiopathic Ventricular Fibrillation. The 8th Asia Pacific Heart Rhythm Society, 2015 年 11 月 19-22 日, Melbourne
3. 水牧功一. Role of autonomic nervous activity in patients with idiopathic ventricular fibrillation and long QT Syndrome. 第 30 回日本不整脈学会学術大会 / 第 32 回日本心電学会学術集会合同学術大会(招請講演), 2015 年 7 月 28-31 日, 京都
4. Yamaguchi Y, Mizumaki K, Nishida K,

Sakamoto T, Nakatani Y, Kataoka N, Inoue H. Abnormal repolarization dynamics in a patient with KCNE1(G38S) who demonstrated torsade de pointes. The 7th Asia Pacific Heart Rhythm Society, 2014年10月29日-11月1日, New Delhi

5. Yamaguchi Y, Mizumaki K, Nishida K, Sakamoto T, Kataoka N, Hata Y, Kinoshita K, Ichida F, Nishida N, Inoue H. Abnormal repolarization dynamics during daily life in patients with D85N single nucleotide polymorphism of KCNE1 gene. The 34th Annual Scientific Session of the Heart Rhythm Society, 2013年5月8-11日, Denver

6. 山口由明, 水牧功一, 西田邦洋, 坂本 有, 片岡直也, 井上 博. D85N SNP を有するQT延長症候群例におけるホルター心電図でのQT/RR、T-wave peak-to-end/RR関係の解析. 第29回日本心電学会, 2012年10月12-13日, 幕張

7. 山口由明, 水牧功一, 西田邦洋, 坂本 有, 片岡直也, 井上 博. 先天性QT延長症候群におけるQT/RR、T-wave peak-to-end (Tp-e)/RR関係の日内変動. 第60回日本心臓病学会, 2012年09月14-16日, 金沢

8. Yamaguchi Y, Mizumaki K, Nishida K, Iwamoto J, Nakatani Y, Kataoka N, Hata Y, Ichida F, Nishida N, Inoue H. Abnormal repolarization dynamics during daily life in patients with G38S single nucleotide polymorphism of KCNE1 gene. Heart Rhythm Society's 33rd Annual Scientific Sessions, 2012年5月9-12日, Boston

〔図書〕(計0件)

〔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

水牧 功一 (MIZUMAKI KOICHI)
富山大学・臨床研究・倫理センター・
特命准教授

研究者番号：90313618

(2)研究分担者

市田 蒔子 (ICHIDA FUKIKO)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号：30223100

(3)連携研究者

()

研究者番号：