

令和元年6月12日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15999

研究課題名(和文)QT延長症候群における心筋カルシウムチャネル(CaV1.2)異常のメカニズム解明

研究課題名(英文)Elucidation of mechanism of cardiac calcium channel (CaV1.2) abnormality in long QT syndrome

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)：我々がこれまでに集積した遺伝性心臓疾患約5000人のコホートにおいて、QT延長を呈しながら遺伝子異常を同定できていないLQTS患者892名を抽出し、CACNA1C遺伝子変異を検索した結果、古典的Timothy症候群3名を含む17名に変異を同定した。

これらLQTS患者の臨床像と心電図的特徴を解析し、late-appearance T waveを認めた症例は高率に重症な症状を呈しており、機能解析の結果から変異によるCa電流量の変化が大きいほど同様の心電図変化を呈することが示唆された。この特徴を、よく似た心電図変化を呈するLQT3型と比較した論文を作成した(現在査読付学会誌に投稿中である)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

まず従来は非常に稀で重篤な臨床像を呈すると考えられてきたLQT8の同定率がLQT3に匹敵するほど高く、心電図異常以外の症状を呈さない軽症例も存在することが明らかとなり、実臨床にてLQT患者の診療にあたる上で重要な事実となった。またこれらLQT8患者の心電図学的特徴とイオンチャネルの機能変化・臨床像の重症度を紐づけることで、LQT8患者の中でもハイリスク群に属する患者を予測することができ、治療や安全管理の上で非常に役立つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In a cohort of about 5000 of inherited lethal arrhythmic patients we collected, 892 LQTS patients who identified no mutation genes while exhibiting QT prolongation were extracted and searched for CACNA1C gene mutations. As a result, CACNA1C mutations were identified in 17 probands, including 3 probands with classical Timothy syndrome.

As a result of analyzing the clinical and electrocardiographic characteristics in these LQT8 patients, the cases with late-appearance T wave showed severe clinical phenotypes at a high rate. It was suggested that the larger of calcium current by mutation lead to the late-appearance T wave changes. We made a paper comparing this feature with LQT3, which exhibits similar ECG changes (currently being submitted to the peer review journal).

研究分野：遺伝性心臓疾患

キーワード：QT延長症候群8型 CACNA1C遺伝子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 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LQTSの原因として15の遺伝子が報告されている(Schwartz et al, J Am Coll Cardiol.2013;16;62(3):169-80)。LQT8に分類されるTimothy症候群(TS)は、1992年に最初の症例報告が為され、心電図におけるQT延長の他にも特徴的な心臓外の兆候(合指症、精神神経症状、免疫不全などの重篤な全身兆候)を呈し、他のQT延長症候群とはやや異なった性質を有する。2004年にL型カルシウムチャンネルをコードするCACNA1C遺伝子変異が原因であると解明されて以来、変異はG406R(TS1)・G402S(TS2)の2種類のみ、また患者は幼少期に死亡するため次世代には遺伝しないものと考えられてきた。しかし2013-14年にかけて我々のグループは、心臓兆候のみを有し、次世代に遺伝するCACNA1C遺伝子変異を伴うTSの亜型が存在することを報告した(Fukuyama et al, Europace 2014;16:1828-37)。また同時期に、米国から同様の報告が為されている(Boczek et al, Circ Cardiovasc Genet 2013;6:279-89)。我々はこれまで、世界的にも有数の約5000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。2010年より我々は全国で先駆けて遺伝性不整脈症候群におけるL型カルシウムチャンネル遺伝子の検索を進めてきた(当時は世界的にも検索を行っている施設は少数であった)。2013年にはブルガダ症候群(BrS)におけるCACNA1C遺伝子変異について日本で初めて統括的な報告をした(Fukuyama et al, Circulation Journal 77(7): 1799-1806, 2013.)。またCACNA1C遺伝子異常による特異な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 発現量の低下を世界で初めて報告している(参考文献 2014-4)。これらの研究の過程で、我々はTSの身体兆候を呈さずに他のLQTSと同じように心電図におけるQTc延長のみを有するCACNA1C遺伝子変異キャリアが存在するのではないかという仮説に行きついた。そしてこれまで原因遺伝子が同定されていないLQTSの278家系を抽出し、CACNA1C遺伝子の検索を行った結果、7家系に5種類のCACNA1C遺伝子を同定し報告した(Fukuyama et al, Europace, 2014,16;(12):1828-37)。

その後もCACNA1C遺伝子に対する検索は進み、参考文献2014-1で同定された変異について京都大学のグループと協力しiPS細胞を用いた変異心筋の再現等を行っている。また、次世代シーケンサーを用いることでスクリーニングがより精密になり、LQT患者に新たなCACNA1C遺伝子変異が次々と同定され、患者コホートも増え続けている。TSは非常に稀で特徴的な疾患と考えられてきたため、世界で初めて症例が報告されてから25年近く経過しているにも関わらず、その病態や治療については未だに殆ど発展していない。TSは現在パラダイムシフトに差し掛かっており、多くのLQTSコホートを有し世界で先駆けて同分野の研究を行ってきた我々が、TSの新たな臨床像や早期診断、治療法の確立を目指すことは責務であると考えられる。

### 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(LQTS)やブルガダ症候群が挙げられ、これらは心筋活動電位を調節するイオンチャンネル遺伝子の変異が原因となることが報告されている。中でもQT延長症候群8型(LQT8)に分類されるTimothy症候群(TS)は、L型カルシウムチャンネル(CaV1.2)をコードするCACNA1C遺伝子変異により重篤かつ特異的な全身兆候を呈すると考えられてきたが、2014年に我々のグループは、心臓外兆候を呈さないLQT8の存在について新たな見解を報告した。LQTS患者におけるCACNA1C遺伝子異常の同定を進め、変異と臨床像の特徴を解析し、疾患の早期診断および治療法の確立を目指す。

### 3. 研究の方法

本研究課題では、まず、これまでに集積した遺伝性心臓突然死症候群、1800家系(のべ約5000人)のコホートにおいて、病態や症状について詳しい再評価を行い、CACNA1C異常について検索を行うべき症例を抽出する。抽出した症例についてCACNA1C遺伝子の検索を行う。引き続き、同定された遺伝子異常に伴う異常タンパクの解析も視野に入れている。解析法として、電気生理学的手法やiPS由来心筋細胞を用いる。

そのような異常タンパクの解析と合わせて、心臓血管壁・心筋壁への影響や薬剤への反応性など、診断・治療に直結する研究をすすめる。また大規模なコホートにおいて、臨床症状と遺伝子異常との関係を検討し、疾患の診断および予後予測因子の同定を行い、治療法を確立する。

### 4. 研究成果

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5000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た。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、CACNA1C遺伝子変異を検索した。

その結果、これまで1%未満の稀な異常であると考えられてきたQT延長症候群8型(LQT8)においてLQTSの中で3番目に頻度が高いとされている3型(SCN5A遺伝子変異)とほぼ同等の検出率を示した(約2%)。これは2014年に発表した我々の報告から矛盾しないものであったが

LQT8 患者数が当時の約 3 倍となり、古典的な Timothy 症候群の患者も 3 名同定された。

これら LQT8 患者の臨床像と心電図の特徴を解析した。LQT8 患者の中で late-appearance T wave を認めた症例は高率に重症な臨床像を呈しており、これまでの機能解析の結果から変異による Ca 電流量の変化が大きいほど同様の心電図変化を呈することが示唆された。この特徴を、よく似た心電図変化を呈する LQT3 型と比較した論文を作成した(現在査読付学会誌に投稿中である)。

2) 京都大学と共同で研究を進めていた *CACNA1C*-A582D 遺伝子変異を iPS 細胞に発現させ、ジルチアゼムへの反応を確認した論文の共著者として作成に協力した(現在投稿中)。

上記の成果および並行して派生した QT 延長症候群の遺伝子変異に関する新たな知見について適宜国内の学会にて発表を行った。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 1 件)

Novel intracellular transport-refractory mutations in *KCNH2* identified in patients with symptomatic long QT syndrome.

Fukumoto D, Ding WG, Wada Y, Fujii Y, Ichikawa M, Takayama K, **Fukuyama M**, Kato K, Itoh H, Makiyama T, Omatsu-Kanbe M, Matsuura H, Horie M, Ohno S.

Journal of Cardiology 71: 401-408, 2018

### 〔学会発表〕(計 5 件)

Consideration of *CACNA1C* variants in Long QT Syndrome

**Megumi Fukuyama**, Seiko Ohno, Minoru Horie

第 65 回日本不整脈心電学会学術大会(2018)

Usefulness of Genetic Screening for Long QT syndrome in the School-Based Electrocardiographic Screening Programs

**福山 恵**, 大野 聖子, 小澤 淳一, 高山 幸一郎, 加藤 浩一, 伊藤 英樹, 青木 寿明, 牧山 武, 堀江 稔

第 83 回 日本循環器学会学術集会(2019)

An NGS-based genotyping in LQTS; minor genes are no longer minor

Seiko Ohno, Junichi Ozawa, **Megumi Fukuyama**, Takeru Makiyama, Minoru Horie

第 83 回 日本循環器学会学術集会(2019)

Excessive Ca<sup>2+</sup> Release from Ryanodine Receptors Underlying a RyR2 Mutation Associated with Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia

伊藤 英樹, 村山 尚, 呉林 なごみ, 大野 聖子, 藤居 祐介, 加藤 浩一, **福山 恵**, 高山 幸一郎, 渡邊 昌也, 安齊 俊久, 堀江 稔

第 83 回 日本循環器学会学術集会(2019)

Ebstein 病に左室緻密化障害を合併した心室頻拍の一例

西川 拓磨, 小澤 友哉, 奥谷 雄介, 藤居 祐介, 加藤 浩一, **福山 恵**, 芦原 貴司, 山本 孝

第 126 回日本循環器学会近畿地方会(2018)

### 〔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:

国内外の別:

取得状況 (計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：大野 聖子

ローマ字氏名：Ohno Seiko

研究協力者氏名：堀江 稔

ローマ字氏名：Horie Minoru

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、研究者個人に帰属されます。