

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08473

研究課題名（和文）遺伝性不整脈疾患における筋小胞体膜蛋白質の遺伝子解析と機能異常

研究課題名（英文）The genetic analysis and underlying function of the endoplasmic reticulum membrane protein targeting inherited arrhythmic syndromes

研究代表者

伊藤 英樹 (Itoh, Hideki)

広島大学・病院（医）・教授

研究者番号：30402738

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：基礎心疾患がないにもかかわらず致死的不整脈の出現を認める特発性心室細動において、細胞内Caイオン動態を司る小胞体膜関連蛋白に関連した遺伝子にターゲットを定め検索を行ったが、次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンス解析において病原性を有する変異は同定されなかった。機能喪失型リアノジン受容体を有する細胞レベルのin silico解析では、Na/Ca交換体の膜直下での電流は低下していたが、細胞質での電流は逆に増大しており、過去に報告されているiPS細胞における変化と類似していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞内Caダイナミクスに関連すると考えられる蛋白群の遺伝子変異は同定されなかったが、今後は細胞内Caダイナミクスに関連しない遺伝子も網羅的に調べることが必要である。本疾患の治療薬を考える上で、Na/Ca交換体に対するアプローチが有用であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Among patients with idiopathic ventricular fibrillation, we focused on the analysis of genes corresponding to Ca dynamics. The target sequence using the next-generation sequencing failed to reveal the genetic background in our cohort. Regarding the simulation study in silico, the current through Na/Ca exchanger reduced in the submembrane while this current increased in the myoplasm. This result was similar to that of a study using iPS which had been reported in the previous article.

研究分野：循環器内科

キーワード：リアノジン受容体 心室細動 シミュレーション

## 1. 研究開始当初の背景

基礎心疾患がないにもかかわらず致死的不整脈の出現を認める遺伝性不整脈疾患は、安静時心電図の QT 間隔の延長あるいは短縮を特徴とする QT 延長症候群・短縮症候群、右側胸部誘導の ST 上昇を特徴とするブルガダ症候群等が代表的で、原因となる遺伝子変異によって主としてイオンチャネルの機能異常をきたし、心電図変化や致死的不整脈が発生する。多くのイオンチャネルは細胞膜に存在するが、細胞内イオンの動態に関わるチャネルやその調節蛋白の遺伝子異常が原因となることも報告されている。

## 2. 研究の目的

今回我々は、遺伝子変異の同定されていない遺伝性不整脈疾患を対象として、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  動態を司る小胞体膜関連蛋白をコードする遺伝子に検索のターゲットを定め、変異遺伝子の病態解析から新規創薬につながるトランスレーショナルな研究を展開する。

## 3. 研究の方法

### (1) 遺伝子検索

遺伝子検査は次世代シーケンサーを用いた target sequence 法を実施した。正常人共通コホートに報告されている variant は除外した。検索する遺伝子は、ノックアウトマウスにてストレス負荷による不整脈を含む心臓機能異常が確認されているが、ヒト不整脈との関連を示す報告事例のないものとして(例外として肥大型心筋症 JP-2 変異が報告されている) TRIC-A チャネル (gene name: TMEM38A)、Calumin (gene name: CCDC47)、TMEM182 (gene name: TMEM182)、Mitsugumin 56 (gene name: HHATL)、Mitsugumin 23 (gene name: TMEM109)、Junctophilin 2 (gene name: JP-2) をターゲットとした。

### (2) in silico を用いた病態解析シミュレーション

連結期の極端に短い心室性期外収縮を切っ掛けに心室心拍から突然死に至る short-coupled variants of torsade de pointes は特発性心室細動の一亜型であるが、その病態生理を解明するために、in silico 心筋細胞モデルを用いて Ca 動態や細胞膜あるいは小胞体上の蛋白質の動態変化を観察した。心筋細胞モデルは Gaur and Rudy モデル(Biophys J 2011; 100: 2904-12) を利用した。short-coupled variants of torsade de pointes のマルコフモデルはリアノジン受容体の closed state から open state への遷移速度を 0 ( $k_{C1O1}=k_{C2O2}=0$ ) に調整し再現し、リアノジン受容体のシングルチャネルにおいて開口が見られないことを確認した。

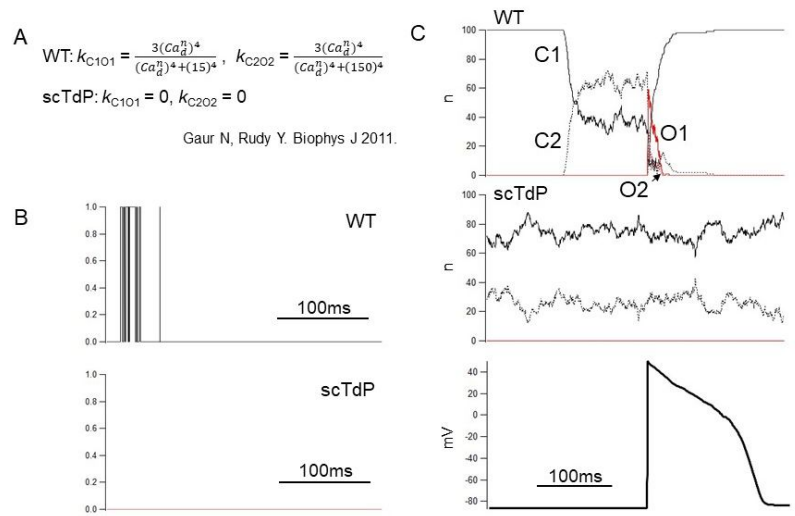
## 4. 研究成果

### (1) 遺伝子検索

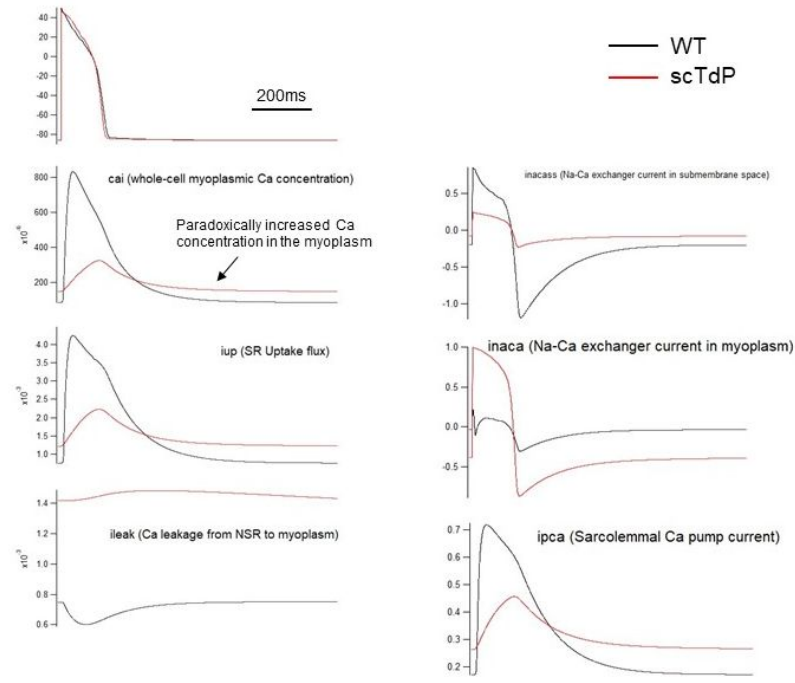
6 つの遺伝子(TMEM38A, CCDC47, TMEM182, HHATL, TMEM109, JPH2)のエクソン解析を実施したが、遺伝子変異を同定することはできなかった。他機関の解析結果などを考慮しても、現時点ではリアノジン受容体遺伝子が Short coupled variants of torsade de pointes の主要な原因遺伝子であると考えられた。

### (2) in silico を用いた病態解析シミュレーション

short-coupled variants of torsade de pointes のマルコフモデルはリアノジン受容体の closed state から open state への遷移速度を 0 ( $k_{C1O1}=k_{C2O2}=0$ ) に調整し再現し(下図 A)、リアノジン受容体のシングルチャネルにおいて開口が見られないことを確認した(下図 B、C)。



Gaur and Rudy モデルでは小胞体にリアノジン受容体以外のカルシウムイオンの leak 設定があるため、リアノジン受容体からのカルシウム放出が見られなくても小胞体からの Ca leak は観察され、興奮刺激を増加させると、この Ca leak の影響により short-coupled variants of torsade de pointes モデルの方が小胞体からの Ca 放出量はむしろ増える現象が観察された。また Na/Ca 交換系において、submembrane での電流は低下していたが、myoplasm での電流は逆に増大しており、私達が報告した機能喪失型のリアノジン受容体変異 S4938F の iPS 細胞を用いた解析結果 (Toth N, et al. Int J Mol Sci 2023; 24: 15307) と類似する結果であった。活動電位長の延長は認めなかった。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Kashiwa Asami, Itoh Hideki, Makiyama Takeru, Wada Yuko, Ozawa Junichi, Kato Koichi, Fukuyama Megumi, Nakajima Tadashi, Ohno Seiko, Horie Minoru	4. 巻 -
2. 論文標題 Clinical characterization of type 1 long QT syndrome caused by C-terminus Kv7.1 variants	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Heart Rhythm	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hrthm.2024.02.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakajima Tadashi, Kawabata-Iwakawa Reika, Tamura Shuntaro, Hasegawa Hiroshi, Kobari Takashi, Itoh Hideki, Horie Minoru, Nishiyama Masahiko, Kurabayashi Masahiko, Kaneko Yoshiaki, Ishii Hideki	4. 巻 17
2. 論文標題 Novel CACNA1C R511Q mutation, located in domain - linker, causes non-syndromic type-8 long QT syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0271796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0271796	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ono Katsushige, Iwasaki Yu-ki, Akao Masaharu, Itoh Hideki, et al, on behalf of the Japanese Circulation Society and Japanese Heart Rhythm Society Joint Working Group	4. 巻 86
2. 論文標題 JCS/JHRS 2020 Guideline on Pharmacotherapy of Cardiac Arrhythmias	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 1790 ~ 1924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-20-1212	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ono Katsushige, Iwasaki Yu ki, Akao Masaharu, Itoh Hideki, et al, the Japanese Circulation Society and, Japanese Heart Rhythm Society Joint Working Group	4. 巻 38
2. 論文標題 JCS/JHRS 2020 Guideline on Pharmacotherapy of Cardiac Arrhythmias	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Arrhythmia	6. 最初と最後の頁 833 ~ 973
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/joa3.12714	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Koichi, Isbell Holly M., Fressart Veronique, Denjoy Isabelle, Debbiche Amal, Itoh Hideki, Poinot Jacques, George Alfred L., Coulombe Alain, Shea Madeline A., Guicheney Pascale	4. 巻 15
2. 論文標題 Novel CALM3 Variant Causing Calmodulinopathy With Variable Expressivity in a 4-Generation Family	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology	6. 最初と最後の頁 e010572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCEP.121.010572	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Itoh Hideki, Murayama Takashi, Kurebayashi Nagomi, Ohno Seiko, Kobayashi Takuya, Fujii Yusuke, Watanabe Masaya, Ogawa Haruo, Anzai Toshihisa, Horie Minoru	4. 巻 69
2. 論文標題 Sudden death after inappropriate shocks of implantable cardioverter defibrillator in a catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia case with a novel RyR2 mutation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Electrocardiology	6. 最初と最後の頁 111 ~ 118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jelectrocard.2021.09.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lahrouchi Najim, Tadros Rafik, Crotti Lia, Mizusawa Yuka, Postema Pieter G., Makiyama Takeru, Ohno Seiko, Itoh Hideki, et al.	4. 巻 142
2. 論文標題 Transethnic Genome-Wide Association Study Provides Insights in the Genetic Architecture and Heritability of Long QT Syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 324 ~ 338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.045956	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Walsh Roddy, Lahrouchi Najim, Tadros Rafik, Kyndt Florence, Glinge Charlotte, Postema Pieter G., Horie Minoru, Ishikawa Taisuke, Itoh Hideki, et al.	4. 巻 23
2. 論文標題 Enhancing rare variant interpretation in inherited arrhythmias through quantitative analysis of consortium disease cohorts and population controls	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genetics in Medicine	6. 最初と最後の頁 47 ~ 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41436-020-00946-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Itoh Hideki, Hisamatsu Takashi, Tamura Takuhisa, Segawa Kazuhiko, Takahashi Toshiaki, Takada Hiroto, Kuru Satoshi, Wada Chizu, Suzuki Mikiya, Suwazono Shugo, Sasaki Shingo, Okumura Ken, Horie Minoru, Takahashi Masanori P., Matamura Tsuyoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Cardiac Conduction Disorders as Markers of Cardiac Events in Myotonic Dystrophy Type 1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e015709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.119.015709	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 伊藤英樹、堀江 稔、竹島 浩	4. 巻 35
2. 論文標題 遺伝性不整脈疾患における筋小胞体Caシグナリング	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bio Clinica	6. 最初と最後の頁 76~79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 伊藤英樹, 加藤浩一, 中野由紀子, 平塚真弘
2. 発表標題 Genetic Aspects of Drug-induced Long QT syndrome: Ion Channel Genes and Race-Specific Variants of CYP genes
3. 学会等名 第87回日本循環器学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 伊藤英樹
2. 発表標題 特別演題「薬物と心電図」: 薬剤誘発性QT延長症候群の顕在化に関わる薬理学的作用機序
3. 学会等名 心電学関連春季大会2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤英樹
2. 発表標題 Mutation-specific risk stratification for congenital long QT syndrome
3. 学会等名 第68回日本不整脈心電学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hideki Itoh, Minoru Horie, Keiji Imoto
2. 発表標題 Enhanced Ca <sup>2+</sup> leakage from the network sarcoplasmic reticulum associated with RyR2 with a loss of function mutation: a simulation study
3. 学会等名 第67回日本不整脈心電学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hideki Itoh, Satoshi Ueshima, Karin Hirata, Daiki Hira, Youei Tabuchi, Tomoya Ozawa, Yoshihisa Nakagawa, Minoru Horie, Tomohiro Terada, Toshiya Katsura
2. 発表標題 The ABCG2 polymorphism, 421C>A, modifies the pharmacokinetics of apixaban
3. 学会等名 第67回日本不整脈心電学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤英樹
2. 発表標題 筋強直性ジストロフィーの心伝導障害・不整脈の病態と治療
3. 学会等名 筋ジストロフィーの心不全治療（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中島 忠, 伊藤 英樹, 田村 峻太郎, 長谷川 寛, 小針 堯司, 堀江 稔, 倉林 正彦, 金古 善明
2. 発表標題 Novel CACNA1C R511Q Mutation, Located in Domain1-2 Linker, with Delayed Calcium Channel Inactivation Causes Non-Syndromic Type-8 Long QT Syndrome
3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Yan GX, Kowey PR, Antzelevitch C (Eds.) Itoh H, Shimizu W (Chap20)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 876
3. 書名 Management of Cardiac Arrhythmias,3rd ed.	

〔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	竹島 浩 (Takeshima Hiroshi) (70212024)	京都大学・薬学研究科・教授  (14301)	
研究分担者	加藤 浩一 (Kato Koichi) (70736983)	滋賀医科大学・医学部・助教  (14202)	
研究分担者	堀江 稔 (Horie Minoru) (90183938)	滋賀医科大学・アジア疫学研究センター・特任教授  (14202)	

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
---------	---------