

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月25日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790604

研究課題名（和文） 薬剤誘発性QT延長症候群が疑われる突然死事例における遺伝的背景に関する検討

研究課題名（英文） Genetic background of sudden death cases suspected of drug induced-long QT syndrome

研究代表者

高橋 玄倫 (TAKAHASHI MOTONORI)

神戸大学・大学院医学研究科・特命講師

研究者番号：90509100

研究成果の概要（和文）：QT延長症候群は多型性心室頻拍や心室細動、ひいては突然死をきたしうる症候群である。一方、向精神薬は薬剤誘発性QT延長症候群の原因薬剤の1つとされている。本研究は、原因不明の突然死事例のうち向精神薬の服用が明らかな事例について、その遺伝素因を検索することにより①突然死の病態解明に寄与する、②類似の遺伝背景をもつ遺族が同症候群や突然死の発症を予防する、ことを目的とした。

研究期間内に兵庫医科大学法医学講座、兵庫県監察医務室および神戸大学大学院医学研究科地域社会医学・健康科学講座法医学分野で検案・解剖した事例のうち、解剖によっても死因が明らかにならなかった突然死事例であり、かつ、生前に向精神薬を服用していたことが死体発見現場の状況や死後の薬物分析の結果から明らかである20事例について検討する予定だった。しかし、条件に合う事例が少なく、また、ご遺族の同意が得られなかった事例もあったため、原因不明の突然死事例7件のみについて検討を行った。

対象7例について、KCNQ1、KCNH2 および SCN5A のエクソンの遺伝子変異の有無をダイレクトシーケンシング法で検討した。その結果、いくつかの一塩基多型は見られたものの、不整脈死につながるような新規の遺伝子変異は見つからなかった。

しかし、肉眼解剖では有意な所見が得られない突然死事例は少なからず存在する。今後も、本研究の対象である薬剤誘発性QT延長症候群のみならず、一般に原因不明の突然死の死後遺伝子検査についての研究をつづけ、形態的には原因不明の突然死事例の病態解明に寄与したいと考えている。

研究成果の概要（英文）：Long QT syndrome is a heart rhythm disorder which can cause Torsades de pointes, ventricular fibrillation and sudden death. Some of this syndrome result from DNA mutations and/or are caused by certain medications. I investigated the genetic background of sudden death cases without remarkable autopsy findings.

I intended to investigate on 20 cases; however only 7 cases were enrolled in this study with written informed consent. Direct sequencing analysis on exons of KCNQ1, KCNH2 and SCN5A showed some single nucleotide polymorphisms which were previously known but no new mutations and polymorphisms.

I would like to continue and develop the study on genetic analysis of sudden death cases.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2011年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 総計 | 2,100,000 | 630,000 | 2,730,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：突然死・死後遺伝子検査

1. 研究開始当初の背景

(1) 突然死は死者の遺族に心理的、社会的な

影響を与える重篤なイベントである。特に死者が青壮年であれば、その死が家庭および社会に及ぼす影響は大きく、また、死者が乳幼児であった場合、保育状況に余計な疑いがかかる恐れもある。このため、生前にはほぼ健康であった人が突然死した事例において、その死の危険因子を解析し、病態の解明に寄与することは、医学的にも社会的にも極めて有意義な研究であるといえる。

(2) 臨床の現場で頻繁に使用されている薬剤の中で、ある種の抗生物質や向精神薬（とくに抗うつ薬）などの服用によって、心電図上のQT時間が延長するQT延長症候群が起きやすいことが知られている。このQT時間の延長は多型性心室頻拍や心室細動の原因となり、ひいては突然死を起こしうる。米国では外来通院患者のうち約23%にQT時間を延長する薬剤が処方されており、このうち約50%の症例で向精神薬を処方されていたことが報告されている[1]。しかし、薬剤誘発性QT延長は臨床医（とくに非循環器医）にあまり意識されない。このため、これらの薬剤の処方を受けている患者全員が定期的な心電図検査等によって経過観察されているわけではない。このように、薬剤誘発性QT延長症候群は、日常診療の現場であまり認識されないまま発症し、突然死をひき起こす恐れがある。

(3) しかし、薬剤の服用に伴うQT時間の延長は、同一の薬剤・同一の容量であっても、すべての患者に同じ程度・同じ頻度で起こるものではなく、個体差が大きい。すなわち、ほとんどの患者ではQT延長をきたさない薬剤や用量であっても、ごく一部（1,000分の1以下）の患者では心電図変化が認められるようになる。その患者側の誘因として、心

筋チャネル遺伝子（KCNQ1、KCNH2、SCN5A、KCNE1、KCNE2など）の変異および多型が指摘されている[2]（下表）。

表. QT延長症候群の原因遺伝子

| | 原因遺伝子 | 割合 |
|------|-------|------|
| LQT1 | KCNQ1 | 約40% |
| LQT2 | KCNH2 | 約40% |
| LQT3 | SCN5A | 約10% |
| LQT4 | ANK2 | わずか |
| LQT5 | KCNE1 | わずか |
| LQT6 | KCNE2 | わずか |
| LQT7 | KCNJ2 | わずか |

(4) 逆もまた然りである。これらの遺伝子異常をもつ保因者の中には、薬剤などの後天的誘因とは無関係に先天的にQT延長を示すものもいる。一方、たとえ心筋チャネル遺伝子に異常が見られても、おそらくは他のイオンチャネルを介した膜電位変化による補正によって、平時は何らQT時間に異常を認めない者もいる。後者は潜在性QT延長症候群とも呼べるものであり、他の要因、すなわち、薬剤の服用や性別（男性）、感情（驚愕）、血中カテコラミン類の濃度上昇、他のイオンチャネルの変異・多型の集積などにより徴候が顕在化するものと思われる。

参考文献

- [1] Curtis LH et al. Prescription of QT-prolonging drugs in a cohort of about 5 million outpatients. *Am J Med.* 2003; 114(2): 135-141.
- [2] Paulussen AD et al. Genetic variations of KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1, and KCNE2 in drug-induced long QT syndrome patients. *J Mol Med.* 2004;

2. 研究の目的

(1) 原因不明の突然死事例のうち向精神薬の服用が明らかな事例について、その遺伝素因を検索することにより①突然死の病態解明に寄与する、②類似の遺伝背景をもつ遺族が同症候群や突然死の発症を予防する、ことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) はじめに

この研究は兵庫医科大学における「兵庫医科大学におけるヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する規程」に則り計画され、倫理委員会の審査ののち承認されている「突然死例における突然死関連遺伝子変異の検索に関する研究」および、神戸大学大学院医学研究科の倫理委員会の審査ののち承認されている「原因不明の突然死例における突然死関連遺伝子変異の検索に関する研究」の一部をなすものである。

本研究の遂行に当たっては、各指針を遵守して、かつ、「法医学領域の解剖等により採取・保存された臓器・体液等の法医学研究への使用」(平成14年、日本法医学会)および「日本法医学会プライバシーポリシー」(平成18年、日本法医学会)に則り、研究を行った。

(2) 対象

兵庫医科大学法医学講座、兵庫県監察医務室、および神戸大学大学院医学研究科地域社会医学・健康科学講座法医学分野で検案・解剖した事例のうち、解剖によっても死因が明らかにされなかった突然死事例であり、かつ、生前に向精神薬を服用していたことが現場の状況・死後の薬物分析の結果から明らかであるものについて、2年間で20例について検

討する予定であった。しかし、遺族より同意書を得て研究を行ったのは、原因不明の突然死7事例についてである。

(3) DNAの精製

和光純薬社「DNA Extractor WB kit」を用いて、解剖時に採取し保存してある血液、約500 μ lからゲノムDNA 10~30 μ gを抽出した。精製したDNAは緩衝液に溶解して冷蔵保存しておいた。

(4) PCR(Polymerase Chain Reaction)

Applied Biosystems社「AmpliAq Gold PCR Master Mix」を用いてサンプルを調整した。その後、C1000サーマルサイクラー(Bio-Rad Laboratories社)もしくはVeritiサーマルサイクラー(Life Technologies社)を用いてKCNQ1、KCNQ1およびSCN5Aのエクソンをそれぞれ増幅した。これらの遺伝子は心筋に発現しているカリウムおよびナトリウムチャンネルを構成する蛋白質をコードしており、これらの遺伝子の変異が向精神薬の影響下での致死性不整脈の素因となる可能性が指摘されている。

(5) 塩基配列の決定

Macherey-Nagel社「NucleoSpin Extract 2」を用いてPCR産物を精製した。その後、Applied Biosystems社「BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing kit」を用いてサンプルを調整し、平成22年度は兵庫医科大学共同利用研究施設に設置されているApplied Biosystems社ジェネティックアナライザ(3130x1)を用いて塩基配列を決定した。平成23年度はオペロンバイオテクノロジー社にシーケンス解析を依頼した。

4. 研究成果

(1) 研究期間内に兵庫医科大学法医学講座、兵庫県監察医務室および神戸大学大学院医学研究科地域社会医学・健康科学講座法医学分野で検案・解剖した事例のうち、検案・解剖によっても死因が明らかにならなかった突然死事例であり、かつ、生前に向精神薬を服用していたことが死体発見現場の状況や死後の薬物分析の結果から明らかである 20 事例について検討する予定だった。しかし、予定と比べて事例が少なく、また、ご遺族の同意が得られなかった事例もあったため、原因不明の突然死事例 7 件のみについて検討を行った。

(2) 対象 7 例について、KCNQ1、KCNH2 および SCN5A のエクソンについてダイレクトシーケンス法で遺伝子変異の有無を検討した。その結果、以下の 1 塩基多型を有する事例があることが分かった。

KCNQ1

p. I145I
p. P448R
p. G492R
p. S546S

KCNH2

p. I489I
p. F513F
p. L546L
p. Y652Y
p. K897T

SCN5A

p. A29A
p. H558R
p. E1061E
p. D1818D

検討した事例については、不整脈死につながるような新規の遺伝子変異は見つからなかった。

(3) 肉眼解剖では有意な所見が得られない突然死事例は少なからず存在する。今後も、本研究の対象である薬剤誘発性QT延長症候群のみならず、一般に原因不明の突然死の死後遺伝子検査についての研究をつづけ、形態的には原因不明の突然死事例の病態解明に寄与したいと考えている。

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 1 件)

① Takahashi M, Sato T, Nishiguchi M, Suzuki K, Nishio H. Postmortem genetic analysis for a sudden death case complicated with Marfan syndrome. Leg Med (Tokyo) (査読有り) 2010; 12(6): 305-307.

[その他]

兵庫医科大学基礎配属実習(2010年6月、2011年1月)、兵庫医科大学共同研究施設技術講習会(2010年6月)、香川大学医学部学生講義(2010年10月、2011年11月)、警察大学校(法医専攻)研修(2011年5月、10月、11月、神戸)に於いて研究成果の一部を紹介した。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 玄倫 (TAKAHASHI MOTONORI)
神戸大学・大学院医学研究科・特命講師
研究者番号：90509100