

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461087

研究課題名(和文) 特発性心室細動症候群に対する網羅的遺伝子解析

研究課題名(英文) Comprehensive genetic analysis in patients with idiopathic ventricular fibrillation

研究代表者

相澤 義泰 (Aizawa, Yoshiyasu)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任講師

研究者番号：20528145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：特発性心室細動の症例は合計105例集積した。その内右脚ブロックを呈した症例は6例。次世代シーケンサーによりABCC8, CDH2, SCN3B, SCNN1B遺伝子などにrare variantが検出された。本研究により新規の遺伝子変異と心室細動発生のメカニズムを検討することで、病態解明および個々の遺伝型に対するテーラーメイド医療が実現するものと期待される。

研究成果の概要(英文)：A total of 105 cases of idiopathic ventricular fibrillation were collected. There were 6 cases showing right bundle branch block. Rare variants were detected in ABCC8, CDH2, SCN3B, SCNN1B genes by the next generation sequencer. By investigating the novel genetic mutation and the mechanism of the development of ventricular fibrillation in this study, it is expected that elucidation of the pathology and tailor-made medicine for individual genotypes will be realized.

研究分野：循環器病学

キーワード：不整脈 遺伝子解析 心室細動 右脚ブロック 次世代シーケンサー ブルガダ症候群

1. 研究開始当初の背景

器質的心疾患を有さない例に発生する心室細動を特発性心室細動と呼ぶが、このうちブルガダ症候群やJ波を伴う特発性心室細動はそれぞれに特徴的な心電図所見を呈し、独立した疾患群と考えられるようになり注目されている。一方、完全右脚ブロックは、虚血心や不全心例に出現した場合を除けば予後良好な心電図所見とされてきた。申請者は完全右脚ブロックを呈する特発性心室細動症例およびブルガダ症候群における完全右脚ブロックの意義を報告してきた。

2. 研究の目的

これらの若年性突然死の原因となる特発性心室細動のうち、特に完全右脚ブロックを呈する特発性心室細動症例およびブルガダ症候群の発生機序に、何らかの心筋イオンチャネルの遺伝子異常が関与し、発生に関与する可能性があった。しかし、心室細動に関連する遺伝子異常はなお未知の部分が多く、その病態の解明が急務であった。未だ明らかにされていないこれらの右脚ブロックを呈する突然死症候群患者の分子生物学的背景を次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析にて探索することを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1)概要

心電図上右脚ブロックを呈する若年発症例や家族発生例の心室細動症例において、候補遺伝子アプローチ法によりこれまでに報告の無い遺伝子異常を明らかにする。候補遺伝子アプローチでは原因遺伝子同定に限界があり、このような症例に対しては次世代シーケンサーを利用する。これにより明らかになった遺伝子異常に対して、電気生理学的に機能解析を行う。必要に応じて共焦点レーザー顕微鏡、動物実験などを行う。得られた実験データから心室細動の発生機序と病態を解明し、臨床応用の可能性およびテラーメイド医

療の可能性を探索する。

完全右脚ブロック自体の不整脈源性を明らかにするために、特発性心室細動症例の大家系例においては連鎖解析により原因遺伝子の遺伝子座を特定する。孤発例や小家系例においては候補遺伝子アプローチにより、心室細動の発生に関与することが期待されるいくつかの遺伝子の変異スクリーニングを行う。また候補遺伝子アプローチより変異同定が出来ない例においては次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析を行う。得られた変異遺伝子の機能解析を行うことで分子生物学的背景を明らかにすることを研究の目的とする。遺伝子解析と並行して変異が同定された時点で、哺乳類動物細胞を用いたチャネル蛋白発現系にて心臓イオンチャネルの機能解析を行う。

(2)サンプル収集

当大学付属病院を中心とした多施設にて収集された特発性心室細動の患者および家族に書面にて説明をし同意を得た。同意が得られた患者より末梢血 7ml を採取し、リンパ球よりゲノム DNA を抽出した。

(3)候補遺伝子アプローチによる DNA シーケンシング

これまでに報告のある主な特発性心室細動に関与する候補遺伝子のエクソンコード領域を特異的に増幅するプライマーを設計し PCR、DNA シーケンスにて塩基配列を解析した。

(4)次世代シーケンサーによる DNA シーケンシング

候補遺伝子アプローチで変異の同定されなかった家系に対し、次世代シーケンサーにて塩基配列を決定した。次世代シーケンサーで解析する遺伝子は市販パネル (TruSight One) を用いて 4813 遺伝子をあらかじめ設定しこれらを標的遺伝子とした。

4. 研究成果

特発性心室細動の症例は合計 105 例集積した。

その内右脚ブロックを呈した症例は6例。次世代シーケンサーにより ABCC8, CDH2, SCN3B, SCNN1B 遺伝子などに rare variant が検出された。本研究により新規の遺伝子変異と心室細動発生のメカニズムを検討することで、病態解明および個々の遺伝型に対するテーラーメイド医療が実現するものと期待される。

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19件)

1. Nishiyama T, Kimura T, Nishiyama N, Aizawa Y, Fukuda K, Takatsuki S. Discrimination between QRS and T Waves Using a Right Parasternal Lead for S-ICD in a Patient with a Single Ventricle. *Pacing Clin Electrophysiol*. 査読有, 2017 Feb 9. doi: 10.1111/pace.13046.
2. Kimura M, Kohno T, Aizawa Y, Inohara T, Shiraiishi Y, Katsumata Y, Egashira T, Fukushima H, Kosaki K, Fukuda K. A Novel SCN5A Mutation Found in a Familial Case of Long QT Syndrome Complicated by Severe Left Ventricular Dysfunction. *Can J Cardiol*. 査読有, 2017 Apr;33(4):554.e5-554.e7. doi: 10.1016/j.cjca.2016.10.010.
3. Nishiyama T, Tanosaki S, Tanaka M, Yanagisawa R, Yashima F, Kimura T, Arai T, Tsuruta H, Murata M, Aizawa Y, Kohno T, Maekawa Y, Hayashida K, Takatsuki S, Fukuda K. Predictive factor and clinical consequence of left bundle-branch block after a transcatheter aortic valve implantation. *Int J Cardiol*. 査読有, 2017 Jan 15;227:25-29. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.063.
4. Kimura M, Fujisawa T, Aizawa Y, Matsushashi N, Ito S, Nakajima K, Kashimura S, Kunitomi A, Katsumata Y, Nishiyama T, Kimura T, Nishiyama N, Yuasa S, Takatsuki S, Kosaki K, Fukuda K. An RyR2 mutation found in a family with a short-coupled variant of torsade de pointes. *Int J Cardiol*. 査読有, 2017 Jan 15;227:367-369. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.052.
5. Okata S, Yuasa S, Suzuki T, Ito S, Makita N, Yoshida T, Li M, Kurokawa J, Seki T, Egashira T, Aizawa Y, Kodaira M, Motoda C, Yozu G, Shimojima M, Hayashiji N, Hashimoto H, Kuroda Y, Tanaka A, Murata M, Aiba T, Shimizu W, Horie M, Kamiya K, Furukawa T, Fukuda K. Embryonic type Na⁺ channel β -subunit, SCN3B masks the disease phenotype of Brugada syndrome. *Sci Rep*. 査読有, 2016 Sep 28;6:34198. doi: 10.1038/srep34198.
6. Yamamoto T, Kanazawa H, Tanosaki S, Goto S, Kimura M, Tsuruta H, Itabashi Y, Murata M, Kunitomi A, Aizawa Y, Nishiyama T, Kohno T, Maekawa Y, Takatsuki S, Sano M, Igawa O, Fukuda K. A Novel Mechanism of Atrioventricular Block Following Transcatheter Closure of an Atrial Septal Defect. *JACC Cardiovasc Interv*. 査読有, 2016 Oct 10;9(19):2067-2069. doi: 10.1016/j.jcin.2016.07.028.
7. Nishiyama T, Kimura T, Nishiyama N, Aizawa Y, Fukuda K, Takatsuki S. Successful catheter ablation of an anteroseptal accessory pathway without impairing the atrioventricular conduction. *Int J Cardiol*. 査読有, 2016 Nov 1;222:782-4. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.08.013.
8. Kimura T, Aizawa Y, Kurata N, Nakajima K, Kashimura S, Kunitomi A, Nishiyama T, Katsumata Y, Nishiyama N, Fukumoto K, Tanimoto Y, Fukuda K, Takatsuki S. Assessment of atrial fibrillation ablation outcomes with clinic ECG, monthly 24-h Holter ECG, and twice-daily telemonitoring ECG. *Heart Vessels*. 査読有, 2017 Mar;32(3):317-325. doi: 10.1007/s00380-016-0866-2.
9. Kimura T, Igarashi A, Ikeda S, Nakajima K, Kashimura S, Kunitomi A, Katsumata Y, Nishiyama T, Nishiyama N, Fukumoto K, Tanimoto Y, Aizawa Y, Fukuda K, Takatsuki S. A cost-utility analysis for catheter ablation of atrial fibrillation in combination with warfarin and dabigatran based on the CHADS2 score in Japan. *J Cardiol*. 査読有, 2017 Jan;69(1):89-97. doi: 10.1016/j.jjcc.2016.01.008.
10. Aizawa Y, Kimura M, Kohno T, Fujita J, Fukuda K. Report of the American Heart Association (AHA) Scientific Sessions 2015, Orlando. *Circ J*. 査読有, 2016;80(1):51-7. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1272.
11. Nishiyama T, Nishiyama A, Negishi M, Kashimura S, Katsumata Y, Kimura T, Nishiyama N, Tanimoto Y, Aizawa Y, Mitamura H, Fukuda K, Takatsuki S. Diagnostic Accuracy of Commercially Available Automated External Defibrillators. *J Am Heart Assoc*. 査読有, 2015 Dec 1;4(12). pii: e002465. doi: 10.1161/JAHA.115.002465.
12. Aizawa Y, Negishi M, Kashimura S, Nakajima K, Kunitomi A, Katsumata Y, Nishiyama T, Kimura T, Nishiyama N, Fukumoto K, Tanimoto Y, Kohsaka S,

- Takatsuki S, Fukuda K. Predictive factors of lead failure in patients implanted with cardiac devices. *Int J Cardiol*. 査読有, 2015 Nov 15;199:277-81. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.07.055.
13. Aizawa Y, Kohno T, Yuasa S, Fukuda K. The Role of Circadian Rhythms in Fatal Arrhythmias and the Potential Impact of Intervention for Sleep-Disordered Breathing. *Curr Pharm Des*. 査読有, 2015;21(24):3512-22.
 14. Fukuda K, Kanazawa H, Aizawa Y, Ardell JL, Shivkumar K. Cardiac innervation and sudden cardiac death. *Circ Res*. 査読有, 2015 Jun 5;116(12):2005-19. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304679.
 15. Kimura T, Kohno T, Nakajima K, Kashimura S, Katsumata Y, Nishiyama T, Nishiyama N, Tanimoto Y, Aizawa Y, Fukuda K, Takatsuki S. Effect of Nocturnal Intermittent Hypoxia on Left Atrial Appendage Flow Velocity in Atrial Fibrillation. *Can J Cardiol*. 査読有, 2015 Jul;31(7):846-52. doi: 10.1016/j.cjca.2014.12.032.
 16. Kimura T, Takatsuki S, Miyoshi S, Takahashi M, Ogawa E, Nakajima K, Kashimura S, Katsumata Y, Nishiyama T, Nishiyama N, Tanimoto Y, Aizawa Y, Arai T, Fukuda K. Electrical superior vena cava isolation using photodynamic therapy in a canine model. *Europace*. 査読有, 2016 Feb;18(2):294-300. doi: 10.1093/europace/euv016.
 17. Yasuda R, Murata M, Roberts R, Tokuda H, Minakata Y, Suzuki K, Tsuruta H, Kimura T, Nishiyama N, Fukumoto K, Aizawa Y, Tanimoto K, Takatsuki S, Abe T, Fukuda K. Left atrial strain is a powerful predictor of atrial fibrillation recurrence after catheter ablation: study of a heterogeneous population with sinus rhythm or atrial fibrillation. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 査読有, 2015 Sep;16(9):1008-14. doi: 10.1093/ehjci/jev028.
 18. Nishiyama T, Katsumata Y, Inagawa K, Kimura T, Nishiyama N, Fukumoto K, Tanimoto Y, Aizawa Y, Tanimoto K, Fukuda K, Takatsuki S. Visualization of the left atrial appendage by phased-array intracardiac echocardiography from the pulmonary artery in patients with atrial fibrillation. *Europace*. 査読有, 2015 Apr;17(4):546-51. doi: 10.1093/europace/euu383.
 19. Kimura T, Takatsuki S, Miyoshi S, Takahashi M, Ogawa E, Katsumata Y, Nishiyama T, Nishiyama N, Tanimoto Y, Aizawa Y, Arai T, Fukuda K. Optimal conditions for cardiac catheter ablation using photodynamic therapy. *Europace*. 査読有, 2015 Aug;17(8):1309-15. doi: 10.1093/europace/euu335.
- 〔学会発表〕(計 12 件)
1. Takehiro Kimura, Yoshiyasu Aizawa, Kazuaki Nakajima, Shin Kashimura, Akira Kunitomi, Yoshinori Katsumata, Takahiko Nishiyama, Nobuhiro Nishiyama, Kotaro Fukumoto, Yoko Tanimoto, Keiichi Fukuda, Seiji Takatsuki. Surveillance of heart beats and strokes using the iPhone app in Japan : Results from the clinical study named "Heart & Brain" using ResearchKit. 第 63 回日本不整脈心電学会学術大会 . 2016 年 7 月 15 日、札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市).
 2. Yoshiyasu Aizawa, Seiji Takatsuki, Takashi Komatsu, Kazuaki Nakajima, Shogo Ito, Shin Kashimura, Akira Kunitomi, Yoshinori Katsumata, Takahiko Nishiyama, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Kotaro Fukumoto, Yoko Tanimoto, Yoshifusa Aizawa, Keiichi Fukuda. Unmasking Brugada syndrome behind complete right bundle branch block by ventricular pacing. 第 63 回日本不整脈心電学会学術大会 . 2016 年 7 月 15 日、札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市).
 3. 藤澤大志、相澤義泰、木村舞、中嶋一晶、伊藤章吾、櫻村晋、國富晃、勝俣良紀、西山崇比古、木村雄弘、西山信大、福本耕太郎、谷本陽子、湯浅慎介、河野隆志、佐野元昭、高月誠司、福田恵一 . 心臓リアノジン受容体遺伝子変異を認めた short-coupled variant of torsade de pointes の一家系 . 第 240 回 日本循環器学会関東甲信越地方会 . 平成 28 年 6 月 4 日(土) . ステーションコンファレンス東京 (東京都・千代田区) . (YIA セッション)
 4. Yoshiyasu Aizawa, Mitsushige, Murata, Kazuaki Nakajima, Akira Kunitomi, Shin Kashimura, Yoshinori Katsumata, Takahiko Nishiyama, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Kotaro Fukumoto, Yoko Tanimoto, Seiji Takatsuki, Keiichi Fukuda. Prevalence and Characteristics of a False Tendon and J-waves in Patients with Idiopathic Left Ventricular Tachycardia. *Heart Rhythm* 2016, サンフランシスコ (米国) 2016/5/5.
 5. Yoshiyasu Aizawa, Yoko Tanimoto, Hanako Tokuda, Mitsushige Murata, Mai Kimura, Kazuaki Nakajima, Shin Kashimura, Akira Kunitomi, Yoshinori Katsumata, Takahiko Nishiyama, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Kotaro Fukumoto, Shinsuke Yuasa, Takashi

- Kohno, Shun Kohsaka, Shinji Makino, Motoaki Sano, Seiji Takatsuki, Keiichi Fukuda. Incidence, Clinical Characteristics, and Long-term Outcome of the Dilated Phase of Hypertrophic Cardiomyopathy. 第 80 回日本循環器学会学術集会. 2016 年 3 月 19 日. 仙台国際センター(宮城県・仙台市). Oral Presentation (English) 33 (OE33) (HF)
6. Yoshiyasu Aizawa, Seiji Takatsuki, Kazuaki Nakajima, Shin Kashimura, Akira Kunitomi, Yoshinori Katsumata, Takahiko Nishiyama, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Kotaro Fukumoto, Yoko Tanimoto, Shun Kohsaka, Keiichi Fukuda. High Incidence of Lead Failure in Patients with Brugada Syndrome and Idiopathic Ventricular Fibrillation. 第 80 回日本循環器学会学術集会. 2016 年 3 月 19 日. 仙台国際センター(宮城県・仙台市). Poster Session (Japanese) 52 (PJ052) (A)
 7. Seiko Ohno, Yoshiyasu Aizawa, Keiko Sonoda, Megumi Fukuyama, Takeru Makiyama, Kenjiro Kosaki, Keiichi Fukuda, Minoru Horie. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy and Brugada Syndrome; from the View of Desmosome Gene Mutation. 第 80 回日本循環器学会学術集会 2016 年 3 月 18 日. 仙台国際センター(宮城県・仙台市).
 8. 佐藤 由里子、相澤 義泰¹、宮部 彰²、丸山 高²、片桐 敏雄²、登坂 淳²、前田 備子²、玉村 年健²、水村 泰祐²、高月 誠司¹、福田 恵一¹、杉村 洋一². 重症肺炎に起因する発熱により incessant 型単形性心室頻拍を発症した Brugada 症候群の一例. 第 63 回日本心臓病学会学術集会. 2015 年 9 月 20 日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市).
 9. 相澤 義泰、河野 隆志、中嶋 一晶、櫻村 晋、國富 晃、勝俣 良紀、西山 崇比古、木村 雄弘、西山 信大、福本 耕太郎、谷本 陽子、香坂 俊、高月 誠司、福田 恵一. デバイス植込み患者における睡眠呼吸障害の合併状況と予測因子の検討. 第 63 回日本心臓病学会学術集会. 2015 年 9 月 18 日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市).
 10. Yoshiyasu Aizawa, Seiji Takatsuki, Kazuaki Nakajima, Shin Kashimura, Akira Kunitomi, Yoshinori Katsumata, Takahiko Nishiyama, Nobuhiro Nishiyama, Kotaro Fukumoto, Yoko Tanimoto, Yoshiaki Kaneko, Shinichi Niwano, Takashi Kurita, Takeshi Mitsuhashi, Takashi Noda, Shiro Kamakura, Akihiko Shimizu, Minoru Horie, Yoshifusa Aizawa, Keiichi Fukuda. Comparison of circadian, weekly and seasonal Comparison of circadian, weekly and seasonal variations between electrical storms versus single VF events in patients with Brugada 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. 15 Symposium [Inherited Arrhythmias Bench to Bedside] 2015 年 7 月 31 日(金)、国立京都国際会館(京都府・京都市).
 11. Yoshiyasu Aizawa, Seiji Takatsuki, Seiko Ohno, Satoshi Nagase, Shogo Ito, Kazuaki Nakajima, Shin Kashimura, Akira Kunitomi, Yoshinori Katsumata, Takahiko Nishiyama, Takehiro Kimura, Nobuhiro Nishiyama, Yoko Tanimoto, Satoshi Ogawa, Kenjiro Kosaki, Keiichi Fukuda. Sex-dependency of Sick Sinus Syndrome Phenotype in Female Members of Familial Brugada Syndrome. Heart Rhythm 2015, ボストン(米国) 2015/5/14.
 12. Seiko Ono, Yoshiyasu Aizawa, Megumi Fukuyama, Takeru Makiyama, Kenjiro Kosaki, Keiichi Fukuda, Minoru Horie. Do desmosome gene mutations cause or modify the Brugada syndrome? Heart Rhythm 2015, ボストン(米国) 2015/5/14.
- 〔図書〕(計 8 件)
1. 相澤 義泰, 福田 恵一. ブルガダ症候群と突然死の関係は? : 日本医事新報 (0385-9215)4826 号 Page57-58(2016.10)
 2. 相澤 義泰, 倉田 奈緒美【心電図が臨床につながる本。】(II 章)波形からみた心電図 心臓の器質的疾患 Plus QRS の異常 QRS 幅の延長: 臨床検査 (0485-1420)60 巻 11 号 Page1173-1178(2016.10)
 3. 相澤 義泰. 慶應循環器内科カンファレンス(第 58 回) 偽腱索を有する左室起源特発性心室頻拍に対してカテーテルアブレーションを行った一例. 月刊レジデント 9 巻 10 号 Page116-128(2016.10)
 4. 相澤 義泰, 松橋 智弘【心電図を詠む-心に残る 24 症例から】 不整脈 Ic flutter と Brugada 型心電図: Medicina (0025-7699)53 巻 5 号 Page670-675(2016.04)
 5. 中嶋 一晶, 相澤 義泰, 國富 晃, 櫻村 晋, 勝俣 良紀, 西山 崇比古, 木村 雄弘, 西山 信大, 福田 恵一, 高月 誠司. ラミン A/C 変異を認めた家族性洞不全症候群の 1 例. 心臓 (0586-4488)47 巻 Suppl.2 Page157-162(2015.12)
 6. 相澤 義泰. 慶應循環器内科カンファレンス(第 47 回) 右室流出路起源の心室期外収縮にカテーテルアブレーションを行った 1 例: 月刊レジデント 8 巻 10 号 Page116-125(2015.10)
 7. 櫻村 晋, 西山 信大, 児島 秀典, 中嶋 一晶, 八島 史明, 國富 晃, 勝俣 良紀, 西山 崇比古, 木村 雄弘, 谷本 陽子, 相澤 義泰, 前川 裕一郎, 福田 恵一, 高月 誠司. 薬物負荷下 FFR にて有意な狭窄が証明された、運動極期に心室細動を発症

した右冠動脈起始異常の 1 例：心臓
(0586-4488)47 巻 Suppl.1
Page93-97(2015.08)

8. 櫻村 晋, 勝俣 良紀, 西山 崇比古, 木村
雄弘, 西山 信大, 相澤 義泰, 谷本 陽子,
福田 恵一, 高月 誠司. Entrainment
Pacing により頻拍回路を推定しえた
Verapamil 感受性三尖弁輪起源心房頻拍
の 1 例:臨床心臓電気生理 (0285-1652)38
巻 Page49-55(2015.05)

〔産業財産権〕

該当なし

出願状況 (計 0 件)

該当なし

取得状況 (計 0 件)

該当なし

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

相澤 義泰 (AIZAWA, Yoshiyasu)

慶應義塾大学・医学部・特任講師

研究者番号：20528145

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし

(4)研究協力者

該当なし