

先天性 Long QT 症候群の遺伝子解析

小 村 悟

新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器学分野

(主任：相澤義房教授)

The Long QT syndromes: Genetic Basis and Clinical Implications

Satoru KOMURA

Division of Cardiology,

Niigata University Graduate School of

Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Yoshifusa AIZAWA)

要 旨

【背景】先天性 QT 延長症候群 (LQTS) は、QT 間隔の延長と Torsades de Pointes (TdP) などの重症不整脈により失神や心臓性突然死をきたす症候群で、心筋脱分極または再分極過程にかかわるイオンチャネル、あるいはその調節蛋白をコードする遺伝子の変異により LQT1 から LQT6 に分類される。今までに数多くの遺伝子異常が報告されてきたが、今なお、個々の症例における不整脈の発現の頻度などに関して不明な点が多い。

【方法】先天性 LQTS 21 名 (男性 9 名, 女性 12 名) を対象とした。末梢血の白血球より genomic DNA を抽出した。LQT1, LQT2, LQT5 および LQT6 の exon に対して primer を設計し、direct sequence 法にて sequence の同定を行った。解析の結果と臨床症状の比較を行った。また、LQT1 群と LQT2 群の 2 群間における各種パラメーターの比較を推計学的に検討した。

【結果】LQTS 患者 21 例中 14 例 (67%) で LQT1 の遺伝子変異が見出された。6 例は T587M で、そのうち 1 例は、KCNQ1 : P448R と KCNE1 : D85N の 2 つの SNP を合わせもち、5 例と比較して臨床像に特徴が認められた。これまでに報告のない遺伝子変異が 5 例で発見された。このうち I313K と D611Y は荷電が変化する異常であった。1 例でスプライシングエラーによる遺伝子変異であった。LQT2 は 4 例 (19%) で遺伝子変異が発見され、うち 3 例は新しい遺伝子変異であった。そのうちの 2 例はフレームシフトによる変異であった。LQT1 と LQT2 の平均年齢は 18 ± 12 歳と 27 ± 13 歳、心臓性イベントの初発年齢は、それぞれ 12 ± 14 歳と 25 ± 14 歳で有意差はなかった。QT 間隔/QTc 間隔は、LQT1 : $495 \pm 58\text{ms}/514 \pm 51\text{ms}$, LQT2 : $549 \pm 39\text{ms}/512 \pm 75\text{ms}$ でいずれも差は認めなかった。

【考察】21 例中 7 種類もの新しい遺伝子変異が見出されたことは、LQTS は多様な遺伝子変異

Reprint requests to: Satoru KOMURA
First Department of Internal Medicine
Niigata University School of Medicine
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通り 1-757
新潟大学医学部内科学第一教室 小村 悟

によって生じる疾患であることが示された。今までの報告では、変異によるアミノ酸の極性や荷電について言及した報告はほとんどなく、新たに発見された LQT1 : I313K, D611Y, LQT2 : G601D, E63fs/16 は、荷電の変化を伴う変異を認めることから、チャネル機能に大きな変化をもたらされる可能性が考えられた。今後、機能解析を進めて異常チャネルの病態を明らかにする必要がある。

【結論】先天性 LQTS 患者 21 例の遺伝子解析を行い、7 種類の今までに報告のない遺伝子変異を含む 18 例 (LQT1 14 例, LQT2 4 例) において遺伝子変異を明らかにした。

キーワード：先天性 QT 延長症候群, 遺伝子変異

緒 言

QT 延長症候群 (LQTS) は、心電図で QT 間隔の延長と Torsades de Pointes (TdP) などの重症不整脈により疾患や心臓性突然死をきたす症候群で、先天性 LQTS と後天性 LQTS に分けられる。先天性 LQTS は、難聴を伴わず常染色体優性遺伝を示す Romano-Ward 症候群と、難聴を伴い常染色体劣性遺伝を示す Jervell and Lange-Nielsen 症候群に分けられる。明らかな家族歴を示さない孤発例も認められる。後天性 LQTS は、薬剤、電解質異常や徐脈などの後天的要因により QT 間隔の延長をきたし、原因を取り除けば QT 間隔は正常化する。後天性 LQTS にも遺伝子異常を認める症例が報告されている¹⁾。

1995 年以降、連鎖解析、遺伝子解析により先天性 LQTS は、心筋脱分極または再分極過程にかかわるイオンチャネル、あるいはその調節蛋白をコードする遺伝子の変異が原因であることが明らかとなり、その結果、5 つの染色体上の遺伝子座に連鎖する 6 つの原因遺伝子が同定され、LQT1 から LQT6 に分類された (表 1)²⁾⁻⁷⁾。

LQT1 の原因遺伝子である KCNQ1 は、膜 6 回貫通型の電位依存性 K チャネルの α サブユニットで、LQT5 の原因遺伝子で膜 1 回貫通型の K チャネルの β サブユニットである KCNE1 と複合体を形成し遅延整流 K チャネルのうち遅く活性化されるチャネルを形成する。LQT2 の原因遺伝子である KCNH2 は、LQT6 の原因遺伝子である KCNE2 と複合体を形成し遅延整流 K チャネルの速く活性化されるチャネルを形成する。LQT3 は

心筋 Na チャネルをコードする SCN5A の遺伝子異常によるもので、活動電位プラトー相で流れる late Na 電流を増大させ QT 延長をきたす。この SCN5A は異常部位の違いにより Brugada 症候群の原因遺伝子にもなることが明らかとなった⁸⁾。さらに 2003 年には LQT4 の原因遺伝子は細胞膜の裏打ち構造に関係する ANK2 であることも同定された⁵⁾。

今までに数多くの遺伝子異常が報告され、遺伝子型と表現型の検討が行われてきた⁹⁾⁻¹²⁾。また、そのいくつかの遺伝子異常は発現実験による機能解析も行われ、正常型遺伝子単独よりも電流量を抑制する dominant negative suppression やチャネル蛋白の細胞膜への移送の欠陥である trafficking defect などのさまざまな機能異常が報告されてきた¹³⁾¹⁴⁾。しかしながら、今なお、個々の症例における不整脈の発現の頻度や様式、発生状況の違いに関しては不明な点が多い。さらに、最近、single nucleotide polymorphism (SNP) によるチャネル機能の修飾も報告され注目されている¹⁵⁾。高度先進医療の承認を受けた後に、これまで分かった LQT1, LQT2, LQT5 および LQT6 の遺伝子解析の結果を臨床症状と比較検討を行い提示する。

対象と方法

1. 対象

新潟大学大学院医歯学総合研究科付属病院第一内科もしくは小児科に LQTS の診断で入院した症例で、本研究の目的および有用性、遺伝情報、個人情報保護について十分説明し、同意が得られ

表 1 先天性 QT 延長症候群の原因遺伝子

	遺伝子座	原因遺伝子	チャネル
Romano-Ward症候群			
LQT1	11p15.5	KCNQ1	lks
LQT2	7q35-36	KCNH2	lkr
LQT3	3p21-24	SCN5A	INa
LQT4	4q25-27	ANK2	
LQT5	21q22.1-22.2	KCNE1	lks
LQT6	21q22.1-22.2	KCNE2	lkr
Jervell and Lange-Nielsen症候群			
JLN1	11p15.5	KCNQ1	lks
JLN2	21q22.1-22.2	KCNE1	lks

lks=遅延整流K電流の遅く活性化される成分;

lkr=遅延整流K電流の早く活性化される成分; INa=Na電流

た 21 名 (男性 9 名, 女性 12 名) を対象とした。家族歴を有する症例は, 発端者のみ検索を行った。後天性 LQTS の症例は除外した。遺伝子検索は新潟大学医学部遺伝子倫理委員会の承認を得, かつ高度先進医療の承認を受けた後に開始した。

2. LQT1, LQT2, LQT5, LQT6 の遺伝子異常の検索

説明と同意を得た後に, 末梢血を EDTA 添加スピッツに 7ml 採取し, 2000rpm で 5 分間遠心後血清を除去した。残存した血球成分に 0.2% NaCl を加え溶血させた後, 1500rpm で 5 分間遠心して白血球成分を取り出した。次に, DNA 抽出キット SepaGene (三光純薬社) を用いて genomic DNA を抽出した。

それぞれの遺伝子に含まれる exon をはさむように intron 上に primer (表 2, 表 3) を設計し, Polymerase chain reaction 法 (PCR) を用いて患者の genomic DNA を増幅させた。その PCR 産物を BigDye Terminator Ready Reaction Mix kit (Perkin - Elmer/Applied Biosystems) でラベリングした後, ABI - Prism 310 DNA sequencer

(Perkin - Elmer/Applied Biosystems) を用いて, direct sequence 法にて全 sequence の同定を行った。

3. 臨床所見

病歴から心臓性イベントとして失神, 心肺蘇生と TdP の有無, 心室頻拍および心室細動の記録の有無を確認した。また, 薬物治療前に行った体表 12 誘導心電図 (ECG) を用いて, 心拍数や QT 間隔などの各種パラメーターを手動的に計測した。QT 間隔は, QRS 開始点と T 波の終末点を測定し, 各誘導で最も QT 間隔が延長している値を用いた。QT 間隔の補正は, Bazett 式¹⁶⁾ を用いた。

さらに, LQT1 群と LQT2 群の 2 群に分けて, 各群間における各種パラメーターの比較を推計学的に検討した。

4. 推計学的検討

数値は平均±標準偏差で表した。推計学的有意差検定は, Student t-検定を用いて比較検討した。p < 0.05 を推計学的有意とした。

表2 KCNQ1 と KCNE1 のプライマー

KCNQ1	
1	5'-AGATTAGGGGAATTTTACAGCTTG-3'
2	5'-GAGAGCAGGGTGTATGCTCTTC-3'
3	5'-TGGACATATACCCAGCCTCC-3'
4	5'-GAGTTGTGAGGAGTGGGCTATATT-3'
5	5'-AGAGTGGTGGGTTTGGGTTAG-3'
6	5'-TGGCCTGTGTGGACGGGA-3'
7	5'-AGCTGTAGCTTCCATAAGGGC-3'
8	5'-GTCCCTGTCCGGTTATGT-3'
9	5'-ACAAGCTCCACTCCTCACCTG-3'
10	5'-GAACACTCTCCTTGTCTTCTGGAAG-3'
11	5'-GAGCTCCAGGTCTTCACAAG-3'
12	5'-GTCAAGCTGTCTGTCCACA-3'
13	5'-CACCCCTGGTATTTTTGTCATAG-3'
14	5'-CCACCACTGACTCTCTCGTCT-3'
1	5'-TTCTCTGATACTGAAATGAGTGCC-3'
2	5'-CCCAGCACATGGCTCAGT-3'
3	5'-CAGCTCAGAGGAAGGTGAGC-3'
4	5'-CCGAAGTCTCAAGACACCAGT-3'
5	5'-CTTGGTTCTGAACGTAAGTGGGT-3'
6	5'-CAGTGACCAAATGACAGTGA-3'
7	5'-ACAGGCTGTACCAAGCCAAAT-3'
8	5'-AAGGGAGAACTCACTGGCTT-3'
9	5'-CTAGGCGAGTAGATAGCACTCTGG-3'
10	5'-TAGGCACTGCAGGTCTCAGATAG-3'
11	5'-AGAGGCAAGAAGTCAAGGCTC-3'
12	5'-CTAAAACGTACTTTGGAGCCACTT-3'
13	5'-CTTCACGTTACACGCAGAC-3'
14	5'-AGAGTGGGGCTCTTCTCTCTG-3'
KCNE1	
1	5'-TTGCATTTTTCTTTAAGAGGTGT-3'
2	5'-GTCCTCATGGTACTGGGATTCTT-3'
1	5'-ACATAGGCCTTGTCTTCTCTTG-3'
2	5'-ATCCAGTGGTATCCATCACAATAA-3'

表3 KCN2 と KCNE2 のプライマー

KCNH2	
1	5'-ACCCGAAGCCTAGTGCTGG-3'
2	5'-GGCTGTGTGAGTGGAGAATGT-3'
3	5'-GAGTGGAGAATGTGGGGAAG-3'
4	5'-CATACGGGGAGGCAGAAGTG-3'
5	5'-ATTGTGAATGGAAGTGGGA-3'
6	5'-AGCGCAACAAGCCACTTAAT-3'
7	5'-CTCTGGATCACAGCCCACTC-3'
8	5'-TCTTCACACCCTACTCGGT-3'
9	5'-AGTCTTTGGGGATCTGACCTCT-3'
10	5'-ACGCTGAGACTGAGACACTGAC-3'
11	5'-GAGGTTGAGATTTCTCTGACATGG-3'
12	5'-AGCTGAGGGGACATGCTCT-3'
13	5'-ACAAAAGTCCCAAACCTCAGTCTTT-3'
14	5'-TGAGGCCATTCTCTGTTTC-3'
15	5'-GAGGACTGCGAGAAGAGCAG-3'
16	5'-CTTCTTCCATTCCCTAGCCAG-3'
17	5'-CTTCTCTGCCACCTGACTCT-3'
1	5'-CCAAAAGCCTGAGCTGAGTT-3'
2	5'-ACACCCCCACAGAACCCT-3'
3	5'-GCTCCTACCATCTTTCCGGT-3'
4	5'-ACAGCCCCAAAGAAATGAGAC-3'
5	5'-GTCGGGGTTGAGGCTGTG-3'
6	5'-AGGACGTAGTAAAAGGTCAGAAG-3'
7	5'-ACTCTCGATCTATGGGTGGC-3'
8	5'-CCCTCCACCCCACTACCT-3'
9	5'-CTGTTGTAGGGTTTGCCTATCTG-3'
10	5'-CAGGGTCCTTACTACTGACTGTGA-3'
11	5'-AGTACTGCATATTCAGAAGGCTC-3'
12	5'-TATGATACCATTTGACAGACAGGG-3'
13	5'-CTCCCAGCCTCACCTTGTG-3'
14	5'-AGAGAGCAGAGCTGGGTGAG-3'
15	5'-TCTCCCTCTACCAGACAACACC-3'
16	5'-ACTTAGCCTACAGGTTCCCTGC-3'
17	5'-CTGTGCTTTTCGAGTTCCTCTC-3'
KCNE2	
1	5'-CCGTTTTCTTAACCTTGTTTCG-3'
2	5'-GTCTTCCGAAGGATTTTTATTAC-3'
3	5'-AATGTTCTTTTCATCATCGTG-3'
1	5'-AGCATCAACTTGGCTTGGAG-3'
2	5'-GTTCCCGTCTCTTGGATTTCA-3'
3	5'-TGCTGGACGTCAGATGTTAG-3'

表 4 先天性 long QT 症候群の患者

症例	性別	年齢	初発年齢	イベント	状況	家族歴	QT(ms)	QTc(ms)	T波の形態
1	女性	21	17	失神	安静時	突然死	560	480	notched
2	男性	16	16	失神	安静時	あり	600	625	notched
3	男性	14				なし	540	567	broad-based
4	男性	15	2	失神	労作時	なし	530	489	late-appearing
5	女性	53	53	心室細動	安静時	なし	480	484	broad-based
6	女性	22	22	失神	安静時	なし	780	689	biphasic
7	女性	46	46	心室細動	安静時	あり	520	472	notched
8	女性	24	22	失神	安静時、緊張時	なし	510	473	notched
9	女性	34	5	失神	緊張時	あり	440	505	late-appearing
10	女性	16				なし	510	588	broad-based
11	男性	16	6	失神	労作時	あり	470	464	broad-based
12	男性	23	3	失神	労作時	突然死	480	500	broad-based
13	女性	17	17	失神	興奮時	あり	440	474	broad-based
14	男性	5	4	失神	労作時、興奮時	あり	530	588	biphasic
15	男性	9	9	失神	労作時	あり	600	620	broad-based
16	女性	14	12	失神	水泳	なし	490	494	broad-based
17	男性	9	9	失神	水泳	なし	430	446	broad-based
18	男性	14				あり	600	566	broad-based
19	女性	13	9	失神	水泳	なし	470	493	broad-based
20	女性	14	9	失神	水泳	突然死	420	508	broad-based
21	女性	7	3	失神	水泳	なし	600	569	notched
		19±12	15±14				525±80	528±64	

結 果

1. 臨床像

遺伝子解析を行った LQTS 患者 21 例（男性 9 例，平均年齢 13 ± 5 歳，女性 12 例，平均年齢 24 ± 13 歳）は，全例が Romano - Ward 症候群であった。18 例（男性 8 例，女性 10 例）で失神の既往があり，初発年齢は， 15 ± 14 歳（最年少 2 歳，最高齢 53 歳）であった。初発年齢は男性よりも女性でより高齢であった（男性 7 ± 4 歳，女性 20 ± 15 歳）。家族歴を有する症例は，13 例に認め，そのうち 3 家系で親族に突然死が見られた。ECG 所見では，1 例のみ補充調律で，残りの 20 例は洞調律であった。平均心拍数は， 62 ± 11 拍/分，平均 QT 間隔は， 525 ± 80 ms，平均 QTc 間隔は， 528 ± 64 ms で著明な延長を認めた（表 4）。

2. KCNQ1 (LQT1)

LQTS 患者 21 例中 14 例（67%）で LQT1 の遺伝子変異が見出された（表 5）。そのうち，3 例は G269S で，6 例は T587M であった。T587M は，LQT1 における trafficking defect であった¹⁴⁾。これまでに報告のない遺伝子変異が 5 例（症例 11, 12, 13, 14, 15）で発見された。このうち，症例 12 は，I313K の pore 領域の異常で ATC → AAA の 2 塩基置換により非極性の Isoleucine が陽性荷電性の Lysine に置換されていた。本例の QT 間隔 480ms，QTc 間隔 500ms と軽度の QT 延長であったが，臨床的には頻回に失神を生じ，家族の中にも突然死を認める重症例であった。同一地域に在住する症例 11, 15 は，A525V の C 末端の変異で，非極性の Alanine が非極性の Valine に置換されていた。本例では QT 間隔/QTc 間隔は，症例 11 (470/464ms) より症例 15 (600/620ms) でより

表5 KCNQ1の遺伝子異常

症例	塩基変異	Coding effect	位置	報告	SNP
3	G805A	G269S	S5	あり	KCNQ1:P448R KCNE1:D85N
4	G805A	G269S	S5	あり	
5	C1760T	T587M	C末端	あり	
9	C1760T	T587M	C末端	あり	
11	C1574T	A525V	C末端	なし	
12	T938A,C939A	I313K	pore	なし	
13	Sp G→A			なし	
14	G1831T	D611Y	C末端	なし	
15	C1574T	A525V	C末端	なし	
16	G805A	G269S	S5	あり	
17	C1760T	T587M	C末端	あり	
18	C1760T	T587M	C末端	あり	
19	C1760T	T587M	C末端	あり	
20	C1760T	T587M	C末端	あり	

表6 KCNH2の遺伝子異常

症例	塩基変異	Coding effect	位置	報告	SNP
1	del C3092-95	P1034fs/22	C末端	なし	KCNQ1:P448R KCNQ1:G643S
2	G1888C	V630L	pore	あり	
7	G1802A	G601D	S5/pore	なし	
8	del AG1920-21 or del AG1922-23	E637fs/16	pore	なし	

del=欠失;fs=フレームシフト

延長していたが、臨床的には症例5で頻回に失神をきたしより重症例であった。2例とも家族に突然死は認めなかった。症例14は、D611Yで陰性荷電性の Aspartic Acid が非極性の Tyrosine に置換されていた。今までに報告された最もC末端側の置換異常はR594Qであったが、さらにC末端側で置換異常を認めた。これは、双子の弟にも同じ変異を認め、共に頻回に失神を生じた。本例のQT間隔/QTc間隔は、530/588msと著明に延長していた。症例5, 9, 16, 17, 18, 19は、同じT587Mの変異であったが、症例5は、KCNQ1:P448RとKCNE1:D85Nに2つのSNPを合わせもっていた。この症例5は、初発年齢が53歳と

高齢で、かつ低カリウム血症を契機に心室細動が発症し心肺蘇生を受けた症例であった。症例13は、DNAには異常を認めずスプライシングエラーによる遺伝子変異と考えられた。

3. KCNH2 (LQT2)

LQTS患者21例中4例(19%)でKCNH2の遺伝子変異が発見された。そのうち症例2はV630Lですでに報告済みであった(表6)¹⁷⁾。症例7はG601DでS5/pore領域の変異で、非極性のGlycineが陰性荷電性のAspartic Acidへ置換されていた。この症例7は、KCNQ1:P448RとG643Sの2つのSNPも合わせもっていた。初発年齢は43歳と高齢であったが、計6回の心室細動により

表7 LQT1 と LQT2 の比較

	LQT1 (n=14)	LQT2 (n=4)	P value
男性/女性	8 / 6	1 / 3	
年齢 (歳)	18±12	27±13	n.p.
心臓性イベント			
あり	12	4	
なし	2	0	
初発年齢 (歳)	12±14	25±14	n.p.
状況 労作時(水泳)	9 (4)	0	
安静時	1	4	
興奮時	2	0	
緊張時	1	1	
QT間隔 (ms)	495±58	549±39	n.p.
QTc間隔 (ms)	514±51	512±75	n.p.
T波の形態			
broad-based	11	0	
notched	0	4	
biphasic	1	0	
late-appearing	2	0	

心肺蘇生を受けており重症例と考えられた。症例 8 は E637fs/16 で pore 領域に 2 塩基欠失によるフレームシフトを起こし 16 番目のアミノ酸が stop code となる変異であった。症例 1 は P1034fs/22 で C 末端の 1 塩基欠失の変異で、頻回に重症不整脈を認めるため植え込み型除細動器を植え込み、かつ家族内に突然死を認める重症例であった。

4. KCNE1 (LQT5), KCNE2 (LQT6)

遺伝子変異は発見されなかった。しかしながら、症例 5 において、陰性荷電性の Aspartic Acid が非極性の Asparagine へ置換された KCNE1 : D85N の SNP が認められた。

5. LQT1 と LQT2 の臨床像および心電図の比較

LQT1 と LQT2 の平均年齢は 18 ± 12 歳と 27 ± 13 歳で、心臓性イベントの初発年齢は、それぞれ 12 ± 14 歳と 25 ± 14 歳で LQT2 に高い傾向がみられたが有意差はなかった。LQT1 の 2 例、LQT2 の 1 例に心臓性イベントを認めない症例があった。LQT1 の 9 例は、労作時、特に水泳中 (4 例)

に心臓性イベントを認め、一方 LQT2 のイベントは、4 例すべて安静時または緊張時に生じていた。QT 間隔/QTc 間隔は、LQT1 : 495 ± 58ms/514 ± 51ms, LQT2 : 549 ± 39ms/512 ± 75ms でいずれも差は認めなかった (表 7)。T 波の形態は、LQT1 の 11 例は、幅広い T 波 (broad-based) を示し、2 例は ST 部分の長い T 波 (late-appearing) で、1 例は 2 相性 T 波 (biphasic) であった。一方、LQT2 は、4 例すべてにおいてノッチを伴う平低 T 波 (low-amplitude, notched) で、今までの報告に一致した結果であった¹⁹⁾。

考 察

先天性 LQTS 患者 21 例の遺伝子解析を行い 18 例 (86%) と高率に遺伝子変異を認めた。その内訳は LQT1 14 例 (67%), LQT2 4 例 (19%) であった。さらに LQT1 は 4 種類 (5 例), LQT2 は 3 種類に、今までに報告されていない新たな遺伝子変異が確認された。これまでの主な海外の報告によると、LQTS 患者のうち遺伝子変異が確認され

るのは、約70%と報告されている¹⁸⁾。我々が21例中18例(86%)で遺伝子変異を同定できたのは、技術、精度の進歩はもとより、polymerase chain reaction/single strand conformation polymorphism (PCR/SSCP)法は用いずに、direct sequenceで検索を行った成果と考える。PCR/SSCP法は簡便であるが、約20%でfalse negativeが生じる事が知られている。いずれにしても21例中7種類もの新しい遺伝子変異が見出されたことは、LQTSは多様な遺伝子変異によって生じる疾患であることが示されたといえる。

今まで、pore領域はイオン選択性フィルターの役割を果たしていることから、この部位の変異は、N末端やC末端の変異と比較して、臨床症状が重い傾向にあると考えられてきたが、最近の報告では、LQT1において変異部位と臨床症状とは必ずしも相関しないとの報告がなされた¹²⁾。この点に関して本研究では、母集団が少ないため十分な検討はできなかった。しかしながら、今までの報告では、変異によるアミノ酸の極性や荷電について言及した報告はほとんどない。今回、新たに発見されたLQT1: I313K, D611Y, LQT2: G601D, E637fs/16は、荷電の変化を伴う変異であった。S4領域は、陽性荷電を有するアミノ酸に富むことから、この部位で膜電位を感受する電位センサーの役割を果しvoltage-gatingに関与することが知られている。従って、荷電の変化によりチャネル機能に大きな変化をもたらされる可能性が考えられ、現在チャネルの発現実験による機能解析中である。I313Kは、pore領域でsignature sequenceと呼ばれているイオン選択性を司るフィルターの役割をしている箇所に隣接する変異である。この箇所が陽性荷電に変異することで、チャネルにおけるK⁺の通過に何かしらの影響を与えられ、実際、臨床的にも幼児期よりイベントが認められ、かつ家系に突然死が認められる重症例であることから、今後、発現実験による機能解析を予定している。また、D611Yは、アミノ酸の荷電が変化にしていることに加え、今までの報告より、さらにC末端側の置換異常であることから、C末端の機能を解析する上で重要と思える。

当科の山下らがLQT1で初めてのtrafficking defectを報告したT587Mは¹⁴⁾、6例において発見された。うち1例は無症状であったが、症例5を除く4例は若年で数回の心臓性イベントを生じた重症例であった。KCNQ1: P448RとKCNE1: D85Nの2つのSNPが見つかった症例5は、初発年齢が53歳と高齢で、かつ低カリウム血症を契機に心室細動を生じた症例であった。また、LQT2のG601Dは、荷電の変化に加え、KCNQ1: P448RとG643Sの2つのSNPも見つかった。すでにG643Sは、発現実験でI_{ks}電流の軽度低下をきたすことが知られており、D601DによるI_{kr}電流の低下に加えて、G643SによるI_{ks}電流の軽度低下も加わることで再分極過程は著明な延長をきたすと考えられる。これら2症例は、SNPによるtraffickingおよびchannel機能への修飾が示唆される興味深い症例であった。

以上、我々は7種類の今までに報告のない遺伝子変異を含む18例において遺伝子変異を明らかにした。これまで数多くの遺伝子変異が報告されてきたが、なお臨床症状との関連性や薬物治療に対する反応性の違いなど、未解決な問題が多く存在する。今後、機能解析を進めて異常チャネルの病態を明らかにする必要がある。さらに、単一遺伝子変異の機能解析だけでなく、SNPも加えた機能解析により、遺伝子異常が見出せない例の検索などが望まれる。

謝 辞

最後に、御指導、御校閲を頂いた新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器学分野 相澤義房教授、新潟大学保健学科 池主雅臣助教授に深甚なる謝意を表すと共に、本研究に多大な協力を頂きました埜 晴雄講師、鷲塚隆助手、吉田香織女史に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Yang P, Kanki H, Drolet B, Yang T, Wei J, Viswanathan PC, Hohnloser SH, Shimizu W, Schwartz PJ, Stanton M, Murray KT, Norris K, George AL Jr and Roden DM: Allelic variants in

- long - QT disease genes in patients with drug - associated torsades de pointes. *Circulation* 105: 1943 - 1948, 2002.
- 2) Wang Q, Curran ME, Splawski I, Burn TC, Millholland JM, VanRaay TJ, Shen J, Timothy KW, Vincent GM, de Jager T, Schwartz PJ, Towbin JA, Moss AJ, Atkinson DL, Landes GM, Connors TD and Keating MT: Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmia. *Nature Genet* 12: 17 - 23, 1996.
 - 3) Curran ME, Splawski I, Timothy KW, Vincent GM, Green ED and Keating MT: A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell* 10: 795 - 803, 1995.
 - 4) Wang Q, Shen J, Splawski I, Atkinson D, Li Z, Robinson JL, Moss AJ, Towbin JA and Keating MT: SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell* 10: 805 - 811, 1995.
 - 5) Mohler PJ, Schott JJ, Gramolini AO, Dilly KW, Guatimosim S, duBell WH, Song LS, Haurogne K, Kyndt F, Ali ME, Rogers TB, Lederer WJ, Escande D, Le Marec H and Bennett V: Ankyrin - B mutation causes type 4 long - QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. *Nature* 421: 634 - 639, 2003.
 - 6) Splawski I, Tristani - Firouzi M, Lehmann MH, Sanguinetti MC and Keating MT: Mutations in the hminK gene cause long QT syndrome and suppress Iks function. *Nat Genet* 17: 338 - 340, 1997.
 - 7) Abbott GW, Sesti F, Splawski I, Buck ME, Lehmann MH, Timothy KW, Keating MT and Goldstein SA: MiRP1 forms Ikr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia. *Cell* 16: 175 - 187, 1999.
 - 8) Chen Q, Kirsch GE, Zhang D, Brugada R, Brugada J, Brugada P, Potenza D, Moya A, Borggrefe M, Breithardt G, Ortiz - Lopez R, Wang Z, Antzelevitch C, O'Brien RE, Schulze - Bahr E, Keating MT, Towbin JA and Wang Q: Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* 392: 293 - 296, 1998.
 - 9) Schwartz PJ, Priori SG and Spazzolini C: Genotype - phenotype correlation in long QT syndrome; gene - specific triggers for life - threatening arrhythmias. *Circulation* 103: 89 - 95, 2001.
 - 10) Zereba W, Moss AJ, Locati EH, Lehmann MH, Peterson DR, Hall J, Schwarz PJ, Vincent GM, Priori SG, Benhorin J, Towbin JA, Robinson JL, Andrews ML, Napolitano C, Timothy K, Zhang L and Medina A: Modulating effects of age and gender on the clinical course of long QT syndrome by genotype. *J Am Coll Cardiol* 42: 103 - 109, 2003.
 - 11) Herbert E, Trusz - Gluza M, Moric E, Smilowaska - Dzielicka E, Mazurek U and Wilczok T: KCNQ1 gene mutations and the respective genotype - phenotype correlations in the long QT syndrome. *Med Sci Monit* 8: 240 - 248, 2002.
 - 12) Zereba W, Moss AJ, Sheu G, Kaufman ES, Priori S, Vincent GM, Benhorin J, Towbin JA, Schwartz PJ, Napolitano C, Hall WJ, Keating MT, Qi M, Robinson JL and Andrews ML: Location of mutation in the KCNQ1 and phenotypic presentation of long QT syndrome. *J Cardiovasc Electrophysiol* 14: 1149 - 1153, 2003.
 - 13) Shalaby FY, Levesque PC, Yang WP, Little WA, Conder ML, Jenkins - West T and Blamnar MA: Dominant - negative KvLQT1 mutations underlie the LQT1 form of long QT syndrome. *Circulation* 96: 1733 - 1736, 1997.
 - 14) Yamashita F, Horie M, Kubota T, Yoshida H, Yumoto Y, Kobori A, Ninomiya T, Kono Y, Haruna T, Tsuji K, Washizuka T, Takano M, Otani H, Sasayama S and Aizawa Y: Characterization and subcellular localization of KCNQ1 with a heterozygous mutation in the C terminus. *J Mol Cell Cardiol* 33: 197 - 207, 2000.
 - 15) Splawski I, Timothy KW, Tateyama M, Clancy CE, Malhotra A, Beggs AH, Cappuccio FP, Sangella GA, Kass RS and Keating MT: Variant of SCN5A sodium channel implicated in risk of cardiac arrhythmia. *Science* 297: 1333 - 1336,

- 2002.
- 16) Bazett HC: An analysis of the time - relations of electrocardiograms. *Heart* 7: 353 - 370, 1920.
- 17) Tanaka T, Nagai R, Tomoike H, Tanaka S, Yano K, Yabuta K, Haneda N, Nakano O, Shibata A, Sawayama T, Kasai H, Yazaki Y and Nakamura Y: Four novel KVLQT1 and Four novel HERG mutations in familial Long QT syndrome. *Circulation* 95: 565 - 567, 1997.
- 18) Splawski I, Shen J, Timothy KW, Lehmann MH, Priori SG, Robinson JL, Moss AJ, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM and Keating MT: Spectrum of mutations in long - QT syndrome genes: KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. *Circulation* 102: 1178 - 1185, 2000.
- 19) Moss AJ, Zareba W, Benhorin J, Locati EH, Hall WJ, Robinson JL, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM and Lehmann MH: ECG T - wave patterns in genetically distinct forms of the hereditary long QT syndrome. *Circulation* 92: 2929 - 2934, 1995.

(平成16年1月21日受付)
