

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591575

研究課題名(和文) 運動ストレスによるQT延長症候群患者の不整脈発症メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism of arrhythmogenesis by exercise stress in long QT syndrome patients

研究代表者

大野 聖子 (Ohno, Seiko)

滋賀医科大学・アジア疫学研究センター・講師

研究者番号：20610025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：先天性QT延長症候群の中でも、1型及び5型は運動時にQTが延長し、失神を来することが知られている。その原因は遅延整流性心臓カリウムチャンネルをコードするKCNQ1およびKCNE1遺伝子の変異であることが明らかにされている。このKCNQ1とKCNE1の変異は、その部位によって症状の強さが異なることが知られており、今回の研究では、変異ごとの運動時の症状出現と、パッチクランプ法によって得られたチャンネルの機能解析との関連について検討を行った。

研究成果の概要(英文)：Among the long QT syndrome, type 1 and 5 are well known that the symptoms including syncope are related with exercise. The causes of the disease are mutations in KCNQ1 and KCNE1 which encoding slowly activated cardiac potassium ion current channel. Diverse clinical symptoms are depend on the location of the variants. Therefore we analyzed clinical symptoms depend on the mutation locations and performed functional analysis of the mutations using patch clamp methods.

研究分野：小児循環器学

キーワード：QT延長症候群 不整脈 遺伝子変異 カリウムチャンネル 運動誘発性 失神

1. 研究開始当初の背景

先天性 QT 延長症候群 (LQTS) は心電図上の QT 延長及び心室性不整脈による意識消失を特徴とする疾患である。その中でも LQTS1 型 (LQT1) と 5 型 (LQT5) は、学童期に好発し運動時の失神を特徴とする。そのため、学校心臓健診でも LQTS1 型 (LQT1) 及び 5 型 (LQT5) の検出は重要な課題である。LQT1 および LQT5 の原因は、遅延整流性カリウムチャンネル ( $I_{Ks}$ ) をコードする KCNQ1 及び KCNE1 遺伝子の変異であり、KCNQ1 は  $I_{Ks}$  のサブユニット、KCNE1 はサブユニットをコードしている。学校検診等で LQTS と診断され、臨床症状や遺伝子検査で LQT1 または LQT5 と診断された場合には、運動が制限されることが多い。しかしながら、安易な運動制限は学童の肉体的・精神的発達に影響を与えることが懸念されていた。

2. 研究の目的

LQT1 及び LQT5 変異キャリアにおける運動時の臨床像の解析、及び KCNQ1/KCNE1 変異の機能解析を実施することで、運動時失神のメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

これまでに我々の施設で集積した LQTS 患者について、運動負荷時の心電図変化を含め、臨床像を解析する。さらに遺伝子解析で得られた KCNQ1 および KCNE1 変異について、パッチクランプ法で機能解析を行い、運動負荷時の交感刺激を再現するために、薬剤を用いて機能変化を確認する。

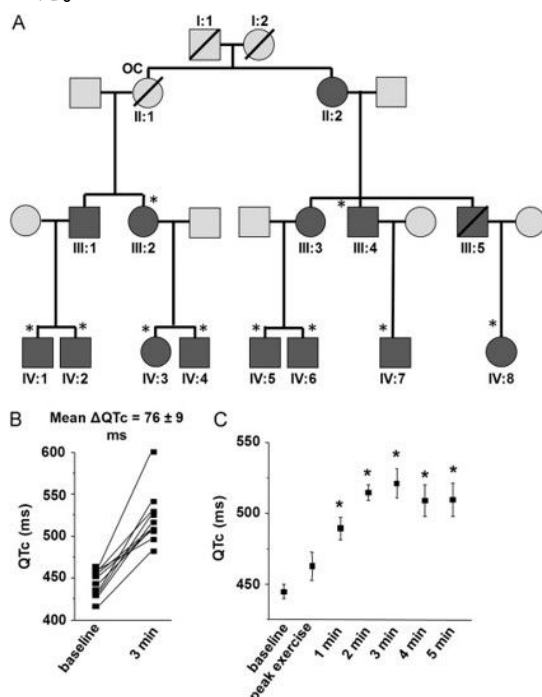
4. 研究成果

1) これまでに同定された KCNQ1 変異の中で、日本人に多く、運動時に症状を呈する KCNQ1-G269S について解析を行った。KCNQ1-G269S は我々のコホート 551 家系中 4 家系に同定され、今回研究対象としたのは家族を含めた 11 人である。これらの患者において、安静時の QT 時間は  $441.6 \pm 44.5$  ms とほぼ正常範囲であったが、運動負荷後には  $485.5 \pm 14.4$  ms まで延長した。パッチクランプ法を用いた機能解析では、負荷を与えない状態でも軽度の電流量低下を認めた。さらに刺激であるイソプロテレノールを負荷すると、コントロールでは約 2 倍の電流量増加を呈するものの、KCNQ1-G269S では電流量の増加はほとんど認められなかった。

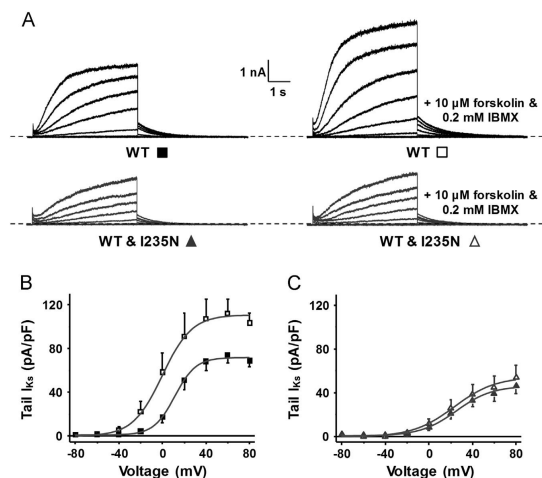
これらの結果から、KCNQ1-G269S 変異キャリアは、運動負荷時の  $I_{Ks}$  増加が障害され、運動時の QT 延長および失神を呈することが確認された。

2) KCNQ1 変異の中でも、チャンネルのポア領域に位置する変異、T322M, T322A 及び G325R は重症の症状を呈することが知られている。これらの変異を持つ 63 人について解析を行った。これらの変異キャリアでは安静時から QT 延長 ( $483 \pm 44$ ms) を呈していることが多く、さらに運動負荷では QT 延長が明らかになった。パッチクランプを用いた機能解析では、電流量が減少していた。さらにカリウムイオンの動きを Simulation してみたところ、ポア領域に位置するこれらの変異があると、その動きが阻害されていることが明らかになった。

3) 引き続き、KCNQ1-I235N の解析をおこなった。

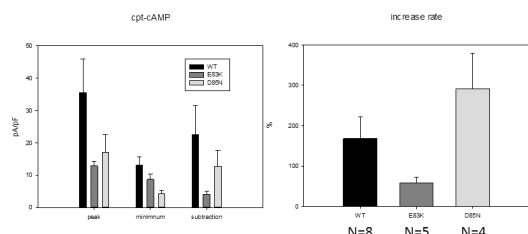


家系内のすべての変異キャリアにおいて運動負荷時の QT 延長が遷延した。



パッチクランプ法での解析でも、刺激に対する電流増加が抑制されていた。

4) 次に、LQT5の原因遺伝子である KCNE1 に同定された E83K 変異について解析を行った。この変異は運動時負荷で QT 延長が顕在化した患児に同定された。パッチクランプ法で、細胞透過性 cAMP を用いて刺激を再現したところ、変異体においては  $I_{Ks}$  電流増加が抑制されていた。



このことから、LQT5 変異においても、運動時の QT 延長が証明された。

## 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 31 件)

- 1) Wu J, Naiki N, Ohno S, Horie M et al: A Molecular Mechanism for Adrenergic-Induced Long QT Syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63: 819-827. DOI 10.1016/j.jacc.2013.08.1648(査読有)
- 2) Ohno S, Omura M, Kawamura M, Horie M et al: Exon 3 deletion of RYR2 encoding cardiac ryanodine receptor is associated with left ventricular non-compaction. *Europace* 2014; 16: 1646-1654. DOI 10.1093/europace/eut382(査読有)
- 3) Hasegawa K, Ohno S, Ashihara T, Horie M et al: A novel KCNQ1 missense mutation identified in a patient with juvenile-onset atrial fibrillation causes constitutively open IKs channels. *Heart Rhythm* 2014; 11: 67-75. DOI 10.1016/j.hrthm.2013.09.073(査読有)
- 4) Fukuyama M, Wang Q, Kato K, Ohno S, Horie M et al: Long QT syndrome type 8: novel CACNA1C mutations causing QT prolongation and variant phenotypes. *Europace* 2014; 16: 1828-1837. DOI 10.1093/europace/euu063(査読有)
- 5) Fukuyama M, Ohno S, Horie M et al: Nonsense-mediated mRNA decay due to a CACNA1C splicing mutation in a patient with Brugada syndrome. *Heart Rhythm* 2014; 11: 629-634. DOI 10.1016/j.hrthm.2013.12.011(査読有)
- 6) Bartos DC, Giudicessi JR, Tester DJ, Ohno S, Horie M et al: A KCNQ1 mutation contributes to the concealed type 1 long QT phenotype by limiting the Kv7.1 channel conformational changes associated with protein kinase A

phosphorylation. *Heart Rhythm* 2014; 11: 459-468. DOI 10.1016/j.hrthm.2013.11.021(査読有)

- 7) Ohno S, Nagaoka I, Fukuyama M, Horie M et al: Age-dependent clinical and genetic characteristics in Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Circ J* 2013;77: 1534 -1542. DOI DN/JST.JSTAGE/circj/CJ-12-1446 (査読有)
- 8) Duchatelet S, Crotti L, Peat RA, Ohno S, Horie M et al: Identification of a KCNQ1 Polymorphism Acting as a Protective Modifier Against Arrhythmic Risk in Long-QT Syndrome. *Circ Cardiovasc Genet* 2013; 6: 354-361. DOI 10.1161/CIRCGENETICS.113.000023(査読有)
- 9) Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y Ohno S, Horie M et al: Common variants at SCN5A-SCN10A and HEY2 are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet* 2013; 45: 1044-1049. DOI 10.1038/ng.2712(査読有)
- 10) Burgess DE, Bartos DC, Reloj AR Ohno S, Horie M et al: High-risk long QT syndrome mutations in the Kv7.1 (KCNQ1) pore disrupt the molecular basis for rapid K(+) permeation. *Biochemistry* 2012; 51: 9076-9085. DOI 10.1021/bi3009449(査読有)

[学会発表](計 55 件)

- 1) Ohno S, Aizawa Y, Fukuyama M, Horie M et al, Do desmosome gene mutations cause or modify the Brugada syndrome? HRS meeting 2015 (2015.5.13-16, Boston, MI, USA) (査読有)
- 2) Ohno S. Which genetic tests: Single genes, panels or genomes?: Challenges of genetic testing in inherited arrhythmia syndromes. 7th APHRS 2014(2014.10.29-11.1, New Delhi, India)(Invitation)
- 3) Ohno S, Fukuyama M, Horie M et al, Identification of latent mutations in primary inherited arrhythmia syndromes using benchtop next generation sequencer. ESC CONGRESS 2014(2014.8.30-9.3, Barcelona, Spain) (査読有)
- 4) Ohno S, Fukuyama M, Itoh H, Makiyama T, Horie M. High frequency of ANK2 mutations in patients with non-genotyped primary inherited arrhythmia syndromes. ESC CONGRESS 2014(2014.8.30-9.3, Barcelona, Spain) (査読有)
- 5) Ohno S, Kawamura M, Hasegawa K, Horie M. Gender differences in the inheritance mode of RYR2 mutations in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia patients. ESC CONGRESS 2014(2014.8.30-9.3, Barcelona, Spain) (査読有)
- 6) Ohno S, Wang Q, Hasegawa K, Itoh H, Makiyama T, Horie M. Phenotypic characterization of three patients with lethal arrhythmia related to KCNH2-R148W missense mutation. 6th APHRS & CardioRhythm 2013. (2013.10.03-06, Hong Kong, China) (査読有)

7) Ohno S, Fukuyama M, Itoh H, Makiyama T, Horie M. Copy number variation in KCNQ1 gene were frequently identified in the pediatric patients of long QT syndrome and caused exercise related QT prolongation. ESC CONGRESS 2013(2013.8.31-9.4, Amsterdam, The Netherlands) (査読有)

8) Ohno S, Omura M, Horie M et al, Exon-3 deletion of RyR2 encoding cardiac ryanodine receptor related to left ventricular non-compaction (LVNC) with ventricular arrhythmia and bradycardia. EHRA EUROPACE 2013 (2013.06.23- 26, Athens, Greece) (査読有)

9) Ohno S, Hasegawa K, Makiyama T, Doi S, Horie M. Different regulation of IKS channels by two KCNE 1 C- terminus variants predicts the QTc response to the exercise stress. HRS meeting (2013.05.08-11, Denver, CO, USA) (査読有)

10) Ohno S, Nagaoka I, Fukuyama M, Horie M et al, Age dependent clinical and genetic characteristics in Japanese patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy /dysplasia. The 5th Asia-Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs) in conjunction with The 8th Asia-Pacific Atrial Fibrillation Symposium (APAFS) (2012.10.03-06 Taipei, Taiwan) (査読有)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.shiga-med.ac.jp/~hqmed1/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大野 聖子 (Ohno Seiko)

滋賀医科大学 アジア疫学研究センター  
特任講師

研究者番号：20610025

### (2) 研究分担者

堀江 稔 (Horie Minoru)

滋賀医科大学 医学部  
教授

研究者番号：90183938