

# QT 延長症候群の発生機構と臨床像の基礎的研究

## 《研究の概要》

先天性 QT 延長症候群はイオンチャネルの異常に基づき分類され、病態、臨床像も異なる。本疾患は若年で急死するため、遺伝子解析が進められているが、全国規模での実態調査とその解析は十分ではない。加えて、同一家系内における症状の程度には幅がある。一方、後天性 QT 延長症候群は、先天性と同様に QT 延長を来たして Torsades de pointes を発生するが、原因、病態は不明な点が多い。本研究は遺伝子解析、臨床的諸検査、組織検査などにより、臨床像、発生機構の解明を多方面から追求することをその概要とする。全国諸施設の御協力を戴き、126 家系の先天性 QT 延長症候群、25 例の二次性 QT 延長症候群を収集し、それぞれのゲノム DNA をもとに、KCNQ1、KCNH2、KCNE1、KCNE2、SCN5A の 5 つの責任遺伝子について、PCR-SSCP 法にて遺伝子変異を検索した。うち、42 家系に遺伝子変異を同定しえたが、後天性 QT 延長症候群 25 例には遺伝子変異は認められなかった。KCNQ1 患者では  $\beta$  遮断薬に対する反応性が良好であった。

QT 延長症候群剖検 6 例、生検 5 例の心筋病理の検討では、剖検 5 例において Purkinje 様細胞の増殖、異常部位での出現、心筋錯綜配列などが見られた。1 例では Purkinje 様異常細胞群は、心室中隔を含めた左心室の中層にまでほぼ全周性に散在していた。5 例の心筋生検所見では、様々な程度に巣状線維症、心筋脱落、配列異常などが散見された。しかし、剖検例で見られた異常細胞の増殖所見は生検資料では認められず、資料採取部位と関連することが推測された。

後天性 QT 延長症候群（薬剤性 46、徐脈 18、電解質異常 8、その他 11）計 91 名の分析では 88 名に器質的心疾患を認めた。薬剤性 QT 延長症候群で、QTc 間隔は、発作時 ( $0.62 \pm 0.08$ )、薬剤投与後発作以前 ( $0.55 \pm 0.11$ )、投与前 ( $0.48 \pm 0.05$ )、投与中止後 ( $0.46 \pm 0.07$ ) の順で、薬剤に対する心室再分極過程の異常反応の関与が考えられ、高い器質的心疾患合併を考えると、再分極過程の異常反応は後天性の可能性も考えられた。

QT 延長症候群で見出された KCNH2 遺伝子ミスセンス変異よりもたらされる機能異常のメカニズムをアフリカツメガエル卵母細胞発現系において検討した。各変異の差による不活性化の増強 (V630L 変異)、活性化・脱活性化速度の促進 (R534C 変異) がみられ、KCNH2 電流抑制の程度は、変異部位により異なることが判明した。臨床的重症度 (QTc 間隔) は少なくとも一部は KCNH2 電流抑制の程度とは相関することが示唆された。原因遺伝子のうち 5 つは単離され、塩基変異の同定される家系も遺伝子診断可能となった。しかし、変異と臨床症状、特に突然死との関連もまだ明らかではない。自律神経系などの環境要因、他の修飾遺伝子などについて、今後の検討が必要である。

## 研究者氏名及び所属機関

研究者氏名	所属機関及び地位	分担研究課題
山口 洋	順天堂大学医学部教授	研究の総括
中村祐輔	東京大学医科学研究所教授	遺伝性 QT 延長症候群の遺伝子解析
永井良三	東京大学医学部教授	遺伝性 QT 延長症候群変異遺伝子の機能解析
河合祥雄	順天堂大学医学部講師	QT 延長症候群の病理組織分析
大江 透	岡山大学医学部教授	後天性 QT 延長症候群の原因及び素因の検討

## 研 究 報 告

### I 研究目的

本研究の目的は、多様な重症度を示す先天性・後天性 QT 延長症候群を、遺伝子解析、臨床的諸検査、薬物効果判定、組織検査による潜在的な心筋病変の検索などにより、臨床像および発生機構の解明を多方面から追求することをその概要とする。

### II 研究計画及び材料と方法

1 本研究班は、山口 洋、大江 透、永井良三、河合祥雄、中村祐輔より組織され、大江が全国実態調査、中村は東大医科研の田中敏博博士と共に症例の遺伝子解析、河合が症例の病理組織分析、永井が症例収集分析および群馬大学第 2 内科中島忠博士とともに発症機序に関する実験的研究を行い、山口が統括する体制を組織した。

2 全国の施設の循環器科に協力を仰ぎ、Romano-Ward 症候群の家系および後天性 QT 延長症候群の患者を収集した。インフォームドコンセント取得の後、家族の協力の得られる家系より血液を採取し、高分子量 DNA を精製した。KCNQ1、KCNH2、KCNE1、KCNE2、SCN5A それぞれの蛋白をコードしている領域全てにプライマーを設計した。設計したプライマーを用いて、患者のゲノム DNA をテンプレートとして PCR-SSCP 法にてスクリーニングを行った。PCR-SSCP 法にて異常バンドの検出されたサンプルについて、再度 PCR をかけ、直接塩基配列を決定し、異常バンドを来した塩基変化を同定した、塩基変化がアミノ酸の変化をもたらす場合、塩基変化の確認を、a) 制限酵素による DNA 切断、もしくは b) 変異アレル特異的なオリゴヌクレオチドによるハイブリダイゼーションにておこなった。また、その変化が正常人でみられないことを血縁関係のない 50 人の健常者のサンプルを用いて確認した。遺伝子型と表現型との関連を見るため、薬剤の発作に対する効果を retrospective に調査した。後天性 QT 延長症候群の病態形成に関与している可能性を探るため、上記 5 遺伝子について PCR-SSCP 法にてそれぞれ single nucleotide polymorphism (SNP) (一塩基多型) を検索した。

3 諸施設より検索を許可された、QT 延長症候群剖検例 6 例の心筋病理を検討した。特に、Purkinje 様細胞の心室内における分布を検討した。各施設より収集された、QT 延長症候群の生検例 5 例の心筋病理を検討した。Antzelevitch らにより提唱された M 細胞を含め

て、心室筋細胞形態の不均一性を検討するために、順天堂大学医学部坂井建雄博士の指導の下、2%glutaraldehyde を用い仔犬心を上行大動脈より逆行性に灌流固定し、アセトン低温脱水法を用いて資料を作成し、心室筋細胞微細構築を電顕的に検討した。

4 急死研究会のメンバーの施設を中心にアンケート調査を依頼し、候群症例を収集した。後天性 QT 延長症候群の原因を調査し、Torsades de pointes が発生する素因を検討した。素因の検討は、薬剤性後天性 QT 延長症候群患者で、薬剤投与前後、発作時、投与中止後の心電図における QT 時間および QTc 間隔を比較検討した。徐脈性 QT 延長症候群患者においては、ペースメーカーの心拍数を減少させ、各心拍数での QT 時間を測定し、コントロール群と比較した。

5 東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター、東京医科歯科大学難治疾患研究所と共同し、LQTS の遺伝子解析、及び同定された変異遺伝子の機能解析を行った。本邦 LQT2 で新たに発見された KCNH2 (HERG) の一次構造上異なる部位に認めるミスセンス変異 (T474I : S2-S3 間、A614V : Pore、V630L : Pore、R534C : S4、S818L : C 端) (図 1) について、KCNH2 (HERG) 電流抑制のメカニズムとして、dominant-negative suppression 以外の新たなメカニズムがあるかどうか、あるいは、変異間に KCNH2 電流抑制の程度に違いがあるかどうかをアフリカツメガエル卵母細胞発現系を用い検討した。

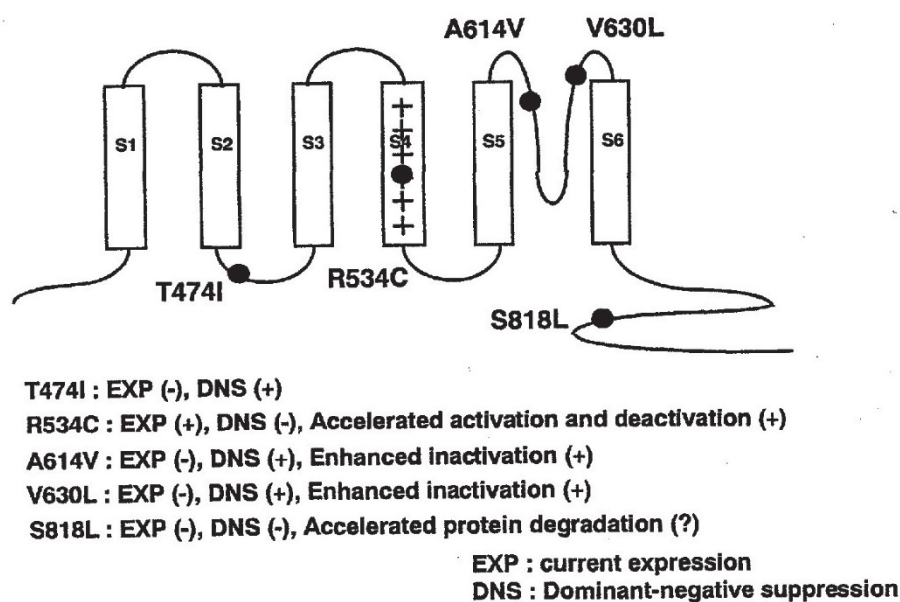


図 1 上段 ; LQT2 で認める KCNH2 (HERG) ミスセンス変異  
 下段 ; KCNH2 (HERG) ミスセンス変異の HERG 電流抑制メカニズムのまとめ

各 KCNH2 変異は Altered site II in vitro mutagenesis system (Promega) あるいは、overlap extension PCR strategy を用い作成した。mCAP RNA capping kit (Stratagene) を用い、野生型 KCNH2 cRNA、各変異 KCNH2、cRNA を作成した。野生型 KCNH2 cRNA、変異 KCNH2 cRNA を単独あるいは混合し、アフリカツメガエル卵母細胞に注入し、全細胞電流記

録を行った。

R534C 変異については、アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いた電気生理学的検討により得られたデータが活動電位に及ぼす影響をコンピューターシミュレーションにより検討した。

S818L 変異については、アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いた電気生理学的検討のみならず、GFP-野生型 KCNH2 融合ベクター、GFP-S818L KCNH2 融合ベクターを作成し、HEK293 細胞に強制発現させ、共焦点レーザー顕微鏡にて変異蛋白の細胞内分布を観察した。

### III 研究成果

1 全国の施設より、126 家系の検体を収集できた。後天性 QT 延長症候群の患者は 25 症例収集した。

PCR-SSCP 法にて異常バンドが検出され、遺伝子変異の認められた家系は 42 家系であった。後天性 QT 延長症候群の患者には遺伝子変異は認められなかった。KCNQ1、KCNH2 に遺伝子変異を持つ有症状者をそれぞれ比較すると、KCNQ1 に異常のある患者の方が  $\beta$  遮断剤に対する反応性がよかった (表 1;  $p=0.0077$ )。上記 5 つの遺伝子について SNP の検索を行い、20 種類の多型を同定した。

表 1 Effect of Simple  $\beta$ -adrenergic Blockade Therapy on Symptomatic LQTS Patients

Mutated gene	Patient	Sex	Age	QTc (msec)	Drug	Symptom after therapy	Follow-up period (year)
KCNQ1	3817	F	43	660	propranolol	-	16
KCNQ1	100-1	M	8	620	atenolol	-	1
KCNQ1	100-2	F	38	650	atenolol	-	1
KCNQ1	5604	F	21	590	atenolol	-	5
KCNQ1	3612	F	26	530	propranolol	-	8
KCNQ1	2905	M	14	510	propranolol	-	7
KCNQ1	6114	F	22	570	propranolol	-	14
KCNQ1	6115	F	20	550	propranolol	-	14
KCNQ1	6117	F	17	550	propranolol	-	6
KCNQ1	1004	F	25	505	propranolol	-	7
KCNQ1	1911	M	15	480	bisoprolol	-	3
KCNQ1	30	M	18	490	propranolol	-	4
KCNQ1	2515	F	21	530	propranolol	syncope	
KCNH2	6801	F	65	520	propranolol	-	8
KCNH2	2009	M	25	500	propranolol	syncope	
KCNH2	2211	F	24	550	propranolol	syncope	
KCNH2	8001	M	21	700	propranolol	syncope	
KCNH2	101	F	19	500	carteolol	syncope	

2 QT 延長症候群 6 例の臨床病理的所見では、5 例において Purkinje 様細胞の増殖、通常の心内膜下領域ではない、心室筋層内での異常な部位での出現、心筋錯綜配列など特異的な所見が見られた。そのうち 著しい Purkinje 様細胞を認めた 1 剖検例 (徐脈、QTc=0.73、2:1 房室ブロック、T wave alternance。心エコー図では中隔の非対称性肥厚をもつ左心室肥厚と拘束パターン。両側肘、膝関節伸展障害、足底揺り椅子状変形、第 2 第 3 指趾重合合併。心室中隔厚 11mm、側壁 7mm、両心室心内膜の線維性肥厚) では、異常細胞群は心室中隔を含めた左心室の中層にまでほぼ全周性に散在していた。Torsade de pointes 型心室頻拍・心室細動を経て死亡した他の 1 例は、広範かつ散在性の真菌性心筋炎の所見が得られた。

QT 延長症候群 5 例の心筋生検所見では、様々な程度に巣状線維症、心筋脱落、配列以上などが散見され、心筋細胞レベルでも異常 (心筋炎後、心筋症) を呈することが示された。しかし、剖検例で見られた Purkinje 様細胞の増殖所見は、生検では認められず、資料採取部位と関連することが推測された。

灌流固定、アセトン低温脱水法により作成された資料では、心外膜直下に通常の作業

心筋とは異なる筋原線維・グリコーゲン量の心筋細胞を認めた。

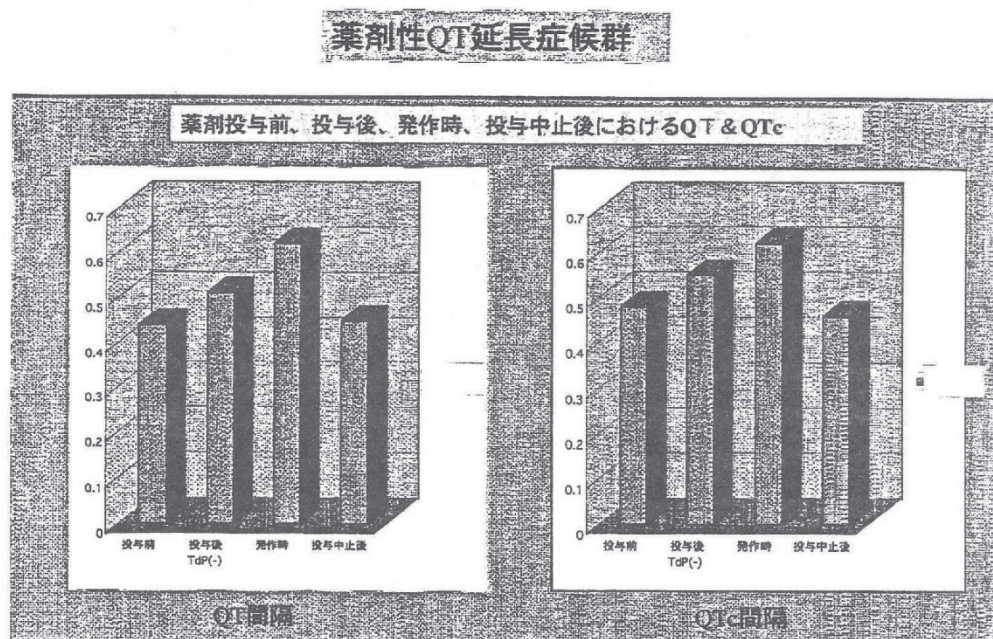
3 91名の後天性QT延長症候群が登録された。原因の内訳は、薬剤投与が原因と考えられた患者46名、徐脈が原因と考えられた患者18名、電解質異常が原因と考えられた患者8名、その他が原因と考えられた患者11名。しかし、薬剤性と考えられた患者のうち7名は徐脈、3名は電解質異常、5名は徐脈と電解質異常の両方を伴っていた。患者の性別では、男性26名、女性65名であった。器質的心疾患は88名(97%)に認めた。

薬剤性後天性QT延長症候群の内、詳細な情報が得られた27名の責任薬剤での内訳は、ジソピラミド13名、プロカインアミド4名、キニジン4名、その他としてはIkrブロック作用がある薬とそれらの薬剤代謝に関与する薬剤が主で、漢方薬で起こったと考えられる患者が1名あった。

薬剤に対する素因(再分極過程の過剰反応)の可能性を検討する目的で、薬剤投与前、投与後発作以前、発作時(Torsades de pointes)、投与中止後におけるQT時間およびQTc時間を測定した。

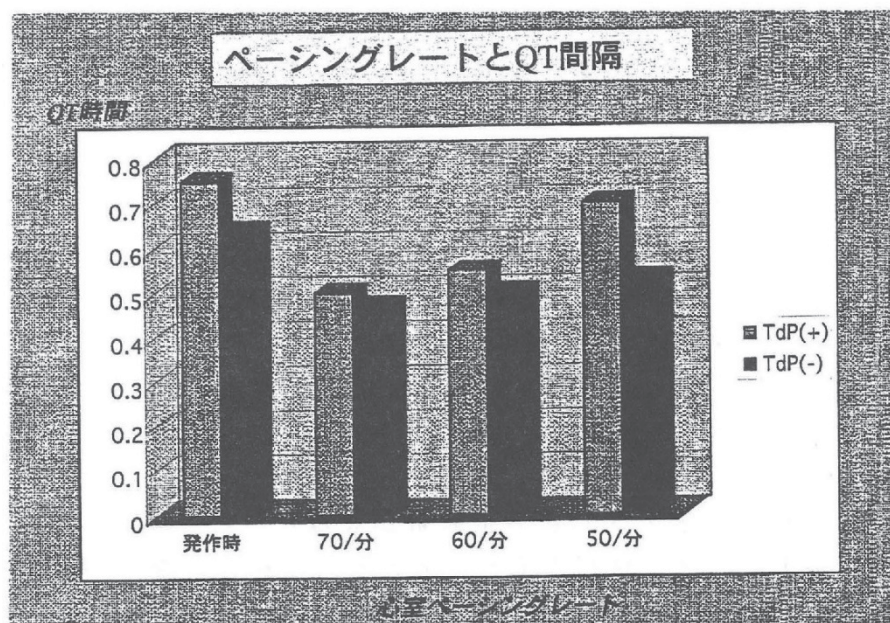
QT間隔は、投与前： $0.41 \pm 0.05$ 、投与後で発作以前： $0.51 \pm 0.1$ 、発作時： $0.62 \pm 0.01$ 、投与中止後： $0.45 \pm 0.08$ であった。

QTcは、投与前： $0.48 \pm 0.05$ 、投与後発作以前： $0.55 \pm 0.11$ 、発作時： $0.62 \pm 0.08$ 、投与中止後： $0.46 \pm 0.07$ であった(図2)。



徐脈が原因と考えられた患者18名のうち、6名で心室再分極過程の異常反応を起こす素因を検討した。患者は全例房室ブロックの患者(女4、男2)で年齢は48-85歳(平均 $68 \pm 12$ 歳)。発作時のQTは $0.75 \pm 0.06$ と延長していた(Torsades de pointesを合併しない徐脈患者は $0.64 \pm 0.08$ )。徐脈に対する心室再分極過程が異常であるかを確かめる目的で、全身状態が安定した状態(6ヶ月後)で、ペースメーカーの心室レートを低下させ徐脈に対する心室再分極過程の反応を検討した。QT間隔は、70/分： $0.5 \pm 0.04$ 、60/分： $0.55 \pm$

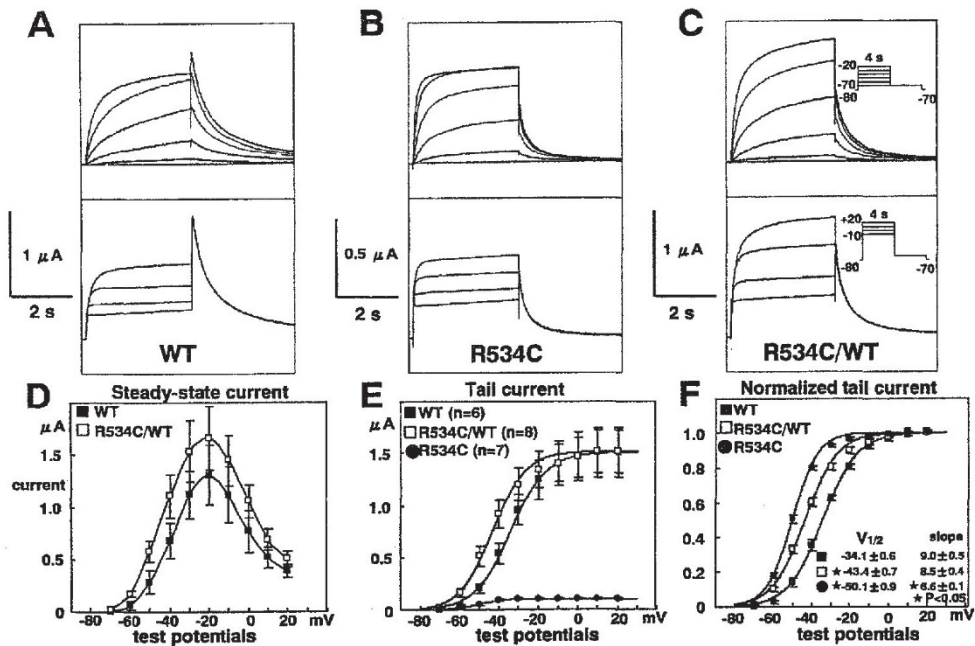
0.04、50/分  $0.7 \pm 0.05$  で50/分でQTの異常延長が明らかになった(図3)。



4 KCNH2の一次構造上異なる部位のミスセンス変異 T474I、A614V、V630L 各変異を単独でアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた場合、いずれも変異単独ではチャンネルして機能しなかった。ところが、野生型と各変異を共発現させた場合、野生型を単独で発現させた場合に比べ、発現電流値の減少を認めた。このことは野生型サブユニットと各変異サブユニットは会合し、dominant-negative suppressionをきたすことを意味している。また、dominant-negative suppressionの程度は変異間に差があり、KCNH2電流抑制の程度は、V630L、A614V、T474Iの順に大きかった。キネティクスを検討したところ、KCNH2チャンネル外孔部のV630Lと野生型を共発現させた場合はdominant-negative suppressionに加え、不活性化曲線は負電位側にシフトしていた。その結果、内向き整流性が増強し、外向き電流の抑制をさらに増大していた。V630LのもたらすKCNH2チャンネルの不活性化の増強は、LQT2における新たなKCNH2電流抑制メカニズムであった。

外向き電流の定量的検討では、前述のように3変異のKCNH2電流抑制の程度はV630L > A614V > T474Iの順に大きかった。KCNH2に変異を有する家系の臨床データは十分には得られていないが、QTc間隔をみるかぎりV630L > A614V > T474Iの順に長く、発現実験系で得られた各変異のKCNH2電流抑制の程度と臨床像(重症度)には相関があることが示唆された。

チャンネル活性化の電位センサーと考えられているKCNH2 S4領域のR534Cの電気生理学的検討を行った。この変異は前述の3変異とは異なり、発現電流値は小さかったが単独でチャンネルと機能していた(図4)。ところが、KCNH2チャンネルの活性化曲線の負電位側へのシフト、活性化速度・脱活性化速度促進、不活性化曲線の正電位側へのシフトなどのキネティクスの変化を認めた。これらの結果は、KCNH2チャンネルは他の電位依存性Kチャンネルと同様、S4領域はチャンネル活性化の電位センサーとして機能していることを示している。電気生理学的検討で得られたデータを用いコンピューターシミュレーションを行ったところ、



A; 野生型HERG cRNAを単独で卵母細胞に注入した場合の発現電流。  
 B; R534C cRNAを単独で卵母細胞に注入した場合の発現電流。活性化速度、脱活性化速度の促進を認める。  
 C; 野生型HERG cRNAと同量のR534C cRNAを混合し卵母細胞に注入した場合の発現電流。  
 D; 脱分極パルス中ピークの電流-電圧曲線。  
 E; 末尾電流のピークの電流-電圧曲線。明かなdominant-negative suppressionは認めない。  
 F; 正常化した末尾電流のピークの電流-電圧曲線。R534Cでは活性化曲線の負電位側へのシフトを認める。

これらのキネティクスの変化は予想に反して活動電位持続時間を延長ではなくむしろ短縮する方向に寄与していた。定量的検討では、この変異は明らかな dominant-negative suppression はきたさなかった。この変異はこれまでに検討された変異の中で最も KCNH2 電流抑制の程度が弱い変異であった。

この変異を有する LQT2 家系の発症者では、QTc 間隔の平均値は 540ms 以上であり、若年にして突然死をきたした患者もいることから、重症度は比較的高いと考えられた。この変異に関しては、発現実験で得られた KCNH2 電流抑制の程度と臨床的重症度との相関は低いと考えられることから、KCNH2 チャンネルを修飾する何らかの因子が存在する可能性が示唆された。

KCNH2C 端のミスセンス変異 S818L の機能解析で、この変異単独では、アフリカツメガエル卵母細胞発現系において発現電流は記録されなかった。野生型と S818L 変異を同量共発現させた場合、明らかな dominant-negative suppression はきたさなかった。3 倍量あるいは 10 倍量の S818L 変異と野生型を共発現させた場合、発現電流値を強く抑制した。さらに、キネティクスの変化（活性化曲線の負電位側へのシフト、活性化速度の促進、脱活性化速度の促進）を認めた。このことは、野生型サブユニットと S818L サブユニットは会合することを示唆している。また、KCNH2 C 端は KCNH2 チャンネルの開閉機構に寄与していると推測された。

この変異は単独では細胞膜上に発現せずチャンネルとして機能しないのか、あるいは単独で細胞膜上に発現するがチャンネルとして機能しないのか不明であり、電気生理学的検討より得られたデータは、野生型サブユニットと S818L サブユニットは会合し異種多量体を形成することを示唆しており、これらの細胞内分布観察した。GFP-野生型 KCNH2 融合ベクター、GFP-S818L KCNH2 融合ベクターを作成し、HEK293 細胞に強制発現させ、共焦点レーザー顕



微鏡にて融合蛋白の細胞内分布を観察した。野生型を単独で発現させた場合は HEK293 細胞の細胞膜は濃染された。しかし、S818L を単独で発現させた場合は細胞膜は染色されず、細胞質内が濃染された。このことは、変異蛋白は protein trafficking が障害され、小胞体から細胞膜上に輸送されないことを示唆していた。

#### IV 考案

##### 後天性 QT 延長症候群の臨床

後天性 QT 延長症候群において薬剤性と考えられた患者のうち 7 名は徐脈、3 名は電解質異常、5 名は徐脈と電解質異常の両方を伴っていた事実は、QT 延長を起こす複数の因子が複雑に関与して Torsades de pointes を発生させている可能性を示唆する。女性に多い原因は不明であるが、先天性の場合も遺伝子異常には男女差が無いにも関わらず Torsades de pointes の発生は女性が多いこと類似している。また、器質的心疾患の高合併率は異常 QT 延長や Torsades de pointes を来す素因が後天性である可能性を示唆す所見と考えられた。

薬剤投与後の QTc 間隔の延長は、生理的 QTc の延長の 0.04 を遙かに越えて異常延長を来たしていた。発作時の薬物血中濃度は通常の有効血中濃度以下であった。従って、薬物の中毒による可能性よりも薬剤に対して心室再分極過程の異常反応が関与していると考えられた。中村らはこの心室再分極過程の異常反応が遺伝子異常（先天性 QT 延長症候群で報告されている遺伝子）が関与している可能性を 25 名の患者に於いて調査したが、遺伝子異常は認められなかった。一方、95%の患者が器質的心疾患を有していることを考えると、再分極過程の異常反応は後天性の可能性が考えられる。

また、投与前の QTc が軽度延長していることや発作時 QT 間隔がさらに著名に延長するのは、薬剤の他に QT を延長させる因子（徐脈、電解質異常など）が関与している可能性が考えられた。

徐脈が原因と考えられた患者で発作時の QT 間隔延長は、補充調律の QRS 幅、心拍数、および K の値は TdP を起こさない患者と差が無く、徐脈に対する心室再分極過程が異常反応が関与している可能性が考えられた。徐脈性 QT 延長症候群患者では、徐脈時に再分極過程が発現する可能性が考えられた。この徐脈時に発生する再分極過程の異常が先天性なものか後天性なものかは今後の検討が必要である。

##### 病理学的検討

QT 延長症候群は、病理学的には洞結節、房室結節や心室筋の限局性神経節炎、両側星状神経節の小円形細胞浸潤を伴う神経節炎、左側星状神経節の血管周囲性小円形細胞浸潤と変性などや弁、刺激伝導系の異常などが報告されており、実験的に QT 延長を起こしうる神経節の病変が注目されてきた。今回の剖検例 5 例の検討ではいずれも Purkinje 様細胞の増殖、通常の内臓膜下領域ではない心室筋層内での異常な部位での出現、心筋錯綜配列などの病理所見が見られた。この心筋構築の異常、Purkinje 細胞の腫大は、心筋再分極異常に関連する所見と思われる。また、この所見と M 細胞との関係は今後の検討を要するが、Purkinje 細胞は筋層内には存在しないことが、M 細胞が Purkinje 細胞でないことの一因にあげられているので、この所見は意味を持つと考えられる。また、犬心室筋微細

構築の検討では M 細胞の形態学的な特定には至らなかったが、Purkinje 細胞が心筋筋層内に進入した知見をえ、また、心外膜直下に他の作業心筋とは微細構造の異なる心筋細胞を認めたことは、M 細胞の提唱により開かれた「心室筋細胞の不均一性」を一步進めたとも考えられる。

#### 変異遺伝子

日本人の QT 延長症候群の 126 家系を検索し、42 の遺伝子変異を同定したこれらの遺伝子変異は膜貫通領域の近傍に散在しており、変異のホットスポットといった部位はないと現時点では推定された。今回の結果からは、KCNH2 遺伝子に異常を持つ患者は  $\beta$  遮断剤に対する反応が比較的悪いと考えられ、より積極的な治療が必要となると思われる。数多くのサンプルが必要ではあるが、遺伝子型と臨床症状との間に関連が認められた点は意義深い。将来的には遺伝子型特異的な治療も可能となってくるとと思われる。また、上記 5 遺伝子の多型を 20 種類同定したが、今後、後天性 QT 延長症候群の病態に関わる多型を同定する上での基盤になるとと思われる。

#### 変異遺伝子の機能解析

本邦 LQT2 で認めた KCNH2 (HERG) 変異の KCNH2 電流抑制メカニズムの解析を行った結果、これまでに報告されていない新たな KCNH2 電流抑制のメカニズムを数種類発見した。まず、新たな KCNH2 電流抑制のメカニズムとして、チャンネル外孔部 V630L の不活性化の増強を報告した。

KCNH2 (HERG) チャンネルは膜六回貫通型の電位依存性 K チャンネルであるが内向き整流性を呈するという特徴を有する。KCNH2 チャンネルの内向き整流性は、膜二回貫通型の K チャンネルとは異なり、その速い不活性化によりもたらされる。KCNH2 チャンネルの不活性化はチャンネル外孔部の conformational change (構造変化) により生ずると考えられている。V630L は KCNH2 チャンネルの一次構造上チャンネル外孔部の変異と推測されるが、V630L が KCNH2 チャンネルの不活性化の増強をもたらしたことは、KCNH2 チャンネルの外孔部がチャンネルの不活性化に関与していることに矛盾しない所見である。

次に、KCNH2 S4 R534C のキネティクスの変化が挙げられる。電位依存性チャンネルでは S4 は、チャンネル活性化の電位センサーとして機能していると考えられているが、R534C の電気生理学的検討の結果、KCNH2 チャンネルの S4 は他の電位依存性 K チャンネルの S4 と同様、チャンネル活性化の電位センサーとして働いていることが明らかとなった。さらに、R534C が KCNH2 チャンネルの不活性化に影響を与えたことは、KCNH2 チャンネルの外孔部と S4 電位センサーの構造機能連関の解明に有用な情報であると思われる。

S818L の KCNH2 機能異常をもたらすメカニズムの解析として、S818L と野生型を卵母細胞に同量共発現させた場合、明らかな dominant-negative suppression はきたさなかったが、多量の S818L 変異と野生型を共発現させた場合、キネティクスを変化させ、かつ発現電流値を強く抑制した。S818L の量が多量でないと発現電流値の抑制をきたさないことから、①野生型 cRNA に比べ S818L cRNA の安定性が悪い、②野生型蛋白に比べ S818L 蛋白の合成速度が遅い、あるいは、③S818L 蛋白の degradation が速い、など次の可能性が考えられる。

KCNH2変異の中には、蛋白の degradation の速度が促進しているものも報告されている。そのメカニズムとしてはいわゆる“quality control”、すなわち、フォールディングされなかった蛋白や、サブユニット間の会合がなされなかった蛋白は、Golgi 装置に輸送されず小胞体 (ER) にとどまり、蛋白はそこで degradation を受けるという仮説である。S818L 蛋白は degradation の速度が促進している可能性が最も高いと推測される。

その他、KCNH2 ミスセンス変異の KCNH2 電流抑制のメカニズムとして、protein trafficking が障害され変異蛋白単独では細胞膜上に発現しない変異 (Y611H、V822M)、変異蛋白単独で細胞膜上に発現するがチャネルとして機能しない変異 (I593R、G628S)、protein trafficking が障害されチャネル蛋白の細胞膜上への発現効率が低下している変異 (G601S)、チャネル孔の変異で、イオン選択性が変化し Na イオンの透過性が亢進し、活動電位再分極相に内向き電流が流れる変異 (N629D) なども報告されている。

このように、LQT2 で認める KCNH2 変異の KCNH2 機能異常をもたらすメカニズム、その程度は多様である。また、LQT1 で認める KCNQ1 (KvLQT1) 変異や LQT3 で認める SCN5A 変異の機能異常をもたらすメカニズム、その程度も変異部位により異なることも報告されている。

家族性 QT 延長症候群の原因遺伝子のうち 5 つは単離され、ある程度の病態解明も進みつつある。さらに塩基変異の同定される家系については遺伝子診断も可能となった。しかしながら、塩基変異の同定されない家系や孤発例に関しては発症前診断等の遺伝子診断が困難である。突然変異と臨床症状、特に突然死、との関連もまだ明らかではない。同一家系内で同じ塩基変異を持っている者でも、QT 時間が延長しているだけの者から失神発作を繰り返す重篤な症状を示す者までみられることを考えると、この疾患の重症度には自律神経系のアンバランス等の環境要因もしくは他の modifier gene も関与していると思われ、変異遺伝子の P 発現実験で得られたデータとの臨床像との対比を含めて、今後の更なる検討が必要である。この分野の研究が益々盛んになることを期待したい。

## V 研究成果の発表

- 1 Itoh T, Tanaka T, Nagai R, Kikuchi K, Ogawa S, Okada S, Yamagata S, Yano K, Yazaki Y, Nakamura Y.: Genomic organization and mutational analysis of KVLQT1, a gene responsible for familial long QT syndrome. *Human Genet* 103:290-294, 1998.
- 2 Itoh T, Tanaka T, Nagai R, Kamiya T, Sawayama T, Nakayama T, Tomoike H, Sakurada H, Yazaki Y, Nakamura Y. :Genomic organization and mutational analysis of HERG, a gene responsible for familial long QT syndrome. *Human Genetics* 102:435-439, 1998.
- 3 Kamakura S, Shimizu W, Matsuo K, Taguchi A, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Ohe T, Shimomura K: Localization of optimal ablation site of idiopathic ventricular tachycardia from right ventricular and left ventricular outflow tract by body surface ECG. *Circulation* 98: 1525-1533, 1998.

- 4 Nakajima T, Furukawa T, Tanaka T, Katayama Y, Nagai R, Nakamura Y, Hiraoka M.: Novel mechanism of HERG current suppression in LQT2: shift in voltage dependence of HERG inactivation. *Circ Res.* 83:415-422, 1998.
- 5 Nakayama K, Yamanari H, Otsuka F, Fukushima K, Saito H, Fujimoto Y, Emori T, Matsubara H, Uchida S, Ohe T.: Dispersion of regional wall motion abnormality in patients with long QT syndrome. *Heart* 80:245-250, 1998.
- 6 Nakamura K, Fushimi K, Kouchi H, Mihara K, Miyazaki M, Ohe T, Namba M.: Inhibitory effects of antioxidants on neonatal rat cardiac myocyte hypertrophy Induced by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  and angiotensin II. *Circulation* 98:794-799, 1998.
- 7 Sato T, Nakamura K, Yamanari H, Yoshimouchi T, Ohe T: Relationship between electro-cardiographic features and distribution of hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Jpn Circulation J* 62:483-488, 1998.
- 8 Sumiyoshi M, Nakaya Y, Mineda Y, Shimamoto T, Yasuda M, Nakazato Y, Yamaguchi H.:Response to head-up tilt testing in patients with situational syncope. *Am J Cardiol* 82:1117-1118, 1998.
- 9 Tada H, Aihara T, Ohe T, Yutani C, Hamada S, Miyamura H, Takamiya M, Kamakura S: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy underlies syndrome of right bundle branch block, ST-segment elevation, and sudden death. *Am J Cardiol* 81:519-522, 1998.
- 10 Kawai S, Suzuki H, Yamaguchi H, Tanaka K, Sawada S, Aizawa T, Watanabe M, Tamura T, Umawatari K, Kawata M, Nakamura T, Yamanaka O, Okada R: "Ampulla cardiomyopathy ("takotsubo" cardiomyopathy)--- reversible left ventricular dysfunction ---*Jpn Circulation J* 64: 156-159, 2000
- 11 Suzuki H, Sumiyoshi M, Kawai S, Takagi A, Wada A, Nakazato Y; Daida H, Sakurai H, Yamaguchi H: Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with an initial manifestation of severe left ventricular impairment and normal contraction of the right ventricle. *Jpn Circulation J* 64: 209-213, 2000.
- 12 Iwasa H, Itoh T, Nagai R, Nakamura Y, Tanaka T.: Single nucleotide polymorphisms (SNPs) and their allelic frequencies in four genes that are responsible for familial long QT syndrome in Japanese population. *Journal of*

- Human Genetics, 45: 182-183, 2000.
- 13 Nakajima T, Furukawa T, Tanaka T, Sakurada H, Takahashi T, Hirano Y, Nagai R, Itoh T, Katayama Y, Nakamura Y, Hiraoka M.: Voltage-shift of the current activation in *HERC* S4 mutation (R534C) in LQT2. Cardiovascular Research. 44:283-293, 1999
  - 14 Shimizu W, Ohe T, Kurita T, Kawade M, Arakaki Y, Aihara N, Kamakura S, Kamiya T, Shimomura K.: Effects of verapamil and propranolol on early afterdepolarizations and ventricular arrhythmias JACC 26: 1299-1309, 1995.
  - 15 Emori T, Ohe T, Aihara N, Kurita K, Shimizu W, Kamakura S, Shimomura K. Dynamic relationship between the Q-aT interval and heart rate in patients with long QT syndrome during 24-Hour holter ECG monitoring. Pacing and Clinical Electrophysiology. 18, 1909-1918, 1995.
  - 16 Kagiri-Kawade M, Ohe T, Arakaki Y, Kurita T, Shimizu W, Kamiya T, Orii T.: Abnormal response to exercise, face immersion, and isoproterenol in children with the long QT syndrome. : Pacing and Clinical Electrophysiology. 18: 2128-2134, 1995.
  - 17 Emori T, Ohe T, Aihara N, Kurita T, Shimizu W, Kamakura S, Shimomura K.: Effects of  $\beta$ -blocker therapy on the dynamic QT/RR relation in patients with long QT syndrome during 24-Hour Holter ECG monitoring. Annals of Noninvasive Electrocardiology. 2:40-46, 1997
  - 18 Nakayama K, Yamanari H, Otsuka F, Fukushima K, Saito H, Fujimoto Y, Emori T, Matsubara H, Uchida S, Ohe T.: Dispersion of regional wall motion abnormality in patients with long QT syndrome. Heart 80:245-250, 1998.
  - 19 Emori T, Ohe T.: Evaluation of direct respiratory modulation of the QT interval variability. PACE 22:842-848, 1999.
  - 20 Fujimoto Y, Morita H, Kusano Fukushima K, Ohe T. : Nicorandil abolished repolarisation alternans in a patient with idiopathic long QT syndrome. Heart 82:643, 1999.
  - 21 Yamanari H, Nakayama K, Morita H, Miyazi K, Fukushima K, Matsubara H, Emori T, Ohe T.: Effects of cardiac sympathetic innervation on regional wall motion abnormality in patients with long QT syndrome. Heart 83:295-300, 2000.

- 22 Yamanari H, Fukushima K, Miyaji K, Yamamoto M, Nagase S, Misunaga-Otsuka F, Nakayama K, Matsubara H, Emori T, and Ohe T.: Effects of myocardial perfusion on QT dispersion in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*; 5; 1 ;60-67;2000.
- 23 山口 洋、横井 尚、代田浩之. 虚血性心疾患の治療法選択と予後. *循環器専門医*. 6:37-43, 1998.
- 24 安田正之、呉本健一、蔵田 健、杢野浩司、横井 尚、住吉正孝、中里祐二、代田浩之、桜井秀彦、中田八洲郎、山口 洋: 脳梗塞後に著しいQT延長による多形性心室頻拍を合併した洞機能不全症候群の1例. *呼吸と循環* 46:1135-1139, 1998.
- 25 河合祥雄、大井川哲也 心筋症の病態概念の変化2「病理学的分類」*治療学* 32:1116-1118, 1998.
- 26 池田義彦、河合祥雄、岡田了三、山口 洋. 型不明型心筋症の多様性とその移行性. *JCardiol* 31:91-98, 1998.
- 27 栗田隆志、清水渉、鎌倉史郎、下村克朗、大江透. Monophasic action potentialと心電図 後天性QT延長症候群における検討. *心臓* 28:263-272, 1996.
- 28 河合祥雄、韋 晴明、小泉憲司 心房細動の病理 *J Cardiol* 33(Supple 1):47-52, 1999.
- 29 河合祥雄 心筋症における不整脈と病理所見---不整脈原性右室異形成症とQT延長症候群を中心に---心電図 *Jpn J Electrocardiol* 19(3):223-230, 1999.
- 30 Nakajima T, Furukawa T, Tanaka T, Sakurada H, Takahashi T, Nagai R, Itoh T, Katayama Y, Nakamura Y, Hiraoka M. Accelerated HERG current deactivation in R534C mutation as a novel mechanism of LQT2. *Cardiovascular Research* 投稿中