

● 特別講演

難治性循環器疾患へのゲノム医学アプローチ
— 不整脈の分子病因 —

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野 木村 彰 方

要 約

最近のゲノム医学的研究は、種々の難治性疾患について、その病因としての遺伝子変異を解明している。難治性不整脈についても、原因となるチャネル遺伝子異常が解明され、電気生理学的検討によるチャネル機能異常そして臨床病態の解明へと至っている。また、同一遺伝子の異常であっても、チャネル機能変化の性質や程度が異なり、ひいては臨床病態も異なることが判明している。したがって、個々の症例における遺伝子変異情報は治療戦略を立てる上で有用であるといえる。

はじめに

不整脈には原因不明の特発性(一次性)不整脈と、心不全や虚血などに伴う続発性(二次性)不整脈があるが、いずれも突然死の原因となる。特発性不整脈ではその一部の症例に明らかな家族歴(遺伝性)を認めるため、多発家系を対象とした連鎖解析によって原因遺伝子座を同定し、その領域内の遺伝子に病因となる変異を探索するゲノム医学的解析手法によって、その原因がチャネル遺伝子の構造異常にあることが明らかになってきている。また、明らかな家族歴のない症例にも病因変異が特定されることがある。本稿では、不整脈に関する遺伝子研究について、最近の知見を紹介する。

1 疾患発症における遺伝子変異の寄与

疾患の発症には多かれ少なかれ遺伝要因と環境要因の両者が関与するが、不整脈も例外で

はない。いわゆる家族性不整脈はその発症に遺伝要因の関与が極めて大きい不整脈であるが、そのような1個の遺伝子の変異によって発症がほぼ規定される疾患を単因子遺伝病(遺伝子病)とよび、疾患はメンデル性の遺伝形式、すなわち常染色体性優性(autosomal dominant: AD)、常染色体性劣性(autosomal recessive: AR)あるいは伴性劣性(X-linked recessive: XR)遺伝形式に従って遺伝する。家族性不整脈の遺伝形式には種々のものがあるが、原因遺伝子がどの染色体(常染色体か性染色体か)上にあるのか、遺伝子異常が片方の染色体上のみ(優性)あるいは双方の染色体上(劣性)にあるのかで遺伝形式が異なってくる。遺伝子病に関連する遺伝子変異は一般集団にはほとんど存在しないが、同一家系内の患者は同じ変異を有している。しかしながら、AD 遺伝形式の疾患にもしばしば観察されることであるが、遺伝子変異を有していても必ずしも発症するとは限らない。変異を有している者のうち発症する者の割合を疾患の浸透率(penetrance)といい、その大きさは変異ごとにかなり異なる。さらに、一口に疾患といってもその病型や病状はさまざまであり、変異による病態発現性(expressivity)も必ずしも一様ではない。このような浸透率や発現性の違いは同一変異を有する家系内患者間でも認められるが、同一個体内でも年齢に依存して生じる。このことから、浸透率や発現性の違いには病因変異以外の遺伝要因(家系内相違の主な原因)や環境要因(個体内相違の原因)が関わりと推定され、この際の遺伝要因を修飾遺伝子(modifier gene)と

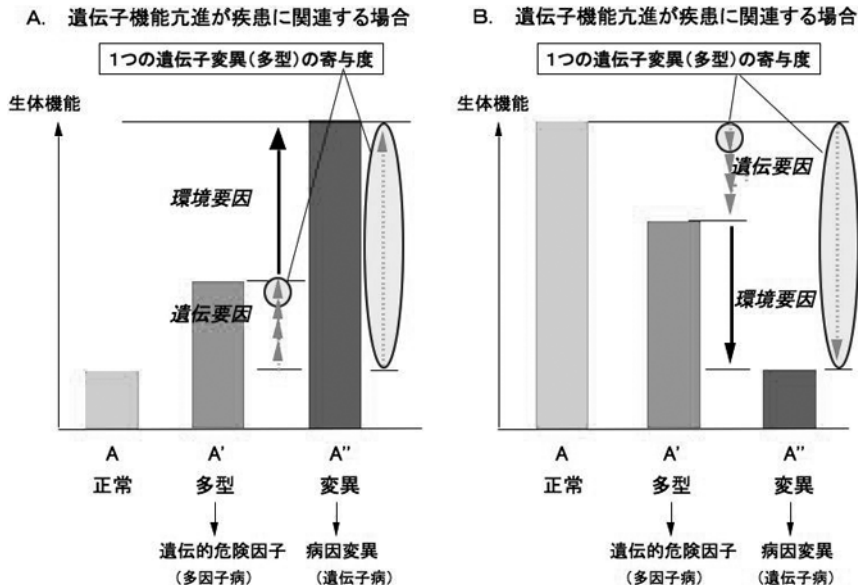


図1 多因子病と遺伝子病における遺伝要因と環境要因図

多因子病に関連する遺伝子変異(多型)は遺伝的危険因子の一つであり疾患発症への寄与度は小さい。これに対して、遺伝子病に関連する遺伝子変異(病因変異)は疾患発症を規定する因子であり疾患発症への寄与度が大きい。

よぶこともある。

これに対して、1個の遺伝子の変異のみでは疾患の発症に至らず、複数の遺伝子変異に加えて環境要因が存在する場合に発症に至る疾患を多因子疾患(多因子病)とよぶ。多因子病に関連する遺伝子変異は一般集団にも一定の頻度(おおむね一般集団中の遺伝子頻度が1%を超える)で存在する遺伝子多型である。多因子病の場合は、同一家系内の患者発生頻度は一般集団に比べて高いが、決してメンデル性の遺伝形式はとらない。このため、多因子病に関連する遺伝子変異は、病因変異ではなく、疾患発症のリスク因子である。つまり、遺伝子病では遺伝子変異を検出することが疾患の診断(遺伝子診断)に直結するが、多因子病における遺伝子変異の検出は診断学的意義に乏しくリスク評価にとどまる。

疾患発症と遺伝子変異との関連を概念的に示すと図1のようになる。つまり、変異によって遺伝子機能が変化(増強あるいは減弱)する

が、その機能変化がある閾値を越えた際に疾患発症に至ると考えると、遺伝子病では1個の遺伝子変異と少しの環境要因によって機能変化が閾値を越えるのに対し、多因子病では複数の遺伝子変異と環境要因が加わって初めて閾値を越える。遺伝子変異の疾患発症への寄与度として考えると、遺伝子病では変異の寄与度が極めて大きいのにに対して、多因子病では個々の遺伝子変異の寄与度は相当に小さいことを意味する。また、多因子病関連遺伝子変異による機能変化が解析され、正常の数倍あるいは数分の1まで機能が変化することも報告されているが、このような場合、機能変化が大きければ大きいほど当該遺伝子変異による疾患発症への寄与度が小さいと見積もられることになる。すなわち、遺伝子変異による機能変化の程度は疾患発症における寄与度とは逆相関にあるといえる。

2 一次性不整脈における遺伝子異常

不整脈の分子遺伝学的解析の端緒は遺伝性

表1 一次性不整脈の原因遺伝子，コードする蛋白と病型

遺伝子	コードする蛋白	不整脈の病型 [#]
<i>KCNQ1</i>	IKs ラージサブユニット	RWS (LQT1), JLNS, SQT(SQT2), AF
<i>KCNE1</i>	IKs スモールサブユニット	RWS (LQT5), JLNS
<i>KCNH2</i>	IKr ラージサブユニット	RWS (LQT2), 薬剤性 QT, SQT(SQT1)
<i>KCNE2</i>	IKr スモールサブユニット	RWS (LQT6), 薬剤性 QT, SQT
<i>SCN5A</i>	Ina ラージサブユニット	RWS (LQT3), IVF, BrS, AF, SIDS, PCCD
<i>ANK2</i>	アンキリン B	RWS (LQT4), IVF, PVT, CPVT
<i>KCNJ2</i>	Kir2.1 チャネル	Andersen (LQT7), PVT, SQT(SQT3)
<i>CACNAC1</i>	Cav1.2 チャネル	Timothy (LQT)
<i>RYR2</i>	リアノジンレセプター	CPVT, PVT,
<i>CASQ2</i>	カルセクエストリン	CPVT
<i>HCN4</i>	ペースメーカーチャネル	LQT, VT, 徐脈

[#] RWS: Romano-Ward syndrome, LQT: long QT, JLNS: Jervell Lange-Nielsen syndrome, SQT: short QT, AF: atrial fibrillation, IVF: idiopathic ventricular fibrillation, BrS: Brugada syndrome, SIDS: sudden infantile death syndrome, PCCD: progressive cardiac conduction defect, PVT: polymorphic ventricular tachycardia, CPVT: catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia

QT延長症候群(LQT)の連鎖解析とそれに引き続く原因遺伝子の同定である。表1に示すように、現在までに7種の異なる原因遺伝子座とそれぞれの原因遺伝子が同定されているが^{1, 2)}、さらに最近QT延長を示す多発家系において2種の異なる原因遺伝子に変異が報告されている^{3, 4)}。つまり、これらの異なった原因遺伝子のどれに変異が生じててもQT延長症候群の病態を生ずることから、本症は遺伝的に不均一であるといえる。ただし、原因遺伝子が異なればその病態も異なる傾向がある¹⁾。

LQTの病因解明に平行して、QT延長症候群のみを呈する遺伝性疾患(Romano-Ward症候群：RWS)以外に、LQTに難聴を伴う疾患(Jervell Lange-Nielsen症候群：JLNS)、薬剤誘導性LQT⁵⁾、LQTに周期性四肢麻痺や骨格異常を伴う症候群(Andersen症候群)⁶⁾、LQTに融合指、心奇形、自閉症などを伴う症候群(Timothy症候群)⁷⁾の原因も究明された。一方、LQTとは逆にQT時間が短縮するQT短縮症候群(short QT syndrome:SQT)⁸⁾、心房細動(atrial fibrillation：FAF)⁹⁾、特発性心室細動(idiopathic ventricular fibrillation：IVF)¹⁰⁾や進行性心伝導障害(progressive cardiac conduction defect:

PCCD)¹¹⁾などの不整脈についても病因究明が行われている(表1)。ここで重要なことは、同じ遺伝子の変異であっても、変異がもたらす機能変化が異なれば臨床的に全く異なる病態を呈することや、これとは逆に、全く異なる疾患の原因遺伝子が同一の場合もある。このことは、原因遺伝子と疾患とが単純な1対1対応にないことを示す。

RWSがAD遺伝形式をとるのに対して、JLNSはAR遺伝形式をとる。AD遺伝では片方の相同染色体上の遺伝子に変異があれば疾患を発症するが、AR遺伝では双方の相同染色体上の遺伝子に変異がなければ発症しない。AR遺伝の場合には酵素欠損症などのように機能が欠損ないし低下するような遺伝子変異であることが一般的であるが、AD遺伝の場合には機能亢進変異の場合も機能低下変異の場合もある。機能低下変異でAD遺伝形式を示す場合には、全体としての遺伝子機能量が半分となること(haploinsufficiency)で発症する場合と、機能のない変異蛋白が存在することで正常蛋白の機能まで抑えてしまう場合(優性抑制変異, dominant negative mutation)がある。

図2にはわれわれが見出したLQT1の原因と

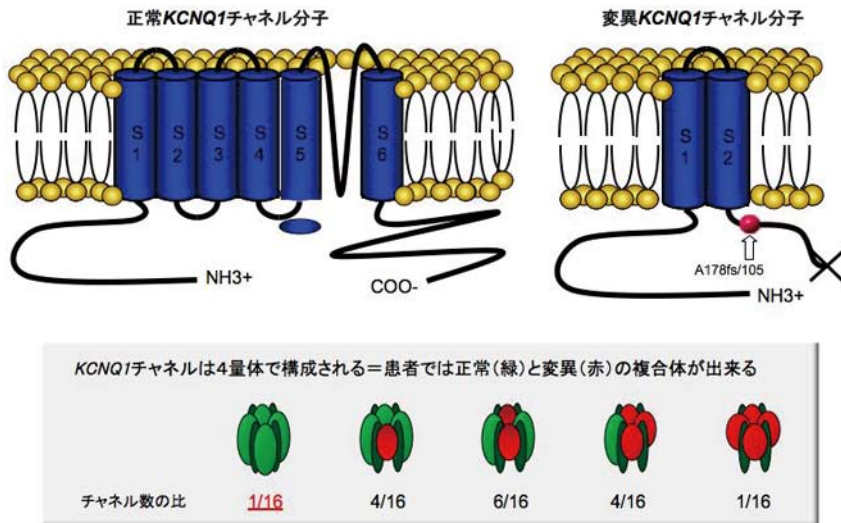


図2 KCNQ1変異による優性抑制効果の模式図

正常チャネル分子(左上)と変異チャネル分子(右上)の模式図。下は、正常チャネル分子(緑)と変異チャネル分子(赤)が1:1の割合で産生された場合のチャネル分子(4量体)の構成比を示す。正常チャネル分子のみで4量体を構成するチャネルは全体の1/16に過ぎない。

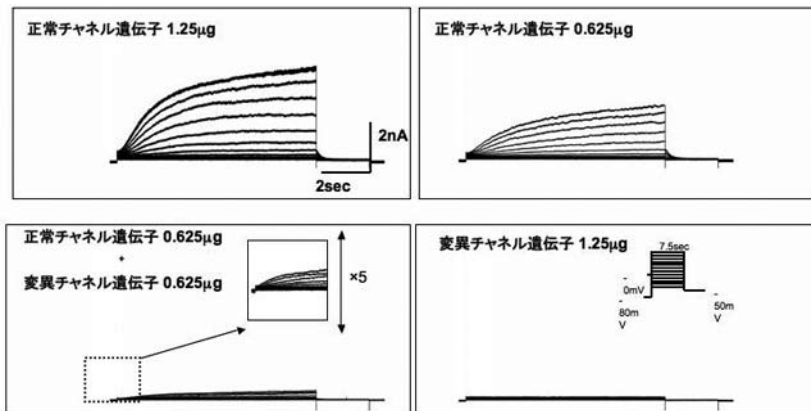


図3 KCNQ1変異によるチャネル機能の優性抑制

正常チャネル遺伝子を0.625 μ g導入した細胞でのチャネル機能(上右)は正常チャネル遺伝子を1.25 μ g導入した細胞でのチャネル機能(上左)のほぼ半分である。変異チャネル遺伝子を1.25 μ g導入した細胞はチャネル機能が欠損している(下右)が、正常チャネル遺伝子0.625 μ gと変異チャネル遺伝子0.625 μ gを同時に導入した細胞のチャネル機能(下左)は、正常チャネル遺伝子を0.625 μ g導入した細胞(上右)に比べてはるかに低くなっている。

なるKCNQ1変異による優性抑制の例を示す。正常チャネル分子と変異チャネル分子とが1:1の割合で産生されたとしても、機能チャネルは4量体であるため、四つのサブユニットとも正

常チャネル分子で構成されるチャネルは全体の1/16(=(1/2)⁴)に過ぎない。このため、正常遺伝子と変異遺伝子(機能欠損チャネル)を1:1の割合で導入した細胞では、全体としてのチャネ

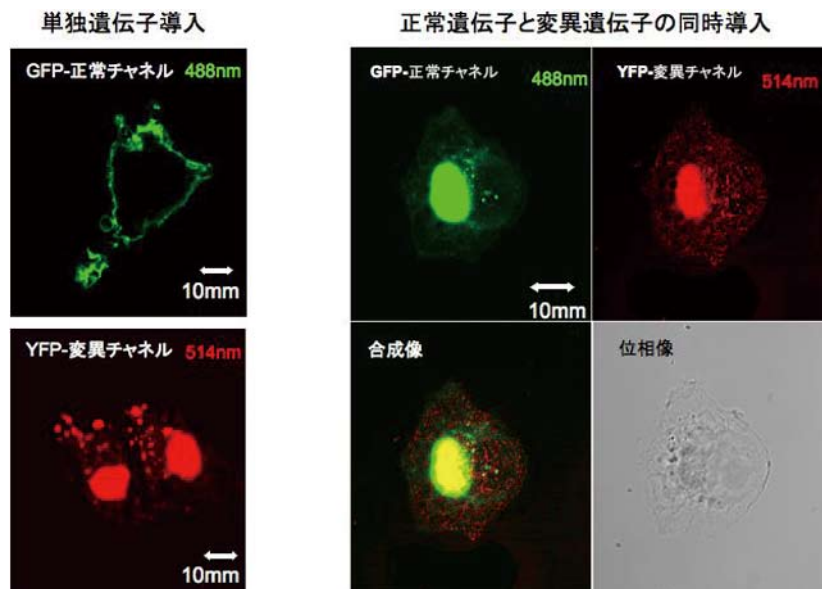


図4 *KCNQ1*変異によるチャネル分子細胞内輸送機能の優性抑制

正常チャネル遺伝子のみを導入した細胞では正常チャネル(緑)が細胞表面に発現する(左上)。一方、変異チャネル遺伝子のみを導入した細胞では変異チャネル(赤)が細胞内に貯留し表面に発現しない(左下)。正常チャネル遺伝子と変異チャネル遺伝子を同時に導入した細胞では、正常チャネル分子の細胞内輸送も障害される(右)。

ル機能は、正常チャネルの半分ではなく、それよりはるかに低下する(図3)。

図4左は、正常チャネル分子(緑)と変異チャネル分子(赤)をそれぞれ単独に発現した細胞を示す。正常チャネル分子のみの場合には細胞表面にチャネルが発現しているが、変異チャネル分子のみの場合には変異のため細胞質内に止まり細胞表面に発現していない。このことがこの変異チャネルが機能を欠損している原因である。正常チャネルと変異チャネルを1細胞内に同時に発現させると、正常チャネル分子も細胞質内に止まり、細胞表面にはほとんど発現しなくなる(図4右)。これは、細胞内輸送障害をきたした変異チャネル分子が細胞質内で正常チャネル分子と4量体を形成することで、正常チャネル分子の細胞内輸送までを障害してしまうためである。したがって、この細胞ではチャネル機能がほとんど欠損することになる。

また、*KCNQ1*または*KCNE1*の変異はIKsチャネル機能を低下させJLNSの原因となる

が、*KCNQ1*はスプライシングの違いによってN末側の長いアイソフォーム(isoform 1)と短いアイソフォーム(isoform 2)をコードする(図5)。IKsチャネルはisoform 1のテトラマーとminK(*KCNE1*の産物)で構成されるが、これに対してisoform 2が機能抑制をかける。そのため、*KCNQ1*変異のうち、isoform 2の抑制機能が残存するような変異はRWSの病因となるが、isoform 2の抑制機能が欠損するような変異ではJLNSの病因となるとする説がある¹²⁾。

一方、薬剤誘導性LQTの原因の多くはIKrチャネルをコードする*KCNH2*または*KCNE2*の変異であるとされている。これはIKrチャネルのポア部分が他のKチャネルに比較すると大きいため薬剤などの分子が入り込みやすく、特に変異チャネルでは薬剤がポア内に入り込んでチャネル機能を障害するためと考えられる。なお、薬剤誘導性LQTは通常孤発性であり、その病因となるような変異は、全く健常な集団にもある程度の頻度で存在する遺伝的多型であることが

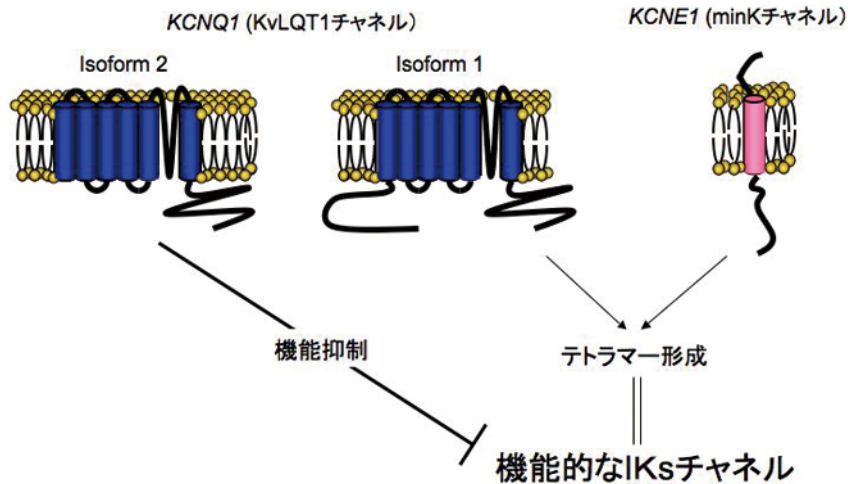


図5 *KCNQ1* 変異の優性抑制効果と劣性効果

KvLQT1 チャンネル(*KCNQ1* がコードする)の isoform 2 は, IKs チャンネル(isoform 1 と minK で構成される)の機能を抑制する。変異があっても isoform 2 としての抑制機能が保たれていれば優性抑制効果を示すが, 変異によって isoform 2 の抑制機能が消失した場合には, 正常 isoform 1 が存在する限りチャンネル機能は低下しない。

報告されている⁵⁾。つまり, チャンネル変異のみでは通常は何ら病状を呈さないが, そこに薬剤という環境要因が加わると, LQT さらには突然死を生じるなど, 薬剤への副作用がゲノムの多様性によって規定されている端的な例であるといえる。

一方, INa チャンネル変異による病態はさまざまであり, RWS, SQT, AF, IVF, Brugada 症候群, 乳児突然死症候群(sudden infantile death syndrome: SIDS), PCCD などのそれぞれ全く異なる病態を呈することがある。このような病態の違いは, 変異によってもたらされる Na チャンネル機能変化(活性化, 不活性化, 電位依存性など)の相違によってある程度まで説明可能であると考えられる^{13~17)}。また, LQT 以外の一次性不整脈の原因として, 多型性心室頻拍(polymorphic ventricular tachycardia: PVT)やカテコラミン誘導性心室頻拍(catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: CPVT)にリアノジンレセプター(*RYR2*)変異が報告されている¹⁸⁾。

3 症候性不整脈における遺伝子異常

不整脈のうち, 特に伝導障害に基づくものは, 心奇形や心筋症のような心疾患に合併することが知られているが, 最近そのような心疾患の原因遺伝子の解明が行われている。前述の Andersen 症候群や Timothy 症候群はその例であるが, それら以外にも種々の症候性不整脈の原因が判明しつつある(表2)。

特に重要なことは, *NKX2.5* 遺伝子変異の報告に認められるように, 最初に ASD に伝導障害を合併した多発家系で *NKX2.5* 変異が報告された¹⁹⁾が, その後 ASD 以外の心奇形に伝導障害を伴う症例, さらに心奇形がなく伝導障害のみを示す症例における変異検索が行われ, 実際には後者の一部に変異が見出された²⁰⁾ ことにあつた。つまり *NKX2.5* 変異は, 機能変化の程度に応じて, 伝導障害のみの病態から心奇形を合併するまでの幅広い臨床病態の原因となり得る。

一方, 心筋症, なかでも拡張型心筋症(DCM)の一部には心不全がない状態でも伝導障害が合併することがあるが, その原因として, *EMD* 変異²¹⁾, *LMNA* 変異²²⁾ や *SCN5A* 変異²³⁾ などが報

表2 症候性不整脈の原因遺伝子, コードする蛋白と合併症

遺伝子	コードする蛋白	不整脈病型と合併症 [#]
<i>LMNA</i>	ラミン A/C	CCD + DCM
<i>EMD</i>	エメリン	CCD + DCM
<i>NKX2.5</i>	NKX2.5 転写因子	CCD + ASD (VSD, TOF)
<i>RYR2</i>	リアノジンレセプター	ARVC
<i>DSP</i>	デスモブラキン	ARVC
<i>JUP</i>	プラコグロビン	ARVC
<i>PKP2</i>	プラコフィリン	ARVC
<i>TGFB3</i>	TGF β 3	ARVC
<i>ABCC9</i>	KATP チャネル	VT + DCM
<i>SCN5A</i>	INa チャネル	AF + DCM
<i>PRKAG2</i>	AMP 活性化蛋白キナーゼ	WPW + HCM

[#]CCD : cardiac conduction defect, DCM : dilated cardiomyopathy, ASD : atrial septal defect, VSD : ventricular septal defect, TOF : tetralogy of Fallot, ARVC : arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy, VT : ventricular tachycardia, WPW : Wolff-Parkinson-White syndrome, HCM : hypertrophic cardiomyopathy

告されている。つまり、伝導障害→不整脈→心筋異常収縮の頻発→心筋細胞死(過収縮壊死)の仮説が立てられる。なお、このような心筋異常収縮の頻発が細胞死をもたらすことについては、不整脈源性右室心筋症(ARVC)における *RYR2* 変異²⁴⁾ の病因論にも共通するものである。

ま と め

不整脈の遺伝学的特徴と原因遺伝子究明に関する最近の知見を概説した。不整脈の病因としてのチャネルの構造変異や機能変化が解明され、症候性不整脈を含めて不整脈疾患の遺伝的不均一性が分子レベル、チャネル機能レベルで詳細に解明されている。このような不整脈におけるチャネル機能変化の解明は、病態の深い理解をもたらすと同時に、その知見を基にした新たな創薬にもつながることが期待される。

文 献

- 1) Towbin JA, et al. Molecular biology and the prolonged QT syndromes. *Am J Med* 2001;110:385-98.
- 2) Mohler PJ, et al. Ankyrin-B mutation causes type 4 long-QT cardiac arrhythmia and sudden cardiac death. *Nature* 2003;421:634-9.
- 3) Ueda K, et al. Functional characterization of a

trafficking-defective HCN4 mutation, D553N, associated with cardiac arrhythmia. *J Biol Chem* 2004;279:27194-8.

- 4) Splawski I, et al. Severe arrhythmia disorder caused by cardiac L-type calcium channel mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:8089-96.
- 5) Sesti F, et al. A common polymorphism associated with antibiotic-induced cardiac arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:10613-8.
- 6) Plaster NM, et al. Mutations in Kir2.1 cause the developmental and episodic electrical phenotypes of Andersen's syndrome. *Cell* 2001;105:511-9.
- 7) Splawski I, et al. Ca(V)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism. *Cell* 2004;119:19-31.
- 8) Brugada R, et al. Sudden death associated with short-QT syndrome linked to mutations in HERG. *Circulation* 2004;109:30-5.
- 9) Chen YH, et al. KCNQ1 gain-of-function mutation in familial atrial fibrillation. *Science* 2003;299:251-4.
- 10) Chen Q, et al. Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* 1998;392:293-6.
- 11) Kyndt F, et al. Novel SCN5A mutation leading either to isolated cardiac conduction defect or Brugada syndrome in a large French family. *Circulation* 2001;104:3081-6.
- 12) Mohammad-Panar R, et al. Mutations in a dominant-negative isoform correlate with phenotype in

- inherited cardiac arrhythmias. *Am J Hum Genet* 1999;64:1015-23.
- 13) Bezzina C, et al. A single Na(+) channel mutation causing both long-QT and Brugada syndromes. *Circ Res* 1999;85:1206-13.
 - 14) Abriel H, et al. Molecular pharmacology of the sodium channel mutation D1790G linked to the long-QT syndrome. *Circulation* 2000;102:921-25.
 - 15) Akai J, et al. A novel SCN5A mutation associated with idiopathic ventricular fibrillation without typical ECG findings of Brugada syndrome. *FEBS Lett* 2000;479:29-34.
 - 16) Tan HL, et al. A sodium-channel mutation causes isolated cardiac conduction disease. *Nature* 2001;409:1043-7.
 - 17) Wedekind H, et al. De novo mutation in the SCN5A gene associated with early onset of sudden infant death. *Circulation* 2001;104:1158-64.
 - 18) Latinen PJ, et al. Mutations of the cardiac ryanodine receptor (RyR2) gene in familial polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 2001;103:485-90.
 - 19) Schott JJ, et al. Congenital heart disease caused by mutations in the transcription factor NKX2-5. *Science* 1998;281:108-11.
 - 20) Benson DW, et al. Mutations in the cardiac transcription factor NKX2.5 affect diverse cardiac developmental pathways. *J Clin Invest* 1999;104:1567-73.
 - 21) Vohanka S, et al. A mutation in the X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy gene in a patient affected with conduction cardiomyopathy. *Neuromuscul Disord* 2001;11:411-3.
 - 22) Bonne G, et al. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 1999;21:285-8.
 - 23) Olson TM, et al. Sodium channel mutations and susceptibility to heart failure and atrial fibrillation. *JAMA* 2005;293:447-54.
 - 24) Daniel GA, et al. Genetics of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Curr Opin Cardiol* 2002;17:218-21.