

症例報告

KCNH2遺伝子に *de novo*新規ナンセンス変異 (c.1490G>A, p.Trp497Ter) を認めたQT延長症候群の1症例

日高玲奈, 末廣 寛^{1, 2)}, 児玉雅季²⁾, 福田昌和^{2, 3)}, 國宗勇希²⁾, 岡山直子²⁾,
中原由紀子²⁾, 西岡光昭²⁾, 小林茂樹^{3, 4)}, 矢野雅文³⁾, 山崎隆弘^{1, 2)}

山口大学医学部医学科 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)
山口大学大学院医学系研究科 臨床検査・腫瘍学講座¹⁾ 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)
山口大学医学部附属病院 検査部²⁾ 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)
山口大学大学院医学系研究科 器官病態内科学講座³⁾ 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)
山口大学医学部 高齢者心不全治療学講座⁴⁾ 宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

Key words : QT延長症候群, *KCNH2*, *de novo*変異

和文抄録

過観察が必要と考えられた.

先天性QT延長症候群は, 心筋細胞のイオンチャネルをコードする遺伝子の異常により, 心電図のQT間隔が延長し, ときに致死性不整脈を起こす疾患である. 今回, *Potassium voltage-gated channel subfamily H member 2 (KCNH2)* 遺伝子の *de novo*新規ナンセンス変異を認めた先天性QT延長症候群2型 (long QT syndrome type 2, LQT2) の1症例を経験したので報告する.

症例は18歳の女性. 中学1年時の学校心臓検診にてQT延長を指摘された. 精査のため当院に入院となり, 安静時, およびカテコラミン負荷試験でQT延長が認められた. 年1回の外来通院で経過が観察されており, これまでに失神等の身体症状は認められていない. 遺伝子検査が本人と両親, 同胞に対して行われ, 本人にのみ *KCNH2* c.1490G>A, p.Trp497Terのヘテロ接合性ナンセンス変異が認められ, *de novo* LQT2が確定した. この変異はこれまでに報告はなく, 新規の変異と考えられた. LQT2は, 女性の場合, 思春期以降での心イベントリスクが高いため, 本症例においても今後 심각한

I. はじめに

先天性QT延長症候群 (long QT syndrome, LQTS) は, 心筋細胞のイオンチャネルをコードする遺伝子の異常が原因で, QT間隔が延長し, ときにtorsade de pointesとよばれる多形性心室頻拍による突然死を引き起こす遺伝性不整脈疾患である^{1, 2)}. 先天性LQTSには17個のサブタイプが報告されているが, その中で遺伝子変異が同定される患者の90%以上は, LQTSのtype 1, 2, 3 (LQT1, LQT2, LQT3) であり, 原因遺伝子はそれぞれ *Potassium voltage-gated channel subfamily Q member 1 (KCNQ1)*, *Potassium voltage-gated channel subfamily H member 2 (KCNH2)*, *Sodium voltage-gated channel alpha subunit 5 (SCN5A)* である^{1, 2)}. 遺伝子変異が検出された先天性LQTS患者の85%は片親からの遺伝であり, 15%が *de novo*であると報告されている¹⁾. 遺伝子変異の位置, 変異のタイプによって表現型は異なり, 典型症状としては失神, けいれん発作, 突然死があげられるが, 一方で, 一般的に先天性LQTSの遺伝子変異を有する患者の約半数は無症状である. さらに10~40%には明らかな

QT延長は認められないことが報告されている¹⁾。

今回、遺伝子検査の結果、*KCNH2*に*de novo*の新規ナンセンス変異 (c.1490G>A, p.Trp497Ter) を認めたLQT2の1症例を経験したので報告する。

II. 症 例

患者：18歳の女性。生来健康で、不整脈や失神などの既往は認められなかった。QT延長をきたす薬剤の服用や電解質異常も認められなかった。6年前、学校心臓検診で安静時のQT延長を初めて指摘さ

れ、A病院を受診した。A病院の心電図検査でも安静時のQT延長が認められた (心拍数65/分, Bazett補正式でのQTc (QTcB) = 480msec)。A病院検査時の改訂Schwartzの診断基準¹⁾によるリスクスコアは3点であった (表1)。その後の当院の心電図検査でもQT時間の延長を認めた (心拍数70/分, QTcB = 477msec)。カテコラミン負荷試験でも、表2に示すようにQT延長が認められた。特に症状がないため、年1回の定期検査が行われていた (図1)。運動制限に関しては、学校生活管理区分E (強い運動も可) で特に制限はなかったが、

表1 先天性LQTSのリスクスコアと診断基準 (文献1より抜粋)

基準項目		点数	
心電図所見	QT時間の延長(QTc)	≥480msec	3
		460-479msec	2
		450-459msec (男性)	1
	運動負荷後4分のQTc	≥480msec	1
	Torsades de pointes (TdP)		2
	視覚可能なTWA		1
	ノッチ型T波 (3誘導以上)		1
	年齢不相応の徐脈	0.5	
臨床症状	失神	ストレスに伴う	2
		ストレスに伴わない	1
	先天性聾		0.5
家族歴	確実なLQTSの家族歴		1
	30歳未満での突然死の家族歴		0.5

・点数の合計により、≥3.5は診断確実、1.5-3は疑診、≤1は可能性が低い、に分類される。本症例では3点 (網掛け箇所) であった。

・QTcについては、治療前あるいはQT延長を引き起こす因子がない状態で記録し、Bazettの補正式を用いて算出する。

・TdPについては、TdPと失神の両方ある場合は2点。

・年齢不相応の徐脈とは、年齢の安静時心拍数の2パーセンタイル値を下回る場合のこと。

・家族歴は、両方当てはまる場合は1点。

・家族歴の「確実なLQTS」については、先天性LQTSリスクスコア≥3.5の場合のこと。

表2 カテコラミン負荷試験結果 (単位: msec)

	負荷前	負荷後 (Peak)	負荷後 (Steady)
RR間隔	920	490	680
QT時間	440	390	440
QTcB	452	495	500
QTcF	459	557	534

QTcB = QT/√RR (Bazettの補正式)。QTcF = QT/√RR (Fridericiaの補正式)。通常Bazettの補正式 (QTcB = QT/√RR) が用いられ、一方、心拍数の高い小児でのQT間隔補正には、頻脈・徐脈時の過剰・過小補正のないFridericiaの補正式が推奨されている¹⁾。

水泳のみ監視下での許可とされていた³⁾。

家族歴：父方祖母の妹は心臓弁膜症に対して弁置換術が行われ（発症年齢不明）、ペースメーカーを装着していた。調査範囲で、QT延長を認めた血縁者はいなかった（図2）。

遺伝子検査：LQT1, LQT2, LQT3の原因遺伝子である *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A* の遺伝子検査が保険診療として本クライアントに実施された。その結果、*KCNH2* c.1490G>A, p.Trp497Ter のナンセンス変異をヘテロ接合性に認めた。この変異は dbSNP, Clinvar のデータベースに登録されていなかったが、ACMGガイドラインに従えば、本バリエントは Likely pathogenic~Pathogenic 寄りと判定された。ただし、本バリエントについてはこれまでに報告例がなかったため、病原性が本当にあるかについては不明であった。この点を明らかにするために、インフォームドコンセントを取得した上で、本人および家族の遺伝子解析を当院で行った。

Ⅲ. 方 法

1. DNA抽出

DNAは、本人とその家族（図2）の末梢血白血

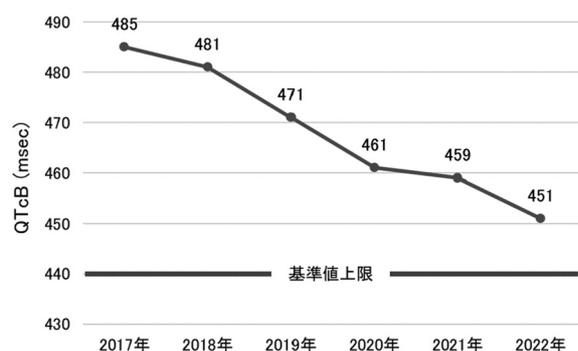


図1 クライアントのQTcB経年推移
縦軸のQTcBは、QT時間をBazettの補正式 ($QTcB = QT/\sqrt{RR}$) で補正したものである。

球からNaI法⁴⁾を用いて抽出した。その後、DNA収量が十分かどうか分光光度計を用いて確認した。最終的にDNA濃度が80ng/ μ l前後になるようにTEバッファーで希釈した。

2. Polymerase chain reaction (PCR)

PCR反応液の組成は次の通りである。DNAサンプル1 μ lに、H₂O 6.75 μ l, 1 μ l 10X Ex Taq Buffer (Mg²⁺plus) (タカラバイオ, 滋賀県), 0.8 μ l dNTP Mixture (タカラバイオ), 10 pmol/ μ l Forward primer 0.2 μ l, 10 pmol/ μ l Reverse primer 0.2 μ l, 0.08 μ l TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ) を加えた。Veriti 96well Thermal Cycler (タカラバイオ) を用いて反応させた。1回目のPCRでは、表3に示したSet Aのプライマーを用いて、94°C 2分間加温し、次いで32 cycleのPCR反応 (94°C 30秒, 60°C 30秒, 72°C 30秒) を行った。再現性確認のため、表3に示したSet Bのプライマーを用いて、同じ温度条件で30 cycleのPCRを行った。

3. 電気泳動

PCR産物を3%アガロースゲルで100V 30分電気泳動を行った。サイズマーカーには ϕ X174 DNA-HaeIII Digest (NEW ENGLAND BioLabs, Ipswich, MA, USA) を用いた。

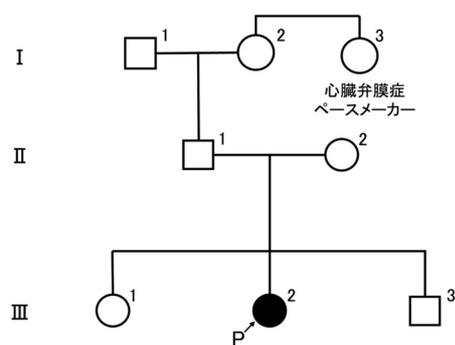


図2 家系図

IIおよびIIIの世代でQT延長を認めたのは本クライアント (III-2) のみであった。なお、Iの世代について心電図検査の情報は得られなかった。

表3 PCRプライマー塩基配列

	Forward primer	Reverse primer
Set A	5'-CCTGCTGAAGGAGACGGAAG -3'	5'-GGAGCATAGGTTTCTGGGG-3'
Set B	5'-ACCATCCTGCATTACAGCCC -3'	5'-CACCTGCCTCCTTGCTGAC-3'

4. Exo SAP処理およびシーケンス反応

PCR産物2.5 μ l, 1 μ l ExoProStar™, Enzymatic PCR and Sequencing Clean-up kit (GE Healthcare, United Kingdom) を混和し, 37°C 20分, 80°C 20分の順に反応させ, PCR産物を精製した. 精製したPCR産物1.5 μ l, H₂O 11.5 μ l, 3.0 μ l 5X Sequencing Buffer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), 1 pmol/ μ l Forward Primer もしくは 1 pmol/ μ l Reverse Primer 3.2 μ l, 0.8 μ l BigDye™ Terminator v3.1 Ready Reaction Mix (Thermo Fisher Scientific) を加え, 96°C 2分間加温し, 次いで25サイクルのシーケンス反応 (96°C 10秒, 60°C 4分) を行った. シーケンス反応では表3のSet A, および, Set Bのプライマーを用いた. シーケンス反応させたDNAサンプルをエタノール沈殿 (10mM EDTA 2 μ l, 3 M酢酸ナトリウム 2 μ l, 100%エタノール 50 μ l→14000rpm 20分遠心→上清除去→70%エタノール 100 μ l添加→14000rpm 10分遠心→上清除去→乾燥) で精製した. 次いで, DNAサンプルに10 μ l HiDi™ Formamide (Thermo Fisher Scientific) を加え, 95°C 2分間加温し, 氷冷後96well PCRプレートに分注した. 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) を用いて, 塩基配列の解析を行った.

IV. 結 果

本人にのみ, *KCNH2* c.1490G>A, p.Trp497Terがヘテロ接合性に認められた. 他の被験者にはこの変異は認められなかった (図3).

V. 考 察

1. 遺伝子変異と表現型

遺伝子変異が検出された先天性LQTS患者の85%は片親からの遺伝であり, 15%が*de novo*であると報告されている¹⁾. 本症例については, 図2, 3の結果より, 本人にのみ遺伝子変異がみられたことから, *de novo*に発生した可能性が高いと考えられる.

*KCNH2*は7番染色体上に位置するLQT2の原因遺伝子である¹⁾. この遺伝子は, 心筋活動電位再分極相で, 遅延整流Kチャンネル電流の速い成分 (I_{Kr}) を生じる*human ether-a-go-go related gene* (*hERG*)

チャンネルをコードしている¹⁾. 今回の症例では, *KCNH2* c.1490G>A, p.Trp497Terのナンセンス変異が認められ, voltage sensing domain (VSD) を構成する6つの膜貫通ヘリックス (S1-S6) のうちS3以降が欠損すると推測される⁵⁻⁸⁾ (図4). 一方, ほとんどのフレームシフト/ナンセンス変異では, NMD (nonsense-mediated mRNA decay), すなわち, ナンセンス変異を介したmRNAの崩壊が起こることによって, 表現型が軽度になることが報告されている⁹⁾. NMDとは, フレームシフト/ナンセンス変異やスプライシング変異によって生じた異常終止コドンをもった異常mRNAを認識して分解する機構である^{8, 9)}. この異常終止コドンは未成熟終止コドン (premature termination codon, PTC) とよばれ, 最後のエキソン結合部位から50~55塩基以上5'側にPTCが存在した場合に, NMDによってmRNAは分解される¹⁰⁻¹²⁾. PTCをもつ異常なmRNAがNMDによって分解されると, 変異体からのmRNA産生が減少し⁶⁾, その結果, ハプロ不全が起こる¹³⁾. ハプロ不全とは, 野生型遺伝子1つのみからつくられるタンパク質では量が不足するために, 機能不全の表現型となることである¹⁴⁾. 一方,

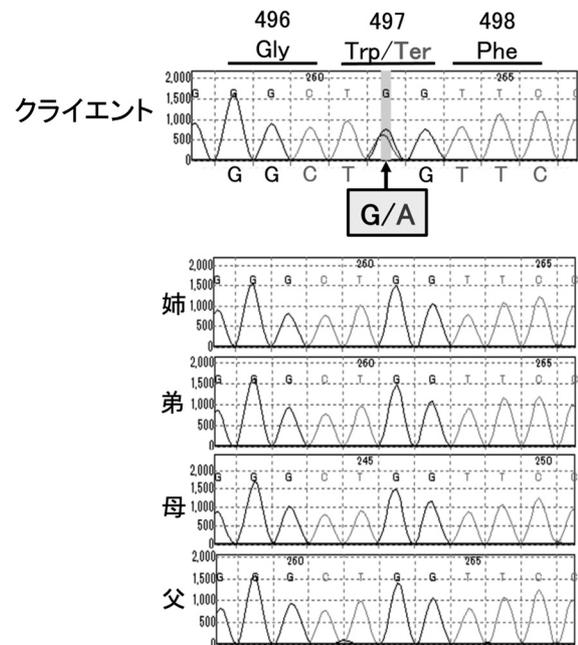


図3 遺伝子検査結果

KCNH2 c.1490G>A, p.Trp497Terヘテロ接合型変異が本クライアント (Ⅲ-2) にのみ認められたが, 他の被験者には認められなかった.

NMDが機能しなかった場合、異常なmRNAから翻訳された異常タンパク質によるドミナントネガティブ効果が働くことによって、細胞に悪影響を及ぼす可能性がある^{6, 13)}。ドミナントネガティブ効果とは、変異型の遺伝子産物が野生型の遺伝子産物に対して優位に働いて、野生型遺伝子産物の作用を阻害する効果のことである¹²⁾。このようにNMDは、ドミナントネガティブ効果をハプロ不全に置き換えることで正常な遺伝子発現を保護し、表現型の重篤化を抑える役割があるとされる^{6, 13)}。実際、進行性ミオクローヌステんかんの原因遺伝子である *Semaphoring*

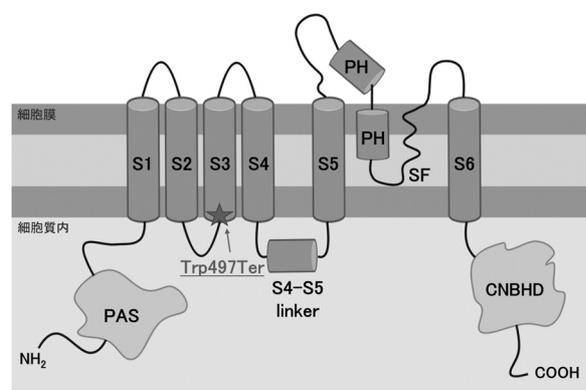


図4 本症例の *human ether-a-go-go related gene* (*hERG*) チャンネル変異位置

各チャネルドメインは、中央のpore domain (PD) とそれを取り囲むVSDから構成されている⁵⁾。VSDは4つの膜貫通ヘリックス (S1-S4)、PDはS5-S6およびその間のpore helix (PH) で構成されている^{5, 7)}。S5とS6の間のPHには、イオン特異性を与えるselectivity filter (SF) が含まれている⁷⁾。S4とS5の間には、S4-S5 linkerとよばれるリンカーヘリックスがあり、VSDをPDに接続している⁷⁾。細胞質内にはアミノ末端ドメインとカルボキシ末端ドメインがある⁸⁾。アミノ末端ドメインにはPer-ARNT-Sim (PAS) ドメインが、カルボキシ末端ドメインにはcyclic-nucleotide-binding homology domain (cNBD) がある^{5, 7)}。星印 (★) は、本症例の変異箇所 (c.1490G>A, p.Trp497Ter) を示す。本症例はナンセンス変異であるため、*hERG* チャンネルは少なくともS3以降の構造が欠損していると考えられる。

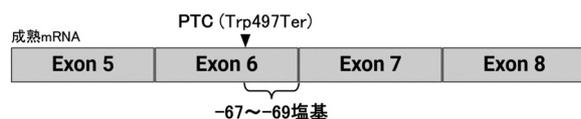


図5 本症例のpremature termination codon (PTC) 位置
本症例では、Exon 6とExon 7のエキソン結合部位から67～69塩基上流にPTC形成が起こることが示唆され、その結果としてnonsense-mediated mRNA decay (NMD) が働き、mRNAが分解される可能性がある。

6B (*SEMA6B*) では、NMDが働かない領域にナンセンス変異が生じると、その変異体がドミナントネガティブもしくはgain-of-functionを起こして表現型が重篤化すると報告されている¹⁵⁾。

本症例の変異 (*KCNH2* c.1490G>A, p.Trp497Ter) は、図5に示すように、エキソン6にPTCが形成されると推測される。このPTCはエキソン6-7結合部位から67～69塩基ほど5'側に位置するため、NMDが働いて異常mRNAが分解されたと考えられる。その結果、ドミナントネガティブ効果を免れ、ハプロ不全に置き換わったことで、本症例は軽症になっていると推測される。実際、*KCNH2*におけるTyr652TerやTrp1001Ter, Arg1014Terのナンセンス変異保因者では、どの変異も最後のエキソン結合部位から5'側に50～55塩基以上離れた部位にPTCが形成されていることから、NMDの働きによって表現型が軽度になったと考察されている^{9, 13)}。すなわち、Tyr652Terはexon 8結合部位から190～192塩基、Trp1001Terはexon 13結合部位から150～152塩基、Arg1014Terはexon 13結合部位から111～113塩基、それぞれ5'側に位置している。

以上から、本症例はNMDが働いて表現型が軽度になっていることが強く示唆される。ただし、今回はゲノムレベルでの解析しか行っていないため、NMDに関してはmRNAレベルでさらに解析する必要がある。なお、NMDはPTCをもつ異常mRNAの発現を完全に除去できるわけではない¹³⁾。除去されずに残ったmRNAから異常タンパク質が生成され¹³⁾、その異常タンパク質はある程度ドミナントネガティブに作用する¹³⁾。また、除去されずに残ったmRNAが発現する量は細胞の種類や個人によって大きく異なるため¹³⁾、同位置で同じ変異が起こったとしても、残存mRNAの作用や発現量には大きな個人差が生じてくると考えられる。実際、*KCNH2* Pro926AlafsX14変異を有するLQT2家系で同定された22人の保因者のうち、9人には再発性失神や心停止などの心イベントがみられたが、それ以外の保因者は無症状であることが報告されている¹⁶⁾。また、異常mRNAの分解にはNMDとは異なる他のメカニズムが関わっている可能性もある¹⁷⁾。Lian Jらの研究によれば、*miR-134*, *miR-103a-1*, *miR-143*, *miR-3619*の4つのmiRNAが*hERG*の発現・機能を制御していることが報告されている¹⁸⁾。このように、ドミ

ナントネガティブ効果やmRNAの発現量、NMD以外のmRNA制御機構などの影響によって、臨床的表現型の重症度は患者ごとに大きく変化すると考えられる。そのため、患者の症状に合わせて経過観察や治療をしていく必要がある。

2. 遺伝子変異の病原性評価の問題点

遺伝子変異の病原性の評価には、American College of Medical Genetics (ACMG) ガイドライ

ンのスコアが用いられる¹⁹⁾。まず、表4に示すように、大基準として、病原性 (pathogenic) バリアントに対する基準と良性 (benign) に対する基準の2つがあり¹⁹⁾、さらに、病原性バリアントは4つ、良性バリアントは3つの中基準に分かれる¹⁹⁾。さらに、表5に示すように、病原性バリアントと良性バリアントは、根拠とするデータの種類と病原性を示す根拠の強さに応じてそれぞれ16、12の小基準に分かれる¹⁹⁾。病原性バリアントでは、PVS1, PS1~PS4,

表4 病原性バリアントおよび良性バリアントを分類する大基準

病原性バリアント		良性バリアント	
根拠の強さ	小基準	根拠の強さ	小基準
Very Strong (非常に強い)	PVS1	Stand-alone (確実)	BA1
Strong (強い)	PS1-PS4	Strong (強い)	BS1-BS4
Moderate (中等度)	PM1-PM6	Supporting (支持)	BP1-BP7
Supporting (支持)	PP1-PP5		

文献¹⁹⁾の表を和訳、改変。
 BA, benign stand-alone; BS, benign strong; BP, benign supporting; PM, pathogenic moderate; PP, pathogenic supporting; PS, pathogenic strong; PVS, pathogenic very strong.

表5 エビデンスの枠組

	良性		病原性			
	強い	支持	支持	中程度	強い	非常に強い
個体群データ	疾病に対しての、マイナーアレル(MAF)頻度が高すぎる <i>BA1/BS1</i> または コントロール群の観察値が疾患の浸透率と一致しない <i>BS2</i>			人ロデータベースには存在しない <i>PM2</i>	対照群に比べて、罹患群での有病率が統計的に高い <i>PS4</i>	
計算・予測データ		複数の計算論的証拠により、遺伝子や遺伝子産物への影響がないことが示唆される <i>BP4</i> トランケート変異のみが病気の原因となる遺伝子において、ミンセンス変異がみられる <i>BP1</i> サイレントバリアントでスプライスの影響が予測できない <i>BP7</i> 機能未知の繰り返し配列内に生じている欠失または挿入 <i>BP3</i>	複数の計算論的証拠により、遺伝子や遺伝子産物への障害効果が示唆される <i>PP3</i>	アミノ酸残基における新規のミスセンス変異であり、その部位において、これまでに別の病原性ミスセンス変異が知られている <i>PM5</i> タンパク質の長さを変えるバリアント <i>PM4</i>	病原性バリアントとして確立されているアミノ酸変化と、同じアミノ酸の変化 <i>PS1</i>	遺伝子の予測されたヌルバリアントであり、その機能喪失が疾患のメカニズムとして知られている <i>PVS1</i>
機能的データ	既知の機能解析研究で、有害性なしと示されている <i>BS3</i>		ミスセンス変異であり、良性のミスセンス変異の頻度としては低く、病原性ミスセンス変異としてよくみられる <i>PP2</i>	変異がホットスポット、または、既知機能ドメインに存在し、かつ良性バリアントでない <i>PM1</i>	確立された機能解析研究で有害性が示されている <i>PS3</i>	
遺伝形質の分離データ	疾患との関連性なし <i>BS4</i>		複数の発症家系において疾患と共分離 (連鎖) している <i>PP1</i>	遺伝形質の分離データ増加 →		
De novo データ				<i>De novo</i> (親子関係確認なし) <i>PM6</i>	<i>De novo</i> (親子関係確認済み) <i>PS2</i>	
対立遺伝子のデータ		Dominant variantに伴って、transで観察される <i>BP2</i> Pathogenic variant (病原性バリアント)に伴って、cisで観察される <i>BP2</i>		劣性遺伝疾患において、Pathogenic variant (病原性バリアント)に伴って、トランスで検出される <i>PM3</i>		
その他データベース		信頼できる情報源ではあるが共有データがない <i>BP6</i>	信頼できる情報源である＝病原性あり <i>PP5</i>			
その他のデータ		異なる発症分子機序で発見された症例 <i>BP5</i>	患者の表現型または家族歴がその遺伝子に高い特異性を示す <i>PP4</i>			

文献¹⁹⁾の表を和訳、改変。本クライアントに該当する箇所を塗りつぶしている。
 BA, benign stand-alone; BS, benign strong; BP, benign supporting; PM, pathogenic moderate; PP, pathogenic supporting; PS, pathogenic strong; PVS, pathogenic very strong.

PM1~PM6, PP1~PP5, 良性バリエントでは, BA1, BS1~BS4, BP1~BP7に分かれる¹⁹⁾. この合計28の小基準は, 表6のように組み合わせられ, それをもとに最終的な病原性を判断する¹⁹⁾. 病原性の項目には, Pathogenic, Likely pathogenic, Uncertain significance, Likely benign, Benignの5つがある¹⁹⁾.

本症例の遺伝子変異はナンセンス変異であり, ACMGガイドラインではPVS1 (機能喪失が原因となる疾患の遺伝子における粗大なナンセンス変異, フレームシフト変異, 複数エキソンの喪失など) にスコアリングされる可能性はある. ただし, 真のPVS1と判定するためには, Null variant (ナンセンスバリエント, フレームシフトバリエント, エキソン領域から±1または2塩基にあるスプライシングに大きな影響を及ぼす部位にあるバリエント, 開始コドン内のバリエント, および単一エキソンまたは複数エキソンの欠失) が, 遺伝子の機能喪失(loss-of-function)を引き起こし病気の原因となるという知見が確立している必要がある¹⁷⁾. 本症例については, QT延長は認められるものの不整脈や失神の既往はない. ただし, *KCNH2* c.1490G>A, p.Trp497Terはこれまで報告がない遺伝子変異であるため, この遺伝子変異を「(深刻な病状を引き起こす) 病原性あり」とする根拠がないのが現状である.

一方で, 本症例のように, *de novo*変異であればそれだけでPS2に分類されてしまう(表5). さらに, それが一般人口データベースに登録のない遺伝子変異であればPM2と判定され, 総合的にLikely pathogenicと判定されてしまう(表6). 本症例は, ACMGガイドラインでは少なくとも本変異はLikely pathogenicと判定はできるが, その病原性については明確には評価しがたい. 病原性の有無に関しても, ACMGガイドラインでは病原性/良性の二項対立的

な分類であるため, 臨床的な症状としては問題がなくても, 遺伝子レベルでは病原性ありと判定されてしまうという問題点もある²⁰⁾.

本症例のような遺伝子疾患の新規バリエントや希少疾患分野において, 疾患の確定診断や鑑別診断を目的とした次世代シーケンサー(NGS: Next Generation Sequencer)を使用した解析の臨床実装が進んでいる²¹⁾. 本症例のようなNull variantに関しては, 「常染色体優性遺伝疾患において, 患者がNull variantを有していて, 患者の表現型が遺伝子と関連する疾患と合致し, 関連性と一致する場合, かつ当該遺伝子の機能喪失非許容スコア(pLIスコア)の値が0.9以上の場合, 患者の発症機序はハプロ不全である可能性が高い」と記載されている²¹⁾. これにより, 実験室レベルで調整されたサンプルデータからデジタルファイルとして自動的に解析結果を得ることができるが, 実際は, 検査結果の解釈には専門的な知識が必要となる²²⁾. さらに, 検出されたバリエントは意義不明の変異(variant of uncertain significance, VUS)である場合が多く, 結果の病的意義は今後変化する可能性もある²²⁾. そのため, 本症例の病原性の判定に関しては, 長期的な経過観察が必要であり, 同時に, 同じバリエントを持つ患者データ集積が必要である.

3. 生活指導や治療について

1) 薬物治療

LQTS患者のβ遮断薬の服用はQTcを著しく短縮させるわけではないが, 心イベントリスクを有意に低下させる¹⁾. また, β遮断薬服用により致死率が大幅に低下することも報告されている¹⁾. β遮断薬は失神やVT/VFの既往を有する例, および症状の有無に関係なくQTc≥470msecの例で推奨されてい

表6 バリエント分類組み合わせ基準

Pathogenic	Likely pathogenic	Benign	Likely benign	Uncertain significance
PVS1 + PS (≥1)	PVS1 + PM (1)	BA1	BS (1) + BP (1)	左記の基準に当てはまらない
PVS1 + PM (≥2)	PS (1) + PM (1~2)	BS (≥2)	BP (≥2)	良性・病原性の基準が矛盾している
PVS1 + PM (1) + PP (1)	PS (1) + PP (≥2)			
PVS1 + PP (≥2)	PM (≥3)			
PS (≥2)	PM (2) + PP (≥2)			
PS (1) + PM (≥3)	PM (1) + PP (≥4)			
PS (1) + PM (2) + PP (≥2)				
PS (1) + PM (1) + PP (≥4)				

文献¹⁹⁾の表を和訳, 改変. 本症例に該当する箇所を塗りつぶしている. かっこ内は当該バリエントの個数を示す.

BA, benign stand-alone; BS, benign strong 1-4; BP, benign supporting 1-7; PM, pathogenic moderate 1-6; PP, pathogenic supporting 1-5; PS, pathogenic strong 1-4; PVS, pathogenic very strong.

るが、その適応は拡大しており、QTc<470msecの無症候例でも使用可となっている¹⁾。遺伝子型別では、LQT1, LQT2において、 β 遮断薬の有効性が確立されている¹⁾。 β 遮断薬の種類による効果の違いもあり、 β_1 非選択性の β 遮断薬であるプロプラノロールやナドロールの有効性が高いと報告されている¹⁾。とくにLQT2にはナドロールが有効とされている¹⁾。 β 遮断薬は胎児の発育抑制や呼吸抑制を生じる可能性があるため、妊娠患者に対しては一般的には禁忌という位置づけである。しかし、先天性LQTS患者における妊娠出産時については、LQT2やLQT1でも高リスク例では妊娠中・産後に心イベントが発生する確率が高いため、 β 遮断薬の継続が奨められている¹⁾。石橋らの研究によれば、 β 遮断薬使用例と未使用例では、使用例では帝王切開を選択する機会が多いため低体重の胎児となる可能性が高いが、その後の発育に問題はなく、流産や胎児の先天的な異常の頻度も β 遮断薬を使用しない場合と比べ差がほとんどないため、妊娠中ならびに産後の β 遮断薬投与は母体保護に有効であると報告されている²³⁾。Rashbaらの研究でも、 β 遮断薬の内服により産後の心イベントを減少させることができたことが報告されている²⁴⁾。Sethらの研究では、妊娠中の心イベントリスクは減るが産後9ヵ月はリスクが増加し、特にLQT2において産後の心事故が目立ったこと、 β 遮断薬内服により産後9ヵ月の心イベントを減少させたことが報告されている²⁵⁾。これらの研究結果から、 β 遮断薬導入による母体へのメリットが胎児へのデメリットを上回ると判断された場合は、LQTS合併の妊娠症例に β 遮断薬の使用を考慮してもよいと考えられる。本症例は現在まで無症状であるが、LQTSの女性ではエストロゲンの作用が一因となってQT時間が延長する傾向にあり思春期以降に心イベントリスク発生率が高くなりやすいため²⁶⁾、現在は無症状であっても今後高リスクになる可能性がある。このようなQT延長を引き起こしうる要因があり、また本邦のガイドライン¹⁾においては、QTc 470ms未満の無症候例のうちLQT2において β 遮断薬内服が推奨クラスIIa(データ、見解から有用、有効である可能性が高い)、Minds推奨グレードB(科学的根拠があり、行うよう勧められる)に分類されている。これらのことを考慮して本人・家族へ説明し、内服を希望されたことから、予防的

服治療を開始した。しかし、 β 遮断薬が作用するためには長期間飲み続けることが必要であり、長期に服用していた β 遮断薬を突然中止すると離脱症候群(血圧の上昇や、狭心症症状、不整脈の悪化など)につながる。そのため、医師は服薬の使用について患者に十分説明し、服薬指示を守るよう指導する必要がある。

2) 運動制限

QT延長症候群の患者に対する運動制限については、激しい運動は一般的に推奨されていない³⁾。水泳やマラソンなどの持続する運動は不整脈を誘発する(特にLQT1)¹⁾。そのため、LQT1患者の運動制限(とくに水泳)は必須である²⁷⁾。LQT2患者でも、明確なエビデンスはないものの、水泳時の発作には注意が必要であると考えられているため、ある程度の運動制限が必要であると考えられる²⁷⁾。本症例のように無症状の場合は、安静時のQTc延長の程度・家族歴・運動負荷によるQTc延長の有無に応じて、運動制限範囲(とくに水泳)が決められている²⁷⁾。しかし、QT延長症候群の運動部活動の「禁」「可」についてはあくまで目安であり、個々の児童生徒に対する診察や検査のほか、試合や競技に至るまでの練習方法や練習量、本人の参加意欲や習熟度、運動する環境などを総合して決められるべきであるとされている³⁾。このため、実際の運動制限範囲は、「器質的心疾患を認めない不整脈の学校生活管理指導ガイドライン」³⁾や「学校心臓検診のガイドライン」²⁷⁾等を参考にして主治医と十分に検討していく必要があると考えられる。本症例は特段の運動制限はなく(水泳は監視下)、小学校、中学校ともに運動部に所属していたが、特に目立った心イベントは起こらなかった。

3) 生活指導

先天性LQTSは遺伝子型に特異的な心イベントの誘因が報告されている¹⁾。LQT2では、目覚まし時計や電話などの突然の音刺激、日常生活の中で起きた緊張を強いられる場面(恐怖/不安または怒り)または安静時/睡眠中の突然の興奮/覚醒(突然の騒音、驚き)から症状が誘発されることが多い^{1, 3)}。そのため、これらの刺激を避けるように指導する必要もある。「1) 薬物治療」で既述したように、LQT2の女性には思春期以降、とくに産褥期での心イベント発生リスクが高くなる^{1, 23, 25)}。分娩様式について通常

の経陰分娩は禁忌ではないとされているが²⁸⁾、実際分娩の様式は、母体や胎児の健康状態をみながら、「心疾患患者の妊娠・出産の適応、管理に関するガイドライン」²⁹⁾を参考に、主治医の判断によって検討する必要がある²⁸⁾。加えて、不整脈出現時にすみやかに対応できる体制を整えておく必要もある^{1, 28)}。また、先天性心疾患の患者は、疾患による症状、合併症、繰り返す入院・手術などの身体的制約や社会適応障害、家族・生育歴などが原因と思われる不安や抑うつ症状をもちやすい傾向にあり、正常妊娠時と同様に、周産期にはこれらの症状が悪化しやすい^{29, 30)}。また、思春期・青年期の心疾患患者において、自身の疾患・遺伝的リスクなどに対する認知度が低いこと、妊娠前に妊娠のリスクについて主治医や家族との話し合いやその受容が行われていないことも現状である²⁷⁾。これらを防ぐために、早期の精神療法や薬物投与を行うことによって症状の改善を図るとともに、妊娠前から自身の疾患や妊娠時～産褥期のリスク・遺伝的リスク等に対する理解を深め、家族や担当医と妊娠について相談し、出産後も含めた協力体制を確認しておくことが重要である²⁹⁾。

4) 二次性QT延長症候群予防

二次性QT延長症候群とは、先天性な原因とは別に二次的にQTが延長する疾患のことである¹⁾。その原因としては、キニジンやエリスロマイシンなどのQT延長作用を持つ薬物の急速/複数投与や、低K血症（アルドステロン様作用のある甘草による低K血症を含む）や低Mg血症などの電解質異常、徐脈、器質性心疾患（心不全、急性心筋梗塞、肥大型心筋症、たこつぼ心筋症などのストレス心筋症）、脳卒中などがある¹⁾。そのため、患者の薬の使用状況や食生活等を確認し、QT延長のリスクを避けるよう注意すべきである。また患者に対しては、QT延長作用を持つ薬物の服用を避けるため、医療機関で受診する際は自身がQT延長症候群であること、および、その遺伝子型を自己申告するよう指導する必要がある¹⁾。

VI. 結 論

今回我々は、*KCNH2*に*de novo*の新規ナンセンス変異 (c.1490G>A, p.Trp497Ter) を認めたLQT2の1症例を経験した。ACMGガイドラインではLikely

pathogenic ~ Pathogenicと判定されたが、本症例の変異の病原性に関しては、現段階では決めがたく、長期的に厳重な経過観察を行う必要がある。

引用文献

- 1) 遺伝性不整脈の診療に関するガイドライン2017年改訂版. 2018 [Available from : https://www.j-circ.or.jp/cms/wp-content/uploads/2017/12/JCS2017_aonuma_h.pdf. (2023-03-27)]
- 2) 鈴木 博. 遺伝性不整脈の診断と治療: QT延長症候群, QT短縮症候群, CPVT, Brugada症候群について. *Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery* 2019 ; 35 : 249-263.
- 3) 吉永 正, 泉田 直, 岩本 眞, 牛ノ濱 大, 住友 直, 田内 宣, 高橋 良, 富田 英, 長嶋 正, 堀米 仁, 山内 邦, 阿部 勝, 新垣 義, 上野 倫, 太田 邦, 佐藤 誠, 高木 純, 立野 滋, 檜垣 高, 市田 露, 白石 裕, 杉 薫, 堀江 稔. 器質的心疾患を認めない不整脈の学校生活管理指導ガイドライン (2013年改訂版). *Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery* 2013 ; 29 : 277-290.
- 4) Okayama N, Hamanaka Y, Suehiro Y, Hasui Y, Nakamura J, Hinoda Y. Association of interleukin-10 promoter single nucleotide polymorphisms -819 T/C and -592 A/C with aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005 ; 60 : 1525-1529.
- 5) Vandenberg JI, Perry MD, Perrin MJ, Mann SA, Ke Y, Hill AP. hERG K (+) channels: structure, function, and clinical significance. *Physiol Rev* 2012 ; 92 : 1393-1478.
- 6) Shimizu W, Moss AJ, Wilde AA, Towbin JA, Ackerman MJ, January CT, Tester DJ, Zareba W, Robinson JL, Qi M, Vincent GM, Kaufman ES, Hofman N, Noda T, Kamakura S, Miyamoto Y, Shah S, Amin V, Goldenberg I, Andrews ML, McNitt S. Genotype-phenotype aspects of type 2 long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2009 ; 54 : 2052-2062.
- 7) Brewer KR, Kuenze G, Vanoye CG, George AL, Jr., Meiler J, Sanders CR. Structures

- Illuminate Cardiac Ion Channel Functions in Health and in Long QT Syndrome. *Front Pharmacol* 2020 ; 11 : 550.
- 8) Anderson CL, Kuzmicki CE, Childs RR, Hintz CJ, Delisle BP, January CT. Large-scale mutational analysis of Kv11.1 reveals molecular insights into type 2 long QT syndrome. *Nat Commun* 2014 ; 5 : 5535.
 - 9) Gong Q, Zhang L, Vincent GM, Horne BD, Zhou Z. Nonsense mutations in hERG cause a decrease in mutant mRNA transcripts by nonsense-mediated mRNA decay in human long-QT syndrome. *Circulation* 2007 ; 116 : 17-24.
 - 10) Inada T. RNA品質管理機構をベースとした医薬品開発. *Farumashia* 2015 ; 51 : 13-16.
 - 11) Kervestin S, Jacobson A. NMD : a multifaceted response to premature translational termination. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012 ; 13 : 700-712.
 - 12) 稲田 利. リボソームによる異常な翻訳終結の認識とmRNA品質管理機構. *生化学* 2007 ; 79 : 50-54.
 - 13) Sun Y, Zhang P, Li X, Zhang H, Li J, Liu G, Guo J. A novel nonsense mutation Y652X in the S6/pore region of human ether-go-go gene found in a long QT syndrome family. *Scand Cardiovasc J* 2009 ; 43 : 181-186.
 - 14) Santarosa M, Ashworth A. Haploinsufficiency for tumour suppressor genes: when you don't need to go all the way. *Biochim Biophys Acta* 2004 ; 1654 : 105-122.
 - 15) Hamanaka K, Imagawa E, Koshimizu E, Miyatake S, Tohyama J, Yamagata T, Miyauchi A, Ekhilevitch N, Nakamura F, Kawashima T, Goshima Y, Mohamed AR, Ch'ng GS, Fujita A, Azuma Y, Yasuda K, Imamura S, Nakashima M, Saitsu H, Mitsuhashi S, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Matsumoto N. De Novo Truncating Variants in the Last Exon of SEMA6B Cause Progressive Myoclonic Epilepsy. *Am J Hum Genet* 2020 ; 106 : 549-558.
 - 16) Zarraga IG, Zhang L, Stump MR, Gong Q, Vincent GM, Zhou Z. Nonsense-mediated mRNA decay caused by a frameshift mutation in a large kindred of type 2 long QT syndrome. *Heart Rhythm* 2011 ; 8 : 1200-1206.
 - 17) Bai J, Qu Y, Cao Y, Yang L, Ge L, Jin Y, Wang H, Song F. The SMN1 common variant c.22 dupA in Chinese patients causes spinal muscular atrophy by nonsense-mediated mRNA decay in humans. *Gene* 2018 ; 644 : 49-55.
 - 18) Lian J, Guo J, Huang X, Yang XI, Huang G, Mao H, Sun HH, Ba Y, Zhou J. miRNAs Regulate hERG. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2016 ; 27 : 1472-1482.
 - 19) Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015 ; 17 : 405-424.
 - 20) Vihinen M. Problems in variation interpretation guidelines and in their implementation in computational tools. *Mol Genet Genomic Med* 2020 ; 8 : e1206.
 - 21) 希少疾患分野における次世代シーケンサーを使用した網羅的遺伝子解析のバリエーション解釈に係るガイドランス [Available from : <https://cmg.med.keio.ac.jp/cms/wp-content/uploads/2019/10/NGS-variant-analysis-guide.pdf>. (2022-11-29)]
 - 22) 日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」2022 [Available from : https://jams.med.or.jp/guideline/genetics-diagnosis_2022.pdf. (2022-11-29)]
 - 23) Ishibashi K, Aiba T, Kamiya C, Miyazaki A, Sakaguchi H, Wada M, Nakajima I, Miyamoto K, Okamura H, Noda T, Yamauchi T, Itoh H, Ohno S, Motomura H, Ogawa Y, Goto H, Minami T, Yagihara N, Watanabe H,

- Hasegawa K, Terasawa A, Mikami H, Ogino K, Nakano Y, Imashiro S, Fukushima Y, Tsuzuki Y, Asakura K, Yoshimatsu J, Shiraishi I, Kamakura S, Miyamoto Y, Yasuda S, Akasaka T, Horie M, Shimizu W, Kusano K. Arrhythmia risk and β -blocker therapy in pregnant women with long QT syndrome. *Heart* 2017 ; **103** : 1374-1379.
- 24) Rashba EJ, Zareba W, Moss AJ, Hall WJ, Robinson J, Locati EH, Schwartz PJ, Andrews M. Influence of pregnancy on the risk for cardiac events in patients with hereditary long QT syndrome. LQTS Investigators. *Circulation* 1998 ; **97** : 451-456.
- 25) Seth R, Moss AJ, McNitt S, Zareba W, Andrews ML, Qi M, Robinson JL, Goldenberg I, Ackerman MJ, Benhorin J, Kaufman ES, Locati EH, Napolitano C, Priori SG, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM, Zhang L. Long QT syndrome and pregnancy. *J Am Coll Cardiol* 2007 ; **49** : 1092-1098.
- 26) Bjelic M, Zareba W, Peterson DR, Younis A, Aktas MK, Huang DT, Rosero S, Cutter K, McNitt S, Xia X, MacKecknie BD, Horn R, Sotoodehnia N, Kudenchuk PJ, Rea TD, Arking DE, Wilde AAM, Shimizu W, Ackerman MJ, Goldenberg I. Sex hormones and repolarization dynamics during the menstrual cycle in women with congenital long QT syndrome. *Heart Rhythm* 2022 ; **19** : 1532-1540.
- 27) 日本循環器学会, 住友 直. 学校心臓検診のガイドライン : (日本循環器学会/日本小児循環器学会合同ガイドライン) : 日本循環器学会 ; 2016.
- 28) 青田 千, 山川 勝, 宮越 千, 鶴田 悟. 遺伝性不整脈合併母体の妊娠出産. *Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery* 2018 ; **34** : 155-159.
- 29) 心疾患患者の妊娠・出産の適応, 管理に関するガイドライン (2018年度版) 2018 [Available from : https://www.j-circ.or.jp/cms/wp-content/uploads/2020/02/JCS2018_akagi_ikeda.pdf. (2023-03-27)]
- 30) 赤木 禎, 日高 淑, 姫野 和, 加藤 裕. 成人先天性心疾患患者の社会的自立の現況と問題点 : 自立を妨げる要因 : 結婚と妊娠 (男女の違い). 日本小児循環器学会雑誌 = *Acta cardiologica paediatrica Japonica* 2003 ; **19** : 72-74.

A Case of Long QT Syndrome with a De Novo Novel Nonsense Mutation (c.1490G>A, p.Trp497Ter) in the *KCNH2* gene

Reina HIDAKA, Yutaka SUEHIRO^{1, 2)}, Masaki KODAMA²⁾, Masakazu FUKUDA^{2, 3)}, Yuki KUNIMUNE²⁾, Naoko OKAYAMA²⁾, Yukiko NAKAHARA²⁾, Mitsuaki NISHIOKA²⁾, Shigeki KOBAYASHI^{3, 4)}, Masafumi YANO³⁾ and Takahiro YAMASAKI^{1, 2)}

Department of Medicine, Yamaguchi University School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan 1) Department of Oncology & Laboratory Medicine, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan 2) Division of Laboratory, Yamaguchi University Hospital, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan 3) Division of Cardiology, Department of Medicine and Clinical Science, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan 4) Department of Therapeutic Science for Heart Failure in the Elderly, Yamaguchi University School of Medicine, 1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

SUMMARY

Congenital long QT syndrome is a disorder in which the QT interval on electrocardiography is prolonged due to an abnormality in the genes

encoding ion channels in cardiomyocytes, which sometimes results in fatal arrhythmias. We herein report a case of congenital long QT syndrome type 2 (LQT2) with a *de novo* novel nonsense mutation in the *KCNH2*.

An asymptomatic 13-year-old female client was admitted to Yamaguchi University Hospital for further examination of QT prolongation that was found in a school physical examination. A catecholamine provocation test showed further prolongation of the QT interval. She has been followed up as an outpatient once a year for six years. In this time, there have been no symptoms.

When she was 18 years of age, genetic testing was performed for her and her family. As a heterozygous nonsense mutation of *KCNH2* c.1490G>A, p.Trp497Ter was found only in the patient, *de novo* mutation was confirmed. Furthermore, as the association between the variant and long QT syndrome has not been reported, it seemed to be a novel mutation. Although she has remained asymptomatic thus far, she should be followed up carefully because female patients with LQT2 have an increased risk of cardiac events after puberty.