

Naチャンネル β 1サブユニット *SCN1B*は致死性不整脈の原因遺伝子か？

石川泰輔¹ 佐藤誠一² 高橋一浩^{2,3} 蒔田直昌¹

致死性不整脈の原因遺伝子である心筋 Naチャンネルには, α サブユニット (*SCN5A*)のみならず β 1サブユニット(*SCN1B*)の変異も報告されており, ルーチン遺伝子スクリーニングの対象になっている. しかし, われわれがこれまでに行った致死性不整脈・突然死家系 515 例の遺伝子解析では, *SCN1B*変異陽性例はわずか 1 例だった. この患者は無症状の 11 歳男児で, 父親と父方 4 世代に濃厚な突然死の家族歴をもつ. 心電図には Brugada 型 ST 上昇はなく, ピルシカイニド負荷も陰性だった. 心疾患関連 459 遺伝子の全エクソンを網羅的にスクリーニングする, 次世代シーケンズパネルを作成し解析したところ, *SCN1B*のミスセンスレバリエーション V158M を認めた. この変異は 15 万人のゲノムデータベース (gnomAD) に登録はなく, *in silico* 機能予測でも悪性と判断され, 突然死の原因変異と推測された. しかし, この変異は突然死の家族が多い父親由来でなく, 健常者である母親由来であることが判明した. したがって, *SCN1B*-V158M はこの家系の突然死の原因ではないと判断される. 以上の結果から, *SCN1B*は少なくとも日本人の突然死や致死性不整脈の有力な原因遺伝子ではなく, もし見つかったとしても, 家系情報や機能解析を合わせて, 慎重に妥当性を検討する必要がある.

I. はじめに

心筋 Naチャンネルは心筋細胞の活動電位第 1 相における急速な脱分極を介して, 心筋細胞の興奮性を

Keywords ● Naチャンネル β 1サブユニット
● 突然死
● 遺伝性不整脈

1 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子生理学
(〒852-8523 長崎県長崎市坂本1-12-4)
2 沖縄県立こども医療センター小児循環器内科
3 木沢記念病院小児科

担う¹⁾. 近年, 心筋 Naチャンネルは孔領域や電位センサーなどのチャンネルの主要部を構成する 24 回膜貫通型の α サブユニットと, 1 回膜貫通型の β サブユニットだけでなく, 細胞膜裏打ちタンパクのアンキリン G や, ギャップ結合, β IV スペクトリンなど複数の分子と大きな複合体を形成することで細胞膜上に固定され, 機能することがわかっている¹⁾. α サブユニット (Nav1.5) 単独でも電位依存性 Naチャンネルとして機能することはできるが, β サブユニット 1 (Nav β 1) は Na電流密度を増加させる²⁾. β サブユニットは α サブユニットのチャンネル機能の

Are Rare Variants in SCN1B for Cardiac Sodium Channel Beta Subunit 1 Responsible for Inherited Lethal Arrhythmia?
Taisuke Ishikawa, Seiichi Sato, Kazuhiro Takahashi, Naomasa Makita

修飾のほかに、細胞間接着を促進するなどイオンチャンネルとしての働き以外にも多様な役割をもつ²⁾。

この心筋 Naチャンネルを構成する α サブユニットや β 1 サブユニットをコードする、*SCN5A* や *SCN1B* の機能喪失型変異は、これまでに Brugada 症候群 (Brugada syndrome : BrS) や進行性心臓伝導障害 (progressive cardiac conduction defect : PCCD) などの致死性遺伝性不整脈、家族性洞不全症候群 (sick sinus syndrome : SSS)、家族性心房細動 (atrial fibrillation : AF) の原因となることが報告されている^{3)~5)}。そのため、*SCN5A* と *SCN1B* は、これら遺伝性不整脈のルーチン遺伝子スクリーニングの対象になっている。*SCN5A* や *SCN1B* の機能喪失型変異に起因する Naチャンネル機能低下を介した、さまざまな表現型を示す遺伝性不整脈疾患群を心筋 Naチャンネル病と総称する¹⁾。

しかし *SCN5A* 変異が上記の不整脈症例で比較的良好に見つかるのに対して、*SCN1B* 変異は稀である⁶⁾。例えば、BrS において *SCN5A* 変異は 11~29% の頻度で見つかるが、*SCN1B* 変異は 1% 未満の頻度でしかない⁷⁾。PCCD や AF においても報告はあるが、稀である⁸⁾。そこで本研究では、長崎大学分子生理学で致死性不整脈症例を対象に行った *SCN1B* 解析結果を用いて、*SCN1B* が致死性不整脈の原因遺伝子として妥当か否かを検討した。

II. 方 法

検索対象は、長崎大学分子生理学研究室にて遺伝子解析を行った BrS (389 名)、家族性 SSS (33 名)、家族性房室ブロック (家族性 AVB) (43 名)、家族性 PCCD (22 名)、特発性心室細動 (26 名) 患者に加えて、濃厚な突然死歴をもつ無症候例 (2 名) であった。すべての患者は十分なインフォームドコンセントを受け、末梢血白血球からゲノム DNA を得て、遺伝子解析を実施した。解析は、心疾患関連 459 遺伝子の全エクソンを網羅的にスクリーニングする、次世代シーケンスパネル SeqCap EZ、もしくはエク

ソームパネル SureSelect v6 を使用して濃縮し、HiSeq2500 でシーケンス情報を取得後、*SCN1B* 変異キャリアを検索した。解析方法や対象遺伝子は過去の報告に従って行った^{9)・10)}。同定したバリエントは、日本人バリエーションデータベースの東北メディカルメガバンク 2KJPN と Exome Aggregation Consortium (ExAC)、Genome Aggregation Database (gnomAD) において、マイナーアレル頻度が 0.5% 以下のものを抽出し、機能予測アルゴリズム Polyphen-2 を用いて、見つかったバリエントの *in silico* 機能予測を行った。その後、3130 Genetic Analyzer を使ったダイレクトシーケンス法によって、バリエントの存在を確認し、家系解析を行った。これらの研究は、各施設が設置する倫理審査委員会承認を得たのちに実施した。

III. 結 果

BrS、家族性 SSS、家族性 AVB、家族性 PCCD、特発性心室細動を合わせた計 513 名に、*SCN1B* レアバリエントは認められなかった。しかし、突然死家系をもつ 1 家族に *SCN1B* のミスセンス変異 V158M を認めた。

1. *SCN1B*-V158M の発端者と変異家系の詳細

発端者は生来健康な 11 歳男児。濃厚な突然死の家族歴 (父親 17 歳、祖父 44 歳、曾祖父 36 歳) があったため、精査を希望され受診した (図 1)。男児は器質的異常および心電図異常はなく (図 2A)、ピルシカイニド負荷試験でも Brugada 型 ST 上昇は誘発されなかった。電気生理学的検査でも心室細動は誘発されなかった。母親にも心電図異常は見られなかった。 (図 2B)

2. *SCN1B*-V158M の評価

SCN1B-V158M は、公共バリエーションデータベース 2KJPN や ExAC、gnomAD のいずれにも未登録であった。*In silico* の変異機能予測プログラム Polyphen-2 では Probably damaging (3 段階中もっとも悪い可能性がある) と予測された。しかし、家系解析を行ったところ、変異は母親に同定され、突

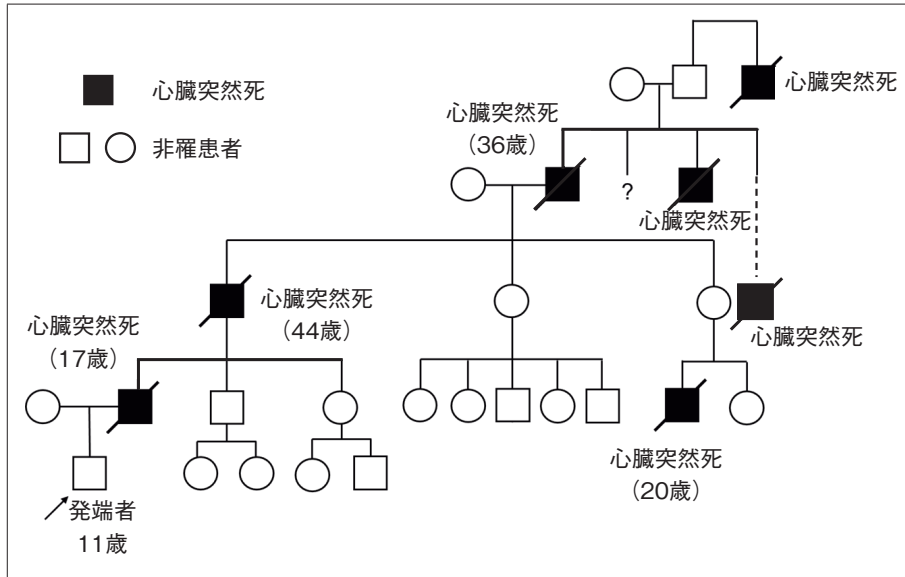


図1 *SCN1B*-V158M変異を同定した、濃厚な突然死の家族歴を有する家系

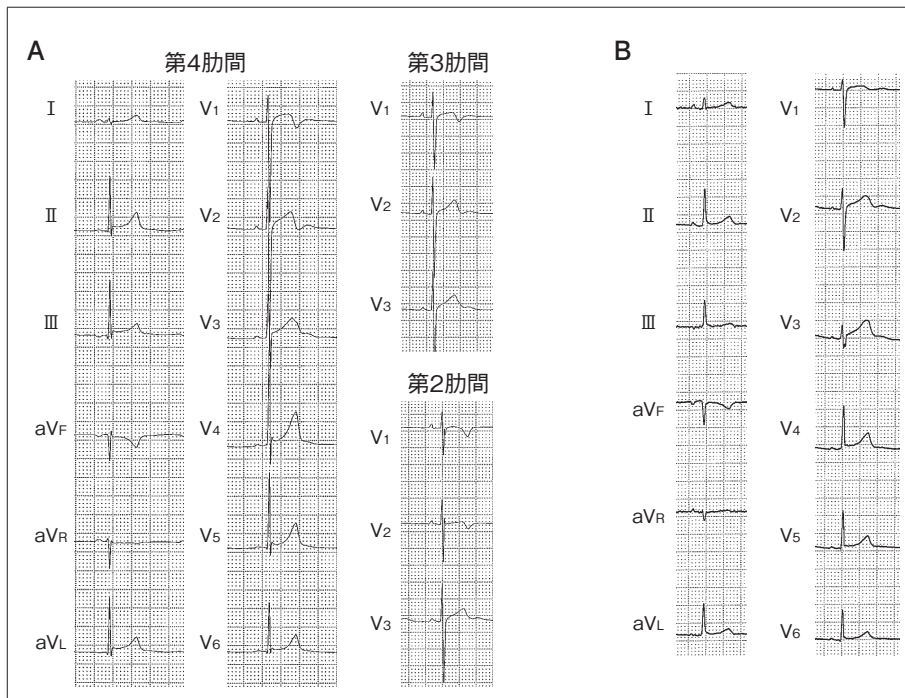


図2 *SCN1B*-V158M変異を見出した発端者(A)と母親(B)の心電図
発端者では高位肋間でも Brugada 型心電図は見出されなかった。

然死歴の濃厚な父方家系に由来するものでないことが判明し、*SCN1B*-V158M変異は突然死の原因ではないことがわかった。以上より、当研究室において

*SCN1B*の遺伝子解析を行った515名について再調査したところ、*SCN1B*変異は極めて稀であり、さらに*SCN1B*が強力な単一遺伝性疾患としての原因

遺伝子であることを示す結果も得られなかった。

IV. 考 察

致死性遺伝性不整脈の代表例である BrS では、SCN5A を筆頭に 23 個の関連遺伝子が報告されている。SCN5A 変異が BrS 患者の約 11~29% に同定される一方で、残りの 22 遺伝子については非常に稀で、大家系での報告も乏しいため、疾患と関連のない極めて稀なバリエーション (private variant) の可能性が否定できない。

最近、SCN1B レアバリエーションを集積し、BrS と致死性不整脈・突然死との関連を検討した国際共同研究が発表された¹¹⁾。この研究で集められた 6 種のレアバリエーションのうち、E87Q 変異は gnomAD によると、一般健常者にも 0.12% の割合で認められるという。BsS の有病率を仮に 1% と高く見積もっても、8 人に 1 人が E87Q により BrS を発症するとは考えにくい。そのため、*in vitro* 実験で Na チャネル機能を喪失させることが報告されているもの⁵⁾、E87Q には BrS をもたらすほどの強力な作用はないと結論付けられた¹¹⁾。また、この国際共同研究で白人 BrS 患者において最も高頻度に見つかった W179X 変異は、タンパクの合成途中で終止コドンが入るナンセンス変異である。ナンセンス変異では、新たに生じた終止コドン以降のアミノ酸配列が損なわれるため、一般には重度の機能喪失をもたらすと考えられる。しかし、一般健常者における W179X 変異の頻度は、gnomAD においては 0.0008% とかなり低いが、同じエクソンにはほかに 8 つのナンセンス変異が登録されているため、SCN1B においてナンセンス変異は病態発生に大きく寄与するものでなく、W179X 変異も単独では BrS をもたらさない可能性が高い¹¹⁾。ほかの 4 つのレアバリエーションも同様に、健常者集団における頻度の高さや家系解析の否定的な結果から、疾患に強く関連したバリエーションではなく、SCN1B は BrS の強力な原因遺伝子ではないと考えられる¹¹⁾。

本研究で同定した V158M も、*in silico* 機能予測で

は悪性度が高いことが示唆されたが、レアバリエーションの家系調査からは変異は否定された。家系解析の重要性はアメリカ臨床遺伝学会のガイドラインにおいても示されており、家系解析による遺伝型と表現型の対比が陰性であれば、レアバリエーションの影響を否定できる¹²⁾。また、*in silico* 機能予測からレアバリエーションの機能特性を推測しようとする研究もあるが^{13)・14)}、本研究で示されたように *in silico* 機能予測が的中しないことはよく経験される。*In silico* アルゴリズムを複数採用することで精度を高めようとする向きもあるが^{13)・14)}、これらのアルゴリズムは各構成要素の重みづけが異なるだけで、構成要素の中身は進化上の保存性や機能ドメイン予測などの同一情報に基づくため、複数のアルゴリズムで判定されても精度が高まるとは言い切れないことが、アメリカ臨床遺伝学会のガイドラインにおいても示されている¹²⁾。以上より、少なくとも現時点では、アルゴリズムによる機能予測は参考までに留めておくべきで、患者個人に向けた最終判断のための材料として用いるべきではない。

SCN5A 変異キャリア BrS 患者を非キャリア患者と比較すると、心電図 PQ 時間と心内心電図 HV 時間が長く、Na チャネル遮断薬投与時の PQ 時間・QRS 時間の延長幅が大きく、心房細動をより高頻度に呈することが知られている^{15)・16)}。SCN5A 変異と SCN1B 変異は、いずれも心筋 Na チャネル機能を損なうことで BrS 発症に関与することから、SCN1B 変異キャリアにも SCN5A 変異キャリアと同様の心電学的特徴が見られるはずである。しかし、上述の国際共同研究では、SCN1B キャリアと非キャリアの比較では、心電図 PQ 時間や QRS 時間に有意差は認めなかった (PQ 時間；キャリア 161 ± 7 msec vs. 非キャリア 165 ± 9 msec, $p = 0.83$, QRS 時間；キャリア 101 ± 6 msec vs. 非キャリア 89 ± 5 msec, $p = 0.35$)¹¹⁾。また、心房細動も報告されていない。このことから、SCN1B 変異キャリアの臨床像は SCN5A 変異キャリアの臨床像と一致しない点が多く、SCN1B 変異単独で SCN5A 変異同

様に心筋 Naチャンネル機能を喪失させ、種々の遺伝性不整脈をもたらすのかは疑問である。

本研究では、濃厚な突然死家族歴を有する2名を含めた、515名の遺伝性不整脈患者の *SCN1B* レアバリエーションを検索したが、最終的に *SCN1B* レアバリエーションが致死性遺伝性不整脈や突然死に関連することを示す結果は得られなかった。したがって、*SCN1B* は少なくとも日本人の突然死や致死性不整脈の有力な原因遺伝子でなく、もし見つかったとしても家系情報や機能解析を合わせて慎重に妥当性を検討する必要がある。さらに、このことは非常に多くの原因遺伝子が報告されている現在、*SCN1B* や BrS に限らず、ほかの遺伝子においても家系解析や機能解析を行って、原因遺伝子としての妥当性を検討する必要があることを示唆する。

〔文 献〕

- 1) Remme CA : Cardiac sodium channelopathy associated with *SCN5A* mutations : electrophysiological, molecular and genetic aspects. *J Physiol*, 2013 ; 591 : 4099-4116
- 2) Edokobi N, Isom LL : Voltage-Gated Sodium Channel beta1/beta1B Subunits Regulate Cardiac Physiology and Pathophysiology. *Front Physiol*, 2018 ; 9 : 351
- 3) Makita N, Behr E, Shimizu W, et al. : The E1784K mutation in *SCN5A* is associated with mixed clinical phenotype of type 3 long QT syndrome. *J Clin Invest*, 2008 ; 118 : 2219-2229
- 4) Watanabe H, Darbar D, Kaiser DW, et al. : Mutations in sodium channel beta1- and beta2-subunits associated with atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2009 ; 2 : 268-275
- 5) Watanabe H, Koopmann TT, Le Scouarnec S, et al. : Sodium channel beta1 subunit mutations associated with Brugada syndrome and cardiac conduction disease in humans. *J Clin Invest*, 2008 ; 118 : 2260-2268
- 6) Crotti L, Marcou CA, Tester DJ, et al. : Spectrum and prevalence of mutations involving BrS1- through BrS12-susceptibility genes in a cohort of unrelated patients referred for Brugada syndrome genetic testing : implications for genetic testing. *J Am Coll Cardiol*, 2012 ; 60 : 1410-1418
- 7) Kapplinger JD, Tester DJ, Alders M, et al. : An international compendium of mutations in the *SCN5A*-encoded cardiac sodium channel in patients referred for Brugada syndrome genetic testing. *Heart Rhythm*, 2010 ; 7 : 33-46
- 8) Hayashi K, Konno T, Tada H, et al. : Functional Characterization of Rare Variants Implicated in Susceptibility to Lone Atrial Fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 2015 ; 8 : 1095-1104
- 9) Seki A, Ishikawa T, Daumy X, et al. : Progressive atrial conduction defects associated with bone malformation caused by a connexin-45 mutation. *J Am Coll Cardiol*, 2017 ; 70 : 358-370
- 10) Morimoto Y, Shimada-Sugimoto M, Otowa T, et al. : Whole-exome sequencing and gene-based rare variant association tests suggest that *PLA2G4E* might be a risk gene for panic disorder. *Transl Psychiatry*, 2018 ; 8 : 41
- 11) Gray B, Hasdemir C, Ingles J, et al. : Lack of genotype-phenotype correlation in Brugada Syndrome and Sudden Arrhythmic Death Syndrome families with reported pathogenic *SCN1B* variants. *Heart Rhythm*, 2018 ; 15 : 1051-1057
- 12) Richards S, Aziz N, Bale S, et al. : 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
- 13) Kapplinger JD, Giudicessi JR, Ye D, et al. : Enhanced Classification of Brugada Syndrome-Associated and Long-QT Syndrome-Associated Genetic Variants in the *SCN5A*-Encoded Na (v)1.5 Cardiac Sodium Channel. *Circ Cardiovasc Genet*, 2015 ; 8 : 582-595
- 14) Clemens DJ, Lentino AR, Kapplinger JD, et al. : Using the genome aggregation database, computational pathogenicity prediction tools, and patch clamp heterologous expression studies to demote previously published long QT syndrome type 1 mutations from pathogenic to benign. *Heart Rhythm*, 2018 ; 15 : 555-561
- 15) Kusano KF, Taniyama M, Nakamura K, et al. : Atrial fibrillation in patients with Brugada syndrome relationships of gene mutation, electrophysiology, and clinical backgrounds. *J Am Coll Cardiol*, 2008 ; 51 : 1169-1175
- 16) Smits JP, Eckardt L, Probst V, et al. : Genotype-phenotype relationship in Brugada syndrome : electrocardiographic features differentiate *SCN5A*-related patients from non-*SCN5A*-related patients. *J Am Coll Cardiol*, 2002 ; 40 : 350-356