

日本人 Brugada 症候群患者における心筋ナトリウム チャンネル遺伝子 (SCN5A) の変異と多型

三浦大志

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 循環器内科学
(指導：大江 透教授)

Mutations and SNPs of human cardiac sodium channel alpha subunit gene (SCN5A) in Japanese patients with Brugada syndrome

Daiji Miura

Department of Cardiovascular Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry, and Pharmaceutical Sciences, Okayama 700-8558, Japan
(Director : Prof. T. Ohe)

Background: Brugada syndrome is an inherited arrhythmogenic disease characterized by right bundle branch block pattern and ST segment elevation, leading to the change of V1 to V3 on electrocardiogram, and an increased risk of sudden cardiac death resulting from ventricular fibrillation. The sodium channel alpha 5 subunit (SCN5A) gene encodes a cardiac voltage-dependent sodium channel, and SCN5A mutations have been reported in Brugada syndrome. However, single nucleotide polymorphisms (SNPs) and gene mutations have not been well investigated in Japanese patients with Brugada syndrome.

Methods and Results: The SCN5A gene was examined in 58 patients by using PCR and the ABI 3130xl sequencer, revealing 17 SNP patterns and 13 mutations. Of the 13 mutations, 8 were missense mutations (with amino acid change), 4 were silent mutations (without amino acid change), and one case was a mutation within the splicing junction. Six of the eight missense mutations were novel mutations. Interestingly, we detected an R1664H mutation, which was identified originally in long QT syndrome.

Conclusion: We found 13 mutations of the SCN5A gene in 58 patients with Brugada syndrome. The disease may be attributable to some of the mutations and SNPs.

キーワード：不整脈 (arrhythmia), Brugada 症候群 (Brugada syndrome), SCN5A, 変異 (mutation), 多型 (SNP)

背 景

1992年に Brugada らは心電図上、右脚ブロックと右側胸部誘導のV1～V3において持続するST上昇を示すが、明らかな心疾患や電解質異常などを認めず、心室細動発作をきたした8症例を報告し、Brugada 症候群として発表した¹⁾。その後このような症例が、世界中で報告された。Brugada 型心電図を呈する頻度は比較的多く、特に東南アジア地域に多いとされており、日本人における Brugada 型心電図の発生率は、8,612人中12名 (0.14%) という報告がある²⁾。

1998年に Chen らは、Brugada 症候群患者において心筋

ナトリウムチャンネル α サブユニット遺伝子である SCN5A の変異を報告した³⁾。この遺伝子は、それまでに QT 延長症候群 (LQT) で変異が報告されていたものと同じの遺伝子であった。以降、欧米諸国における Brugada 症候群と SCN5A 遺伝子変異との関係については数多く報告がなされている⁴⁾。しかしながら、日本人 Brugada 症候群における SCN5A 遺伝子変異の詳細な報告はなく、日本における Brugada 症候群患者と SCN5A 遺伝子変異との関係についてはよく分かっていない。そのため今回我々は、日本人 Brugada 症候群患者における SCN5A 遺伝子変異の頻度とタイプを検討した。

方 法

1. 対象

Brugada 型心電図の定義は過去の報告⁵⁾に従い、今回対象とした Brugada 型心電図を持つ患者は、計58名の患者群

であった（男性57名と女性1名：平均48.9±12歳）。これらの患者は、Brugada 型心電図（図1）を呈する以外は、各種生理学的検査（胸部レントゲン、運動負荷心電図、心臓超音波検査、冠動脈造影、左室造影）において明らかな器質的心疾患を認めなかった症例である。

2. DNA 採取

本研究は、岡山大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。患者から遺伝子検査に関するインフォームドコンセントを得た後、末梢血を採取し、ゲノム DNA は、末梢血中の白血球より DNA 抽出キットを使用し抽出した。得られた DNA は-30℃にて保存した。

3. PCR 法による DNA 増幅および DNA 塩基配列解析

PCR 法による SCN5A 遺伝子の28個のエキシソンの増幅には、過去に報告されたプライマーシーケンスを使用した⁶⁾。今回の解析では、SCN5A 遺伝子内のアミノ酸をコードしているエクソン2からエクソン28の塩基配列の解析を行った。エクソン6、21、25は過去のプライマーセットでは増幅ができなかったため、新たに設計した。そのプライマーシーケンスは、エクソン6：Sense 5'-GTT ATC CCA GGT AAG ATG CCC-3' Anti-sense 5'-TGG TGA CAG GCA CAT TCG AAG-3'、エクソン21：Sense

5'-TGC CTG GTG CAG GGT GGA AT-3' Anti-sense 5'-ACT CAG ACT TAC GTC CTC CTT C-3'、エクソン25：Sense 5'-TCT TTC CCA CAG AAT GGA CAC C-3' Anti-sense 5'-AAG GTG AGA TGG GAC CTG GAG-3'である。

PCR は反応液25 μ l中に genomic DNA を50ng, Sense および Anti-sense のプライマーを各20pmol, 0.8mM の dNTPs, 1 \times reaction buffer, 1.5mM MgCl₂, 0.7 U の AmpliTaq Gold™ (Applied Biosystems, USA) または TaKaRa Taq™ (TAKARA BIO INC., Japan) を含むように混合した。すべての PCR 産物は、エキソヌクレアーゼ I (Exo I) とシュリンブ由来アルカリフォスファターゼ (SAP) の酵素反応により精製されたのち、Big Dye Terminator v1.1 Sequencing Standard Kit (Applied Biosystems, USA) によりシーケンス反応をさせた。解析には、ABI 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) を使用した。また SCN5A の基礎配列は、National Center for Biotechnology Information (NCBI) の NM_000335 を基準にした。また今回の検討では患者群のみの検討であるため、健常人の配列は Ackerman らの健常人829人の検討を参考にした⁷⁾。

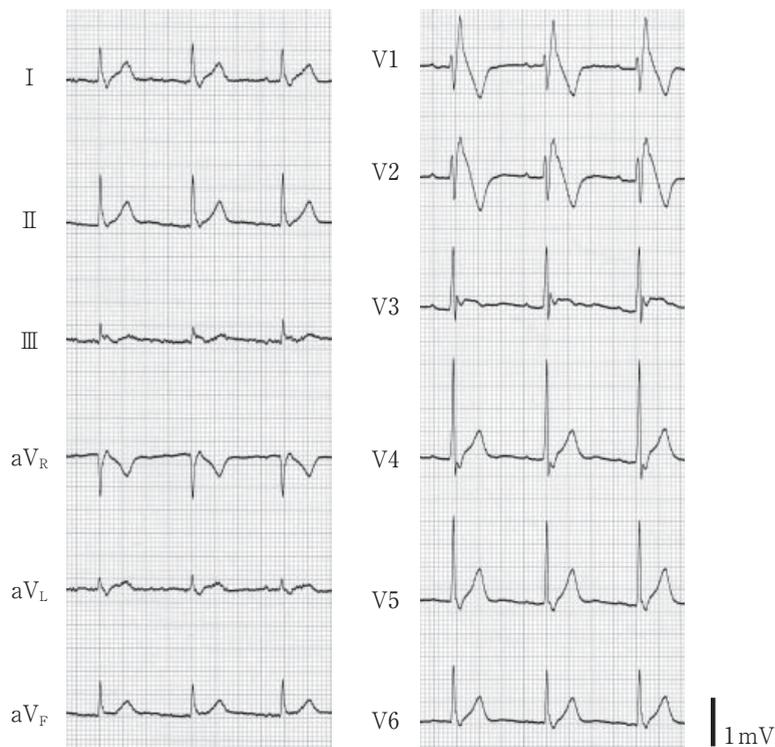


図1 典型的 Brugada 型心電図
右側胸部誘導の V1 および V2 において ST の上昇がみとめられる。

結 果

1. 頻度

今回の解析によって、58人中48人（82.8%）において、SCN5A 遺伝子のコーディング領域において、ヘテロ遺伝子型が検出された。

2. 一塩基多型 { Single Nucleotide Polymorphism (SNP)} 解析

今回の解析によって17個の SNP が確認された（表1）が、これらは過去に報告されていたものと全て同じ型であった。即ち A29A, C280C, G639G, T670T, L889L, D1819D⁸⁻¹²⁾ のアミノ酸変化を生じない SNP が 6 個、

V120I, A180G, R552G⁸⁾, H558R, H987Q, Q1027R, P1090L, R1193Q, V1951L^{8,10,13,14)} のアミノ酸変化を伴う SNP が 9 個確認された（ここで数字は該当するアミノ酸の番号を、前と後のアルファベットは多型のアミノ酸を示している）。さらに、イントロン9とイントロン24の部分の SNP (IVS9-3 c>a および IVS24+3 t>c) が 2 個確認された¹⁰⁾。

3. 変異 (mutation) 解析

今回の解析により58例中13例の遺伝子変異を検出した（表2, 3, 図2）。その内訳は、アミノ酸変化を生じないサイレント変異が4例、アミノ酸変化を生じるミスセンス変異が8例、イントロンの部分に変異を生じたものが1例

表1 Single nucleotide polymorphisms observed in Japanese patients with Brugada syndrome

Exon	Nucleotide Change	Amino acid Change	Channel Region	Allele Frequency (%)			Reference
				g	g/a	a	
2	g87a	A29A	N-term	58.6	32.8	8.6	7,8,9)
3	t360g	V120I	D I -S1	—	t/g	100	7)
5	ct539-40gc	A180G	D I -S2	—	ct/gc	100	7)
7	t840c	C280C	D I -S5-S6	—	t/c	100	7)
Intron 9	IVS9-3 c>a	—	—	89.7	c/a	10.3	9)
12	c1654g	R552G	D I -DII	—	c/g	100	7)
12	a1673g	H558R	D I -DII	82.8	a/g	15.5	7,9,12,13)
13	c1917g	G639G	D I -DII	—	c/g	100	7)
13	a2010c	T670T	D I -DII	—	a/c	100	7)
16	a2667c	L889L	D II -S5-S6	—	a/c	100	7)
17	c2916g	H987Q	D II -DIII	—	c/g	100	7)
17	a3080g	Q1027R	D II -DIII	—	a/g	100	7)
18	c3296t	P1090L	D II -DIII	93.1	c/t	6.9	12)
20	g3578a	R1193Q	D II -DIII	91.4	g/a	6.9	7,17)
Intron 24	IVS24+53 t>c	—	—	62.1	t/c	32.7	9)
28	c5457t	D1819D	C-term	25.9	c/t	53.4	8,10,11,12)
28	g5851t	V1951L	C-term	98.3	g/t	1.7	12)

IVS=Intervening Sequence

D I, D II and D III indicate SCN5A channel domain I, domain II and domain III.

であった。今回の解析では、塩基の挿入や欠失は見られず、変異のすべてはヘテロ接合型、すなわち、一方の染色体は正常型であった。アミノ酸変化を生じない4例の遺伝子変異は、D501D, H585H, G638G, D1869Dであった(表2)。これらはアミノ酸変化を生じないため、チャネルの機能には影響が無いものと考えられる。また、ミスセンス変異は、R282H^{4,15)}, F532C, R814Q, G833R, R878C, R988Q, R1644H^{16,17)}, L1988Rであった(表3)。イントロンの部分の変異としては、イントロン3のIVS3-37 g>aが得られた(表2)。

考 察

今回の解析は、過去に報告されているものと同様にチャネル機能に影響を及ぼすコーディング領域と Splice Site

表2 Silent mutations observed in Japanese patients with Brugada syndrome

Patient	Exon	Nucleotide Change	Amino acid Change	Channel Region
I-1	Intron 3	IVS3-37 g>a	—	—
I-2	11	t1503c	D501D	D I-D II
I-3	12	c1755t	H585H	D I-D II
I-4	13	c1914t	G638G	D I-D II
I-5	28	c5607t	D1869D	C-term

All mutations indicate heterozygous.
IVS=Intervening Sequence

表3 Missense mutations and Brugada syndrome related SNP observed in Japanese patients with Brugada syndrome

Patient	Exon	Nucleotide Change	Amino acid Change	Type	Channel Region	Silent mutation or SNPs*1	Reference
II-1	7	g845a	R282H	missense	D I-S5-S6	—	4,14)
II-2	12	t1595g	F532C	missense	D I-D II	—	—
II-3	16	g2441a	R814Q	missense	D II-S4	—	—
II-4	16	g2497a	G833R	missense	D II-S4-S5	—	—
II-5	16	c2632t	R878C	missense	D II-S5-S6	—	—
I-4	17	g2963a	R988Q	missense	D II-D III	G638G	—
II-6	28	g4931a	R1644H	missense	D IV-S4	—	15,16)
II-7	28	t5963g	L1988R	missense	C-term	H558R	—
II-8	—	—	—	3 SNPs	—	P1090L R1193Q*2 V1951L	—
II-9	—	—	—	2 SNPs	—	H558R R1193Q	—
II-10	—	—	—	2 SNPs	—	P1090L R1193Q	—

All mutations indicate heterozygous.

*1: Homozygous change in all patients with V120I, A180G, R552G, G639G, T670T, L889L, H987Q and Q1027R.

*2: R1193Q Homozygous change.

に限定した解析であったが、今回の解析により日本人 Brugada 症候群患者における SCN5A 遺伝子の遺伝子変異と SNP が解析された。SNP には日本人に特徴的なものが下記に述べるように、いくつか見受けられた。しかしながら、それ以外に関しては、欧米諸国やアジア諸国と比較して特徴的なものはみられなかった。SNP の詳細な出現頻度は、表1に記載している。アミノ酸変化を伴う SNP の中で V120I, A180G, R552G, H987Q, Q1027R は、SNP と報告されているにも関わらず、日本人では Takahata らの報告と同様に我々の検討においても1種類のアミノ酸しか検出できなかった。日本人では調べる限り100%ホモ接合型であった。この結果より、SCN5A の120番, 180番, 552番, 987番, 1,027番目のアミノ酸の全てが欧米人の配列に対して日本人に特有な配列であり、欧米諸国とは異なることが判明した。そのため欧米諸国の薬剤評価や臨床試験の結果を日本人 Brugada 症候群患者に適用するときは留意する必要があると考える。

今回は Brugada 症候群患者のみで解析評価を行った研究であったものの、H558R⁴⁾および P1090L^{16,17)}は過去に報告されているアレル出現頻度と差はみられなかった。H558R は欧米諸国では20~30%であるのに対し、アジア地域では10%程度であり、欧米諸国よりは若干少ない。今回の検討においても17.2%であった。しかしながら、P1090L はアジア地域特有の SNP (欧米諸国では見られない) であり、今回の検討では6.9%という頻度であり、過去のアジア地域2.2%^{4,15)}や日本人家族性 LQT 患者4%^{4,15)}よりも高

頻度であった。Brugada 症候群がアジア地域に多いといわれており、注意すべき SNP ではないかと考える。この SNP はパッチクランプ法による基礎電気生理学的解析がまだ行われておらず、解析がまたれる所である。

また出現頻度の報告のない R1193Q は、メジャーホモ接合型 (R/R) の出現頻度が91.4, ヘテロ接合型 (R/Q) の出現頻度が6.9, マイナーホモ接合型 (Q/Q) の出現頻度は1.7であった。ただしこの出現頻度は、Brugada 症候群患者のみでの値である。また、最近の報告において、R1193Q が Brugada 症候群に関係する SNP であるという報告もあり、この SNP に関しては留意する必要があると判断する¹⁸⁾。

V1951L のマイナー遺伝子型 L は過去の報告において、日本人家族性 QT 延長症候群における遺伝子型頻度は

図2 Brugada 症候群患者において検出された新規の SCN5A 遺伝子の変異

今回検出された新規の変異は6個であった。(a)ヌクレオチドポジション1595のチミンがグアニンへ変化することにより、532番のアミノ酸がフェニルアラニンからシステインに変化した。(b)ヌクレオチドポジション2441のグアニンがアデニンへ変化することにより、814番のアミノ酸がアルギニンからグルタミンに変化した。(c)ヌクレオチドポジション2497のグアニンがアデニンへ変化することにより、833番のアミノ酸がグリシンからアルギニンに変化した。(d)ヌクレオチドポジション2632のシトシンがチミンへ変化することにより、878番のアミノ酸がアルギニンからシステインに変化した。(e)ヌクレオチドポジション2963のグアニンがアデニンへ変化することにより、988番のアミノ酸がアルギニンからグルタミンに変化した。(f)ヌクレオチドポジション5963のチミンがグアニンへ変化することにより、1988番のアミノ酸がロイシンからアルギニンに変化した。

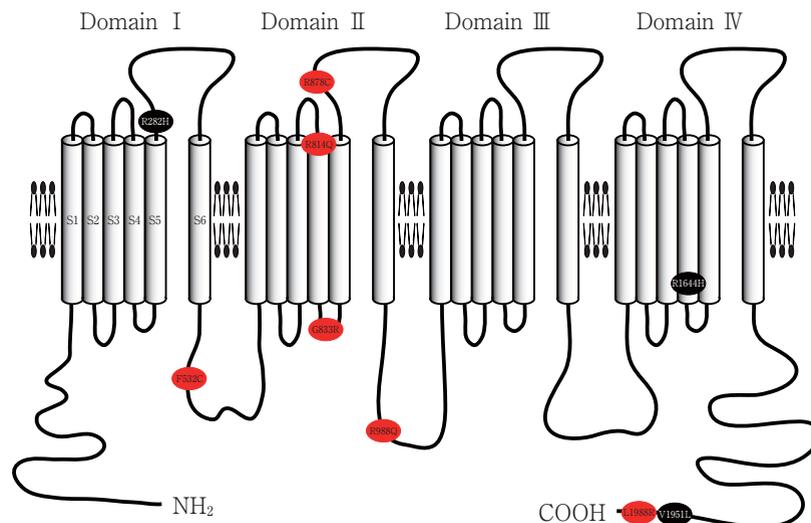
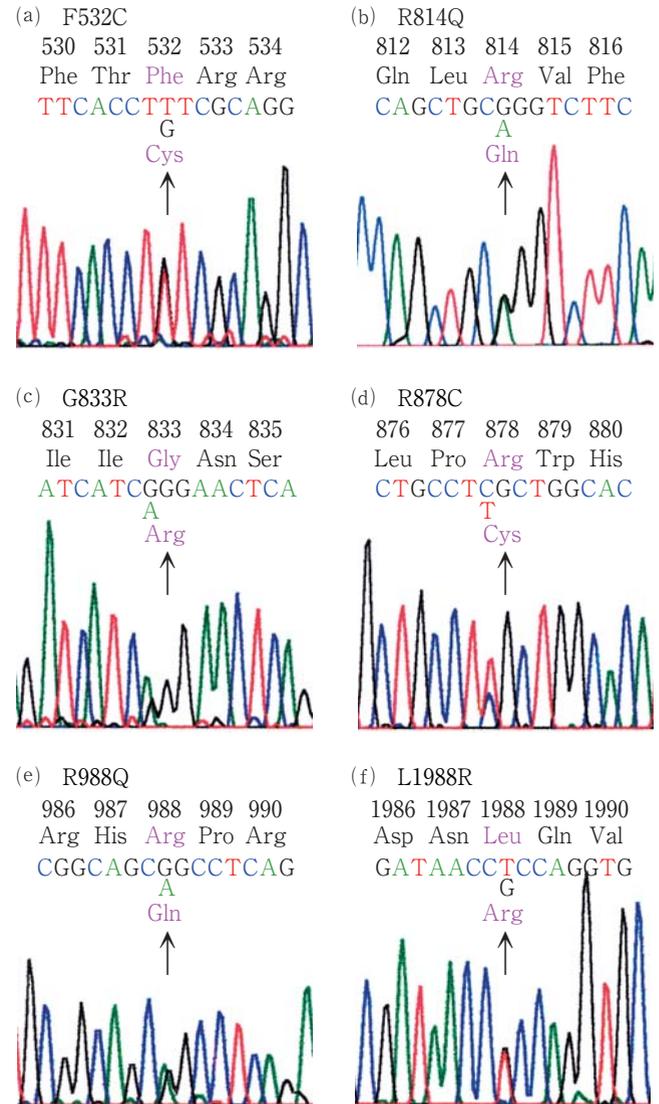


図3 ナトリウムチャネル α 5 サブユニットにおける変異位置
S1-S6 は細胞膜貫通領域 1-6 を示す。黒丸は過去に報告されている変異で、赤丸は新規の変異を示す。

V : L = 0.995 : 0.005であった¹³⁾。この V1951L のマイナー遺伝子型 L は、日本人では頻度のとても低い SNP であると考えられた。またヒスパニック系ではこの V1951L の遺伝子型頻度は V : L = 0.933 : 0.067 と黒人、白人、アジア人に比べて高いことが報告されているが⁷⁾、この SNP は、Brugada 症候群と相関のある SNP ではないかとも考えられている⁴⁾。

我々の検討では、V1951L に加えて P1090L かつ R1193Q を合わせ持つ、トリプル SNP を有していた。そのため、個々の SNP 単体ではナトリウムチャネル透過電流量が正常なものと変わらないが、これら 3 個の SNP が存在することにより、ナトリウム電流量が低下し、Brugada 症候群の発症の一因となっている可能性が考えられる。また前述のように R1193Q は、Brugada 症候群に関係すると報告されている。現在のところ、3 個の SNP が同一染色体に存在するか否かは明らかでは無い。

さらに今回の解析によって、2 個の SNP を有する患者が 2 名検出された。これらの患者は、H558R と R1193Q、P1090L と R1193Q をそれぞれ有していた。また前述のように R1193Q は Brugada 症候群に関係すると報告されているため、これら 2 個の SNP を有している患者群も、H558R や P1090L のような個々の SNP 単体では影響は無いが、R1193Q と組み合わせられることによってナトリウムチャネル電流に影響が出ている可能性が考えられる。SCN5A 遺伝子にミスセンス変異もしくは同等の機能異常がもたらされると考えられる SNP を有する (SNP を 2 箇所もしくは 3 箇所もつ) 患者は、58 例中 11 例で 19.0% と高頻度であった。この頻度は、過去に報告されている変異の出現頻度 (15~20%) と変わりがなかった。また、1 箇所の SNP を有する患者は 58 例中 8 例 (13.8%) であった。

今回の検討において患者の全てからは遺伝子変異が検出できなかった。そのため心電図異常と遺伝子変異に関してははっきりとした知見は得られなかった。今回得られた遺伝子変異は全てがヘテロ型であった。この遺伝子変異は機能喪失型であるという報告が多数あるため¹⁵⁾、ホモ型の変異を引き起こした場合は致死性になる可能性が高いと考えられる。今回検出された変異に関して、その部位は N 末端から C 末端まで多岐にわたり、細胞膜の内側・外側・細胞膜内と広く分布していた (図 3)。構造的にナトリウムイオンチャネル (SCN5A) は大きく 4 つのドメインからなり、それぞれのドメインは 6 つのセグメント (S1~S6) で構成されている。そのうち S4 は電位センサーとして働き、S5 と S6 の間のループ領域はイオンが通過するためのポアを形成している。今回検出した変異は、電位センサーの領域とポア領域に複数検出されており、チャネル機能に大

きく影響を与える場所に変異が生じていると考えられる。今回検出された変異である R282H はポア部分の異常であり、Itoh らの報告によると機能喪失型であり、膜発現には影響がないことが報告されている¹⁵⁾。またその他のポア部分や電位センサー部分などの変異も機能喪失型であることが報告されている¹⁵⁾。しかしながら、今回の検討では SCN5A 遺伝子変異の症例数が少ない事もあり、重症度と変異箇所との相関は現在のところ明らかでは無い。

特徴的な変異は、R1644H である。興味深い事に、Brugada 症候群で検出されたこの変異は、以前 QT 延長症候群 (LQT3) で検出・報告されている変異と同じものであった^{16,17)}。LQT3 も心室性不整脈をおこす疾患であるが、Brugada 症候群とは相反する機序であり、一般にナトリウムチャネルの機能でみると LQT3 は機能過剰型であるが、Brugada 症候群は機能喪失型であると考えられている。この R1644H の変異は Brugada 症候群と LQT3 という異なる疾患で共通に見つかったのである。この一見矛盾している様な変異に関して、現在明確な答えを我々は持ち合わせていないが、以前にも LQT3 と Brugada 症候群の両方の臨床表現型 (Phenotype) をもつ変異 (1795 insD) が報告されており¹⁹⁾、この報告と同じ事が R1644H で生じている可能性が考えられた。

また、今回我々が検出した R814Q の変異に関しては、以前に同箇所 R814W という変異パターンが報告されており、後者では拡張型心筋症を発症していた。このように SCN5A 遺伝子は同一箇所でありながら、異なる疾患で異なるアミノ酸の変異が生じていることが知られている²⁰⁾。

今回の検討で解析された変異のうち遺伝が判明しているものは、R282H である。この家系は発端者の弟 2 人と息子 2 人に、ヘテロ型で発端者と同じ R282H を認めた。発端者と弟 2 人は Brugada 型心電図呈していた。しかしながら、息子 2 人 (2 人共に 20 歳前後) は正常心電図であった。Brugada 症候群は中高年男性に多いため、この 2 人は注意深くフォローする必要があると考える。

最後に今回の検討で Brugada 症候群患者において、SCN5A 遺伝子に変異や複数の SNP を持つ患者が多数検出された。これまでの報告では、Brugada 症候群における SCN5A 遺伝子変異は、膜発現に関しては正常と変化は無く、チャネル機能は喪失型であるため、今回変異が検出された患者は注意深いフォローが必要であり、パッチクランプ法による基礎電気生理学的解析や膜発現解析の必要があると考える。また、同様に複数 SNP を持つか、R1193Q の SNP を持つ患者群に関しても注意深いフォローが必要であり、パッチクランプ法による基礎電気生理学的解析や膜発現解析の必要があると考える。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導ならびにご校閲を賜った岡山大学大学院医歯薬学総合研究科分子遺伝学講座の清水教授ならびに大内田助教授、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科循環器内科学講座の大江教授ならびに草野助教授、中村助手に深甚なる感謝の意を表します。また循環器内科学講座の皆様にも多大なる感謝の意を表します。本研究に御協力して頂いた患者様とその御家族の皆様にも深謝致します。

文 献

- 1) Brugada P and Brugada J : Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death : a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report. *J Am Coll Cardiol* (1992) **20**(6), 1391-1396.
- 2) Furuhashi M, Uno K, Tsuchihashi K, Nagahara D, Hyakukoku M, Ohtomo T, Satoh S, Nishimiya T and Shimamoto K : Prevalence of asymptomatic ST segment elevation in right precordial leads with right bundle branch block (Brugada-type ST shift) among the general Japanese population. *Heart* (2001) **86**(2), 161-166.
- 3) Chen Q, Kirsch GE, Zhang D, Brugada R, Brugada J, Brugada P, Potenza D, Moya A, Borggrefe M, Breithardt G, Ortiz-Lopez R, Wang Z, Antzelevitch C, O'Brien RE, Schulze-Bahr E, Keating MT, Towbin JA and Wang Q : Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* (1998) **392**(6673), 293-296.
- 4) Priori SG, Napolitano C, Gasparini M, Pappone C, Della Bella P, Giordano U, Bloise R, Giustetto C, De Nardis R, Grillo M, Ronchetti E, Faggiano G and Nastoli J : Natural history of Brugada syndrome : insights for risk stratification and management. *Circulation* (2002) **105**(11), 1342-1347.
- 5) Takenaka S, Kusano KF, Hisamatsu K, Nagase S, Nakamura K, Morita H, Matsubara H, Emori T and Ohe T : Relatively benign clinical course in asymptomatic patients with brugada-type electrocardiogram without family history of sudden death. *J Cardiovasc Electrophysiol* (2001) **12**(1), 2-6.
- 6) Wang Q, Li Z, Shen J and Keating MT : Genomic organization of the human SCN5A gene encoding the cardiac sodium channel. *Genomics* (1996) **34**(1), 9-16.
- 7) Ackerman MJ, Splawski I, Makielski JC, Tester DJ, Will ML, Timothy KW, Keating MT, Jones G, Chadha M, Burrow CR, Stephens JC, Xu C, Judson R and Curran ME : Spectrum and prevalence of cardiac sodium channel variants among black, white, Asian, and Hispanic individuals : implications for arrhythmogenic susceptibility and Brugada/long QT syndrome genetic testing. *Heart Rhythm* (2004) **1**(5), 600-607.
- 8) Takahata T, Yasui-Furukori N, Sasaki S, Igarashi T, Okumura K, Munakata A and Tateishi T : Nucleotide changes in the translated region of SCN5A from Japanese patients with Brugada syndrome and control subjects. *Life Sci* (2003) **72**(21), 2391-2399.
- 9) Chen JZ, Xie XD, Wang XX, Tao M, Shang YP and Guo XG : Single nucleotide polymorphisms of the SCN5A gene in Han Chinese and their relation with Brugada syndrome. *Chin Med J (Engl)* (2004) **117**(5), 652-656.
- 10) Aydin A, Bahring S, Dahm S, Guenther UP, Uhlmann R, Busjahn A and Luft FC : Single nucleotide polymorphism map of five long-QT genes. *J Mol Med* (2005) **83**(2), 159-165.
- 11) Wang Q, Shen J, Splawski I, Atkinson D, Li Z, Robinson JL, Moss AJ, Towbin JA and Keating MT : SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell* (1995) **80**(5), 805-811.
- 12) Wattanasirichaigoon D, Vesely MR, Duggal P, Levine JC, Blume ED, Wolff GS, Edwards SB and Beggs AH : Sodium channel abnormalities are infrequent in patients with long QT syndrome : identification of two novel SCN5A mutations. *Am J Med Genet* (1999) **86**(5), 470-476.
- 13) Iwasa H, Itoh T, Nagai R, Nakamura Y and Tanaka T : Twenty single nucleotide polymorphisms (SNPs) and their allelic frequencies in four genes that are responsible for familial long QT syndrome in the Japanese population. *J Hum Genet* (2000) **45**(3), 182-183.
- 14) Yang P, Kanki H, Drolet B, Yang T, Wei J, Viswanathan PC, Hohnloser SH, Shimizu W, Schwartz PJ, Stanton M, Murray KT, Norris K, George AL Jr and Roden DM : Allelic variants in long-QT disease genes in patients with drug-associated torsades de pointes. *Circulation* (2002) **105**(16), 1943-1948.
- 15) Itoh H, Shimizu M, Mabuchi H and Imoto K : Clinical and electrophysiological characteristics of Brugada syndrome caused by a missense mutation in the S5-pore site of SCN5A. *J Cardiovasc Electrophysiol* (2005) **16**(4), 378-383.
- 16) Splawski I, Shen J, Timothy KW, Lehmann MH, Priori S, Robinson JL, Moss AJ, Schwartz PJ, Towbin JA, Vincent GM and Keating MT : Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1 and KCNE2. *Circulation* (2000) **102**(10), 1178-1185.
- 17) Tester DJ, Will ML, Haglund CM and Ackerman MJ : Compendium of cardiac channel mutations in 541 consecutive unrelated patients referred for long QT syndrome genetic testing. *Heart Rhythm* (2005) **2**(5), 507-517.
- 18) Huang H, Zhao J, Barrane FZ, Champagne J and Chahine M : Nav1.5/R1193Q polymorphism is associated with both long QT and Brugada syndromes. *Can J Cardiol* (2006) **22**(4), 309-313.
- 19) Bezzina C, Veldkamp MW, van Den Berg MP, Postma AV, Rook MB, Viersma JW, van Langen IM, Tan-Sindhunata G, Bink-Boelkens MT, van Der Hout AH, Mannens MM and Wilde AA : A single Na(+) channel mutation causing both long-QT and Brugada syndromes. *Circ Res* (1999) **85**(12), 1206-1213.
- 20) Rivolta I, Abriel H, Tateyama M, Liu H, Memmi M, Vardas P, Napolitano C, Priori SG and Kass RS : Inherited Brugada and long QT-3 syndrome mutations of a single residue of the cardiac sodium channel confer distinct channel and clinical phenotypes. *J Biol Chem* (2001) **276**(33), 30623-30630.