

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	土 井 孝 浩
論文題目	A Novel KCNJ2 Nonsense Mutation, S369X, Impedes Trafficking and Causes a Limited Form of Andersen-Tawil Syndrome (KCNJ2 遺伝子の新規変異～S369X～は輸送系を妨げ、Andersen-Tawil 症候群の表現形を限定する)		
(論文内容の要旨)			
<p>Andersen-Tawil 症候群とは、① QT (QU) 延長に基づく心室性不整脈、② 周期性四肢麻痺、③ 形態異常を 3 主徴とすることが知られている。内向き整流性 K⁺チャネル (Kir2.1) をコードする遺伝子 KCNJ2 の変異はこの症候群の原因となっていることが明らかにされ、先天性 QT 延長症候群の 7 型として位置づけられている。</p> <p>12 誘導心電図にて QU 延長および軽い四肢麻痺症状を呈する 13 歳の男児の遺伝子を検索した結果、KCNJ2 の変異である S369X を新規に発見した。</p> <p>この変異によって Kir2.1 チャネルは、細胞質内 C 末端側の中央部分において末端が欠損している形となる。その欠損部位には、小胞体からゴルジ体へ輸送されるためのシグナルが含まれていることが報告されているが、これまで自然発症例の報告はない。</p> <p>この変異について、まずパッチクランプ法にて検証した。CHO 細胞に変異 S369X を発現させると、野生型の発現と比較して有意に小さい K⁺電流が記録された (-84±14 pA/pF vs. -542±46 pA/pF, 各 1 μg, -140 mV; p<0.0001)。しかしながら変異 S369X と野生型を共導入したところ、ドミナントネガティブ効果は示さず、むしろおのおの電流の単純和よりも大きい電流を示した (-724±98 pA/pF > -[84+542] pA/pF, 各 1 μg, -140 mV)。変異体と野生型の間で直接作用があることが示唆された。</p> <p>次に共焦点顕微鏡にて Kir2.1 チャネルの細胞内での動向を検証した。蛍光タンパクでラベルした S369X 変異体サブユニットは細胞膜への輸送は見られず、主に小胞体の内部にとどまっていた。ところが、野生型チャネルを共発現させると、細胞内の局在が細胞膜への部分的な輸送系の回復が示された。</p> <p>最後に FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer; 蛍光共鳴エネルギー移動) 効果を用いてチャネルタンパク同士の直接的な相互効果を検証した。変異体・野生型をそれぞれ別々の蛍光タンパクでラベルして COS7 細胞に共発現させたところ、有意な FRET 効果をもとめた。このことから、それぞれのチャネルタンパクが近接して存在することが示された。</p> <p>以上から、S369X 変異は小胞体からの輸送シグナルが欠損しているものの、野生型サブユニットと直接チャネルを形成することにより、細胞内輸送系の障害が部分的に改善され、結果として一部の変異チャネルタンパクも細胞膜へと輸送され、チャネルとしての機能を果たすと考えられる。このことから、本症例がなぜ Andersen-Tawil 症候群の比較的軽い症状を呈していたかの説明となり得る。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

Andersen-Tawil 症候群 (ATS) は、内向き整流性 K⁺チャネル (Kir2.1) をコードする遺伝子 KCNJ2 の変異との関連が明らかにされ、先天性 QT 延長症候群の 7 型に分類される。

12 誘導心電図にて QU 延長および軽い四肢麻痺症状を呈する 13 歳男児に KCNJ2 の新規変異である S369X を認めた。この変異によって Kir2.1 チャネルは、細胞質内 C 末端側の中央部分において末端が欠損する。同部位には小胞体からゴルジ体へ輸送されるためのシグナルが含まれていることが報告されている。この変異について、①パッチクランプ法 ②共焦点顕微鏡 ③FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer; 蛍光共鳴エネルギー移動)にて検証した結果、次の通りとなった。①変異チャネル (MT) 単独では野生型 (WT) と比較して K⁺電流は有意に小さいが、両者を共発現したところドミナントネガティブ効果は示さず、むしろ大きい電流を示した。②MT は細胞膜への輸送は見られず、主に小胞体内部にとどまる一方、WT を共発現させると、細胞膜への分布も示された。③両者の共発現で有意な FRET 効果をもとめ、両チャネルタンパクが近接して存在することが示された。以上より、S369X 変異では共量体を形成して機能異常が緩和されることから、本症例の ATS としての症状が比較的軽症となる説明となる。

以上の研究は遺伝子 KCNJ2 の変異 (S369X) に起因する機能異常の解明に貢献し、Andersen-Tawil 症候群の病態解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 23 年 6 月 15 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降