TITLE:

Kcna1-mutant rats dominantly display myokymia, neuromyotonia and spontaneous epileptic seizures(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ishida, Saeko

CITATION:

Ishida, Saeko. Kcna1-mutant rats dominantly display myokymia, neuromyotonia and spontaneous epileptic seizures. 京都大学, 2012, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2012-03-26

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/157442>

RIGHT:

京都大学	博士（医 学）	氏 名	石 田 紗 恵 子
論文題目	<i>Kcna1</i> -mutant rats dominantly display myokymia, neuromyotonia and spontaneous epileptic seizures （ミオキミア、ニューロミオトニア、自発性てんかん様発作を優性で示す <i>Kcna1</i> 変異ラット）		
（論文内容の要旨）			
<p>Episodic ataxia type1 (EA1) は、常染色体優性に小脳性の運動失調と筋の不随意運動であるミオキミアを示す神経疾患である。また、EA1 患者は高いてんかん発症率を示す。原因遺伝子として電位依存性カリウムチャネル遺伝子 (<i>KCNA1</i>) が同定され、これまで 20 種類以上の点突然変異が報告されている。EA1 患者の症状は多様で、同じ変異を持つ家族内においても症状が異なることから、遺伝要因に加えて環境要因の関与が示唆されている。従って EA1 の病態発症機構解明には、遺伝要因と環境要因を制御することができるモデル動物が有用である。化学変異原エチルニトロソウレア (ENU) は、ゲノム DNA に人為的に点突然変異を起こすため、変異動物を開発するツールとして広く利用されている。本研究では、ENU ミュータジェネシスにより作製した F344 系統由来 G1 ラットにおいて、神経症状の順遺伝学的スクリーニングにより、常染色体優性にミオキミア、ニューロミオトニア、自発性てんかん様発作を示す Autosomal-dominant myokymia and seizures (ADMS) ラットを作製した。</p> <p>ADMS ラットは 6 週齢時より筋の不随意的単収縮 (twitching)、10 週齢時より自発性のてんかん様発作を示す。筋電図測定の結果、twitching 時の棘波に加えて、ヒトのミオキミアに認められる周期的な棘波が確認された。てんかん様発作時の皮質及び海馬の脳波測定の結果、多棘複合及び多棘徐波複合波形の異常脳波が検出された。これらの神経症状は、抗てんかん薬カルバマゼピンの投与により有意に緩和された。BN 系統との戻し交雑子群における遺伝解析の結果、第 4 染色体上の 1.6Mb 候補領域内に位置する <i>Kcna1</i> 遺伝子にミスセンス変異 T925A (S309T) を同定した。S309T 変異は膜電位センサーS4 セグメント上に位置しており、その残基は他の生物種及び他のカリウムチャネルにおいて保存されていた。S309T ホモ個体は、生後 14 日齢から急激な体重減少、振戦、運動失調、後肢の伸長、てんかん様発作を示し、全ての個体が 18 日齢迄に死亡した。さらに、5 週齢の ADMS ラットにおいて 17℃2 分間の冷水刺激により、振戦、運動失調、てんかん様発作が誘発された。アフリカツメガエル卵母細胞及び HEK 細胞を用いた電気生理学的解析の結果、S309T 変異型 Kv1.1 は細胞膜に輸送されるが、電流応答が認められなかった。野生型と変異型を同量発現させた細胞では、電流応答が顕著に低下し、S309T 変異型 Kv1.1 によるドミナントネガティブな影響が観察された。</p> <p><i>Kcna1</i> ノックアウトマウスは、劣性で自発性のてんかん様発作を示し、冷水刺激により運動失調、振戦を示すが、KCNA1 の完全欠失は EA1 で報告されていない。また、ヒト EA1 の V408A を導入したノックインマウスは、イソプロテレノールの投与により運動失調症状を呈するが、自発的な神経症状は示さない。ADMS ラットは、EA1 患者と同様に優性で自発的に中枢および抹消の神経症状を示す点で、これら <i>Kcna1</i> 変異マウスとは異なる。これは、電流応答機能を欠失した変異型 Kv1.1 が細胞膜上で発現することにより、ドミナントネガティブにカリウムチャネル機能を低下させることが一因であると考えられた。さらに BN との戻し交雑子において神経症状発症の遅延が認められ、修飾遺伝子の存在が示唆された。ADMS ラットは、新たな EA1 モデル動物として、EA1 発症機序の解明研究や新薬開発研究に貢献すると期待する。</p>			

(論文審査の結果の要旨) Episodic ataxia type1 (EA1) は、常染色体優性に運動失調と筋波動症を示す神経疾患であり、患者のてんかん発症率が高い。原因遺伝子として電位依存性カリウムチャンネル遺伝子 (<i>KCNA1</i>) が同定されているが、EA1 の病態発症機序の解明には、新たな疾患モデル動物の開発が求められる。 ENU ミュータジェネシスにより、筋の単収縮とてんかん様発作の神経症状を示すラット系統 Autosomal-dominant myokymia and seizures (ADMS) が作製された。筋電図測定の結果、筋の単収縮時の棘波に加えて、筋波動症に認められる周期的な棘波が確認された。脳波測定の結果、多棘複合及び多棘徐波複合波形の異常脳波が検出された。これらの神経症状は、カルバマゼピンの投与により緩和された。遺伝解析の結果、 <i>Kcna1</i> 遺伝子に S309T ミスセンス変異が同定された。電気生理学的解析により、変異型 Kv1.1 は電流応答を顕著に低下させ、ドミナントネガティブにチャンネル機能を低下させることが示された。ADMS ラットは、EA1 の多様な病態を示す新たなモデルであることが明らかにされた。 以上の研究は、 <i>KCNA1</i> 変異が様々な神経症状発症に関与することを動物モデルにより証明したもので、今後の EA1 発症機序の解明研究や新薬開発研究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24年2月17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			