

京都大学	博士 ( 医 科 学 )	氏 名	西 谷 あ い
論文題目	Loss of HCN1 subunits causes absence epilepsy in rats (HCN1 チャネルの欠損は、ラットで欠神てんかんを引き起こす)		
(論文内容の要旨)			
<p>Hyperpolarized-activated cyclic nucleotide-gated チャネル 1 (HCN1) は、HCN チャネルのサブユニットである。過分極で活性化し、陽イオンの内向き電流(<math>I_h</math>)を生成する。HCN1 は、神経系において、大脳皮質、海馬や脳幹に発現している。HCN1 チャネルは神経細胞において、静止膜電位で開き、静止膜電位の設定や安定に寄与する。また、膜の過分極と脱分極を中和させる負のフィードバックとしても働く。つまり、HCN1 チャネルは抑制性または興奮性の入力による膜電位の変化を弱め、膜電位を安定化させる。</p> <p>欠神発作は、てんかん発作の一つで、突然の意識消失と行動停止が見られる。特徴として、棘徐波複合(SWD)と呼ばれる異常な脳波が挙げられる。</p> <p>欠神発作モデルラットの解析から、欠神発作と HCN1 との関連が認められた。例えば、WAG/Rij ラットの大脳皮質では、HCN1 の発現が減少しており、HCN1 の欠損が欠神発作を引き起こす可能性が考えられた。しかし、GAERS ラットの視床下部では、逆に HCN1 の発現が増加している。また、<i>Hcn1</i> ノックアウトマウスでは、欠神発作は見られていない。したがって、HCN1 の欠損が欠神発作の原因か否かは明らかになっていない。</p> <p>本研究では、HCN1 の欠損が欠神発作を引き起こすかを確認するために、遺伝子改変技術の TALEN 法を用いて、<i>Hcn1</i> ノックアウトラットを作製した。</p> <p>【材料と方法】電気生理学：パッチクランプ法により、18-19 週齢の雄 <i>Hcn1</i> ノックアウトラットとコントロールの F344/NSIc ラットを用いて、大脳皮質と海馬の錐体細胞で、<math>I_h</math> や静止膜電位、膜の入力抵抗を測定した。けいれん誘発剤の投与：30、40、50 mg/kg のペンチレンテトラゾール (PTZ) を 10 週齢の雄 <i>Hcn1</i> ノックアウトラットと F344/NSIc に投与し、誘発された発作をスコア化した。脳波測定：10~25 週齢の雄 <i>Hcn1</i> ノックアウトラットの大脳皮質と海馬に電極を挿入し、脳波を測定した。次に、フェニトイン (強直間代性発作治療薬) とエトスクシミド (欠神発作治療薬) を投与し、異常な脳波が抑制されるか確かめた。</p> <p>【結果】パッチクランプ法の測定結果から、<i>Hcn1</i> ノックアウトラットは F344/NSIc と比べて、<math>I_h</math> が減少していた。そして、静止膜電位が過分極し、膜の入力抵抗は増加していた。よって、<i>Hcn1</i> ノックアウトラットでは、HCN1 の機能が欠損していると判断した。PTZ の投与では、<i>Hcn1</i> ノックアウトラットの方が、低濃度で致死に至り、PTZ によるけいれんに対し高感受性を示した。脳波測定では、<i>Hcn1</i> ノックアウトラットにおいて、SWD とそれに伴う行動停止が見られた。この症状はエトスクシミドにより抑制された。よって、ヒトの欠神発作と類似した症状が見られた。</p> <p>【まとめ】 本研究から、HCN1 の欠損は、ラットで欠神発作を引き起こすと結論した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

Hyperpolarized-activated cyclic nucleotide-gated チャネル 1 (HCN1) は、過分極で活性化し、陽イオンの内向き電流( $I_h$ )を生成する HCN チャネルのサブユニットである。欠神発作はてんかん発作の一つで、突然の意識消失と行動停止が見られ、棘徐波複合(SWD)と呼ばれる異常な脳波が特徴的に観察される。これまでの欠神発作モデルラットの解析やヒトの HCN1 遺伝子の変異から、欠神発作と HCN1 との関連が示唆されたが、*Hcn1* 欠損マウスでは欠神発作は見られていない。本研究では、HCN1 の欠損が欠神発作を引き起こすことを確かめるために、遺伝子改変技術の TALEN 法を用いて *Hcn1* 欠損ラットを作製した。

大脳皮質と海馬でのパッチクランプ法の結果から、*Hcn1* 欠損ラットはコントロールと比べて、 $I_h$  が減少して膜の入力抵抗が増加し、静止膜電位が過分極になっていた。よって、このラットでは、HCN1 の機能が欠損していると判断された。けいれん発作を誘発する PTZ の投与では、*Hcn1* 欠損ラットの方が低濃度で致死に至り、PTZ によるけいれんに対し高感受性を示した。脳波測定では SWD とそれに伴う行動停止が見られ、ヒトの欠神発作治療薬のエトスクシミドにより SWD が抑制された。以上より、HCN1 の欠損は、ラットにおいてヒトに類似の欠神様発作を引き起こすことが明らかとなった。

以上の研究は欠神てんかんの原因解明に貢献し、てんかん研究に寄与するところが大きい。したがって、本論文は博士 (医科学) 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 31 年 1 月 21 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