

氏 名	郷 ま ひろ し
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2996 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学位論文題目	WTC deafness Kyoto (<i>dfk</i>): a rat model for extensive investigations of <i>Kcnq1</i> functions (WTC deafness Kyoto (<i>dfk</i>): <i>Kcnq1</i> 機能の広範な研究のためのラットモデル) (主 査)
論文調査委員	教 授 大 森 治 紀 教 授 伊 藤 壽 一 教 授 高 橋 良 輔

論 文 内 容 の 要 旨

Kcnq1 遺伝子は K^+ チャネルの α サブユニットを構成する KCNQ1 をコードする遺伝子である。KCNQ1 は機能調節因子である β サブユニット KCNE ファミリーと会合することで生体内でチャネルとして機能している。心臓では KCNQ1 チャネルは、心筋の活動電位の再分極側で遅延整流性の外向き電流を発生させていることが知られている。内耳、胃、および結腸と小腸では KCNQ1 チャネルは、それぞれ細胞外への K^+ イオンの供給を行っていると考えられている。この *Kcnq1* 遺伝子の変異により、ヒトでは致死性不整脈の危険因子として知られている QT 延長症候群が引き起こされることが明らかになっている。QT 延長症候群に限らず、*Kcnq1* 遺伝子関連疾患の病態発症機構の解明と治療法の開発には、疾患モデルとして利用可能な *Kcnq1* 変異モデル動物が不可欠である。本研究では WTC deafness Kyoto (*dfk*) ラットと名付けられたコアイソジェニックラットの原因遺伝子の同定と表現型の解析を行った。

WTC-*dfk* ラットは音刺激に対する反応の欠如、また旋回運動、後ずさりなどの行動異常を示す自然発症突然変異ラットとして見出された。WTC-*dfk* ラットの原因遺伝子 (*dfk*) を同定するため、(WTC-*dfk*×ACI)F₂ 交雑子を1002匹作製した。*dfk* は連鎖解析により第1染色体上の0.8cMの範囲にマッピングされた。*dfk* 遺伝子座領域には4つの遺伝子の存在が確認された。*Kcnq1* ノックアウトマウスは旋回運動と難聴を示すことが報告されていることから、その4つの遺伝子から *Kcnq1* を *dfk* の候補遺伝子と考え、WTC-*dfk* ラットと WTC の *Kcnq1* 遺伝子の塩基配列を比較した。その結果、WTC-*dfk* ラットの *Kcnq1* 遺伝子はエクソン7を含む2040bpを欠失していることが明らかとなった。この欠失領域はイオンの通過するポア領域を含んでいることから、WTC-*dfk* ラットの KCNQ1 は機能を喪失していると考えられた。

WTC-*dfk* ラットは聴性脳幹反応の結果、難聴であることが示され、また組織学的検査より、内耳構造の崩壊が観察された。この難聴は、KCNQ1 の変異により生じた内耳の内リンパ液中への K^+ イオンの供給不全による内耳構造の崩壊に起因すると考えられた。また心電図検査では、ヒトと同様に QT 間隔の延長が認められた。胃液分析では pH がほぼ中性を示し、無胃酸症であることが明らかになった。また胃の病理組織学的検査では、胃腺部において細胞の過形成が認められた。この症状は H^+ インヒビターを投与した際の症状に酷似していた。その他、WTC-*dfk* ラットにおいて低体重と高血圧が認められた。低体重は、主な行動異常である旋回運動に基づく運動量の増加が要因として考えられた。また、この高血圧の発症機構については未解明であるが、その一因として *Kcnq1* 遺伝子は腎臓でも発現していることから腎機能の異常に関連している可能性が考えられた。

WTC-*dfk* ラットは WTC と変異部分のみが異なるコアイソジェニックの関係にあり、遺伝的背景は同一であるので、両者の表現型の違いは *Kcnq1* 遺伝子の変異に起因すると考えられる。さらにラットはマウスに比較してサイズが大きく、生体試料の採取や実験処置が容易であるので、WTC-*dfk* ラットは KCNQ1 の諸機能を解明する上で、また KCNQ1 関連疾患の病態発症機構の解明と治療法を開発する上で有用なモデル動物になると思われる。

論文審査の結果の要旨

申請者は音刺激に対する無反応性や行動異常を特徴とする自然発症ミュータントラット：WTC deafness Kyoto (*dfk*) ラットの原因遺伝子の同定と生理学および組織学的な特徴について解析した。原因遺伝子同定のために(WTC-*dfk*×ACI)F₂交雑子を作製し、連鎖解析により原因遺伝子を第1染色体上の0.8cMの範囲にマッピングした。候補遺伝子である *Kcnq1* の塩基配列を決定し、WTC-*dfk* ラットは *Kcnq1* のエクソン7を欠失していることを明らかにした。

Kcnq1 の発現している内耳について聴性脳幹反応と病理組織学的な検査を行い、WTC-*dfk* ラットは難聴を呈していること、またそれは内耳構造の崩壊に起因することを明らかにした。またヒトで *Kcnq1* の変異による疾患としてQT延長症候群が知られていることから、WTC-*dfk* ラットで心電図検査を行なったところ、WTC-*dfk* ラットのQT間隔も延長していたことを示した。*Kcnq1* は胃腺部で発現していることからWTC-*dfk* ラットの胃液分析と胃の病理組織学的な検査を行なったところ、KCNQ1の変異によると考えられる無胃酸症と胃腺部に細胞の過形成を認めた。さらにWTC-*dfk* ラットは低体重であること、また高血圧であることを明らかにした。

以上の研究は、KCNQ1の機能解明、関連疾患の病態解明および今後、新規薬剤開発に貢献するところが多い。

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18年2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。