

氏 名	く ぼ た と も ゆ き 久 保 田 友 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2457 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 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 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Evidence for a Single Nucleotide Polymorphism in the KCNQ1 Potassium Channel that Underlies Susceptibility to Life-Threatening Arrhythmias. (致死性不整脈に対する遺伝的素因としての KCNQ1 カリウムチャネルの単塩基遺伝子多型に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 間 昭 典 教 授 米 田 正 始 教 授 千 葉 勉

論 文 内 容 の 要 旨

先天性 QT 延長症候群 (long QT syndrome, 以下 LQTS) は、心電図上の QT 時間の延長と反復する失神・痙攣発作や突然死を臨床的特徴とする遺伝性の不整脈疾患である。その原因として、心臓の活動電位持続時間を調節する心筋のイオンチャネルをコードする少なくとも 5 つの遺伝子 (*KCNQ1*, *HERG*, *SCN5A*, *KCNE1*, *KCNE2*) の変異によって引き起こされることが近年明らかにされている。

他方、後天性 LQTS は、一般には抗不整脈薬などの薬剤や低カリウム血症などの電解質異常によって誘発されることが多い。しかし、最近では後天性 LQTS においても、その病態発現に何らかの遺伝的素因が関与する症例が報告されてきており、さらに、LQTS 関連遺伝子の遺伝子多型が、その保因者の不整脈感受性や疾患の表現型に影響を与えている可能性が提唱されてきた。

本研究では、95名の LQTS 患者について、被験者の血液の白血球から抽出したゲノム DNA に対して、PCR/SSCP 法と DNA 配列直接分析法を用いて既知の LQTS 関連遺伝子の遺伝子変異や遺伝子多型を検索した。その結果 6 名の LQTS 患者において、緩徐活性化型遅延整流性 K^+ 電流 (I_{Ks}) を形成するイオンチャネルの α -サブユニットである *KCNQ1* に同一の単塩基遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism, 以下 SNP) が同定された。しかし、いずれの症例においても、それ以外の遺伝子変異は発見されなかった。これら 6 名の患者の臨床的特徴を検討すると、発端者はいずれも女性で、失神や突然死の家族歴がなく、発症年齢が比較的高く、その心イベントが主に低カリウム血症や徐脈性不整脈を契機として顕在化するような軽症例が多いことが注目された。そして、我々のコントロール被験者の 11% にもその存在が認められたものの、この SNP は *KCNQ1* 蛋白の C 末端近傍の 643 番目のアミノ酸をグリシンからセリンに置換するミスセンス変異を引き起こすことから、その変異の惹起する *KCNQ1* チャネルの機能的影響と催不整脈性に対する潜在的寄与が考慮された。

この仮説を検証するため、野性型 *KCNQ1* の cDNA にこの SNP を導入して変異型 *KCNQ1*cDNA を作製し、哺乳類培養細胞 (COS7) に各々を単独あるいは I_{Ks} チャネルの β -サブユニットである *KCNE1* と共発現させてチャネルを再構築した。その上で、通常的全細胞型パッチクランプ法を用いてこの SNP の *KCNQ1* チャネルに対する機能的影響についてインビトロで検討した。その結果、まず各々を単独で発現させた場合、変異型 *KCNQ1* チャネルは野性型と類似のカリウム電流を形成したがその電流密度が約 1/3 に減少していた。そして、野性型 *KCNQ1* と変異型 *KCNQ1* を 1 : 1 の割合で *KCNE1* と共発現させた場合には、野性型 I_{Ks} チャネルと比べて、+30mV での電流密度で約 30% の有意な減少を認めたが、脱活性化の加速化以外にチャネルの電気生理学的特性については有意な変化は認められなかった。これらの結果は、この SNP が、先天性 LQTS でこれまでに報告されてきた他の多くのミスセンス変異と同様に電流抑制効果を引き起こすけれども、その程度は比較的軽度であり、 I_{Ks} チャネルの機能異常の基礎となる潜在的な“危険因子”であることを示した。

以上のように、本研究は、心臓のイオンチャネルの SNP が、致死性不整脈に対する遺伝的素因となりうることを実証し、

また、無症状の保因者の催不整脈性リスク管理を考える上で、遺伝子スクリーニングの可能性を示唆している。

論文審査の結果の要旨

先天性 QT 延長症候群 (LQTS) は、心筋のイオンチャネルの遺伝子変異によって引き起こされるが、2 次性 LQTS においてもその病態発現に何らかの遺伝的素因が関与することが示唆されている。そこで申請者は、*KCNQ1* 遺伝子の単塩基遺伝子多型と不整脈感受性との関連性について検討した。

95 名の LQTS 患者の遺伝子スクリーニングの結果、6 名において *KCNQ1* の 643 番目のアミノ酸をグリシンからセリンに置換するミスセンス変異を起こす単塩基遺伝子多型 (SNP) を唯一同定したが、その臨床的特徴として、その多くが低カリウム血症や徐脈性不整脈を誘因として顕在化した 2 次性 LQTS であることが判明した。

この SNP の *KCNQ1* チャネルに対する機能的影響を電気生理学的に検討した結果、変異型 *KCNQ1* チャネルは野性型チャネルと類似の機能的チャネルを形成したが、その電流密度を有意に減少させた。また、変異型と野性型の *KCNQ1* を 1 : 1 の割合で *KCNE1* と共発現させた変異型 I_{Ks} チャネルは、野性型チャネルと比べて電流密度の減少は約 30% と比較的軽度で、他の電気生理学的特性についても大きな変化は認められなかった。

以上により、この SNP が、 I_{Ks} チャネルの潜在的機能異常を惹起する遺伝性の危険因子である可能性が示唆された。

以上の研究は、2 次性 LQTS の病態の解明に貢献し循環器病学の発展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 14 年 1 月 23 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。