

氏 名	や は 八 幡 兼 成
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2600 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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	Identification of a novel R642C mutation in Na/Cl cotransporter with Gitelman's syndrome. (ギッテルマン症候群における Na/Cl 共輸送体の新規 R642C 変異の同定)
論文調査委員	(主 査) 教 授 清 水 章 教 授 清 野 裕 教 授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

Gitelman 症候群は Bartter 症候群の亜型であり、低カリウム血症、代謝性アルカローシス、低マグネシウム血症、低カルシウム尿症に特徴づけられる。多くの家系では常染色体劣性の遺伝様式をとるが、一部の家系では常染色体優性も見られる。これまで、Gitelman 症候群で見られる電解質異常は遠位ネフロンでの NaCl の再吸収障害が原因である可能性が示唆されてきた。また、Gitelman 症候群の症状はサイアザイド利尿薬服用時の症状と酷似していることから、遠位尿細管における Na/Cl 共輸送体の機能欠損が原因である可能性が想定されていた。サイアザイド感受性 Na/Cl 共輸送体 (TSC) は 12 回膜貫通型で、哺乳類では腎皮質に発現し、サイアザイド利尿薬の作用部位である遠位尿細管の管腔側に限局している。近年、遺伝子連鎖解析により第 16 染色体の TSC の遺伝子座と Gitelman 症候群との強い連鎖が示された。本研究では、臨床的に Gitelman 症候群と診断された 3 症例での遺伝子異常について検討を行った。

22 歳女性、37 歳女性、25 歳男性の 3 症例は、いずれも低カリウム血症、低マグネシウム血症、低カルシウム尿症を呈し、また低張食塩水負荷でのクリアランス試験において遠位ネフロンでの Cl 再吸収率の低下、水フロセミド負荷時の正常利尿反応から、臨床的に Gitelman 症候群と診断した。そこで、この 3 症例及び 22 歳女性症例の両親、兄の白血球より DNA の抽出を行い、それをテンプレートにして TSC の 26 個の各エクソンごとにプライマーを作製し、PCR を施行した。その PCR 産物の塩基配列を、ダイレクトシーケンス法にて決定した。

22 歳女性症例では、エクソン 15 に位置する 1930 番目の塩基においてシトシンからチミンへの変異を認めた。このミスセンス変異により、C 端細胞内領域に位置する 642 番目のアミノ酸がアルギニンからシステインに変化した (R642C)。この変異により制限酵素の *Msp* I の site が消失するため、本症例の家系について RFLP 法により検討を行った。本症例ではホモ接合体、兄は野生型、父と母はヘテロ接合体であった。正常コントロール 47 例でも同様に検討を行ったところ、全例で野生型であった。この R642C 遺伝子変異は、これまでの複数の報告と同様に C 端細胞内領域に位置し、またアミノ酸置換による立体構造の変化も予想されることより、この共輸送体の活性に重要な役割を果たしている部位である可能性が考えられた。その他エクソン 2、エクソン 7 に変異が認められたが、いずれもアミノ酸置換を伴わなかった。以上より、本症例の R642C 遺伝子変異は、常染色体劣性遺伝を遺伝様式とする Gitelman 症候群の責任変異であると思われる。37 歳女性症例では、エクソン 25 に位置する 2897 番目の塩基が、報告されている cDNA ではグアニンのみであるのに対しグアニンまたはアデニンのヘテロ接合体を示していた。このミスセンス変異により 955 番目のアミノ酸がアルギニンからグルタミンに変化した。この変異はすでに報告されている日本人の症例での変異と同一のもだったが、その症例はホモ接合体であり、ヘテロ接合体である母では発症していなかったため、本症例の責任変異である可能性は低いと考えられた。25 歳男性症例ではエクソン 7 に変異が認められたが、アミノ酸置換を伴わなかった。TSC の責任変異が明らかでない 37 歳女性症例、25 歳男性症例については、プロモーター領域における変異の可能性を含め、さらなる検討が必要と考えられた。

本研究により、TSC における R642C 変異が、TSC の構造活性相関におけるこの部位を含む C 端細胞内領域の重要性が

ら判断し、Gitelman 症候群の病因となる新規の変異であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

Gitelman 症候群は Bartter 症候群の亜型であり、遠位尿細管のサイアザイド感受性 Na/Cl 共輸送体 (TSC) の遺伝子異常に基づく機能欠損が原因と想定される遺伝性疾患である。これまでの TSC 遺伝子解析の結果、多種類の変異が報告されているが、遺伝様式は主に常染色体劣性遺伝である。本研究では、臨床的に Gitelman 症候群と診断された 3 症例で TSC 遺伝子異常の有無について検討した。

22歳女性症例は、エクソン15に位置する1930番目の塩基においてシトシンからチミンへの変異が認められるホモ接合体であった。このミスセンス変異は新規の変異であり、642番目のアミノ酸がアルギニンからシステインに変化した (R642C)。本症例の両親は R642C のヘテロ接合体であったが、臨床所見は正常であり、本例の遺伝様式は常染色体劣性遺伝であった。正常対照47例での検討では全例で野生型であった。この新規の変異である R642C 遺伝子変異は、TSC の活性に重要と考えられる C 末端細胞内領域に位置し、アミノ酸変化による立体構造の変化が予想されること並びにこのドメインに変異を有する複数の症例が報告されていることより、本症例の R642C 変異は Gitelman 症候群の責任変異であると推定された。他の 2 症例では TSC 遺伝子の責任変異が明らかでなかったが、これらについてはプロモーター領域の変異の可能性を含め、さらなる検討が必要と考えられた。

以上の研究は、Gitelman 症候群の成因の理解と遺伝子診断への応用に寄与するところが多い。従って本論文は博士 (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15年 2 月20日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。