

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	長谷川 奏恵
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第601号
学位授与の日付	平成26年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	A Novel <i>KCNQ1</i> Missense Mutation Identified in a Patient with Juvenile-Onset Atrial Fibrillation Causes Constitutively Open <i>IKs</i> Channels (若年性心房細動患者に同定された新たな <i>KCNQ1</i> ミスセンス変異は <i>IKs</i> チャネルを持続的に開口させる)
論文審査委員	主査 教授 日比野 浩 副査 教授 小野寺 理 副査 教授 南野 徹

### 博士論文の要旨

#### 1. 背景と目的

心房細動 (atrial fibrillation: AF) は、有病率の高い不整脈疾患の一つであり、心原性脳塞栓症による死亡原因となる。心房細動の危険因子として、加齢、男性、器質的心疾患、高血圧、肥満、糖尿病、甲状腺機能亢進症などが挙げられ、原因となる疾患を合併していない心房細動患者群は 'lone AF' と呼ばれる。この lone AF 群では遺伝的素因の関与も報告されており、一部の心房細動患者では、イオンチャネルなどの構成蛋白をコードする遺伝子に変異が同定されている。2003年に Chen らは、家族性心房細動家系に心臓カリウムチャネルを構成する *KCNQ1* 遺伝子 (遅延整流性電位依存性カリウムチャネル・サブユニット) の S140G 変異を同定し、その変異チャネルは外向きカリウム電流を増加させた。現在までに7つの *KCNQ1* 変異が心房細動との関連で報告され、その中の5つは若年性心房細動患者に同定されている。さらに、そのうち3つの変異 (S140G, R231C, R231H) は QT 延長症候群との関連も示唆されている。*KCNQ1* 以外のイオンチャネル遺伝子として、*SCN5A*, *KCNJ2*, *KCNA5* などの変異が心房細動との関連で報告されている。興味深いことに、これらイオンチャネルの機能変化は、慢性心房細動での電気生理的リモデリング変化に類似しており、心房細動の遺伝的背景が及ぼす分子メカニズムの解明は、多くの心房細動患者に対する治療の発展につながると考えられる。本研究では、若年発症心房細動の遺伝的要因を明らかにし、遺伝子変異による心房細動発症メカニズムを検討した。

#### 2. 方法

50歳未満発症の心房細動患者30名に対しインフォームドコンセントを得た上で、*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1-3*, *KCNE5*, *KCNJ2* の遺伝子検索を行った。発端者に変異が同定された場合、その家族についても同一変異の有無を確認した。同定された新規変異について、ホールセルパッチクランプ法とコンピュータシミュレーションを用いて機能解析を行った。

#### 3. 結果

30名の若年性心房細動患者のうち、3名(10%)に3つのヘテロ変異(SCN5A-M1875T, KCNJ2-M301K, KCNQ1-G229D)を同定した。今回、16歳男児に同定された新規の変異KCNQ1-G229Dに着目した。患者は16歳時に動悸を自覚し、lone AFと診断された。薬剤抵抗性だったが、心筋焼灼術による肺静脈隔離後、20ヶ月間再発はなかった。安静時洞調律時心電図では、QT延長を認めなかった。家族に心房細動罹患者はなく、同一変異を持つ母親のQT間隔はQT延長の境界領域であった(QT/QTc 460/468 ms)。

KCNQ1チャンネルとKCNE1チャンネルをChinese ovary cellsに共発現させ、ホールセルパッチクランプ法を用いて遅延整流性電位依存性カリウム電流(I<sub>Ks</sub>)を測定した。ホモ変異チャンネルの発現では、即時的活性化と-50mVのテスト電圧でも脱活性化しない電流を得た。ヘテロ変異チャンネルからは、即時的成分と時間依存性成分をもつ活性化電流を得た。さらに、ヘテロ変異の電流は野生型よりも遅い脱活性化を示した。ヘテロ変異の電流は、-130mVから-40mVのテスト電圧では野生型よりも大きく、20mVから50mVでは野生型よりも小さかった。ヘテロ変異チャンネル電流の活性化曲線は、野生型と比較して35.2mV左方偏位しており、同じテスト電圧でも電流量が増加することを明らかにした。

次に、パッチクランプ法により得られたデータをヒト心房筋細胞とヒト心室筋細胞、さらに心室筋組織の1ドメインモデルを用いてコンピュータシミュレーションを行った。ヘテロ変異のI<sub>Ks</sub>は、心室筋および心房筋細胞モデルの両方で、野生型よりも大きかった。しかし、心房筋と心室筋の活動電位形成におけるI<sub>Ks</sub>の寄与の違いのため、活動電位持続時間は心房筋細胞モデルでのみ著明に短縮した。さらに、1 Hz刺激下での1ドメインモデルによるQT間隔は短縮しなかった。

#### 4. 考察

若年性心房細動患者に同定された新規KCNQ1-G229D変異は、既報の若年性心房細動とQT延長合併に関連したKCNQ1変異(R231C, R231H)に、機能獲得変異という点で類似していた。KCNQ1チャンネルの構造で、S140, E160, R231, R237は互いに近接しており、どれか一つのアミノ酸が置換されてもチャンネルが開閉状態に固定され、それが心房細動を導く可能性を示唆する報告がある。つまり、これらのアミノ酸側鎖は、KCNQ1チャンネルが閉じる際の非常に重要な部位であることを意味し、R231に近い位置にあるG229との関連も考えられる。今回申請者らは、パッチクランプ法の機能解析に加えて、1ドメインモデルのコンピュータシミュレーションを行うことで、KCNQ1-G229D変異は、心室筋活動電位持続時間に影響を与えずに心房筋活動電位持続時間のみ短縮させることを初めて再現し得た。

#### 5. 結論

若年性心房細動患者に新規KCNQ1-G229D変異を同定した。変異チャンネルは、I<sub>Ks</sub>の機能獲得型変異であり、コンピュータシミュレーションでは、QT間隔への影響を与えず、心房筋の活動電位持続時間を短縮させた。このような変化から心房の不応期が短縮し、心房細動への感受性を高めることが示唆された。

#### 審査結果の要旨

若年性心房細動患者や家族性心房細動患者では遺伝的素因の関与が知られており、近年イオンチャンネルなどの蛋白をコードする遺伝子の変異が示されている。そこで今回、50歳未満発症の心房細動患者30名に対し、KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1-3, KCNE5, KCNJ2の遺伝子検索を行ったところ、新規KCNQ1-G229D変異を16歳男児に同定した。同定された変異チャンネルの機能について、ホールセルパッチクランプ法で機能解析を行った。ヘテロ変異チャンネルからの遅延整流性カリウム電流は、野生型と比較して、即時的な活性化と遅い脱活性化を示し、さらに、活性化曲線は、35.2 mV左方偏位し、電位依存性の低下を示した。変異チャンネルは、低電位で開口し、その状態を維持する機能獲得変異であった。さらに、ヒト心筋モデル

を用いたコンピュータシミュレーションでは、心房筋での活動電位持続時間を著明に短縮することを明らかにした。この変化は、心房の不応期を短縮し、心房細動への受攻性を高めることが示唆された。

本研究は、臨床上、重要な心房細動の原因遺伝子異常と病態生理の一端を新たに解明したため、効果的な治療法の開発につながる可能性がある。この点に学位論文としての価値があると判定した。