



Title	NEW MUTATION OF THE Na CHANNEL IN THE SEVERE FORM OF POTASSIUM-AGGRAVATED MYOTONIA
Author(s)	久保田, 智哉
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54237
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	久保田 智哉
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 23651 号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	NEW MUTATION OF THE Na CHANNEL IN THE SEVERE FORM OF POTASSIUM-AGGRAVATED MYOTONIA (重症型カリウム惹起性ミオトニーの新規変異例)
論文審査委員	(主査) 教授 佐古田三郎 (副査) 教授 大平 充宣 教授 大藺 恵一

論文内容の要旨

【 目 的 】

ミオトニー現象は、随意的、又は叩打により誘発された筋収縮の弛緩遅延と臨床上で定義される。ミオトニーを呈する疾患の多くは、筋細胞膜の異常興奮性を呈しており、筋強直性ジストロフィー、先天性ミオトニー (Thomsen, Becker)、カリウム惹起性ミオトニー、先天性パラミオトニーなどが挙げられる。これらのうち、カリウム惹起性ミオトニー、先天性パラミオトニーは骨格筋電位依存性ナトリウムチャンネル (以下Nav1.4) の α サブユニットをコードする*SCN4A*遺伝子の異常が原因であり、変異により生じたチャンネル機能異常がミオトニー症状を引き起こす。しかし、遺伝子異常の中には、機能異常を呈さない多型も存在し、同定された遺伝子異常が機能異常を呈していることを証明することは重要である。

Nav1.4のゲーティングのひとつに不活化 (inactivation) という過程があり、その時間経過からさらに速い不活化 (fast inactivation) と遅い不活化 (slow inactivation) とに分けられる。現在までの研究により、ミオトニーはfast inactivationの障害と関連が深いことが分かっている。

本研究は、約40年前にThomsen型先天性ミオトニーと臨床診断されていたミオトニー症状を有する家系において原因遺伝子を同定し、その変異チャンネルが本家系の症状を説明しうる機能異常を有することを、電気生理学的手法によって証明することを目的とした。

【 方法ならびに成績 】

症例は、5世代にわたり常染色体優性遺伝形式で全身性のミオトニー症状を呈する日本人家系で、1970年にThomsen型先天性ミオトニーと臨床診断されていた。本家系内の男児の筋強直はカリウム摂取により増悪する傾向をもち、さらに乳児期にはチアノーゼを伴う無呼吸発作を認めていた。これらの症状はThomsen型先天性ミオトニーでは非典型な症状であったことから、診断確定のため、遺伝子診断を施行した。その結果、Thomsen型先天性筋強直症の原因遺伝子である骨格筋クロライドチャンネル遺伝子には変異を認めず、Nav1.4をコードする*SCN4A*遺伝子上の4897番目のCがGに変異 (c.4897 c>g) しており、結果1633番目のグルタミンがグルタミン酸に置換される新規変異Q1633Eを認めた。カリウム摂取により増悪する筋強直など、

臨床症状の特徴から本家系をカリウム惹起性ミオトニーと診断した。Nav1.4の1633番目のグルタミンは他の生物種でも保存されており、ヒトの他のNaチャンネルサブタイプでも保存されていることから、チャンネル機能上重要なアミノ酸であることが予想された。さらに同変異は、Nav1.4の細胞質側C端部でカルシウム結合部位と考えられているEF-handモチーフ内に位置していた。この変異が機能異常を引き起こしている可能性が考えられたため、電気生理学的検証を行った。

ヒトNav1.4発現ベクター (pRc/CMV-hSkM1) からQ1633E変異ベクターを作成した。野生型Naチャンネル α サブユニット及びQ1633E変異型Naチャンネル α サブユニットを、それぞれNaチャンネル β サブユニット・CD8発現ベクターと共にリン酸カルシウム法にて、HEK293T細胞にtransient transfectionを行った。transfection後2〜3日後にホールセルパッチクランプ法により、Na電流を計測した。Q1633EのNa電流は、野生型に比べて電流の減衰が遅く、fast inactivationの障害が示唆された。steady-state fast inactivationの電位依存性を解析したところ、Q1633Eは野生型に比べて10.7mV脱分極側に偏倚していた。fast inactivationの電位依存性時定数を解析したところ、脱分極側でQ1633Eの時定数は野生型より有意に大きかった。activation及びslow inactivationの電位依存性に差は認めなかった。

【 総 括 】

ミオトニー症状を呈する日本人家系から*SCN4A*遺伝子の新規変異Q1633Eを同定し、臨床症状の特徴からカリウム惹起性ミオトニーと診断した。変異チャンネルは野生型に比べ、fast inactivationが著明に障害されており、本症例のミオトニー症状を説明しうる機能異常を呈していた。さらにNav1.4においてC端部はfast inactivationに重要な働きをもつことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文では、ミオトニー症状を呈する日本人家系から*SCN4A*遺伝子の新規変異Q1633Eを同定し、その変異チャンネルが非常に強い興奮性亢進をきたす機能異常を有することを電気生理学的手法で明らかにした。見出された変異はチャンネルのC端部上のカルシウム結合部位であるEF-handモチーフ内に位置し、機能的に重要な部位であることが示唆された。今までに、電位依存性ナトリウムチャンネルにおいては、ドメインⅢ-ドメインⅣ間のループ部分が速い不活化に重要であることは確立している。一方、チャンネルのC端部についての働きは良く知られていなかった。本論文は、C端部が速い不活化に関与することを明らかにし、電位依存性ナトリウムチャンネルのチャンネル機構に知見を加えた点において、学位論文に値する。