

Title	Mutant KCNJ3 and KCNJ5 Potassium Channels as Novel Molecular Targets in Bradyarrhythmias and Atrial Fibrillation
Author(s)	山田, 憲明
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72493
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		山田 憲明	
論文審査担当者	(職)	氏名	
	主査	大阪大学教授	高島 式二
	副査	大阪大学教授	岡田 隼永
	副査	大阪大学教授	岡村 康司
論文審査の結果の要旨			
<p>心拍数が低下する徐脈性不整脈の原因としては、心筋の加齢性変化や基礎心疾患、心臓手術侵襲や薬剤の影響等の後天的要因が多くを占めるが、一方でいくつかの遺伝子の異常による生まれつきの体質（遺伝的要因）によるものも報告されている。治療としては、長期間にわたり安全に服用できる薬剤はなく、心臓ペースメーカーの外科的植え込みに頼らざるを得ないのが現状である。本研究は、遺伝性徐脈性不整脈の家系における遺伝子解析から新たな原因遺伝子としてKCNJ3の新規変異を同定した。KCNJ3遺伝子は心臓のカリウムチャンネルタンパク質をコードしており、細胞を用いた電気生理学的実験により原因変異の分子機能解析を行った。また、疾患モデル動物としてトランスジェニック・ゼブラフィッシュを作製し、新規分子特異的治療薬の薬効評価を行うことで徐脈性不整脈に対する有効性を明らかにした。本研究の内容は、学位の授与に値すると考えられる。</p>			

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	山田 憲明
論文題名 Title	Mutant <i>KCNJ3</i> and <i>KCNJ5</i> Potassium Channels as Novel Molecular Targets in Bradyarrhythmias and Atrial Fibrillation (<i>KCNJ3/KCNJ5</i> カリウムチャネルの徐脈性不整脈と心房細動における分子機序解明と治療薬の開発)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>心臓刺激伝導系は、洞結節で発生する周期的な電気興奮（活動電位）を隣接する心筋細胞群に次々に伝播させ、心臓全体を拍動させるという重要な役割を担っている。心拍数をつかさどる洞結節や房室結節などの刺激伝導系を構成する細胞の機能的破綻は徐脈性不整脈を引き起こし、心拍出量が低下することによる労作時の息切れや身体活動度の低下、脳虚血による失神等の重篤な症状をもたらす。徐脈性不整脈に対しては現在のところ、外科的なペースメーカー植え込み術が標準治療であり、徐脈の病態分子機序に基づいた長期的に服用可能な治療薬は存在しない。そこで本研究は、遺伝性徐脈性不整脈の家系において原因遺伝子変異を同定し、その分子機能解析と疾患モデル動物の作製を行い、標的分子に選択性と高親和性を有する新規化合物の薬理作用を評価することを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>遺伝性徐脈性不整脈（洞不全症候群、徐脈性心房細動、および房室ブロック）の家系において全エクソーム解析と連鎖解析を組み合わせることで、その原因として<i>KCNJ3</i>遺伝子に新規変異を同定した（c.247A>C, p.N83H）。<i>KCNJ3</i>の遺伝子産物であるKir3.1蛋白質は、<i>KCNJ5</i>によってコードされるKir3.4蛋白質と共にヘテロ四量体としてアセチルコリン活性化カリウムチャネル（$I_{K_{ACH}}$チャネル）を構成する。$I_{K_{ACH}}$チャネルは心臓の洞結節、心房筋、および房室結節に発現しており、副交感神経刺激によるアセチルコリン（ACh）のムスカリンM2受容体への結合を介してチャネルが活性化され、心拍数を低下させる役割を担っている。アフリカツメガエル卵母細胞に<i>KCNJ3</i>と<i>KCNJ5</i>のcRNAをインジェクションすることにより$I_{K_{ACH}}$チャネルを発現させ、二電極膜電位固定法によって変異型$I_{K_{ACH}}$チャネルの電気生理学的特性を解析した。次に、$I_{K_{ACH}}$チャネルに対して選択的阻害活性を持つ化合物NIP-151に着目し、薬理的解析を行った。また、疾患モデル動物における生体内薬効解析を行うため、変異型$I_{K_{ACH}}$チャネルと赤色蛍光タンパク質を心房特異的に強制発現させたトランスジェニック・ゼブラフィッシュを作製し、ヒト疾患モデルとなり得るかどうかを検討するとともに、NIP-151投与前後での心拍解析を行った。電気生理学的実験の結果、野生型$I_{K_{ACH}}$チャネルはACh非刺激時の電流量は小さくACh刺激によってチャネルが活性化され電流量が増大するが、変異型$I_{K_{ACH}}$チャネルはACh非刺激時の電流量が既に大きく、変異の存在によるチャネルの異常活性化が考えられた。NIP-151は野生型チャネルに対してのみならず、変異型$I_{K_{ACH}}$チャネルに対しても高い親和性と濃度依存性の阻害効果を認めた。変異型ゼブラフィッシュは、心房拡大とヒト症例同様の徐脈性不整脈を示した。NIP-151水溶液（100 nM）中に入れて心拍解析を行ったところ、変異型ゼブラフィッシュの心拍数を有意に上昇させ、徐脈性不整脈を改善させた。さらに、本チャネルの遺伝子異常に基づく徐脈性不整脈患者の有病率や疫学的背景を明らかにするため、2185名の患者レトロスペクティブゲノムコホートをを用いて<i>KCNJ3</i>および<i>KCNJ5</i>の遺伝子変異スクリーニングを実施し、これらの遺伝子内に複数の異なる希少変異を同定し、その機能変化を確認した。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>遺伝性徐脈性不整脈の新たな原因として、$I_{K_{ACH}}$チャネルの新規遺伝子変異を同定し、本チャネルの異常活性化が徐脈性不整脈の原因となることを見出した。本チャネルの選択的阻害薬は異常活性化を示す変異型チャネルに対しても高い阻害活性を示し、同チャネル変異を導入した疾患モデル動物においても有効性を示したことから、徐脈性不整脈に対する新規の分子標的治療薬になり得ることが示唆された。</p>	