

(様式4) (Form4)

学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

Dissertation Abstract

(氏 名) Tommy Dharmawan 印

(学位論文のタイトル) Title

Enhanced closed-state inactivation of mutant cardiac sodium channels (*SCN5A* N1541D and R1632C) through different mechanisms

(心筋ナトリウムチャンネルをコードするSCN5Aの変異(N1541D, R1632C)はチャンネル閉口状態からの不活性化が異なるメカニズムにより増強している)

(「論文目録(様式3)」の主論文の部分を記載する。英文の場合は和訳をつける。)

For English paper, Japanese title is necessary.

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判 (approx. 800 Words in English /A4 size)

ブルガダ症候群は、心電図上前胸部誘導でcoved型ST上昇を認め、心室細動により失神、突然死をきたす疾患である。ブルガダ症候群の約20%は、心筋の電位依存性ナトリウムチャンネル(Nav1.5/INa)をコードするSCN5Aの変異に起因するが、SCN5Aはブルガダ症候群以外にも洞不全症候群、上室性頻脈性不整脈、房室ブロック、QT延長症候群などの原因遺伝子の一つでもある。また、単一のSCN5A変異により上記疾患のオーバーラップ表現型を呈することもある。

我々は、連続する65例のブルガダ症候群患者(発端者)のSCN5A遺伝子解析をサンガー法で行い、ブルガダ症候群に洞不全症候群、上室性頻脈性不整脈を合併した(オーバーラップ表現型)2症例に、それぞれ異なるSCN5A変異を同定し得た。1例(SCN5A R1632C変異)(domain IV-segment 4: DIV-S4の変異)については、すでに臨床像及びR1632C変異の機能解析結果(の一部)を報告済みであるが、今回、他の1例に新規SCN5A N1541D変異(domain IV-segment 1: DIV-S1の変異)を同定し、オーバーラップ表現型を呈するメカニズムを解明すべく、機能解析を行った。野生型SCN5A、変異SCN5AをtsA-201細胞株に発現させ、バッチクランプ法にて発現電流/ナトリウム電流(INa)記録を行った。

N1541D変異は、野生型と比べ活性化曲線の軽度の過分極シフトを認め(V1/2-野生型: -39.1 ± 0.8 mV, N1541D: -46.7 ± 1.8 mV, $P < 0.01$)、不活性化曲線の著明な過分極シフトを認めた(V1/2-野生型: -82.3 ± 0.9 mV, N1541D: -108.8 ± 1.6 mV, $P < 0.01$)。保持電位-150 mVから脱分極パルスを与えた場合のN1541

D変異のINa密度は、野生型と著変はなく(野生型: -546 ± 35 pA/pF, N1541D: -525 ± 64 pA/pF, $P=0.66$)、細胞内輸送の障害はないと考えられた。しかし、保持電位 -90 mVから脱分極パルスを与えた場合のN1541D変異のINa密度は、野生型と比べ著明に減少していた(野生型: -378 ± 35 pA/pF, N1541D: -50 ± 14 pA/pF, $P<0.01$)。これらの結果は、すでに報告したR1632C変異と類似していた。両変異の不活性化曲線の著明な過分極シフトをきたすメカニズムを解明するため、チャンネルの閉口状態からの不活性化(closed-state inactivation: CSI)について詳細に調べた。その結果、両変異ともCSIの著明な増強を認めた(-90 mVでの残存INa-野生型: 65.8 ± 4.6 %, N1541D: 15.1 ± 2.3 %, $P<0.01$ vs 野生型; R1632C: 5.3 ± 0.5 %, $P<0.01$ vs 野生型)。N1541D変異のCSIの速度は野生型と比べ著明に促進していたが(時定数-野生型: 65.8 ± 7.4 ms, N1541D: 13.7 ± 1.1 ms, $P<0.01$ vs 野生型)、CSIからの回復の速度は野生型とほぼ同等であった。一方、R1632C変異のCSIの速度は野生型と比べ軽度促進していたが、CSIからの回復の速度は野生型と比べ著明に遅延していた(時定数-野生型: 1.90 ± 0.16 ms, R1632C: 53.0 ± 2.5 ms, $P<0.01$ vs 野生型)。N1541D変異、R1632C変異はともにCSIの増強により著明なINa減弱をきたしたが、そのメカニズムは異なることが明らかとなった。

骨格筋タイプの電位依存性ナトリウムチャンネル(Nav1.4)では、DIV-S1のN1366(Nav1.5ではN1541に相当)とDIV-S4のR1457(Nav1.5ではR1632に相当)は近接しており、チャンネル活性化-不活性化プロセスにおいてカップリングしていると考えられていることから、Nav1.5でもN1541とR1632は同様と考えられる。両変異が異なるメカニズムによりCSIの増強をきたしたことは、Nav1.5の構造-機能連関に新たな知見をもたらした。臨床的には、両変異は心房筋、心室筋の生理的な静止膜電位付近(-90 mV程度)ではCSIの増強により高度のINa減弱をきたすと考えられる。ブルガダ症候群は心室筋での高度のINa減弱により、一方、洞不全症候群、上室性頻脈性不整脈は心房筋での高度のINa減弱により発症することが説明可能であり、本研究はSCN5A遺伝子型-表現型の解明の一助となると考えられる。