

学位論文題名

A mutant cardiac sodium channel with multiple biophysical defects associated with overlapping clinical features of Brugada syndrome and cardiac conduction disease

(Brugada 症候群と先天性心ブロックは、臨床像にも分子機構にもオーバーラップを有する Na⁺チャネル病である)

学位論文内容の要旨

I. 背景

特発性心室細動 (IVF) は器質的心疾患がないのにも関わらず心臓突然死をもたらす電氣的異常をもつ群である。IVF の中には、心電図上右脚ブロックと右側胸部誘導で ST 上昇がみられる一群があり Brugada 症候群といわれている。近年 Brugada 症候群の中で心筋 Na⁺チャネルの遺伝子 (*SCN5A*) を原因遺伝子とする家系や孤発例が同定されてきている。異種細胞に Na⁺チャネルを発現させ電気生理学的機能をみた研究の結果では、Brugada 症候群の変異 Na⁺チャネルは正常 Na⁺チャネル (WT) より Na⁺電流が減少する機能異常を示した。この Na⁺電流の減少によって心筋内膜側と外膜側の間で活動電位波形に大きなズレが生じるため、Brugada 症候群では心電図上の ST 上昇がみられると考えられている。

一方で、*SCN5A* は Brugada 症候群の他に先天性 QT 延長症候群の一形 (LQT3) と遺伝性心ブロックの原因遺伝子でもあることが報告されている。LQT3 の変異 Na⁺チャネルの生物物理学的異常は遅延 Na⁺電流を伴うことから心筋の再分極の延長を来し、その結果心電図上の QT が延長すると考えられている。最近、頻脈時に ST 上昇がみられる LQT3 の症例の研究において、その変異 Na⁺チャネル (1795insD) は LQT3 と Brugada 症候群両者の生物物理学的異常を持つことが明らかにされ、二つの疾患のオーバーラップする臨床像との関連性が指摘された。Akai らは心拍数増加時に完全右脚ブロックに移行する IVF の症例において *SCN5A* に変異 S1710L を同定した。S1710L の臨床像は典型的な Brugada 症候群ではなく、この変異 Na⁺チャネルの生物物理学的異常が特異なものである可能性が示唆される。

II. 目的

頻拍依存性の伝導障害という臨床的特徴をもつ特発性心室細動 S1710L の分子病態を探ること。

III. 方法

哺乳類の培養細胞 (tsA201) に WT、S1710L あるいは典型的な Brugada 症候群である変異 T1620M の Na⁺チャネルを一過性発現させ、whole-cell patch clamp 法で Na⁺電流を記録した。Na⁺チャネルの電気生理学的特性には活性化と不活性化の機構があるが、不活性化にはさらに数ミリ秒間の脱分極で誘発される「速い不活性化」と数百ミリ秒以上の脱分極によ

って誘発される「遅い不活性化」がある。1795insD 変異チャネルの「遅い不活性化」は増強しており、この変異をもつ患者の心電図上の特徴（頻脈時における ST 上昇）の分子病態の一つと考えられている。頻拍依存性の伝導障害を示す S1710L の変異チャネルにも「遅い不活性化」になんらかの異常がある可能性があるため、本研究では「遅い不活性化」も含めて Na⁺チャネルの電気生理学的特性を検討した。

IV. 結 果

脱分極によって誘発される Na⁺電流は、「速い不活性化」のため数ミリ秒間で減衰する。S1710L では電流の減衰が WT や T1620M よりも有意に加速していた。S1710L チャネルは「速い不活性化」に入りやすく、WT と比較して Na⁺電流が減少している時相があると考えられる。S1710L チャネルの「速い不活性化」からの回復は WT や T1620M よりも有意に遅延していた。「速い不活性化」の電位依存性は、WT と比較して S1710L では過分極側へ約 21.7 mV シフトしており、T1620M では脱分極側へ約 13.1 mV シフトしていた。これは、各電位において S1710L では「速い不活性化」状態をとるチャネルが WT よりも多く、誘発される Na 電流が WT より減少していることを意味する。T1620M はその逆と考えられる。

S1710L と T1620M の活性化の電位依存性はそれぞれ WT と比較して約 18.1 mV、6.8 mV 脱分極側へシフトしていた。これは、チャネルを活性化させるのに S1710L では正常よりも高い脱分極電位を必要とすることを意味している。

脱分極パルスの持続時間を延長していき「遅い不活性化」を誘発させていくと最終的に不活性化された Na⁺チャネルのパーセントは WT、T1620M そして S1710L でそれぞれ 41±1%, 40±2%, 72±2% (WT vs S1710L, T1620M vs S1710L: $p < 0.01$) であった。S1710L は有意に「遅い不活性化」が増強されていた。これは、心拍数増加に伴い「遅い不活性化」が誘発されるため、頻脈時に S1710L では正常よりも Na⁺電流が大きく減少すると考えられる。

V. 考 案

S1710L の「速い不活性化」の異常は各心拍周期において Na⁺電流が減少する方向に働くと考えられ、Brugada 症候群の電気生理学的異常と一致する。一方、S1710L の活性化の異常は活動電位の閾値を上昇させると考えられる。そして、この活性化の異常は最近報告された遺伝性心ブロックに関連する変異 Na⁺チャネル G514C の活性化の異常とよく類似している。このことから S1710L の心電図が示す伝導障害の分子病態のひとつに活性化の異常が関与していると推察される。また 1795insD との類似性から、S1710L の「遅い不活性化」の増強は、心拍数増加に伴う伝導障害（完全右脚ブロック）のメカニズムに関与していることが推察される。

S1710L の電気生理学的異常は活性化と「速い不活性化」そして「遅い不活性化」の複合的な異常であった。S1710L は Brugada 症候群の分子病態と多くの共通点をもつにも関わらず典型的な Brugada 心電図をとらないことの原因のひとつとして、S1710L チャネルの上述した複合的な機能異常が考えられる。また、心筋の Na⁺チャネル病である Brugada 症候群、LQT3、そして遺伝性心ブロックは、それぞれ臨床像がオーバーラップする部分があると最近考えられている。S1710L チャネルが Brugada 症候群と心ブロックのそれぞれに類似した分子病態を持っていることから、S1710L はこの二つの不整脈疾患のオーバーラップしたものであると推察される。

一方、T1620M の機能異常は実験条件の設定により大きく変わることが報告されている。この研究の実験条件の設定では T1620M チャネルの電気生理学的異常は Brugada 症候群の分子病態と一致しなかった。これは、Brugada 症候群の分子病態が、この研究で検討したものの以外にもある可能性を示唆する。

VI. 結 語

S1710L が心拍数依存性の右脚ブロックを示す病態生理のひとつとして、Na⁺チャンネルの「遅い不活性化」の増強が考えられた。IVFの変異S1710LがBrugada症候群と心ブロックのオーバーラップする臨床像を呈する原因として、チャンネルの複合的な生物物理学的異常が考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 安 田 慶 秀

副 査 教 授 北 島 顕

副 査 教 授 三 輪 聡 一

学位論文題名

A mutant cardiac sodium channel with multiple biophysical defects associated with overlapping clinical features of Brugada syndrome and cardiac conduction disease

(Brugada 症候群と先天性心ブロックは、臨床像にも分子機構にもオーバーラップを有する Na⁺チャネル病である)

特発性心室細動 (IVF) は器質的心疾患がないのにも関わらず心臓突然死をもたらす電氣的異常をもつ群である。IVF の中には、心電図上右脚ブロックと右側胸部誘導で ST 上昇を認める一群があり Brugada 症候群 (BS) といわれている。BS は先天性 QT 延長症候群 (LQT3) と先天性心ブロック (CCD) と同様に心筋 Na⁺チャネルの遺伝子 (*SCN5A*) をその責任遺伝子のひとつとし、BS の病態生理の一つとして心筋 Na⁺電流の減少が考えられている。最近、頻拍時に ST 上昇がみられる LQT3 の症例の研究において、その変異 Na⁺チャネル 1795insD は LQT3 と BS の両方の電気生理学的異常を持つことが明らかにされ、二つの疾患のオーバーラップする臨床像との関連性が指摘されている。特に 1795insD チャネルの「遅い不活性化」が増強していたことは、頻拍依存性に ST 上昇を示す分子病態のひとつと考えられている。申請者は、心電図上典型的な Brugada 症候群ではなく、頻拍依存性に右脚ブロック (RBBB) を示す特徴をもつ IVF の変異 S1710L チャネルが 1795insD と類似して「遅い不活性化」になんらかの異常をもつ可能性を考えた。S1710L の分子病態を調べるために、哺乳類培養細胞に正常と S1710L 変異 Na⁺チャネルをそれぞれ一過性発現させ、whole-cell patch clamp 法を用いてチャネルの活性化、「速い不活性化」と「遅い不活性化」について検討した。S1710L チャネルの活性化の電位依存性はプラス側へ大きくシフトしており CCD で同定された変異 G514C の活性化曲線の異常と類似していた。この活性化の異常は活動電位の閾値を上昇させると考えられており、S1710L の心電図が示す伝導障害の分子病態のひとつであろうと申請者は推察している。S1710L チャネルの「速い不活性化」の異常は、電流減衰の加速、不活性化からの回復遅延、電位依存性のマイナス側へのシフトといずれも Na⁺電流を減少さ

せる傾向を示し、BS の分子病態と一致する。脱分極パルスの持続時間を延長させるとチャンネルは遅い不活性化状態をとるようになるが、最終的に不活性化されたチャンネルのパーセントは WT と S1710L でそれぞれ $41 \pm 1\%$, $72 \pm 2\%$ ($p < 0.01$) であった。S1710L は有意に「遅い不活性化」が増強されており、心拍数が増加するに従い「遅い不活性化」が誘発され、頻脈時に S1710L では正常よりも Na^+ 電流が大きく減少すると考えられた。この「遅い不活性化」の増強は 1795insD との類似性から、S1710L の心電図が頻拍依存性に伝導障害を示す病態に関与していると申請者は推察している。S1710L の電気生理学的異常は活性化と「速い不活性化」そして「遅い不活性化」の複合的な異常であった。S1710L が BS の分子病態と多くの共通点をもつにも関わらず典型的な Brugada 心電図をとらないことの原因のひとつとして、S1710L チャンネルの複合的な機能異常が考えられるとしている。また S1710L チャンネルが BS と CCD のそれぞれに類似した分子病態を持っていることから、S1710L がこの二つの不整脈疾患のオーバーラップしたものであると申請者は結論づけた。

学位発表後、副査の三輪教授から [1] Na^+ 電流の減少と右脚ブロックの関係（特に心筋筋層間でのイオンチャンネル発現の違いについて） [2] 発現系に使用した培養細胞の問題点 [3] Vaughan Williams 分類 I 群の抗不整脈薬と S1710L の電気生理学的特性の関係、また主査の安田教授から [4] 突然死の高発症年齢が存在する分子病態的理由 [5] 植え込み型除細動器以外の将来的治療法、また副査の北島教授から [6] Brugada 症候群の病態に修飾遺伝子が関与する可能性 [7] 右脚ブロックを示す患者群から突然死危険群をスクリーニングする方法について質問がなされた。申請者は結果に基づいて、あるいは文献的知識を駆使して、概ね適切に回答し得た。

この論文は、IVF の分子病態に関する重要な知見を提示しており、今後の致死性不整脈の研究に示唆を与えた点で高く評価される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者の豊富な知識ならびに科学に対する識見などをあわせ、申請者が博士(医学)を受けるに十分な資格を有するものと判定した。