

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2008 ～ 2010
課題番号：	20590691
研究課題名（和文）	死因不詳の突然死症例におけるカルシウム依存性情報伝達物質遺伝子変異解析
研究課題名（英文）	Postmortem genetic analysis for calcium-dependent signal transduction molecules in sudden unexplained death cases
研究代表者	
鈴木 廣一	(Suzuki Kouichi)
大阪医科大学・医学部・教授	
研究者番号：	60171211

研究成果の概要（和文）：

比較的若年者で死亡時の状況からは何らかの心臓性突然死が強く疑われるものの、解剖によっても死因を明らかとできない症例がある。こうした症例について、遺伝性不整脈に係る原因遺伝子変異検索をおこなった。細胞内のカルシウム濃度を制御する蛋白質の中で、筋肉に豊富に発現しているリアノジン受容体遺伝子の変異の検索をおこなったところ、精神科関連の突然死症例の3例にリアノジン受容体の原因遺伝子変異を発見した。こうした研究は、死因を明らかとするためだけでなく、遺族の突然死を未然に予防するという意味においても社会的に意義の大きい研究と考える。

研究成果の概要（英文）：

This study intended to examine whether fatal arrhythmogenic diseases are involved in sudden unexplained death. Postmortem genetic analysis revealed that three cases of psychiatric patients possessed the ryanodine receptor gene mutations. From the forensic point of view, postmortem genetic analysis for fatal arrhythmogenic diseases is important to obtain information on cause of death. It may also be useful for preventing living family member carriers from preventing possible cardiac events.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：法医病理学

1. 研究開始当初の背景

解剖症例の中には、比較的若年者で死亡時の状況からは、何らかの心臓性突然死であることが強く疑われるものの、解剖によっては死因を明らかとすることができない症例が散見される。こうした症例の死因に致死性不整脈が関与する例があることが明らかとなっている。

臨床の分野では、多くの症例を用いた家系調査と連鎖解析から、致死性不整脈の原因遺伝子が、1990年代頃から同定されはじめている。一般にこうした致死性不整脈による死亡例では、心臓等の臓器には肉眼的には異常は認められないことが多い。したがって、法医解剖症例における原因不明の突然死症例の中に、こうした致死性不整脈原因遺伝子変異を伴った症例があることが疑われたために、本研究を計画した。法医解剖症例を用いた致死性不整脈原因遺伝子変異報告は、本研究開始時点では、ごく限られていた。

1990年代半ばに、心臓性突然死の原因となるQT延長症候群の原因遺伝子が臨床の家系調査から、明らかとされてきた。それ以降、カテコラミン誘発性多形性心室頻拍等、遺伝性の不整脈の原因遺伝子の同定が今日まで相次いでいる。

法医学領域では、死因診断については、肉眼的な解剖所見を主として、組織検索などの形態学的な検討が従来から行われてきた。遺伝子検索については、ほとんど報告例がない。

2. 研究の目的

法医学分野では、比較的若年者で死亡時の状況からは何らかの心臓性突然死が強く疑われるものの、解剖によっても死因を明らかとすることができない症例があり、原因不明の突然死と呼ばれる。

こうした症例は、死因を明らかとするという法医解剖の目的の一つを果たすことができず、社会的に問題が大きい。

本研究は、こうした問題を解決するために、原因不明の突然死症例に致死性の不整脈の原因遺伝子の変異が関与した症例があるかどうかについて検討を行ったものである。

致死性不整脈の原因としては、様々の蛋白質の関与が指摘されているが、本研究では、心臓等、筋肉の収縮に重要な役割を果たしていることがよく知られているカルシウム依存性の情報伝達物質をコードしている遺伝子の変異解析をおこなった。

3. 研究の方法

法医解剖では、血液を原則的に全例保存していることから、学内のヒトゲノム遺伝子解析に係る倫理委員会の承認を経て、DNAを抽出して、対象遺伝子のエクソン特異的なプ

ライマーを設定して、PCRを行い、PCR産物を直接シーケンスして変異の有無を解析した。

検討対象症例は、学内のヒトゲノム倫理委員会で承認を受けた症例で、比較的若年者で、元気であったが、突然に発症して、発症してから24時間以内に死亡した症例、および統合失調症、うつ病など何らかの精神疾患に罹患していたところ、入院中あるいは自宅で死亡し、解剖によっても死因を明らかとすることができなかった症例である。

変異が発見された場合には、日本人における当該変異の変異発現頻度を、少なくとも健常日本人200人中の頻度を検討して、明らかとした。

また、変異の発見された症例の解剖記録から、臓器所見、検査所見等の特徴の有無について、検討をおこなった。

4. 研究成果

(1) 若年性の突然死症例に関する検討

本研究期間の解析対象症例中には、遺伝子変異は発見されなかった。研究機関前に解剖され、解剖によっても死因が明らかでなかった症例の中に、電位依存性ポタシウムチャンネルKCNQ1の変異が発見された。この症例は、日本に留学中の黒人であった。

発見された変異は、すでに、黒人に特異的に発現していることが報告されていたが、発現頻度からは、稀な変異と考えられた。

(2) 精神科関連の突然死症例に関する検討

精神疾患に罹患している患者で、入院中あるいは自宅で死亡していた症例について、検討を行った。

検討した症例のうち、3例に細胞内のカルシウム濃度調節に関与するリアノジン受容体の原因遺伝子変異を発見した。リアノジン受容体は、筋肉の小胞体膜に発現しており、細胞内へカルシウムを流出させる機能をもっており、筋肉の興奮収縮連関に重要な役割を果たしている。

この受容体の変異は、吸入麻酔薬等を使用した際に、突然高熱を発して、筋肉の硬直等を伴い、不整脈等によって死亡原因ともなりうる。一般に悪性高熱と呼ばれる疾患の原因遺伝子として、すでによく知られている。これまでに、多数の変異報告がある。

本研究によって発見された変異の中には、既に報告例のある変異も見いだされたが、新規の未報告例の変異も発見された。

日本人の集団内での当該新規変異の頻度解析も合わせておこなった結果、新規に発見された変異は、日本人集団の中で多型とは考え

にくく、稀な変異であると考えられたことから、当該変異が、死者の死因に関与する可能性が明らかとなった。

(3) 考察

本研究期間中を含む平成7年から大阪医科大学法医学教室で法医解剖された症例のうち、解剖しても死因の明らかではなかった症例について、遺伝性不整脈に係る原因遺伝子検索をおこなった。

カルシウム濃度制御する蛋白質の中で、筋肉に豊富に発現しているリアノジン受容体遺伝子の変異の検索をおこなったところ、精神科関連の突然死症例の3例にリアノジン受容体の原因遺伝子変異を発見した。

発見された変異の中には、既に報告例のある変異も見いだされたが、新規の未報告例の変異もあり、日本人の集団内での当該新規変異の頻度解析も合わせておこなった。

こうした研究は、死因を明らかとするという解剖本来の目的を達成するという意味ばかりでなく、仮に遺伝子変異が発見され、その変異が突然死の原因として危険性があると判断されるような場合には、適切な倫理的配慮を講じた後に、遺族の遺伝子変異解析をおこない、保因者の心臓性突然死を未然に防止する等の可能性を開くものであり、社会的に意義の大きい研究と考える。

(4) 問題点

私どもは、本研究によって、3症例にリアノジン受容体遺伝子変異を発見したが、法医学領域では、まだ症例の遺伝子解析については、一般的とはなっていない。

一般に、法医解剖症例は、同一家系の疾患家系調査を行うものではないために、対象症例を集めることが難しい。

研究によると、法医解剖症例の約1%程度に原因不明の突然死が生じると予想される。一カ所の研究機関のみの研究では、対象症例に限られることになり、したがって、変異を発見することも難しいと考えられる。今後は多施設の共同研究等を検討する必要性があると考える。

また、検索対象となる遺伝子についてであるが、1990年代半ば頃から、臨床の家系調査をもとに、致死性不整脈など突然死を生じる疾患の原因遺伝子の同定があいついでいる。法医解剖では、死後にサンプルを得ることから、基本的にはDNAが検索対象である。したがって、遺伝子変異解析については、DNAを抽出して、エクソン特異的なプライマーを設定して、エクソンごとの変異の有無をシーケンスする必要がある。検索対象となる遺伝子が

増加していることから、時間と費用の面から、遺伝子変異解析を行うことは一般に容易ではない。

変異を簡便に見いだせるようなDNAチップの開発など研究方法の改善、開発が望まれると考える。

研究目的の項目中にも記載したが、法医学は、死因の検索が第一義ではあるが、このような研究では、変異が発見された場合、遺族への適切な配慮を講じた後に、遺族の変異解析を希望者に施行して、場合によっては、保因者を発見して、心臓性突然死を未然に防止する等の可能性を秘めている。

法医学の中で、このような遺伝子の解析研究を行う機関は未だ限られてはいるが、今後こうした検討を法医学分野で進めていく必要が有ると思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

①Nishio, H., Kuwahara, M., Tsubone, H., Koda, Y., Sato, T., Fukunishi, S., Tamura, A., Suzuki, K.

Identification of an ethnic-specific variant (V207M) of the KCNQ1 cardiac potassium channel gene in sudden unexplained death and implications from a knock-in mouse model

Int. J. Legal Med. 査読あり 123(3):253-7, 2009.

②Nishio, H., Sato, T., Fukunishi, S., Tamura, A., Iwata, M., Tsuboi, K., Suzuki, K.

Identification of malignant hyperthermia-susceptible ryanodine receptor type 1 gene (RYR1) mutations in a child who died in a car after exposure to a high environmental temperature

Leg. Med. 査読あり 11(3):142-3, 2009.

③Sato, T., Nishio, H., Iwata, M., Tsuboi, K., Tamura, A., Miyazaki, T., Suzuki, K.

Postmortem molecular screening for mutations in ryanodine receptor type 1 (RYR1) gene in psychiatric patients suspected of having died of neuroleptic malignant syndrome

Forensic. Sci. Int. 査読あり 194(1-3):77-79, 2010.

〔学会発表〕（計 2 件）

①佐藤貴子、西尾元、坪井健人、岩田美佐、
田村明敬、鈴木廣一

若年性突然死症例における不整脈源性右室
心筋症原因遺伝子 KCNQ1 変異の検討

第 94 次日本法医学会学術全国集会（東京）
2010、6/24

②西尾元、岩田美佐、佐藤貴子、福西新弥、
坪井健人、田村明敬、宮崎時子、鈴木廣一

原因不明の突然死症例に発見された QT 延長
症候群原因遺伝子 KCNQ1 変異と変異マウスを
用いた機能解析

第 93 次日本法医学会学術全国集会（大阪）
2009、5/13-15

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 廣一 (Suzuki Kouichi)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：60171211