

氏 名 やま ぐち よし あき  
山 口 由 明

学位の種類 博士（医学）

学位記番号 富医薬博甲第116号

学位授与年月日 平成25年9月27日

学位授与の要件 富山大学学位規則第3条第3項該当

教育部名 富山大学大学院医学薬学教育部 医学領域 博士課程

生命・臨床医学専攻

学位論文題目 **Latent pathogenicity of the common G38S polymorphism of KCNE1**

**K<sup>+</sup> channel modulator**

**（K<sup>+</sup>チャンネルを調節する KCNE1 の頻度の多い遺伝子多型、G38S の潜在的な病原性について）**

論文審査委員

（主査） 教授 芳村直樹

（副査） 教授 服部裕一

（副査） 教授 井ノ口馨

（副査） 教授 戸邊一之

（指導教員） 教授 井上博

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【研究の目的】

KCNE1 遺伝子は K<sup>+</sup>チャネルの  $\beta$  サブユニットを発現し、 $\alpha$  サブユニットである KCNQ1 とともに遅延整流 K<sup>+</sup>電流の遅い成分である  $I_{Ks}$  を、KCNH2 とともに早い成分の  $I_{Kr}$  を調節し、心筋活動電位の再分極を形成する。この KCNE1 遺伝子の変異は QT 延長症候群 (LQT5) を起こすとされている。また、この遺伝子の低頻度の単一塩基多型 (D85N) は、KCNH2 チャネル機能を修飾し疾患感受性に影響すると近年報告された。本研究ではこの KCNE1 遺伝子の中で、高頻度の単一塩基多型である G38S [KCNE1 (G38S)] に注目した。KCNE1 (G38S) の QT 間隔への関与の有無については不明な点が多く、本研究では KCNE1 (G38S) が QT 延長症候群の発症に関与するか *in vivo* と *in vitro* で検討した。

### 【方法】

QT 延長症候群が疑われ富山大学附属病院を受診した 45 例を対象とした。遺伝子検査で KCNE1 (G38S) を有し、他の遺伝子異常やアミノ酸置換を伴う単一塩基多型を認めなかった 4 例で、24 時間ホルター心電図を施行し QT-RR 関係を検討した。残りの 41 例中で遺伝子検査、エピネフリン負荷試験で診断した LQT1 9 例、LQT2 8 例と健常例 16 例の 3 群と比較した。また、KCNE1 (G38S) の遺伝子変異を組み込んだプラスミドを、KCNH2 および KCNQ1 と組み合わせて HEK-293T 細胞に発現させ、ホールセルパッチクランプ法による機能解析を行った。

### 【結果】

KCNE1 (G38S) を有する 4 例のうち、ホモは 1 例、ヘテロは 3 例であった。2 例に運動後の失神歴を認め、そのうち 1 例は妹が運動後に突然死した家族歴を有していた。2 例におけるエピネフリン負荷では、LQT2 と同様の変化がみられた。

QT-RR 関係の傾きは KCNE1 (G38S) 群では、LQT2 群と同様に健常群、LQT1 群と比べ有

意に増大していた。(P<0.001, P<0.001)。また、LQT1、LQT2 群と同様に、KCNE1 (G38S) 群では頻脈時、徐脈時ともに QT 間隔が健常群より有意に延長した。

パッチクランプ法による機能解析では、KCNE1 (G38S) は KCNH2 チャネル電流量を 34% 低下させた (P<0.05)。また、KCNH2 チャネルブロッカーの E4031 に対する感受性の亢進 (P<0.05) と、細胞外 K<sup>+</sup>濃度低下に対する inactivation gate の変化の増強を認めた。KCNQ1 チャネル電流量は野生株と比べ有意差はなかったが、電位依存性の低下(約 13mV) を認めた (P<0.01)。KCNE1 (G38S) と野生株の共発現では KCNH2 電流の低下、KCNQ1 チャネルの電位依存性の低下がそれぞれ減弱した。

#### 【考察】

ホルター心電図から解析した KCNE1 (G38S) 群の QT-RR の傾きは、LQT2 群と同様に健常群と LQT1 群と比較し増大していた。このことから、KCNE1 (G38S) 群は LQT2 群と同様に、徐脈時の QT 間隔の延長の程度が健常群より増大するという再分極異常がみられた。またエピネフリン負荷試験でも LQT2 と同様の反応がみられ、KCNE1 (G38S) は LQT2 と同様に KCNH2 チャネルを抑制させる可能性が考えられた。

HEK-293T 細胞に発現させた機能解析では、KCNH2 チャネル電流量の低下と KCNQ1 チャネルの電位依存性の低下を認め、KCNE1 (G38S) は心筋の再分極に関係すると考えられた。電気生理検査ではヘテロの状態を完全に再現することはできないが、野生株との共発現で KCNE1 (G38S) のみの 2 つのチャネルへの変化がより減弱した。KCNE1 (G38S) のチャネルへの影響は軽微だが、KCNE1 (G38S) では KCNH2 チャネルブロッカーに対する感受性の亢進や細胞外 K<sup>+</sup>濃度低下に対する inactivation gate の変化の増強もみられた。KCNE1 (G38S) は頻度の多い遺伝子多型であるにもかかわらず repolarization reserve の低下がみられ、QT 延長を来す薬剤の投与下や低 K 血症では、QT 延長による致死的不整脈を起こす可能性があると考えられた。

**【総括】**

KCNE1 (G38S) に対する *in vivo* と *in vitro* での潜在的な病因を認め、QT 延長症候群に  
関与する可能性が考えられた。

## 学位論文審査の要旨

### 〔目的〕

KCNE1 遺伝子は K<sup>+</sup>チャネルの  $\beta$  サブユニットを発現し、 $\alpha$  サブユニットである KCNQ1 とともに遅延整流 K<sup>+</sup>電流の遅い成分である I<sub>Ks</sub> 電流を、KCNH2 とともに早い成分の I<sub>Kr</sub> 電流を調節し、心筋活動電位の再分極を形成する。この KCNE1 遺伝子の変異は QT 延長症候群 (LQT5) を起こすとされている。また、この遺伝子の低頻度の単一塩基多型 (D85N) は、KCNH2 チャネル機能を修飾し疾患感受性に影響すると近年報告された。山口由明君はこの KCNE1 遺伝子の中で、高頻度の単一塩基多型である G38S [KCNE1 (G38S)] に注目し、KCNE1 (G38S) が QT 延長症候群の発症に関与するか *in vivo* と *in vitro* で検討した。

### 〔方法〕

QT 延長症候群が疑われ富山大学附属病院を受診した 45 例を対象とした。遺伝子検査で KCNE1 (G38S) を有し、他の遺伝子異常やアミノ酸置換を伴う単一塩基多型を認めなかった 4 例で、24 時間ホルター心電図を施行し QT-RR 関係を検討した。残りの 41 例の中で遺伝子検査、エピネフリン負荷試験で診断した LQT1 9 例、LQT2 8 例と健常例 16 例の 3 群と比較した。また、KCNE1 (G38S) の遺伝子変異を組み込んだプラスミドを、KCNH2 および KCNQ1 と組み合わせて HEK-293T 細胞に発現させ、ホールセルパッチクランプ法による機能解析を行った。

### 〔結果〕

KCNE1 (G38S) を有する 4 例のうち、ホモは 1 例、ヘテロは 3 例であった。2 例に運動後の失神歴を認め、そのうち 1 例は妹が運動後に突然死した家族歴を有していた。2 例におけるエピネフリン負荷では、LQT2 と同様の変化がみられた。

QT-RR 関係の傾きは KCNE1 (G38S) 群では、LQT2 群と同様に健常群、LQT1 群と比べ有意に増大していた。(P<0.001, P<0.001)。また、LQT1、LQT2 群と同様に、KCNE1 (G38S) 群では頻脈時、徐脈時ともに QT 間隔が健常群より有意に延長した。

パッチクランプ法による機能解析では、KCNE1 (G38S) は KCNH2 チャネル電流量を 34% 低下させた (P<0.05)。また、KCNH2 チャネルブロッカーの E4031 に対する感受性の亢進 (P<0.05) と、細胞外 K<sup>+</sup> 濃度低下に対する inactivation gate の変化の増強を認めた。KCNQ1 チャネル電流量は野生株と比べ有意差はなかったが、電位依存性の低下 (約 13 mV) を認めた (P<0.01)。KCNE1 (G38S) と野生株の共発現では KCNH2 電流の低下、KCNQ1 チャネルの電位依存性の低下がそれぞれ減弱した。

#### [総括]

今回、山口由明君は、臨床例の検討から KCNE1 (G38S) は LQT2 と同様に KCNH2 チャネルを抑制させる可能性があるということ、HEK-293T 細胞に発現させた機能解析から KCNE1 (G38S) は QT 延長を来す薬剤の投与下や低 K 血症では、QT 延長による致死的不整脈を起こす可能性があること、という 2 つの新知見を見出した。今回得られたこれら *in vivo* と *in vitro* での検討結果より、QT 延長症候群に対して KCNE1 (G38S) が潜在的な病因として関与する可能性が示唆された。

本研究では、従来から QT 間隔への関与の有無については不明な点が多かった KCNE1 (G38S) が QT 延長症候群の発症に関与している可能性が高いという事実が明らかになった。本研究成果は、KCNE1 (G38S) の遺伝子変異を有する症例に対する QT 延長症候群発症の予測や治療方針の決定に関する重要な知見を得たという点から高く評価できる。よって本審査委員会は本研究を博士 (医学) の学位に十分値するものと結論した。