

# 論文内容要旨

論文題目

Effects of insulin on KCNQ1/KCNE1 currents  
KCNQ1/KCNE1 電流に対するインスリンの作用

責任講座： 薬理学講座

氏名： 吳 明華

## 【内容要旨】(1,200字以内)

背景：糖尿病患者において、心筋の再分極予備能が低下し心電図上 QT 間隔が延長することが知られている。その原因のひとつとして、遅く活性化する遅延整流性  $K^+$ チャネル ( $I_{Ks}$ チャネル) の減少が挙げられている。 $I_{Ks}$ チャネルは KCNQ1 (Q1: チャネル孔を形成する主サブユニット) と KCNE1 (E1: 副サブユニット) の複合体であるが、それらの遺伝子異常は致死的不整脈を引き起こす QT 延長症候群の原因となる。このことから明らかのように、 $I_{Ks}$  はヒト心室筋の再分極に極めて重要な役割を演じている。また、非糖尿病患者を対象とした研究で、高インスリン血症が QTc の延長と相関していることが報告されているが、そこにおける  $I_{Ks}$  の関与については現在のところ不明である。

目的： $I_{Ks}$  (Q1/E1 電流) に対するインスリンの作用を明らかにし、インスリンが心筋再分極過程に与える影響を検討することを目的に本研究を行った。

方法：Q1 および E1 をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、2 電極膜電位固定法によって電気薬理的検討を行った。インスリン作用の検討には、内在性の受容体を利用した。また、インスリン作用の責任領域同定のために、PCR 法を用いて欠失変異体を作製した。インスリン刺激の下流シグナルは Western blotting 法によって検討した。

結果：①インスリン ( $10^{-8}$ - $10^{-5}$  M) の急性投与は Q1/E1 電流を濃度依存的に抑制し、インスリン  $10^{-6}$  M による抑制は約 40%であった。本実験系において、インスリンによる ERK および Akt の濃度依存的なリン酸化は Western blotting によって確認できた。MEK 阻害薬 ( $10^{-6}$  M U0126) および PI3K 阻害薬 ( $10^{-6}$  M Wortmannin) を用いて検討したところ、U0126 はインスリンの作用に影響を与えないが、Wortmannin はインスリンによる Q1/E1 電流の抑制ならびに Akt のリン酸化をともに抑えることが明らかとなった。②次に Q1 のみを発現させて検討したところ、インスリンによる電流抑制作用は全く認められず、この作用には E1 が必須であることが明らかとなった。そこで、E1 の欠失変異体を作製して検討した結果、C-末端領域 (アミノ酸 107-118 番目) がインスリンの作用に大きく関与しているものと思われた。③インスリン ( $10^{-7}$  M) による長時間処置 (24 時間まで) を行ったところ、急性投与の場合と異なり、Q1/E1 電流は約 2 倍に増大した。この増大作用は MEK 阻害薬と PI3K 阻害薬によって、阻害された。

結論：インスリンは、急性投与によって Q1/E1 電流を抑制し、より長時間の投与では Q1/E1 電流を増大する作用を有している。このインスリンの作用は心筋興奮性の変化をもたらす可能性が考えられるが、今後、心筋細胞を用いたさらなる検討が必要である。

平成 25 年 1 月 16 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 吳 明華

論文題目： Effects of insulin on KCNQ1/KCNE1 currents  
(KCNQ1/KCNE1 電流に対するインスリンの作用)

審査委員： 主審査委員

藤井 聡

： 副審査委員

貞弘 孝章

： 副審査委員

石井 邦明

審査終了日：平成 25 年 1 月 15 日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

糖尿病患者においては、心筋の再分極予備能が低下して心電図上 QT 間隔が延長することがある。その原因の一つとして、遅延整流性 K<sup>+</sup>チャネル(I<sub>Ks</sub> チャネル)の活性の減少が挙げられている。I<sub>Ks</sub> チャネルはチャネル孔を形成する主サブユニット KCNQ1(Q1)と、チャネル制御を行う副サブユニット KCNE1(E1)から構成される複合体であるが、これらの異常は、致死的不整脈を引き起こす QT 延長症候群の原因の一つである。本論文の着想点は、QT 延長症候群とインスリンとの関連などの臨床報告などと矛盾はない。

本論文では、アフリカツメガエル卵母細胞に Q1 および E1 を発現させ、2 電極膜電位固定法により I<sub>Ks</sub> チャネル電流(I<sub>Ks</sub> 電流)を計測し、インスリンの I<sub>Ks</sub> 電流に対する急性作用(~40 分)および亜急性~慢性作用(3 時間~24 時間)が、電気生理および薬理学的手法により検討された。さらに、インスリンの E1 に対する作用の責任領域同定のため、PCR 法を用いて E1 欠失変異体が作製された。これら実験計画および手法は適切である。

本論文は、インスリン(10<sup>-7</sup>-10<sup>-5</sup>M)急性投与により I<sub>Ks</sub> 電流が濃度依存的に抑制され、慢性投与により増大するという結果が得られたが、インスリンの I<sub>Ks</sub> 電流に対する急性抑制効果に AKt の細胞内リン酸化が関与すること、インスリンの作用部位が E1 の C-末端領域 (アミノ酸 107-118) であること、インスリンの I<sub>Ks</sub> 電流に対する慢性効果には AKt および ERK が関与していることなど、インスリンの I<sub>Ks</sub> 電流に対する作用機序を明らかにした。これら結果は、本研究の独創的な点である。

本研究結果は、QT 延長症候群の原因の解明とその治療法の開発に寄与するものと思われ、その学問的意義のみならず社会的意義が大きい。本審査会は当研究が学位 (医学) の授与に値するものと判定する。