

# 坂田晋史 学位論文審査要旨

主 査 難 波 栄 二  
副主査 久 留 一 郎  
同 神 崎 晋

## 主論文

Instability of KCNE1-D85N that causes long QT syndrome: stabilization by verapamil

(QT延長症候群を生じるKCNE1-D85Nの不安定性：ベラパミルによる安定化)

(著者：坂田晋史、倉田康孝、李佩俐、野津智美、森川久未、三明淳一朗、檜垣克美、  
山本康孝、吉田明雄、白吉安昭、山本一博、堀江稔、二宮治明、神崎晋、  
久留一郎)

平成26年 Pacing and Clinical Electrophysiology 掲載予定

## 参考論文

1. Stabilization of Kv1.5 channel protein by bepridil through its action as a chemical chaperone

(化学シャペロン作用によるベプリジルのKv1.5チャネルタンパク安定化)

(著者：鈴木さゆり、倉田康孝、李佩俐、野津智美、長谷川輝、池田信人、加藤克、  
三明淳一朗、坂田晋史、汐田剛史、吉田明雄、二宮治明、檜垣克美、  
山本一博、白吉安昭、久留一郎)

平成24年 European Journal of Pharmacology 696巻 28頁～34頁

2. Effects of cilnidipine on serum uric acid level and urinary nitrogen monoxide excretion in patients with hypertension

(高血圧患者における血清尿酸値と尿一酸化窒素排泄に関するシルニジピンの作用)

(著者：濱田紀宏、山田健作、水田栄之助、渡邊ありさ、尾崎知博、石田勝則、  
長谷川輝、坂田晋史、三島睦夫、荻野和秀、野坂美仁、宮崎聡、太田原顕、  
二宮治明、加藤雅彦、吉田明雄、谷口晋一、山本一博、久留一郎)

平成24年 Clinical and Experimental Hypertension 34巻 470頁～473頁

# 学 位 論 文 要 旨

Instability of KCNE1-D85N that causes long QT syndrome: stabilization by verapamil  
(QT延長症候群を生じるKCNE1-D85Nの不安定性：ベラパミルによる安定化)

遺伝子多型であるKCNE1-D85Nは、緩徐活性化遅延整流カリウム電流 (IKs) が抑制されることにより、QT延長症候群の病態を生じることが知られている。本研究では、KCNE1-D85N 蛋白の安定性と機能に関する検討、および各種薬剤が本蛋白に与える影響に関して検討を行った。

## 方 法

COS7細胞に、会合してIKsチャンネルを形成するKCNQ1と野生型およびKCNE1-D85Nを共発現させた。免疫ブロット解析、免疫染色法およびパッチクランプ法を用いて、その発現、蛋白の分解速度、細胞内局在およびKCNQ1/KCNE1がコードするチャンネル電流を測定した。

## 結 果

KCNQ1との共発現下において蛋白の発現量はKCNE1野生型と比較し、m-RNAの発現には差が認められないものの、KCNE1-D85Nでは有意に減少していた。KCNE1-D85Nは野生型と比較し、顕著にユビキチン化され、蛋白分解速度は速かった。プロテオソーム阻害薬MG132を投与することで、KCNE1-D85Nの蛋白発現量は増加した。免疫染色による検討でKCNE1-D85Nのシグナルは、ゴルジ体や小胞体では発現は増加するが、細胞膜での発現は減少していた。パッチクランプによるIKs電流はKCNQ1と野生型KCNE1の共発現と比較し、KCNQ1とKCNE1-D85Nの共発現では顕著に減少していた。ベラパミルを0.5-10  $\mu\text{M}$ 投与することで、共発現下のKCNE1-D85Nの蛋白発現量は増加を認め、ユビキチン化も減少し、蛋白分解速度も抑制された。KCNQ1/KCNE1-D85Nチャンネルによる電流もベラパミル投与により増加した。このベラパミル投与による効果は、抗不整脈薬であるアミオダロン存在下では認められなかった。

## 考 察

本研究では、薬剤性QT延長症候群患者で頻度の多い遺伝子多型であることが報告されているKCNE1-D85Nにおいて、KvLQT1と共発現下ではその蛋白の発現量が野生型と比較し有意に減少することが示された。この蛋白発現量の減少は、顕著にKCNE1-D85Nにおいてユビキ

チン化が生じ、蛋白分解が促進するためであることが示され、IKs電流も減少を認めた。

本研究においてまた、抗不整脈薬であるベラパミルが、KCNE1-D85N蛋白発現量を増加、膜電流の増加を生じることも示された。これは、ベラパミルがユビキチン化を阻害し、蛋白の安定化に寄与し、IKs電流の増加を生じるためであると考えられた。興味深いことに、アミオダロン存在下では、このベラパミルの効果は消失した。これはベラパミルが化学シヤペロンとして機能することでKCNE1-D85Nの蛋白安定化に寄与するものである可能性が示唆された。本研究では、KCNE1-D85Nにおいて、ベラパミルが蛋白の安定性に寄与することでLQT5患者の治療薬となり得る可能性が示唆された。

## 結 論

遺伝子多型であるKCNE1-D85Nは、ユビキチン-プロテオソーム系での蛋白分解過程により、その蛋白の発現量は野生型と比較し減少する。

これが、IKs電流が減少する一因と考えられ、KCNQ1/KCNE1-D85Nチャネル電流は野生型と比較し、その電流は顕著に減少する。抗不整脈薬であるベラパミルはKCNE1-D85Nの蛋白分解過程を阻害し、蛋白発現量を増加させることで、IKs電流を増加させ、当該患者の治療薬となる可能性が示された。