

KCNQ1 基因与 2 型糖尿病发病关系的研究进展

张莉 综述,石建华,项平 审校

[关键词] 糖尿病,非胰岛素依赖型;KCNQ1 基因;电压依赖性钾离子通道;综述

[中国图书资料分类法分类号] R 587.1 [文献标识码] A

2 型糖尿病是一种多基因遗传异质性疾病,其病因十分复杂,通常认为其发病与遗传及环境两大因素密切相关,在遗传因素和环境因素共同作用下引起胰岛素抵抗和 B 细胞功能缺陷。所以阐明 2 型糖尿病易感基因及其与环境因素、其他因素相互作用,是防治 2 型糖尿病的前提之一。因此,寻找 2 型糖尿病的易感基因一直是人类基因研究的主要任务。迄今为止,已有多个基因变异区域被发现与 2 型糖尿病密切相关,包括 PPARG、KCNJ11、TCF7L2、IGF2BP2、CDKN2A/B、FTO、CDKAL1、HHEX、SLC30A8 和 Chr11 等。最近日本的两个研究小组联合欧洲研究小组,用全基因组关联研究(GWAS)方法,以亚洲人群为对象,发现了一个新的 2 型糖尿病的易感基因:KCNQ1 基因。本文就 KCNQ1 基因及其与 2 型糖尿病发病风险相关性的最新研究成果作一综述。

1 KCNQ1 基因及其所编码的蛋白结构及生理作用

KCNQ1 基因是电压依赖性钾离子通道家族的一员,又名 ATFB1、FLJ26167、JLNS1、KCNA8、KCNA9、KVLQT1、Kv1.9、Kv7.1、LQT、LQT1、RWS、SQT2、WRS,定位于第 11 号染色体 11p15.5,约 400 kb,由 17 个外显子组成,外显子的大小从 47(外显子 14)到 1 122 bp(外显子 16)^[1]。KCNQ1 所编码的蛋白是 KCNQ 家族成员之一^[2],通常称为 KvLQT1,是一个膜电位钾通道蛋白,由 676 个氨基酸残基组成,具有 6 个跨膜结构域和一个具有离子选择性的 P 环,4 个相同 α 亚基的 P 环组成一个离子滤过性孔道,孔区的结构高度保守,决定了通道对钾离子的高度选择性,第 4 个跨膜区(S4)上含有 4 个带正电荷的氨基酸残基,为电压敏感区,能够感受膜电位的变化,调节孔道开放与关闭^[3]。S5~S6 之间的连接区域形成离子的传导通路,具有钾通道的特征序列 TxxTx-GYG^[4]。N-末端和 C-末端都位于胞内,N 末端有 100 个氨基酸左右,人类 KCNQ1 基因有 122 个氨基酸含有许多 PKA 的作用位点;C 末端很长,含有保守序列“A 区”,人类基因 C 末端有 322 个氨基酸,其中 589~620 位氨基酸与通道的组装和上膜有关^[5]。KCNQ1 基因在心脏、内耳血管纹、胰腺、前列腺、肾脏、小肠、外周血白细胞中均有表达,在心脏中的表达水平最高。研究^[6]证实,KCNQ1 和 KCNE 家族蛋白相互作用,装配成功能性钾通道,发挥各种生理功能。电生理研究表明,KCNQ1 和 KCNE1 在心肌细胞中装配成慢激活延迟整流钾通道,形成 I_{ks} 电流,参与心肌活动。KCNQ1/KCNE1 还表达在内耳边缘细胞顶端胃黏膜壁细胞顶部、小肠和结肠滤泡上皮细胞以及肾脏远曲小管上皮细胞管腔膜。

KCNQ1/KCNE2 分布于胃黏膜壁细胞和肾小管上皮细胞,参与胃酸的分泌和水盐代谢等重要生理作用^[7]。KCNQ1 和 KCNE3 共同表达在小肠、结肠和肾脏组织中。KCNE4 和 KCNE5 编码单一跨膜蛋白对 KCNQ1 有明显的抑制作用^[8]。KCNQ1 突变与心律失常、耳聋、胃肠道等多种疾病相关。

2 KCNQ1 基因核苷酸多态性与 2 型糖尿病的关系

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)是指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性,它是人类可遗传的变异中最常见的一种。单核苷酸多态性的研究已广泛应用于遗传性疾病,尤其是多基因遗传性疾病易感基因的研究及精确定位中。以 Hiroyuki 等^[9]为首的日本研究小组运用 GWAS 方法,以日本人为研究对象,对 207 097 SNPs 进行全面筛查,发现了 2 型糖尿病新的易感基因 KCNQ1,又经过多次对 2 型糖尿病组及健康人对照组的基因多态性分析,最后筛选出 6 个与 2 型糖尿病发病风险显著相关的 SNP 位点,包括位于 CDKAL1 基因 6p22.3 的 3 个 SNP rs4712524、rs9295475 和 rs9460546 及位于 IGF2BP2 基因 3q27.2 上的 rs6769511 和 rs4376068,还有一个就是位于 KCNQ1 基因 11p15.5 的 rs2283228。CDKAL1 and IGF2BP2 基因均已被证实为 2 型糖尿病的易感基因,而 KCNQ1 则是首次被发现与 2 型糖尿病的发病风险相关,继续的研究又在 SNP rs2283228 临近区域,发现了在包括 SNP 在内大约 40 kb(30 kb 上游和 10 kb 下游)LD 区域内又有多个 SNPs 显示了 2 型糖尿病显著相关性,并且其中有 6 个表现了比 rs2283228 更强的相关性,可使 2 型糖尿病的发病风险增加约 2 倍。它们分别是 rs2237897 ($P = 6.8 \times 10^{-13}$); rs2237896 ($P = 3.9 \times 10^{-12}$); rs2299620 ($P = 8.3 \times 10^{-11}$); rs2237895 ($P = 7.3 \times 10^{-9}$); rs2237892 ($P = 1.3 \times 10^{-7}$); rs163171 ($P = 4.8 \times 10^{-7}$),这些位点与 2 型糖尿病易感性的关系在新加坡、丹麦人群中也得得到了一致的验证。这一研究成果发表在美国 2007 年 8 月 17 日的自然遗传学杂志网络版上。同一时期,以 Yasuda 等^[10]为首的日本国际医疗中心研究小组也用同样的方法,比较 2 型糖尿病患者和普通人的 SNP,又发现位于 KCNQ1 基因内区的 rs2237892 的变异与 2 型糖尿病的发病密切相关,这一结果在韩国、中国、欧洲及日本两个独立人群中都得到验证。并发现此区域的碱基排列少有差错,2 型糖尿病的发病风险将增加 1.3~1.4 倍。KCNQ1 基因致病的机制还不清楚,可能与 KCNQ1 基因在胰腺上的分布有关。通过对稳态模型的 B 细胞功能或胰岛素敏感性的评估,在对照组中,风险等位基因的多态性与胰岛素分泌减少相关,统计分析表明,“KCNQ1”基因的一处碱基排列顺序的差异可能导致胰岛素分泌量下降。而早在 2002

[收稿日期] 2009-03-26

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 内分泌科,安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 张莉(1984-),女,硕士研究生。

年, Warth 等^[11]就研究发现 KCNQ1/KCNE1 在小鼠胰腺中高表达, 形成膜电位钾通道和慢激活的钾电流。在乙酰胆碱的作用下, 间接地调节细胞内钙离子浓度和降低钙激活的 Cl 通道的电导性, 从而调节胰腺分泌功能。但具体机制尚不清楚。Holmkvist 等^[12]用全基因组关联扫描方法, 对 6 038 个丹麦人(包括 4 567 个糖耐量正常人, 508 个空腹血糖受损者, 707 个糖耐量减低者及 256 个 2 型糖尿病患者)进行研究, 并用一个全面线性模型检测不同人群间检测项目如血清胰岛素、血清 C-肽等的数量变化, 结果发现 KCNQ1 基因上的 rs2237895(A/C)上的等位基因 C 与胰岛素分泌的减少密切相关, 并且女性此基因的变异所引起的胰岛素释放的减少比男性更显著。

3 KCNQ1 基因与 2 型糖尿病易感性关系

在第 10 届亚洲分子糖尿病研讨会上, Kazuaki 就 KCNQ1 基因中糖尿病遗传易感性相关 SNPs 研究作了详细的报告, 此前发现的多种与 2 型糖尿病相关的遗传基因多以欧美人为对象, 许多研究证实 2 型糖尿病易感变异基因的出现频率与人种有关, 对非欧洲种族的人群进行基因相关性研究非常重要。KCNQ1 基因是首次以亚洲人为对象确定的 2 型糖尿病的相关易感基因。不同于以往许多被发现的 2 型糖尿病基因在不同种群中的分布中有巨大差异, 且不能得到一致重复验证, 调查结果显示, 对亚洲及东欧人种而言, “KCNQ1”基因与易患 2 型糖尿病均密切相关。KCNQ 基因所编码的钾离子通道家族, 是膜电位钾离子通道的一个重要分支。钾离子是细胞信息传递中一种主要实行跨膜转运的载流离子。钾通道也是一类在机体内普遍存在的膜蛋白, 通过钾通道的钾离子电流在很多生理过程中扮演着极为重要的角色, 包括心率调节、肌肉收缩、神经递质释放、神经元兴奋、胰岛素分泌、上皮电解质转运、细胞体积调节和细胞增殖等。KCNQ1 作为新发现的 2 型糖尿病的易感基因, 其发病机制还需要进一步的研究去阐明。而 KCNQ1 上 SNPs 是如何作用于胰腺导致胰岛素分泌减少, 或者通过其他途径作用导致 2 型糖尿病的发病风险增加, 如何得到分子水平的阐释是未来研究的热点问题。新遗传基因的发现还将有助于 2 型糖尿病的早期诊断以及寻找新的作用靶点, 研究出新的治疗方法。此外, 很多情况下行使生理功能的钾离子通道多是与其他蛋白或亚基共同起作用的多分子聚集体。以往有很多的关于钾离子通道与其调节蛋白相互作用的研究报道^[6-8], 如 KCNQ1 基因编码的通道蛋白多于 KCNE1 或 KCNE3 相互作用, 发挥不同生理作用; KCNQ1 基因变异而致 2 型糖尿病发病风险增加的过程中, 是否也有其他基因及其编码产物的参与, 比如 KCNE 家族, 值得思考和进一步的研究; 既往对于 KCNQ1 基因在心肌内分布最多, 而许多糖尿病患者合并心肌的改变, KCNQ1 是否在两者的作用中有相关性, 是否对各自的疾病过程有相互影响, 也为 2 型糖尿病及其并发症的研究提供了新的研究思路和方向。

4 KCNQ1 基因突变与其他相关疾病的研究

KCNQ1 表达在多种组织中, 包括心肌、骨骼肌、胃肠道、肾脏、胰脏、内耳、支气管和肺等, 它们装配成功能性钾通道, 参与机体重要生理功能。随着 GWAS 及 SNPs 分析, 发现 KCNQ1 突变可以通过多种机制影响上述通道蛋白的运输、

组装和行使正常功能, 而导致多种疾病的发生。

4.1 KCNQ1 与心律失常 KCNQ1 基因所编码的钾离子通道蛋白在心肌上表达最多, 研究证实其与心肌运动密切相关, KCNQ1 被认为是 L-QT 综合征的主要易感致病基因。KCNQ1 突变可能破坏了小分子信号区域。当信号体系破坏后, 通道便不能被正常地调节, 控制心肌细胞动作电位的作用失衡, 进而引起心律失常, 被认为是心律失常发生的重要机制。此外研究表明基因突变而导致的通道亚基间相互作用缺陷是造成通道功能异常的发病机制之一。Wang 等^[13]证实了 KCNQ1 基因突变与 L-QT 综合征有关。迄今已有约 100 多种 KCNQ1 基因突变被证实与 LQTS 有关, Nishio 等^[14]通过对患 L-QTS 的人群及小鼠模型分析后发现, KCNQ1-V207M 突变可能是 L-QT 综合征患者致病和致死的原因。KCNQ1 还被发现是纤维心房颤动的致病基因。Chen 等^[15]利用连锁分析的方法在四代房颤家系中将其致病基因定位于第 11 号染色体 11p15.5, 又通过对同属一个家系的心脏病患者的遗传连锁分析, 在心脏钾离子通道基因 KCNQ1 中发现了一个点突变 S140G。研究者进一步将突变基因和辅助基因导入培养的细胞内, 通过细胞电生理分析等实验结果进一步证明该突变是家族性房颤的获得性突变。Lundby 等^[16]发现 KCNQ1 基因突变 Q147R 与永久性房颤相关, 此突变可在心肌去极化中减低钾电流的振幅, 导致功能丧失, 同时还可以终止由电压依赖的 Kv7.1/KCNE1 通道携带的电流频率。Bellocq 等^[17]又发现 KCNQ1 基因突变与短 QT 综合征相关。Olszak-Was'kiewicz 等^[18]对波兰约 100 名心肌梗死后的患者进行基因分析后发现, KCNQ1 基因内区的 C2505846A、G2753881A、T2755854C、T2755875G 能影响疾病的临床进程。Ohno 等^[19]通过对日本一个耶维尔和朗格-尼尔森综合征家系研究后发现一个新的 KCNQ1 的错义突变 W248F 与耶维尔和朗格-尼尔森综合征相关。

4.2 KCNQ1 与耳聋、胃肠道等疾病 Philine^[20]报道原位杂交的方法发现 KCNQ1/KCNE1 钾通道共同表达在内耳边缘细胞顶端, 与 KCNJ10 和 KCNQ4 等通道协同作用, 将钾离子分泌到内淋巴液中, 参与内耳淋巴液的生成和钾离子的循环, 维持正常的听觉功能。KCNQ1 突变导致通道功能改变, 可造成耳聋和前庭功能丧失。此外, KCNQ1 还表达在胃壁细胞上, 形成钾离子通道, 构成了钾离子回流的通路。KCNQ1 基因敲除的小鼠中, 胃酸分泌量减少, 胃液 pH 值升高, 引起慢性胃炎、胃不典型增生和胃癌。但在 KCNQ1 功能缺失性突变的患者并未出现此现象^[21]。Richard 等^[22]利用免疫组织化学和多克隆抗体技术, 已证明 KCNQ1 存在于小肠、空肠以及结肠上皮基底细胞。KCNQ1/KCNE1 通道在电解质分泌和营养物质的重吸收过程中起重要作用。KCNQ1/KCNE1 敲除的小鼠, 氯离子分泌量减少了 40% 左右, 表明 KCNQ1 突变可能导致肠道功能紊乱; KCNQ1 突变还被认为可能导致水盐代谢异常, KCNQ1/KCNE3 通道在肾脏远曲小管有分布, 并和 lks 一起参与钾离子分泌过程, 调节机体的水和电解质平衡。研究^[23]发现, KCNQ1/KCNE1 通道可调节醛固酮分泌, KCNE1 敲除的小鼠, 血浆中 K 浓度低。

糖尿病作为一个多基因疾病, 它的发生、发展与很多遗传之外的因素相关, 是一个多因素复合体^[24]。人类攻克

这些多基因疾病还很遥远,糖尿病分子病因学是目前关于糖尿病研究的热点问题,通过筛查糖尿病的某些易感基因,探讨基因功能对糖尿病及其并发症的起病与发展的影响,这为进一步基因治疗及家系内筛查以进行发病前诊断提供了理论依据;及早发现高危人群,同时改变环境中的影响因素,改变高危人群的生活行为习惯,寻找新的干预手段来阻止或延缓 β 细胞功能的损害与衰退,以早期预防或延缓糖尿病的发生。糖尿病分子病因学研究不但增加了对糖尿病多种遗传学及环境因素发病机制的认识,而且还逐渐将糖尿病按照分子病理学机制进行归类,使得糖尿病分子病因学研究直接服务于临床实践。KCNQ1作为新的2型糖尿病的易感基因,其在2型糖尿病发病的作用机制,影响程度,作用途径及在各个种群中的分布及作用,其与临床诊断及治疗的方法及意义还需更深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] Splawski I, Shen J, Timothy KW, *et al.* Genomic structure of three long QT syndrome genes: KVLQT1, HERG, and KCNE1 [J]. *Genomics*, 1998, 51(2): 86-97.
- [2] Wang Q, Curran ME, Splawski I, *et al.* Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias [J]. *Nat Genet*, 1996, 12(1): 17-23.
- [3] Gianina P, Geoffrey WA. The role of S4 charges in voltage-dependent and voltage-independent KCNQ1 potassium channel complexes [J]. *J Gen Physiol*, 2007, 129(2): 121-133.
- [4] Seeböhm G, Westenskow P, Sanguinetti MC, *et al.* Mutation of colocalized residues of the pore helix and transmembrane segments S5 and S6 disrupt deactivation and modify inactivation of KCNQ1 K⁺ channels [J]. *J Physiol*, 2005, 563(Pt 2): 359-368.
- [5] Snyders DJ, Labro AJ, Raes AL, *et al.* Role of the S6 C-terminus in KCNQ1 channel gating [J]. *J Physiol*, 2007, 585(Pt 2): 325-337.
- [6] Panaghie P, Tai KK, Geoffrey WA. Interaction of KCNE subunits with the KCNQ1 K⁺ channel pore [J]. *J Physiol*, 2006, 570(Pt 3): 455-467.
- [7] Roepke TK, Anantharam A, Kirchhoff P, *et al.* The KCNE2 potassium channel ancillary subunit is essential for gastric acid secretion [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(33): 23740-23747.
- [8] Grunnet M, Jespersen T, Rasmussen HB, *et al.* KCNE4 is an inhibitory subunit to the KCNQ1 channel [J]. *J Physiol*, 2002, 542(Pt 1): 119-130.
- [9] Hiroyuki U, Atsushi T, Takahisa K, *et al.* SNPs in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes in East Asian and European populations [J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(9): 1098-1102.
- [10] Yasuda K, Miyake K, Horikawa Y, *et al.* Variants in KCNQ1 are associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus [J]. *Nat Genet*, 2008, 40(9): 1092-1097.
- [11] Warth R, Garcia AM, Kim J, *et al.* The role of KCNQ1/KCNE1 K⁺ channels in intestine and pancreas: lessons from the KCNE1 knockout mouse [J]. *Eur J Physiol*, 2002, 443(5/6): 822-828.
- [12] Holmkvist J, Banasik K, Andersen G, *et al.* The type 2 diabetes minor allele of rs2237895 KCNQ1 associates with reduced insulin release following an oral glucose load [J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(6): e5872.
- [13] Wang Q, Curran ME, Splawski I, *et al.* Positional cloning of a novel potassium channel gene: KVLQT1 mutations cause cardiac arrhythmias [J]. *Nat Genet*, 1996, 12(1): 17-23.
- [14] Nishio H, Kuwahara M, Tsubone H, *et al.* 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 [J]. *Int J Legal Med*, 2009, 123(3): 253-257.
- [15] Chen YH, Xu SJ, Bendahhou S, *et al.* KCNQ1 gain-of-function mutation in familial atrial fibrillation [J]. *Science*, 299(5604): 251-254.
- [16] Lundby A, Ravn LS, Svendsen JH, *et al.* KCNQ1 mutation Q147R is associated with atrial fibrillation and prolonged QT interval [J]. *Heart Rhythm*, 2007, 4(12): 1532-1541.
- [17] Bellocq C, van Ginneken AC, Bezzina CR, *et al.* Mutation in the KCNQ1 gene leading to the short QT-interval syndrome [J]. *Circulation*, 2004, 109(20): 2394-2397.
- [18] Olszak-Waskiewicz WM, Dziuk M, Kubik L, *et al.* Novel KCNQ1 mutations in patients after myocardial infarction [J]. *Cardiol J*, 2008, 15(3): 252-260.
- [19] Ohno S, Kubota T, Yoshida H, *et al.* A novel mutation associated with Jervell and Lange-Nielsen syndrome in a Japanese family [J]. *Circ J*, 2008, 72(5): 687-693.
- [20] Philine W. K cycling and endochlear potential [J]. *Hear Res*, 2002, 165(1/2): 129.
- [21] Elso CM, Lu X, Culiati CT, *et al.* Heightened susceptibility to chronic gastritis, hyperplasia and metaplasia in Kcnq1 mutant mice [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(22): 2813-2821.
- [22] Richard W. Potassium channel in epithelial transport [J]. *Eur J Physiol*, 2003, 446(1): 505-513.
- [23] Arrighi I, Bloch-Faure M, Grahmmer F, *et al.* Altered potassium balance and aldosterone secretion in a mouse model of human congenital long QT syndrome [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(15): 8792-8797.
- [24] 周海艳, 石建华, 黄泳齐. FABP2多态性与2型糖尿病胰岛素抵抗、糖、脂代谢的关系 [J]. *蚌埠医学院学报*, 2008, 33(6): 739-742.