Effects of KCNQ1 S140G Mutation in Human Ventricular Fibrillation Mechanism

정다운, 임기무*
메디컬IT융합공학과, 금오공과대학교, 경북 구미시 대학로 61
E-mail: dawny6960@naver.com, kmlimphd@gmail.com*

초록 Iks 칼륨 전류에 관여하는 KCNQ1유전자의 S140G 돌연변이는 심방세동에 영향을 미치는 대표적인 돌연변이 유전자로, 심방세동과 S140G 돌연변이의 상관관계를 밝히기 위한 연구들이 많이 진행되어 왔다. 하지만 S140G 돌연변이 유전자가 심방 세동 환자의 심실 반응에 영향을 미칠 수 있다는 선행연구를 비롯하여 심방과 심실의 활동전위에 영향을 미칠 수 있는 가능성이 있음에도 불구하고, KCNQ1 S140G 돌연변이 유전자의 심실세동에 대한 영향과 그 메커니즘에 대한 연구는 부족하다. 따라서 본 연구는 KCNQ1 S140G 돌연변이 유전자가 심실세동에 미치는 영향에 대한 컴퓨터 시뮬레이션 연구를 통해 그 상관관계를 밝히고자 하였다. 이를 위해 1차원 세포 모델을 비롯하여 2차원 심실세동 반응과 3차원 전기 생리학 및 기계적 수축 시뮬레이션을 진행하였다. 3차원의 전기생리학 및 기계적 수축 시뮬레이션에서는 심실의 박출 활동을 확인하기 위한 정상 박동 시뮬레이션과 심실 세동 발생시의 심실의 변화를 확인하기 위한 세동 시뮬레이션을 각각 진행하였다. 그 결과 KCNQ1 S140G 돌연변이로 인해 심실의 Iks가 증가되었으며, 그로 인해 심실의 활동 전위기간(APD)과 불응기(ERP)가 단축되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 활동전위 지속 곡선(APDr)과 불응기 지속 곡선(ERPr)이 완만하게 나타났으며, 심근세포의 전도파장이 감소하였다. 3차원 정상 박동 시뮬레이션의 결과 표준형에서 보다 KCNQ1 S140G 돌연변이형에서 심실이 소모하는 ATP의 양과 박출계수가 감소하였다. 3차원 세동 시뮬레이션 결과 표준형에서는 심실세동이 종결되었으나, S140G 돌연변이 형에서는 심실세동이 종결되지않고 유지되었으며, 심실세동이 빠르게 발생하였다. 결론적으로, KCNQ1 S140G 돌연변이로 인해 증가된 심실의 Iks는 심실의 박출 효율을 감소시키고 심실세동을 발생시키고 유지시키며, 부정맥 발생의 위험성을 높일 수 있다.

서론

KCNQ1 유전자는 심장의 'Iks'칼륨 전류를 형성하는 채널의 기공을 형성하는 α-subunit으로 심

장의 활동 전위에서 적절한 재분극을 결정적으로 담당한다.[1, 2] 하지만 KCNQ1유전자의 S140G돌연변이는 심방근육세포에서 Iks를 증가시키기 때문에 활동전위지속기간(APD)과 불응기(ERP)를 단축시켜 심방세동을 유발 및 지속시키고 부정맥의 발생에 영향을 미치게 된다. [1, 3]

심방 세동(AF)은 일반적인 심장 부정맥 중 하나로 지난 몇 년 동안, 우리는 심방 세동과 KCNQ1유전자 및 그 돌연변이의 상관관계를 밝히기 위한 연구들을 많이 진행해왔다.[4] 2007년에 진행된 동물 실험에서는 인간의 KCNQ1 S140G돌연변이를 실험쥐에게 적용을 하였고, 그 결과 S140G돌연변이의 발현 정도가 높을수록 방실차단(AVB)의 빈번 수가 증가한 결과를 확인할 수 있다.[5] 이러한 KCNQ1 S140G 돌연변이의 심방세동에 대한 영향은 지난 2012년의 시뮬레이션 연구에서도 확인할 수 있다.[3] 또한 2007년의 S140G 돌연변이로 인한 심방 세동 환자에 대한 임상연구의 결과에 따르면 심방 세동 환자에게서 심실의 반응이 현저하게 느려진 것을 확인할 수 있다.[5] 2010년도에는 Voltage clamp를 이용해 심방과 심실의 활성 전위 동안 재조합 Iks프로파일에 S140G돌연변이가 미치는 영향을 밝히기 위한 연구가 진행되기도 하였다.[2]

이처럼 KCNQ1 S140G돌연변이는 심방세동뿐만 아니라 심실세동에도 영향을 미칠 수 있음에도 불구하고 S140G 돌연변이로 인해 변화된 Iks의 심실세동에 대한 영향과 그 상관관계에 대한 연구는 아직 부족하다. 따라서 본 연구에서는 KCNQ1 S140G 돌연변이의 심실 세동 발생에 대한 영향을 컴퓨터 시뮬레이션 연구를 통해 밝히고자 하였다.

이론 및 계산방법

본 연구를 위해서 우리는 검증된 심실 세포의 모델로써 Ten Tusscher(2006) ventricular model을 사용하였다.[6] 또한 심실 세포의 Iks 전류를 표현하기 위해 Tn모델에서 사용된 아래의 수식을 사용하였다.

$$I_{ks} = G_{ks} x_s^2 (V - E_{ks})$$

KCNQ1유전자의 S140G 돌연변이의 조건을 위해서는 Sanjay Kharche 심방 시뮬레이션에서 사용된 아래의 mutant I'_{ks} 수식을 이용하였다.

$$I'_{ks} = I_{ks} + \varphi g_{Ks} (V - E'_{rev})$$

위의 식에서 φ은 돌연변이 상태를 즉각적으로 시뮬레이션하기 위한 표준형 0(WT: Control)에서 돌연변이형 1(MT)까지의 계수 인자이다.[3] 본 연구에서는 돌연변이 형을 위해서 φ의 값을 0.1로 조정하였다. g_{Ks}는 심실모델에서의 전류 컨덕턴스의 값을 나타내는 것으로 심실 조직 심내막세포, 심근 세포, 심외막세포에 따라 tn모델에서 사용된 값들을 적용하였다.[6]

WT과 MT 시뮬레이션은 활동전위기간(APD)과 불응기(EFP)의 차이를 비교하기 위해 정상 박동의 상태의 단일 세포 모델과 3차원모델에서 진행하였다. 또한, 심실 세동 시 활동 전위와 자극에 따른 회오리 현상을 확인하기 위해 2차원과 3차원 모델의 세동 상태에서 진행하였다.

결과 및 논의

- 1차원 세포 모델에서의 S140G돌연변이 시뮬레이션

1차원 세포 모델의 시뮬레이션을 통해 심실 조직 세포인 심내막세포, 심근 세포, 심외막세포의 각 경우에 따른 APD90을 Figure 1. J, K, L의 활동 전위 그래프를 사용하여 계산하였다. APD90은 세포에서 활동 전위가 발생한 후 재분극이 90%지속되는 동안의 시간을 의미하는 것으로 Table 1에 그 결과를 나타내었다.

variant	APD90 (ms)		
	Endo	M	Epi

WT	284.1	356.1	280.2
S140G	55.5	166.3	55.4

Table 5. 1 차원 세포 모델에서 계산한 APD90

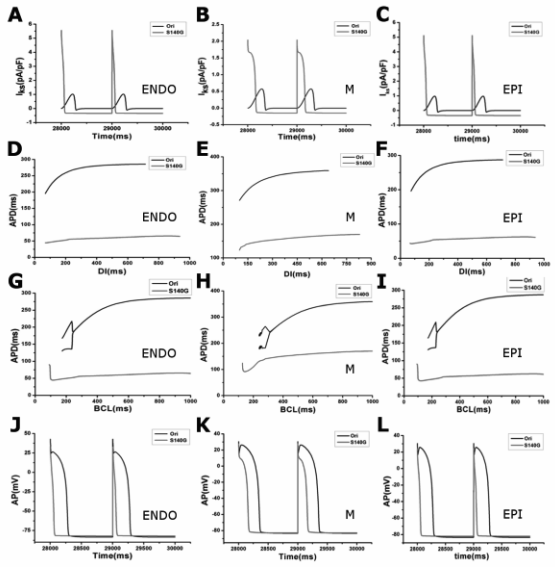

Figure 12. 1 차원 세포 모델 시뮬레이션 결과

연구에서 대조군으로 설정한 표준형(WT)의 경우 심내막세포의 APD90이 약 284ms정도로 측정되었으나, 실험군인 S140G돌연변이형의 경우 심내막세포의 APD90은 55.5ms정도로 감소하였음을 확인할 수 있었다. 이는 심근 세포와 심외막세포에서도 동일한 결과를 확인할 수 있었다. 표준형(WT)의 심근 세포에서 APD90은 356ms였으나, S140G돌연변이형에서는 166ms로 측정되었다. 심외막세포에서는 표준형(WT)에서는 280ms, S140G돌연변이형에서는 55ms의 APD90을 측정할 수 있었다.

KCNQ1 S140G 돌연변이로 인한 단일 세포 시뮬레이션의 결과가 Figure 1. 에 나타나 있다. 심방 조직 모델을 사용한 선행연구의 결과와 마찬가지로 S140G돌연변이의 영향으로 인해 각 심실조직에서의 Iks가 표준형보다 돌연변이형에서 증가하였음을 Figure 1. A, B, C를 통해 확인할 수 있다.

KCNQ1 S140G 돌연변이로 인해 증가한 Iks는 심실의 활동 전위 기간(APD)과 불응기(ERP)를 단축시켰다. 이것은 심방에서 S140G 돌연변이가 미치는 영향에 대한 선행연구의 결과와 비슷한 결과이다.[3] Figure 1D에서 I까지의 그래프에서 볼 수 있듯이 S140G돌연변이로 인해 활동 전위 기간 지속 곡선 및 불응기 지속 곡선이 표준형(WT)에서보다 돌연변이형에서 완만하게 변한 것을 확인할 수 있다.

- 2차원 모델을 사용한 S140G돌연변이 심실 세동 시뮬레이션

S140G 돌연변이로 인한 심실 세동현상을 관찰한 2차원 시뮬레이션의 결과가 Figure 2에 나타나 있다. 세동 시 표준형과 S140G 돌연변이형 2차원 시뮬레이션은 10s동안 진행하였으며 효율적으로 심실 세동을 발생시키기 위해 전도속도가 낮은 상태에서 발생한 심실세동의 조건을 초기조건으로 하여 진행하였다.

Figure 2. A는 표준형과 S140G 돌연변이형에 대한 2차원 심실세동 시뮬레이션의 결과를 0.1s 단위로 스냅사진을 촬영한 것이다. A의 스냅 사진을 통해 표준형에서 보다 S140G 돌연변이형에서 전도파장이 감소한 것을 시각적으로 확인할 수 있다.

Figure2의 B와 C는 2차원 모델에서 각각 표준형과 S140G 돌연변이형의 심실세동시 활동전위의 양상을 확인할 수 있다. B와 C의 세동 시 활동전위 그래프의 결과에서도 확인할 수 있듯이 표준형에서 보다 S140G 돌연변이형의 활동 전위 기간이 감소하였다.

- 3차원 모델을 사용한 S140G 돌연변이 심실 박동 시뮬레이션

3차원 심실 모델을 사용한 표준형과 S140G돌연변이형에서 진행한 시뮬레이션의 데이터를

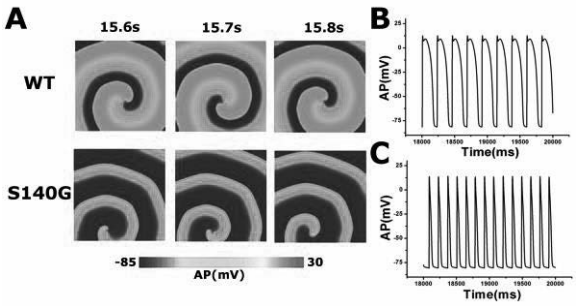

Figure 13. 2 차원 세동 시뮬레이션 결과

Table 2에 나타내었다. Table 1의 1차원 세포 모델의 결과와 같이 표준형에서 보다 S140G 돌연변이 형에서 활동 전위 기간이 더 짧게 측정 되었다. 전도 속도에서는 표준형과 S140G돌연변이 형에서 각각 67.4cm/s와 64.7cm/s로 측정되었다. 이 두개의 값을 곱하여 계산한 전도 파장은 표준형에서는 20.8cm였으며, S140G돌연변이 형에서 8.2cm였다.

variant	WT	S140G
APD90	309 ms	126.2 cm
Conduction Velocity	67.4 cm/s	64.7 cm/s
Wavelength	20.8 cm	8.2 cm

Table 6. 표준형과 돌연변이형에서의 3 차원 심실 시뮬레이션 데이터

3차원 심실 모델을 사용한 표준형과 S140G돌연변이형에서의 정상 박동 전기생리학 시뮬레이션의 스냅사진을 Figure 3에 나타내었다. Figure 3A는 표준형에서의 전기생리학 시뮬레이션 결과이며 심장이 박동하는 기본 한 주기인 600ms동안의 심실의 전기적흥분 상태와 박동하는 동안 심실에서 발생하는 압력의 정도를 보여준다. Figure 3B는 S140G 돌연변이형에서
600ms동안의 심실의 전기적흥분 상태와 심실 에서 발생하는 압력의 정도를 나타내고 있다. Figure 3.의 심실이 박동하는 동안 전기적 흥분

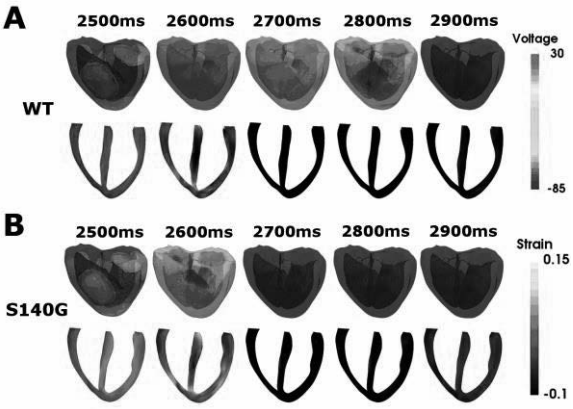

Figure 3. 심장의 전기적 흥분 기본 한 주기 동안의 3 차원 정상 박동 흥분 패턴 및 압력 스냅 사진

패턴을 통해 표준형에서 보다 S140G 돌연변이형에서 심실이 전기적으로 흥분하는 시간이 상대적으로 더 짧은 것을 확인할 수 있다. 또한, 박동 시 심실 벽에서 발생하는 압력이 표준형에서 보다 S140G돌연변이형에서 더 높게 발생한다는 것을 알 수 있다.

3차원 심실 모델을 사용한 표준형과 S140G돌연변이형에서의 정상 박동 시뮬레이션을 통해 얻은 각 조건에서의 전기적 활성 시간(EAT)과 전기적 비활성 시간(EDT) 결과를 Figure 4에 나타내었다. 전기적 활성 시간에서는 표준형과 돌연변이형에서 차이가 많이 발생하지 않았지만, 전기적 비활성 시간에서는 현저한 차이가 발생하였다. 이를 통해 Table 2의 3차원 심실에서 사용된 심실 조직의 데이터결과에서 볼 수 있듯이 S140G 돌연변이로 인해 활동 전위 기간이 단축되어, 돌연변이 형에서의 전기적 비활성 시간이 표준형에서 보다 더 낮음을 확인할 수 있다.

Figure 5와 Table 3에는 3차원 정상박동의 전기생리학 시뮬레이션 결과를 바탕으로 전기 수축연성 시뮬레이션을 통해 확인한 기계 수축 시뮬레이션의 결과가 그래프와 표로 나타나 있다. Figure 5A에서는 심장이 1회 수축하는 동안 표준형과 S140G 돌연변이형에서 좌심실과 체동맥에서 받는 압력을 보여주고 있다. 1회 수축 하는 동안 좌심실과 체동맥에서 받는 압력의 차이가 많

이 나타나진 않았으나 Figure 5B의 좌심실의 압

	WT	S140G
ATP int.	47.6	36.0
Stroke Volume (mL)	58.6	58.3
Ejection Fraction (%)	54.2	47.6
Stroke Wrok (mmHgmL)	5768	5685
Stroke Work / ATP int.	121.2	157.9

력-부피 곡선에서는 돌연변형의 심실 부피가 표준형에서 보다 증가 한 것을 확인할 수 있다.

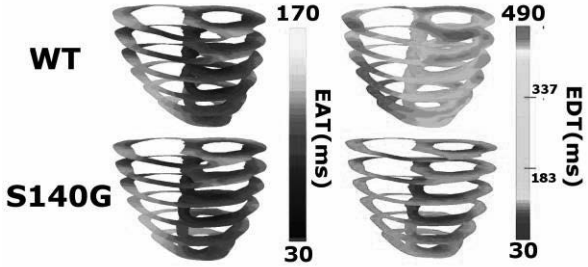

Figure 4. 전기적활성시간(EAT), 전기적비활성시간(EDT)

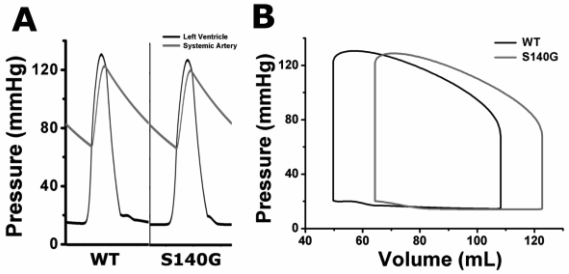

Figure 5. 심실 정상 박동 시 3 차원 전기 수축 연성 시뮬레이션 결과

전기 수축 연성 시뮬레이션을 통한 표준형과 돌연변이형의 정상 박동 반응의 데이터 결과를 Table 3에 나타내었다. 심실의 심근세포에서 소모하는 ATP의 경우 표준형에서는 47.6 정도 였으나 S140G돌연변이의 경우 36.0으로 감소하였다. 심실의 1회 박출량의 경우 표준형과 S140G돌연변이형에서 각 58.6ml와 58.3ml로 차이가 거의 없었으나, 심실의 기능의 정도를 나타내는 박출계수는 표준형의 경우 약 54%로 정상적인 심장의 박출계수 수치를 나타냈으나, S140G 돌연변이형의 경우 그 수치가 약 47.6%정도로 감소하였다. 1회 박동 시 발생하는 심실의 압력과 부피를 곱하여 구한 심실의 일의 수치 또한 표준형에서는 5768mmHgmL였지만 S140G돌연변이형에서는 5685mmHgml로 감소하였다. 하지만, 심실에서 소모하는 단위 ATP당 일의 양의 경우 S140G 돌연변이형에서의 수치가 157.9로 표준형의 121.2보다 증가한 것을 확인할 수 있다.

Table 7. 정상박동반응의 기계수축 시뮬레이션결과

- 3D모델을 사용한 S140G돌연변이 심실 세동시뮬레이션

3차원 심실 모델을 사용하여 심실세동 발생시 표준형과 S140G 돌연변이형의 심실의 반응을 보기위해 진행한 시뮬레이션의 결과를 Figure 6과 Figure 7에 나타내었다. Figure 6은 표준형에서의 심실세동 3차원 전기 생리학(A) 및 기계 수축 시뮬레이션(B)의 결과를 스냅사진으로 촬영한 것이다. 심실세동의 관찰을 위해서 각각의 시뮬레이션은 10s동안 진행되었다. 심실세동이 발생하였을 때 표준형의 경우 Figure 6에서 볼 수 있는 것과 같이 3050ms 이후로는 세동이 종결되었다.

Figure 7은 S140G돌연변이형에서의 심실세동 3차원 전기 생리학(A) 및 기계 수축 시뮬레이션(B)의 결과를 스냅사진으로 촬영한 것이다. S140G 돌연변이형의 경우 표준형의 결과와 달리 심실세동이 종결되지 않고 유지되었으며, Figure 7의 스냅사진 결과와 같이 표준형에서 보다 심실세동이 더 빠르게 발생하였다. 또한, S140G 돌연변이형의 심실에서 발생하는 활동 전위의 정도가 표준형보다 더 낮은 수치를 나타내는 것을 확인할 수 있다.

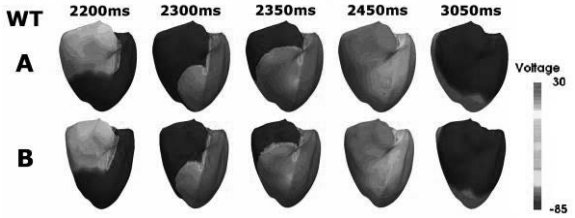

Figure 6. 표준형 3 차원 심실세동 시뮬레이션

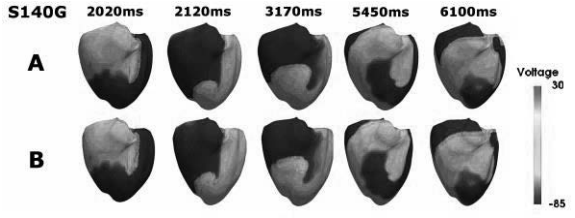

Figure 7. S140G 돌연변이형 3 차원 심실세동 시뮬레이션

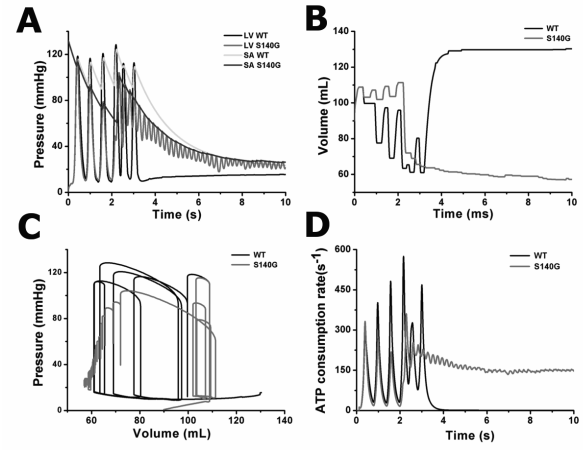

Figure 8. 3 차원 심실세동 발생 수축 시뮬레이션

기계 수축 시뮬레이션의 결과를 수치적으로 확인하기 위해 3차원 심실세동 수축 시뮬레이션의 결과를 Figure 8에 나타내었다. 표준형의 경우 S140G 돌연변이형과 달리 심실세동이 종결되어 약 3.5s이후로는 어떠한 결과 수치가 나오지 않았다. 하지만 S140G 돌연변이형의 경우 심실세동이 발생한 이후의 변화를 확인할 수 있다.

Figure 8A에는 좌심실과 체동맥에서 발생하는 압력수치가 나와있다. S140G 돌연변이 조건에서 심실세동이 발생할수록 그 수치가 점점 낮아지는 것을 확인할 수 있다.

Figure 8B에는 좌심실의 부피 변화를 확인할 수 있는데 심실세동이 진행될수록 S140G 돌연변이가 적용된 좌심실의 부피가 증가하지 못하였다. 이는 Figure 7B의 3차원 수축 시뮬레이션의 결과 스냅 사진을 통해서도 좌심실의 부피가 증가하지 못하는 것을 확인할 수 있다.

Figure 8 A와 B의 심실세동시 좌심실의 압력과 부피의 변화를 확인하기 위한 압력-부피 곡선을 Figure 8C에 나타내었다. 심실세동이 진행될수록 S140G돌연변이형의 압력-부피 곡선이 한쪽으로 치우치는 것을 확인할 수 있다.

Figure 8D는 심실세동이 발생한 동안의 심실에서 소모하는 ATP의 변화를 나타낸 것이다. 표준형의 심실은 세동이 종결되었으나 S140G 돌연변이가 적용된 심실은 세동이 발생한 이후 소모되는 ATP의 양이 약 $150S^{-1}$정도로 수렴하였다.

결론

우리는 KCNQ1 S140G 돌연변이가 심실 세동에 미치는 영향과 그 메커니즘을 분석하기 위한 연구를 진행하였다.

KCNQ1 S140G 돌연변이는 심방조직 세포 뿐만 아니라 심실조직 세포에도 Iks를 증가시켰다. S140G 돌연변이로 인해 증가된 Iks는 심근세포의 활동전위 지속기간(APD)과 불응기(ERP)를 단축시켰으며, 활동전위 지속곡선과 불응기 지속곡선을 완만하게 만들었다. 또한 S140G 돌연변이는 심실의 전기적 비활성 시간(EDT)을 감소시켰으며, 심실의 박출 효율을 감소시켰다. KCNQ1 S140G 돌연변이로 인해 증가된 심실세동에 대한 민감성은 심실세동이 발생하는 시간을 단축키고, 심실세동이 발생한 이후 심실의 부피 변화와 ATP 소모량의 변화를 단조롭게 만들었다.

이는 S140G 돌연변이에 의해 감소된 활동전위

기간과 불응기가 심실세동을 유발시키고 심실 부정맥의 위험성을 증가시킬 수 있음을 의미한다.

감사의 글

본 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단 첨단 사이언스·교육 허브 개발 사업의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2016-936606).

참고문헌

[1] Chen, Y.-H., et al., *KCNQ1 Gain-of-Function Mutation in Familial Atrial Fibrillation.* Science, 2003. **299**(5604): p. 251-254.

[2] El Harchi, A., H. Zhang, and J. Hancox, *The S140G KCNQ1 atrial fibrillation mutation affects 'I (KS)'profile during both atrial and ventricular action potentials.* J Physiol Pharmacol, 2010. **61**(6): p. 759-764.

[3] Kharche, S., et al., *Pro-arrhythmogenic effects of the S140G KCNQ1 mutation in human atrial fibrillation - insights from modelling.* J Physiol, 2012. **590**(18): p. 4501-14.

[4] Hasegawa, K., et al., *A novel KCNQ1 missense mutation identified in a patient with juvenile-onset atrial fibrillation causes constitutively open IKs channels.* Heart Rhythm, 2014. **11**(1): p. 67-75.

[5] Yang, Y., et al., *Human KCNQ1 S140G mutation is associated with atrioventricular blocks.* Heart Rhythm, 2007. **4**(5): p. 611-618.

[6] Ten Tusscher, K., et al., *A model for human ventricular tissue.* American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2004. **286**(4): p. H1573-H1589.