

## Expression Pattern of Kir6.2 in Skeletal Muscle Cells of Patients with Familial Hypokalemic Periodic Paralysis

Sung-Jo Kim, Dong-Ho Yoon and June-Bum Kim<sup>1\*</sup>

Department of biotechnology, Hoseo University, 165, Baebang-Myun, Asan 336-795, Chungnam, Korea

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Konyang University College of Medicine, 685, Gasooon-dong, Su-goo, Daejeon, 320-718, Korea

Received December 10, 2009 / Accepted March 4, 2010

Familial hypokalemic periodic paralysis (HOKPP) is an autosomal dominant disorder characterized by reversible flaccid paralysis and intermittent hypokalemia. Although it has been reported that decreased activity in the  $K_{ATP}$  channels of the skeletal muscle cell membrane plays a role in the pathogenesis of HOKPP, a clear mechanism has not yet been established. This study aimed to investigate the molecular biological mechanism underlying the decreased activity of  $K_{ATP}$  channels in the skeletal muscles of familial HOKPP patients by studying the levels of the  $K_{ATP}$  channel subunit Kir6.2. We found that when cells obtained from healthy individuals (normal cells) and HOKPP patients (patient cells) were treated with 4 mM potassium buffer, there was no quantitative change in the KCNJ11 mRNA levels and no difference in the Kir6.2 protein expression in the cytosol and cell membrane. On the other hand, when 1 mM potassium buffer was used, normal cells showed decreased expression of KCNJ11 mRNA as well as decreased expression of Kir6.2 protein in the cell membrane. However, patient cells treated with the same buffer showed no quantitative change in the levels of KCNJ11 mRNA or in the levels of Kir6.2 protein in the cytosol and cell membrane. Thus, in HOKPP patients, the Kir6.2 protein cannot be transported from the cell membrane to the cytosol, leading to closure of the  $K_{ATP}$  channels, induction of depolarization, and subsequently, to the paralytic symptoms observed in the patient. Our findings thus provide new insights into the pathogenesis of HOKPP.

**Key words :** Hypokalemic periodic paralysis, potassium channel,  $K_{ATP}$  channel, depolarization, Kir6.2

### 서 론

가족성 저칼륨성 주기성마비(familial hypokalemic periodic paralysis)는 간헐적으로 발생하는 저칼륨혈증을 동반한 가역적 이완성 근육마비를 특징으로 하는 상염색체 우성 유전 질환이다. 마비증상의 첫 발생 시기는 영아기부터 사춘기에 이르기까지 다양하나 많은 환자들에서 사춘기 전후 시작되며, 이후 주기적 또는 간헐적으로 이른 새벽이나 아침에 사지의 위약감 또는 전신의 마비증상이 나타나 수시간에서 길게는 수일간 지속된 뒤 저절로 회복된다. 또한 당분이나 염분이 많은 음식의 섭취 및 과도한 운동, 추위나 정서적인 스트레스에 노출될 경우에도 증상이 유발될 수 있다[10,13,19]. 분자유전학적 연구를 통해 골격근 세포의 칼슘채널 유전자(CACNA1S: L-type, voltage-dependent calcium channel alpha 1S subunit gene)와 나트륨채널 유전자 (SCN4A: type IV, voltage-gated sodium channel alpha subunit gene)의 돌연변이가 원인으로 알려져 있으나 아직까지 이로 인한 발병기전은 정확히 밝혀져 있지 않다[4].

기존의 연구들에서 골격근 세포막에 위치한 adenosine tri-

phosphate (ATP) 의존성 칼륨 채널(ATP-sensitive potassium channel,  $K_{ATP}$ )의 활성화 감소가 저칼륨성 주기성마비의 발병과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다[19,20]. 골격근 세포막에 위치한  $K_{ATP}$ 는 네 개의 내향성 정류형 칼륨 채널(Inwardly rectifying potassium channels, Kir) family인 Kir6.0 (Kir6.1, Kir6.2) 단위체(subunits)와 네 개의 sulfonylurea receptor (SUR) 단위체들(SUR1, SUR2A, SUR2B)로 구성된다[7,18]. 이전의 한 실험에서는 정상 쥐를 칼륨 결핍상태에 노출시킨 뒤 Kir6.2 단백질의 발현감소를 확인하였고 이를 통해 가족성 저칼륨성 주기성마비 환자에서  $K_{ATP}$  채널의 활성화 감소를 통한 발병 가능성을 보고 하였다[21]. 그러나 유전적으로 정상인 쥐가 저칼륨 상황에서 나타낸 반응이라는 점에서 유전적 결함을 지닌 환자의 병증에 대한 직접적인 연관성을 제시하지 못하였다.

최근 다양한 연구들에서 세포 막 단백질의 발현양상과 비정상적 위치변화로 인한 여러 질환들의 병태생리학적 발병기전이 보고되고 있다[1,14,22]. 최근 본 연구팀은 본 질환 환자들의 근육세포에서 탈분극 발생 후 SUR2A 단백질이 세포질로 회수되지 못하고 비정상적으로 세포막에 잔존함으로써  $K_{ATP}$  채널의 기능이상을 초래할 수 있음을 보고한 바 있다[11]. 따라서 본 논문에서는 SUR2A와 짝을 이루어  $K_{ATP}$  채널을 구성하는

#### \*Corresponding author

Tel : +82-42-600-8835, Fax : +82-42-600-8835

E-mail : hoppdoctor@hanmail.net

Kir6.2 단백질의 칼륨농도에 따른 변화 유무를 확인하기 위하여, 가족성 저칼륨성 주기성마비 환자의 골격근 세포를 이용하여 정상 세포의 칼륨 농도(4 mM)와 탈분극 유발을 위한 저칼륨 농도(1 mM)의 조건에서 Kir6.2 단백질과 그 유전자인 KCNJ11 (potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 11)의 발현양상의 변화를 확인하고 이를 통해 본 질환의 분자생물학적 발병기전을 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 대상

건양대학교병원 소아청소년과에서 치료중인 108명의 가족성 저칼륨성 주기성 마비 환자들 중 가장 심한 임상 증상을 나타낸 3명의 환자와 3명의 정상인으로부터 실험에 대한 설명 후 서면 동의를 받아 기관 연구 윤리위원회(IRB)의 심의를 거쳐 시행하였다. 환자의 n 수에 대한 유효성 확인은 희귀질환 환자를 통한 실험의 선례를 참고하였다[2,3,6].

### 근육 표본 채취

피험자를 침상에 누인 상태로 안정을 취하게 하여 비복근(gastrocnemius)의 생검부위를 lidocaine으로 국소마취 시킨 뒤 외과적 절개를 통해 표본을 채취하였다.

### 칼륨 완충용액(potassium buffer)의 제조

생리적 정상 세포의 칼륨농도에 세포를 노출시키기 위해 pH 7.2의 4 mM 칼륨 완충용액을 제조(4 mM KCl, 145 mM NaCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM Glucose, 10 mM 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid (MOPS)) 하였고, 저칼륨 조건을 통해 환자의 골격근 세포의 탈분극을 유도하기 위해 pH 7.2의 1 mM 칼륨 완충용액을 제조(1 mM KCl, 145 mM NaCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM Glucose, 10 mM MOPS)한 후 멸균하여 사용하였다.

### 골격근 세포배양 및 칼륨 완충용액 처리

골격근 세포의 증폭과 분화는 기존에 실시된 실험 방법을 참고로 수행되었다[5]. 이를 간략히 기술하면, 가족성 저칼륨성 주기성마비 환자와 정상인으로부터 채취한 골격근 표본을 전처리 과정을 거친 후, 20% Fetal Bovine Serum (Thermo Scientific, South Logan, UT, USA)과 1% Penicillin Streptomycin (Thermo Scientific, South Logan, UT, USA)이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Thermo Scientific, South Logan, UT, USA)을 사용하여 37°C 95% air 및 5% CO<sub>2</sub> incubator (Thermo Scientific, South Logan, UT, USA)내에서 배양하였다. 이후 골격근 세포를 DMEM (Thermo Scientific)에 2% Horse serum (Thermo Scientific, South Logan, UT, USA) 및 1% Penicillin

Streptomycin (Thermo Scientific)을 첨가한 배지에 배양하며 5일간 분화를 유도하였다. 환자와 정상인의 골격근 세포 모두 12 passage 상태의 세포를 이용하여 각 농도의 칼륨 완충용액을 처리하고 30분 경과 후 실험에 사용하였다.

### Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) 분석

저칼륨성 주기성마비 환자와 정상인의 골격근 세포로부터 RNA를 추출하기 위해 TriZol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하였고 전체 RNA중 100 ng을 역전사 효소를 이용하여 cDNA로 전환하였다. Accupower PCR PreMix (BIONEER, Daejeon, Korea)를 혼합한 후 KCNJ11 primer를 통해 quantitative RT-PCR을 수행하였다. 각각 3회의 반복실험을 통해 얻어진 결과는 평균 ± 표준편차로 표기하였고, 통계적 유의성 검정은 Student's t-test를 통해 실시하였으며, P값이 0.05미만인 경우 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 정의하였다.

### Western blot 분석

가족성 저칼륨성 주기성마비 환자와 정상인의 골격근 세포에 각 농도 별로 칼륨 완충용액을 30분 동안 처리한 후 세포질과 세포막 단백질 분획을 실시하였다. 세포질과 세포막 단백질의 분획방법은 세포의 분획방법으로 기존에 시행되었던 방법을 응용하여 사용하였고[15,16], 각 단계별로 protease-inhibitor cocktail (Sigma, Saint Louis, MO, USA)을 섞어 단백질을 추출하였다. 각 시료 별로 50 µg의 단백질을 12% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)하였고, 이후 전기 이동을 통해 polyvinylidene fluoride membrane (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)에 단백질을 이동시켜 western blot을 시행하였다. 단백질을 보유한 membrane은 5% Skim milk (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 통해 1차 처리한 후 Kir6.2 1차 항체(Abcam, Cambridge, MA, USA)를 처리하였고, anti-mouse 2차 항체를 사용 하였으며, supersignal west pico luminal/enhancer solution (Pierce, Rockford, IL, USA)을 통해 단백질 밴드를 확인하였다.

## 결과 및 고찰

가족성 저칼륨성 주기성마비는 서양에서 가장 흔한 주기성 마비의 원인으로[12], 과거 동양인보다 서양인에서 흔한 것으로 알려져 왔으나 최근 질환에 대한 지식과 경험이 늘어나면서 국내에서도 많은 환자들이 보고되고 있다[8-11]. 질환의 발병기전에 관한 다양한 연구가 진행되고 있으며 이 중 일부 연구에서 세포막에 위치한 K<sub>ATP</sub> 채널 활성도 감소가 발병과 관련 있는 것으로 보고되고 있으나[19-21], 아직까지 정확한

분자생물학적 기전은 밝혀져 있지 않다.

본 연구에서는 가족성 저칼륨성 주기성마비 환자와 정상인의 골격근 세포를 생리적 정상 세포의 칼륨 농도(4 mM)와 환자 세포의 탈분극을 유발하는 저칼륨 농도(1 mM)에 노출시켜 K<sub>ATP</sub> 채널의 pore를 구성하는 major subunit 유전자인 KCNJ11의 mRNA 발현양상과 단백질 산물인 Kir6.2의 세포내 분포 변화 유무를 확인하였다. 이전의 연구[11]에서 본 연구팀은 SUR2A 단위체가 가족성 저칼륨성 주기성 마비 환자의 골격근 세포에서 탈분극시 세포막에서 세포질 내로의 이동을 통한 외향성 칼륨 current 형성의 장애로 인해 세포의 탈분극을 지속시켜 환자의 마비 증상을 유발할 수 있음을 보고한 바 있어 본 연구를 통해 환자 세포의 탈분극시 기존의 연구[21]에서 발현 감소가 보고된 Kir6.2 단위체의 세포막상의 분포 변화 유무를 확인함으로써 K<sub>ATP</sub> 채널의 활성화 감소와 관련한 분자 생물학적 발병 기전을 알아보고자 하였다.

**Quantitative RT-PCR을 이용한 KCNJ11 mRNA의 발현 양상 및 Western blot을 통한 세포질과 세포막상의 Kir6.2 단백질의 발현양상 확인**

생리적 정상 세포의 칼륨 농도(4 mM)와 환자 세포의 탈분극을 유발하는 저칼륨 농도인 1 mM의 칼륨 완충용액을 30분간 환자와 정상인의 골격근 세포에 노출시킨 후 각각의 세포에서 mRNA를 추출하여 KCNJ11의 발현수준을 확인한 결과, 환자와 정상 세포 모두 4 mM에서는 mRNA 발현수준의 변화를 보이지 않았다(Fig. 1A, B). 그러나 환자세포의 탈분극을 유발하는 1 mM의 저칼륨 완충용액에 노출된 경우 정상 세포에서는 mRNA 발현수준이 감소하였고(Fig. 1C), 환자 세포에서는 mRNA 발현수준의 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 1D).

KCNJ11 mRNA 발현수준이 Kir6.2 단백질 발현양상과 일치하는지 확인하기 위해 환자 세포와 정상 세포를 4 mM과 1 mM 칼륨 완충용액 모두에 30분간 노출시킨 뒤 세포질과 세포막 분획의 단백질을 분리하여 Kir6.2 단백질의 발현수준을 확인하였다. 그 결과 환자와 정상 세포 모두 4 mM의 칼륨 농도에서는 mRNA 발현양상과 동일하게 세포질과 세포막에서 Kir6.2 단백질의 정량적 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2). 그러나 1 mM의 저칼륨 농도에 노출된 경우, 정상 세포에서는 세포질 내 Kir6.2 단백질의 정량적 변화는 없었던 반면 (Fig. 3A) 세포막상의 Kir6.2 단백질 양이 감소하였다(Fig. 3B). 환자 세포의 경우 세포질과 세포막 모두에서 Kir6.2 단백질의 정량적 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 3C, D).

정상 세포의 칼륨 농도에서는 환자와 정상 세포 모두 KCNJ11 mRNA 발현 및 세포질과 세포막상의 Kir6.2 단백질의 정량적 변화를 나타내지 않아 4 mM 칼륨 농도 조건에서는 환자 세포의 Kir6.2가 정상적인 K<sub>ATP</sub> 채널 기능을 위해 사용되고 있음을 확인하였다. 그러나 정상 세포를 1 mM의 저칼륨

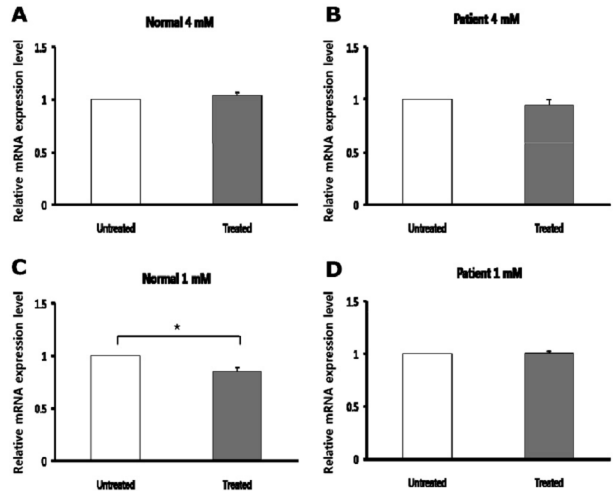


Fig. 1. Expression levels of KCNJ11 mRNA in the skeletal muscle cells obtained from healthy individuals (normal cells) and familial hypokalemic periodic paralysis patients (patient cells) after exposure to 4 mM and 1 mM potassium buffer, as determined using quantitative RT-PCR. When 4 mM buffer was used, the mRNA levels of KCNJ11 did not change in both normal (A) and patient (B) cells. When 1 mM buffer was used, the mRNA levels of KCNJ11 decreased significantly ( $p < 0.05$ ) in normal (C) cells but remained unchanged in patient (D) cells. Untreated: before exposure to the potassium buffer. Treated: 30 min after exposure to the potassium buffer. In the fold change, the untreated samples are marked as value 1.

완충용액에 노출하였을 때 KCNJ11 mRNA 발현과 Kir6.2 단백질의 세포막 분포 감소가 관찰되었다. 1 mM의 저칼륨 용액에 노출된 정상 세포는 과분극을 나타내는데, 정상인의 골격근 세포에서 Kir6.2가 SUR 단백질과 결합하여 칼륨 채널을 폐쇄하는 기능을 수행하는 것을 고려할 때, 이는 기존에 알려진 칼륨 이온의 농도 구배에 따른 확산 이동 이외에도 이번 연구에서 확인된 K<sub>ATP</sub> 채널의 Kir6.2단위체 발현 감소와 세포막상의 분포 감소가 세포막의 막전위 변화와 관계있음을 알 수 있다. 반면 환자의 골격근 세포가 1 mM의 저칼륨 상태에 노출되면 막전압은 탈분극 되는데[17], 정상 세포의 경우, 재분극을 위해 같은 K<sub>ATP</sub> 채널을 구성하는 SUR2A 단위체의 세포질 내로의 이동이 일어나며[11], 과분극시에는 Kir6.2 유전자인 KCNJ11의 발현이 감소되고 세포막내 분포가 감소하는 등 막전위의 변화에 따른 유전자 발현 및 세포막상의 분포 변화가 일어나지만, 환자 세포의 경우 이 같은 생리적 보상기전이 일어나지 않아 세포막에 저류된 K<sub>ATP</sub> 채널의 폐쇄가 유지되어 세포내부의 칼륨 이온이 세포 외부로 방출되지 못하고 이로 인해 지속적인 탈분극을 유도하며 결국 안정적인 휴지막 전위를 유지하지 못하게 됨으로써 임상적인 마비 증상을 초래하는 것으로 생각된다.

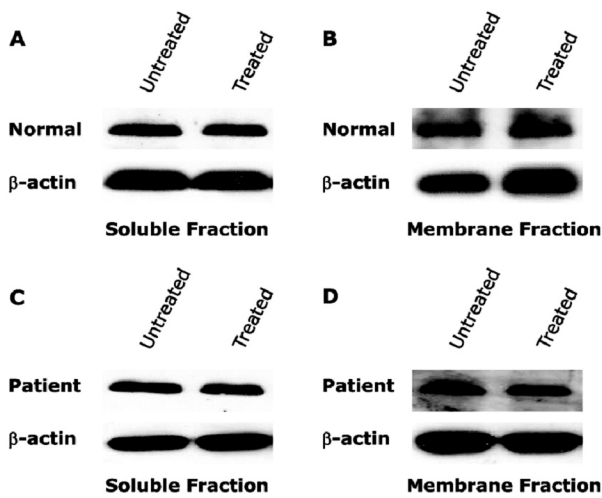


Fig. 2. Western blot analysis of Kir6.2 protein after the exposure of skeletal muscle cells obtained from healthy individuals (normal cells) and patients (patient cells) to 4 mM potassium buffer. The levels of Kir6.2 protein in the cytosolic (A) and membrane (B) fractions did not change in both normal (C) and patient (D) cells.  $\beta$ -actin was used as a loading control. Untreated: before exposure to the potassium buffer. Treated: 30 min after exposure to the potassium buffer. In the fold change, the untreated samples are marked as value 1.

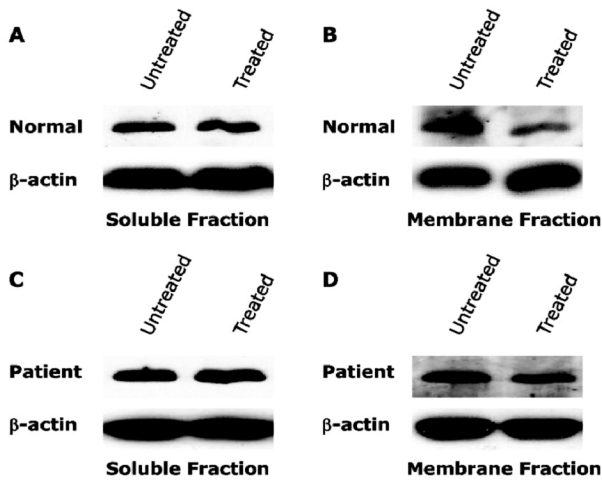


Fig. 3. Western blot analysis of Kir6.2 protein after exposure of skeletal muscle cells obtained from healthy individuals (normal cells) and patients (patient cells) to 1 mM potassium buffer. In the normal cells, the levels of Kir6.2 protein did not change in the cytosolic fraction (A) but decreased in the membrane fraction (B); however, in the patient cells, the levels of Kir6.2 protein remained unchanged in the cytosolic (C) and membrane (D) fractions.  $\beta$ -actin was used as a loading control. Untreated: before exposure to the potassium buffer. Treated: 30 min after exposure to the potassium buffer. In the fold change, the untreated samples are marked as value 1.

결론적으로 저자들은 가족성 저칼륨성 주기성마비 환자에서  $K_{ATP}$  채널 활성도가 감소하는 원인을 알아보기 위하여 Kir6.2 단위체 유전자의 발현 수준과 단백질의 세포내 분포양상을 분석하였으며, 이를 통해 정상 세포와 달리 환자 세포에서는 막 전위 변화에 따른 Kir6.2 유전자의 발현 및 단백질 분포의 변화가 나타나지 않는 것을 확인하였다. 추후 Kir6.2와 기능적 연관성이 있는 Kir6.1과 SURs를 포함한 다른 채널 단백질에 관한 연구를 통해 발병기전의 이해를 돕는 추가 정보를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

### References

1. Aydar, E., S. Yeo, M. Djamgoz, and C. Palmer. 2009. Abnormal expression, localization and interaction of canonical transient receptor potential ion channels in human breast cancer cell lines and tissues: a potential target for breast cancer diagnosis and therapy. *Cancer Cell Int.* **18**, 9-23.
2. Bessa, C., C. A. Teixeira, M. Mangas, A. Dias, M. C. Sá. Miranda, A. Guimarães, J. C. Ferreira, N. Canas, P. Cabral, and M. G. Ribeiro. 2006. Two novel CLN5 mutations in a Portuguese patient with vLINCL: insights into molecular mechanisms of CLN5 deficiency. *Mol. Genet. Metab.* **89**, 245-253.
3. Carlson, M. E., C. Suetta, M. J. Conboy, P. Aagaard, A. Mackey, M. Kjaer, and I. Conboy. 2009. Molecular aging and rejuvenation of human muscle stem cells. *EMBO. Mol. Med.* **1**, 381-391.
4. Charness, M. E. 1978. Clinical conferences at The Johns Hopkins Hospital. Hypokalemic periodic paralysis. *Johns Hopkins Med. J.* **143**, 148-153.
5. Cottle, D. L., M. J. McGrath, B. S. Cowling, I. D. Coghill, S. Brown, and C. A. Mitchell. 2007. FHL3 binds MyoD and negatively regulates myotube formation. *J. Cell Sci.* **120**, 1423-1435.
6. Fealey, M. E., W. D. Edwards, M. Grogan, and T. A. Orszulak. 2009. Neuronal ceroid lipofuscinosis in a 31-year-old woman presenting as biventricular heart failure with restrictive features. *Cardiovasc. Pathol.* **18**, 44-48.
7. Inagaki, N., T. Gono, J. P. Clement. 4th, N. Namba, J. Inazawa, and G. Gonzalez. 1995. Reconstitution of IKATP: An inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor. *Science* **270**, 1166-1170.
8. Kil, T. H. and J. B. Kim. 2009. Severe respiratory phenotype caused by a de novo Arg528Gly mutation in the CACNA1S gene in a patient with hypokalemic periodic paralysis. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* doi:10.1016/j.ejpn.2009.08.004.
9. Kim, J. B., K. Y. Lee, and J. K. Hur. 2005. A Korean family of hypokalemic periodic paralysis with mutation in a voltage-gated calcium channel (R1239G). *J. Korean Med. Sci.* **20**, 162-165.
10. Kim, J. B., M. H. Kim, S. J. Lee, D. J. Kim, and B. C. Lee. 2007. The genotype and clinical phenotype of Korean patients with familial hypokalemic periodic paralysis. *J. Korean Med. Sci.* **22**, 946-951.

11. Kim, S. J., Y. J. Lee, and J. B. Kim. 2010. Reduced expression and abnormal localization of the KATP channel subunit SUR2A in patients with familial hypokalemic periodic paralysis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **391**, 974-978.
12. Lapie, P., P. Lory, and B. Fontaine. 1997. Hypokalemic periodic paralysis: an autosomal dominant muscle disorder caused by mutations in a voltage-gated calcium channel. *Neuromusc. Disord.* **7**, 234-240.
13. Louis, J. Ptáček. 2002. Channel Surfing. *Clinical Endocrinology & Metabolism* **87**, 4879-4880.
14. Kälin, N., A. Claass, M. Sommer, E. Puchelle, and B. Tümmler. 1999.  $\Delta F508$  CFTR protein expression in tissues from patients with cystic fibrosis. *J. Clin. Invest.* **103**, 1379-1389.
15. Poole, R. J., D. P. Briskin, Z. Kratky, and R. M. Johnstone. 1984. Density gradient localization of plasma membrane and tonoplast from storage tissue of growing and dormant red beet : characterization of proton-transport and ATPase in tonoplast vesicles. *Plant Physiol.* **74**, 549-556.
16. Prinetti, A., V. Chigorno, G. Tettamanti, and S. Sonnino. 2000. Sphingolipid-enriched membrane domains from rat cerebellar granule cells differentiated in culture. A compositional study. *J. Biol. Chem.* **275**, 11658-11665.
17. Robert, L. R. 1999. Insulin acts in hypokalemic periodic paralysis by reducing inward rectifier K<sup>+</sup> current. *Neurology* **53**, 1556-1663.
18. Seino, S. 1999. ATP-sensitive potassium channels: a model of heteromultimeric potassium channel/receptor assemblies. *Annu. Rev. Physiol.* **61**, 337-362.
19. Tricarico, D., S. Pierno, R. Mallamaci, G. S. Briqiani, R. Capriulo, and G. Santoro. 1998. The biophysical and pharmacological characteristics of skeletal muscle KATP channels are modified in K<sup>+</sup> depleted rat, an animal model of hypokalemic periodic paralysis. *Mol. Pharmacol.* **54**, 197-206.
20. Tricarico, D., S. Servidei, P. Tonali, K. Jurkat-Rott, and D. C. Camerino. 1999. Impairment of skeletal muscle adenosine triphosphate-sensitive K<sup>+</sup> channels in patients with hypokalemic periodic paralysis. *J. Clin. Inv.* **103**, 675-682.
21. Tricarico, D., A. Mele, B. Liss, F. M. Ashcroft, A. L. Lundquist, R. R. Desai, A. L. Jr. George, and D. Conte. Camerino. 2008. Contecamerino. Reduced expression of Kir6.2/SUR2A subunits explains KATP deficiency in K<sup>+</sup>-depleted rats. *Neuromuscul. Disord.* **18**, 74-80.
22. Chauhan, V. S., S. Tuvia, M. Buhusi, V. Bennett, and A. O. Grant. 2000. Abnormal Cardiac Na<sup>+</sup> Channel Properties and QT Heart Rate Adaptation in Neonatal Ankyrin B Knockout Mice. *Circ. Res.* **86**, 441-447.

### 초록 : 가족성 저칼륨성 주기성마비 환자의 골격근 세포내 Kir6.2의 발현 및 분포 양상

김성조 · 윤동호 · 김준범<sup>1\*</sup>

(호서대학교 생명공학과, <sup>1</sup>건양대학교 의과대학 소아청소년과)

가족성 저칼륨성 주기성마비는 간헐적으로 발생하는 저칼륨혈증을 동반한 가역적 이완성 근육마비를 특징으로 하는 상염색체 우성 유전질환이다. 골격근 세포막에 위치한 K<sub>ATP</sub> 채널의 활성화 감소가 저칼륨성 주기성 마비의 발병과 관련 있는 것으로 보고되고 있으나 아직까지 명확한 기전이 밝혀져 있지 않다. 본 연구에서는 K<sub>ATP</sub> 채널을 구성하는 단위체인 Kir6.2를 대상으로 가족성 저칼륨성 주기성마비 환자의 골격근 세포에서 K<sub>ATP</sub> 채널의 활성화 감소가 발생하는 분자생물학적 기전을 알아보고자 하였다. 환자와 정상인의 골격근 세포내 Kir6.2 단위체의 유전자인 KCNJ11의 mRNA 발현 수준과 단백질 발현양상을 확인한 결과, 정상 세포의 칼륨 농도인 4 mM 칼륨 완충용액에 노출된 경우 KCNJ11 mRNA와 단백질 수준의 정량적 차이는 관찰되지 않았다. 그러나 환자에서 마비를 유발할 수 있는 저칼륨 농도인 1 mM의 칼륨 완충용액에 노출시킨 경우 정상세포는 KCNJ11 mRNA의 발현이 감소하였고, 그 산물인 Kir6.2 단백질의 정량적 차이를 확인한 결과 세포막에 존재하는 단백질의 양 또한 유의하게 감소하였다. 그러나 환자의 경우 1 mM의 칼륨 완충용액에 노출시 KCNJ11 mRNA 발현수준에 차이가 없었고, 더불어 세포막과 세포질 상의 Kir6.2 단백질 분포에도 변화가 나타나지 않았다. 이는 환자 세포의 경우 세포막 단백질이 세포질로 회수되지 못하여 K<sub>ATP</sub> 채널의 폐쇄가 유지되어 탈분극이 지속되며 이로 인해 환자에서 마비 증상을 유발할 수 있음을 시사하는 결과로 본 질환의 새로운 발병 기전을 설명할 수 있는 근거로 생각된다.