

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 内 藤 大 督

主論文 1 編

The coiled-coil domain of MURC/cavin-4 is involved in membrane trafficking of caveolin-3 in cardiomyocytes.

American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology 309:2127-2136, 2015

審 査 結 果 の 要 旨

カベオラはシグナル伝達など重要な細胞プロセスに関与している細胞膜の陥入構造であり、カベオリンとキャビンファミリーによって制御されている。MURC (muscle-restricted coiled-coil protein) /cavin-4 は筋特異的なキャビンファミリー蛋白質で coiled-coil ドメインを有しており、同じく筋特異的なカベオリン 3 (Cav3) と相互作用することが知られているが、その機能的役割は明らかではない。本研究では MURC/cavin-4 の coiled-coil ドメインの機能と MURC/cavin4 のカベオラ局在蛋白としての役割を検討した。

申請者らはまず coiled-coil ドメインを欠いた MURC/cavin-4 変異体(Δ CC)を作成し、全長 MURC/cavin-4 は細胞膜で Cav3 と共局在するが、 Δ CC は細胞質に局在することを見出した。次に、細胞分画法による検討を行い、全長 MURC/cavin-4 は主に膜分画に発現しているが Δ CC は細胞質分画でのみ発現していることを示した。以上の結果から、MURC/cavin-4 の coiled-coil ドメインは MURC/cavin-4 が細胞膜に移行するために必須であると考えられた。

次に申請者らは Δ CC と Cav3 の結合を検討したところ、Cav3 との結合能は Δ CC でも保たれていることが示された。また、 Δ CC を発現させた心筋細胞では Cav3 の蛋白発現が減少しており、細胞分画法による検討から細胞膜分画で Cav3 の蛋白発現が減少していることが明らかになった。しかしながら Δ CC は心筋細胞の Cav3 の mRNA 発現には影響を与えていなかった。これらのことから Δ CC は心筋細胞で Cav3 と結合し、膜への局在を障害することで蛋白発現を減少させると考えられた。すなわち MURC の coiled-coil ドメインは Cav3 の膜への輸送と安定化に必要と考えられた。

また申請者らは全長 MURC/cavin-4 と同じく Δ CC も心筋細胞を肥大させることを示した。加えて Δ CC を発現させた心筋細胞では全長 MURC/cavin-4 と比較して ANP, BNP, SkA といった肥大関連遺伝子の mRNA 発現が有意に亢進していた。 Δ CC は ERK も全長 MURC/cavin-4 に比べて有意に活性化しており、 Δ CC は全長 MURC/cavin-4 より強い肥大反応を誘導することが示された。

さらに申請者らは生体での Δ CC の作用を検討するため Δ CC の心筋特異的トランスジェニックマウス (Δ CC-Tg)を作成した。 Δ CC-Tg ではコントロールマウス(NTg)と比較して心重量脛骨長比は有意に大きく、収縮不全を呈し、心腔拡大を認めた。また、 Δ CC-Tg の心筋細胞は肥大し間質の線維化は亢進しており、ANP や BNP の mRNA 発現は有意に増加していた。そして、 Δ CC-Tg の心臓において Cav3 の蛋白発現は *in vitro* の結果と同様に NTg と比べ有意に減少し、ERK のリン酸化も亢進していた。このように、生体においても Δ CC は心臓において Cav3 蛋白の発現を減少させ、ERK を活性化し、重症心不全を来すことが示された。

以上が本論文の要旨であるが、MURC/cavin-4 のカベオラを介した心機能制御の一端を明らかにした点で、医学上価値のある研究と認める。

平成 28 年 4 月 21 日

審査委員 教授 太 田 凡 ㊦

審査委員 教授 伊 東 恭 子 ㊦

審査委員 教授 奥 田 司 ㊦