

論文内容の要旨

論文提出者氏名 谷口 琢也

論文題目

PTRF/Cavin-1 Deficiency Causes Cardiac Dysfunction Accompanied by Cardiomyocyte Hypertrophy and Cardiac Fibrosis.

論文内容の要旨

カベオラは細胞膜に存在する直径 50-100nm 前後のフラスコ状のくぼみで、コレステロールやスフィンゴ脂質に富んだ膜ドメインと称され、コレステロール輸送、エンドサイトーシス、各種受容体複合体の局在を介してシグナル伝達などに関連していることが報告されている。カベオラに局在する Cavin ファミリータンパクのひとつ、polymerase I and transcript release factor (PTRF)/Cavin-1 は signalosome を構成して、カベオラの形成に重要な役割を果たしていると考えられている。一方、PTRF/Cavin-1 欠損マウスは耐糖能異常・脂質異常・筋ジストロフィを呈し、ヒトでは PTRF/Cavin-1 の homozygous mutation により muscle rippling を伴う先天性全身性脂肪萎縮症 (CGL4) の原因となることが報告されている。CGL4 では QT 延長症候群や致死性不整脈が認められているが、PTRF/Cavin-1 の心臓における役割は明らかではなかった。本研究では、PTRF/Cavin-1 の欠失が心臓に与える影響とそのメカニズムについて解析を行った。

PTRF/Cavin-1 がないと骨格筋や平滑筋ではカベオラの数が少なくなっていることが報告されているが、心筋では明らかではないため、PTRF/Cavin-1 欠損マウスの心筋を電子顕微鏡で観察した。PTRF/Cavin-1 欠損マウスの心筋細胞の形質膜はほぼフラットで、細胞膜 1 μ m あたりのカベオラ数は野生型に比べて有意に少なかった。

PTRF/Cavin-1 欠損マウスの出生率はメンデルの法則に従わず、これまでの報告と同じく低かった。PTRF/Cavin-1 欠損マウスの体重と心重量は野生型に比べて軽く、脛骨長も短かった。心重量を体重や脛骨長で正規化すると、PTRF/Cavin-1 欠損マウスと野生型の間に差は認められなかった。心機能を評価するために心エコー図検査を施行したところ、PTRF/Cavin-1 欠損マウスでは左室壁肥厚と収縮低下が認められた。

PTRF/Cavin-1 が欠失することで生じる心臓の形態的な変化を調べるために、PTRF/Cavin-1 欠損マウス 16 週齢マウスで H&E 染色や Masson's trichrome 染色を用いて組織学的な評価を行った。PTRF/Cavin-1 欠損マウスでは、心筋細胞の断面積が大きく、

間質および血管周囲の線維化が増加していた。また、PTRF/Cavin-1 欠損マウス 24 週齢では心房の線維化が亢進していた。

PTRF/Cavin-1 が欠失することで生じる心臓の電気的な変化を調べるために、PTRF/Cavin-1 欠損マウスと野生型の心電図 (肢誘導) を 8 週齢・18 週齢・24 週齢で記録した。8 週齢では差は認められなかったが、18 週齢では電位が低く QRS 幅が延長する傾向が認められ、24 週齢では電位が有意に低く QRS 幅が有意に延長していた。

これらの結果より、PTRF/Cavin-1 が欠失することで、カベオラ数は少なくなり、組織学的には心筋細胞肥大と線維化の亢進がみられ、左室壁肥厚と収縮障害さらには心電図異常を呈することが判明した。

そこで我々はカベオラに関連するタンパクに注目し、心臓における Caveolins と Cavins の発現を検討したところ、PTRF/Cavin-1 が欠失することで、Caveolin-3 の mRNA 発現は減弱し、SRBC/cavin-3 の mRNA 発現は亢進していたが、Caveolin-1、SDPR/Cavin-2 および MURC/Cavin-4 の mRNA 発現には差が認められなかった。

PTRF/Cavin-1 欠損マウスでは心筋細胞肥大と線維化が認められたことから、心肥大に関連する遺伝子と線維化に関連する遺伝子に注目したところ、PTRF/Cavin-1 が欠失することで ANP と BNP の mRNA 発現は亢進し、 β MHC/ α MHC 比も増加していた。一方、Collagen type 1 α 1 と Collagen type 3 α 1 の mRNA 発現には差はなかったが、PTRF/Cavin-1 が欠失することで connective tissue growth factor の mRNA 発現は亢進していた。

次にタンパク発現に注目したところ、PTRF/Cavin-1 欠損マウスの心臓では Caveolin-1、Caveolin-3、SDPR/Cavin-2、SRBC/Cavin-3、MURC/Cavin-4 のタンパク発現が顕著に低下していた。Caveolin-3 は心臓の ERK 活性と Akt 活性および心肥大を制御することが知られており、16 週齢の心臓で MAPKs と Akt のリン酸化を調べたところ、PTRF/Cavin-1 が欠失することで ERK1/2 は活性化していたが、JNK、p38、Akt の活性化は認められなかった。このように、PTRF/Cavin-1 が欠失することで、カベオラ関連タンパクの発現は低下し、ERK1/2 の活性化が誘導されていた。

本研究の結果より、PTRF/Cavin-1 の欠失が、心筋細胞におけるカベオラの喪失、Caveolin-1・Caveolin-3・SDPR/Cavin-2・SRBC/Cavin-3・MURC/Cavin-4 の減少、心臓における ERK の活性化、心筋細胞肥大と間質線維化を伴う心機能低下と心電図異常の原因になっていることが示された。これらの所見は、PTRF/Cavin-1 の心臓における役割に関する新たな知見と考える。