

ラミノパチーの臓器特異性を担う分子メカニズムの解明

新谷 泰範

国立循環器病研究センター 分子薬理部

【研究の背景】

メカノストレスと心筋内炎症の関連は、心不全の予後を規定する因子として重要である^{1,2)}。申請者は、細胞間接着部位である介在板が心臓におけるメカノストレスの受容器・効果器であることを見出し³⁾、メカノストレスと心筋内炎症をつなぐ分子として膜タンパク質 AIPID (AMPK interacting protein at the intercalated disc) を同定した。培養細胞を用いた検討により、進展刺激が誘導する IL-6、CCL2 などサイトカイン・ケモカイン発現上昇に必須であることを明らかにした。さらに AIPID の生理学的意義を検討するため、AIPID KO マウスを CrisprCas9 法により作製したところ、AIPID KO マウスは正常に発生し、安静時は正常の心機能を呈し、マクロな組織学的異常を認めなかった。ラミノパチーモデルマウス (LMNA H222P: 生後 3-4 ヶ月から進行性の心収縮能低下と心筋内炎症、さらに骨格筋力と生存率の低下を呈する⁴⁾ と AIPID KO マウスの交配を行ったところ、心機能低下の抑制と生存率の改善、さらに下肢骨格筋力の改善を認め、AIPID のラミノパチーへの病態形成への関与を明らかにした。

【目的】

AIPID が関与するラミノパチーの病態形成メカニズムおよび臓器特異性を担う分子メカニズムを明らかにする。

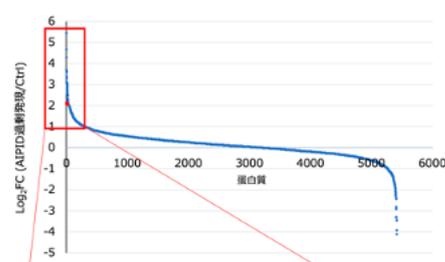
【方法】

1. AIPID WT および C 末(細胞外領域)変異体の transgenic (TG) マウスを作製したところ、心筋組織内の有意な炎症細胞浸潤と、両心室の拡大、収縮力の低下を認めた。下流の分子メカニズム解明のため、TG マウスの心臓ライセートを出発材料とし、AIPID の結合蛋白を質量分析で網羅的に解析する。
2. マウス心筋様細胞株である HL1 細胞に AIPID およびコントロールとして GFP を恒常的に発現する細胞を作製し、生化学的に分画し、各分画における定量プロテオミクスを実施する。AAV を用いて AIPID を発現させたマウス骨格筋サンプルでも検討する。

【結果】

1. TG マウスサンプルおよび内因性のタンパク質でも AIPID との結合が確認できた分子の一つが X であった。心筋細胞における X knockdown、過剰発現により膜タンパク質の量の変化を認めた。
2. マウス心筋様細胞株である HL1 細胞に AIPID をさせ、生化学的に分画し定量プロテオミクス解析を実施した。形質膜分画に AIPID 発現により濃縮される複数のタンパク質を同定し、それらの gene ontology 解析を行ったところ、protein export、TNF

定量プロテオミクス[形質膜分画] (AIPID過剰発現/Ctrl)



AIPID過剰発現で増加した蛋白質のエンリッチメント解析

KEGG pathway	Adjusted p-value	Combined score
Protein export	0.010	157.5
TNF signaling pathway	0.020	43.2

signaling pathway に関わる分子群が有意に増加していた(図)。AAV を用いて AIPID を発現させたマウス骨格筋サンプルを RNA シークエンス解析を行ったところ、ER to Golgi vesicle-mediated transport、mitochondrial gene expression、OXPHOS 関連の ontology が有意に変化していた。現在、分画プロテオミクス解析実施にむけて調整中である。

【考 察】

AIPID 結合分子として同定した X は小胞輸送において中心的な役割をはたすレトロマー複合体の構成因子の一つであり、輸送小胞の細胞膜、トランスゴルジネットワーク(TGN)やその他のオルガネラへの輸送を制御する。心筋、骨格筋の検討において、AIPID 発現がタンパク質・小胞輸送にかかわる変化が共通にみられており、病態メカニズムに関与している可能性が示唆される。今後、骨格筋の定量プロテオミクス解析もすすめ、臓器特異性についてさらに検討をくわえる予定。ラミノパチーモデルでは、メカノシグナルと核をつなぐ核膜タンパク質である SUN1 が、核膜だけではなく TGN にミスローカライズすること、すなわち小胞輸送の異常が生じることが報告されており⁵⁾、本研究の成果とも合致しており興味深い。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

拡張型心筋症のなかでも予後不良の LMNA variant をもつ症例は約 10%に見られる^{6,7)}。心筋症診療ガイドラインにおいても LMNA 遺伝子検索が勧められているが、疾患特異的な治療法は確立していない。AIPID のノックダウンは安全性の観点から優位性の高い有望な創薬標的であり、AIPID がラミノパチーの病態形成に関わる分子メカニズムを明らかにすることは、創薬開発研究においても必須かつ重要である。

本研究の遂行にあたり研究助成を賜りましたこと、関係者の皆様に深謝申し上げます。

【参考・引用文献】

1. Nakayama, T. *et al.* Clinical impact of the presence of macrophages in endomyocardial biopsies of patients with dilated cardiomyopathy. *Eur. J. Heart Fail.* **19**, 490-498 (2017).
2. Tschöpe, C. *et al.* Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions. *Nat. Rev. Cardiol.* **18**, 169-193 (2021).
3. Yashirogi, S. *et al.* AMPK regulates cell shape of cardiomyocytes by modulating turnover of microtubules through CLIP-170. *EMBO Rep.* **22**, e50949 (2021).
4. Arimura, T. *et al.* Mouse model carrying H222P-Lmna mutation develops muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy similar to human striated muscle laminopathies. *Hum. Mol. Genet.* **14**, 155-169 (2005).
5. Chen, C. Y. *et al.* Accumulation of the inner nuclear envelope protein Sun1 is pathogenic in progeric and dystrophic laminopathies. *Cell* **149**, 565-577 (2012).
6. Nomura, S. *et al.* Cardiomyocyte gene programs encoding morphological and functional signatures in cardiac hypertrophy and failure. *Nat. Commun.* **9**, 1-17 (2018).
7. Hasselberg, N. E. *et al.* Lamin A/C cardiomyopathy: Young onset, high penetrance, and frequent need for heart transplantation. *Eur. Heart J.* **39**, 853-860 (2018).