

家族性肥大型および拡張型心筋症における心筋収縮調節メカニズムの異常：トロポニン分子変異体のIn vitroにおける機能解析による解明

森本, 幸生
九州大学大学院医学研究院分子常態医学部門臨床薬理学分野

<https://doi.org/10.15017/7183575>

出版情報：福岡医学雑誌. 93 (1), pp.1-5, 2002-01-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



解 説

家族性肥大型および拡張型心筋症における

心筋収縮調節メカニズムの異常

—トロポニン分子変異体の In vitro における機能解析による説明—

九州大学大学院医学研究院分子常態医学部門臨床薬理学分野

森 本 幸 生

1. はじめに

肥大型心筋症 (hypertrophic cardiomyopathy, HCM) は、心室筋の肥大と拡張障害を特徴とし、若年者の突然死の主な原因であるが、最近の遺伝子解析の急速な進展によって、HCM の少なくとも 50% 以上が常染色体優性遺伝形式をとる家族性疾患であることが明らかになってきた。原因遺伝子は、すべて心筋細胞内にあって収縮力を発生する装置である筋原線維を構成するタンパク質をコードしており、これまでに、ミオシン、アクチン、トロポニン、トロポミオシン、ミオシン結合タンパク質 C、コネクチン(タイチン) における突然変異が同定されている。すべての突然変異が、筋原線維の最小収縮単位であるサルコメアを形成するタンパク質中にあるため、HCM はサルコメア病とも呼ばれている。

一方、HCM とは対照的に心室腔の拡大と収縮障害という臨床病型を示す拡張型心筋症 (dilated cardiomyopathy, DCM) は、末期には心臓移植の適応になる重症心不全の原因であるが、この DCM においても遺伝子解析が急速に進展しており、現在のところ DCM の少なくとも 25~30% が遺伝子突然変異によって説明されている。これまでに明らかになった家族性 DCM の遺伝形式には、HCM とは異なり常染色体優性遺伝のほかに X 染色体連鎖劣性遺伝および常染色体劣性遺伝がある。原因遺伝子は初期には、ジストロフィン、デスミン、タファジンのような細胞骨格タンパク質に見つかったため、HCM のサルコメア病に対して、DCM を細胞骨格病と呼ぶことが提唱された。しかし、その後アクチン、ミオシン、トロポニン、トロポミオシンという HCM と全く同一のサルコメアタンパク質の遺伝子における突然変異が DCM を引き起こすことが明らかになったため、DCM を単純に細胞骨格病と呼ぶことはできなくなった。

HCM においても DCM においても、原因遺伝子が特定され、コードされたタンパク質におけるさまざまな突然変異 (ミスセンス、欠失、スプライシング変異) が病気の原因であるということが明らかになってきている。突然変異がもたらす可能性としては、コードされたタンパク質の機能の変化あるいは消失により正常なタンパク質の働きが阻害されるドミナント・ネガティブ効果、あるいはタンパク質としての存在自体が不安定になるために遺伝子欠損と同等になるヌル・アレル効果などが考えられる。しかし、遺伝子はある意味では設計図にすぎず、その情報だけでは実際にどういうメカニズムでこれらの疾患が発症するのかは全くわからない。ポストゲノムと同様、コードされているタンパク質について実際に調べることは、きわめて重要である。しかし、HCM と DCM で見つかった遺伝子突然変異をコードするタンパク質の機能はほとんど解っていない。たとえばモータータンパク質ミオシンの突然変異が、その機能 (力発生能、滑走速度、酵素活性) に及ぼす影響に関しては全く正反対のことが言われている。ミオシンは非常に古くから研究されているタンパク質の 1 つであることを考えると、このことは意外である。大きな理由は、生理的な機能を厳密に正しく評価するような実験系が未だに確立していないためではないかと思われる。アク

Sachio MORIMOTO

Laboratory of Clinical Pharmacology, Department of Molecular Physiology, Kyushu University Graduate School of Medicine 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

チンやミオシンをはじめサルコメアタンパク質は、筋肉のなかの収縮装置である非常にアーキテクチャルな超分子集合体“筋原線維”の中で機能しており、その中での機能を正確に知ることは実際にはほとんど不可能に近い(図1)。生化学的にタンパク質を単離して、その機能を生化学的あるいは生物物理学的に調べようとする、明らかに本来の状態からかけ離れた条件下で測定せざるをえない。このため生体中における機能をおおざっぱに知ることは出来ても、突然変異による機能変化がわずかな場合には、それを捉えることができない可能性があるのは当然であろう。

我々は、トロポニンの機能を限りなく生理的状态に近い条件下で調べるために、生体中で形成された筋原線維の構造を壊すことなくトロポニンのみを自由に取り外したり、再構成したりする技術の開発に成功していた。そこで、HCM においてトロポニンの遺伝子突然変異が報告された際、早速この独自の方法をもちいてトロポニン分子変異体の機能解析を行うことにした。ここでは、HCM 患者の 15~30%を説明し、同時に DCM においてもごく最近見つかった心筋トロポニン T 遺伝子における突然変異に焦点を絞って、著者らが最近行った機能解析の結果を中心に解説する。

2. 肥大型心筋症における拡張障害はカルシウム感受性亢進による

カルシウム結合タンパク質トロポニンは、筋原線維の中でいわゆる“細いフィラメント”(球状タンパク質アクチンが2重らせん状に重合してできている長さ約1ミクロン、直径10ナノメートルのフィラメント)の上に周期的に結合しており、細胞内カルシウム・イオンの増減を感知して心臓の収縮と弛緩を調節するスイッチである(図1)。このトロポニンを構成するサブユニットのひとつであるトロポニンT (Tropomyosin binding subunit)の遺伝子において、HCMの原因となる突然変異が16種類見つかっている¹⁾(図2)。著者らは、ヒト心筋トロポニンTのタンパク質分子変異体を遺伝子工学的に作成し、これらの突然変異すべてに対してその性質を徹底的に調べた^{4)~6)}。その結果は驚くべくことに、すべての変異タンパク質分子では、正常型に比して、より低いカルシウム・イオン濃度でONとなる、すなわちより高感度なスイッチとなっていた(図3)。

このカルシウム感受性の増加は、同じ細胞内カルシウム濃度で心筋細胞がより大きな力を発生することを意味しており、収縮力の増強とともに弛緩の延長が予測される。心臓の弛緩あるいは拡張障害は、HCM

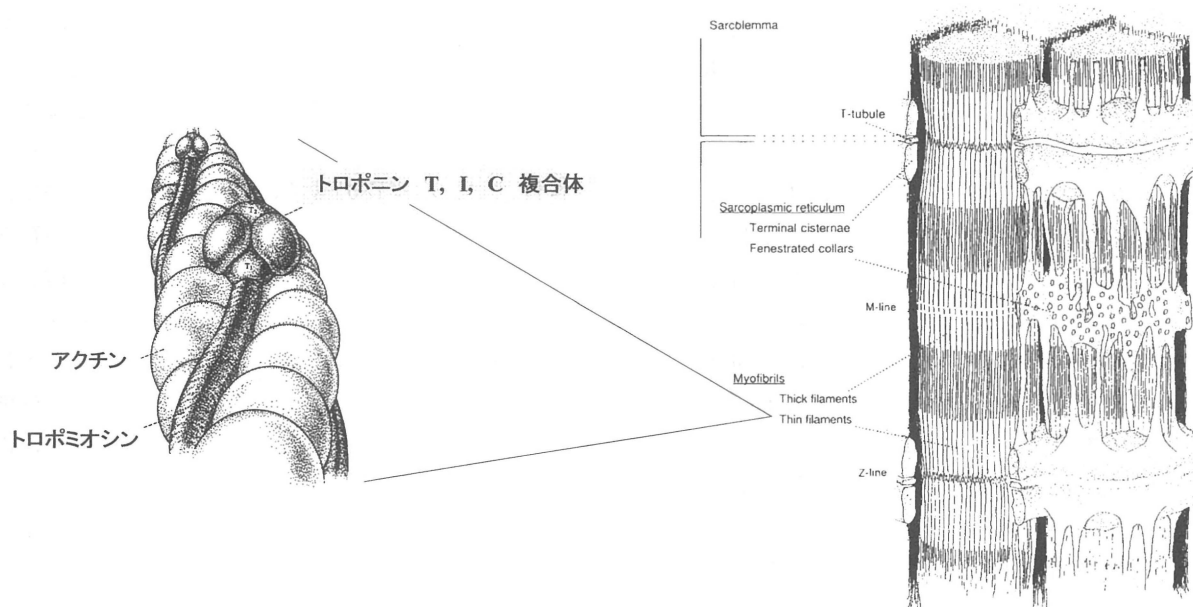


図1 心筋細胞内の収縮力発生装置・筋原線維 (Myofibril) と細いフィラメント (Thin filament) の構造

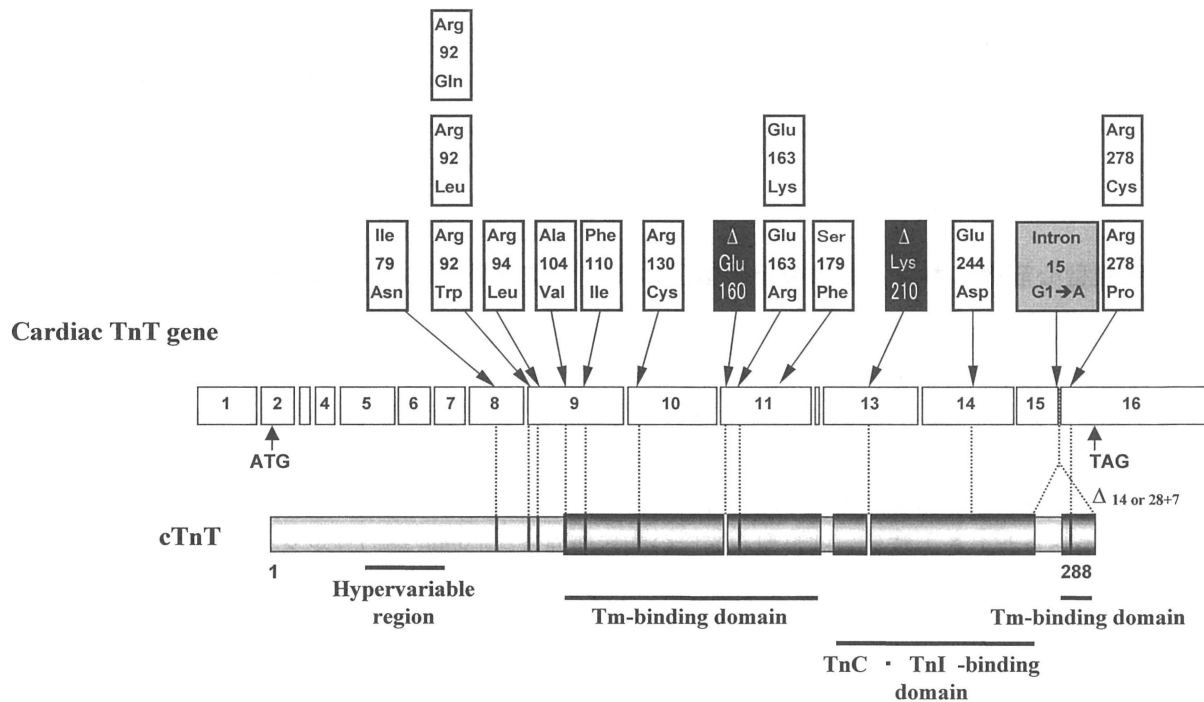


図2 肥大型および拡張型心筋症を引き起こす心筋トロポニン T 突然変異. TnT, TnC, TnI; トロポニン T, I, C. Tm; トロポミオシン.

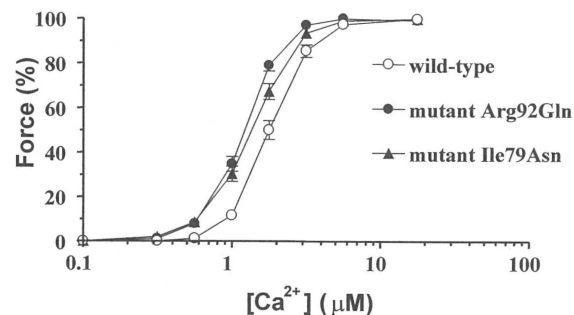


図3 心臓の筋肉が発生する力とカルシウム・イオン濃度の関係。家族性肥大型心筋症の原因である変異蛋白質トロポニン T の影響。白抜きは正常型の蛋白質の性質。黒丸と黒三角はそれぞれ異なる変異蛋白質。いずれも、正常型よりも低いカルシウムイオン濃度で力を出す。(文献4より)

患者における古典的な所見であり、心筋の繊維化および肥大そのものによるコンプライアンス低下のためであると従来はみなされてきた。しかし、力発生のカルシウム感受性亢進は、心臓の弛緩あるいは拡張障害を直接説明するものである。心筋トロポニン T の遺伝子突然変異による HCM は、肥大の程度が臨床上是問題にされないほど小さいという特徴をもっている。にもかかわらず、肥大がより顕著であり HCM の一般的特徴をしめす心筋 β ミオシンの遺伝子突然変異と同じ程度の突然死発生率をもっている。一方、カルシウム感受性亢進により拡張障害が生じると、フランク-スターリングの法則により収縮機能は低下することが予想され、カルシウム感受性亢進による心筋細胞の収縮力増強は、生体における心臓では打ち消されるかもしれない。

心筋のカルシウム・スイッチの性能を高感度にする医薬品 (心不全治療薬カルシウム・センシタイザー)

が実際すでにあり、トロポニンはその標的になっている。心臓の筋肉の働きが弱いとき、カルシウム・スイッチがより低いカルシウム・イオン濃度でも ON になるようにすることで、より大きな力を出すようにできる、との理屈である。他方、心筋トロポニン T の遺伝子突然変異による家族性肥大型心筋症では、カルシウム・スイッチが高感度になっているために突然死にいたる可能性が高い。実際、最近の報告によると、この治療薬を使っていると、突然死を招くことがある、との事例が多数あると聞く。心不全治療薬の使用法および開発方針を根本的に考え直す必要がありそうである。

3. 拡張型心筋症における収縮機能の低下はカルシウム感受性減少による

ところで肥大型心筋症の原因タンパク質であるトロポニン T は、その遺伝子の突然変異部位の箇所によっては拡張型心筋症を引き起こす場合もあることが見つかっている。現在、突然変異の部位は 210 番目のアミノ酸・リジンの欠失 (ΔLys210) であることまでは解っているものの、肝心のトロポニン T としての機能の変化を推定することは困難であった²⁾ (図 2)。

我々は、肥大型心筋症の突然変異の機能解析を行ったのと同様の方法を用いて、拡張型心筋症の機能的変化の調査を試みた。その結果、拡張型心筋症の突然変異は、心筋収縮のカルシウム感受性を下げるものであることが判明した³⁾。これは、肥大型心筋症につながる突然変異の 16 種類すべてが、カルシウム感受性を上げるものであったことと比較した場合、大変興味深い。カルシウム感受性が低下するということは、細胞質内の通常のカルシウム濃度では、正常な場合に比べてより小さい力しか出せないことを意味している。収縮力が低下する一方で、拡張はより容易になるという拡張型心筋症の突然変異が与える機能異常は、肥大型心筋症のケースと全く反対の現象である。

トロポニン T 以前に見つかっていた拡張型心筋症の原因遺伝子のすべてが、細胞骨格タンパク質である。しかし、細胞骨格タンパク質の遺伝子異常が、それをコードしているタンパク質の機能に対してどのような変化を与えているかが実験的に調べるのが困難な中、細胞骨格としての本来の機能が失われることで、心筋細胞と心筋細胞の間の力の伝達がうまく行われなくなり、結果として収縮機能の低下がみられると一般的に理解されてきた。拡張型心筋症が「細胞骨格病」とも呼ばれてきたのは、このためである。

今回見つかったのは、細胞骨格タンパク質ではなく収縮系の調節タンパク質・トロポニン T の異常である。つまり、従来考えられていた、力の伝達の抑制に当てはまるものではなく、力の発生自体の抑制にあたる。いずれにせよ、心室内腔の拡大を引き起こすに到るメカニズムの解明は今後の課題である。予想されるのは、カルシウム感受性が下がることで、むしろ拡張機能が過大になり、結果として心室内腔が拡大すること、あるいは収縮力の低下により心臓のポンプ機能が低下し、これを代償するメカニズムとして心腔の拡大が起きること、などの考え方であろう。

重症心不全の治療方法は未だ確立されていないが、トロポニン T の異常による拡張型心筋症に限った場合、今回機能異常が具体的に示されたことで、同時に治療の標的も示されたと言える。この点が、現段階で治療法が考えにくい細胞骨格タンパク質異常と比べて大きく異なっている。トロポニン T 異常の場合は、カルシウム感受性が下がっているのであり、これを上げるような薬物が有効であることは明らかである。現在すでに、心不全の治療薬として使われるようになっている「カルシウムセンシタイザー」がそれである。

カルシウムセンシタイザーは従来、心不全の薬として使われているが、あまり評判が良くない。理由は、一過的には患者の状態が良好になることがあるものの、いずれ突然死を引き起こす率が高いからである。従って、QOL は確かに高くなるものの、予後自体は改善されないと考えられてきた。

しかしここで考えたいのは、従来カルシウムセンシタイザーが心不全の原因が解らないまま使われてきたという事実である。心不全の病態を示す患者の中には、トロポニン T の異常による拡張型心筋症のようにカルシウム感受性が低下しているケースもあれば、全く異なる原因が考えられるケースもある。原因が異なる症例に対して、有効“かもしれない”カルシウムセンシタイザーを用いるために、このような事態となっている可能性は充分考えられるからである。投与に先立ち遺伝子診断によって心不全の原因を明確

にしたうえで、トロポニン T 異常による拡張型心筋症であることを突き止めることが、必要であると考えられる。

4. 遺伝子解析とタンパク質の機能の基礎研究で的確な治療が可能に

カルシウムセンシタイザーに限らず、従来の薬の用い方は、経験的、統計的判断に頼ったものであった。つまり病気の直接の原因は特定できず、従って投与する薬がどのようなメカニズムで効くかは解らないで用いるというものである。しかし現在、「証拠に基づく医療」が従来にも増して求められている。今後、遺伝子解析が進むに従って、病気に関連する遺伝子変異の部位が特定されることが増えるであろう。しかしながら、その遺伝子変異が具体的にどのような機能変化を引き起こすかが解らなければ、具体的な治療法に迫ることは出来ない。今後は、遺伝子解析からのアプローチと、各分野で行われるタンパク質の機能に関する基礎研究により、具体的な治療法が明確になってくるはずである。同様の病態を示す患者でも、的確な治療法は異なってくる。どのケースに該当するかを示すのが遺伝子診断であり、さらにタンパク質の機能異常の解析が進むことで、より「証拠に基づく医療」が確立されていくものと考えられる。

文 献

- 1) Fung DC, Yu B, Littlejohn T and Trent RJ: An online locus-specific mutation database for familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Mutat* 14: 326-332, 1999.
- 2) Kamisago M, Sharma SD, DePalma SR, Solomon S, Sharma P, McDonough B, Smoot L, Mullen MP, Woolf PK, Wigle ED, Seidman JG and Seidman CE: Mutations in sarcomere protein genes as a cause of dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 343: 1688-1696, 2000.
- 3) Morimoto S, Lu Q-W, Harada K, Takahashi-Yanaga F, Minakami R, Ohta M, Sasaguri T and Ohtsuki I: Ca^{2+} -desensitizing effect of a deletion mutation ΔK210 in cardiac troponin T that causes familial dilated cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci, USA*: 99: 913-918, 2002.
- 4) Morimoto S, Yanaga F, Minakami R and Ohtsuki I: Ca^{2+} -sensitizing effects of the mutations at Ile-79 and Arg-92 of troponin T in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Physiol* 275: C200-C207, 1998.
- 5) Nakaura H, Morimoto S, Yanaga F, Nakata M, Nishi H, Imaizumi T and Ohtsuki I: Functional changes in troponin T by a splice donor site mutation that causes hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Physiol* 46: C225-C232, 1999.
- 6) Yanaga F, Morimoto S and Ohtsuki I: Ca^{2+} sensitization and potentiation of the maximum level of myofibrillar ATPase activity caused by mutations of troponin T found in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Biol Chem* 274: 8806-8812, 1999.