

平成21年1月

# Bahrudin 学位論文審査要旨

主 査 重 政 千 秋  
副主査 久 留 一 郎  
同 二 宮 治 明

## 主論文

Ubiquitin-proteasome system impairment caused by a missense cardiac myosin-binding protein C mutation and associated with cardiac dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy

(ミオシン結合蛋白C変異によるユビキチン・プロテアソーム系の異常と肥大型心筋症に合併する心臓機能障害と左室拡大)

(著者：Udin Bahrudin、森崎裕子、森崎隆幸、二宮治明、桧垣克美、難波栄二、井川修、高島成二、水田栄之助、三明淳一郎、山本康孝、白吉安昭、北風政史、Lucie Carrier、久留一郎)

平成20年 Journal of Molecular Biology 384巻 896頁～907頁

# 学 位 論 文 要 旨

**Ubiquitin-proteasome system impairment caused by a missense cardiac myosin-binding protein C mutation and associated with cardiac dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy**

**(ミオシン結合蛋白C変異によるユビキチン・プロテアソーム系の異常と肥大型心筋症に合併する心臓機能障害と左室拡大)**

## はじめに

ミオシン結合蛋白Cは心筋収縮を調節し、その変異や欠失は肥大型心筋症の発症に関与する。ユビキチン・プロテアソーム系 (UPS) は欠失した心筋型ミオシン結合蛋白Cの過剰分解を担い、心臓機能障害を惹起することが知られている。本研究では心不全を伴った日本人の肥大型心筋症に見出されたミオシン結合蛋白C遺伝子の点変異がミオシン結合蛋白Cの過剰分解に伴うUPSの機能障害とそれに伴う心筋アポトーシスを惹起するか否かを検討した。

## 材 料 と 方 法

書面にて同意を得た肥大型心筋症患者の遺伝子変異をDenaturing HPLC法とdirect sequencingにより決定した。COS-7細胞ならびに胎児ラット単離心筋細胞に変異ミオシン結合蛋白Cを発現させ、その蛋白安定性とプロテアソーム活性ならびにアポトーシス関連蛋白を検討した。また肥大型心筋症患者の心機能を心臓超音波検査により評価した。

## 結 果

肥大型心筋症患者から3種類の新規多型と5種類の新規ミオシン結合蛋白C遺伝子点変異ならびに欠失 (E334K、 $\Delta$ K814、 $\Delta$ 2864-2865GC、Q998E、T1046M) を確認した。野生型ミオシン結合蛋白Cや他の遺伝子点変異ならびに欠失ミオシン結合蛋白Cに比較して転写活性には差はないが、E334Kは蛋白の半減期が短縮し、過剰なユビキチン化を伴い、蛋白発現量の有意な低下が認められた。この蛋白の半減期ならびに蛋白レベルはMG132によるプロテアソーム阻害の処理により回復したことからE334K蛋白の不安定性はUPSを介すると考えられる。またE334Kの蛋白不安定性の分子基盤はそのリン酸化によらず334番目のアミノ酸の電荷の変化によると推測された。野生型ミオシン結合蛋白Cに比較して、E334Kの発現はCOS-7細胞

ならびに胎児ラット単離心筋細胞の20S proteasome活性の低下とp53、Bax、cytochrome c という催アポトーシス蛋白の増加ならびにBcl-2およびBcl-x<sub>L</sub>という抗アポトーシス蛋白の減少を認め、それぞれの細胞にアポトーシスを惹起した。E334K点変異遺伝子を有する患者の心臓超音波像は有意な左心機能の低下と左心室の拡大を認めた。

## 考 察

本研究で、日本人肥大型心筋症患者から*MYBPC3*遺伝子に関して5種類の新規変異と3種類の新規多型が見出された。野生型や他の変異と比較してE334Kは転写活性に差はないが、UPSを介しての蛋白の不安定性によりミオシン結合蛋白Cレベルが顕著に減少した。その基盤には荷電アミノ酸の変化が推測されたが、*MYBPC3*の334番目のアミノ酸周囲の結晶構造が明らかでないためにE334Kの構造変化を明らかに出来ず今後の検討が必要である。一方でE334Kの発現は心筋細胞を含む培養細胞のプロテアゾーム活性の低下を惹起しアポトーシス関連蛋白の発現が変化しアポトーシスを誘導する。興味深いことにE334Kを有する肥大型心筋症患者は左心機能障害と左室拡大を伴っていた。

## 結 論

ミオシン結合蛋白C遺伝子のミスセンス変異であるE334KはUPSを介して、ミオシン結合蛋白C蛋白を不安定化するのみならず、UPSの異常によるアポトーシス関連蛋白の変調を伴って肥大型心筋症患者の心機能異常を惹起する可能性が明らかとなった。この知見は肥大型心筋症患者の心不全発症に関して新たな機序を提唱すると考えられる。