

トロポニン変異による家族性心筋症発症機序のシンクロトロン放射光回折による解明

山口 眞紀¹、木村 雅子¹、竹森 重¹、大野 哲生¹、渡辺 賢²、湯本 正寿²、八木 直人³
 1)東京慈恵会医科大学 医学部 分子生理学、2)東京医科大学 細胞生理、3)SPRing8/JASRI

【背景・目的】

家族性肥大型心筋症では心筋トロポニンのアミノ酸変異を伴うことがある。このタイプの心筋症では致命的な心機能障害を起こす頻度が高いため、本病態におけるトロポニン・アミノ酸変異の意義解明が待たれている(Mirza et al., J Biol Chem, 2005 等)。既に先行研究により、トロポニンのアミノ酸変異は心筋細胞収縮力を増大することが明らかにされたが、アミノ酸変異による収縮力増大のメカニズムはいまだに不明である。

そこで本研究では家族性肥大型心筋症の原因となるトロポニン変異のうち、突然死の原因として特に重要とされるトロポニンT変異体(ヒト)D244Eに注目し、この変異が心筋細胞収縮フィラメント構造変化に与える影響を探ることを目的とした。

【方法】

大腸菌で発現させたトロポニンT変異体(ヒト)D244Eおよび正常型(ヒト)トロポニンT(対照)を、Hatakenakaらの方法(J Biochem, 1992)を用いて、ラット心筋内在性トロポニンT・I・C複合体と置換した。変異体及び正常型トロポニンTを導入した心筋細胞のX線小角散乱像をイメージングプレートによって記録し、ミオシンおよびアクチンフィラメントの周期性を反映する第一層線成分を解析した。

【結果・考察】

内在性の心筋トロポニンT・I・C複合体を変異型トロポニンTで置換(置換率約50%、左下図)することにより、カルシウム非存在下で第一層線の 42.9nm^{-1} 周期のミオシン成分の減弱ならびに 36nm^{-1} のアクチン成分の増強が見られ、ミオシン頭部のアクチンへの結合が示された(右下図)。これはトロポニンT・I・C複合体のトロポニンTへの置換により、カルシウム非存在下でもアクチンとミオシンの相互作用が活性化されるというHatakenakaらの機能測定の結果と合致した。この活性化状態における構造の差異を変異型と正常型で比較し、変異型に特有な構造的特徴を抽出した。

未処理(左)/変異型(ヒト)トロポニンT導入後(右)のラット心筋SDS-PAGE



