

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 福田 昌和

〔題名〕

Enhanced binding of calmodulin to RyR2 corrects arrhythmogenic channel disorder in CPVT-associated myocytes

(リアノジン受容体に対するカルモジュリンの結合性増強はカテコラミン誘発性多形性心室拍関連心筋細胞の不整脈誘発要因となるチャンネル不全を改善する)

〔要旨〕

目的:カルモジュリン(CaM)はリアノジン受容体(RyR2)におけるチャンネルの開閉制御に重要な役割を果たしている。我々はカテコラミン誘発性多形性心室頻拍(CPVT)関連の遺伝子変異を持つノックイン(KI)マウスを用いて、CPVTでのチャンネル不全におけるCaMの関与について、また、CaMを用いてチャンネル不全を改善させる可能性について検討した。

方法と結果: CaM結合性は蛍光標識した外因性CaMを細胞内に導入することにより評価した。CaM結合性はcAMP存在下の野生型(WT)細胞では変化しないが、KI細胞では低下した。3アミノ酸を付加しRyR1に対する結合性を高めたCaM(GSH-CaM)を用いると、cAMP存在下のKI細胞でCaM結合性は改善された。パッチクランプ法を用い単離心筋細胞においてペーシング前後で膜電位を測定し、ペーシング後の遅延後脱分極(DAD)および激発電位(TA)について評価した。アイソプロテレノール(ISO)投与下ではWT細胞においてDADを11%に認め、TAは認めなかった。KI細胞ではそれぞれ60%、38%で認めたが、GSH-CaM存在下では、38%、10%に減少した。KI細胞でCaスパーク頻度はWT細胞よりも多い(100%増加)が、GSH-CaMを加えると33%増加に抑えた。これはCaMを加えた場合(76%増加)よりも抑制した。タンパク導入キットによりCaM、GSH-CaMを導入し、ペーシング後の自発性Ca放出(sCaT)を評価した。ISO存在下のKI細胞では37%にsCaTを認めたが、CaM存在下では26%、GSH-CaM存在下では9%に減少した。

結語:CPVT型変異をもつRyRの β 刺激時のチャンネル機能異常(Caリーク増加、DAD、TA、Caスパーク頻度、sCaT)は、RyRに対するCaM結合性を増加させることにより正常な機能に改善させることができる。

作成要領

1. 要旨は、日本語で800字以内、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用医工学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1373 号	氏 名	福田 昌和
論文審査担当者	主査教授	廣野 公一	
	副査教授	谷澤 幸生	
	副査教授	矢野 雅文	
<p>学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)</p> <p>リアノジン受容体に対するカルモジュリンの結合性増強は カテコラミン誘発性多形性心室頻拍関連心筋細胞の不整脈誘発要因となるチャンネル不全を改善する</p>			
<p>学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)</p> <p>Enhanced binding of calmodulin to RyR2 corrects arrhythmogenic channel disorder in CPVT-associated myocytes (リアノジン受容体に対するカルモジュリンの結合性増強はカテコラミン誘発性多形性心室頻拍関連心筋細胞の不整脈誘発要因となるチャンネル不全を改善する)</p> <p>掲載雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications 第 488 巻 第 1 号 P. 1~4 (2014 年 5 月 掲載)</p>			
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>目的：カルモジュリン (CaM) はリアノジン受容体 (RyR2) におけるチャンネルの開閉制御に重要な役割を果たしている。我々はカテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT) 関連の遺伝子変異を持つノックイン (KI) マウスを用いて、CPVT でのチャンネル不全における CaM の関与について評価し、CaM 結合性増強によるチャンネル不全改善の可能性について検討した。</p> <p>方法と結果：CaM 結合性は蛍光標識した外因性 CaM を細胞内に導入することにより評価した。CaM 結合性は cAMP 存在下の野生型 (WT) 細胞では変化しなかったが、KI 細胞では低下した。3 アミノ酸を付加し RyR に対する結合性を高めた CaM (GSH-CaM) を用いると、cAMP 存在下の KI 細胞で低下した CaM 結合性は改善された。パッチクランプ法を用い単離心筋細胞においてペーシング前後で膜電位を測定し、ペーシング後の遅延後脱分極 (DAD) および激発電位 (TA) について評価した。イソプロテレノール (ISO) 投与下では WT 細胞において DAD を 11% に認め、TA は認めなかった。KI 細胞ではそれぞれ 60%、38% で認めたが、GSH-CaM 存在下では、38%、10% に減少した。KI 細胞で Ca スパーク頻度は WT 細胞よりも多かった (100% 増加) が、GSH-CaM を加えると 33% 増加に抑えた。これは CaM を加えた場合 (76% 増加) よりもさらに抑制した。タンパク導入キットにより CaM、GSH-CaM を細胞内に導入し、ペーシング後の自発性 Ca 放出 (sCaT) を評価した。ISO 存在下の KI 細胞では 37% に sCaT を認めたが、CaM 存在下では 26%、GSH-CaM 存在下では 9% に減少した。</p> <p>結語：CPVT 型変異をもつ RyR の β 刺激時のチャンネル機能異常は、RyR に対する CaM 結合性を増強させることにより正常な機能に改善させることができる。 (783 文字)</p> <p>本論文は、CPVT における不整脈誘発要因について詳細に検討したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。</p>			
備考 審査の要旨は 800 字以内とすること。			