

(様式3号)

## 学位論文の要旨

氏名 西村 滋彦

## 〔題名〕

Mutation-linked excessively tight interaction between the CaM-binding domain and c-terminal domain of the cardiac ryanodine receptor as a novel cause of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia

(カテコラミン誘発性多形性心室頻拍の新規原因として、心筋型リアノジン受容体におけるカルモジュリン結合ドメインとC末端ドメイン間の連関が過剰に強固となる遺伝子変異が関連している)

## 〔要旨〕

背景：リアノジン受容体 (RyR2) は重要な遺伝子疾患であるカテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT) の原因遺伝子として知られている。ヒトのCPVT関連遺伝子変異の一部は4026-4172の領域で発見されており、この領域はEFハンドモチーフを有しており、カルモジュリン類似ドメイン (CaMLD) と呼ばれている。

目的：N4103K/+ノックイン (KI) マウスを用いて、CPVTがCaMLDの変異によって引き起こされる機序について検討する。

方法と結果：KIマウスではカフェイン+エピネフリン投与により持続性心室頻拍が高頻度に観察された。KIの単離心筋細胞ではベースラインでもRyR2へ結合する内因性CaMは減少していた。Ca<sup>2+</sup>スパーク頻度 (CaSpF) は野生型 (WT) 細胞よりもKI細胞においてより高かった。GSH-CaM (RyR2への親和性が高いCaM) を加えると、CaSpFは有意に減少した。KIインタクト細胞ではイソプロテレノールに反応して自発性Ca<sup>2+</sup>放出 (SCaT) が高頻度に観察された。タンパク導入キットを用いてGSH-CaMをKIインタクト細胞内へ導入すると、SCaTは有意に減少した。水晶発振子マイクロバランス測定法を用いた分析は、遺伝子変異させたCaMLDペプチドがCaM結合ドメイン (CaMBD) ペプチドに対して高い結合親和性を示すことを明らかにした。

結語：N4103K点突然変異においては、RyR2へのCaM結合親和性はβアドレナリン刺激の有無に関わらず有意に低下していた。この理由として、CaMBDと変異したCaMLDの間には異常に強い連関が存在するためであることを我々は発見した。このようにCaMBD-CaMLD連関は致命的不整脈における新たな治療標的となりうる。

## 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 1511 号	氏 名	西村 滋彦
論文審査担当者	主査教授	濱野 公一	
	副査教授	小林 誠	
	副査教授	矢野 雅文	
<p>学位論文題目 (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>Mutation-linked excessively tight interaction between the CaM-binding domain and c-terminal domain of the cardiac ryanodine receptor as a novel cause of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia                      (カテコラミン誘発性多形性心室頻拍の新規原因として、心筋型リアノジン受容体におけるカルモジュリン結合ドメインとC末端ドメイン間の連関が過剰に強固となる遺伝子変異が関連している)</p> <p>学位論文の関連論文題目 (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>Mutation-linked excessively tight interaction between the CaM-binding domain and c-terminal domain of the cardiac ryanodine receptor as a novel cause of catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia                      (カテコラミン誘発性多形性心室頻拍の新規原因として、心筋型リアノジン受容体におけるカルモジュリン結合ドメインとC末端ドメイン間の連関が過剰に強固となる遺伝子変異が関連している)</p> <p>掲載雑誌名 Heart Rhythm                      (2018年掲載予定)</p> <p>(論文審査の要旨)</p> <p>背景：リアノジン受容体 (RyR2) は重要な遺伝子疾患であるカテコラミン誘発性多形性心室頻拍 (CPVT) の原因遺伝子として知られている。ヒトの CPVT 関連遺伝子変異の一部は 4026-4172 の領域で発見されており、この領域は EF ハンドモチーフを有しており、カルモジュリン類似ドメイン (CaMLD) と呼ばれている。</p> <p>目的：CaMLD 内に変異を持つヒト CPVT を模した N4103K/+ノックイン (KI) マウスを用いて、CPVT が CaMLD の変異によって引き起こされる機序について検討する。</p> <p>方法と結果：KI マウスではカフェイン+エピネフリン投与により持続性心室頻拍が高頻度に観察された。KI の単離心筋細胞ではベースラインでも RyR2 へ結合する内因性 CaM は減少していた。Ca<sup>2+</sup>スパーク頻度 (CaSpF) は野生型 (WT) 細胞よりも KI 細胞においてより高かった。GSH-CaM (RyR2 への親和性が高い CaM) を加えると、CaSpF は有意に減少した。KI インタクト細胞ではイソプロテレノールに反応して自発性 Ca<sup>2+</sup>放出 (SCaT) が高頻度に観察された。タンパク導入キットを用いて GSH-CaM を KI インタクト細胞内へ導入すると、SCaT は有意に減少した。水晶発振子マイクロバランス測定法を用いた分析は、遺伝子変異させた CaMLD ペプチドが CaM 結合ドメイン (CaMBD) ペプチドに対して高い結合親和性を示すことを明らかにした。</p> <p>結語：N4103K 点突然変異においては、RyR2 への CaM 結合親和性はβアドレナリン刺激の有無に関わらず有意に低下していた。この理由として、CaMBD と変異した CaMLD の間には異常に強い連関が存在するためであることを我々は発見した。このように CaMBD-CaMLD 連関は致死的不整脈における新たな治療標的となりうる。</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。		