

Emerin plays a crucial role in nuclear invagination and\nin the nuclear calcium transient.

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-11-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Shimojima, Masaya メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00052712">https://doi.org/10.24517/00052712</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



## 【総説】

## 第16回 高安賞優秀論文賞受賞

論文 「Emerin plays a crucial role in nuclear invagination and in the nuclear calcium transient.」

Scientific Reports 2017 Mar 14; 7: 44312 2017年3月掲載

Masaya Shimojima, Shinsuke Yuasa, Chikaaki Motoda, Gakuto Yozu, Toshihiro Nagai, Shogo Ito, Mark Lachmann, Shin Kashimura, Makoto Takei, Dai Kusumoto, Akira Kunitomi, Nozomi Hayashiji, Tomohisa Seki, Shugo Tohyama, Hisayuki Hashimoto, Masaki Kodaira, Toru Egashira, Kenshi Hayashi, Chiaki Nakanishi, Kenji Sakata, Masakazu Yamagishi &amp; Keiichi Fukuda

「エメリンが核膜陥入層及び、核内カルシウム動態に重要な役割を果たす」

下島 正也 (しもじま まさや)

## 背景

細胞質内のカルシウムイオンは、心筋の興奮収縮連関及び、細胞内のセカンドメッセンジャーとして重要な役割を果たしている。心筋のリモデリングが生じると、細胞内カルシウム動態が変化するが、その動態が変化する以前に核内カルシウム動態の変化が生じるといわれており、心筋における核内のカルシウム動態は、細胞質内のカルシウム動態から一部独立して制御されている<sup>1)</sup>。

核膜蛋白のひとつであるエメリンは、ユビキタスに発現しており、核の構造の維持、クロマチン制御及び、核内転写因子の調節を行っている。エメリンの遺伝子変異によって、エメリドレフェス型筋ジストロフィー(EDMD)を発症する。本疾患は主に刺激伝導異常を伴った心筋障害、近位筋筋力低下のように、心筋、骨格筋を中心に障害をきたす疾患である<sup>2)3)4)</sup>。カルシウムシグナリングは、骨格筋及び、心筋の恒常性維持に非常に重要な役割を果たしている。カルシウム動態の破綻により心肥大や、心不全をきたすが、核のカルシウム動態に核膜蛋白が関わっているかどうかは明らかにされていない。

本研究では、核の構造、核内カルシウム動態に対するエメリンの役割について、ラット新生仔心筋、EDMD患者から作製したiPS細胞由来の心筋細胞、及び剖検心筋を用いて検討した。

## 方法・結果

今回、我々は、ラット新生仔心筋に心肥大を促進する薬剤(アンジオテンシンII、フェニレフリン、エンドセリン1)を加えたもの、エメリンをノックダウンさせたラット新生仔心筋、EDMD患者由来のiPS細胞、剖検心筋を用いて核の構造、核内カルシウム動態に対するエメリンの役割を評価した。核の形態学的評価に関しては、電子顕微鏡及び、核膜の指標であるラミンA/Cの免疫

染色を行い、核膜陥入層を有する核の割合、核の大きさを3次元的に評価した。カルシウム動態については、蛍光強度比、Time to peak、50% decay timeをカルシウムインディケーターであるFluo4を用いて核内及び細胞質内のカルシウムの評価を行った。

まず、我々はラットの新生仔心筋に対して心筋肥大刺激を加え、核の構造および核内カルシウム動態が変化するかを検討した。いずれの肥大刺激を加えることによっても、核の腫大、核膜陥入層の割合の減少を認め、心筋細胞の肥大を認めた。核膜陥入層の有無については電子顕微鏡にても同様に確認することができた。細胞質カルシウム動態については、Time to peakの有意な延長が認められ、核内カルシウムについては50% decay timeの有意な延長が認められた。以上より心筋肥大刺激を加えることで、核の構造、及び核内カルシウム動態が変化し、カルシウム動態については細胞質の変化とは独立していることが示唆された。

次に核蛋白のひとつであるエメリンの役割を検証するために、ラット新生仔心筋のエメリンをsiRNAを用いてノックダウンさせたところ、心筋肥大刺激を加えたときと同様に核の腫大、核膜陥入層の割合の減少が認められたが、心筋肥大は認められなかった。細胞質内のカルシウム動態には有意な変化は認められなかった一方で、核内カルシウム動態は、蛍光強度比、Time to peakには有意な変化が認められなかったが、50% decay timeの有意な延長が認められた。以上より、エメリンが核の構造を維持する働きを有しており、この構造の変化が、細胞質内カルシウム動態とは独立して核内カルシウム動態に変化をもたらしていることが示唆された。

その後、心筋での肥大刺激とエメリンの関係を検証するために、エメリンをノックダウンさせたラット新生仔心筋に対して同様の肥大刺激を加えたところ、心筋の大

きさ、及び細胞質内カルシウム動態が変化したにも関わらず、核の大きさ、核膜陥入層、核内カルシウム動態に変化は認められなかった。また、エメリンを過剰発現させたラット新生仔心筋は、核膜陥入層の割合を有意に増加させた。以上よりラット新生仔心筋においてエメリンが核膜の構造維持及び、心筋肥大刺激中の核内カルシウム動態に影響を与え、核膜陥入層が、核内カルシウム動態に影響を与えていることが示唆された。

また、我々の研究室より報告された、p.Try 228の蛋白変異により、エメリンの欠損をきたしたEDMD患者の末梢血T細胞より患者由来のiPS細胞を作製し、ラット胎児心筋と同様の表現型が認められるかを検討した。まず、iPS細胞より患者由来の心筋細胞を分化させた。ウエスタンブロット法にてEDMD患者から作製したiPS由来心筋細胞にはエメリンが欠損していることを確認した。次に、核の大きさ、核膜陥入層の割合、核内カルシウム動態を評価した。核の腫大、核膜陥入層の割合の減少が認められ(図1)、核内カルシウム動態に関しては、蛍光強度比、Time to peakには有意な変化が認められな

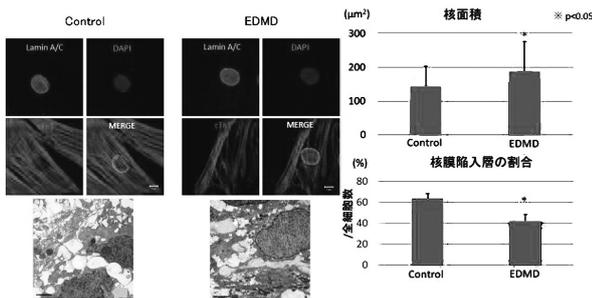


図1. EDMD 由来 iPS 細胞心筋の核の構造評価

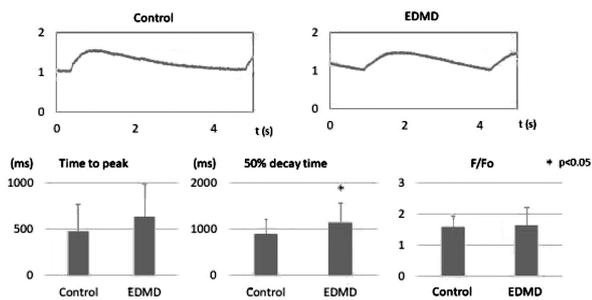


図2. EDMD 由来 iPS 細胞心筋の核内カルシウム動態

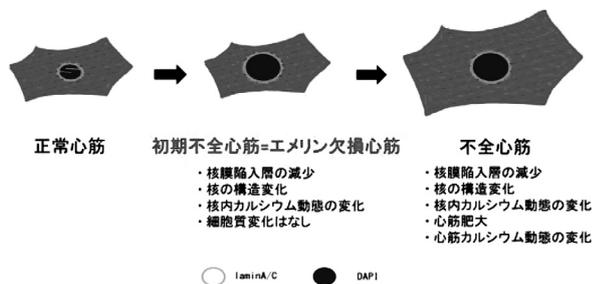


図3. エメリンと不全心との関係

かったが、50% decay timeの延長が認められた。EDMDの原因蛋白と考えられているラミンA/Cや、ネスプリンの分布に差異は認められなかった。以上よりEDMD患者由来のiPS心筋細胞においても、エメリンをノックダウンさせたラット新生仔心筋と同様の表現型をきたすことが確認された(図2)。

最後にiPS細胞を作成した患者と同家系のEDMD患者の剖検検体を用いて、成熟心筋におけるエメリンの核の構造に対する影響を検討したところ、核の腫大、核膜陥入層の割合の減少が認められており、成熟心筋でもエメリンをノックダウンしたラット新生仔心筋やEDMD患者から作製されたiPS由来心筋細胞と同様の核の構造の変化をきたしていることが示唆された。

結 論

本研究により、ラット新生仔心筋では、肥大刺激が核膜陥入層が減少させ、核内カルシウム動態に影響を与えることが示唆された。また、エメリンの発現の低下により、ラット新生仔心筋、EDMD患者から作成したiPS細胞由来の心筋細胞の両者ともに、肥大刺激を加えた心筋と同様に核膜陥入層、及び核内カルシウム動態が変化していたが、心筋細胞の大きさ、細胞内カルシウムに変化は認められなかった。以上より、EDMDでは核膜陥入層の形成と核内カルシウム動態が初期不全心筋と同様に障害されていることが示唆された(図3)。今回の研究より核膜陥入層及び、核内カルシウム動態がEDMDや心不全の治療ターゲットとなり、さらにはエメリンが心臓における核膜陥入層および、核内カルシウム動態の制御機構の一部を担っていることが示唆された。詳細なメカニズムの検討を行っていくことが今後の課題である。

文 献

- 1) Ljubojevic, S. *et al.* Early Remodeling of Perinuclear Ca<sup>2+</sup> Stores and Nucleoplasmic Ca<sup>2+</sup> Signaling During the development of Hypertrophy and Heart Failure. *Circulation* ; 130, 244–255, 2014
- 2) Nagano, A. *et al.* Emerin deficiency at the nuclear membrane in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* : 12,254–259, 1996 .
- 3) Sakata, K. *et al.* High Incidence of Sudden Cardiac Death With Conduction Disturbances and Atrial Cardiomyopathy Caused by a Nonsense Mutation in the STA Gene. *Circulation*; 111, 3352–3358, 2015.
- 4) Holaska J. M. Emerin and the Nuclear Lamina in Muscle and Cardiac Disease. *Circulation Research* ; 103, 16–23, 2008.
- 5) Shimojima M. *et al.* Emerin plays a crucial role in nuclear invagination and in the nuclear calcium transient. *Scientific Reports*; Mar 14, 7, 44312, 2017



Profile

2007年3月 金沢大学医学部医学科卒業  
 2017年9月 金沢大学大学院医学系研究科  
 臓器機能制御学博士課程修了  
 専門分野：循環器内科