

難治性筋原線維性ミオパチーの病態メカニズムを解明

筋原線維性ミオパチーは、筋原線維のZ帯と呼ばれる部位に存在するタンパク質の異常によって起こる疾患で、全身の筋力の低下し、心電動障害、心筋症、呼吸障害を併発しますが、有効な治療法はありません。一方、心筋細胞や骨格筋細胞のZ帯に多く存在するタンパク質 BAG3 は、機械的ストレスに反応して、タンパク質の合成と分解を調節しています。ヒトでは、この BAG3 に1塩基の変異があると、小児期の重篤な拘束型心筋症、筋ジストロフィー、呼吸不全、末梢神経障害などを引き起こし、発症から10年以内に高い致死率を持つことが知られています。しかし、筋原線維性ミオパチーについては、発症や進行のメカニズムはよく分かっていませんでした。

本研究では、新たにヒト BAG3 点変異遺伝子を過剰発現するマウスを作製し、ヒト患者の典型的な特徴を示すマウスモデルを樹立することに、世界で初めて成功しました。また、このマウスを用いて、BAG3 変異による筋原線維性ミオパチーの病態メカニズムを解明しました。

このマウスを調べたところ、筋細胞のZ帯が崩壊し、細胞内にタンパク質の凝集体が見られました。その結果、大規模な線維化が起こり、早期に重度の拘束型心筋症を発症することが分かりました。また心筋細胞では、タンパク質が変異し、細胞内を正常に保つためのオートファジー関連因子の増加・蓄積が生じていました。さらに、この変異タンパク質の発現を制限すると、正常な心機能を維持できることを明らかにしました。このような病態メカニズムの解明は、新たな治療法の開発につながると期待されます。

研究代表者

筑波大学生存ダイナミクス研究センター（研究当時はドイツ ボン大学）

木村 健一 助教

研究の背景

筋原線維性ミオパチー^{注1)}は、筋原線維のZ帯と呼ばれる部位に存在するタンパク質の異常によって引き起こされ、全身の筋力の低下、さらには心電動障害、心筋症、呼吸障害を合併する疾患です。一方、心筋細胞や骨格筋細胞のZ帯に多く存在するシャペロン分子^{注2)} Bcl2-associated athanogene 3 (BAG3)は、心臓の拍動や運動による機械的ストレスに反応して、細胞内のタンパク質の合成と分解を調節する働きがあります。このBAG3遺伝子に1塩基の変異(点変異)が生じると、アミノ酸が置換され、小児期の重篤な拘束型心筋症、筋ジストロフィー、呼吸不全、末梢神経障害を引き起こし、発症から10年以内に高い致死率を有することが知られています。しかしながら、筋原線維性ミオパチーの病態メカニズムについては不明な点が多く、心臓移植や対症療法による治療が行われるに留まり、根本的な治療法は確立されていません。生体内での病態進行のメカニズムを解析するため、これまでにいくつかのマウスモデルが報告されていますが、ヒト患者の表現型を再現したモデルはなく、その全容は未だ明らかになっていませんでした。

研究内容と成果

本研究では、ヒト BAG3 変異遺伝子を過剰発現する新しいマウスを作製し、ヒトの筋原線維性ミオパチー患者に典型的な特徴を示すマウスモデルを世界で初めて樹立しました。BAG3 タンパク質は、心筋や骨格筋に特徴的なサルコメア構造^{注3)}のZ帯に存在しており、運動や負荷によってダメージを受けた筋内のタンパク質を還元する機構の一翼を担っています。まず、BAG3 遺伝子の点変異によって、心筋細胞がどのような影響を受けるかを調べました。このマウスでは、生後2週間からサルコメア構造の崩壊が観察され、細胞内にタンパク質凝集体を形成し、この凝集体は週齢を重ねるごとに心筋細胞内に蓄積していました(図1、2)。このような異常な心筋細胞は、タンパク質の凝集によって、細胞質および核が肥大化し、さらにはアポトーシスによって細胞死を起こした結果、免疫細胞の心臓組織への侵入と大規模な線維化を生じることが分かりました。また、このマウスの心機能を調べるため、心エコーによる解析を行ったところ、BAG3 変異遺伝子を持つヒト患者と同様に、早期に重度な拘束型心筋症を発症することが明らかとなりました。次に、この病態メカニズムを明らかにするため、RNA シークエンスおよびプロテオミクス解析により、遺伝子発現とタンパク質発現を網羅的に解析したところ、ヒト BAG3 変異遺伝子を発現させたマウスの心筋細胞では、タンパク質の機能を維持するシステムに変化が生じ、細胞内を正常に保つためのオートファジー関連タンパク質の増加・蓄積が生じていました。この、ヒト BAG3 変異タンパク質は、変異によって生体内で溶解しにくくなり、正常なマウス内在性 BAG3 タンパク質を巻き込んで凝集体を形成しており、これによって、異常なタンパク質を排除する機構が破綻し、さらなる凝集体の形成と心筋細胞の崩壊を促し、拘束型心筋症による心不全によって早期死亡に至るといった病態メカニズムが明らかとなりました。さらに、アデノ随伴ウィルスベクターを用いて、心筋細胞でこのヒト BAG3 変異遺伝子の発現を低下させると、心筋内のタンパク質凝集が抑えられ、正常な心機能を維持できることが分かりました(図3)。

今後の展開

今回の研究により、BAG3 が筋骨格のタンパク質の恒常性を維持する上で、必須かつ多面的な役割を果たしていることが明らかとなりました。今後、BAG3 の骨格筋における表現型の解析や、運動などの筋負荷による影響などを調べていく予定です。また、アデノ随伴ウィルスベクターによる治療効果が示されたことで、筋原線維性ミオパチーに対する新たな治療法の開発が期待されます。

参考図

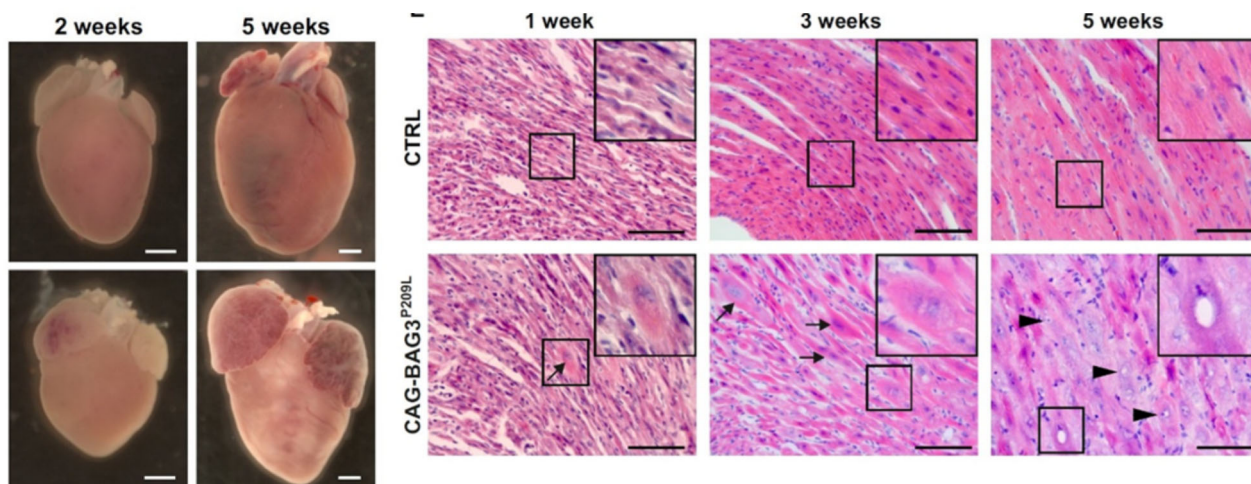


図1 ヒト BAG3 変異遺伝子を過剰発現したマウスの心臓の観察

左図：生後2週間および5週間のマウス心臓の様子。ヒト BAG3 変異遺伝子を発現するマウスの心臓（下段）は、野生型的心臓（上段）に比べ、大きさに差異は見られないが、心臓弁の異常と線維化により心房の肥大化が見られる。

右図：心臓の組織切片の様子。ヒト BAG3 変異遺伝子を発現するマウス（下段）では、心筋細胞におけるタンパク質の凝集により、細胞質および核が肥大化し、週齢に伴い異常な心筋細胞が増加している。

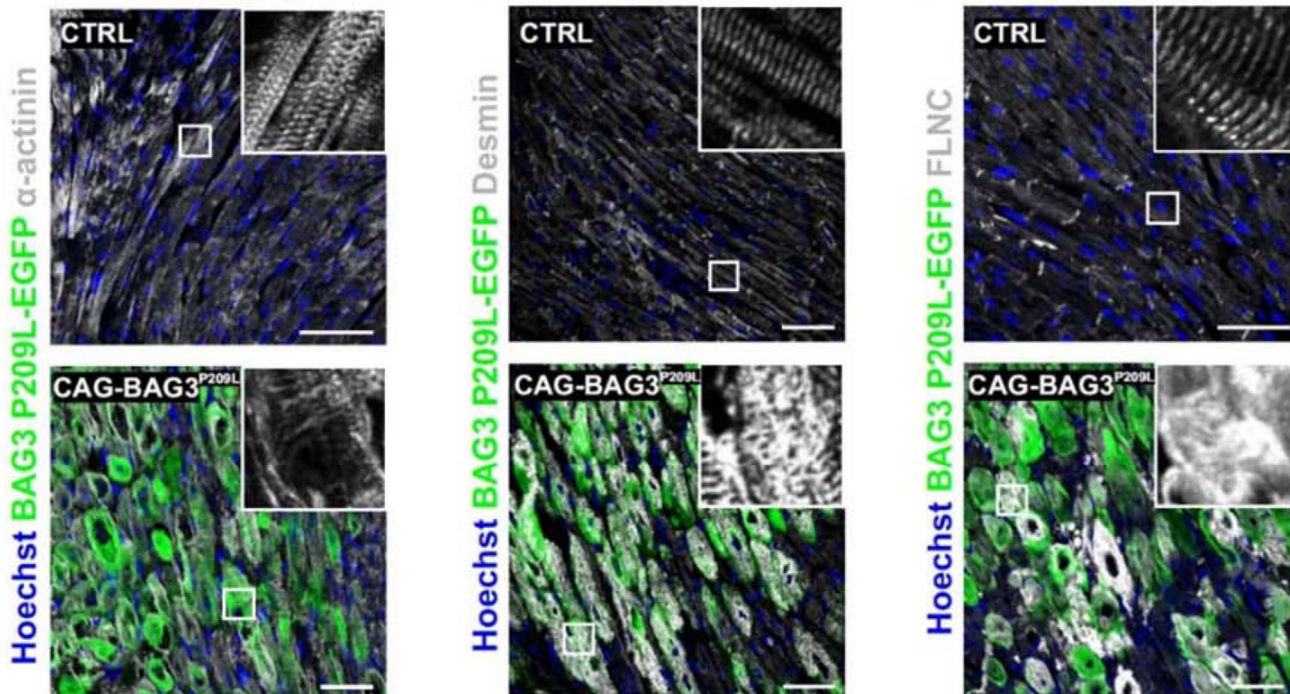


図2 マウスの心筋細胞におけるサルコメア構造の変化

ヒト BAG3 変異遺伝子を発現するマウスの心筋細胞（下段、緑色）では、サルコメア構造の崩壊が生じ、Z帯に発現するタンパク質である α -actinin（左図）、Desmin（中図）、Filamin-C(FLNC)（右図）の消失や蓄積が見られる（下段、灰色）。

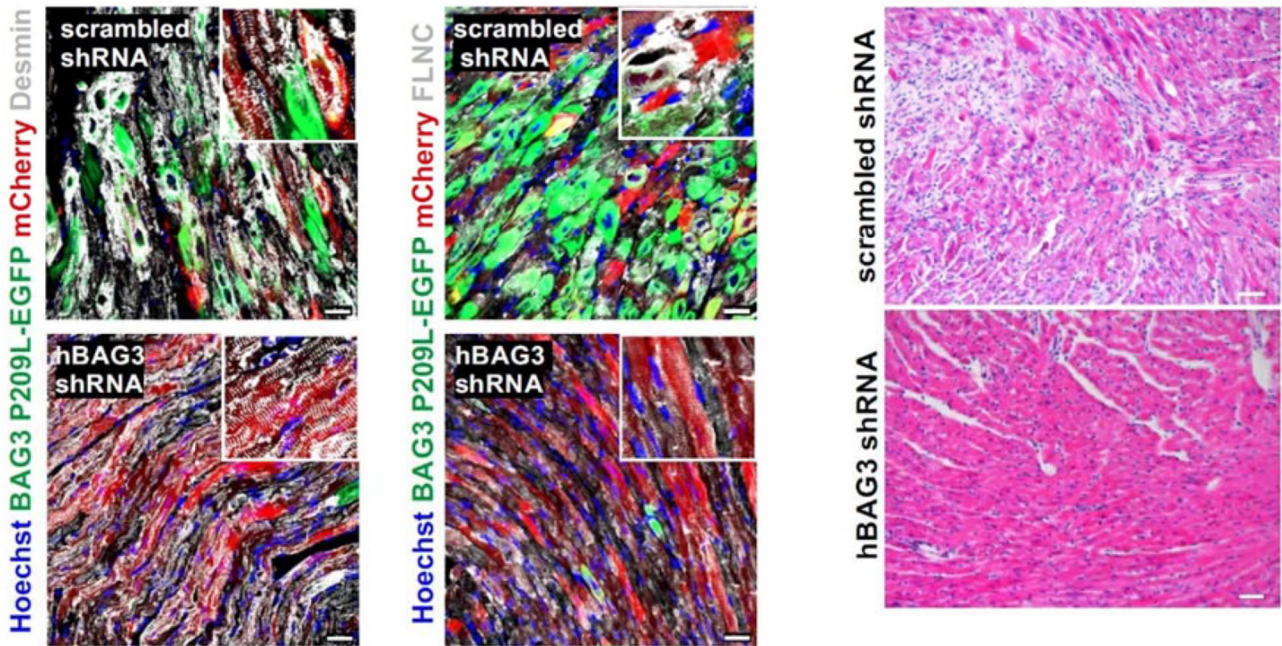


図3 アデノ随伴ウィルスベクターを用いたマウスの遺伝子治療

左図：ヒト BAG3 変異遺伝子の発現を、アデノ随伴ウィルスベクターにより低下させると、異常な心筋細胞（上図、緑色）が消失し、多くが正常な心筋細胞となる（下図）。

右図：治療の結果、心臓の線維化（上図、白色の部分）が抑えられ、正常な心組織が維持される（下図）。

用語解説

注1) 筋原線維性ミオパチー

筋原線維のZ帯に存在するタンパク質の遺伝子変異により引き起こされる疾患。全身の筋力低下がみられ、心疾患、呼吸障害を合併することが多い。

注2) シャペロン分子

タンパク質の折りたたみや安定性を制御するタンパク質。細胞内におけるタンパク質の恒常性の維持に重要な働きを持っている。

注3) サルコメア構造

筋原線維の構成単位であり、Z帯から次のZ帯までの間を指す。

研究資金

本研究は、the German Research Foundation、the Seventh Framework Program for Research and Technological Development of the EU、他の研究プロジェクトの一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Overexpression of human BAG3^{P209L} in mice causes restrictive cardiomyopathy due to sarcomere disruption and protein aggregate formation.

(ヒト BAG3^{P209L} をマウスで過剰発現させると、サルコメアの破壊とタンパク質凝集体の形成により、拘束性心筋症を引き起こす。)

【著者名】 Kenichi Kimura, Astrid Ooms, Kathrin Graf-Riesen, Maithreyan Kuppusamy, Andreas Unger, Julia Schuld, Jan Daerr, Achim Lothar, Caroline Geisen, Lutz Hein, Satoru Takahashi, Guang Li, Wilhelm Röhl, Wilhelm Bloch, Peter F.M. van der Ven, Wolfgang A.

Linke, Sean M. Wu, Pitter F. Huesgen, Jörg Höhfeld, Dieter O. Fürst, Bernd K. Fleischmann,
Michael Hesse

【掲載誌】 Nature Communications

【掲載日】 2020年6月11日

【DOI】 10.1038/s41467-021-23858-7

問合わせ先

【研究に関すること】

木村 健一（きむら けんいち）

筑波大学生存ダイナミクス研究センター 助教

URL: <https://www.saggymousehkytsukuba.com/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp