

第四章 (2) カルパインの生理機能とその不全による病態「カルパインノパチー」

Physiological functions of calpains and calpainopathies

小野弥子、反町洋之

Yasuko Ono, Hiroyuki Sorimachi

財団法人 東京都医学研究機構 東京都臨床医学総合研究所 カルパインプロジェクト

Department of Enzymatic Regulation for Cell Functions (Calpain Project)

The Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science (Rinshoken)

Tokyo Metropolitan Organization for Medical Research

サマリー

哺乳類は 15 種のカルパインを持つが、m-カルパインの欠損が胚性致死を引き起こすことから、生存に必須な酵素である事が明らかである。一方、p94/カルパイン 3 の遺伝子欠損により筋ジストロフィー「カルパインノパチー」が生じる。本来この言葉は、p94 に限らず全てのカルパイン分子の障害及びそれに起因する病態を意味するべきであろう。例えば、カルパイン 10 遺伝子の一塩基置換は 2 型糖尿病のリスクと関係するため、これもカルパインノパチーかもしれない。さらに神経疾患、腫瘍など多くの疾患でカルパインの関与が示唆されている。本節では、筋ジストロフィーの発症メカニズムを中心に、難解な部分の多いカルパイン研究の現状を概説する。

キーワード： カルパイン、カルパインノパチー、筋ジストロフィー、神経細胞死、コネクチン（タイチン）、サルコメア、

略語： p94: 骨格筋特異的カルパイン（カルパイン 3）、nCL-2: 胃特異的カルパイン（novel Calpain Large subunit 2）、PalB: **P**hosphatase mutants: loss in activity at **alkaline** pH but normal or increased activity at acidic pH (*Aspergillus nidulans* やコウジカビのアルカリ適応に必須なカルパインホモログ)、SOL: small optic lobe（シヨウジョウバエの視神経発達に必須なカルパインホモログ）、PEF: penta EF-hand motif、LGMD: limb-girdle muscular dystrophy、LGMD2A: LGMD type 2A、DMD: Duchenne type muscular dystrophy

①はじめに

カルパインは現在までに調べられた全ての多細胞真核生物と、ほとんどの単細胞真核生物と一部の真正細菌に存在し、スーパーファミリーを形成する Cys プロテアーゼである。真核生物でカルパインを持たないものは現在の所、*Schizosaccharomyces pombe*【分裂酵母、18.3 Mb-4,824 遺伝子-*Saccharomyces cerevisiae* には存在するのになぜ分裂酵母には存在しないかは最大の謎の一つ】、*Cyanidioschyzon merolae*【極小単細胞藻類、16.5 Mb-5,331 遺伝子】及び *Encephalitozoon cuniculi*【ミトコンドリアもペルオキシゾームも持たない絶対寄生生物、

2.9Mb-1,997 遺伝子】の3種のみである。細胞内のタンパク質分解システムという点から見ると、これら3種は、いずれもプロテアソームは有しているが、後2者にはオートファジーも無いようだ。カルパインは一次構造上、プロテアーゼドメインの前後に存在する様々な機能ドメインの特徴から、いくつかのサブファミリーに分類できるスーパーファミリーを形成している。特に、PalB型とSOL型が広く上記の生物に分布しており、カルパインを持つ真核生物の全ては、PalB型かSOL型かその両方を有する(図1)^{1,2}。

一方、カルパインで最も古くから良く研究されてきたものは哺乳類の μ -カルパインとm-カルパインである。これは、PalB型とSOL型の両方から一線を画し、EF-ハンドというCa²⁺結合モチーフが5つタンデムに並ぶ「PEF (penta EF-hand) ドメイン」と呼ばれる構造をC末端に持つ。歴史的経緯からこの構造を典型型 (typical calpains) と呼ぶが、この構造は比較的複雑な動物(ヒト、ウニ、ハエ、住血吸虫など)にのみ見られ、線虫、植物、カビや多くの単細胞生物には存在しない、比較的新しいカルパインといえる(図1、2)。

その生理機能が作用機序とともに明確になっているカルパイン分子種はほぼ皆無であるが、唯一 *S. cerevisiae* のカルパイン Cpl1/Rim13 が例外的ともいえる明瞭さで解明されている(第4章 概論、参照)。他の生物体、植物、カビ、線虫、ハエ、マウス、そしてヒトにおいては、遺伝学的解析によって、その様々な生物機能にとって、カルパインの存在が必須であることが示されている段階である。重要な例として、少なくともマウスにとって、m-カルパイン活性サブユニット遺伝子 (*Capn2*) が存在しないと8細胞期以降生存することができないことが示されており³、その必須性には疑問の余地はない。さらに、カルパインの遺伝的あるいは後天的不全によって生物にとって様々に不都合な状態が発生してしまう—*DEK1* と呼ばれるトウモロコシのカルパイン遺伝子が欠損すると胚ができなくなるという話から、*tra-3* という線虫の性決定や神経細胞死に関与する遺伝子が体長の決定にも関与するという少し怪しげな話⁴まで—ことが報告されている。これらの現象はそれぞれたいへん興味深いものであるが、スペースの都合上、本総説では主に哺乳類でのカルパインの生理機能とその不全による病態について概説する。

②本文

1. 哺乳類のカルパイン

総説を書く度にカルパインの数が少しずつ増えていた頃があったが、今はゲノム解析により、一挙にある生物種のカルパインファミリーが根こそぎ明らかとなる、という、離散的激増というべき状況が続いている。ヒトのゲノムが解読されて、多少の紆余曲折はあったものの現在では15種類のカルパイン遺伝子が存在することに落ち着きつつあると考えて良いだろう (*CAPN1~3,5~16*: 下記の *CAPNS1* が一時 *CAPN4* と呼ばれていたのもので、*CAPN4* は、現在は永久欠番となっている) (図2A)。既述のように典型型、PalB型、SOL型に分かれるが、PalB型はさらにTRA-3型とその他に分類される(図2B)。CAPN16以外は、全てプロテアーゼドメインの直後にC2ドメイン様構造を持つのが特徴である。また、少なくとも

CAPN1, 2, 9 とヘテロダイマーを作る調節サブユニット (30K) とそのホモログ 30K-2、さらに、 μ -及び m-カルパインの特異的内在性阻害タンパク質であるカルパスタチンが一遺伝子ずつ (CAPNS1, CAPNS2, CSTN) 存在する。30K 及び 30K-2 は狭義の PEF ファミリーに属するため、sorcin, peflin, ALG-2 などいくつかのホモログが存在するが、分子機能の定義が発散してしまうのでここでは扱わない。CAPN1, 2, 9 と 30K とは PEF ドメインの C 末端付近でヘテロダイマーを形成し、これは通常の条件では活性に必須である。一方、胃特異的カルパインである nCL-2/CAPN8 は、全長にわたって CAPN1, 2, 9 と高い相同性を持つにもかかわらず、30K, 30K-2 とは会合せず、モノマーで活性発現する。さらに、C2 ドメイン様構造を介してホモオリゴマーを形成することも明らかとなり、後述する p94 も含め、互いに構造が類似する典型型カルパインにあっても、かなり異なった分子形態、そしておそらく活性制御機構を持つことが明らかとなった⁵。これは、実際に CAPN1, 2, 9 のプロテアーゼ活性中心付近の微小だが明確に異なった立体構造にも体现されている⁶。

現在までにヒト疾患との関係が遺伝学的に示されているのは、p94/カルパイン 3 の遺伝子 CAPN3 の変異が肢帯型筋ジストロフィー2A 型 (LGMD2A) を引き起こす⁷、という事実だけである。そのため、LGMD2A は「カルパインパチー」(calpainopathy) と呼ばれるが、本来この言葉はカルパイン分子の障害及びそれが原因となって発症する病態一般に与えられるべきものである。また、CAPN10 のイントロンでの一塩基ポリモルフィズム (SNP) が 2 型糖尿病の発症リスクと強く関係していることも報告されているが⁸、遺伝子産物カルパイン 10 との因果関係の実体は不明であり、2 型糖尿病がカルパインパチーであるかどうかは今後の研究を待つ必要がある。一方、逆遺伝学を用いて Capn1, 2, 3, 5, 10, Capns1, Cstn の遺伝子破壊マウスの表現型が解析されており、Capn2 および Capns1 のノックアウトマウスは胚性致死^{3,9}、Capn3 は予想通り筋ジストロフィー^{10,11}、Capn1, 5, 10, Cstn のものは一見顕著な表現型は示さない¹²⁻¹⁵、という結果が報告されている。Capn7, 8, 9 については現在解析中である。

遺伝学的ではなく、病態の解析の結果、カルパインの活性化が示され、少なくとも病態の進行にカルパインの活性が関与、即ち、”悪者”となっている例は、枚挙に暇がない。デュシェンヌ型筋ジストロフィー、虚血性疾患、重症心不全、腫瘍、神経細胞死などなど^{16,17,18}。これらの病態では多くの場合カルパインの活性を阻害することで症状の改善が認められるため、現実的にはカルパイン阻害剤がよい薬剤の候補となっている。それぞれの病態はカルパインの生理機能に関する何らかのヒントを示していると考えられるが、残念なことに、ドラッグターゲットとして以外に、これらの現象が深く掘り下げられた例は少ない。

2. 神経細胞死とカルパイン

ヒトやマウスの種々の神経変性疾患や *in vitro* 神経変性モデル系において、カルパインの活性高進は、古くから報告されている。さらに、神経細胞死という現象には複数の異なる分子機構・プロテアーゼシステムが関与していることが明らかになってきた。当初はアポト

ーシスによる神経細胞死が、そのプログラム性によって脚光を浴びていたが、カスパーゼが動かないネクローシスによる細胞壊死も、実は、線虫などのモデル生物では遺伝学的解析に耐えるほどのプログラム性を持っていること、さらに、両者は相互に排他的なのではなく、それぞれに特徴的な分子が相対的にどのくらい関与するかによって依存して観察される連続的な現象であること、などが概念として広がってきている¹⁹。

脳梗塞や脳虚血による神経細胞死では、グルタミン酸受容体の過剰活性化による興奮毒性が神経細胞死を引き起こし、重篤な脳損傷を与える。神経細胞初代培養系は、グルタミン酸その他の刺激による細胞死の誘導を再現できる *in vitro* の系として確立されている。グルタミン酸による、NMDA 受容体・AMPA 受容体の活性化は細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を引き起こし、カルパインを活性化する。この際、ミトコンドリアへも過剰量の Ca^{2+} が蓄積され、その結果、細胞質へのシトクローム c の放出が起こってカスパーゼを活性化し、アポトーシスを誘導すると考えられる。ところが NMDA 受容体の活性化によってもたらされた Ca^{2+} 濃度上昇は、カルパインによるカスパーゼの活性化の抑制も同時に引き起こす。このようなカルパインとカスパーゼのクロストークは、細胞死誘導刺激後の比較的初期に起きている。

一方、細胞死の誘導を、キナーゼ阻害剤であるスタウロスポリン刺激によって行うと、カスパーゼの活性化による典型的なアポトーシスの特徴が強調される。その後、活性化したカスパーゼはカルパスタチンを分解するため、間接的にカルパインの活性化を引き起こし、カスパーゼ活性化→アポトーシス傾向の後に、カルパイン活性化→ネクローシスも引き起こされる。これらの現象は、*Capns1* ノックアウト細胞などを用いて一つ一つ検証されつつある²⁰。

実際に脳内での神経細胞死については、カルパインとカスパーゼそれぞれに対する特異的阻害タンパク質を過剰発現するトランスジェニックマウスを用いて、カイン酸投与で誘導される神経細胞死の様子を比較した結果から、少なくともカルパイン活性化の一部は、カスパーゼの上流に位置する（第4章(3)カルパスタチンの病態生理学、参照）。細胞質内の Ca^{2+} 濃度上昇に関しては、電位依存性 Ca^{2+} チャネルの活性化と、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger のカルパインによる不活性化の関与も示唆されている。また、カルパインの活性化が、リソソームの構造破壊をもたらし、酸性プロテアーゼ活性化を引き起こす経路の存在については、線虫の系においてより明確に示されている（第4章概論、参照）。

3. 筋ジストロフィーとカルパイン

筋ジストロフィーは「筋線維の変性・壊死を主病変とし、進行性の筋力低下をみる遺伝的疾患」と定義され、現在では 20 以上の責任遺伝子（座）が同定されている。重篤度や発症部位に違いはあるが、その病態の進行に μ -及び m -カルパインの不適切な活性化が全般に関与している。最も重篤かつ頻度の高いものは、X 染色体上のジストロフィン遺伝子の損傷で起こるデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）であり、1 万人に 1~3 人の頻度で男児に発症する。

一方、肢帯型筋ジストロフィー(LGMD)は、もともと分類可能であった DMD、その軽症型のベッカー型、そして先天性型の 3 者に分類できないカテゴリーとして存在しており、頻度は 100 万人当たり 7~20 人程度である。現在では責任遺伝子が 15 種類以上同定されており、多くは劣性遺伝形式をとる。その中で最初に同定されたものが、骨格筋特異的カルパイン p94/カルパイン 3 の遺伝子変異が原因である、2A 型(LGMD2A)であった。上記の μ -及び m-カルパインの活性化が病態を進行させるのと対照的に、LGMD2A では p94 の活性が失われることが根本原因となり、疾患が発症する。一部の地域 (フランス La Réunion 島やスペインバスク国など)が LGMD2A の発症頻発地域であるが、世界的にも LGMD2A は LGMD の中で最も頻度の高い筋疾患であり、25~50%を占める。発症年齢は 10 代から中年期にかけて、広い年齢層で発症する。LGMD2A に特徴的な病理所見はないが、他の筋ジストロフィーと同様に筋線維径不同、血清中クレアチンキナーゼ濃度上昇、近位骨格筋萎縮が認められる。しかし、p94 は心筋にはほとんど発現していないため心筋症状はない。

LGMD2A で見出された p94 変異体が *in vitro* の生化学的な解析によりプロテアーゼ基質認識不全を示したこと²¹、さらにプロテアーゼ活性を持たない変異 p94 を発現するトランスジェニックマウスの骨格筋がミオパチーの症状を呈したこと²²から、LGMD2A は p94 のプロテアーゼ活性不全が発症原因であることが強く示唆された。現在までに p94 遺伝子に 190 以上の点変異が報告されているが、LGMD2A 発症となるホットスポットは存在しない。我々は、「プロテイナーゼ・トラッピング」と呼ばれる酵母ツーハイブリッド法変法を応用し、「p94-トラッピング」と呼ぶ p94 の活性検出系を開発した²³。これを用いてさらに p94 の活性に影響を与える点変異を検索した結果、活性中心の廻りとドメイン IIb の側面に変異のクラスターが存在することが判明した (図 3)。p94 の自己消化活性には IS1 領域が必須であるため、この側面クラスターは IS1 との相互作用に必要なのではないかと考えられる。

in vitro では、p94 の基質タンパク質として、HSP60、フォドリン (α -スペクトリン)、カルパスタチンなどが知られており、プロテオーム解析により、さらに翻訳系 (eEF-2 など)、解糖系 (アルドラーゼ A など)、膜輸送系 (アレスチンなど)に關与するタンパク質もその候補に挙げられた²⁴。しかし残念ながら *in vivo*、即ち、骨格筋における基質は明確になっていない。つまり LGMD2A の発症原因は p94 のプロテアーゼ活性不全であるが、何を基質として切断できないために発症するのか、そのプロセスはまだ不明である。

この点に関して、p94 のプロテアーゼ活性と骨格筋細胞でのサルコメアにおける p94 の局在に關連性があるという、興味深い現象が見出されている²⁵。p94 はコネクチン (タイチンとも呼ばれ、筋原線維に存在する巨大線維状弾性タンパク質である) や α -アクチニンと結合し、細胞質の他、サルコメアの Z 線、M 線および N2A 領域に局在するが、この局在の割合は、筋成熟過程で変化していく (図 4)。さらに、成熟したサルコメアではその長さに応じて p94 の局在が変化 (短 : M 線 \rightarrow 長 : N2A 領域) すること、その変化とサルコメア長との関係は p94 のプロテアーゼ活性に依存していることが明らかとなった。プロテアーゼ活性がない p94 の場合はサルコメア長に依存した M 線から N2A 領域への転移が起りにくくな

る。この結果は、p94 がサルコメア長を感知しており、無理な伸長が起こり筋肉にストレスがかかった場合に、そのシグナルを最終的に核に伝達するためのセンサー機構の一部を担う過程にプロテアーゼ活性が重要であることを強く示唆する (図 4C)。LGMD2A においてはこのシステムが部分的に破綻するため、一つには骨格筋細胞が伸展刺激に応答することができなくなり、症状が現れるのであろう。p94 機能について示唆されるその他の側面と合わせて、現在までの知見を総合した作業仮説を図 5 に示した。

③ おわりに

カルパインの作用機序は、極めて複雑であり、現在の所、酵母-Cpl1 の系を除いて、明確になっていると言うには程遠い。このような状況の背景には、*in vivo* でカルパインは化学量論的には作用していないこと、多くのタンパク質とアフィニティを異にしつつ同時に相互作用していること、そして、ひょっとしたらプロテアーゼ以外の機能を合わせ持っているかもしれないこと、などがあるのではないだろうか。最初の点に関しては、カルパインが量的かつ時空間的に極めて限定されて活性化する、という観点でのアプローチが重要だと考えられる。酵母の系で明らかとなったように足場 (scaffold) の存在を考えながら研究を進めることが今後必須となると同時に、その足場形成メカニズムを明らかにしなければ問題の本質を追っていることにならないだろう。第二、第三の点も、カルパインの理解を困難たらしめるものではあるが、これらについても生物種の枠を越えて、かなり詳細に明らかになっている酵母の系を参考にしていくことで、解決の糸口をつかめることを期待したい。全てのカルパインが共通の作用機序を持っていない可能性も高いが、多くの生物にある程度保存された構造のプロテアーゼ分子が存在することには何か共通の意味があり、その定義を確立することで現状にブレイクスルーがもたらされるのではないだろうか。そのために、線虫、ハエ、マウスなど遺伝学が使える多細胞生物系での遺伝学的解析が重要であることは論を俟たない。

文献

1. Croall D.E. & Ersfeld, K.: *Genome Biol.*, 8:218, 2007
2. 秦勝志、反町洋之: *生化学*, 79:46-50, 2007
3. Dutt, P. et al.: *BMC Dev. Biol.*, 6:3, 2006
4. Kammenga, J. E. et al.: *PLoS Genet.*, 3:e34, 2007
5. Hata, S., et al.: *J. Biol. Chem.*, 282: 27847-27856, 2007
6. Davis, T.L. et al.: *J. Mol. Biol.*, 366:216-229, 2007
7. Richard, I. et al.: *Cell*, 81:27-40, 1995
8. Horikawa, Y. et al.: *Nat. Genet.*, 26:163-175, 2000
9. Arthur, J. S. et al.: *Mol. Cell Biol.*, 20: 4474-4481, 2000
10. Kramerova, I. et al.: *Hum. Mol. Genet.*, 13:1373-1388, 2004
11. Richard, I. et al.: *J. Cell Biol.*, 151:1583-1590, 2000
12. Azam, M. et al.: *Mol. Cell Biol.*, 21: 2213-2220, 2001
13. Franz, T. et al.: *Mol. Cell Biol.*, 24:1649-1654, 2004
14. Johnson, J. D. et al.: *J. Biol. Chem.*, 279:24794-24802, 2004
15. Takano, J. et al.: *J. Biol. Chem.*, 280:16175-16184, 2005
16. Cao, G. et al.: *J. Neurosci.*, 27:9278-9293, 2007
17. Yamashima, T. et al.: *Biotechnol. J.*, 2:596-607, 2007
18. Groshong, J. S. et al.: *J. Clin. Invest.*, in press, 2007
19. Criddle, D.N. et al.: *Cell Death Differ.*, 14:1285-1294, 2007
20. Moubarak, R.S. et al.: *Mol. Cell. Biol.*, 27:4844-4862, 2007
21. Ono, Y. et al.: *J. Biol. Chem.*, 273:17073-17078, 1998
22. Tagawa, K. et al.: *Hum. Mol. Genet.*, 9:1393-1402, 2000
23. Ono, Y. et al.: *J. Biol. Chem.*, 281:18519-18531, 2006
24. Ono, Y. et al.: *Biotechnol. J.*, 2:565-576, 2007
25. Ojima, K. et al.: *J. Biol. Chem.*, 282:14493-14504, 2007

図1 生物系統樹とカルパインを持つ生物の分布

カルパインはほとんどの真核生物と一部の真性細菌に存在する（黒線）。真性細菌のカルパインの配列の大きな **divergency** は、真核・原核生物が分岐した頃に既に祖先型カルパインは存在しており、多くの原核生物は進化の過程でカルパインを失った（赤点線）と考えることに矛盾しない。*S. pombe* では、少なくとも配列上カルパインと呼べるものは存在しないようだが、*S. cerevisiae* のカルパイン Cpl1 を含む Rim タンパク質のうち Rim9 及び Rim20 は存在しているため、Cpl1 に相当するプロテアーゼの存在する可能性は高い。いずれにしても Cpl1 は、カビと動物に広く存在する PalB 型カルパインの最も **divergent** なメンバーであり、ヒトと酵母で唯一共有するカルパインでもある。一方、SOL 型カルパインも広く真核生物に存在する。（系統樹は 2007 年理科年表より改変）

図2 ヒトカルパインの種類と構造

A. ヒトに存在するカルパイン活性サブユニット及びそのホモログをコードする 15 遺伝子の主要産物、カルパイン調節サブユニット 2 遺伝子の産物、及び内在性特異的阻害タンパク質カルパスタチン遺伝子産物の構造を模式的に示した。構造的には典型型 (**typical calpains**) 及び非典型型 (**atypical calpains**) の 2 つのクラスに分割され、発現組織的には普遍型 (黒字) と組織特異/選択型 (青字) に分かれる。

B. A の calpain 16 を除いたものについてサブクラスに分類したもの。非典型型は PalB 型と SOL 型に、さらに PalB 型は C 末端が C2 様ドメイン (CAPN7, 10) か C2 ドメイン (CAPN5, 6) かに分かれ、後者は TRA-3 型とも言う。

I: 調節領域で非活性化状態の保持に関与; IIa, IIb: プロテアーゼドメインの 2 つのサブドメイン、非活性化状態では 2 分しているが活性化すると一つのドメインになる; III: C2 ドメイン様 Ca²⁺-結合ドメイン、膜や基質との相互作用に関与; IV, VI: PEF ドメイン、5 つの EF-ハンドモチーフをタンデムに含む; V: Gly が連続する疎水領域を含み、脂質との相互作用に関与する; NS, IS1, IS2: 骨格筋特異的カルパイン p94 のみに存在するユニークな配列、p94 の活性調節に関与; T(C2): TRA-3 型カルパインのみに存在する C2 ドメイン; III', III'', III''': ドメイン III と同様に C2 ドメイン様構造であるが、それぞれ **divergency** が異なる; SOH: SOL ホモロジードメイン、SOL 型カルパインにのみ存在する; MIT: 微小管と相互作用し膜輸送に関与すると考えられるモチーフ; IQ: カルモジュリンと相互作用すると考えられるモチーフ; Zn: Zn-フィンガーモチーフを複数持つドメイン、SOL 型カルパインのみに存在; XL, L: カルパスタチンの N 末端ドメインで阻害作用を持たない部分; 1-4 (CSTN): それぞれが阻害活性を持つ 4 つのドメインで、領域 A, B, C がそれぞれドメイン IV, II, VI と相互作用し、阻害する（詳細は、(3)カルパスタチンの病態生理学、参照）。

図3 p94 トラップ法の開発とその応用

A. 「p94 トラップ法」: 酵母ツーハイブリッド系を応用した” **proteinase trapping**” の変法で、

Gal4Bd と Ad を野生型 p94 で一連の融合タンパク質として発現させる。野生型では自己分解するため、レポーターは on にならない。しかし、活性を抑える変異が導入されるとレポーターが on となるため、レポーターの活性で p94 の活性低下を半定量的に測定可能となる。

B. p94 トラップ法を使った p94 の構造機能相関解析：p94 のプロテアーゼドメインにランダム変異を導入して、活性を失ったミスセンス変異を同定したもの。* (**) は LGMD2A で見出された変異と同一（位置）のものであり、この方法論の妥当性を示している。

C. B で同定した変異を活性型（Ca²⁺-結合型）μCL のプロテアーゼドメインの立体構造上に投影したもの。黄色の部分が変異の見つかった部位。

図 4 p94 の局在とそのサルコメア長依存性

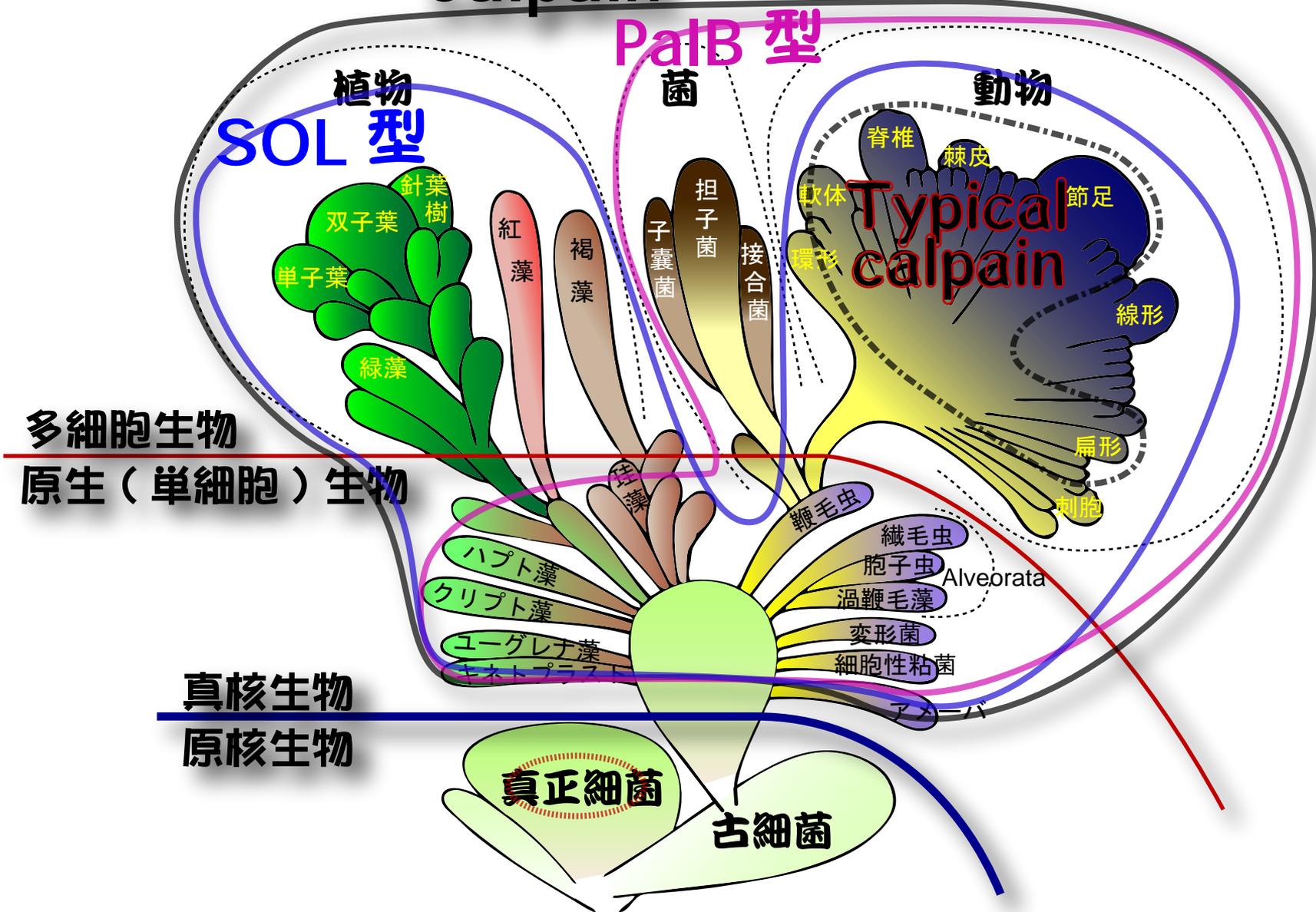
A. 骨格筋初代培養細胞に p94 を発現させると、p94（赤）は M 線（緑）及び N2A 領域に配位した。サルコメア長（左、矢印で示した緑線の間隔）が狭い部分（右部分）では、p94 は M 線に位置し（白矢頭）、広い部分（左部分）では N2A（白抜矢頭）2 本の M 線間に二重線として存在する（N2A 領域に相当）。白線は 10 μm を示す。尾嶋孝一博士（東京都臨床医学総合研究所・カルパイン PT）提供（未発表データ）。

B. 上記の観察をグラフにまとめたもの。一定の長さで p94 が M から N2A に転移し、しかも、その閾値は野生型に比べ p94:C129S で長い方にずれている。

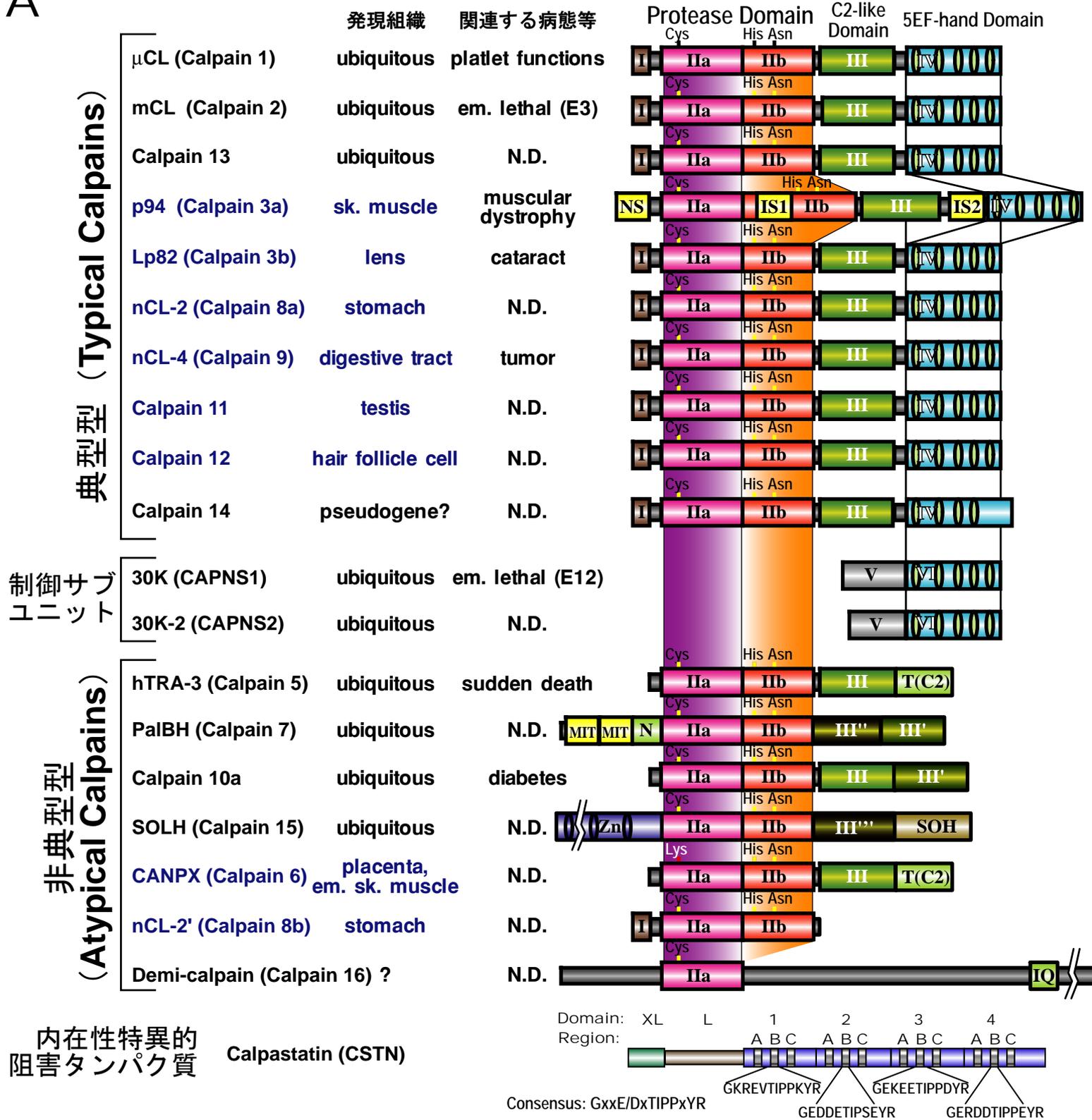
図 5 細胞外と核をつなぐコネクチンを足場とした"Signal Complexes"モデル

コネクチンは一分子で Z 線～M 線（サルコメア半分）をつなぐ巨大線維状弾性タンパク質である。p94 は N2A, M でコネクチンに、Z で α-アクチニンに結合する。コネクチンの Z, N2A, M 領域には他にも重要なタンパク質が共結合している。これら複数の分子間相互作用がコネクチンを足場として維持・調節され、筋肉のストレスを感知して核へと情報を伝達する Signal Complex が構成される。

Calpain



A



B

Typical Calpains

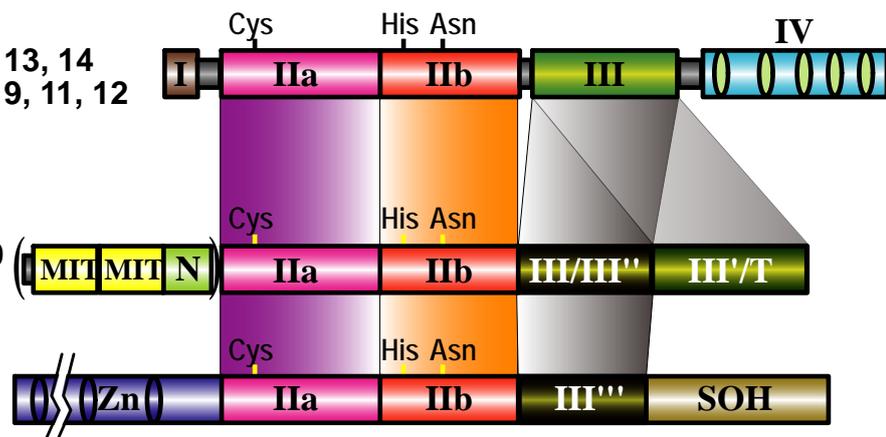
ubiquitous type: CAPN1, 2, 13, 14
 tissue-specific type: CAPN3, 8, 9, 11, 12

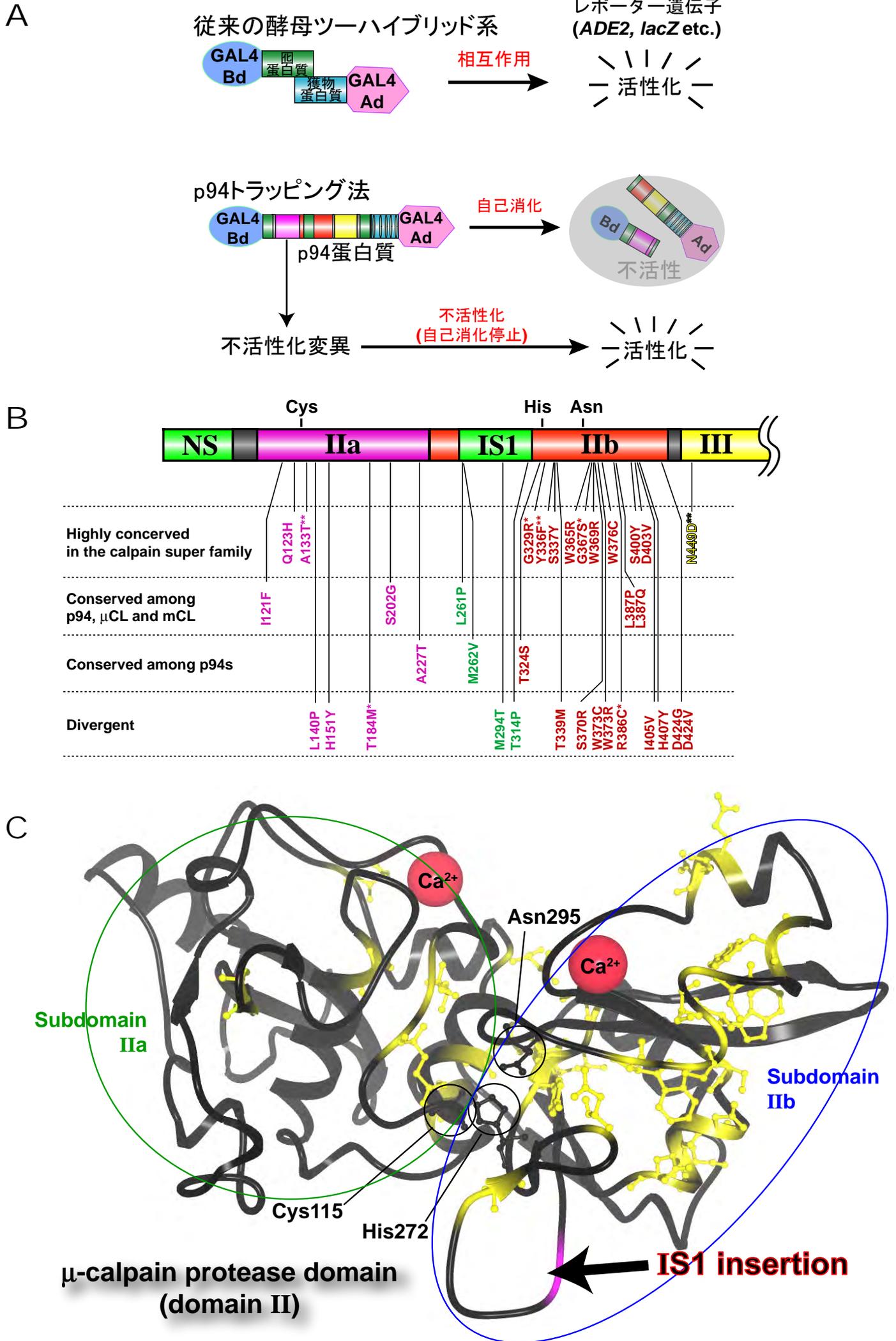
Atypical Calpains

PaIB Subfamily

C2-like type: CAPN7, 10
 C2 (TRA3) type: CAPN5, 6

SOL Subfamily CAPN15

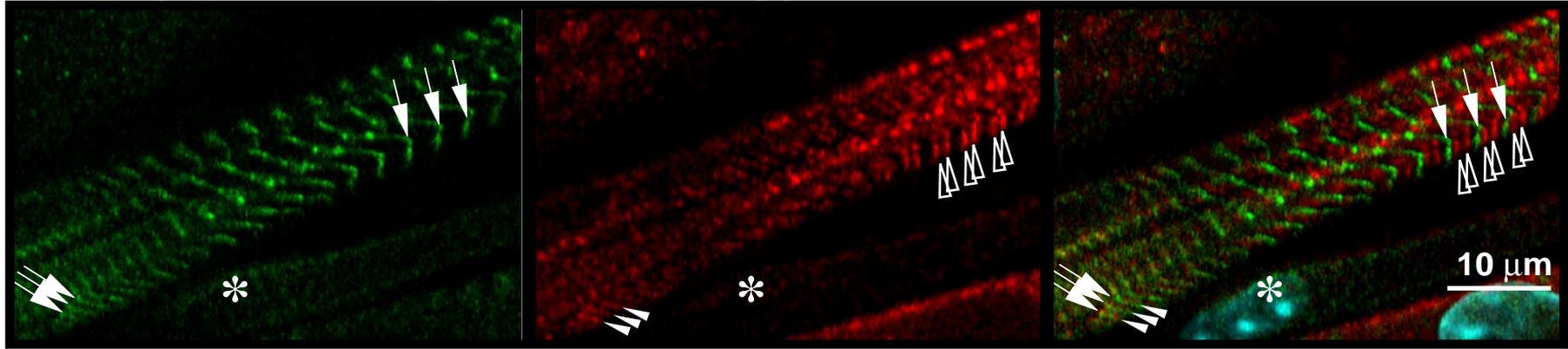




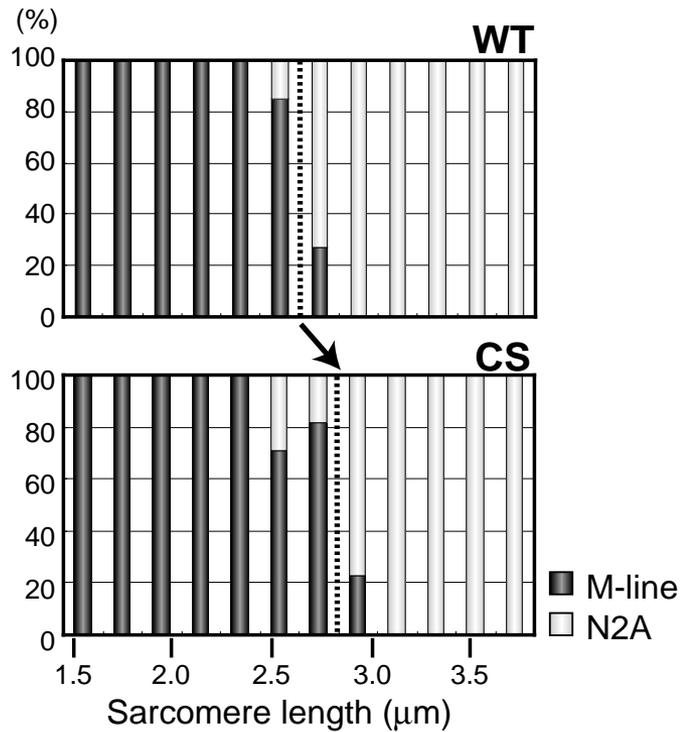
A M-線 (M8M9-コネクチン)

Flag-p94

重ね合わせ



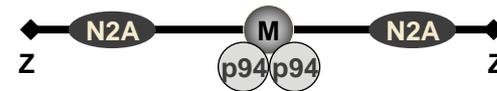
B



C

サルコメアの伸縮状態

正常な範囲



筋肉の過剰な伸長

過剰な伸長

