

論文審査の結果の要旨

氏名 横田 俊文

骨格筋の形質膜直下に存在する Dystrophin は多くの結合タンパク質とともに Dystrophin 複合体を形成して、細胞骨格と基底膜を連絡し筋形質膜において巨大な裏打ち構造を作ることが知られている。同複合体を構成する細胞内タンパク質の一つである α 1-Syntrophin は Dystrophin の C 末ドメインと結合し、レセプターやチャネル等の機能分子の膜への局在化に関与する PDZ ドメインを持つ。したがって、骨格筋において多数の機能分子を膜にアンカーしてシグナル伝達に関与することが予想され、これまで実際に神経型の一酸化窒素合成酵素 (nNOS) 、及び骨格筋や脳において水チャネルを構成する Aquaporin-4 が α 1-Syntrophin の PDZ ドメインにより膜に局在化されることが申請者らにより示されているが、同分子の機能については明らかではなかった。

申請者は本研究において、Dystrophin 及び Dystrophin 複合体を形質膜から欠損する Duchenne 型筋ジストロフィー、*mdx* マウス、及び Hypertrophic feline muscular dystrophy (HFMD) などの骨格筋において、筋変性だけでなく骨格筋肥大や繊維化などの筋再生障害が認められることや、 α 1-Syntrophin がシグナル伝達系に関与する可能性が高いことなどから、同分子が骨格筋の再生過程において重要な役割を持つ可能性に着目した。そこで同分子の欠損マウスが骨格筋変性などの明らかな組織学的異常を示さないことを前提として、骨格筋形質膜を特異的に障害し速やかな筋再生を誘導する蛇毒 cardiotoxin の前脛骨筋への注入による手法を用いて、同欠損マウスの筋再生過程における筋重量、筋線維数、Myosin Heavy Chain (MyHC) isoforms (fiber type) 構成比の変化、筋収縮張力の測定、運動能力試験、及び免疫組織化学などについて正常マウスと比較することにより、その特徴を調べた。その結果、同欠損マウスでは骨格筋再生誘導後 2 ~ 12 週時において広範な fiber splitting など Duchenne 型筋ジストロフィーにおいても特徴的に見られる所見を伴うを伴う顕著な筋肥大を呈した。筋肥大には個々の筋線維の平均面積の増加 (Hypertrophy) 、及び筋線維数の増加

(Hyperplasia) の両方が関与していた。また、MyHC アイソフォーム特異的抗体による免疫組織化学により、主に MyHC IIb を発現する線維 (type IIb 線維) において顕著な肥大が認められたが、SDS-Glycerol 電気泳動法により、筋肥大に伴って fiber type の構成比には変化が生じていないことが示唆された。筋肥大の背景として、Northern Blotting 法により Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) mRNA の発現増加が認められた。さらにその原因として、単離した前脛骨筋の収縮張力の測定により、張力の低下が生じていることが重要であると考えられた。また筋再生過程の初期 (再生誘導後 1 週時) から、同欠損マウスでは神経筋接合部形成において Synaptic gutter 構造が顕著に浅くなっていること、及び Secondary fold 構造が短縮していることなど同接合部の maturation に顕著な障害を生ずることを見い出した。さらに筋再生時における同接合部の形成障害の原因として、 α 1-Syntrophin が同接合部において Acetylcholine Receptor、及び Dystrophin の類似タンパク質である Utrophin が構成する Utrophin 複合体の共局在化に関与していることが重要であると考えられた。しかも同欠損マウスでは、金網保持試験により、筋再生誘導後 1 週時において運動能力の障害を伴っていることが見い出された。

本研究は、 α 1-syntrophin 及びその下流に位置する分子が、骨格筋発生ではなく筋再生過程において本質的な役割を果たすことを明瞭に提示している。

本論文は、 α 1-Syntrophin が骨格筋の再生過程において非常に重要な役割を果たすことを示した。また α 1-Syntrophin が DMD など Dystrophin 欠損筋の再生時に見られる神経筋接合部の形態異常、筋収縮張力の低下、及び骨格筋肥大などの少なくとも一部の責任分子である可能性が示唆された。これまで Dystrophin 複合体については形質膜裏打ち構造としての役割が強調されてきたが、 α 1-Syntrophin 欠損マウスが、これまで明らかでなかった Duchenne 型筋ジストロフィーなど Dystrophin 欠損における再生異常の病態の一部を再現していることから見て、Dystrophin 欠損による骨格筋再生障害の分子機構に始めて大きく迫った研究として高く評価することができる。

なお、本論文の一部は、保坂幸男、松田良一、亀谷修平、湯浅勝敏、鈴木友子、今村道博、武田伸一、池本隆昭との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、本論文は博士 (理学) の学位を授与できると認める。