

Title	The expression of ion channel mRNAs in skeletal muscles from patients with myotonic muscular dystrophy
Author(s)	木村, 卓
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42612">https://hdl.handle.net/11094/42612</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	木村卓 <sup>たかし</sup>
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16094 号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学位論文名	The expression of ion channel mRNAs in skeletal muscles from patients with myotonic muscular dystrophy (筋緊張性ジストロフィー症における各種イオンチャンネル mRNA の発現量)
論文審査委員	(主査) 教授 佐古田三郎  (副査) 教授 岡田伸太郎 教授 戸田 達史

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

筋緊張性ジストロフィー症 (DM) はミオトニア、白内障、脱毛、心伝導異常など多彩な症状を示す常染色体優性遺伝疾患である。Myotonin protein kinase (DMPK) とよばれる遺伝子の3'非翻訳領域のCTGリピートの延長によって引き起こされるが、その詳細なメカニズムは不明である。筋肉においては筋線維の成熟障害が指摘されているが、筋線維の成熟に伴い発現が変化する各種イオンチャンネルの発現量について詳細に検討したものはない。ミオトニアの発生機序を明らかにするため、Ca依存性Kチャンネル (SK3)、成熟型/幼弱型Naチャンネル (SkM1/H1)、Clチャンネル (ClC-1) の発現量をreverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) 法にて検討した。DMで増加の見られたSK3については免疫染色を行った。

#### 【方法ならびに成績】

診断目的にて行ったヒト生検筋20例 (DM 6例、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 4例、多発性筋炎 (PM) 5例、対照5例)、手術時に採取した筋3例 (全てDM) を対象とした。各患者には研究目的に利用する旨の了承を得た。

まずヘマトキシリン-エオジン染色およびATPase染色にて筋病理を検討した。DM9例のうち全例で中心核の増加を認め、7例でタイプ2C線維の増加を認めた。

DM患者では筋および白血球よりDNAを抽出し、サザンブロット法にてCTGリピート数を決定した。全例でCTGリピートの延長を認めた。

各イオンチャンネル mRNA の発現量は筋肉よりRNA抽出しRT-PCR法によって求めた。内部コントロールとしてglyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase に特異的なプライマーを用いた。DM、ALS、PMでは対照に比し、SK3 mRNA の有意な発現量の増加が認められた。SkM1/H1 mRNA はALSでのみ有意に増加していた。ClC-1 mRNA の発現量には差がみられなかった。

免疫染色には筋肉の新鮮凍結切片を使い、抗SK3抗体 (Alamone Labs) を用いた。DMでは通常の大きさの線維の一部で、ALSでは神経原性萎縮部位で、PMでは再生線維で陽性に染色された。

#### 【総括】

ALSでは、SK3 mRNA の増加はH1 mRNA の増加と関連しており、免疫染色でSK3が神経原性萎縮部位に発現していたことから、脱神経によってSK3が増加していると考えられた。一方DMでは、H1 mRNA は増加して

おらず、DMでのSK3の増加は脱神経によるものではないかと考えられた。

PMでは全例で壊死、再生の所見を認め、SK3 mRNAの増加は幼弱なタイプ2C線維の増加と関連しており、また免疫染色でSK3は再生線維に発現していることから、PMでは壊死、再生にともないSK3が発現していると考えられた。一方DMでは壊死再生は軽度でSK3 mRNAの増加はタイプ2C線維の増加と関連していなかった。

DMでは遺伝子変異でミオトニアを起こすSkM1、Clc-1を含む他のチャンネルmRNAの発現量には差がみられなかった。

これらの結果から、脱神経および壊死再生のない通常径の線維でのSK3の発現が、DMでのミオトニアの発現に関与している可能性が考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

筋緊張性ジストロフィー症(DM)はミオトニア、白内障、脱毛、心伝導異常など多彩な症状を示す常染色体優性遺伝疾患である。Myotonin protein kinase(DMPK)とよばれる遺伝子の3'非翻訳領域のCTGリピートの延長によって引き起こされるが、その詳細なメカニズムは不明であり、治療は困難である。筋肉においては筋線維の成熟障害が指摘されているが、筋線維の成熟に伴い発現が変化する各種イオンチャンネルの発現量について詳細に検討したものはない。本研究はミオトニアの発生機序を明らかにするため、各種イオンチャンネルの発現量をreverse-transcriptase polymerase chain reaction(RT-PCR)法にて検討し、DMで増加の見られたCa依存性Kチャンネル(SK3)については免疫染色を行ったものである。

結果から、脱神経および壊死再生のない通常径の線維でのSK3の発現が、DMでのミオトニアの発現に関与している可能性が考えられた。DMの遺伝子異常の発見後、症状発現機序の解明はやや停滞している。DMの患者検体を用いて行った研究は今まで報告がなく、学位に値すると考える。