

Title	Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic /endoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase in myotonic dystrophy type 1
Author(s)	中森, 雅之
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47416
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	なか もり まさ ゆき 中 森 雅 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 0 9 5 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学 位 論 文 名	Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase in myotonic dystrophy type 1 (筋強直性ジストロフィー症における骨格筋リアノジン受容体と筋小胞体カルシウムポンプの mRNA スプライシング異常)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 佐古田三郎 (副査) 教 授 戸田 達史 教 授 大平 充宣

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

筋強直性ジストロフィー症 1 型 (DM1) は成人で最も多い遺伝性筋疾患であり、筋強直、筋変性のほか、心伝導障害、耐糖能異常、認知機能障害など多系統にわたる障害を引き起こす。近年、本症において、mRNA の選択的スプライシング異常がその病態に関わっていることが報告されている。すでに、本症骨格筋におけるクロライドチャネル、インスリン受容体のスプライシング異常がそれぞれ筋強直症、耐糖能障害の原因であることが判明しているが、本症患者の予後および ADL に最も影響を与える筋変性の原因についてはいまだ明らかではない。一方、本症筋細胞での細胞内カルシウム (Ca^{2+}) 濃度異常も報告されており、細胞内 Ca^{2+} ホメオスタシスの障害から筋変性に至る可能性を考え、筋細胞内の Ca^{2+} 濃度を主に調整している筋小胞体蛋白、リアノジン受容体 (RyR) と筋小胞体 Ca^{2+} ポンプ (SERCA) のスプライシング異常を、患者骨格筋、モデルマウスを用いて解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

DM1 患者 9 例、および対照として正常コントロール 6 例、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 5 例、多発性筋炎 (PM) 5 例からの生検骨格筋、および DM1 モデルマウス (HSA^{LR})、正常マウス骨格筋から RNA を抽出、RT-PCR にて RyR と SERCA の mRNA スプライシングパターンを解析した。

骨格筋に発現している RyR1 および SERCA1 はともに、正常の発達に伴い選択的スプライシング制御をうけるエクソンが存在するが、DM1 群では対照群と比して有意にこれらのエクソンを含まない幼若型アイソフォームの比が増加していた。マウスにおける解析でも同様に、モデルマウス群で有意に幼若型アイソフォームの増加がみられた。また SERCA2 の解析では、これまでに報告されていない、イントロン 19 を含むスプライシング変異体が骨格筋にみられ、その割合は DM1 群で有意に低下していた。

次にこれらスプライシング変異体の発現を検討するため、ヒトおよびマウス骨格筋における mRNA 発現量を semi-quantitative RT-PCR 法で、マウス骨格筋における蛋白発現を Immunoblot 法にて解析した。RyR1、SERCA1、

SERCA2 ともに、総発現量は DM1 群やモデルマウス群で対照群との有意な変化はみられず、スプライシング変異体の発現が患者筋、モデルマウス筋で増加していると考えられた。

さらに、DM1 群で増加している幼若型 RyR1 の機能解析のため、HEK293T 細胞へ成熟型 RyR1、幼若型 RyR1 をそれぞれ導入し、リアノジンに対する結合性を調べた結果、幼若型 RyR1 ではリアノジン結合能の低下がみられた。また脂質 2 重膜上での single channel 記録では、幼若型 RyR1 のチャネル活性が有意に低下していた。

〔 総括 〕

DM1 骨格筋では、細胞内 Ca^{2+} 濃度の調整に重要な役割を果たす筋小胞体蛋白 RyR、SERCA の mRNA 選択的スプライシング異常が存在し、これらスプライシング変異体の機能異常により、筋細胞内 Ca^{2+} ホメオスターシスに障害を来たして、筋変性に至る可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

筋強直性ジストロフィー症は成人で最も頻度の高い遺伝性筋疾患で、進行性の筋障害のため重篤な ADL 障害を呈する。近年、本症の病態に mRNA の選択的スプライシングの異常が関与していることが明らかとなっているが、临床上最も重要である筋変性の原因については不明である。

本論文では、本症での細胞内カルシウム濃度異常が報告されている点に着目し、筋細胞内のカルシウム恒常性維持に主たる役割を担う小胞体蛋白、リアノジン受容体と筋小胞体カルシウムポンプのスプライシングが本症患者骨格筋で障害されていることを見出した。さらにこれらの mRNA および蛋白の発現を解析し、また機能解析ではリアノジン受容体の異常スプライシング産物のチャネル活性が低下していることも明らかにした。本論文は筋強直性ジストロフィー症において、リアノジン受容体、筋小胞体カルシウムポンプのスプライシング異常が細胞内カルシウム恒常性の破綻を招いて筋変性にいたる可能性を示唆しており、長らく不明であった本症の筋障害の原因解明にむけ、新たな知見をもたらしたことから、学位の授与に値すると考える。