

Title	LSMEM2, localized at the neuromuscular junction, modulates Mitochondrial integration in skeletal muscles
Author(s)	Hashem Hashem Ali Elrefaei, Eman
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/96260">https://hdl.handle.net/11094/96260</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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>〉</a> をご参照ください。

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

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

Osaka University

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	Eman Hashem Hashem Ali Elrefaei
論文題名 Title	LSMEM2, localized at the neuromuscular junction, modulates Mitochondrial integration in skeletal muscles (神経筋接合部に局在するLSMEM2は、骨格筋におけるミトコンドリアの統合を調節する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>In addition to the canonical metabolism-regulating function, AMP-activated protein kinase (AMPK) has non-canonical functions, in which AMPK spatiotemporally phosphorylates specific sets of substrates. Recently, we identified LSMEM2, a novel substrate of AMPK in the heart. LSMEM2 is a membrane protein localized at the intercalated disc (ICD), whose function is currently under investigation. Interestingly, LSMEM2 is also expressed in the skeletal muscles. As skeletal muscles lack a homophilic intercellular junction corresponding to the ICD in the heart, predicting the role of LSMEM2 in skeletal muscles is difficult. The aim of this study is to reveal physiological and pathological relevance of LSMEM2 in skeletal muscles.</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>First, we quantified the tissue expression of LSMEM2 from most murine tissues using ddPCR. LSMEM2 was specifically expressed in skeletal muscles at a similar level to the heart. Further analysis of LSMEM2 expression in hindlimb muscles demonstrated that LSMEM2 was expressed in both type I-dominant (soleus) and type II-dominant (others) muscles with some variations, relatively high levels of expression in TA and gastrocnemius muscles, and low levels of expression in the soleus. To examine the localization of LSMEM2, immunohistochemistry was performed using sections of skeletal muscle tissues. Interestingly, LSMEM2 was not uniformly distributed across the plasma membrane but was present in specific membrane regions. No such signal was detected in skeletal muscles from LSMEM2 KO mice. When co-staining with <math>\alpha</math>-bungarotoxin (BTX), which binds to the acetylcholine receptor, a marker of the neuromuscular junction (NMJ), LSMEM2 staining merged with BTX. This result suggests that LSMEM2 is localized at the NMJ in skeletal muscles. LSMEM2-knockout mice showed no histological abnormalities, suggesting that LSMEM2 is not essential for skeletal muscle development. The overexpression of full-length wild-type or C-del mutant of LSMEM2 led to the tubular aggregate formation with functional abnormality in male mice. RNA sequence analysis revealed that the genesets of mitochondrial oxidative phosphorylation and vesicle-mediated transport are enriched in LSMEM2 overexpression. Furthermore, histological analysis demonstrated the accumulation of swollen subsarcolemmal mitochondria in LSMEM2-overexpressing skeletal muscles.</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>The study findings suggest that LSMEM2 may play a role in the pathogenesis of skeletal muscle diseases. Further studies are needed to elucidate the molecular mechanisms of LSMEM2.</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) Eman Hashem Hashem Ali Elrefaei

	(職)	氏名
論文審査担当者	主査	大阪大学教授 高島 正二
	副査	大阪大学教授 栗木 乾行
	副査	大阪大学教授 武田 理夫

## 論文審査の結果の要旨

申請者のグループが独自に見出した新規膜タンパク質LSMEM2に関して、骨格筋における役割を解析した論文である。LSMEM2の骨格筋での局在は、神経筋接合部位 (Neuromuscular junction: NMJ) であった。機能解析のためにLSMEM2およびその変異体をマウス下肢骨格筋において強制発現させたところ、オスマウスでは管状凝集体 (tubular aggregate) が形成され、有意な骨格筋力の低下を認めた。メスマウスでLSMEM2を強制発現させると、管状凝集体は形成されず、凝集体の形成には性ホルモンの影響があるものと考えられた。RNA発現解析とエンリッチメント解析さらに免疫染色により、ミトコンドリアの細胞膜直下への集積、細胞内小胞輸送の異常が示唆された。これらのことよりLSMEM2は骨格筋の病態に関連する新規分子であること、また有望な創薬標的となる可能性が示唆された。本研究結果をまとめた論文は、The FASEB J (査読付き 学術雑誌掲載論文) に受理されていることを確認した。公聴会での報告および質疑応答からも、博士学位にふさわしい学力を備えていることが確認された。

以上の結果を踏まえ、本論文は博士（医学）の学位授与に値すると判断する。