

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：27102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21072

研究課題名（和文）細胞膜貫通型タンパク質Slitrk1が担う骨格筋代謝制御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of mechanism that the transmembrane protein Slitrk1 controls the skeletal muscle metabolism

研究代表者

白川 智彦（Shirakawa, Tomohiko）

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：50908225

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：Slitrk1は神経細胞の樹状突起伸長に関わる膜タンパク質である。Slitrk1は自閉症や運動性チックを主症状とするトゥレット症候群の原因遺伝子の1つと報告されている。これまでにSlitrk1の骨格筋に対する研究はなされていない。本研究では骨格筋におけるSlitrk1の役割を検討する事を目的とした。Slitrk1は骨格筋に発現している事、特に骨格筋の分化過程において発現が高まること、Slitrk1の欠失によって骨格筋が小さくなる傾向にあることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに骨格筋とSlitrk1の関連に着目した研究は皆無である。また、神経系と骨格筋に共通して発現する因子Slitrk1を基軸として神経-骨格筋連関の一端の解明を試みた点で学術的独自性は高い。本研究が今後さらに発展され、骨格筋におけるSlitrk1の役割が詳細に解析されることで骨格筋の調整機構が明らかになれば、将来的にトゥレット症候群の運動症状の予防や治療法確立に貢献でき、さらに骨格筋による顎顔面形態の調節機構の解明にも寄与できる可能性があることから社会的意義も高いと考える。

研究成果の概要（英文）：Slitrk1 is a membrane protein involved in dendrite outgrowth in neurons. Slitrk1 is reported to be one of the responsible genes for Tourette's syndrome. Tourette's syndrome is characterized by autism and motor tics. However, Slitrk1 has not been studied in skeletal muscle. The purpose of this study was to investigate the role of Slitrk1 in skeletal muscle. Slitrk1 is expressed in skeletal muscle, especially that its expression increases during the differentiation process of skeletal muscle. And deletion of Slitrk1 tends to decrease cross sectional area in skeletal muscle.

研究分野：矯正歯科

キーワード：筋分化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 頭蓋・顎顔面の形態的特徴は骨格筋の影響を強く受ける。例えば歯列形態において、頬筋や口輪筋などによる外圧、舌筋による内圧、咬合力による上下的な圧が加わることにより、歯列弓はそのバランスの取れたところに位置するようになる。

(2) 神経系と骨格筋は神経筋接合部を介して直接連絡する。脳からの指令を運動神経が伝達し、神経終末のシナプスで電気信号を神経伝達物質に変換して筋が動く。近年神経系から分泌された因子が骨格筋に作用したり、それとは逆に骨格筋から分泌された因子が神経系に作用したりするなどの報告がある。また、神経系と骨格筋に共通して作用する因子や共通に発現する因子が報告されるなど、神経系と骨格筋が密接にネットワークを形成していることが明らかとなりつつある。

(3) Slitrk1 は神経細胞の樹状突起伸長に関わる膜タンパク質である。Slitrk1 は自閉症や多発性の筋収縮を主体とする運動性チックを呈するトゥレット症候群の原因遺伝子の1つとして同定され、遺伝子異常にともないSlitrk1の機能喪失が起こることが明らかにされた( Abelson JF et al., 2005)。Slitrk1 は骨格筋にも発現することから、Slitrk1の遺伝子異常をもつ患者では神経細胞だけでなく、骨格筋細胞においてもSlitrk1の機能は低下する。そのため、トゥレット症候群の運動性チックなどの骨格筋症状は、神経系による骨格筋の正常支配の破綻、骨格筋自体の異常、もしくはその両方に起因する可能性がある。

### 2. 研究の目的

トゥレット症候群では自閉症に加え、筋の不規則な収縮である運動性チック症状が主症候であるにも関わらず、これまで神経系のみに着目した研究がなされており、骨格筋の基質的な解析は行われていない。そこでトゥレット症候群モデルマウス(Slitrk1 null マウス)の骨格筋では野生型と比較して違いがあるのか、骨格筋代謝におけるSlitrk1の役割について検討する事を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) Slitrk1 null マウスの解析

8週齢雄Slitrk1 null マウスの定常状態の骨格筋重量および組織学的形態を評価し、野生型と比較する。また前脛骨筋に50 μM(10 μM)のCTXを注入することで骨格筋再生を誘導したCardiotoxin(CTX)誘導性骨格筋再生モデルを用いて、再生筋を組織学・分子生物学的に検討を行い野生型と比較することでSlitrk1の骨格筋再生における役割を評価する。

#### (2) 培養骨格筋幹細胞と培養筋線維を用いた解析

8週齢雄Slitrk1 null マウスの前脛骨筋から単離したサテライト細胞を、増殖条件や分化条件で処理をする。免疫染色、Western Blotting法やReal-time PCR法などにより増殖、分化に関与するマーカーを定量し、野生型から得られたものと比較する。

### 4. 研究成果

#### (1) Slitrk1 null マウスの解析

##### 1) Slitrk1 null マウスの組織学的検討

8週齢雄Slitrk1 null マウスの定常状態の骨格筋およびCTXで誘導した再生筋の組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。Slitrk1 null マウスの筋の断面積は定常状態・再生筋ともに減少する傾向にあった(図1)。また単位面積当たりの筋線維数は増加していた。

この結果より、Slitrk1は骨格筋線維の形成に必要であることが示唆された。

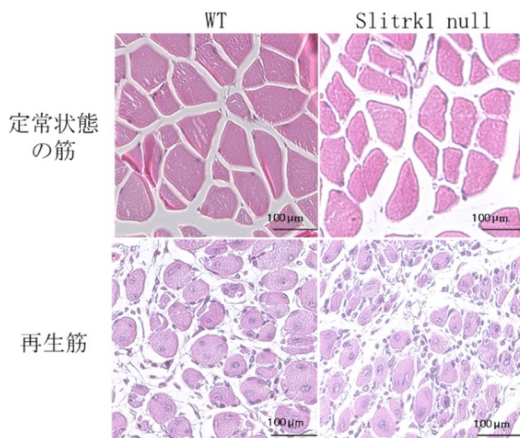


図1

## 2) Slitrk1 null マウスの分子生物学的的検討

CTX で誘導した再生筋において Slitrk1 の経時的な発現を qPCR 調べたところ、筋再生 3 日目に最も発現が上昇し、その後減少した(図 2)。これは筋分化マーカーである Myogenin の発現が増加する時期と重なった。

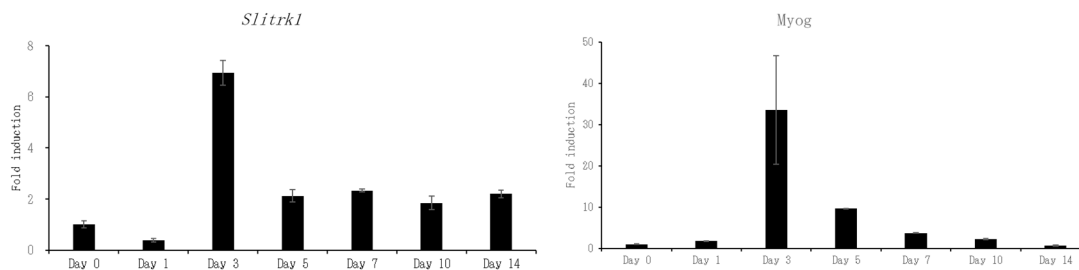


図 2

### (2) 培養骨格筋幹細胞と培養筋線維を用いた解析

Slitrk1 null マウス由来筋サテライト細胞を増殖培地で培養すると、野生型と比べ、早期に Myhc の発現が上昇した。一方で、培養を継続すると形成された筋管は野生型由来の方が Slitrk1 null 由来と比較して大きく形成された。また、サテライト細胞の増殖について Ki67 の遺伝子発現で検討したところ野生型由来と Slitrk1 null 由来で差は認めなかった(図 3)。

Slitrk1 は筋サテライト細胞において細胞増殖には影響を及ぼさないが、筋分化に影響を及ぼす可能性が示唆された。

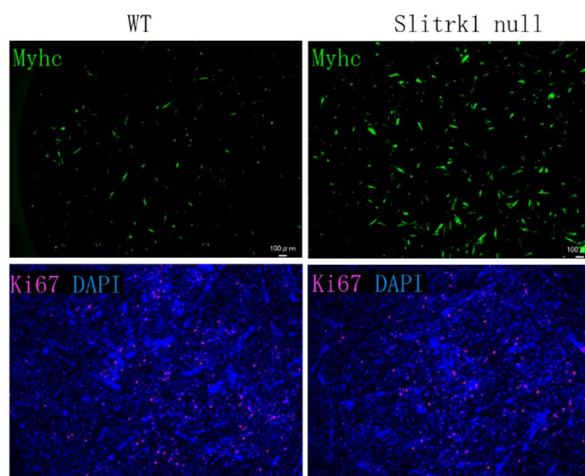


図 3

以上の結果より、Slitrk1 null マウスの骨格筋では筋サテライト細胞が十分に増殖できずに早期に筋分化が起こり、筋管の融合が亢進することで結果として筋線維が小さくなるのではないかと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 伊藤巧, 白川智彦, 松原琢磨, 黒石加代子, 郡司掛香織, 川元龍夫, 古株彰一郎
2. 発表標題 トゥレット症候群責任遺伝子の1つであるSlitrk1は正常な骨格筋再生に必要である
3. 学会等名 第17回九州矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤巧, 白川智彦, 松原琢磨, 黒石加代子, 郡司掛香織, 川元龍夫, 古株彰一郎
2. 発表標題 Slitrk1は骨格筋再生に必須である
3. 学会等名 第81回九州歯科学会総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ito T, Shirakawa T, Matsubara T, kuroishi K, Gunjigake K, Kawamoto T, Kokabu S
2. 発表標題 The signification of Slitrk1 in skeletal muscle regeneration
3. 学会等名 Asia-Pacific Conference in Fukuoka 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年～2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------