

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月2日現在

機関番号：14501  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23659454  
 研究課題名（和文） 細胞膜修復異常という新たな筋ジストロフィー疾患概念の確立と新規原因遺伝子の探索  
 研究課題名（英文） Abnormal membrane repair as a new concept for muscular dystrophy and search for new disease genes  
 研究代表者  
 金川 基 （KANAGAWA MOTOI）  
 神戸大学・医学研究科・講師  
 研究者番号：00448044

## 研究成果の概要（和文）：

ジスフェルリン含有小胞の構成成分解析を行うため、抗ジスフェルリン抗体の作成、および筋組織からジスフェルリン含有小胞を調整する方法を樹立した。筋ジストロフィー病態の重篤度に相関して、発現が上昇するジスフェルリン相互作用分子を見出した。ジスフェルリン変異マウスと筋ジストロフィーモデルマウスとの二重変異マウスの解析から、ジスフェルリン欠損によって、筋ジストロフィー病態が増悪する結果を得た。以上の結果は、筋ジストロフィー病態のより深遠な理解に貢献することが予想される。

## 研究成果の概要（英文）：

Anti-dysferlin antibodies and a method to isolate dysferlin-containing vesicle were established, which enables us to analyze components of the dysferlin-containing membranes. Proteins up-regulated correlatively to disease severity of muscular dystrophy were identified. Analyses of double mutant mice of dysferlin and other muscular dystrophy mice showed that dysferlin-deficiency led more severe muscular dystrophic phenotype. These results will contribute to deeper understanding of muscular dystrophy pathogenesis.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：生物系・医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：細胞・組織、筋ジストロフィー、膜修復、ジスフェルリン、神経分子病態学

## 1. 研究開始当初の背景

三好型遠位型筋ジストロフィー（三好型ミオ

パチー）は、三好和夫名誉教授によって確立

された常染色体劣性疾患で、青木博士（東北

大)らによって原因遺伝子ジスフェルリンが同定された。多くの筋ジスと異なり、筋萎縮は下腿後部の腓腹筋に優位に認められるが、前脛骨筋萎縮を特徴とする筋ジスや近位筋に優位な障害を認める肢帯型筋ジス2Bもジスフェルリン遺伝子が原因であることが明らかとなり、ジスフェルリノパチーという疾患概念が提唱されている。ジストロフィンをはじめ筋ジス原因遺伝子の多くが筋鞘膜の構造安定性に関わる中で、ジスフェルリンは細胞膜の修復に関わるというユニークな特徴を持つ。筋細胞膜が損傷すると、細胞内に留まっていたジスフェルリンを含む小胞が破綻箇所へと移動し、細胞膜と融合することで損傷部を繕う修復機構が提唱されている。最近では、ジスフェルリンがケモカイン等の液性因子の分泌に関与するという新しい概念も提唱されている。現在のところ、ジスフェルリンは膜修復に関与する唯一の筋ジス原因遺伝子である。興味深いことに、ジスフェルリンと相互作用するMG53の欠損マウスは、膜修復異常と筋ジス病態を示すという。つまり、膜修復に関与するものの未だ同定されていない分子が存在し、それらが原因不明の肢帯型筋ジス(約6割)の責任遺伝子

になる可能性がある。例えば、ジスフェルリン含有小胞に存在し、膜損傷を感知する分子や膜融合に関わる分子などが候補として考えられる。ジストロフィンをはじめとする筋鞘膜タンパク質の発見が筋ジス研究の進展に多大な貢献を果たしたように、ジスフェルリンを中心とした膜修復関連分子の同定が、新たなブレイクスルーをもたらすと期待される。

## 2. 研究の目的

三好型遠位型や肢帯型筋ジストロフィー2Bの疾患遺伝子ジスフェルリンは、物理的に損傷した細胞膜の修復に関わると考えられている。しかし、ジスフェルリンが膜修復機能を発揮する仕組みについて不明な点は多い。その理由は、未だに同定されていない膜修復関連分子が多数存在しているためと考えられる。かつてジストロフィンを中心とした筋鞘膜の安定性に関する分子群の発見が筋ジストロフィー研究に多大な進展をもたらしたように、膜修復に関与する分子群が同定できれば、膜修復異常を発症要因とする新しい疾患概念の確立というブレイクスル

一が期待される。本研究では、独自の技術と先端プロテオミクスを用いて、ジスフェルリンを含む修復小胞の構成成分を網羅的に同定し、膜修復に果たす役割を解明した上で、各成分が筋ジス発症要因、疾患原因遺伝子となるか明らかにする。

### 3. 研究の方法

本研究は、ジスフェルリン含有小胞の構成成分を網羅的に同定し、各成分の生理機能を明らかにすることで、膜修復異常という新しい疾患概念を確立させ、新規疾患原因遺伝子を発見することを目的とする。具体的な計画を以下に記す。

(1) 独自の小胞調製技術と最先端プロテオミクスの融合により、ジスフェルリン含有小胞成分と相互作用分子を網羅的に同定する。

(2) 小胞成分の膜修復、筋再生・リモデリングにおける生理的役割と病態への関与を、細胞・組織・個体の各階層横断的に明らかにし、分子病態の基礎情報を獲得する。

(3) 原因不明の筋ジストロフィーの新規原因遺伝子を同定する。

### 4. 研究成果

ジスフェルリン含有小胞の構成成分解析を行うため、抗ジスフェルリン抗体の作成および筋組織からジスフェルリン含有小胞を生化学的に調整する方法を樹立した。また、プロテオーム解析に必要な抗体カラムを作成し、網羅的解析を可能にした。

次に、筋ジストロフィー病態におけるジスフェルリン相互作用分子群の発現を検討したところ、病態の重篤度に相関して、発現が上昇する成分を見出した。ジスフェルリンと直接結合することが知られている分子の中にも、病態と相関して発現が上昇する分子群と、病態と発現量が相関しない分子群がみつけられ、それぞれ独立にジスフェルリン依存の膜修復活性を制御している可能性が見出された。

更に、ジスフェルリン変異マウスと筋ジストロフィーモデルマウスとの二重変異マウスの解析から、ジスフェルリン欠損によって、筋ジストロフィー病態が増悪する結果を得た。以上の結果は、ジスフェルリン依存の膜修復活性が、病態進行に対して保護的に作用していることを示唆しており、筋ジストロフ

ィー病態の統合的な理解に貢献することが  
予想される。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に  
は下線)

[学会発表] (計1件)

戸田 達史、The dysferlin-mediated  
membrane repair system contributes to  
maintenance of skeletal muscle cell  
viability in mouse models of muscular  
dystrophy. World Muscle Society,  
2011. 10. 19-21、アルマンシル、ポルトガル

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/clgene/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

金川 基 (KANAGAWA MOTOI)

神戸大学・医学研究科・講師

研究者番号：00448044

### (2)研究分担者

戸田 達史 (TODA TATSUSHI)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：30262025

### (3)連携研究者

永森 収志 (NAGAMORI SHUSHI)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90467572

三宅 克也 (MIYAKE KATSUYA)

香川大学・医学部・准教授

研究者番号：30219745

