

別紙 1-1

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 井上 太郎

論 文 題 目


Zonisamide upregulates neuregulin-1 expression and enhances acetylcholine receptor clustering at the *in vitro* neuromuscular junction

(ゾニサミドは *in vitro* における神経筋接合部においてニューレグリン-1 の発現を介し、アセチルコリンレセプタークラスターを増加させる)

論文審査担当者


名古屋大学教授

主 査 委員

阿 部 健 治 

名古屋大学教授

委員

勝 野 雅 央 

名古屋大学教授

委員

山 田 清 文 

名古屋大学教授

指導教授

今 釜 史 郎 

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、マウスの骨格筋細胞(C2C12)と運動神経細胞(NSC34)を共培養し *in vitro* にて神経筋接合部(NMJ)を再現しゾニサミド(ZNS)のアセチルコリンレセプター(AChR)クラスターに対する作用とその機序について確認された。AChR クラスターは共培養下においてのみ ZNS 投与により濃度依存性に増加していた。NMJ 関連遺伝子である *Chrne*、*Colq* の発現が ZNS 投与下において増加していた。これらの変化は単培養下には認められなかった。また *Nrg1* の発現が共培養下において増加しており、この受容体を inhibit することにより AChR クラスターに対する ZNS の作用が抑えられていた。ZNS は *Nrg1/ErbB signaling* を介して AChR クラスターに対し作用している可能性が示唆された。





本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 共培養下の AChR は BTX で染色されたが、運動神経の terminal が innervation されているかどうかは直接的には証明できていない。しかし、conditioned medium 中に AChR クラスターを誘導する因子がないことは実験において示されており、間接的に一部証明されたと考えられる。
2. ZNS の AChR クラスターの作用機序として *Nrg1/ErbB signaling* を介している可能性が示唆された。ZNS と *Nrg1* との関連については不明であるが、パーキンソン病モデルマウスにおける報告で ZNS がチロシン水酸化酵素を増加させることにより神経細胞におけるドパミンの産生を増加させるという報告がある。また別の報告において *Nrg1* を投与することによりマウスの中脳のドパミン濃度が上昇、*ErbB* を活性化させることによりチロシン水酸化酵素の発現、酵素活性の増加が認められたとしている。これらの報告は今回の ZNS と *Nrg1* との関連を支持すると考えられる。
3. 以前の ZNS の神経伸長作用についての報告がされており、その際に坐骨神経切断モデルマウスの骨格筋において *Chrne*、*Colq* などの神経筋接合部関連遺伝子の発現増加が示されている。今回の報告における AChR クラスターの増加と神経伸長作用との関連については示されていない。作用点としては運動神経細胞の関与はあると思われるが、単独では ZNS の作用は示されておらず、あくまで神経筋接合部に作用していると考えられる。

本研究は ZNS の神経筋接合部における AChR クラスター異常をきたす重症筋無力症、先天性筋無力症候群などに対する治療薬となる可能性について、重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	井上 太郎
試験担当者	主査	山本 健治 	副査:	勝野 雅央 
	副査:	山田 清文 	指導教授	今谷 史郎 
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 共培養の神経筋接合部について</li> <li>2. ゾニサミドの作用機序、標的分子について</li> <li>3. ゾニサミドの神経伸長作用と今回の結果の関連について</li> </ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、整形外科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				