

## 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 松本 早紀子

論 文 題 目

Motor nerve arborization requires proteolytic domain of Damage-induced neuronal endopeptidase (DINE) during development

(Damage-induced neuronal endopeptidase (DINE)のプロテアーゼ活性ドメインは胎生期脊髄運動ニューロンの軸索終末分枝形成に必要である)

論文審査担当者

主 査

委員

名古屋大学教授

大野 欽司



委員

名古屋大学教授

宮田 卓樹



委員

名古屋大学教授

山中 宏二



指導教授

名古屋大学教授

木下 博資



## 論文審査の結果の要旨

Damage-induced neuronal endopeptidase (DINE)は損傷神経で有意に発現上昇する膜貫通型メタロプロテアーゼで、発生期の脊髄運動ニューロンにおいても顕著な発現を示す。DINE 欠損(KO)マウスでは横隔神経の軸索終末分枝異常とそれに伴う神経筋接合部の形成不全が起こり生直後死に至るが、この現象に DINE のプロテアーゼ活性が関与しているかどうか不明であった。そこで、DINE KO マウスの *in vivo* レスキュー実験を行った。発生期運動ニューロン特異的に野生型 DINE もしくはプロテアーゼ活性部位変異型 DINE を発現するトランスジェニック(Tg)マウスを作製し、KO マウスと交配した。その結果、野生型 DINE では横隔神経や胸背神経の軸索終末分枝異常がレスキューされたが、変異型 DINE ではレスキューされなかった。さらに、DINE のプロテアーゼ活性ドメインがシュワン細胞の分化や軸索-シュワン細胞間の適切な相互作用に必要であることも示された。以上のことから、軸索にある DINE によって切断された何らかの基質がシュワン細胞に作用し、発生期の運動ニューロン軸索終末分枝と神経筋接合部の形成を促進す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. DINE と同じファミリーである Neprilysin や Endothelin-converting enzyme などでは、これらが自己分解するという報告がないため、今のところ DINE が自己分解をする可能性は低いと考えられる。
2. 今回作製した変異型 DINE で欠失させたアミノ酸領域は同ファミリー間で非常に保存され、またプロテアーゼ活性に必要不可欠なアミノ酸であることがすでに報告されている。また同領域のうちの一アミノ酸置換の変異型 DINE でも DINE 欠損マウスと同様の表現型を示した。さらに変異型 DINE の細胞内局在は野生型 DINE と同じであったことなどから、変異型 DINE で認められた軸索分枝異常は DINE のプロテアーゼ活性欠損によるものである可能性が高いと考えられる。
3. シュワン細胞で発現の高い ErbB2/3 や Sox10 を欠損したマウスでは、シュワン細胞の末梢への移動が阻害されるが、DINE 欠損マウスと同じように、軸索自体は標的の筋まで正常に到達し、筋内に入ってから軸索終末の分枝異常を起こすことが報告されている。DINE 欠損マウスでは、分化状態の異常なシュワン細胞が遠位側へ移動し、筋内での軸索-シュワン細胞間相互作用が阻害されて軸索分枝異常を起こしたと考えられる。

本研究は、DINE が生体内でプロテアーゼとして機能する可能性をはじめて証明し、発生期における適切な運動ニューロンの筋支配メカニズムに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	松本早紀子
試験担当者	主査 大野 欽司 (大野) 宮田 卓樹 (宮田) 山中 宏二 (山中) 指導教授 木山 博資 (木山)			
<p>(試験の結果の要旨)</p> <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. DINEが自己分解する可能性について</li> <li>2. プロテアーゼ活性部位欠失によりDINEの他の機能が阻害されている可能性について</li> <li>3. DINE欠損による軸索-シュワン細胞間相互作用の異常が、軸索の遠位側でのみ分枝異常の表現型を引き起こす理由について</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、機能組織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>				