

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第 号
------	---------

氏 名 中島宏彰

論 文 題 目

R-spondin 2 promotes acetylcholine receptor clustering at the neuromuscular junction via Lgr5

(R-spondin 2 は Lgr5 を介して神経筋接合部でのアセチルコリン受容体のクラスタリングを促進する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

勝野 雅央 

名古屋大学教授

委員

岡島 徹也 


名古屋大学教授

委員

久場 博司 

名古屋大学准教授

指導教員

西田 佳弘 

## 論文審査の結果の要旨

今回、R-spondin2(Rspo2)が脊髄運動神経 (SMNs)から産生され、神経筋接合部 (NMJ)において Lgr5 と結合し、LRP4/MuSK シグナルを活性化することで、アセチルコリンレセプター(AChR)の凝集を誘導することを確認した。マウス頸髄から SMNs をレーザーマイクロダイセクション法にて切り出し、抽出した RNA を用いて網羅的発現遺伝子解析を行ったところ、Rspo2 が SMNs に高発現を示した。筋芽細胞株 C2C12 に Rspo2 を添加したところ、Rspo2 は AChR の凝集や細胞内シグナルの活性化、MuSK のリン酸化を促し、その効果は Lgr5 をノックダウンすることで抑制された。Rspo2 ノックアウトマウスを用いて更なる検討を行ったところ、免疫染色や電子顕微鏡検査での NMJs の形態異常や電気生理学的検査での異常を認めた。この結果、Rspo2 は NMJ での AChR の凝集やシグナル伝達に重要な役割を有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. Rspo2 は 2 つの furin-like domain と一つの thrombospondin type1 domain を有する。Kazanskaya らの報告(Developmental Cell in 2004)では、furin-like domain を除去した蛋白では、細胞内シグナルの活性化が誘導されないが、thrombospondin type1 domain を除去した蛋白でも細胞内シグナルの活性化は誘導される事が証明されており、furin-like domain が受容体との結合に重要な働きを有している可能性が高いと考えられた。
2. Figure2A にあるように、胎生 18.5 日の時点では、Rspo2 の SMNs における発現は筋での発現に比べ 56.1 倍と高く、脊髄由来の Rspo2 が AChR の凝集に関わっている可能性が高いと考えられた。しかし、直接的な証明はできておらず、SMNs 特異的もしくは筋特異的な Rspo2 のコンディショナルノックアウトマウスを用いて、アセチルコリンレセプターの重合に関わる Rspo2 の由来を更に検討する必要があると考えられた。
3. 胎生 18.5 日の肋間筋及び前脛骨筋の NMJ においても、免疫染色法を用いて形態学的な観察を行ったが、横隔膜で認められた表現形と同等の結果が得られており、RSPO2 の NMJ における表現形は横隔膜特異的なものではないと考えられた。
4. RSPO2 ノックアウトマウスでの MuSK の発現量は wild-type と有意差がないことを確認したが、リン酸化の程度に関する違いは確認できていない。





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。

別紙2

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※乙第	号	氏名	中島宏彰
試験担当者	主査	勝野雅央  岡島徹也  久場博司 		
	指導教員	西田佳弘 		
<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. R-spondin2の結合に関わるドメイン構造について</li> <li>2. アセチルコリンレセプターの凝集に関わるR-spondin2の由来について</li> <li>3. R-spondin2ノックアウトマウスにおける神経筋接合部の表現形が筋の種類によって異なるかについて</li> <li>4. R-spondin2ノックアウトマウスでのMuSKのリン酸化について</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>				

学力審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※乙第	号	氏名	中島宏彰
学 力 審 査 担 当 者	主 査	勝野 雅央  岡島 徹也  久場 博司 		
	指導教員	西 田 佳弘 		
(学力審査の結果の要旨)				
<p>名古屋大学学位規程第10条第3項に基づく学力審査を実施した結果、大学院医学系研究科博士課程を修了したものと同等以上の学力を有するものと学位審査委員合議の上判定した。</p>				