

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 山下 喜洋

論 文 題 目

LDB3 splicing abnormalities are specific to skeletal muscles of patients with myotonic dystrophy type 1 and alter its PKC binding affinity

(LDB3スプライシング異常は筋強直性ジストロフィー1型に特異的な所見であり、PKCへの結合性を変化させる)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主査委員 伊松 俊治

名古屋大学教授

委員 勝野 雅央

名古屋大学教授

委員 木山 博資

名古屋大学教授

指導教授 大野 錠司



別紙 1 - 2

## 論文審査の結果の要旨

今回、エクソンアレイ解析を用いて、筋強直性ジストロフィー1型（DM1）骨格筋における疾患特異的スプライシング異常である *LDB3* exon 11 inclusion 増加を同定し、exon 11 を含む transcript から翻訳される LDB3 は、exon 11 を含まない transcript から翻訳される LDB3 に比べて、プロテインキナーゼ C (PKC) への結合性が低下していることを示した。PKC は DM1 において異常活性化していて RNA 結合タンパク CUGBP1 をリン酸化して安定化し、標的 RNA のスプライシング異常を引き起こすことが先行研究で示されており、*LDB3* exon 11 のスプライシング異常が、DM1 における PKC を介したシグナル伝達経路異常を引き起こ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. エクソンアレイ解析は、DM1 骨格筋 3 例、正常対照骨格筋 3 例から回収した total RNA に対して Affymetrix 社の HuEx1.0 ST exon array を用いて、各エクソンのシグナル値を求めた上で行った。4 つのパラメータを基準に 72 個の DM1 で異常スプライシングが想定される候補エクソンに対して RT-PCR を行って、感度 77.8%、特異度 95.6%を得た。*LDB3* exon 11 を含む計 16 遺伝子の DM1 特異的スプライシングを同定した。
2. *LDB3* は PKC と結合し、PKC の活性化を抑制することが知られている。今回の結果より、*LDB3* exon 11 inclusion が増加することで、DM1 において *LDB3* の PKC に対する結合性は全体として低下していると考えられる。骨格筋 Z 帯に局在する *LDB3* の PKC 繫留能が低下することで、PKC の異常活性化の原因となっている可能性が示唆される。また、*LDB3* は糖代謝に関わる phosphoglucomutase 1 や筋骨格タンパク F-actin とも exon 11 周辺の配列を介して結合することが示されている。exon 11 のスプライシング異常は DM1 の耐糖能異常や筋骨格の変性にも関連している可能性がある。
3. 正常骨格筋では、PKC は *LDB3* に結合することで Z 帯に固定され不活性化されているが、DM1 骨格筋においては、*LDB3* から離れ、核内に移行して活性化して CUGBP1 をリン酸化して安定化させ、標的遺伝子のスプライシング異常を引き起こしている可能性が想定される。

本研究は、DM1 の病態解明に、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。

別紙2

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	山下 喜洋
試験担当者	主査	勝野雅央	監修	木山博資
	指導教授	大野駿司	八重	

(試験の結果の要旨)

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。

1. エクソンアレイ解析でのスプライシング異常検出について
2. *LDB3 exon 11*スプライシング異常のDM1病態との関連について
3. *LDB3 exon 11*スプライシング異常とPKCの細胞内局在変化について

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、神経遺伝情報学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員会議の上、合格と判断した。