

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 李晋

論 文 題 目

Differential effects of spinal motor neuron-derived and skeletal muscle-derived Rspo2 on acetylcholine receptor clustering at the neuromuscular junction

(運動神経細胞と筋肉細胞より分泌されるRspo2は神経筋接合部の アセチルコリン受容体の集積に対して異なる役割をもつ)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

山中 宏二 

名古屋大学教授

委員

勝野 雅央 

名古屋大学教授

委員

明松 健治 

名古屋大学教授

指導教授

大野 欽司 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

所属する研究室において、Wnt/ β -catenin シグナルを活性化する分泌因子である R-spondin 2 (Rspo2) が Lgr5 受容体を介して神経筋接合部(NMJ)においてアセチルコリン受容体(AChR)のクラスターリングとその形成に關与することが報告された。しかし、Rspo2 は脊髄運動神経細胞(SMNs)に高発現し、筋肉細胞でもわずかに発現したため、どちらの細胞から分泌された Rspo2 が NMJ で役割を担っているのかについては未知であった。そこで我々は、Rspo2 欠損マウスにおいて SMNs もしくは筋肉特異的に Rspo2 を発現するマウスを作製し、NMJ の表現型を觀察した。その結果、SMN 由来の Rspo2 は Rspo2 欠損によって引き起こされる (i)AChR がクラスターリングする場所の拡大、(ii)電子顕微鏡で觀察される 3 つの NMJ の微細構造の異常、(iii)SMNs または横隔膜における 9 つの遺伝子の発現異常をレスキューした。一方、筋肉細胞由来の Rspo2 は Rspo2 欠損によって引き起こされたアクティブゾーン数の減少などすべての NMJ の微細構造における異常をレスキューしたが、AChR がクラスターリングする場所の拡大、NMJ のマイクロ構造、遺伝子の発現異常をレスキューしなかった。これらの結果から、SMN 由来の Rspo2 は筋肉細胞で起こる AChR のクラスターリングと NMJ のマクロ構造の形成に關与しており、筋肉細胞由来の Rspo2 は SMN のアクティブゾーン数などの NMJ の微細構造に特異的に關与していることがわかった。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. Motor neuron と skeletal muscle 由来の Rspo2 は両方とも神経筋肉接合部について關与している、NMJ の表現型を觀察した結果から見ると motor neuron の方が NMJ の形成について重要だと考えられる。
2. Rspo2 ノックアウトマウスの横隔膜の表現型は左と右によって違うということがわかった。具体的な理由はまだ未知であるが、real-time PCR の結果から見ると、Wnt/ β -catenin シグナルに關与していると想定されている。
3. Real-time PCR の結果から見ると、spinal motor neuron の Rspo2 RNA レベルは筋肉より 2.9 倍高い、Rspo2 ノックアウトマウスの脊髄の chat と agrin の Rspo2 RNA レベルも wild-type より高くなる。Rspo2 は SMN で NMJ のマイクロ構造の形成に關与していると考えられる。

本研究は、SMNs もしくは筋肉特異的に Rspo2 を発現するマウスを作製し、SMNs と筋肉由来の Rspo2 はそれぞれ NMJ の形成に關与していることを確認した。

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	李晋
試験担当者	主査	山中 宏二	副査 ₁	勝野 雅央
	副査 ₂	門松 健治	指導教授	大野 敏司
(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"> 1. Rspo2に対してmotor neuronとskeletal muscleの重要性について 2. 左と右の横隔膜の表現型の違いについて 3. 脊髄のRspo2のレベルについて <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、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、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				