

## 主論文の要約

論文題目：ナトリウム利尿ペプチドの骨格筋機能亢進薬としての可能性

氏名：石川潔

### <要約>

骨格筋の機能を回復する薬を創ることは、運動器疾患治療において重要であるが、骨格筋の機能が十分に解明されていないことや、筋細胞を用いたスクリーニング方法が確立されていないことが障壁となり、そのような薬は未だに上市されていない。我々は骨格筋に作用する可能性のあるタンパク質として、ナトリウム利尿ペプチドに注目した。環状グアノシンリン酸 (cyclic Guanosine Monophosphate; cGMP) シグナル伝達を調節するナトリウム利尿ペプチドシステムは、3種類のナトリウム利尿ペプチド (心房性ナトリウム利尿ペプチド (Atrial Natriuretic Peptide; ANP), 脳性ナトリウム利尿ペプチド (Brain Natriuretic Peptide; BNP), C型利尿ペプチド (C-type Natriuretic Peptide; CNP)), Osteocrin (OSTN), およびそれらの受容体 (A型ナトリウム利尿ペプチド受容体 (Natriuretic peptide receptor A; NPR-A), B型利尿ペプチド受容体 (Natriuretic peptide receptor B; NPR-B), C型ナトリウム利尿ペプチド受容体 (Natriuretic Peptide Receptor C; NPR-C)) からなる。ナトリウム利尿ペプチドは多くの器官で重要な役割を果たしていることが知られているが、骨格筋におけるその生理学的役割は明らかにされていない。本博士論文では、ナトリウム利尿ペプチドの骨格筋における機能解明と、運動器疾患治療薬創出への展開を目指した筋細胞の画像解析技術についての研究を行った。

我々はまず、ナトリウム利尿ペプチドの筋細胞における機能を検討するため、C2C12細胞を用いてナトリウム利尿ペプチドの検討を行った。3種類全てのナトリウム利尿ペプチド受容体は筋細胞と筋組織のどちらにも発現しており、筋細胞におけるcGMPの産生は主に、CNP/NPR-B経路を介して誘導されることを見出した。このような筋細胞における詳細なナトリウム利尿ペプチドシグナルの検討はこれまで報告されていなかった。さらに、ナトリウム利尿ペプチドシグナルは小胞体ストレスと密接に関係している可能性を示した。cGMPアナログによるcGMPシグナルの亢進は小胞体ストレス関連遺伝子の発現を抑制し、小胞体ストレス上昇により発現が増加するCCAAT-enhancer-binding protein homologous protein (CHOP)はOSTNの発現を調節することが示唆された。小胞体ストレスは病的な状態にある細胞で見られることが多いため、ナトリウム利尿ペプチドシグナルが筋疾患に対しても何らかの役割を果たしている可能性が考えられる。

次に、全身のナトリウム利尿ペプチドシグナルが亢進している、NPR-C変異マウスの検討を行った。NPR-C変異マウスは食事誘発性の肥満に抵抗性を示し、6週間の高脂肪食給餌後の呼吸関連パラメータは、同じ餌を摂取した野生型マウスよりも高値を示した。つまり、

NPR-C 変異マウスにおいて、骨格筋を含む全身の代謝機能が亢進していることが示唆された。実際に、骨格筋組織における代謝関連遺伝子の発現は、野生型マウスと比較し、特に速筋の代表的な筋肉である腓腹筋において増加していた。さらに、腓腹筋においては、筋肉を構成する線維タイプにも変化がみられていたことから、筋組織の質的な変化も示唆された。これらの結果から、ナトリウム利尿ペプチドシグナルの亢進は代謝性疾患の改善だけでなく、運動器疾患によって起こる筋線維の構成変化の抑制にも寄与する可能性が考えられる。

最後に、筋細胞を用いた表現型ベースのスクリーニング方法を確立するため、筋細胞の経時的な分化画像に基づくパラメータ解析を行った。分化培養条件下で培養した筋細胞を 22 日間 6 時間間隔で撮影し、非標識の形態データを取得した。これらの画像を解析するため、6 つの形態学的パラメータを設定して定量化を行った。これにより培養条件による細胞の分化状態の違いをクラスタリングすることが可能となった。さらに、14 日後の分化状態をそれまでの画像情報から予測する予測モデルを構築した。分化培地に、ナトリウム利尿ペプチドの下流シグナルである、cGMP のアナログを分化初期から添加しても筋分化に変化は見られなかった（分化培地のみと同じ領域にクラスタリングされた）が、分化 18 日後に高濃度の cGMP アナログを添加すると、MHC 染色領域が有意に増加し、その変化は我々の画像プロファイリングにおいても捉えることができた。これらのことから、我々が構築した非標識画像を用いた細胞画像解析や予測モデルを、筋管分化を指標とした化合物スクリーニングに適用できると考えている。

本博士論文を通じて、ナトリウム利尿ペプチドが骨格筋の機能に関係する重要な役割を担っていることを明らかにした。さらに、我々が構築した筋細胞の画像解析によるクラスタリング技術を用いてスクリーニングを行うことで、ナトリウム利尿ペプチドシグナルと同様の作用を持つ化合物を見出すことも可能である。今後、骨格筋機能に関与するタンパク質の更なる解明が進み、さらに、我々が提唱したスクリーニング方法が運動器疾患に対する創薬に広く利用されることを期待する。