

厚生労働省「精神・神経疾患研究委託費」

# 筋ジストロフィー及び関連疾患の 臨床病態解明と治療法開発に関する研究

荒畑班／清水班

平成11～13年度研究報告書

平成14年3月（2002年）

## 研究報告書の作成にあたって

本報告書は、平成11～13年度にわたって行なわれた「筋ジストロフィー及び関連疾患の臨床病態解明と治療法開発に関する研究（11公-1）」の最終報告書である。

当班は、最初国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部部長荒畑喜一先生を班長とし、班員37名をもって、①未知遺伝子の単離と臨床表現型・遺伝子型の本態を解明する“診断研究”，②疾患の病態機序解明と筋細胞の分子生物学的研究を行なう“病態研究”，③科学的根拠に基づく有効な薬物治療と細胞治療を目指す“治療研究”，の3つを目標として始められた。ポストゲノムの時代を迎え functional genomics 機能解析遺伝学の観点から班構成を組み、研究促進を効率的にはかるため ENMC（ヨーロッパ神経筋連合）型の小グループによる実務的目標設定型研究分科会を年数回開きつつ全体会議による討論を行なう計画とした。

当研究班の前年までは石川春律群馬大学教授を班長とする「筋ジストロフィーの分子病態学的基礎研究（8指-1）」（所謂筋ジス1班）と高木昭夫虎の門病院神経科医長を班長とする「筋ジストロフィー及び関連疾患の臨床病態と治療法に関する研究（8指-2）」（所謂筋ジス2班）を発展的に合同・再構成して、公募班として出発したが、平成12年12月荒畑喜一班長が悪性腫瘍で急逝されたため、最終年度にあたる平成13年度に清水が引き継いだ次第である。日本の班研究の草分けである当班を高名な先達の活躍に優るべく支援し、筋ジス病態解明と治療開発の発信源とならんことを意図しつつ、平成11～13年度の3年間にわたる研究総括を報告する次第である。関係諸氏のご講評、ご批判をいただけると大変有り難く存じます。

締めるにあたり、永年にわたり研究促進に多大な努力をされている筋ジストロフィー協会理事長河端静子氏、様々なご助言をいただきました国立精神・神経センター総長高橋清久先生、同神経研究所長高嶋幸男先生、同武蔵病院長埜中征哉先生、筋ジストロフィー総合班班長杉田秀夫先生に深謝するとともに、当班の運営幹事として見えざる努力をしていただいた栗原照幸東邦大学教授に感謝申し上げる次第である。

平成14年3月

国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部  
部長 荒畑喜一

帝京大学医学部神経内科  
教授 清水輝夫

# 目 次

平成 11～13 年度総括研究報告 .....	1
分担研究報告	
I. 肢帯型／遠位型（三好）筋ジストロフィー .....	13
II. Dystrophin-Dystroglycan 関連 .....	43
III. 福山型およびその他の筋ジストロフィー .....	63
IV. ミオトニー症候群 .....	87
V. ミトコンドリア脳筋症 .....	99
VI. 筋発生・分化 .....	105
VII. 治療 .....	117
Small Group Workshop .....	129
Summary .....	151
平成 11～13 年度 班員名簿 .....	155

平成 11～13 年度

# 総 括 研 究 報 告

# 総括研究報告

主任研究者 荒畑喜一/清水輝夫

本班は筋ジストロフィー及び関連疾患の I. 診断研究（未知遺伝子解析と診断法）、II. 病態研究（疾患病態とその基盤解明）、III. 治療法開発（薬物治療と細胞治療）を 3 本柱とし、基礎・臨床を含む実務者による小グループワークショップ SGW により研究を促進し以下の主要結果をえた。

## I. 診断研究（未知遺伝子解析と診断法）

1. 肢帯型筋ジストロフィーLGMDs/遠位型筋ジストロフィーに大きな進展がみられた。概略 LGMDs の約 2%が caveolin-3 異常などの type 1 (常優), 他は常劣(type 2)で, 約 23%が type 2A(calpain 異常症), 16-30%が type 2B(dysferlin 異常症)であり, 本邦ではこの 2 型が最も多く, types 2C-F( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -sarcoglycan 異常症)は約 10%であった。

1) Calpain 異常症; missense 変異が半数以上の患者にみられ, calpain 遺伝子の全領域に分布し, 本邦では G233V, R461C, D707G, 1796insA が多く, 諸外国と異なる。これにより, 約 70%の患者を遺伝子診断できる。イムノブロット/免疫組織法では約 90%に calpain 蛋白の消失減少があり, 最も有用な早期診断法といえる。しかし, これで発見できない患者が存在することも事実である。このため, より簡便で確実な“calpastatin を基質とする calpain 活性測定法”を開発し臨床診断に応用を試みる段階にきた。

2) Dysferlin 異常症; 肢帯型と遠位型 (三好) の 2 臨床型が主なもので, その変異は dysferlin 遺伝子の全領域にわたり, 約 60%が G1310+1A, C1939G, G3370T, 3746delG, 4870delT の 5 変異であった。G3370T は軽症型, C1939G, G3510A は重症型であった。また, 3746delG は遠位型であった。遺伝子診断は必ずしも高率でなく, 生検筋の免疫染色/イムノブロット法の両者に異常がある場合に強く疑われる。遠位型の 75%は免疫組織/イムノブロットの併用で同定できるが, 25%は診断できない。今後, より信頼のおける診断法の開発が望まれる。

2. 福山型先天性筋ジストロフィーFCMD および類縁疾患; FCMD 患者の 9 割は 3' 非翻訳領域に retrotransposon 挿入をもち, fukutin は産生されない。良質な抗 fukutin 抗体がなく, 末梢血の遺伝子診断により 90%以上診断できる。FCMD 類縁疾患である muscle-eye-brain 症候群(MEB)の責任遺伝子として 1p33-34 に局在する糖鎖修飾酵素 POMGnT1 が同定された。これは UDP-N-acetylglucosamine: protein o-linked mannose  $\beta$  1,2-N-acetyl glucosaminyltransferase で, 筋・末梢神経・脳に局限する o-mannose に GlcNAc を付加する新規の糖転移酵素であった。MEB 6 症例の解析から, 点変異ホモまたは複合ヘテロがみつかった。

## II. 病態研究（疾患病態とその基盤研究）

### 1. 疾患病態とその基盤

1) Duchenne/Becker 型筋ジストロフィー-DMD/BMD;

Dystrophin/dystroglycan/laminin 接着系の分子構築理解がすすみ, dystrophin C 端での① syntrophin/dystrobrevin, ②sarcoglycan( $\alpha \beta \gamma \delta$ )/sarcospan, ③ $\alpha, \beta$ -dystroglycan の結合があった。これに関連して caveolin-3, MAGI-1/ $\beta$ -catenin/Tcf signal, dystrobrevin/desmuslin/plectin が確認された。また, 膜型 matrix metalloproteinase が $\beta$ -dystroglycan 分解に関与し, 筋障害機序の 1 つが判明した。

2) FCMD と類縁疾患;

神経細胞の遊走異常/層構築障害や筋ジストロフィーは脳表面や筋細胞の基底膜異常に伴うもので, 分子レベルでも laminin subunits 異常, 未知の基底膜蛋白 p180 と  $\alpha$ -dystroglycan の減少が判

明, dystroglycan 連関の破綻が示唆された. 9p31 に局在する責任遺伝子産物 fukutin は, 筋細胞, 神経細胞, Cajal-Retius 細胞の Golgi 体から細胞外に分泌され, 膜蛋白の糖鎖修飾を行なうと推定された. 117 症例の分析から fukutin の非翻訳領域 exon 10 の transposon 挿入ホモが 90% で, 重症型であり, その他の変異を持つ複合ヘテロは比較的軽症であった. 類縁疾患 MEB 遺伝子産物は o-glycan 転位酵素であり, 筋で完全酵素欠損し,  $\alpha$ -dystroglycan が激減していた点から,  $\alpha$ -dystroglycan が筋ジス発症の枢要な要素であり, 酵素療法への展望を開いた.

### 3) Calpain 異常症 ;

ヌル型変異は重症で, ミスセンス型変異では G233V は calpain 完全欠損で重症型, D707G ホモと R461C ホモは calpain 減少で軽症型であった. Proteinase 活性だけを失活させた変異 calpain を発現する transgenic mouse の解析から, calpain の proteinase 活性不全が筋障害の根本原因であることが判明した. Calpain は筋 scaffold protein である connectin を主要ターゲットとし, connectin 崩壊→筋構造蛋白・筋膜 (Tcap→K channel)・核 (Murf1-3) に深甚な影響を及ぼす病態が考えられた.

### 4) Dysferlin 異常症 ;

肢帯型と遠位両型があり, その遺伝子変異と臨床型との関係が注目され, 変異 3746delG が遠位型となることが判明しているが, 今後の解明が必要である. Dysferlin には結合蛋白の存在が示唆され, caveolin-3 との機能連関が考えられた. Dysferlin 異常の筋障害機序は未解決であるが, dyrferlin-related ER stress apoptosis がみつきり, 今後の進展が期待された.

### 5) 筋緊張性ジストロフィー (DM1, DM2) ;

非翻訳領域にある CTG repeat 延長(DM1), CCTG repeat 延長(DM2)によりその遺伝子産物 (DM kinase, Zinc finger protein ZNT9) 活性を低下させる. これらの mRNA に結合する CUG/CUGG 結合蛋白が 2 種(CUG-BP, EXP/MBNL)同定され, Repeat 延長した RNA との結合の促進, 当該 RNA の細胞質内移行の阻害, 他の RNA との結合欠乏, その結果多様な RNA 発現が障害されるとする RNA 仮説が提唱された. 事実, DM1 遺伝子下流にある SIX5 遺伝子発現が抑制され白内障が生じたり, 別の染色体上の遺伝子発現 (tau 蛋白,  $\beta$  tubulin など) に障害がみられ, 広範な臓器の多様な病変が説明できた. この変化は筋細胞のアポトーシスを促進するが, Apoptosis 抑制薬で抑制できることが判明した.

## 2. モデル動物の作成

①fukutin ホモ欠損細胞をマウス胚に注入してキメラマウス(FCMD モデル), ②calpain の活性中心の Cys を Ser に変異させ, 酵素活性だけを失活させた変異型を発現する transgenic mouse(LGMD 2A モデル), ③caveolin-3 の missense 変異 P104L をもつ transgenic mouse(LGMD1C モデル), ④caveolin-3 exon 2 欠失の caveolin-3 ホモ/ヘテロ欠損マウス, ⑤poly(A)-binding protein 2 遺伝子の exon 1 の野生型 ATG(GCG)6(GCA)3GCG を,  $\cdot\cdot$ (GCG)9 $\cdot\cdot$  に変換した transgenic mouse(眼咽頭型筋ジスモデル)が得られ, 病態解明と治療法開発に有力な武器ができつつある.

## III. 治療法開発 (薬物治療と細胞治療)

1. stop codon の読み越えをおこすアミノグリコシド系抗菌薬ネガマイシンを, mdx dystrophy mouse に投与し, 約 10% の dystrophin を回復できた. 今後 dystrophy dog, ヒト DMD/BMD の約 10% の患者に適用しうる, 毒性の少ない治療法と期待できる. 当法は類似の変異をもつ多数の疾患に応用できる点からも注目される.
2. pyruvate dehydrogenase kinase を阻害する乳酸降下薬 dichloroacetic acid(DCA)をミトコンドリア脳筋症 MELAS 患者 4 例に, 4-6 年間投与された結果が発表され, 乳酸/ピルビン酸値・脳硬塞様発作・頭痛・けいれん・易疲労性の改善がみられ, 頭部 MRI 所見・脳波異常・難聴・知能は徐々に悪化, 肝障害・末梢神経障害・低 Ca 血症などの副作用があった. なんらの治療薬がない現段階では比較的安定した長期効果が期待できる.
3. ピルビン酸 Na は MELAS, MERRF, CPEO などミトコンドリア脳筋症の高乳酸血症症状 (吐き気, 嘔吐, 倦怠) の改善に緊急避難的に用いると有効であった.

4. taurine は、MELAS での、3243 と 3271 塩基に点変異をもつ変異 tRNA-Leu(UUR)や MERRF での、8344 塩基に点変異をもつ変異 tRNA-Lys の anticodon に結合できず、蛋白合成が停止することが判明。これらの変異 tRNA をもつサイブリド細胞を高濃度 taurine 存在下に培養すると、ミトコンドリアの形態が正常化し、機能も回復した。MELAS, MERRF に taurine 大量療法の期待が得られた。
5. 糖原病の第 1 次全国調査を行ない、2292 施設のうち 62%から回答を得、過去 10 年間の診断症例数は 143 例であった。内訳は、II 型 (acid maltase 欠損), III 型 (debrancher enzyme 欠損), V 型 (筋 phosphorylase 欠損=McArdle 病) が主要 3 型で約 70%を占めた。このうち V 型の生検筋では phosphorylase 結合性 vitamine B6 が 10%以下に減少、培養筋細胞に vitamine B6 投与すると phosphorylase 活性が回復できることが判明し、有力な治療法である可能性が浮上した。
6. homeobox 遺伝子 Msx 1 cDNA をマウス骨格筋へ導入し、脱分化して分裂増殖可能な単核細胞がえられた。幹細胞類似の機能を有し、細胞治療への端緒を得た。
7. 筋緊張性ジストロフィーの myotonia 改善薬として dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS), スーパーアポトーシス抑制因子 Bcl-xFNK が開発できた。

主要筋疾患の遺伝子同定がおおむね出そろい、今後の展開として、dystrophin-dystroglycan と基底膜, dysferlin, calpain の異常症や FCMD について、①genotype phenotype 連関、②より簡便で確実な診断法の確立、③蛋白レベルの機能病態解析、④そこから得られる薬物治療/細胞治療の開発が急務である。基礎と臨床の協力による成果が大きく、すでに有力な方法が示唆されており実現可能な分野がある。また、主要筋ジスである FSHD, emerin/lamin 異常症について進展が得られず今後の重点領域と考える。上記結果は独創性が高く、emerin/lamin A/C 異常症以外は諸外国をリードしている内容である。

# 分 担 研 究 報 告



# 目 次

## I. 肢帯型／遠位型（三好）筋ジストロフィー

- 1) 骨格筋特異的カルパイン及びコネクチンが介する情報伝達系と  
肢帯型筋ジストロフィー症 2A 型の病態機序の解析 ..... 15  
東京大学大学院農学生命科学研究科 反 町 洋 之
- 2) 肢帯型筋ジストロフィー 2A 型の分子医学的診断法の確立と病態解明 ..... 19  
国立精神・神経センター武蔵病院 南 成 祐
- 3) 筋ジストロフィーの表現型・遺伝型の分子医学的研究 ..... 22  
国立精神・神経センター神経研究所 荒 畑 喜 一・林 由起子
- 4) Dysferlinopathy（ジスフェルリン異常を原因とする筋ジストロフィー）  
における遺伝子変異と臨床型 ..... 25  
東北大学医学部神経内科 青 木 正 志
- 5) Dysferlin 遺伝子異常とその臨床像についての検討 ..... 27  
鹿児島大学医学部第三内科 樋 口 逸 郎
- 6) 筋ジストロフィーおよび関連疾患の臨床病態の解析 ..... 30  
愛知医科大学医学部神経内科 佐 橋 功
- 7) サルコグリカン，サルコspan，ジスフェルリンの正常骨格筋細胞  
での超微局在と存在様式の検討 ..... 32  
昭和大学藤が丘病院神経内科 若 山 吉 弘
- 8) 筋細胞生存因子および細胞死抑制因子による筋ジストロフィー治療法の開発  
に関する研究 —筋型，脳型ジスフェルリンの局在と ER ストレス細胞死— ..... 35  
国立精神・神経センター神経研究所 桃 井 隆
- 9) 筋ジストロフィー発症機構の生化学・分子生物学的研究 ..... 38  
川崎医科大学神経内科 砂 田 芳 秀
- 10) 肢帯型筋ジストロフィーのモデルマウス“カベオリン-3 欠損マウス”  
の作成とその病態解析 ..... 40  
国立精神・神経センター神経研究所 萩 原 康 子

## II. Dystrophin-Dystroglycan 関連

- 11) dystroglycan を分解する matrix metalloproteinase の解析 ..... 45  
帝京大学医学部神経内科 清 水 輝 夫

12) 病態解明に向けたジストロフィン結合タンパク質の分子論的研究 .....	48
国立精神・神経センター神経研究所 吉田幹晴	
13) 筋形質膜・細胞骨格間分子連関異常による筋ジストロフィー発症機構 の細胞生物学的研究 —プレクチンと筋形質膜裏打ちタンパク質と構造・分子連関性の解析— .....	50
群馬大学医学部第二解剖 土方貴雄	
14) ジストロフィン欠損心筋におけるシグナル伝達異常の検討 .....	53
信州大学医学部附属病院遺伝子診療部 吉田邦広	
15) 中枢神経系での dystroglycan および関連蛋白質の生理機能に関する研究 .....	55
鳥取大学医学部神経生物学 二宮治明	
16) 中枢神経系における dystrophin の機能解析並びに新世代のアデノウイルスベクター を用いた遺伝子治療に関する研究 .....	57
熊本大学医学部附属病院神経内科 内野誠	
17) Mdx マウスの骨格筋浸潤細胞の flow cytometry .....	59
東邦大学医学部第四内科 栗原照幸	
18) ヒト染色体断片導入法による筋ジストロフィーモデルマウスの作出 .....	60
北里大学理学部分子発生学講座 花岡和則	
<b>III. 福山型およびその他の筋ジストロフィー</b>	
19) 福山型先天性筋ジストロフィー遺伝子産物の機能解析 と表現型・遺伝子型の研究 .....	65
大阪大学大学院医学系研究科 戸田達史	
20) 筋ジストロフィーの分子遺伝学的研究と臨床への応用 .....	68
東京女子医科大学小児科 斎藤加代子	
21) Ullrich 病の臨床病理学的検討 .....	70
国立精神・神経センター武蔵病院 南成祐	
22) 眼咽頭筋ジストロフィー及び類縁疾患の遺伝子型／表現型の研究 .....	72
—抗 PABP2 抗体による免疫組織化学的検討を加えて— 熊本大学医学部附属病院神経内科 内野誠	
23) Rimmed vacuole 型遠位型ミオパチーの臨床・分子遺伝学的研究 .....	75
新潟大学脳研究所神経内科 田中恵子	
24) 変異デスミン L385P と相互作用するタンパク質の検索 .....	77
新潟大学脳研究所神経内科 田中恵子	

25) リソソーム異常を伴う筋疾患の病態解明 .....	79
国立精神・神経センター神経研究所 西野 一三	
26) エメリンに関する形態学的・細胞生物学的研究 .....	81
防衛医科大学校解剖学第二講座 依藤 宏	
27) 筋型糖原病の遺伝子診断法の確立及び病態に即した治療法の開発 .....	84
浜松市発達医療総合センター小児神経科 杉江 秀夫	
<b>IV. ミオトニー症候群</b>	
28) 筋強直性ジストロフィー病態の分子論的解明と治療 .....	89
東京大学大学院総合文化研究科 石浦 章一	
29) 筋緊張性ジストロフィー(DM1)の分子病態—DMAHP/Six5 遺伝子の関与 .....	91
自治医科大学医学部生物学教室 川上 潔	
30) 筋緊張性ジストロフィーに認められる CTG リピート延長が 遺伝子発現に及ぼす影響の検討 .....	94
九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科 吉良 潤一	
31) 低分子量熱ショックタンパク質群による骨格筋ストレス耐性系の研究, およびその筋ジストロフィー発症機構との関連 .....	96
横浜市立大学医学部第二生化学教室 鈴木 厚	
<b>V. ミトコンドリア脳筋症</b>	
32) ミトコンドリア脳筋症 (MELAS) の聴力障害に関する病理学的研究 .....	101
国立療養所犀潟病院神経内科 福原 信義	
33) ミトコンドリア異常症における細胞死とその抑制系の検討 .....	103
自治医科大学小児科学 桃井 真里子	
<b>VI. 筋発生・分化</b>	
34) 筋形成における細胞間相互作用とその制御機構 .....	107
京都大学再生医科学研究所再生増殖制御学分野 瀬原 淳子	
35) 細胞成長因子に着目した筋肉再生メカニズムの解明 .....	109
徳島大学工学部生物工学科 野地 澄晴	
36) 筋原線維形成制御因子の役割とその変異に起因する疾患の探索 .....	111
千葉大学理学部生物学科 大日方 昂	
37) 低分子量 G 蛋白質と Msx1 による筋細胞分化と脱分化の制御 ：その筋再生への関与 .....	114
千葉大学理学部生物学教室 遠藤 剛	

## VII. 治 療

- 38) 未認可抗生物質ネガマイシンによる mdx マウスの治療 ..... 119  
東京大学大学院総合文化研究科 松 田 良 一
- 39) ジストロフィン遺伝子のスプライシング制御機序の解明とその治療への応用 ..... 122  
神戸大学大学院医学系研究科 松 尾 雅 文
- 40) 細胞死抑制の蛋白治療法の開発 ..... 124  
日本医科大学老人病研究所 太 田 成 男
- 41) Dehydroepiandrosterone sulfate のミオトニーに対する治療効果と作用機序 ..... 126  
東邦大学医学部第四内科 栗 原 照 幸

# I . 肢帯型／遠位型(三好)筋ジストロフィー

# 骨格筋特異的カルパイン及びコネクチンが介する情報伝達系と肢帯型筋ジストロフィー2A型の病態機序の解析

反町 洋之\*

研究協力者 小野 弥子\*\* 秦 勝志\* 木村 栄一\*  
中川 和博\* 勝井 順子\* 鳥居 福代\*  
柿沼 良美\*\*\*\* 鈴木 紘一\*\*\*\* 阿部 啓子\*  
南 成祐\*\*\*\*\* 西野 一三\*\*\*\*\*

## 目 的

肢帯型筋ジストロフィー2A型 (LGMD2A) の責任遺伝子は1995年にCAPN3, 即ち, 骨格筋特異的カルパインp94(カルパイン3とも呼ばれる)の遺伝子であることが報告された. 現在までに100以上の病原性変異がCAPN3遺伝子座に見出されており, その半分以上がミスセンス変異である (図1A参照).

しかしながら, その発症機構については不明な点が多く, CAPN3遺伝子欠損が本質的に意味するところが不明であった. 他の筋ジストロフィーでは構造蛋白質の構造的欠陥による膜構造不全が細胞外Ca<sup>2+</sup>流入を増加し,  $\mu$ -, m-カルパインの過剰活性化による筋蛋白質過剰切断が筋細胞崩壊のスキームとして広く受け入れられている. そのアナロジーでは, LGMD2Aにおいてもp94は実際には構造蛋白質として機能し, その構造破壊がLGMD2A発症の本質である, という可能性も考えられた. 一方で, LGMD2Aはやはりプロテアーゼであるp94の酵素活性の欠損が原因である可能性もあり, まず, このどちらが正しいかを明確にすることがLGMD2Aの分子機構理解への第一歩であると考え, 本研究の第一の目的はこの点を明確にすることにした.

我々は後述のようにプロテアーゼとしての機能が必須であることを明らかとした. そこで次に問題となるのは, p94のプロテアーゼ活性不全がどのように最終的に症状を引き起こすのか, という点である. これはLGMD2Aの分子機構を明らかにすることであり, 他の筋ジストロフィーの発症機構との異動を明確にすることで, 筋ジストロフィー共通の機構を解明することにつながると期待される. そのためには, 広範な解析が必要であるが, 我々は, p94の他にp94と特異的結合が確認されているコネクチン(タイチン)及び組織普遍的カルパインの3分子種に焦点を当て解析を行うことを第二の目的とした.

## 方法と結果

### 1) LGMD2Aはp94のプロテアーゼ活性不全により発症するか?:

この点を明らかにするために, LGMD2Aの病原性変異の中でミスセンス変異に注目し, 10種類について変異p94を作成・発現し(図1A), その生化学的性質を解析した. その結果, 全ての変異体に共通に基質のプロセッシング活性消失が観察された. さらに, p94の活性中心のCysをSerに変異させ, プロテアーゼ活性だけを消失させた変異p94を発現するトランスジェニックマウスを作成して解析した結果, 変異p94蛋白質の蓄積とLGMD2Aと類似のミオパチー症状が見出された. 以上より, LGMD2Aの発症はp94のプロテアーゼ活性不全が根本原因となることを明らかとした.

### 2) コネクチンの部位特異的リガンドの同定:

コネクチンの各部位をドメインごとに区切り, ヒト骨格筋cDNAライブラリーを用いた酵母Two-Hybrid系でスクリーニングした. その結果, 図2に示すように各部位特異的なりガンドが多数同定された. まず, N末端(Z線部位)に結合する分子としてT-cap(テレソニンとも呼ばれる)が得られた. T-capは, LGMD2Gの責任遺伝子産物であり, K<sup>+</sup>チャネルminKと特異的相互作用し, コネクチンキナーゼの基質となること, が報告され, 極めて興味深い分子であといえる.

また, コネクチンキナーゼ領域(M線付近)には, MURF1(Muscle-specific RING-finger protein)の結合を同定した. さらに, MURF2, 3というホモログが存在し, 互いにホモ・ヘテロダイマーを形成すること, 核移行して転写因子としても機能することを明らかとした. MURF1-3は, ユビキチン結合酵素(E2)であるUBC9やポリユビキチン鎖切断酵素であるISOT3とも結合すること, MURF1のノックアウトマウスは筋萎縮耐性を持つこと, 等から, MURF1と骨格筋での蛋白分解との密接な関係が強く示唆されて, 大変興味深い. 他の知見も総合すると, コネクチンは筋原線維中で巨大な土台蛋白質(scaffold protein)としてシグナル伝達の交通整理を行っており, p94, T-capやMURF1などが必要に応じて解離し, 細胞膜や核へとシグナルを伝達すると考えられた(図3).

\* 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻

\*\* アリゾナ大学医学部

\*\*\* CREST, JST

\*\*\*\* 東京都老人総合研究所

\*\*\*\*\* 国立精神・神経センター武蔵病院

\*\*\*\*\* 国立精神・神経センター神経研究所

