

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	上原 (池中) 亮裕
論文題目	SMN promotes mitochondrial metabolic maturation during myogenesis by regulating the MYOD-miRNA axis (SMN は、骨格筋分化において MYOD-miRNA 経路を制御することにより、ミトコンドリアの機能的成熟を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>脊髄性筋萎縮症 (Spinal muscular atrophy : SMA) は、最も発生頻度の高い先天性神経筋疾患であり、Survival motor neuron (SMN) タンパクをコードする <i>SMN1</i> 遺伝子の機能喪失型変異によって発症する。SMA は、その重症度によって I 型から IV 型に分類されており、最重症型の I 型は、乳児期に呼吸不全によって死亡する。従来、SMA は脊髄前角における運動神経の細胞死が主たる病変であると考えられてきた。しかし、近年の研究により、骨格筋特異的な病変が示されており、SMA における骨格筋病変の関与が疑われている。一方で、骨格筋病変の解析は進んでおらず、SMN の骨格筋での機能は明らかになっていない。</p> <p>そこで、SMA 患者由来 iPS 細胞及びマウス筋芽細胞株 (C2C12) を用いて、骨格筋病変の表現型を解析した。すると、MYOD1 強制発現系によって誘導された iPS 細胞由来骨格筋細胞、及び C2C12 ずれにおいても、SMN 量依存的にミトコンドリアの酸素消費能が低下していた。また、それに伴い、活性酸素量の上昇と細胞死の誘導が観察された。</p> <p>MYOD1 は、骨格筋分化のミトコンドリアの機能的制御において重要な転写因子であり、加えて、MYOD1 強制発現系によって誘導された iPS 細胞由来骨格筋細胞においても疾患表現型が再現されたことから、SMN が MYOD1 による骨格筋分化の制御に関与している可能性を考えた。実際、iPS 細胞由来骨格筋細胞及び C2C12 ずれにおいても、SMN 欠損下では、MYOD1 の発現量が低下していた。加えて、MYOD1 によって直接的に発現が制御されており、ミトコンドリアの機能制御に重要な miR-1 及び miR-206 の発現量を調べると、これらの発現量も同様に SMN 欠損下で低下していた。以上より、SMN 欠損下においては、miR-1 及び miR-206 が低下することによって、ミトコンドリアの機能的な制御が障害されていることが示唆された。</p> <p>次に、SMN がこれらの遺伝子の発現を制御するメカニズムを探索した。骨格筋分化過程において、SMN が一過性に核内で一様な分布を示す現象を見出した。この結果より、SMN が骨格筋分化の特定の時期にゲノムに結合し、何らかの機能を有する可能性を考えた。SMN 量と発現量が相関していた MYOD1、miR-1 及び miR-206 の転写開始上流点には SMN が結合しており、これらの遺伝子のプロモーター活性は SMN をノックダウンすると低下した。従って、SMN がこれらの転写開始点上流に結合して、転写制御に関与していることが示唆された。</p> <p>最後に、miR-1 及び miR-206 が、骨格筋を標的とした SMA の治療に有効であるかを検証した。SMA モデルマウス由来骨格筋幹細胞に対して、ex vivo 培養系において miR-1 及び miR-206 を導入し筋管細胞へと分化誘導すると、ミトコンドリアの酸素消費量、筋管細胞の形成能及び収縮加速度が、miR-1 及び miR-206 未処理の SMA モデルマウス由来筋管細胞と比べて改善した。</p> <p>以上より、SMN は、骨格筋分化において MYOD1、miR-1 及び miR-206 の転写開始点上流に結合し、ミトコンドリアの機能制御に関与していることが明らかになった。更に、miR-1 及び miR-206 は、SMA の骨格筋病変の治療に対して有効な因子であることも示唆された。よって、これらの因子を用いた骨格筋療法と既存の運動神経療法を併用することによって、これまでの治療では効果が限定的であった最重症型患者の予後改善が期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
<p>本論文では、SMA 患者由来 iPS 細胞およびマウス筋芽細胞株 C2C12 を用いて、SMA の骨格筋病態の解析を行った。SMN を欠損させた iPS 細胞由来骨格筋細胞および C2C12 由来筋管細胞で、ミトコンドリアの酸素消費能低下を示し、疾患表現型の再現に成功した。加えて、活性酸素種の産生が亢進して細胞死が誘導されることを示した。さらに、骨格筋分化で、ミトコンドリアの機能制御に重要な MYOD1、miR-1 および miR-206 の発現低下によって、SMA の骨格筋におけるミトコンドリアの機能が障害されることを示唆した。</p> <p>次に、MYOD1、miR-1 および miR-206 の発現が低下する機構を解析すると、SMN が骨格筋分化において、特徴的な核内分布を示すことを見出した。そこで、SMN が転写制御に関与する可能性を考えて、発現低下を示した遺伝子群の転写調節領域における SMN の結合を調べたところ、SMN の結合が認められた。SMN が転写調節領域において、これらの転写制御に関与することを示唆した。</p> <p>最後に、miR-1 および miR-206 が骨格筋を標的とした SMA の治療に有効であるかを検証した。SMA モデルマウス由来骨格筋幹細胞へ miR-1 および miR-206 を導入して、ex vivo 培養系において筋管細胞へ分化誘導させると、ミトコンドリアの機能および収縮加速度が改善を示した。よって miR-1 および miR-206 は、SMA の骨格筋病変に対する治療に有効である可能性を示唆した。</p> <p>以上の研究は SMN の骨格筋における機能解明に貢献し、骨格筋療法と既存の運動神経療法による新規併用療法の開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 5 月 10 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日以降