京都大学	博士（医学）	氏　名	湯本　法弘
論文題目	Meltrin β/ADAM19 interacting with EphA4 in developing neural cells participates in formation of the neuromuscular junction (発生過程の神経細胞で EphA4 と相互作用するメルトリンβ／ADAM19 は神経筋接合部形成に寄与する)		

（論文内容の要旨）

神経筋接合部の形成は、筋線維における後シナプス組織の形成に始まり、その後、運動神経末端が到達することで達成される。そして、筋線維側の後シナプス組織と運等神経末端の前シナプス組織は改変や安定化などの過程を経て、成熟したシナプスを形成する。これまで、筋線維に発現するレセプター型チロシンキナーゼ（MuSK: Muscle specific kinase）や運動神経由来のヘパラン硫酸プロテオグリカンであるアグリン(Agrin)など様々な分子が神経筋接合部形成に関わっていることが示されている。

本論文では、神経筋接合部において、新たに二つの分子がその形成過程で重要な役割を担っていることを報告する。その一つは本研究室で発見・単離されたメルトリンβ（または ADAM19, a disintegrin and metalloprotease 19）であり、もう一つは ephrin-A5 である。まず始めにメルトリンβの神経筋接合部における役割を知る目的で、メルトリンβノックアウト（メルトリンβ-/-）マウスの横隔膜を用いて神経筋接合部を形態学的に調べた。メルトリンβ-/-マウスでは、野生型に比べ、アセチルコリンレセプター（AChR）のαサブユニットの mRNA の発現が拡散しており、AChR タンパク質も散在していた。更に運動神経末端の走行の乱れも観察され、メルトリンβが神経筋接合部形成に関与することが明らかとなった。この表現型が何に起因するものなのかを知るため、野生型とメルトリンβ-/-マウス横隔膜からシナプス領域と非シナプス領域を分離し、野生型シナプス領域・非シナプス領域、メルトリンβ-/-シナプス領域・非シナプス領域の四部位における発現遺伝子をマイクロアレイ解析により比較した。その結果、野生型とメルトリンβ-/-での発現パターンに顕著な差のある遺伝子として ephrin-A5 を同定した。Ephrin-A5 タンパク質は発生過程において神経筋接合部に局在し、その mRNA の発現も野生型ではシナプス領域特異的であるものの、メルトリンβ-/-ではその特異性が失われていた。メルトリンβ-/-と同様に、ephrin-A5-/-マウスにおいても神経筋接合部形成の異常が確認されたことから、この遺伝子もメルトリンβと共に神経筋接合部の発生において重要な役割を担っていることが示唆された。メルトリンβは、ephrin-A5 のレセプターである EphA4 と発生途中の神経細胞において相互作用し、神経筋接合部に局在していた。ephrin-A5 は EphA4 に結合して反発シグナルとしての活性をもち、その活性は ephrin-A5－EphA4 複合体のエンドサイトーシスを必要とする。メルトリンβと EphA4 とを共発現・相互作用させると、この ephrin-A5－EphA4 複合体のエンドサイトーシスを著しく阻害することを見出した。このメルトリンβの活性にはプロテアーゼとしての機能は必須では無いことも示唆された。以上のようにメルトリンβと ephrin シグナリングは、神経筋接合部形成に関与する。その際メルトリンβは、骨格筋で発現する ephrin-A5 と運動神経で発現する EphA4 の相互作用を安定化させることにより、後シナプスへの軸索投射の安定化を促し、神経筋接合部の成熟に関与すると考えられる。

本研究は神経筋接合部形成における新たな分子群の働きを示したばかりでなく、ADAM ファミリータンパク質の新たな機能を明らかにしたものである。

（論文審査の結果の要旨）

メルトリンβは ADAM(a disintegrin and metalloprotease)ファミリーに属し、末梢神経系で強く発現する。申請者は、これが神経筋接合部(NMJ)に局在し、その欠損マウスの筋肉において神経末端が NMJ を形成せず過度に伸長していることを見出した。更に、メルトリンβ欠損マウスの非シナプス領域で発現が著増していた GPI アンカー型膜蛋白質 ephrin-A5 の欠損マウスの筋肉でも同様の表現型を示すこと、ephrin-A5 受容体である受容体型チロシンキナーゼ EphA4 が、メルトリンβと発生過程の神経細胞で結合していることを見出した。ephrin は Eph 受容体への結合後、細胞誘因シグナルや反発シグナルとして働くが、反発シグナルとしての活性には、ephrin-Eph の結合解除機構が必須である。その一つが ephrin-Eph のエンドサイトーシスであるが、*in vitro* でメルトリンβの強制発現は、ephrin-A5-EphA4 のエンドサイトーシスを抑制した。これより、メルトリンβは ephrin-A5-EphA4 の結合解除を抑制することで、細胞間の結合を維持し、NMJ の形成・安定化に関与する可能性が示された。

この研究で申請者は、細胞間相互作用制御分子による NMJ 形成機序の理解を進め、NMJ 形成異常を伴う重症筋無力症等の筋疾患発症機序の解明や治療法開発へ新たな知見を加えた。

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。

なお、学位授与申請者は、平成 20 年 11 月 4 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。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降