

論文審査の結果の要旨

氏名 星 太 輔

本論文は6章から構成されている。序論（第1章）においては本論文の中心的な研究課題である Lrp4 分子とその機能の場としての神経筋接合部 (NMJ) やタンパク質の糖鎖修飾、そして Lrp4 が属する Lrp (low-density lipoprotein receptor-related protein) ファミリータンパク質の細胞膜上での発現に関する学術的な背景が述べられている。NMJ は運動神経の軸索末端と筋管細胞(筋線維)を結ぶ唯一のシナプスであり、脊椎動物ではアセチルコリン (ACh) が神経伝達物質として機能している。Lrp4 は1回膜貫通型の受容体分子であり、運動神経由来のタンパク質 Agrin との結合により、共受容体である受容体型キナーゼ MuSK を活性化し、筋管細胞膜上で NMJ の形成と維持、特に ACh 受容体 (AChR) の凝集に代表される後シナプス分化に必須の役割を担っている。興味深いことに、近年、遺伝性の NMJ 疾患である先天性筋無力症候群 (CMSs) の原因遺伝子として、Asn 結合型糖鎖修飾酵素をコードするいくつかの遺伝子が発見されている。本論文では、Lrp4 の会合分子として単離したシャペロンである Mesdc2 と Lrp4 の糖鎖修飾や細胞膜上での発現制御について詳細な解析を進め、NMJ の形成・維持における Mesdc2 と糖鎖修飾の重要性について議論している。

結果と考察についての記述は2章（第2章、第3章）に分けられており、前者では Lrp4 結合分子としての Mesdc2 の単離と機能解析、後者では Lrp4 の糖鎖修飾による機能制御機構についての実験結果が述べられている。まず、論文提出者は、NMJ の形成と維持に必須の Lrp4 の制御因子の単離を目指し、Lrp4 結合分子の網羅的な探索を実施した。その結果、新規 Lrp4 結合分子としてシャペロン分子 Mesdc2 を単離し、Mesdc2 が細胞内の Lrp4 と相互作用し、また、その細胞膜上での発現を促進することを見出している。さらに、培養筋管細胞上での AChR の凝集を NMJ の後シナプス分化モデルとして採用し、Mesdc2 の発現抑制による影響を検討した。その結果、培養筋管細胞においても Mesdc2 による Lrp4 の細胞膜上での発現促進機構が存在し、また、Mesdc2 が当該細胞での後シナプス分化に重要であることが明らかとなった。さらに、論文提出者は、Lrp4 が Asn 結合型糖鎖修飾と、Ser/Thr 結合型糖鎖修飾を受けることを見出すと同時に、糖鎖修飾の阻害が Lrp4 の細胞表面での発

現を抑制することを解明した。この知見をもとに、第3章においては、Lrp4の糖鎖修飾による細胞膜上での発現制御機構について解析している。まず、論文提出者は、Lrp4の糖鎖修飾候補部位に変異を導入することにより、Lrp4が複数の糖鎖修飾を受けることを見出した。さらに、当該変異体Lrp4を用いて細胞表面での発現を検討し、Lrp4に付加される糖鎖修飾が細胞膜上での発現を促進することを示している。なお、第2章、第3章の考察においては、本論文で解明したMesdc2や糖鎖修飾による細胞膜上でのLrp4の発現制御機構とNMJ形成・維持やCMSsとの関係についてその意義を議論し、さらに、当該制御機構とLrp4の他組織における生理機能に関する議論を展開している。

最終的な結論の章（第4章）では以上の内容をまとめ、1) Mesdc2がLrp4と結合し、また、その糖鎖修飾と細胞表面での発現を促進すること、2) Mesdc2が培養筋管細胞上のLrp4結合分子であるMuSKの活性化と後シナプス分化を促進すること、3) Lrp4の糖鎖修飾がLrp4の細胞表面での発現を促進すること、の3点を結論している。

なお、第5章では本実験で行われた実験の材料と方法について簡潔に記述し、第6章では引用文献について記述している。

従前の研究から、Lrp4のMuSK活性化やNMJの形成・維持における必要性が解明され、また、Lrp5、Lrp6とMesdc2の相互作用についての報告が成されているが、内在性のLrp分子に対するMesdc2の作用については未解明であった。これに対して、本博士論文では、Mesdc2がLrp4の局在と機能の制御因子であることを解明し、さらに、その制御機構とLrp4の糖鎖修飾の強い関係性を明らかにしている。この成果は、Lrp4の生理機能の理解に加え、糖鎖修飾酵素の遺伝子異常により発症する先天性筋無力症の病態解明にもつながる重要な知見と言える。

本博士論文は手塚徹、横山一剛、家村俊一郎、夏目徹、山梨裕司との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析および検証をおこなったもので、学位申請者の寄与は十分であると判断する。

以上より、博士(理学)の授与に値すると判断した。