

# 博士論文要旨

## 脊髄性筋萎縮症における SMN タンパク質の役割に関する研究

安藤 栞

脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy: SMA) は、運動ニューロンの変性及び骨格筋萎縮を主徴とする常染色体劣性遺伝疾患である。SMA の原因は *survival motor neuron (SMN) 1* 遺伝子の変異または欠失による SMN タンパク質発現量の減少である。SMN タンパク質は全身に発現し、RNA スプライシングや miRNA 産生等に関与することが知られている。しかし SMN タンパク質の機能は不明な点が多く、SMA 病態を決定づける SMN タンパク質の機能とその分子基盤については十分に解明されていない。脊髄及び骨格筋に存在する SMN タンパク質の減少が、SMA の病態形成に大きな影響を及ぼすことが示唆されており、これらの部位における SMN タンパク質の未知の機能を解明することは、医学的意義が大きいと考えられる。そこで、本研究では SMA の主病変部位である脊髄及び骨格筋における SMN タンパク質の新規機能を明らかにすることを目的とした。

### 1. 運動ニューロンのライソゾーム機能における SMN タンパク質の役割

マウス運動ニューロン様細胞における SMN のノックダウンにより、transcription factor EB (TFEB) の発現が減少し、ライソゾーム活性が低下した。同時に、mammalian/mechanistic Target Of Rapamycin (mTOR) シグナル関連因子の発現量が減少した。全身性の SMN タンパク質の発現低下を特徴とする SMA モデルマウスである SMN $\Delta$ 7 マウスの脊髄組織においても、野生型と比較し TFEB の発現減少及び mTOR シグナル関連因子の発現減少が認められた。これらの結果から、運動ニューロンにおける SMN タンパク質の欠乏が、TFEB の発現制御を介したライソゾームの機能異常及びオートファジーの低下を引き起こすことが示唆された。

### 2. ミクログリアにおける SMN タンパク質の役割

SMN タンパク質増加作用を有する antisense oligonucleotide (ASO) の投与により、病態早期の SMN $\Delta$ 7 マウス脊髄ミクログリア数の増加が抑制され、さらにミクログリアの酸化ストレスマーカーの発現量が減少した。SMN をノックダウンしたマウスマクロファージ細胞において、活性酸素種産生量が増大し、炎症性メディエーターの産生量が増大した。これらの結果から、ミクログリアにおける SMN タンパク質が細胞内の酸化ストレスを調節し、炎症性メディエーターの放出を制御することが示唆された。

### 3. 骨格筋分化における SMN タンパク質の役割

骨格筋萎縮が進行した病態後期の SMN $\Delta$ 7 マウスの腓腹筋において、野生型と比較し細胞増殖マーカー及び筋芽細胞マーカー陽性細胞数が減少した。SMN をノックダウンしたマウス筋芽細胞を分化条件下にて培養した結果、成熟度を示す多核化の程度が減少し、さらに多核化や筋分化を促進する caspase-3 及び Akt の活性低下が認められた。これらの結果から、筋芽細胞における SMN タンパク質は caspase-3 及び Akt の活性調整を介して、分化能を制御することが示唆された。

以上、本研究では SMA の主病変部位である脊髄および骨格筋における SMN タンパク質の新規の役割を解明した。これらの機能が総合的に破綻することにより、SMA 病態が形成されると考えられる。

#### 【略語】

ASO: antisense oligonucleotide

mTOR: mammalian/mechanistic Target Of Rapamycin

SMA: spinal muscular atrophy

SMN: survival motor neuron

TFEB: transcription factor EB

## 論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	安藤 栞 ( 愛知県 )
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲 第 1 8 6 号
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	脊髄性筋萎縮症における SMN タンパク質の役割に関する研究
論文審査委員	(主査) 足立 哲夫
	(副査) 井口 和弘
	(副査) 腰塚 哲朗

脊髄性筋萎縮症（SMA）は、運動ニューロンの変性及び骨格筋萎縮を主徴とする常染色体劣性遺伝疾患であり、その原因は *survival motor neuron(SMN)1* 遺伝子の変異または欠失による SMN タンパク質発現量の低下である。本研究は SMA の主病変部位である脊髄及び骨格筋における SMN タンパク質の機能とその異常による病態発症機構を明らかにすることを目的とした。

マウス運動ニューロン様細胞において SMN ノックダウンにより、転写因子 TFEB の発現が低下し、それによりライソゾームの機能異常、オートファジーの低下が引き起こされることが明らかとなった。次に、ミクログリアにおいては、SMN タンパク質は酸化ストレス亢進、炎症性メディエーター放出のいずれの抑制にも関与していることが判明した。さらに、骨格筋での SMN タンパク質の機能についても検討した結果、SMN をノックダウンしたマウス筋芽細胞において、分化条件下で培養しても多核化が抑制され、筋分化を促進する caspase-3 及び Akt の活性低下が認められた。

以上、本研究は脊髄及び骨格筋における SMN タンパク質の新規の役割を病態発症と関連付けて明らかにすることで SMA の病態解明と新規治療薬の開発に向け重要な情報を提供するものであり、博士（薬学）論文として価値あるものと認める。