

氏名(本籍) : 佐藤 匡

学位の種類 : 博士 (歯学) 学位記番号 : 歯博第601号

学位授与年月日 : 平成24年3月27日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : Increase of CGRP Expression in Motor Endplates Within Fore and Hind Limb Muscles of the Degenerating Muscle Mouse (*Scn8a^{dmu}*) (*dmu* マウスにおける前肢筋及び後肢筋の運動終板では CGRP の発現が上昇する)

論文審査委員 : (主査) 教授 島内 英俊
教授 市川 博之 教授 熊本 裕行

論文内容要旨

Degenerating Muscle Mouse (*Scn8a^{dmu}*)では、生後11日から後肢に運動異常と筋肉の変性が認められる。さらに生後1か月までに心筋の変性が生じることにより、死に至ると考えられている。このマウスにおいては、ナトリウムチャネルの一つである *Scn8a* の遺伝子発現が低下していることが知られているが、筋肉の変性に関わる原因遺伝子は不明である。*Scn8a* 遺伝子が神経細胞に発現していることから、*dmu* マウスにおける神経細胞にも変化が生じる可能性が示唆されているが、変性の有無については、いまだ明らかにはされていない。Calcitonin gene-related peptide (CGRP) は37個のアミノ酸からなるペプチドであり、運動神経の損傷により運動ニューロンで発現が上昇する。本論文では、前肢・後肢及び口腔・顔面の筋の変性と運動終板での CGRP の発現との関連を調べた。さらに、脊髄における運動ニューロンの CGRP の発現についても調べた。

実験材料は、生後18日における *dmu* マウス及びワイルドタイプマウスを4匹分ずつ使用した。動物を固定後、前肢・後肢や頭部・顔面の筋を切り出し、凍結切片を製作した。また、脊髄は脊椎ごと分離し、脱灰後、腰膨大部の凍結切片を製作した。切片をヘマトキシリン-エオジン染色及び免疫染色を行い、光学顕微鏡を用いて分析した。

ワイルドタイプマウスの前肢・後肢の筋及び口腔周囲の筋では、変性が見られず、CGRPを含む運動終板の数も少なかった。また、CGRPの染色濃度も低かった。一方、*dmu* マウスの上腕二頭筋・上腕三頭筋・腓腹筋では筋線維が萎縮していた。また、これらの筋では CGRP を含む運動終板が数多く認められた。さらに、それぞれの運動終板における CGRP の染色濃度も増加していた。深指屈筋・浅指屈筋・ヒラメ筋・咬筋・表情筋・舌筋では、筋線維の変性は見られず、CGRPを含む運動終板の数やその染色濃度も、ワイルドタイプマウスのものと同様であった。*dmu* マウスの脊髄腰膨大部における CGRP を含む運動ニューロンの数と染色濃度は、ワイルドタイプマウスに比べ有意に増加していた。

以上の結果より、*dmu* マウスにおいては、筋によって萎縮の程度が異なり、重篤な萎縮が認められる筋を支配する運動ニューロンには変性が生じている可能性が示唆された。

審 査 結 果 要 旨

Degenerating Muscle Mouse (*Scn8a^{dmu}*) は、生後 11 日から筋肉の変性を伴う後肢の運動異常を発症するマウスであり、生後 1 カ月までに心筋の変性により死に至ると考えられている。同マウスにおいては、ナトリウムチャンネルの一つである *Scn8a* の遺伝子発現が低下しているが、筋肉の変性に関わる原因遺伝子は明らかではない。*Scn8a* 遺伝子は神経細胞にも発現しており、*dmu* マウスの神経細胞にも変化が考えられるが、その有無については未だ明らかではない。本研究では、*dmu* マウスにおける筋変性発症のメカニズムを明らかにすることを目的として、運動ニューロンでその損傷により発現の上昇がみられる Calcitonin gene-related peptide (CGRP) に着目して、*dmu* マウスの前肢・後肢および口腔・顔面の筋の変性と運動終板での CGRP 発現との関連性を検討した。また脊髄における運動ニューロンの CGRP 発現についても調べた。

本研究においては、生後 18 日の *dmu* マウスおよびワイルドタイプマウスの各筋や脊髄の凍結切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色および免疫染色を行い、光学顕微鏡下で観察した。その結果、*dmu* マウスの上腕二頭筋、上腕三頭筋・腓腹筋では筋線維の萎縮と CGRP を含む運動終板の数が多いのに対して、ワイルドタイプマウスではそのような所見は認められなかった。また CGRP の染色濃度も *dmu* マウスで増加していた。同じ *dmu* マウスにおいても、深指屈筋・浅指屈筋・ヒラメ筋・咬筋・表情筋・舌筋では筋線維の変性はみられず、CGRP を含む運動終板数やその染色濃度もワイルドタイプマウスのもと同様であった。一方、*dmu* マウスの脊髄腰膨大部においては、CGRP を含む運動ニューロンと染色濃度がワイルドタイプマウスに比べて有意に増加していた。従って、*dmu* マウスにおいては筋により萎縮の程度が異なるばかりでなく、特に重篤な筋萎縮を生じる筋を支配する運動ニューロンの変性を伴う可能性を示した。

本論文で示した知見は、これまで明らかにならなかった *dmu* マウスにおける筋萎縮と CGRP 発現の上昇の関わりを示したものであり、特に重篤な萎縮を認める筋を支配する運動ニューロンの変性の存在を示したことは、筋萎縮を伴う運動異常の発症メカニズムを探る上で重要な所見と考える。従って、審査委員会は本論文を博士（歯学）の学位に相応しいものと判断する。