

2への抗体を用い検討した。

(倫理面への考慮)

手術時、灌流固定時は腹腔内 sodium pentobarbital 投与を行った。動物の扱いは当校の倫理委員会の規定に基づく。

C 研究結果

1) β -DG、Dp116 は後根神経節細胞と satellite cell の単位の周囲に存在した。軸索と Schwann 細胞の単位の周囲に存在するのと同様であった。これらの分布は基底膜の laminin-2 の分布とほぼ同様であった。電顕で検討すると Schwann 細胞と satellite cell の基底膜側の膜直下に存在した。Laminin-2 はこれらの細胞の外側にあり、基底膜を示すと考えられた。

2) 胎児 18 日から出生直後にかけては末梢神経に β -DG と laminin-2 は発現されず、生後 7 日にかけてこれらの発現は増加した。生後 7 日より後は生後 28 日、アダルトと発現に差はなかった。これらの結果は immunoblotting、蛍光免疫組織化学で確認された。電顕での検討では、生後 7 日にかけて、Schwann 細胞が増殖し、髄鞘化していく過程であった。

D 考察

β -DG と laminin- α 2 は Schwann 細胞が軸索と接触し、また外側では基底膜に接し、再生に関与していると推測していた。今回、後根神経節細胞と satellite cell の関係でも軸索と Schwann 細胞との関係と同様なことが証明された。また、発生過程は再生過程と同様なモデルと推測されるが、発生過程においても電顕で確認された髄鞘化過程と一致して、 β -DG、laminin-2 が発現することが判明した。末梢神経からの α -DG は in vitro で laminin-2

と結合することがわかっているが、今回の我々の実験結果とともに考えると、DG complex は β -DG も含め Schwann 細胞外膜と基底膜 (laminin-2) との接着に関与し、laminin-2 と共に再生、発生時の髄鞘形成に関与していると考えた。

F 研究発表

1) Masaki T, Matsumura K, Saito F, Sunada Y, Shimizu T, Yorifuji H, Motoyoshi K, Kamakura K. Expression of dystroglycan and laminin-2 in peripheral nerve under axonal degeneration and regeneration. *Acta Neuropathol* 99: 289-295, 2000.

2) Masaki T, Matsumura K, Hirata A, Yamada H, Hase A, Shimizu T, Yorifuji H, Motoyoshi K, Kamakura K. Expression of dystroglycan complex in satellite cells of dorsal root ganglia. *Acta Neuropathol.* 101:174-178, 2001.

3) Hirata A, Masaki T, Motoyoshi K, Kamakura K. Intrathecal administration of nerve growth factor delays Gap-43 expression and early phase regeneration of adult rat peripheral nerve. *Brain Research*. 2002 In press.

4) Masaki T, Matsumura K, Hirata A, Yamada H, Hase A, Arai K, Shimizu T, Yorifuji H, Motoyoshi K, Kamakura K. Expression of dystroglycan and laminin- α 2 chain in rat peripheral nerve during development. *Experimental Neurology* 174: 2002, in press.

5) Kaida K, Kusunoki S, Kamakura K, Motoyoshi K, Kanazawa I. Guillain-Barre syndrome with antibody to a ganglioside, N-acetylgalactosaminyl

GD1a.Brain 2000, 123: 116-124.

6) Kaida K, Kusunoki S, Kamakura K, Motoyoshi K, Kanazawa I. Guillain-Barre syndrome with IgM antibody to the ganglioside GalNAc-GD1a. J Neuroimmunology 2001, 113 260-267.

7) Kamakura K, Kaida K, Kusunoki S, Masaki T, Nakamura R, Motoyoshi K, Fukuda J. Clinical characteristics of Guillain-Barre syndrome patients with anti-GalNAc-GD1a and effects of sera on cultured dorsal root ganglia. On submission.

8) Hitoshi Mochizuki, Keiko Kamakura, Toshihiro Masaki, Akira Hirata, Takahiko Tokuda, Masahide Yazaki, Kazuo Motoyoshi, Syu-ichi Ikeda. Nodular cutaneous amyloidosis and carpal tunnel syndrome due to the amyloidogenic transthyretin His114variant Amyloid: j Protein Folding Disord

8: 105-110, 2001

9) Hitoshi Mochizuki, Ritsuko Hanajima, Hisatomo Kowa, Yasufumi Yotoyoshi, Hiroshi Ashida, Keiko Kamakura, Kazuo Motoyoshi, Yoshikazu Ugawa. Somatosensory evoked potential recovery in myotonic dystrophy. Clinical Neurophysiology 112: 793-799, 2001

2 学会発表

1) 平田彰、増田智、鈴木友子、鎌倉恵子、武田伸一. CDNA array を用いた骨格筋変性・再生過程におけるサイトカインおよび関連遺伝子の発現の検討.

日本分子生物学会.

2) 海田賢一、楠進、鎌倉恵子、神崎真実、

元吉和夫、金澤一郎.

人工呼吸器を要した Guillain-Barre 症候群における臨床的特徴と抗ガングリオシド抗体に関する解析. 日本神経学会総会で発表予定、投稿準備中.

3) Kamakura K, Kaida K, Kusunoki S, Masaki T, Nakamura R, Motoyoshi K, Fukuda J. Clinical characteristics of Guillain-Barre syndrome patients with anti-GalNAc-GD1a and effects of sera on cultured dorsal root ganglia. Xvii World Congress of Neurology. London 2001 July 17-22. J Neurological Science 2001, 187: S470

骨格筋における再生機構の解明

分担研究者 林 由起子 国立精神・神経センター 神経研究所疾病研究第一部室長

研究要旨：筋ジストロフィーの基本病態である骨格筋の壊死・再生現象に注目し、再生が不十分である為に重篤な症状を呈すると考えられる福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)を中心に筋細胞膜内外の連関に重要な機能を担っているとされている α -ジストログリカン(α -DG)の選択的欠損を発見し、病態との関連を示唆した。

A. 研究目的

筋ジストロフィーにおける筋細胞の壊死・再生の病態を探り、筋再生に関する要因を探り治療法の開発につなげることを目的とする。

B. 研究方法

筋ジストロフィーの中でも重篤な症状を呈する先天性筋ジストロフィー(CMD)を中心に、診断目的で採取されたヒト生検骨格筋・末梢血ならびに疾患モデル動物の骨格筋・心筋を用いて免疫組織化学法、生化学法、分子生物学的手法を用いて検索した。
(倫理面への配慮)

ヒト組織を用いた研究はインフォームドコンセントを得た上でおこない、また遺伝子解析については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、施行した。また、動物実験については倫理委員会の承認を得た上、倫理面に十分配慮し施行した。

C. 研究結果

CMD の中でもわが国に特異的に多い FCMD は未熟な筋線維が多く、筋の分化・再生が不十分であるが故に早期より強い筋ジストロフィー変化をきたすと考えられる。この一因として、基底膜形成および細胞膜内外のタンパク質連関に重要なタンパク質 α -DG が選択的に欠損していることを発見し、FCMD の原因遺伝子産物フクチンが α -DG の糖鎖修飾に関与している可能性を示唆した。また、現在関連疾患についても同様の検索を行っている。

D. 考察

α -DG の欠損はその後、他の CMD(MEB, フクチン関連タンパク質(FKRP)異常症)や筋ジストロフィーマウス(myd)でも報告され、筋細胞障害・再生過程に重要な役割を果たしていると考えられる。今後フクチンおよび FKRP の機能、 α -DG の糖鎖修飾とその機能の関連について筋細胞の再生との関連を検索していく予定である。

E. 結論

筋細胞障害・再生過程における α -DG の糖鎖の重要性を示した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hayashi YK, Tezak Z, et al. Massive muscle cell degeneration in the early stage of merosin-deficient congenital muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. 11:350-9, 2001.

Kim YJ, Noguchi S, Hayashi YK, et al: The product of an oculopharyngeal muscular dystrophy gene, poly(A)-binding protein 2, interacts with SKIP and stimulates muscle-specific gene expression. *Hum Mol Genet*. 10:1129-39, 2001.

Hayashi YK, Ogawa M, et al: Selective deficiency of alpha-dystroglycan in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Neurology*. 57:115-121, 2001.

Yamanaka G, Goto K, Matsumura T, Funakoshi M, Komori T, Hayashi YK, Arahata K. Tongue atrophy in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology*. 57:733-735, 2001.

Matsuda C, Hayashi YK, et al: The sarcolemmal proteins dysferlin and caveolin-3 interact in skeletal muscle. *Hum Mol Genet* 10: 1761-1766, 2001.

Hayashi YK, Ogawa M, Arahata K. Altered expression of α -dystroglycan in congenital muscular dystrophy. *Acta Myologica* 20: 87-91, 2001.

Tateyama M, Aoki M, Nishino I, Hayashi YK, et al: Mutation in the caveolin-3 gene causes a peculiar form of distal myopathy. *Neurology* 58:323-325, 2002.

2. 学会発表

YK Hayashi, et al: Limb-girdle muscular dystrophy (LGMD) in Japan. 1st Asian and Oceanian Myology Center (AOMC) Workshop. Tokyo, Jan. 20, 2001.

福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)における α -ジストログリカン (α -DG)の選択的欠損. 林 由起子他. 日本神経学会総会 東京 2001年5月 YK. Hayashi, et al. 4th French-Japanese Workshop. α -Dystroglycan in Congenital Muscular Dystrophy. Paris, June 15-16, 2001.

YK. Hayashi, et al. Frequency of 4q35 ; 10q26 subtelomeric interchromosomal exchanges~ comparison with different ethnic healthy populations and Japanese facioscapulohumeral muscular dystrophy patients ~. 6th International Congress of World Muscle Society. Snowbird, Utah, USA Sep 6-8, 2001 .

YK Hayashi. Clinical and protein analysis of dysferlinopathy. Small Group Workshop "Dysferlinopathy", Tokyo, Dec. 14, 2001.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得, 2. 実用新案登録, 3. その他
いずれも特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌, 巻, ページ, 年
Fujimori K, Itoh Y, Yamamoto K, Miyagoe-Suzuki Y, Yuasa K, Yoshizaki Y, <u>Yamamoto H</u> , and <u>Takeda S</u> :	Interleukin-6 Induces Over-Expression of the Sarcolemmal Utrophin in Neonatal <i>mdx</i> Skeletal Muscle	<i>Human Gene Therapy</i> 13: 509-518, 2002
Miyagoe-Suzuki Y, and <u>Takeda S</u> :	Association of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) with $\alpha 1$ -syntrophin at the sarcolemma	<i>Microscopy Research and Technique</i> 55: 164-170, 2001
Nakagawa M, Ikezoe K, Miyagoe-Suzuki Y, Nonaka I and <u>Takeda S</u> :	Increased membrane permeability in early postnatal period of laminin $\alpha 2$ chain-null mice, dy^{3K}/dy^{3K}	<i>Acta Myologica</i> XX: 167-173, 2001
Nakagawa M, Miyagoe-Suzuki Y, Ikezoe K, Miyata Y, Nonaka I, Harii K and <u>Takeda S</u> :	Schwann cell myelination occurred without basal lamina formation in laminin $\alpha 2$ chain-null mutant (dy^{3K}/dy^{3K}) mice	<i>Glia</i> 35: 101-110, 2001
<u>Takeda S</u> and Miyagoe-Suzuki Y:	Gene Therapy for Muscular Dystrophies: Current Status and Future Prospects	<i>BioDrugs</i> 15: 635-644, 2001
Fukada S-I, Miyagoe-Suzuki Y, Tsukihara H, Yuasa K, Higuchi S, Ono S, Tsujikawa K, <u>Takeda S</u> and <u>Yamamoto H</u> :	Muscle regeneration by reconstitution with bone marrow or fetal liver cells from green fluorescent protein-gene transgenic mice.	<i>J. Cell Science</i> , 115:1285-1293, 2002.
<u>Hayashi YK</u> , Ogawa M, Tagawa K, Noguchi S, Ishihara T, Nonaka I and Arahata K:	Selective deficiency of alpha-dystroglycan in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy.	<i>Neurology</i> . 57:115-121, 2001.

20010638

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。