

## 遺伝性神経筋疾患“ジストロフィン異常症”の分子病態の一端を解明

～ジストログリカンによる Dp71 プロテオスタシス制御機構の重要性～

### 本研究成果のポイント

- ・X 染色体劣性遺伝で起こる神経・筋疾患である遺伝性神経筋疾患“ジストロフィン異常症”（筋ジストロフィーの代表的疾患）において、ジストロフィン(Dp)※1 とジストログリカン(DG)※2 の結合異常により、細胞質および核内への異所的局在化や低リン酸化状態※3を呈するなど Dp プロテオスタシスの異常が起こることを明らかにした。
- ・将来的なジストロフィン異常症の病態解明や分子標的法の開発研究に進展していくことが期待

京都府立医科大学大学院医学研究科 分子病態病理学教室 講師 藤本崇宏、教授 伊東恭子らの研究グループは、これまで明らかになっていなかった遺伝性神経筋疾患“ジストロフィン異常症”の発生メカニズムについて、ジストロフィンとジストログリカンとの結合異常が原因となって、ジストロフィン遺伝子産物 Dp71 の正常な蛋白の恒常性(プロテオスタシス)に異常をきたすことを解明し、本件に関する論文が、科学雑誌『Human Molecular Genetics』に 2020 年 9 月 30 日付(英国時間)で掲載されましたのでお知らせします。

### 【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名: Human Molecular Genetics 発表媒体 <input type="checkbox"/> オンライン速報版 <input checked="" type="checkbox"/> ペーパー発行 <input type="checkbox"/> その他 雑誌の発行元国 英国 オンライン閲覧 不可 <input checked="" type="checkbox"/> <a href="https://academic.oup.com/hmg/article/29/19/3312/5913244">https://academic.oup.com/hmg/article/29/19/3312/5913244</a> オンライン掲載日 2020 年 9 月 30 日 ペーパー発行 2020 年 10 月 1 日
論文情報	論文タイトル Dystroglycan regulates proper expression, submembranous localization and subsequent phosphorylation of Dp71 through physical interaction. (ジストログリカンは Dp71 蛋白の安定化、膜局在化、リン酸化を制御する) 筆頭著者 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子病態病理学 藤本崇宏 共同著者 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子病態病理学 矢追毅 立命館大学生命科学部 薬理学研究室 田中秀和 代表著者 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子病態病理学 伊東恭子
研究情報	資金的関与(獲得資金等)日本学術振興会 科研費 基盤研究(C) 18K07883(藤本崇宏)

## 研究概要

ジストロフィン(Dp)異常症は X 染色体劣性遺伝で起こる神経・筋疾患であり、進行性の筋線維壊死による全身性の筋力低下が主な臨床症状として知られています。その約 3 分の 1 の罹患者においては神経発達症など中枢神経症状を伴うことが知られています。脳においては Dp 遺伝子からつくられる産物として Dp71 が多く存在することが知られていましたが、その正常下における分子動態や機能、さらには変異をもった Dp71 の分子病態は不明な点が多くありました。

今回、京都府立医科大学大学院医学研究科の藤本講師、伊東教授らのグループは、Dp71 とジストログリカン(DG)の関係性に着目した分子病態解析を行い、DG が Dp71 と物理的に相互作用することを引き金として、蛋白安定化・膜局在化・リン酸化といった Dp の蛋白の恒常性(プロテオスタシス)の維持に重要な役割を果たしていることを明らかにしました。変異をもつ Dp71 ではこれら Dp プロテオスタシスが異常になっていることを突き止め、遺伝子異常と分子病態との連関に関する機序の一端を解明しました。

この研究により、今後ジストロフィン異常症や神経発達症の研究が進展することが期待されます。

## 研究分野の背景とこれまでの研究の問題点

ジストロフィン(Dp)異常症は進行性の筋線維壊死を主徴とする X 染色体劣性遺伝性疾患として知られています。本症において神経発達症・自閉症などの中枢神経症状を合併することがありますが、その病態形成機序や Dp 分子病態は不明な点が多いです。筋では全長型 Dp(Dp427)が筋細胞の形態と機能の維持に必須であり、その分子機序の一端として、特にジストログリカン(DG)分子複合体を介した細胞内骨格と細胞外マトリックスの架橋の重要性が知られています。いっぽう、脳では構成する細胞種の相違と脳構造の複雑性、さらにはそこに発現する複数の Dp 遺伝子産物の存在が、Dp 異常症で発症する中枢神経症状の病態理解を困難なものにしています。しかし、Dp ゲノム領域内の下流側に位置する変異が神経発達症の重症度や、てんかんの発症率と相関するとの報告があり、エクソン 63 より下流に相当する Dp71 が、脳で最も高発現する Dp 遺伝子産物であることからその生理的機能と中枢神経合併症における役割の解明が待たれています。

本研究で着目した Dp71 蛋白の一次構造は全長型 Dp427 の C 末端部分に相当します。Dp71 はアクチン結合領域やスペクトリン様リピート構造を欠いているため、DG との結合能の有無やその意義は不明な点が多く残っていました(図 1)。

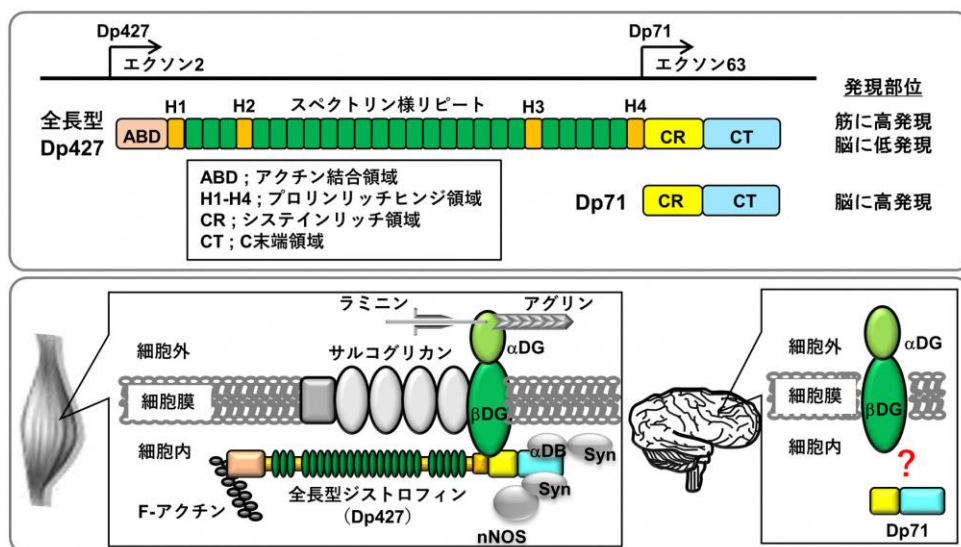


図1:全長型ジストロフィン(Dp427)はエクソン 2 以降の遺伝子領域から転写・翻訳される蛋白であり筋細胞の形質膜直下に局在し、膜貫通蛋白ジストログリカン(DG)と結合することで細胞骨格系 F-アクチンと細胞外マトリックスを間接的に架橋する。

Dp71 はイントロン 62 の一部とエクソン 63 以降の遺伝子領域から転写・翻訳される蛋白であり脳に高発現するが、DG との関係性や機能的意義は不明な点が多い。

## 研究成果の要点

本研究において、Dp71 と DG の間で起こる分子間相互作用を顕在化させるために共沈降アッセイを行いました。この際、架橋剤を取り入れることでこれまで観察できなかった事象を捉えることに成功しました。正常な Dp71 は DG と物理的に結合することで発現レベルが安定化され、細胞膜直下に局在化されることを見出しました。さらに DG と結合している Dp71 は高度にリン酸化修飾されていることも観察され、Dp 遺伝子産物がこれまで考えられていたような蛋白の集積や細胞膜の強度の維持に寄与する細胞内骨格系蛋白という側面とは別に、DG 依存的に Dp71 自身がダイナミックに変化する性質を併せもつことが示唆されました。ヒトにおいて神経発達症を発症させることが過去に報告された 1 アミノ酸変異(272 番目のシステインがチロシンに置換される変異または 170 番目のロイシンが欠失する変異)をもつ Dp71 の分子病態を解析したところ、変異体においては DG との結合能が消失しており、発現レベルの低下、異所的局在、さらには低リン酸化状態といったこれら Dp71 のプロテオスタシスの異常を認めました(図 2)。

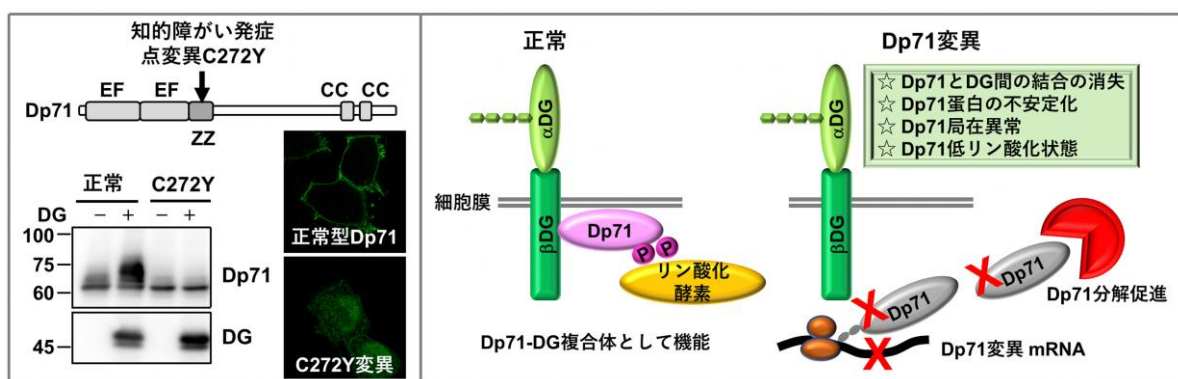


図 2: 正常型 Dp71 は DG と結合することにより、安定化・膜局在化・リン酸化が維持され正常な機能を発揮する。しかし、C272Y 点変異をもつ Dp71 は DG との結合が消失し、不安定化・低リン酸化状態になり異所的な局在を示す。

また、Dp71 と DG が相互作用する際に必要な蛋白領域を決定し、Dp71 内の EF-hand と ZZ-domain が DG 細胞内ドメインの 19 アミノ酸残基と結合し、Dp71 を安定化させるうえで必須であることを明らかにしました(図 3)。これら蛋白領域と蛋白動態の関連機序は脳に高発現する Dp71 のみならず、筋における Dp427 の制御機構に応用できる可能性があり、今後のジストロフィン異常症の一般的な病態解明と分子標的薬開発のための基盤になるものと期待されます。

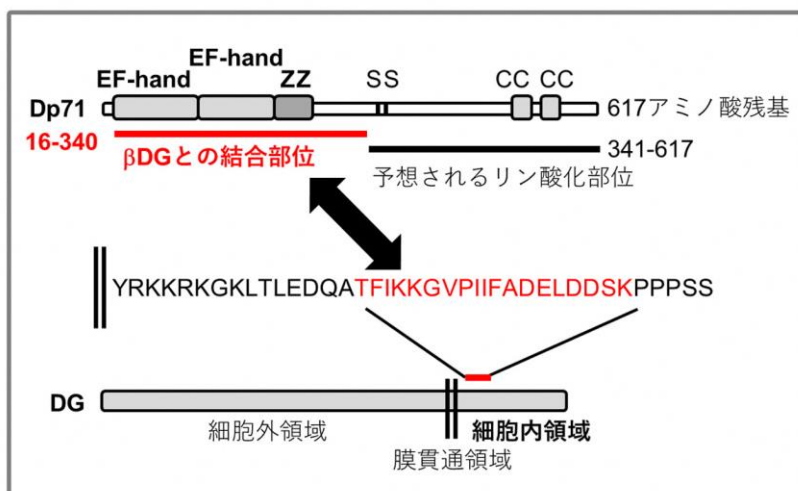


図 3: リコンビナント技術で作製した欠失変異体を用いた研究により、EF-hand と ZZ を含む Dp71 の領域が DG との結合や蛋白安定化に重要であること、そして DG の細胞内領域 19 アミノ酸(赤文字)が Dp71 との結合に必須であることを明らかにしました。

本研究は以下の研究費の支援を受けて行われました。

日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(C) 18K07883(藤本崇宏)

### 用語の説明

- ・※1ジストロフィン(Dp):筋細胞の構造を保つ役割を担う蛋白質。骨格筋のほか、心筋・平滑筋・神経細胞にも存在する。ジストロフィンを生成する遺伝子は X 染色体上にあり、その異常によってデュシェンヌ型筋ジストロフィーやベッカー型筋ジストロフィーが発症する。
- ・※2ジストログリカン(DG):骨格筋・上皮・神経などの細胞膜に存在し、細胞内骨格と細胞外基質をつなぐ役割を果たす細胞膜受容体。
- ・※3低リン酸化状態:蛋白質はさまざまな翻訳後修飾をうけることで、蛋白質の活性や安定性などが調節される。セリン・スレオニン・チロシン残基の側鎖に存在する水酸基において起こるリン酸化は翻訳後修飾の一つであり、リン酸化酵素(キナーゼ)や脱リン酸化酵素(ホスファターゼ)によってリン酸基の付加や除去が調節される。低リン酸化状態とは、蛋白質のリン酸化修飾の度合いが低下した状態。

<p>&lt; 研究に関すること &gt; 京都府立医科大学 分子病態病理学 教授 伊東恭子 電話:075-251-5849 E-mail:kxi14@koto.kpu-m.ac.jp</p>	<p>&lt; 広報に関すること &gt; 広報センター[事務局:企画・研究支援課]土屋 電話:075-251-5804 E-mail:kouhou@koto.kpu-m.ac.jp</p>
--	---