

論 文 内 容 要 旨

The origins of rimmed vacuoles and
granulovacuolar degeneration bodies are
associated with the Wnt signaling pathway
(縁取り空胞と顆粒空胞変性の起源は Wnt シグナル
経路と関連する)

Neuroscience Letters, 638: 55-59, 2017, in press.

主指導教員：木原 康樹教授
(応用生命科学部門 循環器内科学)

副指導教員：栗井 和夫教授
(応用生命科学部門 放射線診断学)

副指導教員：丸山 博文准教授
(応用生命科学部門 脳神経内科学)

篠崎 ゆかり

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

中高年に好発する難治性進行性筋疾患である封入体筋炎は、代表的な認知症疾患であるアルツハイマー病と同様に人口の高齢化とともに近年有病率が増加してきている。また、封入体筋炎とアルツハイマー病の両疾患にはアミロイド β とタウ蛋白が細胞内に異常集積するという生化学的な共通点があり、類似性が注目されている。加えて、封入体筋炎には「縁取り空胞」、アルツハイマー病には「顆粒空胞変性」と呼ばれる病理学的所見が観察されるが、縁取り空胞と顆粒空胞変性はいずれも自己貪食空胞に相当すると考えられており、この2つの病理所見は組織の差異をこえて起源が相同であることが示唆される。しかし、これら空胞の成り立ちについては未だ明らかではない。

これまで所属研究室では、エンドソーム機能に関与する分子 charged multivesicular body protein 2B (CHMP2B) (Yamazaki et al. *Neurosci Lett*, 2010), アルツハイマー病関連蛋白タウのリン酸化酵素 cyclin dependent kinase 5 (CDK5) (Nakamori et al. *Neuroreport*, 2012), 脂質ラフト関連蛋白 flotillin-1, annexin2 等 (Nishikawa et al. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2013) が顆粒空胞変性に存在することが明らかにされてきた。また、縁取り空胞にもこれらの一連の分子が存在することが研究室から報告されている (Nakamori et al, *PLoS One*, 2013)。これらの知見から縁取り空胞と顆粒空胞変性は、筋肉細胞と神経細胞の異なる細胞に存在する相同な細胞膜上のラフト構造、すなわち神経筋接合部とシナプスに由来する病理所見と考えられた。本研究では、神経筋接合部、後シナプスの両者に関連する分子が縁取り空胞と顆粒空胞変性の双方に局在するかについて、免疫組織学的手法により検討した。封入体筋炎患者 7 例の凍結固定筋組織、アルツハイマー病患者 2 例の剖検ホルマリン固定海馬組織を検討対象とし、以下の分子を認識する抗体を用いて行った：(1) dishevelled (Dvl) family proteins (Dvl1, Dvl2 and Dvl3), (2) 神経筋接合部関連分子 (low density lipoprotein-related protein 4 [Lrp4], heat shock protein 70 [Hsp70], β -catenin, phospho- β -catenin, rapsyn, P21-activated kinase 1 [PAK1], adenomatous polyposis coli [APC], ADP-ribosylation factor 6 [Arf6]), (3) 脂質ラフト関連分子 (phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate [PIP2]), (4) その他の蛋白 [prion, glycogen-synthase kinase 3 β (GSK-3 β)]. なお縁取り空胞の同定には pTDP43 あるいは CHMP2B、顆粒空胞変性の同定には casein kinase 1 δ と、それぞれ既報のマーカーに対する抗体を使用し、免疫蛍光二重染色により上記分子との共局在を検討した。

結果は以下のようにまとめられる。縁取り空胞は Dvl3, Hsp70, β -catenin, rapsyn, APC, PIP2, prion, GSK-3 β に対する各抗体で特異的に染色された。一方、顆粒空胞変性は Dvl3, phospho- β -catenin, rapsyn, APC, PIP2 に対する抗体で染色された。GSK-3 β が顆粒空胞変性にて陽性であることは既に報告されており、今回の観察とあわせて、Dvl3, rapsyn, APC, PIP2, GSK-3 β が縁取り空胞、顆粒空胞変性の両者に共通して存在することが示された。またリン酸化の状態は異なるが β -catenin も2つの構造に共通して存在していた。

これらの分子のうち Dvl, rapsyn, APC, GSK-3 β は、Wnt シグナル経路において β -catenin をリン酸化させる destruction complex を形成している。代表的な Wnt シグナル経路である canonical 経路では、非リン酸化 β -catenin が細胞質から核内に移行するのに対して、本研究で

はリン酸化 β -catenin が顆粒空胞変性内に観察されたが、顆粒空胞変性を認める神経細胞の核内には β -catenin が認められなかった。最近新たに報告された Wnt/stabilization of proteins (Wnt/STOP) 経路ではリン酸化された β -catenin が、CHMP2B がマーカーの1つである multivesicular body に蓄積すると報告されており、顆粒空胞変性は Wnt シグナル経路の中でも Wnt/STOP 経路と関連が高い病理所見であると考えられた。

以上の結果から、縁取り空胞と顆粒空胞変性は共に Wnt シグナル経路に関連して陽性となる形成機序が共通の病理所見であることが示唆された。