

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	柴 直 子
論文審査担当者	主 査 池田 修一 教授 副 査 福嶋 義光 教授 ・ 沢村 達也 教授
論文題目	
Differential roles of MMP-9 in early and late stages of dystrophic muscles in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy (デュシャンヌ型筋ジストロフィーにおける MMP-9 の役割)	
(論文の内容の要旨)	
<p>〔背景と目的〕 デュシャンヌ型筋ジストロフィー (DMD) は、筋ジストロフィーの中でも最重症型であり X 連鎖遺伝性を示す。全身の骨格筋の萎縮、筋力低下が進行し小児期に歩行不能となる。さらに、呼吸筋や心筋も傷害され、20-30 代で呼吸不全あるいは心不全で死亡する。骨格筋の機械的安定性を保つために必須の膜蛋白質であるジストロフィンの欠損による骨格筋の脆弱性が一次的な原因であるが、組織の再生や修復の障害も伴い、これらも組織変性の進行に大きく関与していると考えられている。しかし、その分子機構についてはまだ不明な点が多い。DMD の治療法として遺伝子治療、再生医療などの研究開発が行われているが、現時点ではいずれも研究段階であり、根本的治療法は確立されていない。ステロイド剤は、症状の進行を緩和させる効果があり、保険治療となったが、免疫抑制作用や肥満、骨粗鬆症などの全身性の副作用が問題となるため長期間投与の有益性については課題があった。このため、病態機序に関連する標的分子に絞った副作用の少ない薬剤の開発が望まれてきた。本研究では、DMD 患者およびそのモデル動物の骨格筋や末梢血で強発現し、症状の進行に関与すると推測されている細胞外マトリックス分解酵素である MMP-9 に着目し、DMD の骨格筋における機能を解明し、MMP-9 を標的とした治療の可能性について検討した。</p> <p>〔対象と方法〕 ①骨格筋における MMP-9 の機能を検討する目的で、野生型マウスと MMP-9 ノックアウトマウス (<i>MMP9</i>^{-/-}マウス) の前脛骨筋内にカルディオトキシンを注入することにより骨格筋傷害モデルを作製し、急性炎症から組織修復までの過程における局所の細胞浸潤およびケモカイン発現の変化について解析した (N=4-5)。②次に、ジストロフィン欠損マウスである <i>mdx</i> マウスに MMP-9 を欠損させたダブルノックアウトマウス (<i>mdx:MMP9</i>^{-/-}マウス) を作製し、両者の骨格筋 (前脛骨筋、横隔膜) の炎症、壊死、再生、線維化について免疫組織学的および分子生物学的手法を用いて、2、4、8、14 週齢および 1 歳齢で比較検討した (N=3)。</p> <p>〔結果〕 ①骨格筋傷害モデルの解析では、MMP-9 の欠損によりマクロファージ遊走ケモカインである <i>MCP-1</i> の発現およびマクロファージの浸潤が増加し、好中球遊走ケモカインである <i>MIP-2</i> の発現および好中球浸潤は減少していた。さらに再生促進作用を有する M2 マクロファージの浸潤は増加し、DMD の表現型の軽症化に関わるとされている <i>osteopontin</i> (マクロファージや壊死筋などで産生され、組織の炎症や再生を修飾する糖蛋白質) の発現増加を認めた。②ダブルノックアウトマウスの解析では、4 週齢の <i>mdx:MMP9</i>^{-/-}マウスでは <i>mdx</i> マウスに比し <i>MIP-2</i> の発現の低下、<i>MCP-1</i> の発現の増加が認められ、筋組織の炎症細胞浸潤はこれらに呼応する変化を示していた。さらには <i>osteopontin</i> の一過性かつ著明な発現増加が認められた。14 週齢の <i>mdx:MMP9</i>^{-/-}マウスの骨格筋では <i>mdx</i> マウスに比し再生線維が有意に増加し、血清 CK 活性の低下と筋力の増加が確認された。一方、高齢マウス (1 歳齢) では、両群間で炎症所見には大差を認めなかったが、<i>mdx:MMP9</i>^{-/-}マウスでは骨格筋の間質の I 型コラーゲンの蓄積が <i>mdx</i> マウスに比し有意に増加し、筋力も低下していた。</p> <p>〔考察〕 以上の結果から <i>mdx</i> マウスの変性骨格筋における MMP-9 の主な役割は病期によって異なると考えられた。すなわち、ジストロフィー骨格筋では病初期～若年進行期には、MMP-9 がケモカインや炎症細胞の遊走に対する作用を介して組織の炎症の収束を遅延させ、組織変性・壊死を増悪させる働きを示す一方、高齢では I 型コラーゲンなどの間質にある線維成分の分解を促進し、組織の線維化を抑制する働きを有していることが明らかになった。以上から、MMP-9 を標的分子とする治療開発では、若年例の DMD 患者には有効となる可能性があるが、臨床応用には治療を行う病期や投与期間を十分に検討する必要性が示唆された。</p>	

