

# iNOS is not responsible for RyR1 S-nitrosylation in mdx mice with truncated dystrophin

野上, 健一郎

<https://hdl.handle.net/2324/4475015>

---

出版情報 : 九州大学, 2020, 博士 (医学), 課程博士  
バージョン :

権利関係 : (c) The Author(s). 2020 Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

氏 名：野上 健一郎

論 文 名：iNOS is not responsible for RyR1 S-nitrosylation in *mdx* mice with truncated dystrophin  
(短縮型ジストロフィンを発現した筋ジストロフィーモデルマウスにおける、誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の機能解析及び RyR1 の S-ニトロシル化に対する影響)

区 分：甲

### 論 文 内 容 の 要 旨

【背景・目的】これまでの研究で、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) において、一酸化窒素合成酵素 (NOS) がリアノジン受容体 1 (RyR1) の異常な S-ニトロシル化を引き起こしており、神経型 NOS (neuronal NOS: nNOS) と誘導型 NOS (inducible NOS: iNOS) の両方が関与することが報告されている。nNOS はジストロフィン-糖タンパク複合体に結合して細胞膜に発現することが知られているが、DMD においてはそれらが欠損することで細胞質に異常局在しており、また iNOS の発現は DMD においては炎症のため亢進していることが報告されている。本研究では、DMD モデルマウス (*mdx* マウス) を用いて、RyR1 の S-ニトロシル化に対する iNOS の影響を解析し、さらに *mdx* マウスに短縮型ジストロフィンを強制発現させることで、*mdx* マウスの iNOS 発現が低下するかどうかを検証した。

【方法】3-4 か月齢の健常マウス (C57BL/6 J)、*mdx* マウス、およびエクソン 45-55 が欠失した短縮型のヒトジストロフィンを発現させた *mdx* マウス (Tg/*mdx*) を使用した。また、2 種類のダブルノックアウトマウス (*mdx* NOS2 KO と Tg/*mdx* NOS2 KO) を生成して、RyR1 の S-ニトロシル化への iNOS の関与を明らかにした。これらのマウスの骨格筋における nNOS および iNOS の発現レベルは、免疫組織化学染色、qRT-PCR、およびウエスタンブロットによって評価した。骨格筋における NOS の生理活性は、シトルリンアッセイによって測定した。RyR1 の S-ニトロシル化の検出には、ビオチンスイッチ法を使用した。統計的差異は、Tukey-Kramer 法を使用した一元配置分散分析によって評価した。

【結果】*mdx* および *mdx* NOS2 KO マウスでは、RyR1 の S-ニトロシル化は同程度に認められた。nNOS と iNOS を合わせたトータルの NOS 活性は、*mdx* と *mdx* iNOS KO マウスでは変化が見られなかった。iNOS の発現は、*mdx* マウスでのみ検出された。エクソン 45-55 が欠失したヒトジストロフィンを発現する Tg/*mdx* では、iNOS の発現は検出感度以下まで低下している一方で、RyR1 の S-ニトロシル化のレベルは *mdx* マウスと Tg/*mdx* マウスでは変化が見られなかった。

【結論】 *mdx* マウスにおいて iNOS のタンパク質発現が検出されたが、NOS2 をノックアウトしても、トータルの NOS 活性および RyR1 の S-ニトロシル化には変化が見られなかったことから、*mdx* マウスにおける iNOS の影響は少ないことが示唆された。また、エクソン 45-55 が欠損したジストロフィンを発現することにより、Tg/*mdx* マウスで iNOS の発現レベルは低下したが、RyR1 の S-ニトロシル化は変化が見られなかった。これらの結果から、iNOS は *mdx* および Tg/*mdx* マウスの骨格筋において、RyR1 の S-ニトロシル化には関与していないことが示唆された。