

令和元年6月21日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09728

研究課題名(和文) 希少難治性筋疾患におけるオートファジーを介した蛋白分解機構と病態機序の解明

研究課題名(英文) Pathomechanism of autophagy system and pathomechanism in rare intractable muscle diseases

研究代表者

杉江 和馬 (Sugie, Kazuma)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：60347549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：オートファジーには未解明の部分が多く、特に筋組織での研究は進んでいない。オートファジー異常を原因とする希少難治性筋疾患のうち、2次性ライソソーム異常による縁取り空胞を多数有する封入体筋炎で病理学的に抗cytosolic-5'-nucleotidase 1A抗体陽性筋線維の存在が、診断感度、特異度ともに高いことを示した。1次性ライソソーム異常に伴う筋疾患について全国実態調査を行い、本邦でDanon病20家系39例を確認し、全例が心筋症を有した。類似疾患XMEAも本邦で4家系12例を見出した。いずれも、筋病理学的には筋鞘膜構成蛋白を発現し筋鞘膜の特徴をもつ自己貪食空胞を確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オートファジー異常を原因とする希少難治性筋疾患において、疾患概念の確立や診断基準の整合性、治療法を含めた臨床病態について明らかにしてきた。このことは、本疾患患者の療養環境の改善に大きく貢献していると考えられる。また、病理学的なライソソーム/オートファジー経路の病態への関与を明らかにしたことで、普遍的なオートファジーの解明、ひいてはオートファジー機構の分子病態解明から治療法の開発へつながり、社会的貢献は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：In many muscle diseases, pathomechanism associated with autophagy system has not been well established. First, inclusion body myositis (IBM) may be caused by secondary dysfunction of autophagy. We identified muscle fibers with positive antibodies against cytosolic-5'-nucleotidase 1A pathologically in IBM. We considered that these expression led to high sensitivity and high specificity on the diagnosis of IBM. Next, Danon disease, an X-linked dominant vacuolar cardiomyopathy and skeletal myopathy, is caused by primary dysfunction of autophagy. On a nationwide survey in Japan, we identified 39 patients from 20 families with Danon disease. Cardiomyopathy, the main cause of death, was documented in all patients. In addition, we identified 12 patients from 4 families with XMEA. Pathologically, we found autophagic vacuoles with sarcolemmal features (AVSF) in both Danon disease and XMEA. AVSF expressed virtually all sarcolemmal proteins on their vacuolar membranes.

研究分野：臨床神経学

キーワード：自己貪食空胞性ミオパチー オートファジー 自己貪食空胞 ダノン病 ミオパチー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

希少難治性筋疾患のうち、オートファジー異常を原因とする疾患として、自己貪食空胞性ミオパチーがある。「自己貪食空胞性ミオパチー」は病理学的に極めて特徴的な自己貪食空胞を有する稀少な筋疾患で、根治療法はなく身体障害度は重度である。生体防御の機構として飛躍的に注目されているオートファジー分子機構の関与が疑われるが、依然原因不明で治療も未確立である。

2. 研究の目的

自己貪食空胞性ミオパチーの空胞には、1) 1次性ライソゾーム異常による Danon 病を代表とする筋鞘膜の性質をもつ自己貪食空胞、2) 2次性ライソゾーム異常による縁取り空胞 (RV) がある。オートファジーには未解明の部分が多く、特に筋組織での研究は進んでいない。病態解明の戦略として、疾患概念を確立させ共通の臨床病態の解明を行う。また、ヒト生検筋に加え、研究分担者 (西野) が開発した「Danon 病モデルマウス」でのオートファジー解明を試みる。本疾患は、未だ根治療法のない致死性疾患で、オートファジー機構の分子病態解明から治療法開発への手掛かりを得ることを目指す。

3. 研究の方法

まず、研究代表者が客員研究員である国立精神・神経医療研究センターで有する世界最多の自己貪食空胞性ミオパチー患者、特に、1次性ライソゾーム異常による Danon 病と XMEA の臨床情報の解析を行う。併せて、研究代表者が実施してきた国内実態調査で得られた臨床情報についても解析を行う。新規患者の発見から新たな病態・病型の分類と共通する臨床症状を解析し、臨床病態の解明につなげる。さらに、自己貪食空胞性ミオパチー患者生検筋と、自己貪食空胞性ミオパチーモデルマウス (Danon 病モデル) 筋組織を用い、オートファジー関連物質の詳細な病理学的発現の検討を行う。そして、オートファジー分子機構の解明に向けて、病理学的解析を行い、1) ライソゾーム系の関連蛋白の局在解析、2) 生検筋での凝集蛋白の解析、3) 生検筋での各種酵素活性およびリン酸化機構の病理学的解析を行い、筋組織での筋変性機序の解明と治療法開発への手掛かりを得ることを目指す。2次性ライソゾーム異常による縁取り空胞においては、代表疾患である封入体筋炎において、生検筋での凝集蛋白の解析に加えて、近年、病態との関連が示唆されている抗 cytosolic-5'-nucleotidase 1A 抗体についての病理学的解析も行う。

4. 研究成果

まず、私たちは、2次性ライソゾーム異常による縁取り空胞を多数有する封入体筋炎を対象として研究を行い成果を発表した。近年、封入体筋炎の血清中での抗 cytosolic-5'-nucleotidase 1A 抗体の発現が報告され、私たちは、この自己抗体の筋組織上での発現を検討した結果、封入体筋炎における骨格筋での抗 cytosolic-5'-nucleotidase 1A 抗体陽性線維の存在が、診断感度、特異度ともに高いことを示した。そして、1次性ライソゾーム異常による Danon 病と XMEA を対象として全国実態調査を行った。本邦で Danon 病症例を、20家系 39例 (男:女=17:22) 確認した。全例が心筋症を有し、一部は重症心不全を呈した。肥大型心筋症や WPW 症候群などの心伝導異常が特徴であった。1例で心臓移植が実施され、左心補助人工心臓植込み例も認められた。発症に国内での地域の分布差はなく、遺伝子変異部位も家系によりすべて異なる。筋病理学的には小空胞をもつ筋線維が散在し一部で酸フォスファターゼ活性が亢進している。この小空胞の膜にアセチルコリン・エステラーゼ活性が認められ、筋鞘膜構成蛋白を発現し筋鞘膜の特徴をもつ自己貪食空胞 AVSF と一致した。この病理学的検討は、Danon 病モデルマウスにおいても実施したが、同様に AVSF を見出した。さらに、類似疾患 XMEA も本邦で 4家系 12例を見出した。臨床病型として、過去に先天性あるいは乳児型自己貪食空胞性ミオパチーとして報告した例が、XMEA のアレル病であることを明らかにし、今後臨床分類の再検討を目指す。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計7件)

Eura N, Sugie K, Suzuki N, Kiriya T, Izumi T, Shimakura N, Kato M, Aoki M.
A juvenile sporadic amyotrophic lateral sclerosis case with P525L mutation in the FUS gene: A rare co-occurrence of autism spectrum disorder and tremor.
J Neurol Sci. 2019 Mar 15;398:67-68.

Shobatake R, Itaya-Hironaka A, Yamauchi A, Makino M, Sakuramoto-Tsuchida S, Uchiyama T, Ota H, Takahashi N, Ueno S, Sugie K, Takasawa S.
Intermittent Hypoxia Up-Regulates Gene Expressions of Peptide YY (PYY), Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1), and Neurotensin (NTS) in Enteroendocrine Cells.
Int J Mol Sci. 2019 Apr 15;20(8). pii: E1849.

Sugie K, Komaki H, Eura N, Shiota T, Onoue K, Tsukaguchi H, Minami N, Ogawa M, Kiriya T

T, Kataoka H, Saito Y, Nonaka I, Nishino I.
A Nationwide Survey on Danon Disease in Japan.
Int J Mol Sci. 2018 Nov 8;19(11). pii: E3507.

Nguyen HT, Noguchi S, Sugie K, Matsuo Y, Nguyen CTH, Koito H, Shiojima I, Nishino I, Tsukaguchi H.
Small-Vessel Vasculopathy Due to Aberrant Autophagy in LAMP-2 Deficiency.
Sci Rep. 2018 Feb 20;8(1):3326.

Matsui TK, Matsubayashi M, Sakaguchi YM, Hayashi RK, Zheng C, Sugie K, Hasegawa M, Nakagawa T, Mori E.
Six-month cultured cerebral organoids from human ES cells contain matured neural cells.
Neurosci Lett. 2018 Mar 23;670:75-82.

Tawara N, Yamashita S, Zhang X, Korogi M, Zhang Z, Doki T, Matsuo Y, Nakane S, Maeda Y, Sugie K, Suzuki N, Aoki M, Ando Y.
Pathomechanisms of anti-cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoantibodies in sporadic inclusion body myositis.
Ann Neurol. 2017 Apr;81(4):512-525.

Sugie K, Yoshizawa H, Onoue K, Nakanishi Y, Eura N, Ogawa M, Nakano T, Sakaguchi Y, Hayashi YK, Kishimoto T, Shima M, Saito Y, Nishino I, Ueno S.
Early onset of cardiomyopathy and intellectual disability in a girl with Danon disease associated with a de novo novel mutation of the LAMP2 gene.
Neuropathology. 2016 Dec;36(6):561-565.

[学会発表](計8件)

Sugie K, Komaki H, Onoue K, Eura N, Shiota T, Tsukaguchi H, Namatame S, Kiriyama T, Ugawa Y, Saito Y, Nonaka I, Nishino I.
Clinical characteristics, management, and outcomes of Danon disease: A nationwide survey in Japan.
The 4th Congress of the European Academy of Neurology (EAN2018), Lisbon, Portugal, June 16-19, 2018.

Sugie K, Omoto M, Eura N, Shiota T, Nishihara H, Kanda T.
Clinicopathological study of neuropathy associated with IgA vasculitis (Henoch-Schönlein purpura).
The 59th Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology, Sapporo, Hokkaido, May 23-26, 2018.

江浦信之、塩田 智、小林恭代、形岡博史、杉江和馬。
炎症性ミオパチーにおいて複数検出される筋炎特異的自己抗体の意義。
第59回日本神経学会学術大会、札幌、北海道、2018年5月23-26日。

塩田 智、江浦信之、桐山敬生、泉 哲石、後藤加奈子、林由起子、西野一三、杉江和馬。
顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー1型における脳卒中の危険因子に関する検討。
第59回日本神経学会学術大会、札幌、北海道、2018年5月23-26日。

Sugie K, Komaki H, Onoue K, Eura N, Shiota T, Tsukaguchi H, Namatame S, Koito H, Kiriyama T, Saito Y, Ugawa Y, Ueno S, Nonaka I, Nishino I.
Clinical features and management of Danon disease in Japan: A nationwide survey.
The 23th World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, September 16-21, 2017.

Eura N, Sugie K, Ozaki M, Shiota T, Uchihara Y, Nanaura H, Fukushima K, Kiriyama T, Izumi T, Kataoka H, Ueno S.
Clinicopathological evaluation of anti-SRP versus anti-HMGCR myopathy: What are the similarities and differences?
The 23th World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, September 16-21, 2017.

Shiota T, Sugie K, Hayashi YK, Goto K, Eura N, Kiriyama T, Nonaka I, Nishino I, Ueno S.
Asymmetric skeletal muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy:

A neuroimaging study.

The 23th World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, September 16-21, 2017.

杉江和馬、江浦信之、塩田 智、小川 恵、埜中征哉、上野 聡、西野一三 .

Danon 病における特異な自己貪食空胞とオートファジーの病態への関与 .

第 58 回日本神経病理学会総会学術研究会、東京、2017 年 .

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 該当なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：西野 一三

ローマ字氏名：Ichizo Nishino

所属研究機関名：国立精神神経医療研究センター

部局名：神経研究所疾病研究第一部

職名：部長

研究者番号 (8 桁) : 00332388

(2)研究協力者

研究協力者氏名：上野 聡

ローマ字氏名：Satoshi Ueno

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。