

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16107

研究課題名(和文)筋疾患の封入体形成に共通する病態基盤の解明と治療標的分子の探索

研究課題名(英文)Elucidation of pathomechanism common to inclusion body myopathies and search for therapeutic target molecules

研究代表者

井泉 瑠美子(Izumi, Rumiko)

東北大学・大学病院・医員

研究者番号：60571453

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：封入体形成と骨格筋変性の病態解明に関連するゲノムバリエーション抽出のため、遺伝性封入体ミオパチー(hIBM)および孤発性封入体筋炎(sIBM)計25例に、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析を行った。さらに疾患関連リピート配列構造の検出のため、hIBM3例に全ゲノム長鎖シーケンシングを行った。これらの結果から、hIBM3例に既知変異を検出、その他の症例には未診断ながら、24のレアバリエーション、27の新規バリエーションを確認した。また骨格筋組織RNAのトランスクリプトーム解析を行い、hIBM群とコントロール群との比較において、発現量に関して有意差のある39遺伝子を抽出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

治療法は未確立であり進行性の筋萎縮・筋力低下のため著しい機能障害を起こす遺伝性封入体ミオパチー(hIBM)と孤発性封入体筋炎(sIBM)の遺伝子解析を行い、51の新規あるいはレアバリエーションを検出した。今後のこれらのデータと新規症例のデータ照合、生検筋を用いた検討の継続により、封入体形成に関係する新規病変遺伝子を明らかとできる可能性がある。またトランスクリプトーム解析では39遺伝子にて発現有意差を認めており、この中に治療法開発の可能性標的分子が含まれている可能性がある。今後治療法確立へ向けて解析を継続する。

研究成果の概要(英文)：We performed genetic analysis using a next-generation sequencer for a total of 25 cases of hereditary inclusion body myopathy (hIBM) and sporadic inclusion body myositis (sIBM) for the extraction of genomic variants related to the pathogenesis of inclusion body formation and skeletal muscle degeneration. In addition, whole-genome long-read sequencing was performed on 3 cases of hIBM to detect pathogenic repeat sequence structure. From these analyses, we identified 24 rare and 27 novel variants, besides known mutations in 3 hIBM cases. From transcriptome analysis of skeletal muscle tissue RNA, 39 genes that were significantly different in expression level were extracted in comparison between the hIBM group and the control group.

研究分野：脳神経内科

キーワード：ミオパチー 筋炎 封入体 縁取り空胞 蛋白分解系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

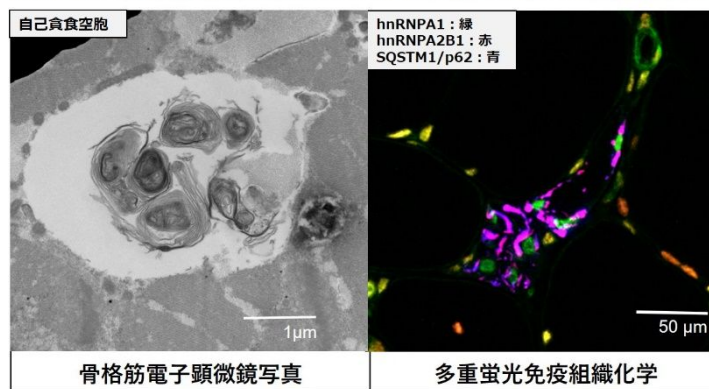
## 1. 研究開始当初の背景

封入体の形成が筋変性に関わっている代表的疾患である、遺伝性封入体ミオパチー (hereditary inclusion body myopathy; hIBM) と孤発性封入体筋炎 (sporadic inclusion body myositis; sIBM) は、共に進行性筋萎縮・筋力低下のため著しい機能障害を起こす難治性疾患で、治療法は未確立である。

申請者は、現在まで hIBM 家系を対象として次世代シーケンサーをもちいた遺伝子解析を継続しており、本邦初の hnRNPA1 遺伝子変異を有する多系統蛋白質症 (MSP) 3 型の 2 家系 (引用) の報告を行った。hnRNPA1 は RNA 結合蛋白をコードしており、海外グループの報告により、同一遺伝子変異 (p.D314N) が、筋萎縮性側索硬化症、前頭側頭型認知症、骨 Paget 病など多系統の変性疾患と関連することが報告された (Nature, 2013)。以上の経験から、hIBM の病因分子を明らかとする意義は筋疾患の病態解明に留まらないことが示された。

また、縁取り空胞を特徴とする骨格筋病理および上記の蓄積蛋白質は hIBM および sIBM において共通していることから、両者に共通した病態基盤の存在が推測されているが、何故共通して封入体が形成され、筋線維が進行性に変性していくのか、封入体を形成する筋疾患の根本的病態は依然解明されておらず、治療標的となりうる分子も明らかとなっていない。

MSP3型自験例筋組織およびiPS細胞を用いた病態再現



## 2. 研究の目的

両疾患群の遺伝子解析と骨格筋組織を用いたトランスクリプトーム解析を行うことで、封入体形成と骨格筋変性に関わる病因分子および治療標的分子を明らかとする。更に mRNA 変動に焦点を当て、封入体形成と筋変性の本質的病態に関わる病因分子および治療標的分子の候補を抽出する。将来的には、生検骨格筋組織と細胞を用いた検証を重ね病的意義を明らかとし、今後の介入実験を見据えた病態再現細胞モデルの確立までを行う。

## 3. 研究の方法

### (1) 次世代シーケンサーを用いたゲノム解析

既知の hIBM の原因遺伝子を含む 31 筋疾患関連遺伝子を解析対象とするターゲットリシーケンス解析、エクソーム解析、全ゲノム長鎖シーケンスを段階的に施行。

### (2) 情報解析によるレアバリエントの抽出

配列情報取得後は、情報解析を行い参照配列と異なる配列をコールする。疾患関連既報告の変異と、多型データベースとの照合による集団頻度 1% 以下のレアバリエントを抽出する。レアバリエントの中でも RNA 結合蛋白、蛋白分解系分子、筋サルコメア構成分子について特に注目する。解析データは、hIBM・sIBM 全体で統合し横断的に比較を行う。

### (3) 生検骨格筋を用いたトランスクリプトーム解析

罹患者骨格筋組織から RNA 抽出を行い、次世代シーケンサーを用いてトランスクリプトーム解析を行う。ゲノムレベルで検出しているレアバリエントの mRNA レベルでの発現量変化の確認とスプライスバリエントの検出を行う。

## 4. 研究成果

封入体形成と骨格筋変性の病態解明に関連するゲノムバリエント抽出のため、hIBM および sIBM の計 25 例に、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析を行った。さらに疾患関連リピート配

列構造の検出のため、hIBM3 例に全ゲノム長鎖シーケンスを行った。これらの結果から、hIBM 3 例に既知変異を検出、その他の症例には未診断ながら、24 のレアバリエント、27 の新規バリエントを確認した。また骨格筋組織 RNA のトランスクリプトーム解析を行い、hIBM 群とコントロール群との比較において、発現量に関して有意差のある 39 遺伝子を抽出した。

<引用文献>

Izumi R, Niihori T, Takahashi T, Suzuki N, Tateyama M, Watanabe C, Sugie K, Nakanishi H, Sobue G, Kato M, Warita H, Aoki Y, Aoki M. Genetic profile for suspected dysferlinopathy identified by targeted next-generation sequencing. *Neurology Genetics* 2015 Dec 10;1(4):e36 (査読あり)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suzuki Naoki, Mori-Yoshimura Madoka, Yamashita Satoshi, Nodera Hiroyuki, Kaji Ryuji, Tateyama Maki, Izumi Rumiko, Ono Hiroya, Kato Masaaki, Warita Hitoshi, Takahashi Toshiaki, Nishino Ichizo, Aoki Masashi, et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 The updated retrospective questionnaire study of sporadic inclusion body myositis in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Orphanet Journal of Rare Diseases	6. 最初と最後の頁 155 ~ 163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13023-019-1122-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shibata Saori, Izumi Rumiko, Hara Tomonori, Ohshima Ryuji, Nakamura Naoko, Suzuki Naoki, Kato Kengo, Katori Yukio, Tateyama Maki, Kuroda Hiroshi, Aoki Masashi	4. 巻 381
2. 論文標題 Five-year history of dysphagia as a sole initial symptom in inclusion body myositis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 325 ~ 327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2017.09.014	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計2件

1. 著者名 井泉瑠美子, 鈴木直輝, 青木正志	4. 発行年 2018年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 8
3. 書名 神経内科	

1. 著者名 青木正志編, 井泉瑠美子, 他著	4. 発行年 2017年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 352 (60-68)
3. 書名 運動ニューロン疾患	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----