

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2007～2008 年度  
 課題番号：19700327  
 研究課題名（和文）  
 自己貪食空胞性ミオパチーの疾患概念確立とオートファジー機構の解明に関する研究  
 研究課題名（英文）  
 Study for the pathomechanism of autophagy in autophagic vacuolar myopathy  
 研究代表者  
 杉江 和馬（SUGIE KAZUMA）  
 奈良県立医科大学・神経内科・講師  
 研究者番号：60347549

## 研究成果の概要：

細胞内での蛋白分解を担うオートファジーの異常を原因とする「自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）」の疾患概念の確立を目指した。病理学的検討で、筋線維での特徴的な自己貪食空胞の蓄積とリソソーム・エンドソーム系の機能亢進を示した。筋変性との関連が示唆され、骨格筋でのオートファジーの解明に新しい知見を得た。主要な臨床病態の検討では、心筋症が致死性で過剰な房室伝導や心予備能の低下をきたす予後規定因子であることを明らかにした。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	270,000	2,870,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学、神経解剖学・神経病理学

キーワード：自己貪食空胞、オートファジー、Danon 病、自己貪食空胞性ミオパチー

## 1. 研究開始当初の背景

自己貪食空胞性ミオパチー (Autophagic vacuolar myopathy: AVM) の代表疾患である Danon 病は、2000 年にリソソーム膜蛋白であ

る LAMP-2 (lysosome-associated membrane protein-2) の原発性欠損症であることが初めて明らかになったまれな疾患である (Nishino I et al. Nature, 2000)。研究代表者 (杉江) は、遺伝学的に確定した Danon

病の臨床病型について初めて報告し (Sugie K, et al. Neurology, 2002) X染色体優性遺伝であることを示した。続けて、女性患者における LAMP-2 haploinsufficiency についても明らかにした (Sugie K, et al. Neuromuscul Disord, 2003)。また、Danon 病を含めた AVM における空胞のきわめて特異な病理学的特徴について報告した (Sugie K, et al. J Neuropathol Exp Neurol, 2005)。これまで、研究代表者は、常にこの分野において先駆的研究を行ってきている。

Danon 病で認められる自己貪食空胞は、筋鞘膜の性質を有するきわめて特徴的な空胞膜を有した空胞 (AVSF: autophagic vacuoles with sarcolemmal features) である。この空胞は、縁取り空胞 (rimmed vacuole) や糖原病その他の疾患で認められる自己貪食空胞とは明らかに異なる。Danon 病と同様の空胞は、X-linked myopathy with excessive autophagy (XMEA)、infantile autophagic vacuolar myopathy、adult-onset autophagic vacuolar myopathy with multi-organ involvement (Kaneda D, Sugie K, et al. Neurology, 2003)、X-linked congenital autophagic vacuolar myopathy (Yan C, Tanaka M, Sugie K, et al. Neurology, 2005) にみられる。XMEA 以外は、いずれも研究代表者のグループが疾患概念を提唱してきたものである。我々はオートファジー機構の異常を原因とするこれら疾患群を「自己貪食空胞性ミオパチー (AVM)」と提唱している。

## 2. 研究の目的

自己貪食空胞性ミオパチー (AVM) の疾患概念を確固たるものにしていくためには、共通する分子病態の解明が必要である。そのための戦略として、ヒトの AVM 患者の生検筋において、病理学的にリソソーム・エンドソーム経路およびオートファジー機構に關与する物質の局在・機能について検討を行うことで、筋組織でのオートファジーの機序解明を目指している。

リソソーム・エンドソーム経路の中でも細胞質内の蛋白分解を担うオートファジーの

メカニズムについては未解明の部分が多く、特に筋組織ではほとんど研究が進んでいないのが現状である。その中でリソソーム膜蛋白の原発性欠損が原因である Danon 病では、オートファジーが筋障害の主要なメカニズムに關与することが強く疑われる。AVM の代表疾患である Danon 病を中心に研究することは、筋組織でのオートファジーの解明に向けて最も有用な方法と考えられ、ひいては普遍的なリソソームを介したオートファジーの解明にも繋がると思われる。さらに、本疾患群は現在のところ未だ根本的治療法はない致死性の疾患であり、オートファジーの分子病態の解明から治療法の開発への手掛かりを得ることを目指す。

## 3. 研究の方法

(1) まず、AVM 患者の生検筋を用いて、自己貪食空胞の組織化学的・免疫組織化学的検討を行い筋病理学的に評価する。具体的には、リソソーム・エンドソーム経路およびオートファジーに關与する物質の局在・機能について筋病理学的検討を行う。さらに、オートファジーの場である自己貪食空胞の微細構造について形態学的に検討を行う。そして、筋鞘膜蛋白、リソソーム系蛋白の局在について観察、解析を行うことで、AVM の病態の全容解明として、骨格筋における蛋白分解システムとしてのリソソーム・エンドソーム経路におけるオートファジー・カスケードの解明を行う。さらに、本疾患群におけるリソソームを介したオートファジーの異常を解明し、本病態の改善に向けた治療へ結びつく分子病態の発見を目指していく。

(2) AVM の疾患概念の確立のためには、より詳細な臨床病型の把握が不可欠である。骨格筋のみならず心筋を含めた全身の症候について臨床評価を行っていく。また、新たな AVM 患者を見出して、対象を広げていく。さらに、予後を規定している重要な症状である心筋症については、

臨床病態および経過についてより詳細に検討を行う。現在まで、AVMにおける心筋症に対して詳細に検討された報告はない。また、現在のところ、心筋症には積極的な治療法がなく、心臓移植のみが唯一の根治療法となっている。

#### 4. 研究成果

(1) AVM患者の生検筋を用いて、自己貪食空胞を詳細な病理学的検討を行い評価した。組織学的および免疫組織学的解析より、オートファゴソームを筋鞘膜の性質を有する膜で囲んだ特異な自己貪食空胞を認めた。電顕的解析では、周囲の空胞壁に基底膜を見出した。空胞壁には、dystrophin や sarcoglycan など筋鞘膜蛋白が多数発現していた。組織化学染色では、空胞壁でコリンエステラーゼの発現も確認できた。

さらに、リソソーム・エンドソーム経路およびオートファジー機構に関する物質の局在について、筋組織ではLAMP-2欠損と、リソソーム膜蛋白：LAMP-1、LIMP-1、LIMP-2の発現亢進を認めた。また、オートファゴソーム膜蛋白：LC3、リソソーム蛋白：cathepsin、エンドソーム膜蛋白：Rab5、VAMP-7、Transferrin receptor、LDL receptorも亢進していた。一方、ユビキチン、19Sおよび20Sプロテアソームの発現に明らか亢進は認めなかった。今回の研究結果から、Danon病では、自己貪食空胞の筋線維内での蓄積に加えて、オートファジー/リソソーム系、エンドソーム系の機能亢進を明らかにし、筋変性との関連が示唆された。

(2) 本疾患の予後を規定するきわめて重要な因子である心筋症の病態について特徴を見出した。調査した患者全例で心筋症を認め、発症年齢の早い男性では大半が肥大型で、発症の遅い女性では拡張型が多かった。左室高電位とWPW症候群が高頻度にみられ、ペースメーカー植込み

や心臓移植が少数例ながら施行されていた。Danon病では、心筋細胞内での自己貪食空胞の蓄積やグリコーゲンの貯留により過剰な房室伝導や心予備能の低下を来すことが示唆された。今後、より詳細な病理学的解析によりAVMの病態の解明と骨格筋におけるオートファジー機構と病態との関連の解明が求められる。また近年、Danon病に伴う症状として、心筋症以外にも関節変形や自動症などの精神症状、脳血管障害などの報告があり、全身疾患として臨床症状の再精査が重要となる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

Sugie K, Hayashi YK, Kin T, Goto K, Nishino I, Ueno S. Hemiatrophy as a clinical presentation in facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *Neurology*. 2009 in press. 査読有.

杉江和馬、埜中征哉、西野一三. Danon病患者17家系51例における心筋障害の臨床的特徴. *心臓*. 41: 413 - 418, 2009、査読有.

Okada M, Kawahara G, Noguchi S, Sugie K, Murayama K, Nonaka I, Hayashi YK, Nishino I. Primary collagen VI deficiency is the second most common congenital muscular dystrophy in Japan. *Neurology*. 69:1035-1042, 2007、査読有.

[学会発表](計 3件)

Sugie K, Nonaka I, Nishino I. Unique autophagic vacuoles with sarcolemmal features delineate Danon disease and

related autophagic vacuolar myopathies.

133rd Annual Meeting of the American Neurological Association, September 21-24, 2008, Salt Lake City, UT.

**Sugie K**, Noguchi S, Ueno S, Nonaka I, Nishino I. Analyses of unique autophagic vacuoles and autophagic/lysosomal pathway in Danon disease.

132nd Annual Meeting of the American Neurological Association, October 7-10, 2007, Washington, DC.

**Sugie K**, Noguchi S, Ueno S, Nonaka I, Nishino I. Muscle pathological analysis for autophagic/lysosomal and endosomal pathways in Danon disease. 12th International Congress of the World Muscle Society, October 17-20, 2007, Giardini Naxos-Taormina, Sicily, Italy.

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

杉江 和馬 (SUGIE KAZUMA)  
奈良県立医科大学・神経内科・講師  
研究者番号 : 60347549

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし