

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21563

研究課題名(和文)異常凝集蛋白クリアランスシステムに着目した封入体筋炎の病態解明

研究課題名(英文)Elucidation of the pathogenesis of inclusion body myositis by focusing on the abnormal aggregation protein clearance system

研究代表者

青木 正志(AOKI, Masashi)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：70302148

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：社会の高齢化に伴い患者数が増加している封入体筋炎(sIBM)は中高年にみられる慢性進行性の難治性筋疾患である。sIBM患者の骨格筋ではアミロイドやTDP-43などの異常凝集体が見られ筋における変性疾患と考えられる。独自に開発したヒト骨格筋電気収縮培養系を活用し、凝集蛋白の一つであるTDP-43の細胞質沈着を見出した。本成果はSciRep誌に報告した。TDP-43はRNA結合蛋白の機能を持ち、標的遺伝子の発現変化を通じて、sIBMの表現型に寄与している可能性がある。あらたに3例から筋芽細胞を樹立した。sIBM筋へのB細胞の集簇についても症例をまとめNeuromusDisord誌に報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

封入体筋炎は治療法が無く最終的に著明な筋萎縮を来して寝たきりになる難病であり、日本人でも社会の高齢化に伴い、患者数が増加しており、中高年で最も頻度の高い炎症性筋疾患となっている。その病態解明・治療開発は高齢化に伴うサルコペニアやフレイル、廃用性筋萎縮・筋ジストロフィーなどへの治療開発に寄与する。本研究により異常蛋白が蓄積するという変性の観点から、封入体筋炎の病態の一旦が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Inclusion body myositis (sIBM) is a chronic, progressive and refractory muscle disease seen in middle-aged and older people. sIBM patients' skeletal muscles show abnormal aggregates such as amyloid-beta, TDP-43 and FUS, suggesting a degenerative disease in the muscle. Using an originally developed human skeletal muscle electrical pulse culture system, we found cytoplasmic deposition of TDP-43, one of the aggregation proteins found in ALS. The results were reported in SciRep journal. Myoblasts were established from three new cases of sIBM muscle biopsies. B-cell follicle in sIBM muscle tissue were also observed in a case. It was summarised and reported in NeuromusDisord journal.

研究分野：臨床神経学

キーワード：封入体筋炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

厚生労働省の指定難病の3分の1以上を神経筋疾患が占めており、一次性・二次性を含めた筋萎縮の病態解明・治療開発は社会的な要請が高まっている。数ある指定難病の中でも原因不明で治療法が無い中高年の疾患である sIBM は希少疾病ながら高齢化で患者数が増えており、病態解明に根ざした治療開発が喫緊の課題である。sIBM の骨格筋ではアルツハイマー病や ALS などの神経変性疾患で神経細胞に蓄積するアミロイドβ蛋白や TDP-43・FUS などの異常凝集体が見られ筋の変性疾患とも呼ばれている。我々が独自に開発したヒト骨格筋電気収縮培養系において、ヒト sIBM の骨格筋から樹立した筋芽細胞を用い、生検筋データと比較することでアポリポ蛋白の産生が過剰であることを明らかにした (未発表)。アポリポ蛋白は 2000 年代にもヒト sIBM 患者骨格筋の封入体に蓄積することが指摘されていたものの検討が進んでいなかったが、2019 年に LDL 受容体関連蛋白-12 (LRP12) が眼咽頭遠位型ミオパチーの原因遺伝子として同定され、リポ蛋白が凝集体形成にかかわる可能性に再度注目している。アルツハイマー病では脳内のリンパ系システムである glymphatic system によりアミロイドβが除去される自浄システムの破綻が病態仮説として注目されている。近年ではアクチビン受容体拮抗薬 (BYM338) の臨床試験が行われたものの主要評価項目の統計学的に有意な改善が得られず製薬企業は開発から撤退した。申請者らも本治験に携わったが、薬剤の直接的な効果である骨格筋量の増加は得られたものの筋力の改善が得られず治験が失敗した要因として、筋量制御だけではなく異常に合成された蛋白排泄・分解の制御が必要だったと分析している。

2. 研究の目的

封入体筋炎 (sIBM) は中高年にみられる慢性進行性の難治性筋疾患である。sIBM の骨格筋ではアルツハイマー病や ALS などの神経変性疾患で神経細胞に蓄積するアミロイドβ蛋白や TDP-43・FUS などの異常蛋白凝集体が見られる。本研究では封入体形成機序を解明するため、異常蛋白クリアランス系に着目し、排出の鍵蛋白を同定し異常凝集体病の病態解明に迫る。

3. 研究の方法

sIBM 患者の生検筋から表面マーカー CD56 により FACS 分離・培養した筋芽細胞を用いる。既に 12 株樹立しており継続的に培養細胞個体数を増やす。以前の検討で脂質代謝を制御しアルツハイマー病の危険因子として知られる ApoE が sIBM 筋で発現亢進することを見出した。整形外科で手術操作に伴い切除が必要となる正常筋を同年代の正常コントロールとして用いる。研究協力者・神崎らが開発した長年の筋収縮刺激の持続を再現するために培養容器に電位をかけて強制的・持続的に筋収縮を起こし培養筋線維の成熟を促すことができる電気収縮培養系を用いて細胞ストレスを負荷し内在性の ApoE 蛋白をはじめとした細胞内凝集体形成を評価する。外来 ApoE 蛋白や TDP-43 を発現させ、細胞内挙動をモニタリングする。また生検筋での挙動についても評価していく。

4. 研究成果

本研究ではヒト封入体筋炎 (sIBM) 疑い患者から筋生検時に細胞を回収し、2年間で計4ラインをストックした。長年の筋収縮の持続を再現する電気収縮培養系を用いてヒト骨格筋に細胞ストレスを負荷し、収縮ストレス前後での細胞を用いた RNA シークエンスで解析を行った。論文化した主な成果は下記の通りである。

電気収縮培養における封入体筋炎筋芽細胞の TDP-43 の挙動変化について国際誌に報告した。

sIBM 患者の骨格筋ではアミロイド beta や TDP-43・FUS などの異常凝集体が見られ筋における変性疾患と考えられる。マウスフィーダー細胞に取り囲まれた状態のヒト筋管細胞に対して、適切な電気パルス刺激 (EPS) を付与すると、その収縮能が飛躍的に発達していき、ヒト筋管細胞自身が生来持っている運動能特性や運動応答性を正確に捉えることができるようになる。この独自に開発したヒト骨格筋電気収縮培養系を活用し、凝集蛋白の一つである TDP-43 の細胞質沈着を見出した。sIBM 患者の骨格筋線維でも類似の TDP-43 局在変化が観察されることから、sIBM の体内でも運動依存的に TDP-43 局在変化が引き起こされている可能性が示された。以上の結果を SciRep 誌に報告した。

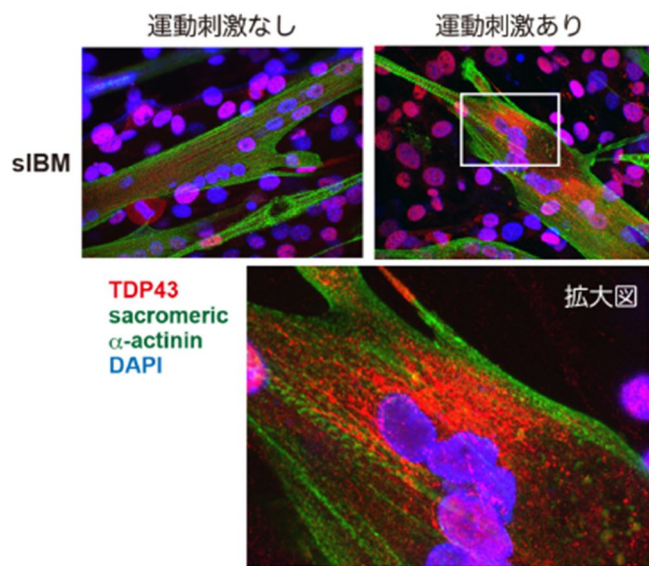


図 封入体筋炎 (sIBM) 筋管細胞に特異的な運動依存的な TDP-43 の異常凝集 (赤色部分)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Inoue-Shibui Aya, Niihori Tetsuya, Kobayashi Michio, Suzuki Naoki, Izumi Rumiko, Warita Hitoshi, Hara Kenju, Shirota Matsuyuki, Funayama Ryo, Nakayama Keiko, Nishino Ichizo, Aoki Masashi, Aoki Yoko	4. 巻 -
2. 論文標題 A novel deletion in the C-terminal region of HSPB8 in a family with rimmed vacuolar myopathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-021-00916-y	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Amato Anthony A., Hanna Michael G., Machado Pedro M., 、 、 、 Suzuki Naoki, Aoki Masashi, 、 、 on behalf of the RESILIENT Study Extension Group	4. 巻 96
2. 論文標題 Efficacy and Safety of Bimagrumab in Sporadic Inclusion Body Myositis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurology	6. 最初と最後の頁 e1595 ~ e1607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/WNL.0000000000011626	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Oikawa Yoshitsugu, Izumi Rumiko, Koide Masashi, 、 、 Aoki Masashi, Kure Shigeo, Abe Takaaki	4. 巻 15
2. 論文標題 Mitochondrial dysfunction underlying sporadic inclusion body myositis is ameliorated by the mitochondrial homing drug MA-5	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0231064
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0231064	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 Kitajima Yasuo, Suzuki Naoki, Yoshioka Kiyoshi, Izumi Rumiko, Tateyama Maki, Tashiro Yoshitaka, Takahashi Ryosuke, Aoki Masashi, Ono Yusuke	4. 巻 8
2. 論文標題 Inducible Rpt3, a Proteasome Component, Knockout in Adult Skeletal Muscle Results in Muscle Atrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2020.00859	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 Izumi Rumiko, Takahashi Toshiaki, Suzuki Naoki, Niihori Tetsuya, Ono Hiroya, Nakamura Naoko, Katada Shinichi, Kato Masaaki, Warita Hitoshi, Tateyama Maki, Aoki Yoko, Aoki Masashi	4. 巻 41
2. 論文標題 The genetic profile of dysferlinopathy in a cohort of 209 cases: Genotype-phenotype relationship and a hotspot on the inner DysF domain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Mutation	6. 最初と最後の頁 1540 ~ 1554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/humu.24036	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Ono Hiroya, Suzuki Naoki, Kanno Shin-ichiro, Kawahara Genri, Izumi Rumiko, Takahashi Toshiaki, Kitajima Yasuo, Osana Shion, Nakamura Naoko, Akiyama Tetsuya, Ikeda Kensuke, Shijo Tomomi, Mitsuzawa Shio, Nagatomi Ryoichi, Araki Nobukazu, Yasui Akira, Warita Hitoshi, Hayashi Yukiko K., Miyake Katsuya, Aoki Masashi	4. 巻 28
2. 論文標題 AMPK Complex Activation Promotes Sarcolemmal Repair in Dysferlinopathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Therapy	6. 最初と最後の頁 1133 ~ 1153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymthe.2020.02.006	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	割田 仁 (Warita Hitoshi) (30400245)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	
研究分担者	鈴木 直輝 (Suzuki Naoki) (70451599)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------