

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15705

研究課題名（和文）In silico解析を活用した球脊髄性筋萎縮症の骨格筋病態の解明

研究課題名（英文）Exploring skeletal muscle pathology in spinal and bulbar muscular atrophy using in silico analysis.

研究代表者

飯田 円 (Iida, Madoka)

名古屋大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40815437

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）：球脊髄性筋萎縮症（SBMA）は進行性の遺伝性神経筋疾患である。本研究課題では、in silico解析を活用してSBMAの骨格筋病態の解明を目標とした。GEOで公開されている遺伝子発現解析情報と Library of Integrated Network-based Cellular Signatures (LINCS) データベースを用いて、SBMAの病態と負の相関を呈する遺伝子変化をもたらす薬剤およびその作用機序をそれぞれ抽出した。その中からSBMA病態を改善すると期待される薬剤を8つ選定しSBMA筋細胞モデルに投与し、SBMAモデル細胞のviabilityを改善させる薬剤を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

球脊髄性筋萎縮症（SBMA）は成人男性のみに発症する進行性の遺伝性神経筋疾患である。約3割の患者は発症後、20年で移動に車椅子が必要となり、呼吸筋の筋力低下により呼吸器感染症で死亡することが多い。現在リューブリン酢酸塩がSBMAの唯一の治療薬として日本で承認を受けているが、性ホルモン抑制や骨格筋の同化作用による副作用をみとめ、新規治療薬の開発が望まれている。本研究によりSBMAの病態理解が進み、新たな治療薬開発につながると考えられる。また治療薬開発のプロセスは他の疾患にも応用でき、SBMAのみならず多くの疾患の治療薬開発に結びつくことが期待される。

研究成果の概要（英文）：Spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA) is a progressive hereditary neuromuscular disease. We aimed to elucidate the skeletal muscle pathophysiology of SBMA using gene expression analysis information available in the Gene Expression Omnibus (GEO) and the Library of Integrated Network-based Cellular Signatures (LINCS) databases. We identified drugs and their mechanisms of action that induce genetic alterations negatively correlated with the pathophysiology of SBMA. Among them, we selected eight drugs that are expected to ameliorate SBMA pathology. We administered them to a muscle cell model of SBMA and identified drugs that improved SBMA model cell viability and suppressed cell toxicity.

Some of the compounds are existing drugs and have potential for drug repositioning. The mechanism of action of one of the drugs targets the known pathophysiology of SBMA and we plan to confirm its effect in SBMA mouse models in the future.

研究分野：神経科学

キーワード：球脊髄性筋萎縮症 骨格筋病態 In silico解析 治療薬開発

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

運動ニューロン疾患は運動ニューロンの変性により進行性の筋力低下をきたす難病である。成人発症の運動ニューロン疾患の大多数は筋萎縮性側索硬化症(ALS)とSBMAであり、いずれの疾患も呼吸不全などにより致命的な経過をたどる。SBMAはアンドロゲン受容体(AR)遺伝子のCAG繰り返し塩基配列(CAGリピート)の異常伸長により運動ニューロン変性を呈する。変異ARが運動ニューロンや骨格筋細胞の核内に蓄積し、転写障害を惹起することが病態の中心と考えられているが、分子メカニズムは未だ不明である。治療薬としてリユプロレリン酢酸塩が唯一薬事承認されているが、臨床における効果は限定的である(Hashizume et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2017)。SBMAは従来下位運動ニューロン疾患として知られてきたが、ニューロンと非神経細胞(グリアや骨格筋など)の相互作用が病態の形成に重要であることが明らかになっている。中でも運動ニューロンと骨格筋のクロストークの異常が注目されており、骨格筋はSBMAの治療標的としても重要である。SBMA患者では初期から血清クレアチンキナーゼ(CK)値が上昇し、筋病理では神経原生変化とともに筋原生変化をみとめる。SBMAのノックインマウスモデルでは運動ニューロン障害に先行して骨格筋変性がみられる(Yu et al. J Clin Invest, 2006)。またマウスにおいて筋のみに変異ARを発現させると運動ニューロン障害を惹起することが明らかになっている(Monks et al, PNAS, 2007)。さらに末梢組織のみで変異ARを抑制するとSBMAモデルマウスの病態が改善することも報告されている(Lieberman et al. Cell Rep, 2014)。このようにSBMAでは神経変性だけでなく筋変性も一次的な病態を呈している可能性が高く、筋変性を介した神経変性メカニズムの解明は、SBMAの分子機序を明らかにする上で重要である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的はSBMAにおける骨格筋の分子病態をin silico解析を用いて解明すること、およびSBMAの骨格筋病態に対する治療薬を開発することである。

### 3. 研究の方法(図1)

In silico解析を用いた既存の遺伝子発現データの解析

申請者の研究室で行ったSBMA骨格筋細胞モデル(AR-97Q)の遺伝子発現解析の結果およびGEO(Gene Expression Omnibus)に公開されているSBMAマウスモデルの骨格筋遺伝子解析データを再利用する。さらに米国BROAD Instituteにより公開されているLibrary of Integrated Network-based Cellular Signatures(LINCS)データベースを用いて、SBMAマウスモデルおよび細胞モデルの遺伝子発現プロファイルと薬物応答の遺伝子発現プロファイルを比較し、負に相関する薬物、つまり疾患病態特異的な遺伝子発現パターンを打ち消すような薬物をSBMA治療薬の候補として抽出する。

SBMA骨格筋細胞モデルを用いた候補薬の効果解析と作用機序の解明

方法で抽出した化合物をSBMA骨格筋細胞モデルに作用させて、病態への影響を解析する。具体的にはWST8 assayによりviabilityを測定し、LDH assayにより細胞毒性を評価する。

SBMAマウスモデル(AR-97Q)を用いた候補薬の効果解析と作用機序解明

方法で抽出した候補薬をSBMAマウスモデルに経口投与もしくは腹腔内投与し、運動解析により病態への影響を評価する。

### 4. 研究成果

GEOで公開されている遺伝子発現解析情報を利用して、iPS細胞由来運動ニューロン、SBMAマウスモデル(AR-113Q)骨格筋およびSBMA筋細胞モデルにおいてコントロールと比較してFDR<0.1で2倍以上上昇もしくは0.5倍以下に低下している遺伝子をそれぞれ抽出した。その中で上位150位、下位150位の遺伝子を

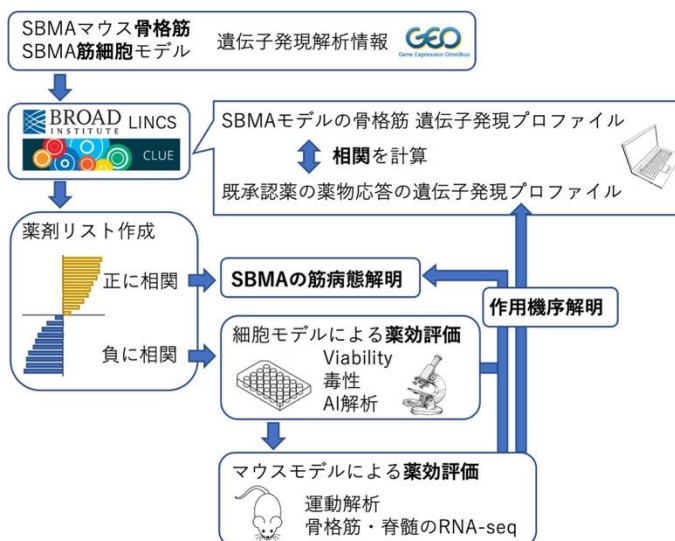


図1. 研究の流れ

LINCS データベースに入力して、SBMA の病態と負の相関を呈する遺伝子変化をもたらす薬剤およびその作用機序を抽出した。そして上記3つのSBMAモデルのデータにおいて共通して抽出された薬剤の作用機序を6つ同定した。

同定された薬剤作用機序と、データベース内で使用されていた薬剤を参照して、SBMA病態を改善すると期待される薬剤を8つ選定しSBMA筋細胞モデルに投与した。細胞のviabilityを測定したところ、うち3剤で濃度依存性にSBMA細胞のviabilityを改善させることが確認された(図2)。

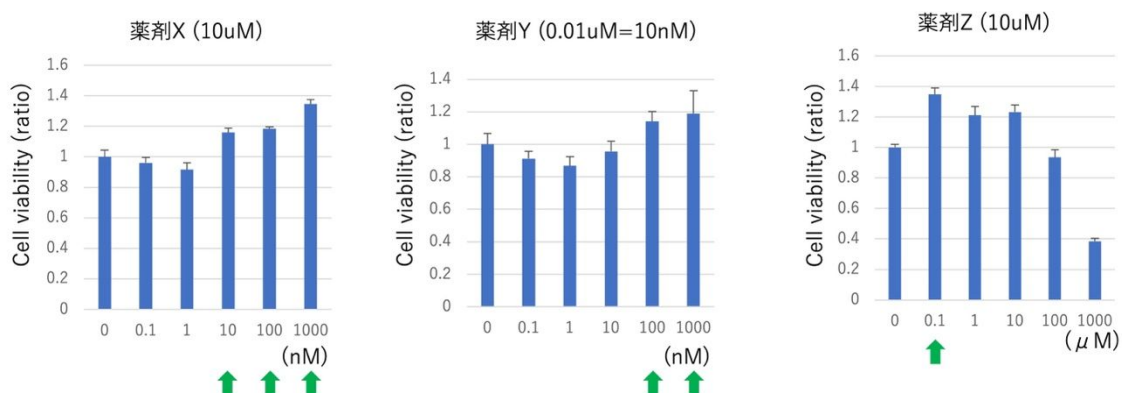


図2. SBMA細胞モデルに対する薬剤X, Y, Zの効果

さらに細胞毒性を測定したところ、うち2剤で細胞毒性の抑制効果をもとめた。これら2剤は既存薬でありドラッグリポジショニングの可能性が期待された。うち1剤の作用機序は、SBMAの既知の病態を標的としており今後SBMAマウスモデルに対する効果を確認していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Noda Seiya, Murakami Ayuka, Kazuta Tomoyuki, Hirano Satoko, Kimura Seigo, Nakanishi Hiroataka, Matsuo Koji, Tsujikawa Koyo, Yamada Shinichiro, Iida Madoka, Koike Haruki, Kuru Satoshi, Katsuno Masahisa	4. 巻 439
2. 論文標題 Clinical implication of denervation in sporadic inclusion body myositis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 120317 ~ 120317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2022.120317	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 Imai Yuta, Iida Madoka, Kanie Kei, Katsuno Masahisa, Kato Ryuji	4. 巻 12
2. 論文標題 Label-free morphological sub-population cytometry for sensitive phenotypic screening of heterogenous neural disease model cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-12250-0	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 Ogura Yosuke, Sahashi Kentaro, Hirunagi Tomoki, Iida Madoka, Miyata Takaki, Katsuno Masahisa	4. 巻 13
2. 論文標題 Mid1 is associated with androgen-dependent axonal vulnerability of motor neurons in spinal and bulbar muscular atrophy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Death and Disease	6. 最初と最後の頁 601
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-022-05001-6	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 Murakami Ayuka, Noda Seiya, Kazuta Tomoyuki, Hirano Satoko, Kimura Seigo, Nakanishi Hiroataka, Matsuo Koji, Tsujikawa Koyo, Iida Madoka, Koike Haruki, Sakamoto Kazuma, Hara Yuichiro, Kuru Satoshi, Kadomatsu Kenji, Shimamura Teppei, Ogi Tomoo, Katsuno Masahisa	4. 巻 9
2. 論文標題 Metabolome and transcriptome analysis on muscle of sporadic inclusion body myositis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Annals of Clinical and Translational Neurology	6. 最初と最後の頁 1602 ~ 1615
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/acn3.51657	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 Kataoka Mayumi, Sahashi Kentaro, Tsujikawa Koyo, Takeda Jun-ichi, Hirunagi Tomoki, Iida Madoka, Katsuno Masahisa	4. 巻 194
2. 論文標題 Dysregulation of Aldh1a2 underlies motor neuron degeneration in spinal muscular atrophy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 58 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2023.04.007	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 Hirunagi Tomoki, Nakatsuji Hideaki, Sahashi Kentaro, Yamamoto Mikiyasu, Iida Madoka, Tohnai Genki, Kondo Naohide, Yamada Shinichiro, Murakami Ayuka, Noda Seiya, Adachi Hiroaki, Sobue Gen, Katsuno Masahisa	4. 巻 15
2. 論文標題 Exercise attenuates polyglutamine mediated neuromuscular degeneration in a mouse model of spinal and bulbar muscular atrophy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle	6. 最初と最後の頁 159 ~ 172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcsm.13344	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 Fukami Yuki, Iijima Masahiro, Koike Haruki, Yagi Satoru, Furukawa Soma, Mouri Naohiro, Ouchida Jun, Murakami Ayuka, Iida Madoka, Yokoi Satoshi, Hashizume Atsushi, Iguchi Yohei, Imagama Shiro, Katsuno Masahisa	4. 巻 11
2. 論文標題 Autoantibodies Against Dihydrolipoamide S-Acetyltransferase in Immune-Mediated Neuropathies	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Neurology Neuroimmunology and Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 e200199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/NXI.000000000200199	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1件

1. 著者名 飯田 円	4. 発行年 2022年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 3
3. 書名 CLINICAL NEUROSCIENCE	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------