

令和 4 年 4 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15440

研究課題名(和文) 家族性封入体筋炎を通じた封入体筋炎の分子遺伝学的・分子細胞学的解析

研究課題名(英文) Molecular genetic analysis of familial inclusion body myositis

研究代表者

久保田 暁 (Kubota, Akatsuki)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30771589

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：通常は非遺伝性疾患である封入体筋炎を家族内に2例の発症者が居る家系について、遺伝性の因子があると仮定して遺伝子解析を行った。家系図からはX染色体潜性遺伝が疑われた。X染色体の連鎖解析を行ったところ、症例数が少ない解析だったため十分に候補領域を絞れなかった。更にハプロタイプ解析を行ったところ、Xp22の1.1 Mbの領域のみ、罹患者同士で共有し、非罹患者同士で共有されていなかった。エクソーム解析を行ったところ、同領域には稀な変異は見つからなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

封入体筋炎は病態不明の炎症性筋疾患で、現時点では治療法は存在しない。本研究では家族性封入体筋炎の遺伝子解析を通じて病態解明を試みた。家系の情報からX染色体潜性遺伝が考えられたがエクソン領域に稀な変異は認めなかったことから、今後はイントロン領域の解析が検討される。更なる遺伝的検討により封入体筋炎の病態解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：Inclusion body myositis (IBM) is a rare sporadic inflammatory myopathy and usually is not inherited. However, we found a family with two patients with IBM and hypothesized that a genetic factor might cause IBM in the family. DNA samples of the family members were extracted from peripheral white blood cells after written informed consents were obtained. Linkage analysis showed an elevated LOD score of approximately 1 in a wide range of X chromosome. Haplotype analysis showed that a region of 1.1Mb in Xp22 was shared only in patients. Whole-exome sequencing showed no rare variants in the shared region.

研究分野：筋疾患

キーワード：封入体筋炎

1. 研究開始当初の背景

封入体筋炎は主に60歳以上の高齢者に発症する、慢性進行性の筋疾患である。病理学的に炎症所見(非壊死筋線維へのCD8陽性リンパ球の浸潤)と変性所見(amyloidなどのタンパク質異常蓄積、縁取り空胞の出現)が併存する。かつて日本では欧米より頻度が低い疾患であったが、原因は明らかでないが近年頻度が増えており、2003年の時点では有病率9.83/100万人と欧米とほぼ同等である。加齢に関係する疾患であり、今後高齢化が進むにつれて更に頻度が増えてくることが予測される。封入体筋炎の病態機序は明らかでなく、炎症と変性の関係性も明らかでない。封入体筋炎で見られる炎症所見(非壊死筋線維へのCD8陽性リンパ球の浸潤)は多発筋炎と類似しており、近年我々は封入体筋炎と多発筋炎が臨床的・病理学的に重複している群があることを報告した(Ikenaga C, Kubota A, et al., Neurology 2017.)。封入体筋炎は他の炎症性筋疾患とは異なり、免疫抑制・免疫調節療法が無効であり、現時点では治療法は無い。また封入体筋炎のモデル動物は存在しないため、封入体筋炎の研究は患者の筋生検検体に依存せざるを得ない。

封入体筋炎は孤発性疾患であるが、ごく稀に家族内発症することが知られている。我々は家族性封入体筋炎の一家系を経験した。臨床的に発症が40代とやや早いこと以外は孤発性封入体筋炎と変わりがなく、病理学的には封入体筋炎として典型的だった。過去に発症者2名についてX連鎖遺伝を仮定した解析を行い、連鎖解析・ハプロタイプ解析でXq28領域への連鎖が示唆された(精神・神経疾患開発費研究班)。また、X染色体について全ゲノム解析により候補領域内で頻度の低いアミノ酸置換を伴う変異を検索し、病原性と考えられる変異は認められなかった。しかし、通常的全ゲノム配列解析では検出が困難な構造変異(大欠失・挿入変異)リピーター伸長変異などについては十分な検討が出来ておらず、常染色体上の変異についての解析も行う必要がある。本家系は封入体筋炎の原因を究明するに於いて非常に重要であると考えられる。

2. 研究の目的

家族性封入体筋炎の家系の遺伝子を解析することにより、孤発性封入体筋炎の病態解明へと発展させることを目的とした。

3. 研究の方法

3 - 1. RNA-seqを用いたHLAの同定

ENMC診断基準により病理学的に診断された9例の多発筋炎(PM)と43例のIBMの筋生検からtotal RNAを抽出し、rRNAを除去した後Hiseq 2500を用いてstranded RNA-seqを行った。HLA genotypingの同定にはseq2HLAを用いた。オッズ比は日本人のHLA頻度との比較から計算した。

3 - 2. SNP解析

患者2名、健康同胞2名の末梢血より遺伝子を抽出した。健康同胞2名のGenome-Wide Human SNP array 6.0 (Affymetrix)でSNP解析を行い、既に施行されていた患者2名に加えて連鎖解析、ハプロタイプ解析を行った。

3 - 3. Whole exome sequencing

また、HiSeq 2500を用いて2人の家族性封入体筋炎の家系の健康同胞のwhole exome sequencingを行い、過去に施行済みの2人の患者のデータと比較を行う。患者のみに存在し、健康同胞に存在しない変異を見出し、病原性について検討を行う。対照として、1200名以上のin-houseの対照者のエクソーム解析のデータを用いる。

4. 研究成果

4 - 1.

PMとIBMではいずれも特定のHLA領域(Cw*12 (PM, 7.9 and IBM, 4.2); DQA1*01 (PM, 3.3 and IBM, 3.2); DQB1*06 (PM, 4.1 and IBM, 3.0); DRB1*15 (PM, 3.6 and IBM, 1.8))において高いオッズ比($p < 0.05$)を呈していた。また、特定のHLA(Cw*12-DQA1*01-DQB1*06-DRB1*15)をPMの67%、IBMの54%が有していた。PMとIBMにおいて共通するHLAが存在する事から、同様の炎症性機序を有していることが推測された。

4 - 2.

X染色体潜性遺伝を仮定して連鎖解析を行い、X染色体におけるLOD scoreを計算したと

ころ、Xp22.13-Xq21.32, Xq23-Xq25 といったやや広範囲で LOD score = 1 程度の上昇が見られた。次に連鎖解析のデータを用いてハプロタイプ解析を行ったところ、Xp22 の 1.1 Mb の領域のみ、罹患者同士で共有し、非罹患者同士で共有されていなかった。

4 - 3 .

whole exome sequencing を行い、同領域に含まれる遺伝子のエクソン領域を検索したが rare variant は見つからなかった。更に whole genome sequencing を行っているが、解析はまだ終わっていない。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Kubota Akatsuki, Shimizu Jun, Unuma Atsushi, Maeda Meiko, Shiota Yuichiro, Kadoya Masato, Uchio Naohiro, Sakiyama Yoshio, Arai Noritoshi, Shiio Yasushi, Uesaka Yoshikazu, Hashida Hideji, Iwata Nobue K., Goto Jun, Nakashima Ran, Mimori Tsuneyo, Toda Tatsushi	4. 巻 32
2. 論文標題 Alanine transaminase is predominantly increased in the active phase of anti-HMGCR myopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuromuscular Disorders	6. 最初と最後の頁 25 ~ 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nmd.2021.10.007	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 Kubota Akatsuki, Ishiura Hiroyuki, Porto Kristine Joyce Linay, Tanaka Masaki, Mitsui Jun, Unuma Atsushi, Maki Hisataka, Komuro Issei, Tsuji Shoji, Shimizu Jun, Toda Tatsushi	4. 巻 32
2. 論文標題 DMD exon 2 duplication due to a complex genomic rearrangement is associated with a somatic mosaicism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuromuscular Disorders	6. 最初と最後の頁 263 ~ 269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nmd.2021.12.004	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Akatsuki Kubota, Hiroyuki Ishiura, Jun Mitsui, Jun Shimizu, Shoji Tsuji, Tatsushi Toda
2. 発表標題 Clinical description of familial inclusion body myositis and molecular genetic analysis.
3. 学会等名 3rd Global Conference on Myositis 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akatsuki Kubota, Hiroyuki Ishiura, Chiseko Ikenaga, Hidetoshi Date, Shoji Tsuji, Jun Gotoh, Jun Shimizu, Tatsushi Toda
2. 発表標題 Human Leukocyte type antigen (HLA) typing in patients with polymyositis and inclusion body myositis.
3. 学会等名 第59回神経学会総会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 久保田 暁
2. 発表標題 封入体筋炎の筋病理とその鑑別診断
3. 学会等名 第61回神経学会総会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akatsuki Kubota, Hiroyuki Ishiura, Kristine Joyce Linay Porto, Masaki Tanaka, Atsushi Unuma, Shoji Tsuji, Jun Shimizu, Tatsushi Toda
2. 発表標題 Application of droplet digital PCR for detection of somatic mosaicism in dystrophinopathy.
3. 学会等名 第62回神経学会総会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保田暁、清水潤、鶴沼敦、前田明子、代田悠一郎、角谷真人、中嶋蘭、三森経世、戸田達史
2. 発表標題 HMGRミオパチーではALTが優位に上昇する
3. 学会等名 第63回神経学会総会（国際学会）
4. 発表年 2022年

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

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