

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：82611

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16589

研究課題名（和文）ADSSL1ミオパチーの多症例解析と疾患モデルマウス解析による病態の解明

研究課題名（英文）Pathological elucidation using multi-patients and disease model mice analyses in ADSSL1 myopathy

研究代表者

齋藤 良彦（Saito, Yoshihiko）

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・メディカルゲノムセンター・科研費研究員

研究者番号：80811934

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ADSSL1ミオパチーの筋病理所見において疾患特異的な経過として、小児期発症で極端に足が遅く疲れやすく緩徐進行性の筋力低下が共通し、筋病理では全例でネマリン小体、脂肪滴を認め、日本で最も頻度の高いネマリンミオパチーであることを見出した。加えて、これまで報告のない嚥下障害や肥大型心筋症、拘束性呼吸障害を高頻度に認めることも見出した。さらに、ADSSL1ノックアウトマウスと、ミスセンスのノックインマウスを作製し、病態解明並びに治療法の開発を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ADSSL1ミオパチーは希少疾患の中でも日本人で現在70名以上診断させている日本で最も頻度の高いネマリンミオパチーであり、本疾患の原因遺伝子はATP de novo合成経路に関わるため代謝性疾患の側面を持ち、治療法開発へ発展させることのできる疾患である。動物モデルを用いて本遺伝子異常による病態や病理に踏み込んでおり、疾患特異的な治療法開発に至ることのできつつあり、他疾患の治療法開発のロールモデルとなり得る可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, I found that ADSSL1 myopathy is the most common form of nemaline myopathy in Japan, with a common disease-specific course of muscle pathology, extremely slow and tired legs and slowly progressive muscle weakness in childhood-onset cases, and nemaline bodies and fat droplets in all cases of muscle pathology. In addition, dysphagia, hypertrophic cardiomyopathy, and restricted breathing disorder, which have not been reported before, were found in a high frequency. Furthermore, I have generated ADSSL1 knockout mice and missense knock-in mice to elucidate the pathophysiology and to develop therapeutic strategies.

研究分野：筋病理学（遺伝性筋疾患）

キーワード：ADSSL1ミオパチー 筋病理 ネマリンミオパチー

1．研究開始当初の背景

ADSSL1 ミオパチーは、ADSSL1 遺伝子異常を原因とする常染色体劣性遺伝形式の遺伝性筋疾患である。ADSSL1 遺伝子は骨格筋特異的なアデニロコハク酸合成酵素をコードし、ATP de novo 合成経路の中でイノシン酸からアデニロコハク酸への転換を触媒している。同疾患は 2016 年以降これまでに、韓国より 9 症例 7 家系で 4 報の報告がなされた。彼らの初報では、幼少期に極端に足が遅く疲れ易い事が共通し、遠位筋優位の筋力低下を伴う遠位型ミオパチーとされた。しかし続報では、そのうち 2 症例で全般性の筋力低下をきたし、臨床的に多様性があることが示唆された。さらに、筋病理所見では縁取り空胞を伴う筋線維が本疾患に代表的な所見と報告されたが、その出現頻度は稀であった(図 1)。そのため臨床医や筋病理医が本疾患を疑う有力な所見が無いまま、韓国以外から新規症例報告がなく経過していた。

今回、ADSSL1 遺伝子で両アレル性に変異をもつ日本人 63 症例を同定した。

2．研究の目的

本研究の目的は、韓国の 9 症例で十分論じられていない病理学的特徴を本邦の多症例で検討し、ADSSL1 ミオパチーを特徴づける病理変化は何なのかを明らかにする。ADSSL1 ミオパチー動物モデルにより、疾患の進行を追跡する。

3．研究の方法

ADSSL1 遺伝子に変異を同定した 63 症例における病理所見の解析により、共通した特徴や患者毎に異なる特徴を抽出した。これまで報告されてきた縁取り空胞の所見はどれくらいの頻度で見られるのかを本邦の 63 症例で検討した。また、これまで論じられてこなかった病理所見を見出し、本疾患の病態を解明することを目指した。また、ADSSL1 ミオパチーモデルマウスとして、CRISPR/Cas9 システムを用いて ADSSL1 遺伝子のノックアウトマウス、変異ノックインマウスを作製し、その表現型の解析をすすめた。

4．研究成果

本研究では、ADSSL1 ミオパチーは 2016 年以降、韓国人 9 患者で遠位型ミオパチーとして報告され、筋病理では縁取り空胞を伴う筋線維が特徴と報告された。59 家系 63 名の日本人 ADSSL1 ミオパチー患者では、韓国例と同様に大半の患者が c.781G>A と c.919delA の 2 つの変異を複合ヘテロ接合性に有しており、韓国と共通する創始者が存在する事が示唆される。また、下肢遠位筋のみならず近位筋や、舌、咬筋、横隔膜、傍脊柱筋、心筋など、これまでによりも多様な筋症状が示されている。骨格筋画像では、外側広筋、腓腹筋、ヒラメ筋の脂肪置換が共通してみられる。筋病理では、脂質滴の増加に加えて、全例に共通してネマリン小体が観察され、国立精神・神経医療研究センターで遺伝学的に診断が確定した例の中で最も頻度の高いネマリンミオパチーとされている。本疾患の臨床スペクトルは、これまでの遠位型ミオパチーとする報告よりもはるかに多様であり、遠位型ミオパチーに限定することなく、特に幼少期に仲間内で走るのが最も遅く、疲れやすい病歴を持つ患者において、本疾患を疑う必要がある。

病理学的に最も特徴的な所見は、軽度の脂質滴の増加と筋線維間網の乱れに加え、全症例にネマリン小体が認められたことである。組織化学的検査では全患者において、筋線維の $4.3 \pm 4.4\%$ にネマリン小体が、 $32.8 \pm 16.8\%$ に脂肪滴が認められた。電子顕微鏡でも、ネマリン小体の存在が確認された。1 型筋線維優位の萎縮を伴い、筋線維の中程度から高度の大小不同、内在核を有する筋線維が散在、多様に乱れた筋線維間網、著しい筋

内鞘線維化、筋周囲脂肪組織浸潤も観察され、これらはこれまで報告されているネマリンミオパチーと共通する点であった。1)-3) 一方、ADSSL1 ミオパチーのネマリン小体を有する線維の頻度は、NCNP レジストリの既知の原因遺伝子に変異を有するネマリンミオパチーの線維よりも有意に低く (n = 76, 45.7 ± 35.8%)、その根本的なメカニズムは異なることが示唆された。

さらに、ADSSL1 ミオパチーにおける脂質滴を有する筋線維の頻度も、原因遺伝子に変異を有する脂質貯蔵ミオパチーの筋線維の頻度よりも有意に低かった (n = 11, 74.7 ± 27.8%)。しかし、全患者で筋線維に脂質滴が増加しており、本疾患が代謝性ミオパチーの特徴も有することを示しているが、ADSSL1 ミオパチーの脂質蓄積の程度は他の脂質貯蔵ミオパチーと比較して顕著ではなかった。4),5)

ADSSL1 ミオパチーは、国立精神・神経医療研究センターで病理診断と遺伝子診断が行われたネマリンミオパチー患者の中で最も頻度が高かった。

韓国からの報告で指摘されていた縁取り空胞を伴う筋線維は、患者の 24.2% (15/62) にとどまり、筋線維の 2.3 ± 1.1% 程度で観察され、本疾患の主要な病態ではないと考えられた。

このように、骨格筋における ATP 産生の低下は、単純な代謝障害だけでなく、骨格筋の機能をより複雑化する結果となった。6) ATP 生合成の障害が ADSSL1 特有の病的変化につながるという病的メカニズムの解明を目指し、ADSSL1 ノックアウトマウスと、ミスセンスのノックインマウスを作製し、病態解明並びに治療法の開発を進めている。

<参考文献>

- 1) Ryan MM, Ilkovski B, Strickland CD, et al. Clinical course correlates poorly with muscle pathology in nemaline myopathy. *Neurology* 2003;60: 665-673.
- 2) Sanoudou D, Beggs AH. Clinical and genetic heterogeneity in nemaline myopathy: a disease of skeletal muscle thin filaments. *Trends Mol Med* 2001;7: 362-368.
- 3) Romero NB, Sandaradura SA, Clarke NF. Recent advances in nemaline myopathy. *Curr Opin Neurol* 2013;26: 519-526.
- 4) Liang WC, Nishino I. State of the art in muscle lipid diseases. *Acta Myol* 2010;29: 351-356.
- 5) Laforet P, Vianey-Saban C. Disorders of muscle lipid metabolism: diagnostic and therapeutic challenges. *Neuromuscul Disord* 2010;20: 693-700.
- 6) Operti MG, Vincent MF, Burcher JM, van den Berghe G. Enzyme of the purine nucleotide cycle in muscle of patients with exercise intolerance. *Muscle Nerve* 1998;21: 401-403.

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 2件）

1. 著者名 Saito Yoshihiko, Nishikawa Atsuko, Iida Aritoshi, Mori-Yoshimura Madoka, Oya Yasushi, Ishiyama Akihiko, Komaki Hirofumi, Nakamura Seigo, Fujikawa Susumu, Kanda Takashi, Yamadera Misaki, Sakiyama Hiroshi, Hayashi Shinichiro, Nonaka Ikuya, Noguchi Satoru, Nishino Ichizo	4. 巻 95
2. 論文標題 ADSSL1 myopathy is the most common nemaline myopathy in Japan with variable clinical features	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurology	6. 最初と最後の頁 e1500 ~ e1511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/WNL.000000000010237	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 Motoda Atsuko, Takahashi Tetsuya, Watanabe Chigusa, Tachiyama Yoshiro, Ochi Kazuhide, Saito Yoshihiko, Iida Aritoshi, Nishino Ichizo, Maruyama Hirofumi	4. 巻 31
2. 論文標題 An autopsied case of ADSSL1 myopathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuromuscular Disorders	6. 最初と最後の頁 1220 ~ 1225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nmd.2021.07.011	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 齋藤良彦, 石山昭彦, 小牧宏文, 林晋一郎, 野口悟, 西野一三
2. 発表標題 ADSSL1ミオパシーは、緩徐進行性下肢筋障害と若年時より拘束性換気障害、咀嚼嚥下障害、肥大型心筋症をきたす
3. 学会等名 第62回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshihiko Saito, Ichizo Nishino
2. 発表標題 Clinicopathologic conference: A 31-year-old woman with easy fatigability and difficulty climbing up stairs
3. 学会等名 19th Asian-Oceanian Myology Center Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 齋藤良彦、西野一三	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 132
3. 書名 医学のあゆみ283巻10号 遺伝性神経・筋疾患 診療と研究の最前線 ADSSL1ミオパチー 遠位型ミオパチーなのか？	

〔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
---------	---------