

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月30日現在

機関番号：82611

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659167

研究課題名（和文） 筋萎縮に関与する自己抗体探索を通じて封入体筋炎（IBM）の病態を
解明する

研究課題名（英文） Elucidate the pathomechanism of inclusion body myositis (IBM)

研究代表者

糸山 泰人 (ITOYAMA YASUTO)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター病院・院長

研究者番号：30136428

研究成果の概要（和文）：封入体筋炎（IBM）は原因不明で治療法が無く高齢化と共に増加している重要な疾患である。患者血清を用いてプロテインアレイによる自己抗体探索を行い、候補分子を絞り込んだ。また病態において重要な役割を果たすと考えられるプロテアソームの骨格筋特異的な欠損マウスを作成し、封入体形成が再現できることを確認した。これらのアプローチにより IBM の病態解明を行い、治療法の開発につなげていきたい。

研究成果の概要（英文）：Sporadic inclusion body myositis (sIBM) is an intractable and progressive skeletal muscle disease of unknown cause and without effective treatment. Our purpose is to elucidate the pathomechanism of sIBM exploring the autoantibody in the serum of sIBM patients using protein array. We also produced muscle specific proteasome deficient mice as the disease model of sIBM.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	0	1,500,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	2,900,000	420,000	3,320,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：神経分子病態学・筋萎縮・封入体筋炎・自己抗体・プロテアソーム

1. 研究開始当初の背景

封入体筋炎(IBM)は骨格筋に縁取り空胞と呼ばれる特徴的な組織変化を生じ炎症細胞浸

潤を伴う疾患である。最初の症例は大腿四頭筋の萎縮と脱力、病理学的に炎症細胞浸潤と電顕での tubular filaments が存在するとして 1967 年に報告された。筋萎縮性側索硬化症(ALS)と鑑別困難な場合もあり進行性の筋萎縮を伴う難病である。ステロイドや免疫グロブリン大量療法といった免疫学的治療に不応・増悪し有効な治療法は無い。

筋生検では筋内鞘への単核球浸潤を伴っており、かつ縁取り空胞を伴う筋線維、非壊死線維への単核球の侵入や単核球による包囲が見られることが特徴である。参考所見として筋線維の壊死・再生、免疫染色では非壊死線維への単核細胞浸潤は主に CD8 陽性 T 細胞、形態学的に正常な筋線維における major histocompatibility complex (MHC) class I 発現、筋線維内のユビキチン陽性封入体とアミロイド沈着、COX 染色陰性の筋線維が年齢に比して高頻度であることが挙げられる。また電子顕微鏡にて核や細胞質における 16-20 nm のフィラメント状封入体の存在も知られている。多くの筋核が腫大し好酸性の封入体が認められる。免疫染色では核蛋白であるエメリン、ラミン A/C、VCP、ヒストン、43 kDa TAR DNA binding protein (TDP43)、p62 が封入体内部に認められる。封入体は崩壊した筋核であるということを示唆している。さらにアルツハイマー関連蛋白とされるアミロイドβ蛋白が封入体内に認められるが、その病的意義はまだ定まっていない。空胞形成した筋線維では細胞質の 6-10nm のアミロイド様線維が蓄積している。

難治性疾患克服研究事業の IBM 研究班の調査では現在日本には 1000-1500 人前後の sIBM 患者がいると考えられる。sIBM は慢性進行性の主に 50 歳以上で発症する筋疾患であり、初発症状から 5 年以上診断がつかない例も多い。多発筋炎や皮膚筋炎が女性に多いのと対照的に、sIBM は男性に多い。非対称性の筋脱力と筋萎縮が大腿四頭筋や手指・手首屈筋に見られる。肩の外転筋よりも手指・手首屈筋が弱く、膝伸展や足首背屈が股関節屈曲よりも弱いことが多い。厚生労働省難治性疾患克服研究事業 sIBM 研究班の調査では、研究協力施設の 146 例の検討により男女比は 1.4:1 で男性にやや多く、初発年齢は 64.4 ± 8.6 歳、初発症状は 74% が大腿四頭筋の脱力による階段登りなどの障害であった。嚥下障害は 23% に見られ生命予後を左右する要因の一つである。

IBM は元来孤発性であるが、親子や兄妹で発症したという報告も散見され HLA など遺伝的背景が推定されている。近年骨 Paget 病と前頭側頭型認知症を伴う封入体性ミオパチーの症例に valosin containing protein (VCP) の遺伝子異常が見出され、病理学的には炎症が乏しい場合が多いという差異があるものの sIBM の病態解明の点で注目されている。縁取り空胞には Aβ蛋白やユビキチンの存在が指摘され、アルツハイマー病との相同性が注目されており、「筋変性疾患」と分類し直すべき病態と考えられる。IBM の病態の根本に迫るには免疫・変性の両面からのアプローチが必要である。

2. 研究の目的

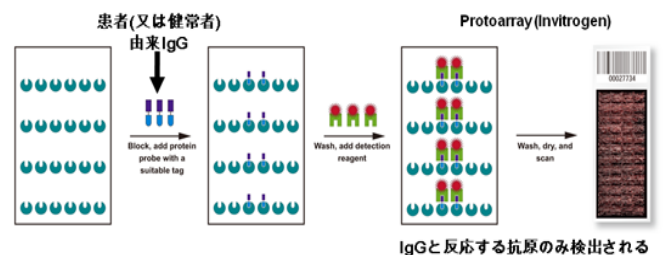
sIBM の病態機序は不明である。sIBM 病態でプライマリーな現象が炎症であるか変性であるのかも明らかになってはいない。筋病理学的に観察される縁取り空胞が変性或蛋白分解経路の異常を想起させる。

sIBM の診断の際には時間経過が重要な要素であり、病期の進行や筋生検部位により所見が異なることはしばしば経験するが、中高齢の慢性進行性の筋疾患では常に念頭に置くべきである。病態解明の進展に伴い疾患マーカーが確立されることが望ましい。

自己免疫的機序の解明のためにプロテインアレイによって IBM 患者血清における IgG の標的基質の同定を行う。また変性疾患という側面からは IBM の病態をユビキチンプロテアソーム系を中心とした筋萎縮の視点から明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 対象症例から血清を採取、IgG を精製し、9000 種以上の蛋白が固相化されているプロテインアレイに反応させ“reverse capture” autoantibody microarray (Nat. Protocol 2006)によって自己抗体を見つけることで自己抗体の抗原となりうる蛋白を同定する。



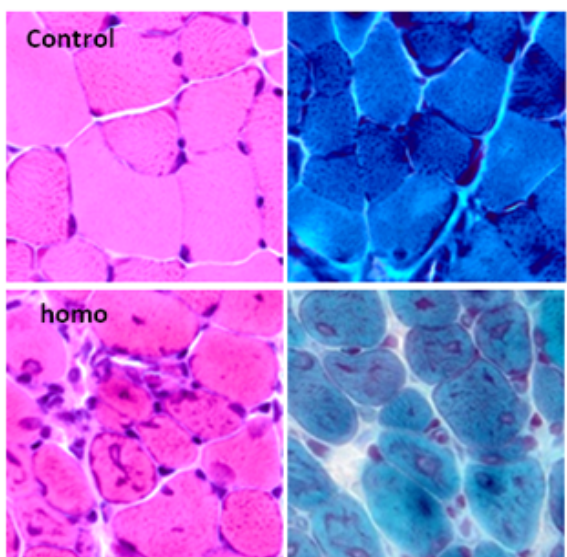
少数例での解析では IBM 血清においてユビキチンプロテアソーム系に関連する蛋白を標的とする IgG が見出されている。n 数を増すことで従来のアプローチでは同定困難であった自己抗体の存在を明らかにする。

(2) 変性による病態を検討するために筋の蛋白分解を司るプロテアソームに注目した。単純にプロテアソーム系の遺伝子を欠失させると胎生致死になってしまう。京都大学神経内科との共同研究により 26S プロテアソームの 19S lid 部分のサブユニット psmc4/Rpt3 のコンディショナルノックアウトマウスを準備し、骨格筋特異的 Cre 発現マウスと掛け合わせを行う。骨格筋の組織学的な評価を一般形態染色・免疫組織化学染色で行い、封入体形成の有無について調べモデルとしての有用性について生理学的検査等で評価する。

4. 研究成果

(1) IBM 患者および疾患コントロール各 5 例から血清を採取、IgG を精製し、9000 種以上の蛋白が固相化されているプロテインアレイに反応させ自己抗体候補を見出した。IBM 患者血清からはユビキチンプロテアソーム系に関係する分子や機能未知な分子に対する IgG を特定した。これらは ELISA や多数例での検討で確認する必要がある。

(2) 候補抗原の一つである psmc4/Rpt3 に関しては Cre-loxp system を用いて骨格筋特異



的に欠損させたマウスを作成した。著しい全

身の筋萎縮や側彎が見られ、若年で死亡することがわかった。骨格筋凍結切片標本の検討により筋線維内の封入体形成を確認した。さらにプロテアソーム活性が若年齢のマウスで低下していることを確認し、電子顕微鏡によってミエリン様の異常構造物の確認も行った。

ウエスタンブロットやマイクロアレイでの解析によりオートファジー経路の活性化が見られることを明らかにした。本マウスは IBM の病態の一部を反映していると考えられる。

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)

1. Suzuki N, Aoki M, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I. Increase in number of sporadic inclusion body myositis (sIBM) in Japan. J Neurol 259, 2012;554-6. 査読有.

2. Suzuki N, Aoki M. [Inclusion body myositis]. Brain Nerve. 2011; 63 :1205-15. 査読無.

3. Aoki M, Suzuki N. [Sporadic inclusion body myositis in Japan]. Nihon Rinsho. 2012 ;70 :895-906. 査読無.

[学会発表] (計 2 件)

1. 鈴木直輝、青木正志…糸山泰人. 日本における封入体筋炎の臨床・病理学的特徴の検討 第 51 回 日本神経学会 総会 2010 年 5 月 20 日 東京国際フォーラム、東京

2. Suzuki N, Aoki M, ...Itoyama Y. Prevalence of inclusion body myositis (IBM) in Japanese population. 15th world muscle society annual meeting Oct 13, 2010 Sojo University Municipal Auditorium (Kumamoto Citizens' Hall), Kumamoto, Japan

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

糸山 泰人 (ITOYAMA YASUTO)
独立行政法人国立精神・神経医療研究センター病院・ 院長
研究者番号：30136428

(2) 研究分担者

青木 正志 (AOKI MASASHI)
東北大学・医学系研究科・教授
研究者番号：70302148

鈴木 直輝 (SUZUKI NAOKI)
東北大学・病院・助教
研究者番号：70451599