

京都大学	博士 (医学)	氏 名	MALICDAN MAY CHRISTINE VERGARA
論文題目	Prophylactic treatment with sialic acid metabolites precludes the development of the myopathic phenotype in the DMRV-hIBM mouse model (シアル酸代謝物を用いた予防的治療は、DMRV-hIBM マウスでのミオパチー発症を抑える)		
(論文内容の要旨)			
<p>背景 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (DMRV) または、遺伝性封入体ミオパチー (hIBM) は、若年～成年で発症する常染色体劣性の遺伝性筋疾患である。シアル酸生合成に必須である2つのステップの活性をもつ酵素タンパク質をコードする、UDP-Nアセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ/ Nアセチルマンノサミンキナーゼ (<i>GNE</i>) 遺伝子の変異により発症する。臨床的には、病初期では遠位筋が侵され、著明な筋力低下と筋萎縮を示す。筋病理像は、縁取り空胞、tubulofilamentous inclusions と呼ばれる細いフィラメント状の封入体の存在と筋線維内の様々なタンパク質の蓄積を特徴とする。蓄積タンパク質、βアミロイド、ポリユビキチン、リン酸化タウおよびリソソームタンパク質に免疫染色陽性を示す。DMRV-hIBM は原因遺伝子が同定されているにもかかわらず、筋力低下と筋変性にいたる発症メカニズムに関しては、依然として解明されていない。したがって、この衰弱性の筋疾患への治療研究は全く行われていない。</p> <p>目的 そこで、本研究の主目的は、DMRV-hIBM の発症機構を解明することと治療法の開発を行うことである。本研究では、特に、発症メカニズムの解明と治療法の開発に役立つモデルマウスの作成を行う。さらに、このマウスを用いて症状の改善または発症の遅延を可能とする治療法の開発を行う。</p> <p>方法 DMRV-hIBM モデルマウスは、遺伝学的手法により作成した。<i>Gne</i> 遺伝子ノックアウトヘテロ接合体マウス (<i>Gne</i><sup>+/-</sup>) と、日本人患者に多い p. D176V 変異を持つトランスジェニックマウス (<i>GNE</i>D176V-Tg) との掛け合わせにより、変異 <i>GNE</i> 遺伝子のみを発現する <i>Gne</i><sup>-</sup>/hum<i>GNE</i>D176V-Tg マウスを得た。このマウスの表現型を以下の様々な方法で調べた。生存率、血清及び他の器官でのシアル酸測定、運動能力試験、血清クレアチンキナーゼ活性、筋重量測定、単離骨格筋収縮力、筋病理解析である。網羅的筋病理解析として一般組織染色と免疫組織化学染色及び電子顕微鏡観察を行った。</p> <p>次の研究では、<i>Gne</i><sup>-</sup>/hum<i>GNE</i>D176V-Tg マウスは血清と様々な器官でシアル酸の減少を示していたため、血清と骨格筋でのシアル酸量を増加させる方法論の開発を行った。経口的にシアル酸及びその代謝物を <i>Gne</i><sup>-</sup>/hum<i>GNE</i>D176V-Tg およびコントロールマウスに、生後 10～20 週齢から 54～57 週齢まで与え、上記の解析方法により評価した。</p> <p>結果と考察 <i>Gne</i><sup>-</sup>/hum<i>GNE</i>D176V-Tg マウスは、血清、骨格筋および他の器官に著明なシアル酸の減少を示した。20 週齢より週齢依存的な筋萎縮と筋力低下を示した。一方、骨格筋の変性は 30 週齢から進行性に観察された。より顕著な発見は筋線維内βアミロイドの蓄積は 32 週以降に観察されることであり、これに関連して、血清でのβアミロイドの上昇も観察された。本疾患に特徴的な縁取り空胞の形成は</p>			

42 週齢から観察された。  
シアル酸代謝物投与による前臨床試験では、*Gne*<sup>-</sup>/hum*GNE*D176V-Tg マウスの血清、骨格筋および他の器官でのシアル酸量の著明な増加を示した。投与により、*Gne*<sup>-</sup>/hum*GNE*D176V-Tg マウスの生存率は著しく改善され、筋萎縮、筋力低下および筋変性は完全に予防することが出来た。これらの結果から、シアル酸の低下こそが DMRV/hIBM の病態に関する重要な因子の一つであることが考えられた。さらに、*Gne*<sup>-</sup>/hum*GNE*D176V-Tg マウスの骨格筋症状がシアル酸投与により改善された一連の研究結果は、DMRV-hIBM が治療可能な筋疾患であることを強く示唆した。

(論文審査の結果の要旨)

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (DMRV-hIBM) は、若年～成年で発症する常染色体劣性の遺伝性筋疾患である。臨床的には遠位筋の著明な筋力低下と筋萎縮を、筋病理的には筋線維内に縁取り空胞形成と様々なタンパク質の蓄積を特徴とする。シアル酸生合成に必須な酵素をコードする *GNE* 遺伝子の変異により発症するが、本疾患の発症機構は依然として解明されていない。本研究の目的は、モデルマウスを用い、DMRV-hIBM の発症機構の解明と治療法の開発を行うことである。*Gne* 遺伝子 KO マウスと日本人患者に多い D176V 変異ヒト *GNE*-Tg マウスを掛け合わせることで、変異 *GNE* のみを発現する *Gne*<sup>-</sup>/hum*GNE*D176V-Tg マウス (DMRV-hIBM モデルマウス) を作製した。このマウスは、骨格筋及び他の臓器で著明なシアル酸の低下と 20 週齢から筋萎縮と筋力低下を示す一方、30 週齢から進行性に筋変性を示した。特に、筋線維内βアミロイド蓄積は 32 週齢以降に、縁取り空胞形成は 42 週齢から観察された。モデルマウスに対し、発症前から継続的にシアル酸を投与した結果、骨格筋及び他の臓器でのシアル化は著明に増加し、マウスの生存率は著しく改善し、筋萎縮、筋力低下および筋変性は完全に抑制された。これらの結果から、シアル酸の低下こそが本疾患の病態に関する重要な因子であること、本疾患が治療可能であることが強く示唆された。

以上の研究は、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーの発症機構の解明とこの疾患に対する治療法の確立に貢献し、未だに治療法の無い遺伝性筋疾患の克服に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 1 月 20 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認の試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降