

2020年2月25日

国立大学法人東北大学大学院医学系研究科  
国立大学法人東北大学加齢医学研究所

### 筋ジストロフィー(ジスフェルリン異常症)の新規治療標的を発見 - 疾患モデル動物の症状を改善させることに成功 -

#### 【研究のポイント】

- 筋細胞の膜タンパク質ジスフェルリン<sup>注1</sup>の欠損によって発症する筋ジストロフィー(ジスフェルリン異常症)は、筋細胞膜の損傷時の修復機能が損なわれ、筋肉の萎縮と筋力の低下といった障害を示す根治法のない国の指定難病である。
- 筋細胞膜の修復に必要な分子として、AMPKタンパク質複合体<sup>注2</sup>を新規に発見した。
- 薬剤によるAMPKの活性化によって、ジスフェルリン異常症患者由来の筋細胞膜修復機能およびジスフェルリン異常症モデル動物の筋力低下や筋損傷を改善させることができた。

#### 【研究概要】

東北大学大学院医学系研究科神経内科学分野の青木正志(あおき まさし)教授らの研究グループは、ジスフェルリンタンパク質の異常によって発症する筋ジストロフィー(ジスフェルリン異常症)の治療標的となり得る新規の因子を発見しました。(図1)。

ジスフェルリン異常症は、筋肉細胞の膜タンパク質ジスフェルリンの異常によって引き起こされる成人発症の筋ジストロフィーの総称です。ジスフェルリンの欠損によって、筋細胞膜の損傷時の修復機能が損なわれ、その結果として筋細胞の変性・壊死が生じ、筋肉の萎縮と筋力の低下につながると考えられています。本研究では、ジスフェルリンに結合するタンパク質として新たにAMPK複合体を同定し、AMPK活性化剤(アカデシン)を投与することにより、ジスフェルリン異常症患者由来の筋細胞膜の修復機能が改善することを見出しました。さらに、薬剤(メトホルミン)投与によりAMPKを活性化させると、ジスフェルリン異常症のモデル動物での筋力低下や筋損傷を改善することを示しました。本研究で得られた知見から、ジスフェルリン異常症の治療法の開発が進むと期待されます。

本研究成果は、米国遺伝子細胞治療学会の機関誌である「*Molecular Therapy*」のオンライン版に、米国時間2020年2月12日に掲載されました。

## 【研究内容】

国の指定難病である筋ジストロフィーは、いまだ根治療法のない難治性の遺伝性疾患で、筋肉の萎縮や筋力の低下といった障害を示す進行性の筋疾患です。この疾患では、筋細胞膜を構成するタンパク質の異常や欠損、筋細胞膜の損傷からの修復に必要な機構の破綻によって、筋細胞が正常に維持されなくなることが原因であるとされています。

東北大学医学系研究科神経内科学分野は、1998年に筋細胞の膜タンパク質ジスフェルリンの欠損によって発症する筋ジストロフィー（ジスフェルリン異常症）の原因遺伝子を同定して以来、臨床遺伝子診断を通じてジスフェルリン異常症の病態解明に貢献してきました。ジスフェルリンは筋細胞膜の修復に重要な役割を持つことが明らかにされており、近年、ジスフェルリンに結合し、筋細胞膜の修復に関与するタンパク質が存在することが報告されていますが、筋細胞膜の修復の分子機構の詳細は不明のままです。

今回の研究成果では、東北大学医学系研究科神経内科学分野の小野洋也（おのひろや）非常勤講師、鈴木直輝（すずきなおき）非常勤講師、割田仁（わりたひとし）院内講師、青木正志（あおきまさし）教授らの研究グループは、菅野新一郎（かんのしんいちろう）講師（東北大学加齢医学研究所）、林由起子（はやしゆきこ）教授（東京医科大学病態生理学分野）、三宅克也（みやけかつや）教授（国際医療福祉大学基礎医学研究センター）らと協力して、ジスフェルリン異常症の治療標的となり得る新規の因子を発見しました。

本研究では初めに、ジスフェルリンの一部に結合するタンパク質を培養細胞の抽出物から単離し、質量分析装置<sup>注3</sup>を用いたプロテオミクス解析<sup>注4</sup>によって複数の結合タンパク質を同定しました。つぎに、同定された候補タンパク質の一つである AMPK に注目し、このタンパク質が筋細胞膜の障害に対してどのように働くのか、レーザー照射による筋細胞膜障害実験によって解析しました。その結果、マウスにおいてレーザー照射により骨格筋を損傷させると、AMPK タンパク質複合体が損傷部位に集積し、また、筋肉由来の培養細胞において AMPK の働きを抑制すると筋細胞膜修復機能が低下することを発見しました。さらに、ジスフェルリンを欠損させたマウスにおいてレーザー照射により骨格筋を損傷させると、AMPK 複合体の損傷部位への集積が遅延することから、ジスフェルリンが AMPK 複合体の集積に必要であり、AMPK 複合体集積の足場として機能している可能性を見出しました。また、ジスフェルリンに変異をもつ患者由来の培養細胞において、AMPK を活性化する薬剤（アカデシン）を投与すると筋細胞膜修復が改善することを明らかにするとともに（図 2）、ジスフェルリン異常症のモデル動物（ゼブラフィッシュ<sup>注5</sup>およびマウス）において、AMPK 活性化剤メトホルミンを投与すると骨格筋の障害が改善することを確認しました（図 3）。

本研究で得られた AMPK 複合体が損傷を受けた筋細胞膜の修復において重要な役割を担っているという新たな知見は、根治療法がいまだないジスフェルリ

ン異常症の治療法の開発に結びつく可能性があります。本研究で得られた知見を発展させることで、ジスフェルリン異常症のみならず、筋ジストロフィー全体の新しい治療法の開発が進むことも期待されます。

本研究は、科学研究費補助金若手研究「細胞膜修復機構の活性化による成人発症筋ジストロフィー治療戦略の開発(代表・小野洋也)」、AMED 障害者対策総合研究開発事業「細胞膜修復や不要蛋白クリアランス機構の破綻をきたす筋疾患におけるメカノセンシングの機序の解明とその評価系の確立および治療法開発(代表・青木正志)」、精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィー関連疾患の基盤的診断・治療開発研究(分担・青木正志)」、東北大学加齢医学研究所による共同利用・共同研究の支援等によって行われました。

### 【用語説明】

- 注1. ジスフェルリン：筋肉細胞に存在する 2080 アミノ酸残基からなる巨大タンパク質。
- 注2. AMPK タンパク質複合体:AMP 活性化タンパク質リン酸化酵素(AMPK)の複合体。細胞内のエネルギー源である ATP (アデノシン-3-リン酸) が分解されてできる AMP によって活性化されることから、細胞内のエネルギーセンサーとしての役割を担っている。
- 注3. 質量分析装置：タンパク質を分解した断片を大きさ(質量)によって分離し、どのようなタンパク質が含まれていたかを分析できる装置。
- 注4. プロテオミクス解析：生体サンプルに含まれるタンパク質の種類を網羅的に解析する技術。
- 注5. ゼブラフィッシュ：モデル生物として研究に使用される熱帯魚。ゼブラフィッシュの筋組織は形態・機能の面でヒト筋組織とよく類似しており、ヒト疾患の原因遺伝子について変異体を作成することで、疾患の原因解明・治療法開発に繋げることができる。

筋ジストロフィー（ジスフェルリン異常症）による筋萎縮・筋力低下の進行を細胞膜修復分子AMPKを活性化する薬剤によって抑えることができる

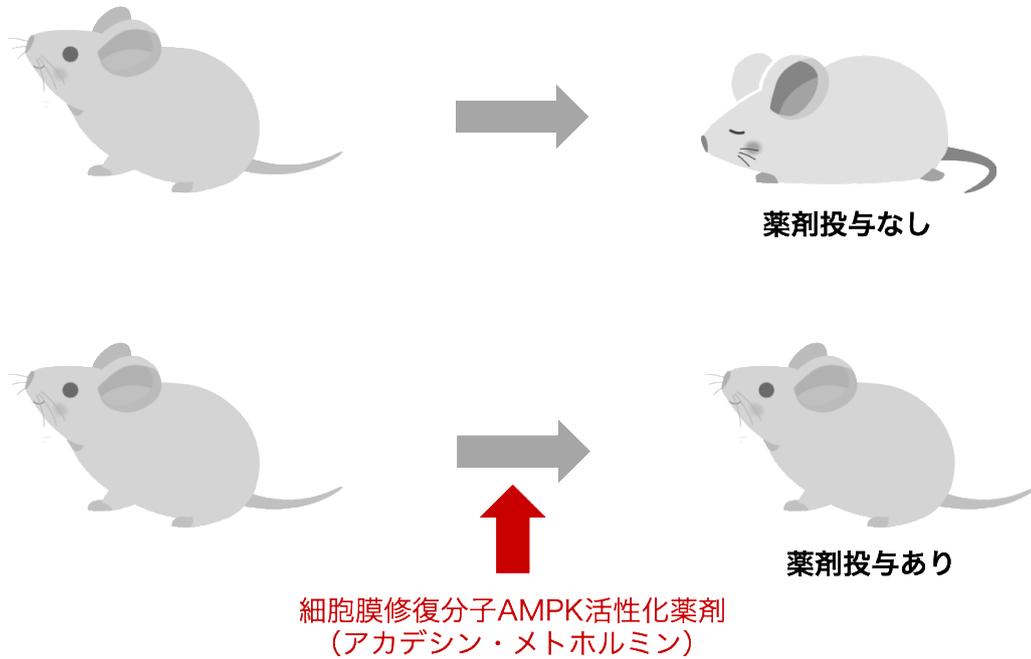


図 1. 薬剤投与によって骨格筋の AMPK を活性化させることにより、骨格筋の細胞膜修復機能が改善し、筋ジストロフィーの症状進行を抑制することができた。

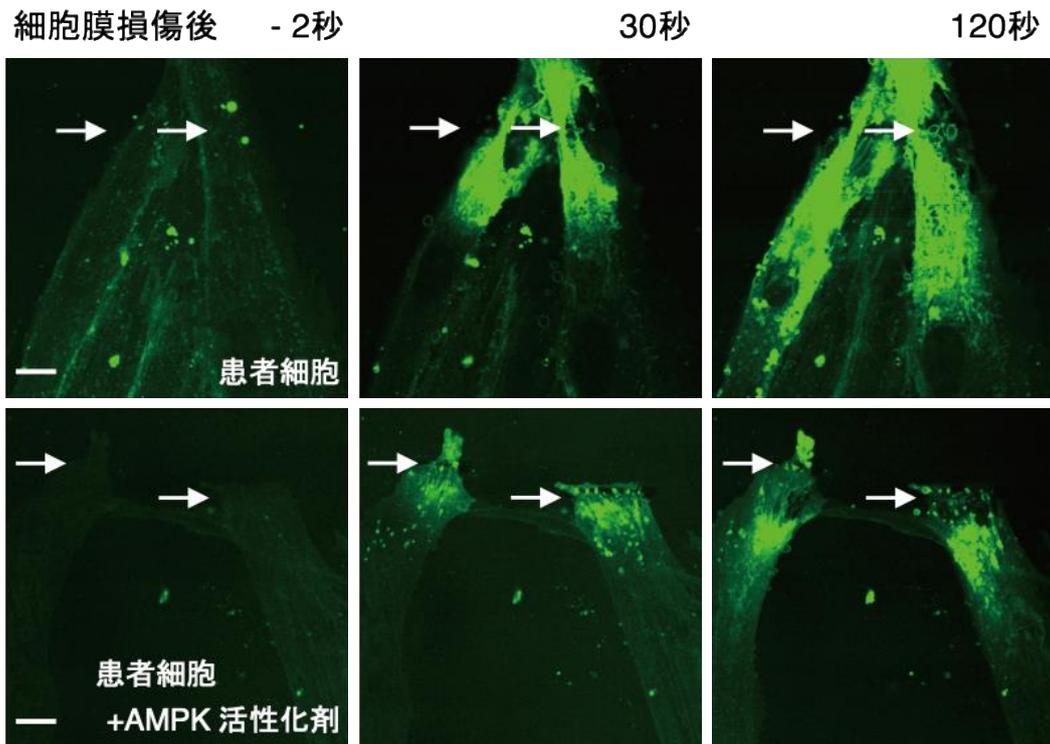


図 2. AMPK 活性化剤（アカデシン）によりジスフェルリン変異患者由来の筋培養細胞の障害膜修復機能が改善する

レーザー照射による膜損傷後、ジスフェルリン変異患者由来の骨格筋細胞では、細胞膜が修復されず、蛍光試薬が細胞内に広がっていくが（上段）、AMPK 活性化剤投与により、蛍光試薬の細胞内での拡がりが抑えられた（下段）。

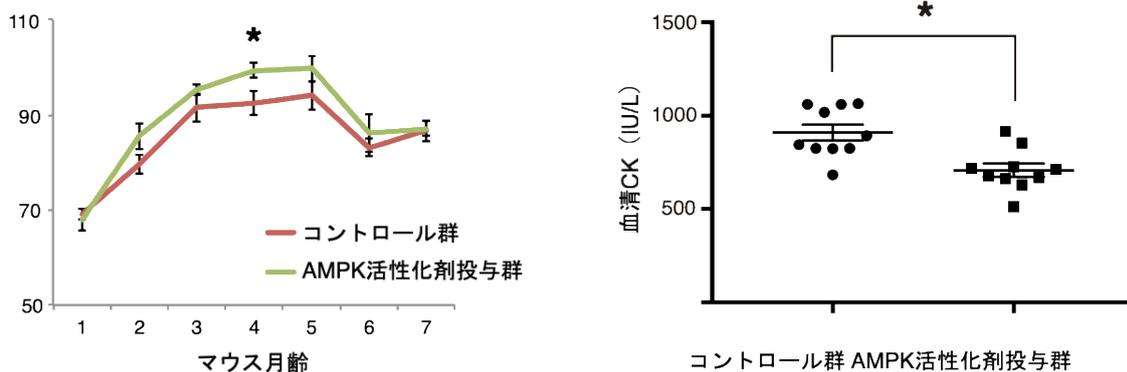


図 3. AMPK 活性化剤（メトホルミン）の投与により、ジスフェルリン異常症モデルマウスの筋力低下の一部改善（左図）、筋損傷マーカーである血清クレアチンキナーゼ（CK）値の低下がみられ（右図）、統計学的にも有意な改善を示した（\* $p < 0.05$ ）。

## 【論文題目】

Title: AMPK complex activation promotes sarcolemmal repair in dysferlinopathy

Authors: Hiroya Ono, Naoki Suzuki, Shin-ichiro Kanno, Genri Kawahara, Rumiko Izumi, Toshiaki Takahashi, Yasuo Kitajima, Shion Osana, Naoko Nakamura, Tetsuya Akiyama, Kensuke Ikeda, Tomomi Shijo, Shio Mitsuzawa, Ryoichi Nagatomi, Nobukazu Araki, Akira Yasui, Hitoshi Warita, Yukiko K. Hayashi, Katsuya Miyake, and Masashi Aoki

タイトル:「AMPK 複合体の活性化はジスフェルリン異常症における筋細胞膜修復機能を改善する」

著者名:小野洋也、鈴木直輝、菅野新一郎、川原玄理、井泉瑠美子、高橋俊明、北嶋康雄、長名シオン、中村尚子、秋山徹也、池田謙輔、四條友望、光澤志緒、永富良一、荒木伸一、安井明、割田仁、林由起子、三宅克也、青木正志

掲載誌名: *Molecular Therapy*

DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.02.006

### 【お問い合わせ先】

#### (研究に関すること)

東北大学大学院医学系研究科神経内科学分野  
教授 青木正志 (あおきまさし)

非常勤講師 鈴木直輝 (すずきなおき)

非常勤講師 小野洋也 (おのひろや)

電話番号: 022-717-7189

FAX 番号: 022-717-7192

E メール: aokim@med.tohoku.ac.jp

E メール: naoki@med.tohoku.ac.jp

E メール: onohiroya@med.tohoku.ac.jp

東北大学加齢医学研究所

講師 菅野新一郎 (かんのしんいちろう)

電話番号: 022-717-8469

E メール: shinichiro.kanno.a6@tohoku.ac.jp

#### (取材に関すること)

東北大学大学院医学系研究科・医学部広報室

電話番号: 022-717-7891

FAX 番号: 022-717-8187

E メール: pr-office@med.tohoku.ac.jp

#### (AMED 事業に関すること)

日本医療研究開発機構 戦略推進部

脳と心の研究課

E メール: bain-d@amed.go.jp