

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーに対するさらに高い効果の期待される治療薬の開発
2. 研究開発代表者： 野口 悟  
(国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部)

### 3. 研究開発の成果

#### ①発症 DMRV モデルマウスへのシアル酸化合物の投与による筋力低下からの回復

55 週齢以降の発症したモデルマウスに対する治療試験を行った。遊離シアル酸および糖結合体であるシアリル乳糖を用いた。高容量のシアリル乳糖の投与により発症マウスの運動量が回復し、骨格筋収縮力、骨格筋サイズ、筋病理像、骨格筋アミロイド量等に著明な改善が見られた。組織シアル酸の量も、濃度依存的に回復が見られた。薬物動態の解析の結果、この著明な治療効果は、シアリル乳糖の代謝速度が遅いことによってもたらされていると考えられた。このことから、シアリル乳糖は摂取後、最終的に体内から排出されるまでに要する時間が長く、かつ持続的に血中濃度を維持することが、罹患筋への治療効果には必要であることが示された。

#### ②骨格筋内蓄積アミロイドの病原性の解析

DMRV モデルマウス(GNE<sup>-/-</sup>・hGNETg)と APP<sup>-/-</sup>マウスを掛け合わせた。二重変異マウスは、DMRV モデルマウスに比べ、やや体重が軽いものの、離乳、成長までの間に特に表現型に異常は見られていない。

#### ③オートファジーの病態形成への関与

骨格筋特異的オートファジー欠損マウス、Atg7<sup>flox</sup>/Mu-Cre (*Act1* promoter-Cre)の特徴づけを行った。DMRV モデルマウスが発症する年齢に達した骨格筋特異的オートファジー欠損マウスを解析した。単離した腓腹筋の単収縮力は DMRV マウスよりも軽症であり、骨格筋組織には、高度に筋線維の萎縮が認められるとともに、筋線維内に p62、アミロイドやリン酸化 Tau タンパク質とともに蓄積していた。オートファジーを誘導するため、リソソームマスター遺伝子である TFEB を発現するレンチウイルスベクターを作製した。TFEB の局在を追跡できるように、蛍光タンパク質との融合タンパク質として発現させるコンストラクトを作成した。

#### ④筋萎縮に対する新規治療薬の開発

我々は、活性酸素種が DMRV の病態、特に筋萎縮の促進に関わる可能性を示し、筋萎縮がこの疾患における治療の一つの標的となりうることを示してきた。モデルマウスの骨格筋における酸化ストレスが引き起こすタンパク質の修飾を解析した。その結果、タンパク質群のシステイン残基のニトロシル化が、有意に上昇していることがわかった。質量分析により修飾タンパク質を同定した。筋原線維の主成分である Act1、解糖系酵素である Eno3, Aldoa, エネルギー貯蔵のための酵素である Ckm などが含まれていた。また、抗酸化薬の投与により、筋萎縮に改善の見られた DMRV モデルマウスの骨格筋では、これらのタンパク質の S-ニトロシル化修飾は減少していた。今後は、この修飾によりタンパク質の機能低下が引き起こされているのか、また、それが如何に病態に関連するのかに着目して解析を進めていく。

#### ⑤GNE 変異細胞でのシアル酸回復化合物の探索

GNE 変異をもつ CHO 細胞を用いて細胞シアル酸の回復薬の探索を行った。細胞での一次スクリーニングにより、細胞シアリル化の陽性回復を示す 17 種類の化合物が同定された。このうち、3 種類の化合物の培地への添加はより効果が認められた。

### 4. その他

なし