

## 主論文の要旨

### **Transforming growth factor- $\beta$ signaling is upregulated in sporadic inclusion body myositis**

〔 封入体筋炎ではTGF- $\beta$ シグナル伝達の発現が亢進している 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 細胞情報医学専攻  
脳神経病態制御学講座 神経内科学分野

(指導：勝野 雅央 教授)

野田 成哉

## 【緒言】

封入体筋炎 (sporadic inclusion body myositis;sIBM) は主に 50 歳以上に発症し、筋炎全体の 30%を占める。本邦での患者数は年々増加傾向であり、2009 年度調査では約 1250 人と推測されている。筋線維へのアミロイド沈着、免疫系の異常、ウイルス感染、遺伝などが sIBM の原因として挙げられているが、病態機序は不明である。sIBM の筋病理では、炎症、変性の両方の所見が認められる。炎症所見として、筋線維への単核細胞浸潤が認められ、変性所見として、筋線維に他の神経変性疾患で認められる蛋白質を認める。TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) はニューロンに対する保護作用を有し、生存や機能を制御しており、TGF- $\beta$  シグナル伝達の異常は神経変性を惹起することが知られている。TGF- $\beta$  シグナル伝達の経路は、主に TGF- $\beta$  経路と BMP (bone morphogenetic protein) 経路がある。TGF- $\beta$  経路における細胞膜の TGF- $\beta$  受容体は、TypeI (T $\beta$ RI)、TypeII (T $\beta$ RII) からなるヘテロダイマーであり、TGF- $\beta$  が受容体に結合することで、T $\beta$ RI のキナーゼ活性が誘導され、転写因子である Smad2 がリン酸化され (pSmad2)、核内に移行することでシグナルが伝達され、様々な分子の発現が誘導される。BMP 経路は、受容体に結合することで、Smad1/5/8 がリン酸化され (pSmad1/5/8)、核内に移行する。sIBM において、TGF- $\beta$  シグナル伝達の詳細についてはわかっていない。本報告では sIBM における TGF- $\beta$  シグナル伝達について検討する。

## 【方法】

2011 年 1 月から 2014 年 12 月までの 4 年間に当院に筋生検の依頼があり、sIBM と診断した連続 24 例 (男性 17 例、女性 7 例) の筋組織を用いて、TGF- $\beta$  シグナル伝達マーカー (TGF- $\beta$ 、T $\beta$ RI、T $\beta$ RII、pSmad2、BMP1、pSmad1/5/8) の発現を、免疫染色、ウェスタンブロットを行うことにより調べた。疾患コントロールとして皮膚筋炎 (DM) 10 例 (男性 4 例、女性 6 例) を用いた。正常コントロールとして、臨床病理学的に筋疾患でない 3 例を用いた。sIBM は ENMC IBM Working Group の診断基準 (2013) で clinically defined IBM 以上の症例を用いた (clinically and histologically defined 10 例、clinically defined 14 例)。DM は Dalakas らの診断基準 (2003) で probable 以上の症例を用いた (definite 5 例、probable 5 例)。免疫染色のシグナル強度はランダムに 500 以上の筋線維を選択し、Image J を用いて解析した。ウェスタンブロットのシグナル強度は、Image Gauge soft ware を用いて解析した。ウェスタンブロットのローディングコントロール抗体として、GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) を用いた。統計学的解析は、Student t-test あるいは Welch t-test を用いた。回帰分析を用いて TGF- $\beta$  シグナル伝達マーカーと sIBM の患者の臨床病理学的特徴の関係を評価した。この研究は倫理委員会で承認を得た。

## 【結果】

sIBM の平均発症年齢は  $66.4 \pm 7.3$  歳、平均診断年齢は  $69.8 \pm 6.8$  歳、平均罹病期間は  $39.9 \pm 24.4$  ヶ月であった。DM の平均発症年齢は  $57.6 \pm 15.7$  歳、平均診断年齢は  $58.2$

±15.9 歳、平均罹病期間は 6.8±6.8 ヶ月であった。sIBM と DM を比較して、性別、発症年齢、診断年齢、生検部位の MRC (Medical Research Council grade)、血清 CK (creatine kinase) 値に有意差を認めなかった。罹病期間は sIBM が DM と比較して有意に長かった (Table 1)。免疫染色では TGF-β、TβRI、TβRII は筋線維の細胞質で、sIBM において DM、正常コントロールと比較して発現が亢進していた {TGF-β (DM,  $P < 0.0001$ ; 正常,  $P < 0.0001$ ), TβRI (DM,  $P < 0.0001$ ; 正常,  $P < 0.0001$ ), and TβRII (DM,  $P < 0.0001$ ; 正常,  $P < 0.0001$ ) (Figure 1, 2)。発現の亢進は、sIBM の萎縮した筋線維において認められた (TGF-β,  $r = -0.44$ ,  $P < 0.0001$ ; TβRI,  $r = -0.55$ ,  $P < 0.0001$ ; TβRII,  $r = -0.57$ ,  $P < 0.0001$ ) (Figure 3)。sIBM における核の発現の亢進は平均 15.1±12.1%の割合で認められたが、DM、正常コントロールでは核の発現の亢進は認められなかった (Figure 1)。ウェスタンブロットの定量解析では TGF-β、TβRI、TβRII、pSmad2 は、sIBM で発現が亢進しており、DM と比較して有意差を認めた (TGF-β,  $P < 0.05$ ; TβRI,  $P < 0.005$ ; TβRII,  $P < 0.0001$ ; pSmad2,  $P < 0.005$ ) (Figure 4)。BMP1、pSmad1/5/8 は、ウェスタンブロットの定量解析において、sIBM と DM で発現に有意差を認めなかった (Figure 4)。TGF-β、TβRI、TβRII、pSmad2 の発現の程度と sIBM の臨床的 (発症年齢、診断年齢、罹病期間、血清 CK 値)、病理学的 (縁取り空砲の割合) 特徴の相関関係を調べたところ、罹病期間と pSmad2 の発現に相関性を認め、罹病期間が長いほど、pSmad2 の発現が亢進していた ( $r = 0.44$ ,  $P < 0.05$ ) (Figure.5)。

### 【考察】

sIBMは炎症性筋疾患の一つではあるが、非炎症性の機序も指摘され、免疫療法に対する治療効果はあまりないとされている。TGF-β シグナル伝達の異常は、アルツハイマー病の他、筋萎縮性側索硬化症、球脊髄性筋萎縮症など様々な神経変性疾患で見出されている。本研究結果から、sIBMにおいて、TGF-β シグナル伝達の異常が病態の一つとして関与している可能性が考えられた。筋ジストロフィーでは、TGF-β シグナル伝達の異常が筋線維の萎縮に関連することが報告されており、本研究結果から得られたsIBMの萎縮した筋線維ほどTGF-βシグナル伝達の異常が強いことと関係している可能性がある。sIBMに対する分子標的治療法の開発において、TGF-βシグナルは重要なターゲットであると考えられる。sIBMの国際共同治験 (薬品名 : BYM338、NCT01925209) が開始されており、BYM338はTGF-β シグナルに作用し、sIBMの筋力低下に対する治療効果が期待されている。今後治療に向けたさらなる研究の進展が期待される。

### 【結論】

本研究結果から、sIBM において TGF-β シグナル伝達が病態に関与している可能性が示唆され、TGF-β シグナル伝達の発現亢進が、sIBM に悪影響を及ぼしている可能性がある。さらなる研究が必要である。