

## 自己貪食空胞性ミオパチーの病態解明と治療法開発

西野 一三\*

要旨：自己貪食空胞性ミオパチー (AVM) は、筋病理学的に自己貪食空胞の出現により定義される一群の遺伝性筋疾患である。歴史的にもっとも研究が進んでいる Pompe 病以外に、最近 2 つの AVM のカテゴリーが新たに認識されつつある。一つは、Danon 病を初めとする一連の筋疾患である。この筋疾患群は、特異な筋鞘膜の性質を有する自己貪食空胞 (AVSF) の出現を特徴とする。AVSF では、アセチルコリンエステラーゼをふくむ、ほぼすべての筋鞘膜蛋白質が空胞膜に発現する。Danon 病はライソゾーム膜蛋白質 LAMP-2 の原発性欠損による。興味深いことに、本疾患における AVSF の数は年齢とともに増加する。AVSF ミオパチーとしては、他に、最近 VMA21 変異によることが明らかとなった、過剰自己貪食をともなう X 連鎖性ミオパチー (XMEA) がある。もう一方の AVM は、縁取り空胞の出現を特徴とするミオパチーである。縁取り空胞は電顕的には自己貪食空胞の集塊である。もっとも良く知られた疾患として、縁取り空胞をともなう遠位型ミオパチー (DMRV) がある。本疾患は、欧米では遺伝性封入体ミオパチー (HIBM) と呼ばれる。DMRV はシアル酸生合成経路律速酵素遺伝子 *GNE* の変異により発症する。DMRV モデルマウスにおいては、シアル酸補充療法によりほぼ完全に筋症状を抑制することができる。このことは、シアル酸低下がミオパチーの原因であることとシアル酸補充がヒトでも有効である可能性を示唆している。現時点で原因遺伝子が明らかとなっている AVSF ミオパチーはともにライソゾーム機能異常を根本原因としている。一方、縁取り空胞は、DMRV/HIBM が低シアルル化を原因としているように、ライソゾーム外の異常が根本原因であり、二次的に形成されるものである。

(臨床神経 2010;50:1-6)

Key words : 自己貪食, 遠位型ミオパチー, 遺伝性封入体ミオパチー, 縁取り空胞, シアル酸, *GNE*

その代表である。本稿では、Danon 病およびその類縁疾患と DMRV に関するこれまでの研究状況を紹介したい。

## はじめに

正常骨格筋組織で自己貪食やライソゾームを見ることはほとんどないため、骨格筋では自己貪食の果たす役割は大きくないと考えられていた時代もあった。しかしながら、近年の研究により、骨格筋においても、自己貪食が重要な役割を担っていることが徐々に明らかにされてきている。実際、ある種の筋疾患は自己貪食空胞の出現を特徴とする。その内、歴史的にもっとも研究が進んでいるのが Pompe 病であるが、Pompe 病以外の筋疾患については、その原因は比較的最近まで、まったく不明であった。筋病理学的観察では、Pompe 病以外には、2 つのタイプの自己貪食空胞性ミオパチー (autophagic vacuolar myopathy : AVM) がある<sup>1)2)</sup>。一つは、筋鞘膜の性質を有する膜で覆われた自己貪食空胞 (autophagic vacuole with sarcolemmal features : AVSF) する AVM であり、Danon 病などがその代表である。もう一方は、縁取り空胞の出現を特徴とする一連の縁取り空胞性ミオパチー (rimmed vacuolar myopathy : RVM) であり、縁取り空胞をともなう遠位型ミオパチー (distal myopathy with rimmed vacuoles : DMRV) が

## 1. Danon 病

## a) 臨床症状

「酸性マルターゼが正常なライソゾーム性糖原病」と題して、1981 年に Danon らが報告した疾患で、その後様々な疾患名で呼ばれたが、現在は Danon 病と呼ばれている。肥大型心筋症、ミオパチー、精神遅滞臨床的三徴である<sup>3)</sup>。発端者は全例男性で、典型的には 10 歳代で心症状が出現し、30 歳代で心不全または不整脈で死亡する<sup>4)</sup>。網膜も障害されることが知られている<sup>5)6)</sup>。今のところ、根本的治療は心臓移植しかない。ミオパチーは比較的軽度なことが多いが、血中クレアチニン・キナーゼ (CK) はほぼ例外なく 1,000IU/l 程度に上昇している。精神遅滞は軽微で、約 1/3 の例は、IQ が正常範囲にある。また、ほぼすべての例で、発端者の母親も軽度な心筋障害を中年期に発症する<sup>4)</sup>。これは、X 連鎖性遺伝の可能性を強く示唆している。

\*Corresponding author: 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部 [〒187-8502 東京都小平市小川東町 4-1-1]  
国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部  
(受付日: 2009 年 11 月 17 日)

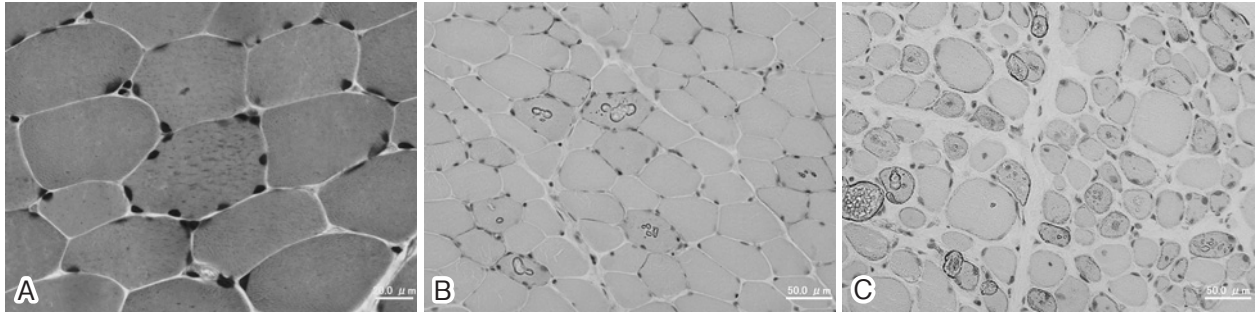


Fig. 1 Muscle pathology of Danon disease and X-linked congenital AVM.

- A. Tiny vacuoles in Danon disease look more like basophilic granules rather than vacuoles (hematoxylin and eosin).  
 B. Vacuolar membranes express acetylcholinesterase in Danon disease, showing the nature of AVSF (acetylcholinesterase stain).  
 C. AVSF can also be seen in X-linked congenital AVM (acetylcholinesterase stain)

#### b) 筋病理

筋病理では、筋線維内に小空胞をみとめることが特徴である<sup>7)</sup>。これは電顕レベルでは自己貪食空胞であるが、光顕レベルでは、むしろ好塩基性の小顆粒にみえる (Fig. 1)。興味深いのは、一部の空胞は、その膜に AChE を発現していることである。これは、AChE や NSE の活性染色で確認することができる<sup>7)~9)</sup>。AChE は通常は神経筋接合部の筋線維側の基底膜部に存在している。いいかえれば、特殊な筋鞘膜に局在しているのである。このことは、空胞膜が何らかの特殊な筋鞘膜の性質を有していることを示唆している。そこで、各種筋鞘膜蛋白質に対する抗体をもちいて免疫染色をおこなってみると、この筋線維内空胞膜には、ほぼすべての筋鞘膜蛋白質が発現していることが確認される<sup>7)</sup>。電顕的にもこれらの空胞は、基底膜を有しており、筋鞘膜の性質を有していることが確認できる。われわれは、この筋鞘膜の性質を有し AChE を発現する自己貪食空胞を AVSF (autophagic vacuoles with sarcolemmal features) と名付けた<sup>1)2)7)</sup>。

一方、Danon 病の筋線維内には、基底膜を有していない自己貪食空胞もみとめられる。ライソゾーム膜蛋白質の一つ LAMP-1 と筋鞘膜蛋白質ジストロフィンとの二重免疫染色をおこなってみると、LAMP-1 陽性のライソゾームあるいは自己貪食空胞がジストロフィンでかこまれているもの (すなわち AVSF) とかこまれていないものの 2 種類あることがわかった。これを患者年齢と比較してグラフを描いてみると興味深いことに、前者は年齢とともに増加するのに対し、後者は年齢とともに減少した。しかも、その総和は年齢にかかわらずほぼ同じであった。このことは、筋鞘膜でかこまれていない自己貪食空胞が先行する本質的な変化であり、筋鞘膜様の膜はその後から二次的に形成されることを強く示唆している<sup>7)</sup>。

#### c) 原因遺伝子

Danon 病が X 連鎖性のライソゾーム病であり、細胞膜と空胞膜の間に何らかの異常な関連をみることから、その時点までに報告されていた Danon 病家系の検体を全世界より集め、X 染色体に注目した連鎖解析をおこなった。その結果、候補領

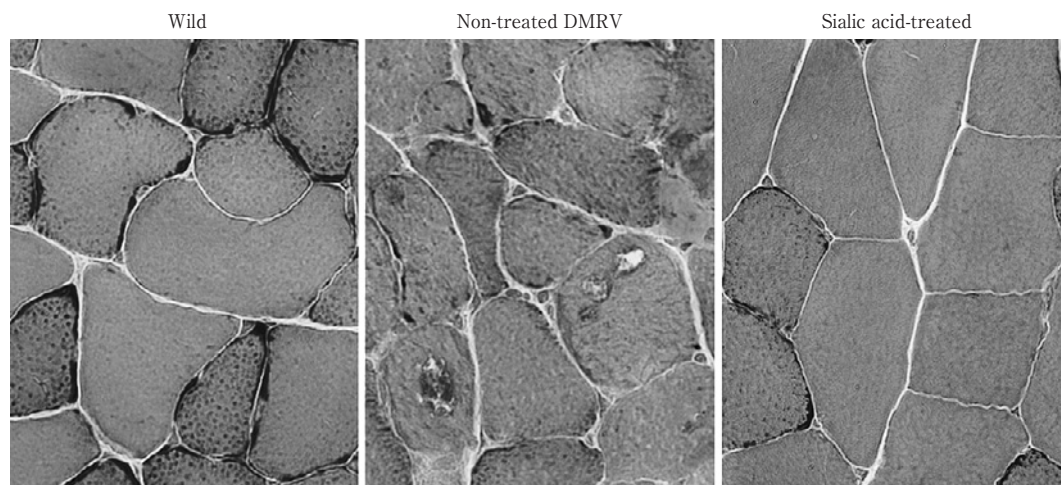
域内に遺伝子座があり、ライソゾーム膜蛋白質 lysosome-associated membrane protein-2 (LAMP-2) をコードする LAMP-2 を、Danon 病の重要な候補遺伝子と考え、LAMP-2 遺伝子のシーケンスをおこなった。その結果、Danon らの最初の症例報告中にある 1 例をふくむ全例の患者で変異をみいだした<sup>10)</sup>。変異は、一例を除いて、全例 null またはフレーム・シフト変異であり、変異体では膜貫通ドメインが失われていた。つまり、変異体はもはや膜蛋白として機能しえないことになる。ウエスタン・ブロットおよび骨格筋の免疫染色では、しらべた全例で LAMP-2 蛋白が消失していた<sup>10)</sup>。一方、同時期に発表された LAMP-2 ノックアウトマウスでも同様に骨格筋や心筋をふくむ臓器に自己貪食空胞が出現したことから、Danon 病は原発性 LAMP-2 欠損症であることが確定した<sup>11)</sup>。

#### d) LAMP-2 の機能と病態

LAMP-2 は、ライソゾーム膜の主要な糖蛋白質である。発現量がきわめて多いことから、その常染色体上の相同体である LAMP-1 とともに、ライソゾーム膜をほぼ完全に埋め尽くし、ライソゾーム膜および細胞質をライソゾーム腔内の多様な消化酵素から守っていると考えられている<sup>12)</sup>。しかし、一方で、このタンパク質はライソゾームだけでなく細胞膜にも少量発現しており、その生物学的な意味は不明であるが、転移性癌細胞など様々な状況で、細胞表面での発現が増えている。

LAMP-2 は、ライソゾーム膜を 1 回貫通する膜蛋白で、N 端側アミノ酸残基の約 90 パーセントがライソゾーム腔内に存在し、強力な糖修飾を受けている。このドメインには、システイン残基間のジスルフィド結合により形成される 4 つのループが存在する。細胞質ドメインは小さく、C 端の 11 残基のみで構成され、ライソゾーム移行シグナルと考えられるチロシン残基が存在している<sup>12)</sup>。

LAMP-2 オープン・リーディング・フレームは、1233 ヌクレオチドからなり、410 アミノ酸をコードする。mRNA は、9 個のエクソンがスプライシングを受けて作られる。第 9 エクソンがエクソン 9A、9B、9C の 3 種類あり、オルタネイ



**Fig. 2** Muscle pathology of DMRV model mice with or without sialic acid supplementation.

Without sialic acid treatment, DMRV mice show numerous rimmed vacuoles, in addition to marked variation in fiber size, at age 55 weeks. These features are essentially identical to those seen in human DRMV/HIBM patients. In contrast, with sialic acid treatment, DMRV mice show virtually no abnormality, clearly demonstrating that sialic acid can preclude DRMV/HIBM. ManNAc and sialyllactose also showed essentially the same efficacy. Modified Gomori trichrome stain. Gastrocnemius muscles.

タイプ・スプライシングにより、LAMP-2A, 2B, 2C の 3 つのアイソフォームが作られる。

一例の患者では、フレーム・シフト変異がエクソン 9B にあり、LAMP-2B アイソフォームのみ影響がある。この例の骨格筋をもちいたウエスタン・プロットでは、極微量のバンドが検出された<sup>10)</sup>。このバンドは LAMP-2A アイソフォームを反映していると考えられる。以上の実験結果は、骨格筋や心筋で、LAMP-2B が主要なアイソフォームであるという事実と良く一致している。また、この患者は、明らかな精神遅滞はないものの、心筋症やミオパチーは他の患者と同程度と考えられることから、LAMP-2B 欠損のみでも Danon 病がおこりうることを示している。近年オートファジーには様々な様態があることが知られてきており、この中で、ある種の蛋白質はシャペロンと LAMP-2A を介してライソゾーム内に直接取り込まれて分解されるとされている<sup>13)</sup>。この、シャペロン介在性オートファジー (chaperone-mediated autophagy : CMA) と呼ばれる機構は、LAMP-2 そのものを欠く Danon 病においてはまったく機能していないはずであり、Danon 病の病態の一端は CMA がおこらないことによるものだと仮説も成立しえる。しかし、LAMP-2B 欠損のみで Danon 病を発症する患者の存在は、少なくとも骨格筋や心筋においては、CMA は主要な役割を果たしていない可能性を示唆している。

LAMP-2 ノックアウトマウスの検討結果からは、LAMP-2 欠損により、一部のライソゾーム酵素のミスターゲティングにより、ライソゾームへと正しく運ばれないことが知られている<sup>14)</sup>。もしこのことが Danon 病の主要な病態であるならば、Danon 病も一部のライソゾーム酵素の部分欠損症との解

釈も成り立つ。また、最近では、LAMP-2 がオートファゴソームの成熟に関係しているとの報告もある<sup>15)</sup>。しかし、Danon 病の詳細な病態、とくに、なぜ AVSF が形成されるのかは、まったく不明であり、更なる検討が必要である。

## 2. その他の AVSF ミオパチー

### a) 過剰な自己貪食をともなう X 連鎖性ミオパチー

過剰な自己貪食をともなう X 連鎖性ミオパチー (X-linked myopathy with excessive autophagy : XEMA) は、当初フィンランドから報告された比較的軽症のミオパチーである<sup>16)</sup>。Danon 病とことなり、骨格筋のみが侵され、心筋や脳は侵されない。60 歳を過ぎて歩行可能な例が多く、Danon 病と比較して予後良好とされている。筋病理学的には、Danon 病と同様に AVSF を呈する。加えて、電顕上、基底膜が重層化し、同部位にカルシウムと補体 C5b-9 の沈着がみとめられる<sup>17)18)</sup>。最近、本疾患が、ライソゾーム腔内の酸性化に決定的な役割を有する vacuolar ATPase のアセンブリ因子をコードする *VMA21* の変異によることが明らかとなった<sup>19)</sup>。XEMA 例では、実際にライソゾーム内の酸性度が低下していることが報告されている。Danon 病も XEMA もともにライソゾーム機能異常により発症する疾患であることは興味深い。これとは対照的に、後で述べる RVM は、基本的にライソゾーム外に根本的原因が存在する。

### b) 乳児型/先天型自己貪食空胞性ミオパチー

われわれは、これまでに、乳児重症型 AVM<sup>20)</sup> や X 連鎖性を示唆する家族歴を有し、生下時より先天性ミオパチー様の臨床症状を呈する兄弟例を報告している<sup>21)</sup>。この例は AVSF

を有しており、Danon 病や XMEA 等が鑑別診断として挙げられたが、発症年齢も重症度もことなることから、別の AVM と捉えられる。筋病理学的には、AVSF をみとめるとともに (Fig. 1)、基底膜の重層化と補体 C5b-9 の筋鞘膜への沈着があり、どちらかという XMEA に近い病態が示唆される。

#### c) 成人型自己貪食空胞性ミオパチー

Nonaka I らは、成人で骨格筋内に多数の AVSF を呈し、脳、心、肝、肺、腎など多臓器が侵された例を報告しているが、その病因・病態はまったく不明である<sup>22)</sup>。今後もさらに、AVSF を呈するミオパチーが新たにみだされていくものと思われる。

### 3. 縁取り空胞をともなう遠位型ミオパチー

#### a) 臨床症状

RVM の代表として、縁取り空胞をともなう遠位型ミオパチー (distal myopathy with rimmed vacuoles : DMRV) の研究を取り上げる。本疾患は、欧米では、遺伝性封入体ミオパチー (hereditary inclusion body myopathy : HIBM) と呼ばれている<sup>23)24)</sup>。常染色体劣性の筋疾患であり、男女ほぼ平等に侵されて、通常 15 歳～40 歳で発症する。前脛骨筋と大腿後面筋が侵されやすく、大腿四頭筋は病後期まで比較的良好に保たれる。前脛骨筋の障害を反映して、多くの患者で下垂足が初発症状である。平均的には発症後約 12 年程度で歩行不能となり、車椅子状態となるが、最近では、臨床的重症度や進行の速さにはかなりばらつきがあることが知られるようになってきている。

患者数は日本国内に 150 人から 400 人程度と予想され、超希少疾病である。

#### b) 筋病理

縁取り空胞と管状線維性封入体の出現が特徴である。免疫染色をおこなえば、 $\beta$ -アミロイド沈着やタウ蛋白質リン酸化といった神経変性疾患に似た変化もみとめられる<sup>23)24)</sup>。縁取り空胞は、電顕的には自己貪食空胞の集塊であり、DMRV は自己貪食空胞性ミオパチーとしての側面も有している<sup>3)</sup>。これに加えて、小角化線維様の萎縮線維をみとめる。われわれが作製した DMRV モデルマウスでの解析結果からは、萎縮線維がまず先行して出現し、次に  $\beta$ -アミロイドが沈着し、その後、縁取り空胞やリン酸化タウが出現してくることが明らかになっている<sup>25)26)</sup>。

#### c) 原因遺伝子

2001 年にイスラエルのグループにより HIBM の原因遺伝子がシアル酸生合成経路律速酵素をコードする *GNE* であることが明らかにされた<sup>27)</sup>。本邦 DMRV 患者でも同様に *GNE* 変異がみだされることから、DMRV と HIBM は同一疾患であることが確定した<sup>28)</sup>。これまでに見つかった患者のアレルの 95% 以上がミスセンス変異であり、null 変異を両アレルに有する例はみだされていない。これは、*Gne* ノックアウトマウスは胎生致死である事実とよく合致している<sup>29)</sup>。本邦では p.V572L 変異が一番多く、p.D176V 変異が 2 番目に多い。

#### d) 分子病態とモデルマウス

患者の血液、筋組織、線維芽細胞、筋管細胞で、シアル酸量が低下し、とくに筋管細胞においては、細胞表面のシアリル化が低下している<sup>30)</sup>。さらに、培養線維芽細胞および筋管細胞において、*GNE* 代謝産物の *N*-アセチルマンノサミン (ManNAc) または主要なシアル酸であるノイラミン酸 (NeuAc) の投与により、これらが効率よく細胞内に取り込まれてシアリル化状態の回復がみとめられることを示した<sup>30)</sup>。これは、仮にシアリル化減少が DMRV の本態であるならば、*in vitro* ではすでに治療可能であることを示している。

われわれは *Gne* ノックアウトのヘテロ接合体マウスとヒト *GNE*p.D176V 変異体を発現するトランスジェニックマウスを作製して掛け合わせ、ヒト *GNE*p.D176V を *GNE* ノックアウトバックグラウンドで発現する *Gne*<sup>-/-</sup>h*GNE* D176V-Tg マウス (DMRV モデルマウス) を作製した<sup>25)</sup>。われわれのマウスは、生後 21 週以降より、体重減少と筋萎縮を、31 週より筋線維内のアミロイド沈着、41 週よりリン酸化タウ、管状線維性封入体、縁取り空胞の出現をみとめ、更に、全身臓器でのシアル酸量低下と軽度の血清 CK 値上昇をみとめた<sup>25)26)</sup>。これは、われわれのマウスが、ヒト DMRV を臨床的・病理学的・生化学的に再現する世界ではじめての DMRV/HIBM モデルマウスであることを示している。加えて、われわれのマウスにより、アミロイド沈着が縁取り空胞よりも時間的に先に形成されることがはじめて明らかとなり、病態の一端が解明された<sup>25)</sup>。

われわれのマウスでの解析により、DMRV/HIBM でみとめられる縁取り空胞形成はかなり下流の現象であることが明らかとなった。これは、相当幅広い疾患に縁取り空胞がみとめられる事実と良く合致している。この点は、AVSF を呈するミオパチーがライソゾーム機能異常を原因としていることと対照的であり、興味深い。

#### e) 治療法開発

NeuAc や ManNAc は静注すると約 2 分で尿中に排泄されてしまうことが良く知られている。そこで、正常マウスで腹腔内投与と経口投与を比較したところ、経口投与の方が尿中への排泄速度が遅く、さらに、投与 2 時間後の血中濃度も高かった。マウスは一日に約 12 回飲水をおこなうことから、自由飲水による経口投与をおこない、その治療効果を検討した<sup>31)</sup>。

まず、まだ症状を呈していない時期の 15 週間後の DMRV マウスに対して、3 つのことなる投与量 (20, 200, 2,000mg/kg 体重/日) で ManNAc を与えたところ、いずれの用量においても、無治療であれば、ほぼすべての症状が出そろう 55 週の時点でも症状がみとめられなかった<sup>31)</sup>。そこで、この最小量もちい、ManNAc に加えて、NeuAc、シアル酸結合体であるシアリル乳糖の投与を同様のスケジュールでおこなった。その結果、どの薬剤においても、ManNAc と同様に、55 週の時点でほぼ完全に DMRV 発症を抑制できた。病理学的にも、筋線維萎縮、 $\beta$ -アミロイド沈着、縁取り空胞形成などの変化はいずれもみとめなかった (Fig. 2)。肝や腎などへの毒性もとくにみとめられなかった<sup>31)</sup>。これらの結果は、*GNE* 代謝産物が

DMRV に対して有効であることを明確に示すと同時に、確かに低シアル酸状態が DMRV の原因であることを明確に示した点でも意義が大きい。

これらの結果を踏まえると、当然、次はヒトでの検討、すなわち臨床試験ということになる。本邦でおこなわれる希少疾病薬開発の大半は、既存薬の適応拡大または欧米での既承認薬の国内承認を目的とするものである。われわれの知るかぎり、これまで、日本の研究室からの基礎研究成果に基づいて、DMRV のような「超」希少疾病に対する治療薬の開発が、原薬製造の段階から国内でおこなわれたことはない。DMRV の治療薬開発は、本邦における今後の希少疾病薬開発研究の試金石となると考えられる。

## まとめ

AVM は、その疾患概念が徐々に受け入れられつつあり、今後はさらにあらたな疾患がみだされていくことになると考えられる。AVSF を呈するミオパチーは Danon 病と XMEA の原因遺伝子が明らかとなり、ともにライソゾーム機能異常を原因としている点で共通している。一方、DMRV などの RVM はライソゾーム外に根本的原因があり、その下流現象として自己貪食が惹起されている可能性が高い。いずれにせよ、今後さらに病態が解明されて治療法開発が進むことになるであろうが、このような「超」希少疾病の治療薬開発に対して、本邦はどのようなスタンスで望んでいくのか、幅広い議論が必要であろう。

謝辞：AVM 研究を始めるきっかけをお与え下さるとともに、日頃から暖かいご指導を賜っております国立精神・神経センター病院名誉院長の埜中征哉先生、Danon 病研究でご指導を仰いだ米国コロンビア大学神経内科 Michio Hirano 先生ならびに Salvatore DiMauro 先生、そして、いつも一緒に研究を進めてくれている国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部の過去と現在の同僚、とくに昼夜を問わず実験を積み重ねて DMRV 治療開発につながる重要な成果を挙げた May Malicdan 医師と野口悟室長に感謝いたします。また、一連の研究にご協力下さった主治医の先生方、患者およびご家族の方々、遠位型ミオパチー患者会の方々に感謝いたします。

## 文 献

- 1) Nishino I. Autophagic vacuolar myopathy. *Semin Pediatr Neurol* 2006;13:90-95.
- 2) Nishino I. Autophagic vacuolar myopathy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2003;3:64-69.
- 3) Danon MJ, Oh SJ, DiMauro S, et al. Lysosomal glycogen storage disease with normal acid maltase. *Neurology* 1981;31:51-57.
- 4) Sugie K, Yamamoto A, Murayama K, et al. Clinicopathological features of genetically confirmed Danon disease. *Neurology* 2002;58:1773-1778.
- 5) Schorderet DF, Cottet S, Loblirius JA, et al. Retinopathy

- in Danon disease. *Arch Ophthalmol* 2007;125:231-236.
- 6) Prall FR, Drack A, Taylor M, et al. Ophthalmic manifestations of Danon disease. *Ophthalmology* 2006;113:1010-1013.
- 7) Sugie K, Noguchi S, Kozuka Y, et al. Autophagic vacuoles with sarcolemmal features delineate Danon disease and related myopathies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64:513-522.
- 8) Murakami N, Goto Y-I, Itoh M, et al. Sarcolemmal indentation in cardiomyopathy with mental retardation and vacuolar myopathy. *Neuromuscul Disord* 1995;5:149-155.
- 9) Muntoni F, Catani G, Mateddu A, et al. Familial cardiomyopathy, mental retardation and myopathy associated with desmin-type intermediate filaments. *Neuromuscul Disord* 1994;4:233-241.
- 10) Nishino I, Fu J, Tanji K, et al. Primary LAMP-2 deficiency causes X-linked vacuolar cardiomyopathy and myopathy (Danon disease). *Nature* 2000;406:906-910.
- 11) Tanaka Y, Guhde G, Suter A, et al. Accumulation of autophagic vacuoles and cardiomyopathy in LAMP-2-deficient mice. *Nature* 2000;406:902-906.
- 12) Fukuda M. Biogenesis of the lysosomal membrane. *Subcell Biochem* 1994;22:199-230.
- 13) Kaushik S, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy. *Methods Mol Biol* 2008;445:227-244.
- 14) Eskelinen EL, Illert AL, Tanaka Y, et al. Role of LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. *Mol Biol Cell* 2002;13:3355-3368.
- 15) Saftig P, Beertsen W, Eskelinen EL. LAMP-2: a control step for phagosome and autophagosome maturation. *Autophagy* 2008;4:510-512.
- 16) Kalimo H, Savontaus M-L, Lang H, et al. X-linked myopathy with excessive autophagy: a new hereditary muscle disease. *Ann Neurol* 1988;23:258-265.
- 17) Villanova M, Louboutin JP, Chateau D, et al. X-linked vacuolated myopathy: complement membrane attack complex on surface membranes of injured muscle fibers. *Ann Neurol* 1995;37:637-645.
- 18) Louboutin JP, Villanova M, Lucas-Heron B, et al. X-linked vacuolated myopathy: membrane attack complex deposition on muscle fiber membranes with calcium accumulation on sarcolemma. *Ann Neurol* 1997;41:117-120.
- 19) Ramachandran N, Munteanu I, Wang P, et al. VMA21 deficiency causes an autophagic myopathy by compromising V-ATPase activity and lysosomal acidification. *Cell* 2009;137:235-246.
- 20) Yamamoto A, Morisawa Y, Verloes A, et al. Infantile autophagic vacuolar myopathy is distinct from Danon disease. *Neurology* 2001;57:903-905.
- 21) Yan C, Tnaka M, Sugie K, et al. A new congenital form of

- X-linked autophagic vacuolar myopathy. *Neurology* 2005; 65:1132-1134.
- 22) Kaneda D, Sugie K, Yamamoto A, et al. A novel form of autophagic vacuolar myopathy with late-onset and multiorgan involvement. *Neurology* 2003;61:128-131.
- 23) Nonaka I, Noguchi S, Nishino I. Distal myopathy with rimmed vacuoles and hereditary inclusion body myopathy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2005;5:61-65.
- 24) Malicdan MC, Noguchi S, Nishino I. Recent advances in distal myopathy with rimmed vacuoles (DMRV) or hIBM: treatment perspectives. *Curr Opin Neurol* 2008;21:596-600.
- 25) Malicdan MC, Noguchi S, Nonaka I, et al. A Gne knockout mouse expressing human GNE D176V mutation develops features similar to distal myopathy with rimmed vacuoles or hereditary inclusion body myopathy. *Hum Mol Genet* 2007;16:2669-2682.
- 26) Malicdan MC, Noguchi S, Hayashi YK, et al. Muscle weakness correlates with muscle atrophy and precedes the development of inclusion body or rimmed vacuoles in the mouse model of DMRV/hIBM. *Physiol Genomics* 2008;35:106-115.
- 27) Eisenberg I, Avidan N, Potikha T, et al. The UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase / N-acetylmannosamine kinase gene is mutated in recessive hereditary inclusion body myopathy. *Nat Genet* 2001;29:83-87.
- 28) Nishino I, Noguchi S, Murayama K, et al. Distal myopathy with rimmed vacuoles is allelic to hereditary inclusion body myopathy. *Neurology* 2002;59:1689-1693.
- 29) Schwarzkopf M, Knobloch KP, Rohde E, et al. Sialylation is essential for early development in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:5267-5270.
- 30) Noguchi S, Keira Y, Murayama K, et al. Reduction of UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase activity and sialylation in distal myopathy with rimmed vacuoles. *J Biol Chem* 2004;279:11402-11407.
- 31) Malicdan MC, Noguchi S, Hayashi YK, et al. Prophylactic treatment with sialic acid metabolites precludes the development of the myopathic phenotype in the DMRV-hIBM mouse model. *Nat Med* 2009;15:690-695.

### Abstract

#### Elucidation of pathomechanism of and development of therapy for autophagic vacuolar myopathies

Ichizo Nishino, M.D.

Department of Neuromuscular Research, National Institute of Neuroscience,  
National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)

Autophagic vacuolar myopathy (AVM) is an entity defined by the presence of autophagic vacuoles on muscle pathology. There are two emerging categories in AVM in addition to the best characterized Pompe disease.

One is Danon disease and its related disorders, which are characterized by autophagic vacuoles with unique sarcolemmal features (AVSF). AVSF express virtually all sarcolemmal proteins, in addition to acetylcholinesterase, on their vacuolar membranes. Danon disease is caused by primary deficiency of a lysosomal membrane protein, LAMP-2. Interestingly, in this disease, the number of AVSF increases as the patients age. Other AVSF myopathies include X-linked myopathy with excessive autophagy which is now known to be caused by *VMA21* mutations.

The other AVM is typified by the presence of rimmed vacuoles, which are actually clusters of autophagic vacuoles on electron microscopy. One of the well known diseases in this group is distal myopathy with rimmed vacuoles (DMRV), also called hereditary inclusion body myopathy (HIBM). DMRV is caused by mutations in *GNE* gene that encode a rate-limiting enzyme in the sialic acid biosynthetic pathway. Interestingly, in DMRV model mice, sialic acid supplementation almost completely precluded the disease phenotype, indicating that decreased sialic acid is the cause of myopathic phenotype and sialic acid supplementation can prevent the disease process.

Interestingly, both genetically diagnosable AVSF myopathies are primarily due to lysosomal dysfunctions. In contrast, rimmed vacuoles are secondarily caused by extra-lysosomal defects, such as hyposialylation in DMRV/HIBM, and are formed at later stages of the disease.

(*Clin Neurol* 2010;50:1-6)

**Key words:** autophagy, distal myopathy, hereditary inclusion body myopathy, rimmed vacuole, sialic acid, GNE