

新しい先天性筋ジストロフィー

西野 一三¹⁾

要旨：「ミトコンドリア構造異常をともなう先天性筋ジストロフィー」は、生下時早期より筋力低下・筋萎縮とともに、強い精神遅滞をきたす常染色体劣性疾患である。組織学的には、筋線維中心部のミトコンドリア消失と筋線維辺縁部のミトコンドリア巨大化を特徴とする。日本人、トルコ人、イギリス人患者計15名で *CHKB* 遺伝子の機能喪失型劣性変異をみいだした。患者生検筋ではコリンキナーゼ活性が著減し、フォスファチジルコリンも減少していた。このことは、本疾患が *CHKB* 機能喪失を原因としていることを示している。病理学的・生化学的には mitophagy が観察され、mitophagy によってミトコンドリアが消失しているものと考えられた。

(臨床神経 2013;53:1112-1113)

Key words：先天性筋ジストロフィー，コリンキナーゼ，ミトコンドリア，リン脂質，マイトファジー

本邦で先天性筋ジストロフィーと診断される例のうち、遺伝学的診断が不明の例は依然として25%以上を占めている。そのような例の一つとして、われわれは、「ミトコンドリア構造異常をともなう新しい先天性筋ジストロフィー」(MIM #602541)を3家系4例の日本人患者にみだし、1998年に報告した¹⁾。本疾患は、生下時早期より筋力低下・筋萎縮とともに、強い精神遅滞をきたす常染色体劣性疾患である。CKは軽度に上昇する。組織学的には、筋線維中心部のミトコンドリア消失と筋線維辺縁部のミトコンドリア巨大化を特徴とし、最近では巨大ミトコンドリア型先天性筋ジストロフィー (megaconical congenital muscular dystrophy) とも呼ばれるようになっている²⁾。

原因は長らく不明であったが、2006年に米国より、フォスファチジルコリン(PC)生合成経路の最初の反応を触媒するコリンキナーゼのβサブユニットを生来欠損した自然発症の *Chkb* 変異マウス *rmd* が報告された³⁾。このマウスは生下時より筋力低下を示す新たな筋ジストロフィー・マウスとして報告されたが、論文に掲載された筋病理写真では、筋線維辺縁部でのミトコンドリア巨大化と中心部でのミトコンドリア消失という「ミトコンドリア構造異常をともなう先天性筋ジストロフィー」と同様の特徴がみとめられた。そこで、われわれは、「ミトコンドリア構造異常をともなう先天性筋ジストロフィー」が *CHKB* 遺伝子変異によるとの仮説の下、*CHKB* 遺伝子解析をおこなった。

解析対象としたのは、原著記載の4例に、近年みいだされた同様の臨床病理所見を呈するトルコ人患者10例、イギリス人患者1例を加えた、計15例である。血液または骨格筋よりゲノムDNAを抽出後、*CHKB* 遺伝子の直接シーケンシングをおこなった。その結果、全例でホモ接合型または複合ヘテロ接合型変異をみいだした。みいだされた変異は11種類

で、その内訳は、ナンセンス変異またはフレームシフト変異は6種類、スプライシング部位変異は2種類、ミスセンス変異2種類、インフレーム欠失1種類であった。いずれの変異も、正常対照105例のDNAにはみとめられなかった⁴⁾。

さらに変異の病原性を確認すべく、生化学的解析もおこなった。ストップコドン変異を有する例のうち解析をおこなった3例では、生検筋でコリンキナーゼ活性が検出できなかった。ミスセンス変異については、当該ミスセンス変異を有するリコンビナント *CHKB* タンパク質を作製し、その酵素活性を測定したところ、コリンキナーゼ活性が正常対照の30%以下に減少していた。また、患者筋でのフォスファチジルコリン(PC)、フォスファチジルエタノラミン(PE)を薄層クロマトグラフィー法にて測定したところ、PCが減少する一方でPE量に有意な変化はみとめなかった⁴⁾。同様の変化は、*rmd* マウスの罹患筋でもみとめられた⁵⁾。以上の結果から、「ミトコンドリア構造異常をともなう先天性筋ジストロフィー」は *CHKB* 遺伝子の機能喪失型変異を原因とする疾患であると結論づけた。

われわれは更に分子病態の詳細を明らかにすべく、患者筋ならびに *rmd* マウス筋での筋線維ミトコンドリア数およびミトコンドリアDNA量の検討と電子顕微鏡的解析をおこなった。その結果、患者筋および *rmd* 筋ともに、ミトコンドリアならびにミトコンドリアDNAの数が減少していることが明らかとなった。さらに、電子顕微鏡標本上でチトクロームc酸化酵素(COX)活性染色をおこなうCOX電顕において、同一筋線維内にもかかわらず、COX活性を有するミトコンドリアと活性が消失したミトコンドリアが混在している所見が観察された。COX活性が消失したミトコンドリアは筋線維中心部に多く、また、ミトコンドリア周辺部に自己食細胞がみとめられた⁵⁾。これらの所見は、本疾患におけるミト

¹⁾ 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 [〒187-8502 東京都小平市小川東町4-1-1] (受付日：2013年5月30日)

コンドリア減少がミトコンドリアをターゲットとする自己食食、すなわち mitophagy によることを示唆している。そこで、更に *rmd* マウス筋で mitophagy 関連分子の発現を検討したところ、確かに病理学的異常の強い後肢筋でより強い Parkin, PINK1, LC3, ポリユビキチン, p62 の発現が観察された⁵⁾。

以上の結果から、「ミトコンドリア構造異常をともなう先天性筋ジストロフィー」は、1) CHKB 機能喪失を原因とすること、2) PC 合成能低下をきたすこと、3) PC/PE バランスをふくむ膜のリン脂質構成に変化をきたすこと、4) ミトコンドリアは mitophagy により減少することが明らかとなった^{4) -6)}。おそらく、膜のリン脂質構成に異常をきたしたミトコンドリアは酸化ストレスなどの影響を受けやすくなり、ダメージを受けたミトコンドリアが mitophagy により積極的に排除されるのであろうと考えられた。一方、残存したミトコンドリアはおそらく代償的に肥大しており、そのために筋線維周辺部のミトコンドリアが巨大化しているのではないかと考えられた⁶⁾。これまでに、このようなリン脂質合成異常による筋ジストロフィーの報告はなく新たな病態モデルを呈示するものである^{2) 6)}。更には、mitophagy が病態に関与するはじめての筋疾患であり、自己食食空胞性ミオパチー^{7) 8)}の枠組みでの捉え方も可能である。今回の発見は、筋疾患病態理解における新たなパラダイムを開く可能性がある。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

文 献

- 1) Nishino I, Kobayashi O, Goto Y, et al. A new congenital muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities. *Muscle Nerve* 1998;21:40-47.
- 2) Mitsuhashi S, Nishino I. Megaconial congenital muscular dystrophy due to loss-of-function mutations in choline kinase β . *Curr Opin Neurol*, in press.
- 3) Sher RB, Aoyama C, Huebsch KA, et al. A rostrocaudal muscular dystrophy caused by a defect in choline kinase beta, the first enzyme in phosphatidylcholine biosynthesis. *J Biol Chem* 2006;281:4938-4948.
- 4) Mitsuhashi S, Ohkuma A, Talim B, et al. A congenital muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities caused by defective de novo phosphatidylcholine biosynthesis. *Am J Hum Genet* 2011;88:845-851.
- 5) Mitsuhashi S, Hatakeyama H, Karahashi M, et al. Muscle choline kinase beta defect causes mitochondrial dysfunction and increased mitophagy. *Hum Mol Genet* 2011;20:3841-3851.
- 6) Mitsuhashi S, Nishino I. Phospholipid synthetic defect and mitophagy in muscle disease. *Autophagy* 2011;7:1559-1561.
- 7) Nishino I. Autophagic vacuolar myopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2003;3:64-69.
- 8) Nishino I. Autophagic vacuolar myopathy. *Semin Pediatr Neurol* 2006;13:90-95.

Abstract

New congenital muscular dystrophy due to CHKB mutations

Ichizo Nishino, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Department of Neuromuscular Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry

Congenital muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities (MIM #602541), or also called megaconial congenital muscular dystrophy, is characterized clinically by early-onset muscle wasting and severe mental retardation, and pathologically by peculiar enlarged mitochondria that are prevalent toward the periphery of the fibers but are sparse in the center on muscle biopsy. Based upon the similarity in the pathological features to *rmd* mouse which has a recessive mutation in *Chkb* gene encoding the choline kinase β that catalyzes first enzymatic step in a biosynthetic pathway for phosphatidylcholine, we have sequenced the *CHKB* gene in 15 patients with the disease and identified identified biallelic mutations in all patients. In muscle of three affected individuals with nonsense mutations, choline kinase activities were undetectable, and phosphatidylcholine levels were decreased while phosphatidylethanolamine levels were unchanged. Recombinant CHKB with identified missense mutations also showed reduced choline kinase activity, indicating that the disease is caused by the loss-of-function mutations in *CHKB*. Furthermore, mitochondria in the center of muscle fibers were subjected to autophagy on electron microscopy and these mitochondria did not have cytochrome *c* oxidase activity. The expression of parkin, PINK1, LC3, polyubiquitin, and p62 was upregulated in *rmd* muscles, indicating that mitochondria are eliminated by mitophagy.

(*Clin Neurol* 2013;53:1112-1113)

Key words: congenital muscular dystrophy, choline kinase, mitochondria, phospholipid, mitophagy