

## 他施設にて筋生検された後に当院に入院精査した症例

分担研究者 川井 充（国立精神・神経センター武蔵病院第二病棟部長）

大矢 寧、川井 充（国立精神・神経センター武蔵病院神経内科）

**研究要旨** 最近3年間で10例検討した。4例は検体検索が当センターに依頼されていて診断に至らなかったが、不適当な部位や検体だったり、臨床情報が不十分だった。病態をある程度把握したが、再生検できず診断確定できなかった。4例は前医で診断未確定だったが、臨床的検討に加え前施設の標本を取寄せ、診断できた。2例は、2~3回生検され Kugelberg-Welander 病と診断されていたが、萎縮した近位筋と調べた遠位筋の針筋電図は筋原性だった。生検診断で不可欠な臨床情報を他施設からは得られていない症例がある。

### 研究目的

他施設での筋生検後に当院に入院精査した症例での問題点を検討することで、多数の施設から提供される筋バンクの検体の問題点を明らかにする。

### 研究方法

最近3年間に、他施設で筋生検され、診断に問題があつて当科に入院した10例で、retrospectiveに前施設でなぜ診断に至らなかったのかを検討した。

### 研究結果

10例は、3群に分類された。

① 検体検索が当センターに依頼されたが、診断に至らなかった4例では、臨床的に病態をある程度把握したが、再生検できず、診断確定できなかった。

[以下、疑診を?で、当院での診断変更を→で示す。]

筋炎?→肢帯型筋ジストロフィー の2例:

pauchyな、著しい筋萎縮の記載がなかったが、さらに、45歳女性では、二回生検ともendstageの部位を選んでいった。(筋CTを撮らず、MRIのT2強調画像高信号のみを評価していた。)

57歳男性では、三回生検とも殆どがパラフィン包埋され、凍結検体作成は1回のみで微小であり、電顕標本は作成されていなかった。

遠位型ミオパチー? 遺伝性運動感覚ニューロパチー?→ニューロパチー(HMSN?)の24歳男性: 四肢遠位の感覚低下の記載がなかった。針筋電図は痛がるので十分に出来ずに、信頼性ある筋電図所見が得られなかった。

外眼筋・顔面・軟口蓋・咽頭と四肢に及ぶ非典型的なミオパチーの31歳女性: 標本は凍結のみで、小さく、かつ融解していた。

② 前医で診断未確定で、評価入院した4例では、臨

床的検討に加え、前施設での標本を取寄せ、診断した。

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー?→筋炎 の23歳男性: 強皮症・皮膚筋炎の皮膚所見、組織学的には筋内鞘の毛細血管の血管内皮が肉厚で目立つ所見。(更に再生検でもperifascicular atrophyを伴う著明な炎症所見で、皮膚筋炎の確定)<sup>1)</sup>

Becker型筋ジストロフィー?→先天性 nemaline myopathy の53歳男性: 高口蓋あり、多数のnemaline小体などの典型的な所見。

高CK血症?→肢帯型筋ジストロフィー の35歳男性: 筋萎縮、筋球の存在や筋電図所見と、壊死再生所見。

眼咽頭型筋ジストロフィー(OPMD)?眼咽頭遠位型ミオパチー(OPDM)?→OPDMの34歳男性: OPMDとしては年齢も若かったが、OPMD遺伝子異常なく、電顕で核内封入体を認めた。

③ まだ前施設での標本の取寄せが出来ていない2例は、筋電図で病態が異なることが半明した。2~3回生検され Kugelberg-Welander 病(KW)と診断されていたが、萎縮の目立つ近位筋と検査した範囲内の遠位筋の針筋電図は筋原性だった。64歳女性例は顔面筋罹患なく、左右差の目立つ肢帯型筋ジストロフィーと考えた。なおSMN遺伝子の検索では正常であった。19歳男性例は高口蓋・側弯などを伴い、針筋電図では安静時脱神経電位が殆ど認められなかったことなどから、先天性ミオパチーと考えた。

### 考察

送付検体で、診断に至らなかった理由は、重要な臨床情報の欠落、不適切な筋生検部位、ないし不適切な検体処理であった。一部の症例は残念ながら、前施設で診察と基本的な検査が行われないままに生検された可能性が高かった。既に数回生検されている症例も少なくなく、当科での再度の生検は行えなかったため、

臨床的な病態把握にとどまった症例が多かった。筋生検は反復が困難な検査と考え、十分に評価した上で適切に行う必要がある。

前施設で生検検体の検索がなされていた症例でも同様の問題点が認められたが、前施設で適切な検体処理が行われていた症例では、標本ないし検体を送付いただいで、検索を追加することで、臨床的検討と合わせて、診断することができた。

KW とされていた 2 症例の針筋電図は、低電位の運動単位が早期から多数動員され、干渉するが、通常の gain では一見運動単位が少なく見えるために神経原性と判断された可能性が高いと考えた。数回のうち、最近の筋生検部位は、1 例は短腓骨筋、他の 1 例は側弯手術時の傍脊柱筋であり、神経原性変化の要素は合併していたとしても筋疾患として矛盾はない可能性がある。過去に KW として報告された症例の中には先天性ミオパチーなどの筋疾患が紛れ込んでいるために<sup>2)</sup>、改めて疾患概念の再検討が必要であろう。

## 結論

多数の施設から検体提供を受ける筋バンクの問題点は、①神経筋疾患の生検診断で不可欠な臨床情報を他施設からは得られていない症例があることと、②生検部位の選択、検体処理方法などは適切に行われていない施設があることである。

## 健康危険情報

### 研究発表

#### 1. 論文発表

1) 大矢 寧、當山 潤、小川雅文、埜中征哉、川井 充：顔面・肩甲・上腕に強い筋罹患を示し、致死的な心筋障害を伴った皮膚筋炎・強皮症の合併例。臨床神経 41(6): 289-295, 2001

#### 2. 学会発表

2) 村上泰生、大矢 寧、川井 充、古和久朋、宮地三千代：心不全を伴い、筋生検所見が一見神経原性変化と見誤る、遺伝性ネマリンミオパチーの 39 歳男性例。第 158 回日本神経学会関東地方会、2001.11.24、B17

知的財産権の出願・登録 なし

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）  
分担研究報告書

精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究

分担研究者 後藤雄一 国立精神・神経センター神経研究所

研究要旨

生検リサーチ・リソース・ネットワークにおける承諾書を、平成13年4月に施行された「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠すべく、改訂作業を行った。改訂の要点は、診断と研究の区分、遺伝子解析研究の説明の明確化、同意撤回の容易さの確保、遺伝カウンセリングの対応などである。本改訂承諾書をプロトタイプにし、各参加施設での承諾書の改訂が行われる予定である。

A. 研究目的と社会情勢

平成9年度から平成11年度に行われた厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）「生検材料による神経・筋疾患等の成因解明と治療に関する研究」班（主任研究者：埜中征哉）、及び「剖検脳等を用いた精神・神経疾患の発生機序と治療に関する研究」班（主任研究者：高嶋幸男）において、法的・倫理的問題が検討されてきた。〔精神・神経疾患リサーチリソースネットワーク（バンク）に関する研究：総合研究報告書、pp101-108〕

平成12年度より「精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究」（主任研究者：高嶋幸男）が開始され、倫理的課題については社会情勢の変化に的確に対応する必要性から、インフォームド・コンセントに係わる手順や書式の改訂等を行う予定した。その後、平成12年8月15日の朝日新聞の「小児脳バンク」に関する報道により、行政解剖後の検体の研究使用に関する問題が指摘された。本報道に関連する検討を重ねる中で、「死体解剖保存法」に係わる問題の整理を行った。

今年度は、平成13年4月に施行された「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（文部科学省、厚生労働省、経済産業省）に準拠した生検に関わる承諾書の改訂を行った。

B. 承諾書改訂の要点

(1) 診断と研究の区分

診断と研究に関する承諾をまず大別した。診断に関するところでも、まず病理・生化学診断と遺伝子診断を区別した。さらに遺伝子診断においては、可能性のある全ての疾患に対する遺伝子診断と疾患名で限定した遺伝子診断とを選択できるようにした（資料1-1、1-2、1-3、資料2-1、資料

3-1、3-2）。

(2) 遺伝子解析研究の明示

研究使用に関する部分については、はじめから遺伝子解析研究を前提にしているの、その点を明確に説明し、承諾を得ることとした。（資料1-1、1-2、1-3、資料2-2、資料3-2）

(3) 同意撤回に関する書類の明確化

同意撤回は、あらゆる場合を想定し、資料3-4のような承諾書の変更願いを作成した。

(4) 患者用説明文書の作成

医師のガイドライン（資料3-1、3-2、3-3）に加えて、患者さんにお渡しする説明文書（資料2-1、2-2）を作成した。

(5) 遺伝カウンセリングについて

武蔵病院では、平成14年4月より正式に「遺伝カウンセリング外来」が発足した。遺伝子診断に関して、また疾患の遺伝子解析研究に関して、遺伝カウンセリングを希望する場合には、「遺伝カウンセリング」担当者が対応できるようにした。

(6) 個人情報の保護について

個人を特定できる情報の記載してある書類は検査実施者の責任で、鍵のかかる書庫に保管すること、個人を特定できる情報を含む患者データベースは、武蔵病院DNA診断・治療室と神経研究所微細構造研究部の端末のそれぞれ1台ずつのみが専用回線で結ばれたクローズドの情報管理とし、アクセスできるのは検査実施者とその指示で作業をする者に限定することを、医師用ガイドラインと患者用説明文書に明記した。

C. 研究発表 なし

D. 知的所有権の取得状況 なし

(検査実施者保管用)

## 診断と検体の研究使用に関する承諾書

患者氏名 \_\_\_\_\_ 記入日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

患者住所 〒 \_\_\_\_\_

患者本人が判断ができず、代理人が承諾する場合は、次の欄も記入してください。

代理人氏名 \_\_\_\_\_ (患者との関係 \_\_\_\_\_)

代理人住所 〒 \_\_\_\_\_

検体の種類 (○で囲む) : 骨格筋、末梢神経、皮膚、血液、その他 \_\_\_\_\_

培養の有無 (○で囲む) : あり、なし

## 病理・生化学診断に関すること

私は、担当医師が上記検体を用いた病理・生化学診断を、下記の検査実施者に依頼することを承諾いたします。

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 遺伝子診断に関すること

私は、担当医師から説明を受け、その趣旨を十分理解しましたので、上記検体を用いて、次の遺伝子診断を下記の検査実施者に依頼することを承諾いたします。(いずれかの番号を○で囲む)

1. 可能性のある全ての疾患に対する遺伝子診断
2. 疾患名 : \_\_\_\_\_ の遺伝子診断

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 研究使用に関すること

私は、神経・筋疾患の病因・病態解明と治療法開発のために、上記検体の一部が保管され、下記検査実施者の所属施設または共同研究者の施設において、遺伝子解析を含む研究に使用されることについて、担当医師から必要かつ適切な説明を受け、その趣旨を十分理解しましたので、承諾いたします。

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 説明を行った医師の署名

私は、上記患者 (または代理人) に、本承諾書ガイドラインの内容も含めて、十分な説明を行い、承諾を得ましたので、上記検査・研究使用、あるいはその両者を依頼します。遺伝子解析を依頼する場合は、特にその特殊性に配慮して説明しました。検査実施者より診断結果の通知を受けた際には、責任を持って上記患者 (または代理人) にその内容を説明します。

医師署名 \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

病院名 \_\_\_\_\_ 科名 \_\_\_\_\_

住 所 〒 \_\_\_\_\_

## 検査実施および検体管理責任者

氏 名 壺中征哉・後藤雄一・西野一三

住 所 〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1

所属機関 国立精神・神経センター武蔵病院DNA診断・治療室

電 話 042-341-2711 (代表)、042-346-1770 (直通)

2001年 7月19日 倫理委員会承認

(医師保管用)

## 診断と検体の研究使用に関する承諾書

患者氏名 \_\_\_\_\_ 記入日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_ 月 \_\_\_\_ 日

患者住所 〒 \_\_\_\_\_

患者本人が判断ができず、代理人が承諾する場合は、次の欄も記入してください。

代理人氏名 \_\_\_\_\_ (患者との関係 \_\_\_\_\_ )

代理人住所 〒 \_\_\_\_\_

検体の種類 (○で囲む) : 骨格筋、末梢神経、皮膚、血液、その他 \_\_\_\_\_

培養の有無 (○で囲む) : あり、なし

## 病理・生化学診断に関すること

私は、担当医師が上記検体を用いた病理・生化学診断を、下記の検査実施者に依頼することを承諾いたします。

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 遺伝子診断に関すること

私は、担当医師から説明を受け、その趣旨を十分理解しましたので、上記検体を用いて、次の遺伝子診断を下記の検査実施者に依頼することを承諾いたします。(いずれかの番号を○で囲む)

1. 可能性のある全ての疾患に対する遺伝子診断
2. 疾患名 : \_\_\_\_\_ の遺伝子診断

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 研究使用に関すること

私は、神経・筋疾患の病因・病態解明と治療法開発のために、上記検体の一部が保管され、下記検査実施者の所属施設または共同研究者の施設において、遺伝子解析を含む研究に使用されることについて、担当医師から必要かつ適切な説明を受け、その趣旨を十分理解しましたので、承諾いたします。

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 説明を行った医師の署名

私は、上記患者 (または代理人) に、本承諾書ガイドラインの内容も含めて、十分な説明を行い、承諾を得ましたので、上記検査・研究使用、あるいはその両者を依頼します。遺伝子解析を依頼する場合は、特にその特殊性に配慮して説明しました。検査実施者より診断結果の通知を受けた際には、責任を持って上記患者 (または代理人) にその内容を説明します。

医師署名 \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

病院名 \_\_\_\_\_ 科名 \_\_\_\_\_

住 所 〒 \_\_\_\_\_

## 検査実施および検体管理責任者

氏 名 埜中征哉・後藤雄一・西野一三  
住 所 〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1  
所属機関 国立精神・神経センター武蔵病院 DNA 診断・治療室  
電 話 042-341-2711 (代表)、042-346-1770 (直通)

2001年 7月19日 倫理委員会承認

(患者保管用)

## 診断と検体の研究使用に関する承諾書

患者氏名 \_\_\_\_\_ 記入日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

患者住所 〒 \_\_\_\_\_

患者本人が判断ができず、代理人が承諾する場合は、次の欄も記入してください。

代理人氏名 \_\_\_\_\_ (患者との関係 \_\_\_\_\_ )

代理人住所 〒 \_\_\_\_\_

検体の種類 (○で囲む) : 骨格筋、末梢神経、皮膚、血液、その他 \_\_\_\_\_

培養の有無 (○で囲む) : あり、なし

## 病理・生化学診断に関すること

私は、担当医師が上記検体を用いた病理・生化学診断を、下記の検査実施者に依頼することを承諾いたします。

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 遺伝子診断に関すること

私は、担当医師から説明を受け、その趣旨を十分理解しましたので、上記検体を用いて、次の遺伝子診断を下記の検査実施者に依頼することを承諾いたします。(いずれかの番号を○で囲む)

1. 可能性のある全ての疾患に対する遺伝子診断
2. 疾患名 : \_\_\_\_\_ の遺伝子診断

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 研究使用に関すること

私は、神経・筋疾患の病因・病態解明と治療法開発のために、上記検体の一部が保管され、下記検査実施者の所属施設または共同研究者の施設において、遺伝子解析を含む研究に使用されることについて、担当医師から必要かつ適切な説明を受け、その趣旨を十分理解しましたので、承諾いたします。

署名 (患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

## 説明を行った医師の署名

私は、上記患者 (または代理人) に、本承諾書ガイドラインの内容も含めて、十分な説明を行い、承諾を得ましたので、上記検査・研究使用、あるいはその両者を依頼します。遺伝子解析を依頼する場合は、特にその特殊性に配慮して説明しました。検査実施者より診断結果の通知を受けた際には、責任を持って上記患者 (または代理人) にその内容を説明します。

医師署名 \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

病院名 \_\_\_\_\_ 科名 \_\_\_\_\_

住 所 〒 \_\_\_\_\_

## 検査実施および検体管理責任者

氏名 埜中征哉・後藤雄一・西野一三  
 住所 〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1  
 所属機関 国立精神・神経センター武蔵病院 DNA 診断・治療室  
 電話 042-341-2711 (代表)、042-346-1770 (直通)

2001年 7月19日 倫理委員会承認

## 「診断と検体の研究使用に関する承諾書」

### 患者さん用説明文書

あなた（代理人の場合は、当該の患者さん（以下同））の病気の診断のために、血液、筋肉、神経、皮膚などの組織を調べる必要があると、あなたの担当医師が判断しました。あなたから採取された検体は、国立精神・神経センターに届けられ、各種検査が行われようとしています。この書類は、患者さんが説明内容を理解するために作成されたものです。必ず、担当医師から十分に説明を受け納得した上で、「診断と検体の研究使用に関する承諾書」に必要事項を記入して下さい。

国立精神・神経センターでは、あなたの承諾を頂いていなければ、いかなる診断的検査も研究も行いません。あなたの個人情報厳重に保護されます。また、承諾された内容については、いつでも中止や変更を加えることが出来ます。

検体を用いた診断には大きく分けて、病理・生化学診断と遺伝子診断があります。

#### 病理・生化学診断に関すること

「病理・生化学診断」は国立精神・神経センター及びその協力施設で行います。その結果は個人情報も含めて患者台帳へ登録されます。そして、その結果は依頼を行った担当医師に送付され、結果の説明は、その担当医師により行われます。病理・生化学診断も様々な検査の1つですので、あなたの病気の全体像を把握している担当医師でないと、結果を正しく解釈できない恐れがあるからです。

検体は、再検査の可能性を考慮し、少なくとも1年間は保存します。また、それ以降も出来るだけ長く保存するように努めますが、ただし希望により、担当医師を通じて「変更願」を提出することにより保存をいつでも中止できます。

#### 遺伝子診断に関すること

「遺伝子検査」は医学の進歩により、確定診断を行うために欠かせない検査となってきました。しかし、遺伝子検査は通常の検査とは異なり、あなたはもとよりあなたの家族についての情報も知り得る可能性があります。また、確定診断ばかりではなく、将来の病気に対するかかりやすさを調べたり、発症前や出生前の診断にも利用することができます。したがって、このような遺伝子検査の特徴を十分理解していただくために担当医師から十分な説明を受けていただきます。できれば、専門的な遺伝についての情報は、遺伝カウンセリングとして各施設の担当者からお話を聞いてください。

もし遺伝カウンセリングを行う担当者がいない場合は、武蔵病院 DNA 診断・治療室にご連絡いただければ、担当者をご相談に応じます。

検査の結果は、担当医師に送付され、結果の説明は担当医師によって行われます。ただし遺伝カウンセリングを担当する医師からの依頼の場合は、その医師に報告されます。検査後の結果についての説明などに、疑問や心配な点がありましたら遠慮せずに各施設の担当医師におたずねいただくか、または武蔵病院 DNA・診断治療室にご連絡ください。

病理・生化学検査と同時に遺伝子診断を承諾され、「1. 可能性のある全ての疾患に対する遺伝子診断」を選択された場合は、病理・生化学検査の結果に応じ必要な遺伝子診断を行います。従って、病理・生化学検査の結果によっては、現時点で想定していない疾患に対する遺伝子診断を行うこともあり得ます。

検体は、再検査の可能性を考慮し、少なくとも1年間は保存します。また、それ以降も出来るだけ長く保存するように努めますが、ただし希望により、担当医師を通じて「変更願」を提出することにより保存をいつでも中止できます。

### 研究使用に関すること

依然として、多くの神経・筋疾患の原因は不明で、根本的治療法がありません。一日も早く、病気の原因を解明し新しい治療薬や治療法を開発するには、患者さんの検体を用いた研究が不可欠です。あなたを含めた一人一人の患者さんの検体の研究使用が、一日も早い神経・筋疾患解決の鍵です。是非、ご協力下さい。もちろん、研究使用を承諾しなくても、通常の検査で不利益を被ることは全くありません。また、いつでも研究使用を中止することができます。また、あなたが研究使用を承諾しても、そのために採取される検体量が増えたり、再度、検体の採取が行われることはありません。

研究使用を承諾した場合でも、あなたの検体を「神経・筋疾患の病因・病態解明と治療法開発」以外の目的で使用することはありません。これらの研究では、病気の原因を明らかにするために、遺伝子を調べることもあります。しかし、その情報は、上記の目的以外で使用されることはありません。あなたの検体を用いて得られた研究成果は、順次、学術会議や学術誌などに公表していきます。ただし、個人を特定できる情報は一切公にしません。また、他施設との共同研究が必要な場合も、共同研究機関に対してご自身を特定できる情報は提供しません。その際、個人を特定できないように匿名化（番号だけにする）しますが、カルテにある臨床情報と研究結果を対比させながら臨床研究を進めることが重要な場合には、一旦匿名化した後でもう一度患者さんの臨床情報をたどる作業が必要になります。（これを連結匿名化といいます）。その任務と責任は検体管理者にあります。

一方、一度匿名化したら二度と患者さんの臨床情報をたどれなくすることもありますが（これを連結不可能匿名化といいます）。この場合は、匿名化した後は検体がだれのものかわからなくなりますので、研究結果を患者さん個人にお知らせすることは出来ません。

もし、あなたの病気について現時点で診断がつかなかった場合でも、あなたの検体を用いて、将来的に診断が確定できる場合があります。これらの診断情報は、随時あなたの担当医師に報告します。

またその際に新しい診断が遺伝子診断に基づく場合には、担当医師に連絡して診断を行う前後に遺伝カウンセリングを行えるようにするか、武蔵病院 DNA 診断・治療室の遺伝カウンセリング担当者が相談に応じます。

### 承諾した内容を変更したいとき

「診断と検体の研究使用に関する承諾書」において承諾した内容は、いつでも、どのような形でも、変更を加えることができます。担当医師を通して、変更願を提出して下さい。「変更願」はあなたの担当医師が持っています。

### その他

検査実施および検体管理責任者は、組織改編・人事異動等により、予告なく変更される場合があります。

〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1

国立精神・神経センター武蔵病院 DNA 診断・治療室

埜中征哉・後藤雄一・西野一三

電話 042-341-2711 (代表)、042-346-1770 (直通)

2001年 7月19日 倫理委員会承認



## 「診断と検体の研究使用に関する承諾書」

### 医師用ガイドライン

このガイドラインは、医師が国立精神・神経センターに診断サービスおよび検体の研究使用を依頼するにあたり、患者さん（または代理人）にそのことを説明して承諾を得る際の手順と注意点について書かれています。担当医師は、必ずよく読んでから説明を行ってください。患者さんには、説明の前に、必ず「患者さん用説明文書」をお渡し下さい。

また、この承諾書は診断と検体の研究使用に関するものですので、生検行為そのものに関すること（何の組織を、どのような方法で、誰が生検するのかなど）の承諾が必要であれば、別にお取り下さい。

尚、下記の内容を説明する際には、参考図（3ページ目）もご参照ください。

#### 病理・生化学診断に関すること

以下のことを患者さんまたは代理人の方に説明し、承諾を得た場合は、患者氏名欄に自署の上、捺印してもらって下さい（印鑑のないときは自署のみで結構です）。ここでいう代理人とは、原則として、患者さんご本人が検査の趣旨や結果を十分に理解できないときに、患者さんご本人の利益のために代弁できる最近親者とします。

- ① 検査の意義や限界、結果の解釈などの検査自体に関すること。
- ② 最終結果報告以前であれば、いつでも、担当医師を通じて検査を中止できること。
- ③ プライバシーは最大限守られること。  
患者さんの氏名や患者番号などの患者さんを特定できる情報は、検査実施者のみ知りうるようにしています。
- ④ 再検査の可能性を考慮し、少なくとも1年間は生検材料を保存し、それ以降も出来るだけ長く保存するよう努力すること。  
ただし、不慮の事故（フリーザーの故障、天変地異など）で、保存している生検材料が検査に適さなくなった場合は、免責されます。また、患者さんの求めがあれば、担当医師を通じて保存をいつでも中止できます。
- ⑤ 検査結果の説明  
検査結果は、検査実施者から、担当医師へ文書で知らされます。担当医師が患者さん（または代理人）に検査結果を説明するものとします。
- ⑥ その他の必要事項  
郵送費や検査料（現在のところ無料）など、その他必要事項をお話してください。

#### 遺伝子診断に関すること

説明する点は、上記、病理・生化学診断と基本的に同一です。しかし、遺伝子検査は通常の検査とは異なり、患者本人はもとより家族についての情報も知ることになる上、保因者診断、発症前診断にも用いられるなど、その特殊性を十分理解する必要があります。したがって、患者さんやご家族のプライバシーを最大限に保護する必要があります。このような遺伝子検査の特殊性を踏まえて、十分な説明を行って下さい。また、疾患の発症機序や変異検出法によっては、検査結果が必ずしも確定診断に結びつかない可能性があることを説明してください。検査結果の説明の際には、遺伝形式や発症年例などに考慮し、できるだけ遺伝カウンセリングのサービスを受けられるようにして下さい。必要があれば、武蔵病院 DNA 診断・治療室の担当者にご相談ください。

病理・生化学検査と同時に遺伝子診断を依頼され、「1. 可能性のある全ての疾患に対する遺伝子診断」を選択された場合は、病理・生化学検査の結果に応じ必要な遺伝子診断を行います。また、将来、遺伝子診断が可能になった場合にも、遺伝子診断を行うことがあります。この選択をした場合には、当初予測しなかった疾患についても、診断目的で遺伝子解析が行われる可能性があることを十分ご説明下さい。また、当初

考えていた疾患と遺伝子診断の結果が異なった場合には、遺伝形式の違いなどに十分に配慮して結果を説明して下さい。

特定の疾患のみについて遺伝子診断を依頼する場合は、「2.」を○で囲み、その疾患名を記入して下さい。

遺伝子診断を中止したい場合や、特定の疾患のみに対する遺伝子診断に変更したい場合は、いつでも担当医師を通じて、このような変更や中止ができることを説明して下さい。

以上の点を患者さん（または代理人）に説明し、承諾を得た場合は、患者氏名欄に、署名・捺印をもらって下さい（印鑑のないときは自署のみで結構です）。

### 研究使用に関すること

依然として未知の部分が多い神経・筋疾患の病因・病態の全容が解明され、新しい治療薬や根本的治療法が開発される日を多くの患者さんが待ち望んでいます。このような目的を達成するためには、研究に患者さんの検体を用いることが不可欠です。是非、患者さんへのご協力をお願いして下さい。

以下の点を患者さん（または代理人）に説明し、承諾を得た場合は、患者氏名欄に、署名・捺印をもらって下さい（印鑑のないときは自署のみで結構です）。

- ① 研究使用への承諾は、患者さんの自由意志であること。
- ② 検体使用は、神経・筋疾患の病因・病態解明と治療法開発目的の研究に限られること。
- ③ 検体を用いて、疾患の病因・病態に関与する遺伝子の解析を行うことがあること。
- ④ 検査実施者以外の研究者、たとえば他施設の共同研究者等が研究使用する際には、それら研究者に対して、患者さんご本人を特定できる情報は提供しないこと。
- ⑤ 研究使用のために保存する時は、直ちに個人が特定できないように番号などで匿名化しますが、その際、臨床情報を後で見直すことができるように誰の検体かをわかるようにしておく場合（連結可能匿名化といいます）と、誰の検体かをまったくわからなくする場合（連結不可能匿名化といいます）とがあること。前者の場合には、検体管理責任者だけが患者情報にさかのぼることができること。
- ⑥ 研究成果を学術論文や学会発表等を通じて公表します。上記の連結可能匿名化の場合には患者さん（または代理人）に、個別かつ直接的に、その内容を知らせることが可能です。しかし、その情報の開示の前と後で、遺伝カウンセリングを受けられるようにしてください。また、上記の連結不可能匿名化の場合には、患者さん（または代理人）に、個別かつ直接的に、その内容を知らせることができないことを、お話しください。
- ⑦ 担当医師を通じて、検体の保存及び研究使用をいつでも中止できること。

### 承諾した内容を変更したいとき

承諾した内容は、「診断と検体の研究使用に関する承諾書」に署名した患者さん（または代理人）の希望により、その一部または全てについて、いつでも中止や変更を行うことができます。承諾書に署名した患者さん（または代理人）の要請があった際には、担当医師は本ガイドラインの最終ページにある「診断と検体の研究使用に関する承諾書の変更願」を患者さん（または代理人）に渡して下さい。患者さん（または代理人）が必要事項を記入し、署名と捺印をした後、説明した医師の自署と捺印を加え（いずれも印鑑のないときは自署のみで結構です）、担当医師が検査実施者にお送りください。検査実施者は、適切に処理したことを証明する文書を担当医師宛にお送りします。担当医師は、その写しを患者さん（または代理人）に渡し、原本をカルテに保管して下さい。

### 個人情報の保護と文書の保管

個人を特定できる文書（患者さんの臨床情報が記載されたもの）は、鍵のかかる保管庫に保管され、また患者情報はデータベース化されます。このデータベースは、武蔵病院 DNA 診断・治療室の 1 台のコンピュー

ーターとそれと専用回線で結ばれた神経研究所の1台のコンピューターの合計2台だけで管理します。これらの情報にアクセスできるのは、検査実施者（及び検体管理責任者）とその指示により作業をする者のみです。

必要事項の記入と署名・捺印を終えた「診断と検体の研究使用に関する承諾書」は、検査実施者が原本を保管しますので、「検査実施者保管用」を送付してください。担当医師は「医師保管用」をカルテに保管し、「患者保管用」を患者さん（または代理人）に渡してください。

また、本ガイドラインの最後に付属している「診断と検体の研究使用に関する承諾書の変更願」は、このガイドラインと共に担当医師が保管してください。患者さん（または代理人）から要請があった場合には、前項の通り、所定の欄に記入し、検査実施者宛にお送り下さい。

**その他**

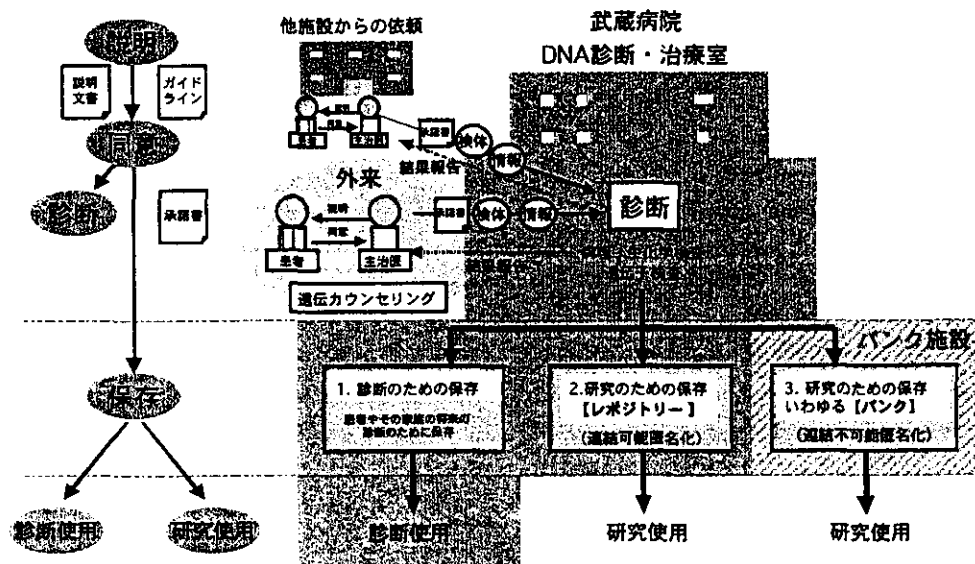
検査実施および検体管理責任者は、組織改編・人事異動等により、予告なく変更される場合があります。

〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1  
 国立精神・神経センター武蔵病院 DNA 診断・治療室  
 榎中征哉・後藤雄一・西野一三  
 電話 042-341-2711 (代表)、042-346-1770 (直通)

2001年 7月19日 倫理委員会承認

**参考図**

**説明と同意（診断→保存→使用）**



## 診断と検体の研究使用に関する承諾書の 変更願

患者氏名 \_\_\_\_\_ 記入日 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_ 月 \_\_\_\_ 日

患者住所 〒 \_\_\_\_\_

患者本人が判断ができず、代理人が承諾する場合は、次の欄も記入してください。

代理人氏名 \_\_\_\_\_ (患者との関係 \_\_\_\_\_ )

代理人住所 〒 \_\_\_\_\_

### 患者記入欄

私の検体の取り扱いに関し、以下の変更を行ってください。(該当する番号を○で囲む)

1. 一切の病理・生化学診断を中止
2. 一切の遺伝子診断を中止
3. 遺伝子診断を特定の疾患のみの承諾に変更  
疾患名: \_\_\_\_\_
4. 診断目的の検体保存を中止
5. 診断目的の検体保存は認めるが、研究目的の検体保存は中止
6. 検体保存を中止(診断使用も、研究使用も中止)
7. その他: \_\_\_\_\_

署名(患者または代理人) \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

### 担当医師の署名

上記のごとく、診断と検体の研究使用に関する承諾に関して、変更する申し出がありましたので、お知らせします。承諾内容の変更に応じて、適切に処理したことを証明する文書をお送り下さい。

医師署名 \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

病 院 名 \_\_\_\_\_ 科 名 \_\_\_\_\_

住 所 〒 \_\_\_\_\_

変更願の送付先

〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1

国立精神・神経センター武蔵病院 DNA 診断・治療室

埜中征哉・後藤雄一・西野一三

2001年 7月19日 倫理委員会承認

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）  
分担研究報告書

国立精神・神経センター生検 RRN における筋芽細胞の保存状況と今後の課題

分担研究者 後藤雄一 国立精神・神経センター神経研究所

研究要旨

平成 10 年 7 月から開始した各種筋疾患患者骨格筋を用いた筋芽細胞の樹立は、平成 12 年末の時点で 190 検体であったのに対し、平成 13 年には 11 月末現在ですでに 108 検体を追加した。その内訳は、筋ジストロフィー、先天性ミオパチー、ミトコンドリア脳筋症などである。筋芽細胞を用いた ATP 合成能の測定などの診断的活用はもとより、当研究所内外の研究者による研究使用が着実に進んでいる。現在保存している細胞は基本的に初代培養のみであるが、SV40 Large T 抗原を導入した細胞系の供給も考慮しレトロウィルスベクターを用いた効率的な形質転換の方法も導入した。今後は、研究者の必要とするさらなる条件での細胞供与、倫理的条件の確認、長期保存に関する問題等を検討する予定である。

A. 研究目的

生検リサーチ・リソース・ネットワーク(RRN)において、凍結骨格筋とともに、筋芽細胞の保存は診断的、研究的価値が高い。国立精神・神経センターでは、平成 10 年 7 月より各種筋疾患患者骨格筋を用いた筋芽細胞の樹立を開始した。今年度は、保存細胞の集計を行うとともに、診断使用と研究使用の現状を報告する。

B. 研究方法

(1) 承諾書の確認

平成 13 年 7 月に、国立精神・神経センター倫理委員会において、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 13 年 4 月施行）」に準拠した、「診断と検体の研究使用に関する承諾書」が承認された。この新承諾書も、旧バージョンと同様に、培養細胞の樹立についての検体提供者からの同意を得ることを明文化し、しかも承諾書にその旨を明記するようになっている。

(2) 骨格筋検体の樹立

骨格筋検体の採取時には、組織化学・生化学用に凍結固定、電子顕微鏡用にグルタルもしくはパラホルムアルデヒド固定を行う。培養細胞用には無固定で、筋肉片を培養液もしくは生理的食塩水に浸し、室温または水温で搬送することが必要である。経験的に採取後 24 時間後までに操作を開始すると、培養細胞の樹立は確実にできる。

(3) 筋芽細胞の樹立

筋肉片を Hanks 液で洗浄後、はさみ、ナイフなどでミンスし、トリプシン、コラゲナーゼ処理を行う。一度、10 cm シャーレにプレティングし、60 分放置し、上澄を別なシャーレに移し、元のシ

ャーレと区別する。どちらも、D-MEM/F12+20% FBS の培養液を用い、2 回/周程度の培養液交換をしながら、14~50 日間の期間培養し、コンフルエントになるのを待つ。

(4) 保存

10 cm シャーレがコンフルエントになったら、セルバンカーを用いて凍結処理を行い、-85℃のフリーザーに保存する。また、一部は液体窒素タンクに保存する。必要時に再融解し、診断使用及び研究使用に供する。今までの約 4 年間で、凍結検体から再樹立に失敗したことはない。

(5) 情報の追加

生検筋が搬送された後で、通常の病理学的検査に加えて、必要によりジストロフィン染色などの免疫組織化学染色の所見、ウェスタンブロットや各種酵素活性測定値などの生化学的所見、さらにジストロフィン遺伝子やミトコンドリア DNA などの遺伝子変異情報が得られる。これらの情報を集め、総合的に診断名がつけられ、主治医を通して患者に情報が還元される。この作業は、生検筋を受け取ってから、2 ないし 3 ヶ月かかるのがふつうである。情報は、武蔵病院 DNA・診断治療室、神経研究所微細構造研究部、疾病研究第二部のそれぞれの担当責任者の元に保管されている。

これらの情報で診断が確定した検体ばかりでなく、未確定の検体も多数存在する。診断確定の場合も、未確定の場合も、病因・病態研究にとっては、貴重なリソースとなる。実際の、このような検体から新たな疾患の発見が行われている。

診断がわからなくても、検体採取時に培養操作を開始しなくてはならないが、ある程度の無駄の生じることはやむを得ないと判断している。

(6) 保存されている筋芽細胞の内訳

保存されている筋芽細胞の内訳

筋ジストロフィー	92	
DMD	25	合計 298検体 (2000.11.30現在)
BMD	14	
LGMD	16	
FCMD	14	
OPMD	9	
その他	14	
神経原性筋萎縮症	12	
ミトコンドリアミオパシー	61	
遠位型ミオパシー	6	
先天性ミオパシー	29	
その他	36	
診断不明	62	

(7) 診断使用、研究使用の実際

診断使用として、電子伝達系酵素活性の測定、特に ATP 合成能の測定に汎用されている。研究使用としては、ミトコンドリア病研究におけるサイブリッドの作製、骨格筋に発現する遺伝子群の研究、モデル動物作製のための変異遺伝子の利用などに用いられている。

(8) 今後の課題

今後の課題としては、検体利用者のニーズに対応した試料の提供を行う必要がある。初代培養がよいのか、不死化した細胞がよいのかは、研究者の研究手段や目的によって選択できるようにする。

また、付加情報の高度化とデータベースの充実は、さらに利用者を募る場合に必要な整備である。

最後に、この培養細胞樹立を続けるためには、人件費を含むランニングコストの確保は不可欠である。

C. 研究発表 なし

D. 知的所有権の取得状況 なし

肺小細胞癌で抗GM1抗体が陽性だった、感覚運動ニューロパチーの1例  
—生検腓腹神経の検討—

分担研究者 橋本和季 国立療養所道北病院神経内科医長

**研究要旨** 肺小細胞癌で抗GM1抗体が陽性だった傍腫瘍性ニューロパチーの生検腓腹神経の検討を行った。有髄神経は大径・小径ともに著明に脱落しており、神経周膜周辺の小血管周囲に単核細胞浸潤があり、microvasculitisの所見を呈していた。免疫染色により浸潤細胞のほとんどがT細胞であることが明らかになった。

#### A. 研究目的

肺小細胞癌による傍腫瘍性ニューロパチーは抗Hu抗体による亜急性感覚性ニューロパチーがよく知られているが、その発症機序や末梢神経の病理所見についての報告は少ない。そこで、肺小細胞癌で抗GM1抗体が陽性だった傍腫瘍性ニューロパチーの生検腓腹神経の検討を行った。

#### B. 研究方法

生検腓腹神経をパラフィン切片と電顕用に分け、超薄切片をトルイジンブルー染色し有髄神経線維の変化を観察した。浸潤細胞は、パラフィン切片を用いT細胞、B細胞、マクロファージに対する抗体で免疫染色を行った。

#### C. 研究結果

症例提示：62歳、女性。進行する不快なしびれと歩行困難、食欲低下を主訴に来院した。神経学的に四肢、体幹のしびれと深部覚低下、四肢の軽度筋力低下、腱反射消失、四肢失調を認め、神経伝導速度検査では感覚神経で導出不能と運動神経での振幅低下あり、髄液では蛋白の上昇を認めた。経過中、咳嗽発作があり縦隔と鎖骨上リンパ節腫脹を認め、吸引生検にて肺小細胞癌と診断した。抗Hu抗体は陰性。抗ガングリオシド抗体は抗GM1抗体のみ陽性で、他は抗Fuc-GM1抗体を含め陰性だった。ステロイドによる治療では抗GM1抗体が陰性化した。神経症状の改善はなく、抗癌剤による治療で腫瘍の縮小を認めたものの、神経症状の改善は得られなかった。その後転移性脳腫瘍が見つかり死亡したが、剖検は得られなかった。

生検腓腹神経所見：トルイジンブルー染色では、有髄神経、無髄神経ともに著明に脱落していた。onion bulbやthin myelinated fiberなどの再生を示す所見はなかった。myelin ovoidも認められなかった。神経上膜の太い血管周囲には細胞浸潤は認められなかったが、神経周膜周辺の小血管周囲に単核細胞浸潤を認め、いわゆるmicrovasculitisの所見だった。

免疫染色では神経周膜周辺でT細胞の表面マーカーが発現していたが、B細胞およびマクロファージのマーカーは発現していなかった。

#### D. 考察

本例は亜急性感覚性ニューロパチーの臨床経過をとっているが、抗Hu抗体は陰性で抗GM1抗体のみ陽性であり、CV2など他の抗体の検索も必要であるが、これが末梢神経障害に影響を及ぼしている可能性がある。

病理組織像は著明な有髄神経の脱落を呈しているものの、神経線維の崩壊・再生像がなく、病変の主座は後根神経節や近位の軸索にあることが疑われる。今までの抗Hu抗体陽性の亜急性感覚性ニューロパチーで、後根神経節細胞の障害が指摘されており、炎症性細胞浸潤があり、microvasculitisの所見が報告されている。また、浸潤細胞の検討ではT細胞のうちcytotoxic/suppressor cellが主体であるという報告がある。本例においてもmicrovasculitisが認められ、その細胞のほとんどがT細胞であることから、このような変化が後根神経節細胞にも生じて、感覚神経優位の神経症状を起している可能性がある。

今後、抗体のcharacterizationを行うとともに、抗体が末梢神経の何を標的にしているのか、どの構成蛋白を認識しているのか明らかにしていく必要がある。

#### E. 結論

傍腫瘍性ニューロパチーの腓腹神経所見は変性・再生の変化をとともなわない著明な有髄神経線維の脱落と神経周膜小血管のT細胞浸潤をとともなったmicrovasculitisが特徴である。

#### F. 研究発表

##### 1. 学会発表

伊藤 崇、中田寛章、榎本博之、木村隆、橋本和季、箭原 修：肺小細胞癌で抗GM1抗体が陽性だった、感覚運動ニューロパチーの1例（第68回日本神経学会北海道地方会 札幌2001, 03, 03）

脊髄性筋萎縮症におけるSurvival Motor Neuron geneコピー数の検索とその意義

分担研究者 石川幸辰 国立療養所八雲病院 副院長

**研究要旨** 小児期発症脊髄性筋萎縮症(SMA)の責任遺伝子 survival motor neuron (SMN) geneが報告されて以来、SMAの分子病態の解明が進んでいる。最近、臨床的重症度より兄はSMA type 3、弟はtype 2と診断された重症度の異なる兄弟例を経験した。SMAのマウスモデルが作製され、SMN2の代償作用が認められている。今回、私共は、より正確にSMN geneコピー数を同定するために、McAndrewらの報告した内部標準をSMN2を欠失した健康成人ゲノムより作製し、quantitative PCR assayを確立した。これによりSMAの保因者診断に応用可能と思われる。

**【はじめに】** 1995年に小児期発症脊髄性筋萎縮症(SMA)の責任遺伝子 survival motor neuron (SMN) geneが報告されて以来、SMAの分子病態の解明が進んでいる。SMA type 1では、98%以上でSMN1 (telomeric SMN) exon 7/8がホモ接合性に欠失しており、これに加え近傍のH4F5、NAIP、BTF2p44遺伝子など広範囲な遺伝子欠失を伴うことが多い。一方、SMA type 2、3では、一部は、SMN1から2へのgene conversionや点変異と欠失アリルとのヘテロ接合も認められている。最近、臨床的重症度より兄はSMA type 3、弟はtype 2と診断された重症度の異なる兄弟例を経験し、SMNおよび関連遺伝子について検索したので報告する。

**【症例】** 来院時4歳の兄は、独歩11ヵ月、1歳6ヵ月時に筋力、筋緊張低下を、2歳5ヵ月時にGowers徴候、舌のfasciculationを指摘された。弟は、来院時3歳で預定3ヵ月、座位獲得6ヵ月以後、運動発達は遅延しており、繰り返す肺炎、上気道感染のため、2歳10ヵ月時、当院にて鼻マスクによる非侵襲的人工呼吸(NIPPV)を施行された。SMN遺伝子欠失診断にて、兄弟ともexon 7、8をホモ接合性に欠失しており、臨床的重症度より兄はSMA type III、弟はtype IIと診断された。

**【方法】** SMN遺伝子exon 7、8欠失はmismatch-PCR、NAIP exon 5はtelomeric 特異的PCR、BTF2p44はSSCPで行なった。CA repeat C212、C272によりハプロタイプ解析を行なった。A群色素性乾皮症の責任遺伝子XPAC exon 4を内部標準として蛍光ラベルによる遺伝子量解析によりcentromeric (SMN2)、telomeric (SMN1)

のSMN遺伝子コピー数を調べた。

**【結果および考察】** 兄弟ともSMN遺伝子exon 7、8のホモ接合性の欠失を認めたが、近傍のNAIP、BTF2p44、C212で認識されるH4F5の欠失は認めなかった。また、アリールの分離は兄弟で同じパターンを示した。Centromeric (SMN2)/telomeric (SMN1)コピー数は、父：2/2、母：1/2、兄：3/0、弟：2/0であり、この兄弟は、SMN遺伝子のde novo deletionによることが示された。また、SMN2のコピー数が、より臨床症状の軽い兄で1コピー多く、SMN2の代償効果と考えられた。最近、SMAのマウスモデルが作製され、SMN2の代償作用が認められている。今回、私共は、より正確にSMN geneコピー数を同定するために、McAndrewらの報告した内部標準をSMN2を欠失した健康成人ゲノムより作製し、quantitative PCR assayを確立した。概要は、内部標準として、各々、37、48bpを欠失したSMN-IS、XPAC-ISを作製し、ゲノムDNA 250ngに相当する $8 \times 10^4$ 分子を添加し、競合PCRを行うものである。SMN、XPACのプライマーの一端を蛍光標識し、DNAシーケンサーにより、正確なSMN1、2コピー数を同定する。これにより、SMAの保因者診断も可能となると思われる。

**【学会発表】** 第43回日本小児神経学会総会（岡山）に於て症例の要旨について報告した。

**【文献】**

McAndrew PE, Parsons DW, Simard LR et al. 1997 *Am J Hum Genet* 60:1411-1422.



国立病院における脳バンクの多施設共同利用による成果の検証  
分担研究者 木村 格（国立療養所山形病院神経内科）

研究要旨：国立精神神経センターを核にして全国の神経内科機能を有する国立病院・療養所に脳バンクが設置され、それを活用した個別の優れた研究が報告されている。本ネットワークに登録管理されている研究資源をより開かれた視野に立って活用するためには、今後多施設による共同研究作業が必要となる。当該施設のように地理的にまた、機能的に局在している専門病院にとって研究支援ネットワークの役割大きい。本班研究では、当院の脳バンクを地域医療ネットワークを介した多施設での共同利用で得たいくつかの研究課題を報告し、その課程での具体的な問題点を明らかにし、解決のための方策を求めた。

共同研究者 津田丈秀、亀谷 剛、関 晴朗（国立療養所山形病院神経内科）、木村伯子（東北労災病院検査部）、糸山泰人（東北大学医学部神経内科）

### A. 研究目的

当院に設置されている脳バンクを活用した具体的な共同研究課題を推進する過程での問題点を明らかにし、その解決のために必要な対策を求める。

### B. 研究方法および主な研究結果

(1) 全国横断的ネットワーク、関連大学および市中病院との共同研究

脳脊髄以外の臓器など神経疾患研究での対照としての研究資源を使用するためには脳バンクのネットワーク傘下の神経内科専門病院以外の総合的な医療機関や大学病理学教室との連携が必要になる。今後、患者のインフォームド・コンセントや共同研究契約のための正式の契約内容の検証が求められる。

1. Kimura N, Shiraiishi S, Kimura I et al(2001) Synaptotagmin I Expression in mast Cells of Normal Human Tissues, Systemic mast cell Disease, and a Human mast cell leukemia Cell Line. *J Histochemistry & Cytochemistry* 49: 341-345

2. Kimura n, Schindler M, kimura I et al (2001) Immunohistochemical Localization of somatostatin receptor Type 2A in Rat and Human tissues. *Endocrine J* 48: 95-102

3. Kimura n, Pilichowska M, Kimura I et al (2000) Immunohistochemical expression of Chromogranins A and B, prohormone Convertases 2 and 3, and Amidating Enzyme in carcinoid Tumors and pancreatic Endocrine Tumors. *Modern Pathology* 13: 140-146

4. 湯浅龍彦、西宮仁、中島孝、川村潤、松井真、木村格、川井充 (2001) *医療* 55: 65-72

(2) 施設内他部門との共同研究

施設内の神経生理学や画像診断など他部門との共同研究についても現在成果の発表や出版でpriority,

authorshipの検討がなされておらず、曖昧な状況に有る。特に関連大学からのrotationによる研究者の場合、当該施設での在籍期間や研究費配分などいくつかのルールを明確化することが求められている。これらの共同研究を遂行しながらガイドラインを作成し、部門間で円滑に、効率的に研究が実施できる基盤整備が必要である。

5. Shimizu H, Shiga Y Fujiwara K et al(2001) *Clinical and Physiological significance of Abnormally prolonged Central Motor Conduction Time in HAM/TSP. J Neurological Sciences* 185: 39-42

6. Onodera H, Okabe S, Tuda T et al(2000) *Parkinson Disease and Impaired Chemosensitivity to Hypoxia. The Lancet*. 356: 2099.

7. Onodera H, Okabe S, Tuda T et al(2000) *Impaired Chemosensitivity and perception of Dyspnea in parkinson Disease. The Lancet* 356: 739-740

8. 亀谷 剛、関 晴朗、津田丈秀、木村 格、今野秀彦 (2002) 先天性鏡像運動症を有する進行性核上性麻痺患者の1剖検例。 *神経内科* 56: 1-3

### C. 考察と結論

剖検や生検材料を提供する施設、材料接收技術を提供する施設、専門的な検査あるいは先駆的な研究手段を提供する多施設間で、共通研究課題の解決に共通の認識を持てるような調整が必要である。これまで使用してきた同一施設内の患者等から材料を求め、同一施設内で管理・利用している同意書、契約書などを見直し、より円滑に共同研究が推進できるようなシステムを構築する。またこれら一連のプロセスは第三者によって追跡でき、各段階で検証ができることが望ましいものと考ええる。

### D. 知的財産権の出願・登録予定

特許取得、実用新案登録ともになし

## 平成13年度 分担研究報告書

### 筋ジストロフィー遺伝子に関する研究

分担研究者 川村 潤 国立療養所東埼玉病院 副院長

研究要旨: Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の 1/3 はジストロフィン遺伝子の微小変異が原因となっているが、微小変異は検出が困難なことから未検索で残された検体も多く存在する。過去 5 年間に末梢血あるいは筋バンクに保存された凍結筋より直接塩基配列決定法で検索したジストロフィン遺伝子の微小変異のまとめを報告する。5 年間でジストロフィン遺伝子の coding region をすべてシーケンスし得た DMD 症例は 65 例で、うち筋バンクからの検体は 7 例であった。65 例中 44 例に微小変異が検出され、なかでも筋バンクの検体では全例で微小変異が検出できた。微小変異の内訳は微小挿入 5 例、微小欠失 8 例、ナンセンス点変異 23 例、スプライシング異常 8 例であった。微小変異が検出された家系では確定診断はもとより保因者診断も実施可能であった。筋バンクの存在により、患者が死亡した場合も保存された検体の遺伝子診断を通して患者家族に有用な情報を還元できた。

#### 研究目的

現在 DMD の約 30% の原因とされる微小変異を簡便にスクリーニングする技術はないが、患者からの生体試料を保存管理しておけばこれらの異常も将来の技術によって解明される可能性が高い。われわれは現在まで保存試料を含む DMD 患者検体から微小変異の検出を検討してきた。今年度は筋バンクを利用したジストロフィン遺伝子の微小変異の検出に関する 5 年間のまとめを報告する。

#### 研究方法

対象は Multiplex PCR 法でジストロフィン遺伝子のホットスポットに欠失が検出できなかった DMD 65 例で、うち 7 例は国立精神・神経センター武蔵病院臨床検査部 DNA 診断・治療室に保存されている DMD 患者の筋生検であった。検体から RNA を抽出し逆転写反応でジストロフィン cDNA を合成し、nested PCR で増幅した後、直接塩基配列決定を行った。

#### 研究結果

65 例中、1 ないし 2 塩基挿入の microinsertion を認めた症例は 5 例、1 から 16 塩基欠失の microdeletion を認めた症例は 8 例、nonsense mutation を認めた症例は 23 例、イントロン異常を認めた症例は 8 例、その他ホットスポット以外の領域の欠失や重複を認めた症例は 7 例であった。うち 3 カ所の Nonsense mutation、1 カ所のイントロン異常で同一の異常が 2 つの症例に認められた。

また微小変異の分布はジストロフィン遺伝子の全般に認められ、ホットスポットはなかった。

#### 考察

ジストロフィン遺伝子の変異は多くが 1 エクソン以上にまたがる欠失または重複であるが、われわれは DMD の約 40% は微小変異であることを報告してきた。従来微小変異の検索には効率的な方法がなく、multiplex PCR 法やサザンプロット法でジストロフィン遺伝子に異常が検出できない場合はそれ以上微小変異の検索が行われず検体が保存されていることが多い。今回、われわれは multiplex PCR によるスクリーニングで欠失や重複が検出できない DMD 患者 65 例について、直接塩基配列決定法を用いて微小変異の検索を行い、44 例に微小変異を、また 7 例にホットスポット以外の領域の欠失や重複を検出した。これら微小変異が検出された家系では確定診断はもとより保因者診断も実施可能であることから、筋バンクの存在により、患者が死亡した場合も保存された検体の遺伝子診断を通して患者家族に有用な情報を還元できると考えられた。

#### 結論

ジストロフィン cDNA の直接塩基配列決定法により凍結保存されている筋生検検体、あるいは末梢血からジストロフィン遺伝子の微小変異を検出することが可能であり、微小変異による DMD 家系の遺伝相談や保因者診断に有用な情報をもたらすと考えられた。

近位筋障害優位の遺伝性運動感覚性ニューロパチー（滋賀県型）  
と考えられる1家系

分担研究者 齋田 孝彦 国立療養所宇多野病院長

研究要旨：これまで日本の2地域でのみ発見されている近位筋障害優位の遺伝性運動感覚性ニューロパチー（HMSN-P）の、先に報告のあった家系と独立した新家系を報告した。本家系の臨床的特徴は、常染色体優性遺伝、成人発症の近位筋優位の筋力低下・筋萎縮、深部覚障害を伴う感覚障害、血清CK値の上昇、筋電図での神経原性変化、神経伝導検査での軸索障害優位の末梢神経障害、神経生検での有髄線維の脱落に要約された。HMSN-Pは本邦の沖縄県と滋賀県で報告されているが、本家系は滋賀県出身であり、高脂血症、耐糖能異常の合併を認めないことより、滋賀県型HMSN-Pと考えられた。

A. 研究目的

遺伝性運動感覚性ニューロパチー hereditary motor and sensory neuropathy (HMSN) は、遠位部優位の運動感覚障害を示す疾患で、本邦の沖縄県と滋賀県の2家系のみにおいて、近位筋優位の筋力低下・筋萎縮にて発症するHMSN (HMSN with proximal involvement : HMSN-P) が報告されている。今回我々は、新たな滋賀県型HMSN-Pと考えられる1家系を脳組織リサーチリソースネットワークを利用して研究したので報告する。

B. 症例報告

症例1：発端者は58歳、男性。25歳頃歩行障害で発症。30歳頃より筋肉のピクピクする感じ、手指のふるえを自覚するようになり、35歳頃より四肢遠位部の筋力低下も出現してきた。40歳頃より介助歩行、50歳頃より車椅子

移動となった。神経学的には、四肢近位筋優位の筋力低下・筋萎縮、上肢の線維束攣縮、深部腱反射低下、下

肢での振動覚低下を認めた。血清CK値は260 IU/Lと軽度上昇し、筋電図では著明なgiant spikeを含む神経原性変化を、神経伝導検査では軸索障害優位の末梢神経障害の所見を認めた。腓腹神経生検では有髄線維の著明な脱落を認めた。症例2：弟、症例3：妹も同様の所見を呈した。

症例4：発端者の長女（29歳）は、28歳歩行障害で発症。同時期より、ふくらはぎの痛み、手指のふるえも自覚していた。神経学的には、四肢近位筋の筋力低下、腓腹筋痛、深部腱反射低下を認めた。血清CK値は316 IU/Lと軽度上昇し、筋電図では著明なgiant spikeを含む神経原性変化を認めたが、神経伝導検査では下肢で軽度の末梢神経障害を認めたのみであった。

症例1と症例4において、ビタミン

E,  $\beta$ -hexosaminidase を含むリソソーム酵素活性, 極長鎖脂肪酸, SMN 遺伝子および NAIP 遺伝子の検討を行ったが, いずれについても異常を認めなかった。

### C. 考察

本家系の臨床的特徴は, 常染色体優性遺伝, 成人発症の近位筋優位の筋力低下・筋萎縮, 深部覚障害を伴う感覚障害, 血清 CK 値の上昇, 筋電図での神経原性変化, 神経伝導検査での軸索障害優位の末梢神経障害および神経生検での有髄線維の脱落に要約され, HMSN-P と考えられた。

脊髄性筋萎縮症 (SMA), 家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS), 球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) などとの鑑別を必要とするが, SMA・FALS とは明らかな知覚障害, 末梢神経障害を有する点で, SBMA とは明らかな球症状を認めない点および遺伝形式の違いによって区別されると考えた。

HMSN-P は本邦の沖縄県と滋賀県で報告されているが, 本家系は滋賀県出身であり, 高脂血症, 耐糖能異常の合併を認めないことより, 滋賀県型 HMSN-P と考えられた。これまでに報告された滋賀県型 HMSN-P の 2 家系は永源寺町の出身であるが, 本家系は伊香郡余呉町の出身であり, 新たな家系と考えられた。

### D. 結論

滋賀県型 HMSN-P と考えられる 1 家系を報告した。

### E. 研究発表

#### 1. 論文発表

u exon 10 in japanese frontotemporal dementia. NYasuda M, Takamatu J, Komure O et al. Tau mutations altering splicing of taeroscientific Basis of Dementia 81-84, 2001.

Kuroki S, Saida T, Nukina M, Yoshioka M, Seino L. Three patients with ophthalmoplegia associated with *campylobacter jejuni*. Pediatric Neurology. 25:71-74, 2001.

Mycoplasma pneumoniae infection in Japanese patients with multiple sclerosis. Mutiple Sclerosis. In press, 2002

Hao Q, Saida T, Matsui M et al.

#### 2. 学会発表

Matsui M, Wang H-Y, Araya S, Saida T. Potential difference in the roles of surface CCR5 and CXCR3 molecules between CD4+ and CD8+ lymphocytes in multiple Sclerosis.

Vith International Congress of Neuroimmunology Edinburgh September 4-7, 2001.

Saida T

Interferon-beta treatment in Japanese patients with relapsing multiple sclerosis European Committee for Treatment and Research for Multiple Sclerosis 2001, Dublin, Ireland. 12-15 September 2001

Saida T