

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究

平成 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 有馬 邦正

平成 15 (2003) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書	
精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究……………	1
有馬 邦正 (国立精神・神経センター 武蔵病院)	
II. 分担研究報告	
1. 生検筋レポジトリーの研究への有効活用に関する研究……………	15
桒中 征哉 (国立精神・神経センター 武蔵病院)	
2. 「縁取り空胞型遠位型ミオパチー(DMRV)」の診断に関して……………	17
川井 充 (国立精神・神経センター 武蔵病院)	
3. 武蔵病院遺伝カウンセリング外来の現況と今後の課題……………	19
後藤 雄一 (国立精神・神経センター 神経研究所)	
4. 多数の好塩基性封入体を認めた孤発生若年性筋萎縮性側索硬化症に関する研究……………	22
箭原 修 (国立療養所 道北病院)	
5. 当院における脊髄性筋萎縮症の遺伝子診断 - 過去8年間のまとめ - ……	23
石川 幸辰 (国立療養所 八雲病院)	
6. Research Resource Bank(BrainBank)の整備とネットワークを利用した神経・筋疾患臨床研究……………	24
木村 格 (国立療養所 山形病院)	
7. 筋ジストロフィー遺伝子に関する研究……………	26
川村 潤 (国立療養所 東埼玉病院)	
8. 脊髄小脳失調症 17 型における遺伝子異常の検討……………	27
齋田 孝彦 (国立療養所 宇多野病院)	
9. Dysferlin 欠損の2症例……………	29
高橋 桂一 (国立療養所 兵庫中央病院)	
10. 特異な臨床像を呈するミオパチー同胞例……………	30
澁谷 統壽 (国立療養所 川棚病院)	
11. 次期 RRN バンクシステムのシステムソフトウェアに関する研究……………	31
本吉 慶史 (国立療養所 下志津病院)	
12. 遺伝性神経疾患の遺伝子検査について、ミトコンドリア病の遺伝子網羅的解析方法の検討……………	33
中島 孝 (国立療養所 犀潟病院)	
13. 皮膚生検によるジストロフィノパチーの診断……………	36
園田 至人 (国立療養所 南九州病院)	
14. 運動ニューロン病における横隔膜病変に関する組織学的研究……………	37
今野 秀彦 (国立療養所 西多賀病院)	
15. 日本人におけるサルコグリカン異常症の原因サブユニット……………	39
南 成祐 (国立精神・神経センター 武蔵病院)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……	41
IV. 研究成果の刊行物・別刷 ……	43

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
総括研究報告書

精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究

主任研究者 有馬邦正 国立精神・神経センター
武蔵病院 臨床検査部長

研究要旨：

本研究は、(1) 神経・筋疾患の生検組織を研究資源として確保し登録すること（生検組織バンク事業）、(2) 登録組織を用いて神経・筋疾患の発生機序と治療法に関する多施設共同研究を推進すること（研究事業）、の2つを目的とする。

神経・筋疾患の原因遺伝子とその変異による筋障害機序が次々に解明されている。この研究には、ヒトから得られた研究材料が必要不可欠である。神経・筋疾患研究資源ネットワークシステム（リサーチ・リソース・ネットワーク、RRN）は、生検等で得られた神経・筋疾患の組織および検体（筋、末梢神経、筋芽細胞、線維芽細胞、リンパ球、DNA）を、データベース登録し、HOSPnet上に公開してきた。平成14年の検体の新規登録は165件であり、検体の総登録数は1569件を超えた。RRNには多様な疾患が登録され、内外の研究者に多数の検体が提供されている。

検体の提供に際しては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守するインフォームド・コンセントの書式を用い、「遺伝子診断使用」あるいは「遺伝子解析研究への使用」など研究使用の内容を特定した上で同意を得ている。また個人情報の保護を徹底し、検体提供者の人権が侵害されることのないよう注意している。

研究事業では平成14年度には、Duchenne型筋ジストロフィーと肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）、および縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（DMRV）において、原因遺伝子の異常から筋細胞生物学的な病態生理に至る研究を行った。また、小児期発症脊髄性筋萎縮症（SMA）と脊髄小脳失調症17型（SCA17）の遺伝子異常と病態発生機序についての研究を行った。

分担研究者

埜中 征哉：国立精神・神経センター 武蔵病院 院長	齊田 孝彦：国立療養所 宇多野病院 院長
川井 充：国立精神・神経センター 武蔵病院 第二病棟部 部長	高橋 桂一：国立療養所 兵庫中央病院 名誉院長
後藤 雄一：国立精神・神経センター 神経研究所疾病研究第二部 部長	澁谷 統壽：国立療養所 川棚病院 院長
箭原 修：国立療養所 道北病院 副院長	本吉 慶史：国立療養所 下志津病院 神経内科 医長
石川 幸辰：国立療養所 八雲病院 副院長	中島 孝：国立療養所 犀潟病院 神経内科 医長
木村 格：国立療養所 山形病院 院長	園田 至人：国立療養所 南九州病院 神経内科 医長
川村 潤：国立療養所 東埼玉病院 副院長	今野 秀彦：国立療養所 西多賀病院 臨床検査科 科長
	南 成祐：国立精神・神経センター 武蔵病院臨床検査部 医療技術員

A. 研究目的

神経・筋疾患研究の分子遺伝学的・分子細胞生物学的研究は急速に進歩し、原因遺伝子とその変異による筋障害機序が次々に解明されている。この際患者の脳・神経・筋組織等のもっとも重要な研究資源である。本研究の目的は、(1) 複数の施設で生検により入手された組織検体を、凍結保存し、HOSPnet 上のリサーチ・リソース・ネットワーク (RRN) にデータベース登録し、研究資源として確保するシステムを維持発展させること (生検組織バンク事業)、(2) この登録組織検体を用いて各種神経・筋疾患の発生機序と治療法に関する多施設共同研究を推進すること (研究事業)、の 2 つである。

神経・筋疾患の凍結組織を保存する理由は、DNA 解析のほか、生化学的・タンパク化学的解析、免疫組織化学的解析などの多様な研究の資源としていつでも利用することができるからである。また、筋芽細胞と線維芽細胞は疾患に陥った細胞の機能障害を把握するために必要であり、治療法開発には欠かせない資源である。

筋ジストロフィーや先天性ミオパチーなどの筋疾患や神経難病の患者は、長期入院や在宅介護を余儀なくされている。本研究事業により、慢性神経・筋疾患の発生機序解明と治療法開発が加速され、実現すれば、患者の福祉と国民の保健が向上し、更に医療費の削減もはかることができる。

B. 研究方法

生検組織バンク事業は、主任、および分担研究者が神経・筋疾患研究に必要な検体等を積極的に入手して、所属各施設に集積保存し、検体の情報を RRN の生検データベースに登録し、研究に提供している。凍結筋組織、筋芽細胞、線維芽細胞、リンパ球など多様な検体を保存している。RRN への登録状況の公開は HOSPnet 上の政策医療ネットワークのホームページを通して行っている。

ついで、この組織検体を活用し、神経・筋疾患の発生機序と治療法に関する研究を行っ

た。この研究事業では、病態解明と診断方法の確立を目的とした分子生物学的・細胞病理学的研究を重点的に実施した。

更に、RRN データベースの将来の改善を目標とするプロトタイプ作成、および遺伝子診断に伴う遺伝カウンセリングについて研究した。

倫理面への配慮

研究資源のバンキング (あるいはレポジトリ) に際して最も重要であるのは、検体提供者 (患者) からインフォームド・コンセントを得ること、および個人情報の保護である。

主任研究者の所属する国立精神・神経センター武蔵病院臨床検査部 DNA 診断・治療室では、「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)をみだし、「遺伝子診断使用」・「遺伝子解析研究への使用」を明記した、検体の「診断、検体保存と研究利用に関するインフォームド・コンセント書式」を同センター倫理委員会の承認を得て、平成 13 年 8 月から使用している。また同様に「外科手術組織の研究使用の同意書」および「剖検病理検体の研究使用の同意書」を作成している。この 3 種類の「研究使用のインフォームド・コンセント書式」に類似する同意書をネットワークに参加する分担研究者の施設でも整備するよう働きかけている。

RRN データベース上は個人情報、臨床情報が判明しないシステムとしている。また登録されている生検組織検体が、「遺伝子解析の特定をしない研究使用が可能」、あるいは「遺伝子解析研究に使用することが可能」かどうかを明示している。DNA 解析研究等は、各施設の倫理委員会で承認を受けた後実施している。検体保存施設から外部の施設へ検体を提供する際には、臨床情報保管施設の同意が得られる最小限の臨床情報に限定し、個人の同意につながる情報は一切開示していない。検体提供者が不利益をこうむることがないように最大限の努力をはらっている。

C. 研究結果

1 RRN への検体登録事業では、平成 14 年の検体の新規登録は 165 件であり、検体の総登録数は 1569 件となった（表 1）。RRN には主要な筋疾患が多数登録されている。登録件数の上位を表 2 に示す。また、平成 14 年には、骨格筋の筋芽細胞の樹立は 110 検体（総数 260）、神経筋疾患の線維芽細胞は 62 検体（総数 97）となった。これにより筋疾患の病態の細胞生物学的研究が可能となった。

この生検組織を活用して、多数の研究が進行している。RRN の中核施設である国立精神・神経センター武蔵病院臨床検査部の生検バンクからの平成 14 年度の他施設への検体（凍結筋、筋凍結切片、筋芽細胞、線維芽細胞、リンパ球など）の供与は総計 26 件であり、供与検体数はのべ 362 検体であった（精神・神経センター武蔵、埜中）（表 3）。

2 平成 14 年度の RRN 基盤整備に関する研究は以下の 3 件である。

(1) RRN ではインフォームド・コンセントを得て研究資源（生検組織など）を保存することが研究の出発点である。遺伝子解析研究を行う場合には「遺伝カウンセリングの実施」を明示して同意を得ることが求められている。そこでこの遺伝カウンセリングの実施についての研究を行った（精神・神経センター神経研、後藤）。

(2) RRN では HOSPnet 上にデータベースに登録検体を公開しているが、データベースの管理には細心の注意が必要である。またユーザーインターフェースの改善が課題となっている。そこで、次世代 RRN バンクシステムのプロトタイプ作成を行った（国療下志津、本吉）。

(3) 東北地区では国立療養所神経内科が中心となり、関連大学研究室を加えて、「地域サブネットワーク」を構築した。神経難病の病理診断と遺伝子解析、剖検と生検組織の登録・管理・追跡システムの基盤整備を行った。更に、「神経政策医療ネットワーク・東北サブ会議」を年 3-4 回開催している（国

療山形、木村）。これにより神経難病の診断・治療水準が大幅に向上し、患者の福祉に貢献している。

3 平成 14 年度の筋疾患の病態解明と診断方法の確立に関する研究成果は以下の通りである。

(1) 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（distal myopathy with rimmed vacuoles, DMRV）は 1981 年に埜中らが初めて報告し、Nonaka myopathy とも呼ばれる常染色体劣性遺伝性の若年および成人の筋疾患である。この DMRV が、UDP-GlcNAc 2-epimerase/ManNAc kinase をコードする *GNE* 遺伝子の epimerase domain あるいは kinase domain の変異の、ホモまたは複合ヘテロ接合型変異によること、および epimerase 活性の低下が原因であることを明らかにした。これにより DMRV が従来からその異同が議論されていた遺伝性封入体ミオパチー（HIBM）と同一疾患であることが示された。しかし、*GNE* 遺伝子異常（A578T）ホモ接合体であっても無症状者がいることから浸透率が 100% でない可能性が新たに提示された。また、今回変異が同定できなかった一部の例（7/34 例）では *GNE* 遺伝子の non-coding region の変異の可能性と *GNE* 遺伝子以外が原因遺伝子となっている可能性がある（精神・神経センター武蔵、埜中および川井）。

(2) Duchenne 型筋ジストロフィーは、筋ジストロフィーの中で最も頻度が高い。巨大遺伝子である *dystrophin* 遺伝子の変異の多くは 1 エクソン以上にまたがる欠失であるが、30% は微小変異であり、これは未検索で残されることが多い。この微小変異を直接塩基配列決定法により検索し、エクソン 2 の部分重複の頻度が高いことを見出した（国療東埼玉、川村）。

Duchenne 型筋ジストロフィーは、平滑筋でもジストロフィンの欠損が報告されている。そこで、皮膚生検組織を抗ジストロフィン抗体による免疫組織化学法で検索し、立毛

筋でのジストロフィン発現様式からジストロフィン異常症が診断可能であることを明らかにした（国療南九州、園田）。皮膚生検は筋生検に比べて侵襲性が低く、手技が平易であることから、簡易診断法として今後普及すると期待される。

(3) わが国における肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）研究の多くは本研究班による。ジストロフィン結合タンパクであるサルコグリカン複合体（ α -、 β -、 γ -、 δ -サブユニットからなる）の異常は LGMD2C-2F を構成する。日本人では α -と β -サルコグリカン異常症が大部分であること、更に、免疫組織化学染色パターンから遺伝子異常が存在するサブユニットをある程度推測できることを明らかにした（精神・神経センター武蔵、南）。

LGMD2B の原因遺伝子産物である dysferlin の免疫反応性が欠如している 2 例の筋病理を解析し、遺伝子解析を続行している（国療兵庫中央、高橋）。また、LGMD に類似する家族性ミオパチーの臨床症状と筋病理を研究した（国療川棚、澁谷）。

4 神経疾患領域の病態解明および診断法の開発では、以下の研究成果を上げた。

(1) 小児期発症脊髄性筋萎縮症（SMA）の原因遺伝子である *survival motor neuron (SMN)* 遺伝子の診断システムを作成し、1995 年以降 42 例を確定診断した。平成 14 年は遺伝子変異と臨床症状および予後の関係を総合的に研究した（国療八雲、石川）。

(2) 脊髄小脳失調症 17 型（SCA17）の原因遺伝子である *TATA-binding protein (TBP)* 遺伝子の CAG/CAA リピート数が、42 リピート以下は正常、48 リピート以上は病的であることを明らかにした。さらに SCA17 の浸透率が 100% ではない可能性があること、遺伝子量効果がある可能性があることを見出した（国療宇多野、齋田）。

(3) 孤発性若年性筋萎縮性側索硬化症の臨床および神経病理学的研究を行った。本疾患を特徴付ける神経細胞内の塩基好性封入体の構成分子を同定する目的で免疫組織化学的検索

を行い、成人の筋萎縮性側索硬化症にみられる ubiquitin 化封入体とは異なることを明らかにした（国療道北、箭原）。また筋萎縮性側索硬化症の呼吸障害の原因である横隔膜の筋病変と頸髄前角運動神経細胞数の減少との関係を明らかにした（国療西多賀、今野）。

D. 考察

1 生検バンク事業では、国立精神・神経センターと国立療養所 13 施設が共同して、生検神経・筋組織を研究目的で保存し、HOSPnet 上に RRN という全国ネットワークを構築し、検体情報のデータベース登録を継続している。また地域の病理診断・遺伝子診断ネットワークが構築された。生検組織の研究使用の条件であるインフォームド・コンセントの一層の整備をおこなった。遺伝子診断に伴う遺伝カウンセリングは今後普及していく必要がある。

2 筋疾患の病態解明と診断方法の確立の分野では、Duchenne 型筋ジストロフィーと肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）、および縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（DMRV）において、原因遺伝子の異常から筋細胞生物学的な病態生理に至る重要な研究が行われた。神経疾患の分野では、小児期発症脊髄性筋萎縮症（SMA）と脊髄小脳失調症 17 型（SCA17）の遺伝子異常に関する研究、などを行った。これらは欧文主要雑誌に報告された。

3 本研究の成果を生かして、治療方法の開発を目的とする研究が行われる必要がある。

E. 結論

1 生検組織バンク事業では、「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、インフォームド・コンセントの充実、研究倫理の遵守と個人情報の保護を徹底するよう絶えず努力している。

2 RRN 登録生検組織は平成 15 年 1 月では 1569 検体となった。RRN は多様な疾患を網羅しており、研究資源（生検筋バンク）として筋疾患研究に大きく寄与することは確実に

ある。

3RRN の保存検体は凍結組織のみでなく、筋芽細胞、線維芽細胞、凍結リンパ球、凍結外科手術組織など、検体の種類や保存条件の点でも、更新を重ねる必要がある。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kaneko K, Yoshida K, Arima K, Ohara S, Miyajima H, Kato T, Ohta M, Ikeda S:
Astrocytic deformity and globular structures are characteristic of the brains of patients with aceruloplasminemia.
J Neuropathol Exp Neurol 61: 1069-1077, 2002

Tsuboi Y, Baker M, Hutton ML, Uitti RJ, Rascol O, Delisle MB, Soulages X, Murrell JR, Ghetti B, Yasuda M, Komure O, Kuno S, Arima K, Sunohara N, Kobayashi T, Mizuno Y, Wszolek ZK:
Clinical and genetic studies of families with the tau N279K mutation(FTDP-17).
Neurology 59: 1791-1793, 2002

Takanashi M, Mori H, Arima K, Mizuno Y, Hattori N:
Expression patterns of tau mRNA isoforms correlate with susceptible lesions in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration.
Molecular Brain Research 104: 210-219, 2002

Alim MA, Hossain MS, Arima K, Takeda K, Izumiyama Y, Nakamura M, Kaji H, Shinoda T, Hisanaga S, Ueda K:
Tubulin seeds alpha-synuclein fibril formation.
J Biol Chem 277: 2112-2117, 2002

Yanagawa S, Itoh N, Arima K, Ikeda S:
Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy.
Neurology 58: 817-820, 2002

Eto K, Asada T, Arima K, Makifuchi T, Kimura H:
Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease.
Biochem Biophys Res Commun 293: 1485-1488, 2002

Okeda R, Arima K, Kawai M:
Arterial changes in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) in relation to pathogenesis of diffuse myelin loss of cerebral white matter : Examination of cerebral medullary arteries by reconstruction of serial sections of an autopsy case.
Stroke 33: 2565-2569, 2002

Arikawa-Hirasawa E, Le AH, Nishino I, Nonaka I, Ho NC, Francomano CA, Govindraj P, Hassell JR, Devaney JM, Spranger J, Stevenson RE, Iannaccone S, Dalakas MC, Yamada Y:
Structural and functional mutations of the Perlecan gene cause Schwartz-Jampel syndrome, with myotonic myopathy and chondrodysplasia.
Am J Hum Genet 2002; 70: 1368-1375

Nishino I, Noguchi S, Murayama K, Driss A, Sugie K, Oya Y, Nagata T, Chida K, Takahashi T, Takusa Y, Ohi T, Nishimiya J, Sunohara N, Ciafaloni E, Kawai M, Aoki M, Nonaka I:
Distal myopathy with rimmed vacuoles is allelic to hereditary inclusion body

myopathy.

Neurology 59: 1689-1693, 2002

Hayashi YK, Ogawa M, Tagawa K,
Noguchi S, Ishihara T, Nonaka I, Arahata
K:

Selective deficiency of alpha-dystroglycan
in Fukuyama-type congenital muscular
dystrophy.

Neurology 57: 115-121, 2001

後藤雄一：

ミトコンドリア病（広義）の概念と分
類、213-217、諏訪庸人編集「ミトコンドリ
アとミトコンドリア病」日本臨床社、大
阪、2002

後藤雄一：

遺伝形式からみたミトコンドリア病の分類と
遺伝相談、693-697、諏訪庸人編集「ミトコ
ンドリアとミトコンドリア病」日本臨床社、大
阪、2002

後藤雄一：

ミトコンドリア脳筋症、神経研究の進歩 46：
841-849、2002

Fujitake J, Mizuta H, Fujita T, Ishikawa Y,
Sasamoto K, Goto Y-I, Nonaka I, Tatsuoka
Y:

Leber's hereditary optic neuropathy with
intracranial arteriovenous malformation: a
case report.

Acta Neurol Belg 102:82-86, 2002

箭原修：

進行性核上麻痺における 123I-MIBG 心筋シ
ンチグラフィーについて.神経内科 56: 243-
244, 2002

石川幸辰：

各種難病の最新治療情報：ライソゾーム病の
全貌. 難病と在宅ケア、8: 25-30, 2002

Kimura N, Kimura I et al:

Neurofibromin and NF1 gene analysis in
composite pheochromocytoma and
ganglioneuroma and tumors associated
with von Recklinghausen's disease.

Modern Pathol 15: 183-188, 2002

Kimura N, Kimura I et al:

Loss of neurofibromin-NF1 gene product
and composite pheochromocytoma.

Ann NY Acad Sci. 971: 536-538, 2002

Nishimura M, Kawakami H, Komure O,
Maruyama H, Morino H, Izumi Y,
Nakamura S, Kaji R, Kuno S:

Contribution of the interleukin-1 β gene
polymorphism in multiple system atrophy.

Mov Disord 17: 808-811, 2002

Kohara N, Lin TS, Fukudome T, Kimura J,
Sakamoto T, Kaji R, Shibasaki H:

Pathophysiology of weakness in a patient
with congenital endplate
acetylcholinesterase deficiency.

Muscle Nerve 25: 585-592, 2002

Kayashima T, Matsuo H, Satoh A, Ohta T,
Yoshimura K, Matsumoto N, Nakane Y,
Niikawa N, Kishino T:

Nonaka myopathy is caused by mutations
in UDP-N-acetylglucosamine-2-
epimerase/N-acetylmannosamine kinase
genen(GNE).

J Hum Genet 47: 77-79, 2002

Fukutake T, Kamitukasa I, Arai K, Hattori
T, Nakajima T:

A patient homozygous for the SCA6 gene
with retinitis pigmentosa.

Clin Genet 61: 375-379, 2002

亀井啓史、中島孝、福原信義:
錐体外路系疾患における脳血流 SPECT の統計学的解析による検討. 脳と神経, 54: 667-672, 2002

中島孝:
脊髄小脳変性症のクリニカルパスにむけて. 医療 56: 420-422, 2002

Koide T, Nakajima T, Makifuchi T, Nobuyoshi F:
Systemic mastocytosis and recurrent anaphylactic shock, The Lancet Vol.359, 9323, p 2084, 2002

Koide T, Ohtake H, Nakajima T, Furukawa H, Sakai K, Kamei H, Makifuchi T, Nobuyoshi F:
A patient with dementia with Lewy bodies and codon 232 mutation of PRNP. Neurology 59: 1619-1621, 2002

袖山千恵子、村松林子、平野美鈴、二ノ宮正、山岸恵美子、山岸とし江、黒崎みや子、北沢真喜子、小出隆司、中島孝、福原信義:
プリオン遺伝子コドン 232 変異を持つ痴呆患者の看護と在宅指導についての経験. 医療 56: 664-667, 2002

Hayakawa Y, Nakajima T, Takagi M, Fukuhara N, Abe H:
Human cerebellar activation in relation to saccadic eye movements: an fMRI study. Ophthalmologica 216: 399-405, 2002

Niiyama T, Higuchi I, et al:
Diagnosis of dystrophinopathy by skin biopsy. Muscle Nerve 25: 398-401, 2002

2. 学会発表

久保田健夫、山田祐子、服部恵子、後藤雄一:
国立精神・神経センター武蔵病院遺伝カウ

セリング外来の現況、第 47 回日本人類遺伝学会総会、名古屋、11.13、2002

箭原修:
パーキンソン病におけるうつ症状 -SNRI の有用性について- 第 43 回日本神経学会総会、札幌、2002

Kimura N, Kimura I et al:
A proposal for a new classification of pheochromocytomas based on morphological and biological analysis. XXIVth International Congress of the International Academy of Pathology, Amsterdam, Netherlands, October 5-10

金一暁、小牟禮修、吉田園代、瀧川智子、大江田知子、松井真、小澤恭子、小西哲郎、齊田孝彦:
動作性ミオクローヌス、パーキンソン症状を伴った脊髄小脳失調症 6 型の 1 例. 第 77 回日本神経学会近畿地方会、大阪市、2002.11

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表 1

精神・神経・筋疾患RRNデータベース施設別登録数
 (こころの健康科学研究-生検筋-総括研究報告書)

	平成15年1月8日		平成14年1月10日		平成13年1月12日		平成12年1月6日		平成11年1月27日		増減(H15年-H14年)	
	生検	剖検	生検	剖検	生検	剖検	生検	剖検	生検	剖検	生検	剖検
1	14	13	14	13	14	13	9	10	2	2	0	0
2	16	5	16	5	16	5	15	5	1	1	0	0
3	12	6	12	6	11	5	11	5	2	2	0	0
4	259	30	241	30	207	30	145	18	104	10	18	0
5	108	60	108	60	92	60	98	60	0	0	0	0
6	45	43	45	31	45	19	42	10	36	8	0	12
7	43	16	29	16	23	16	20	13	10	10	14	0
8	23	18	23	18	23	18	24	18	0	0	0	0
9	-	146	-	146	-	128	-	130	-	7	-	0
10	0	-	736	-	745	-	543	-	448	-	-	-
11	1046	137	177	130	0	124	-	118	-	34	869	7
12											0	0
13											0	0
14	1	90	1	81	1	81	1	66	1	20	0	9
15	-	66	-	66	-	57	-	22	-	12	-	0
16	-	31	-	31	-	31	-	10	-	0	-	0
17	-	158	-	126	-	100	-	74	-	47	-	32
18	-	8	-	8	-	8	-	12	-	5	-	0
19	-	54	-	43	-	36	-	31	-	22	-	11
20	-	33	-	28	-	25	-	22	-	16	-	5
21	-	56	-	56	-	48	-	37	-	21	-	0
22	2	43	2	43	2	43	2	44	0	6	0	0
23	-	85	-	85	-	135	-	150	-	116	-	0
24	-	24	-	22	-	22	-	22	-	5	-	2
25	-	11	-	11	-	11	-	16	-	0	-	0
合計	1569	1133	1404	1055	1179	1015	910	893	604	948	165	78
総計	2702	2459	2194	1803	243	243						

表 2

RRN 生検診断名別登録件数 報告

平成15年1月8日現在

	病 名	H12.1	H13.1	H14.1	H15.1
1	Polymyositis	112	128	151	168
2	Limb-girdle	54	59	85	103
3	Duchenne	70	75	85	91
4	Other Neurogenic muscular atrophies()	21	39	45	89
5	Becker	54	60	67	73
6	Dermatomyositis	35	40	54	62
7	MMP-MELAS	22	24	32	44
8	amyotrophic lateral sclerosis	25	29	34	38
9	Myotonic dystrophy	34	36	37	37
10	Malignant hyperthermia	25	31	31	34
11	Other MMP()	14	14	15	34
12	FSH	19	22	30	32
13	MMP-CPEO	16	18	22	29
14	Others(High CK)	17	17	17	29
15	Other CMP()	22		5	27
16	spinal muscular atrophy typeⅢ	18	21	26	26
17	Fukuyama	18	19	24	25
18	CMP-nemaline	19	21	21	21
19	Myasthenia gravis	5	7	7	19
20	spinal muscular atrophy typeⅡ	13	15	18	18
21	Other Muscular dystrophy()	10	10	8	18
22	NON-Fukuyama	15	16	17	17
23	MMP-Leigh	12	13	16	15
24	inclusion body myositis	12	14	14	14
25	CMP-myotubular	12	13	13	13
26	CMP-CFTD	12	12	12	12
27	CMP-central core	10	10	11	11
28	Arthrogryposis multiplex congenita	8	8	8	11
29	Rimmed vacuole-type	8	11	11	11
30	Other myopathy in endocrine diseases()	8	8	8	11
31	Skeletal muscle diseases			10	10
32	spinal muscular atrophy typeⅠ			9	10
33	X-linked bulbospinal neuronopathy	8	9	9	9
34	glycogen storage disease	7	8	9	9
35	Guillain-Barre Syndrome	8	7	7	7
36	SLE	7	7	7	7
37	Other myopathy in metabolic diseases()				7

表 3

生検バンク 研究供与 一覧 2000年4月~2002年11月
 国立精神・神経センター 神経研究所 疾病研究第一部 / 武蔵病院 臨床検査部

供与先 (代表者名)		研究テーマ	供与検体	検体数	成果
2000年					
1	横浜市立大学 (安光)	筋分化・再生における分泌性生理活性蛋白の役割 (筋ジストロフィー筋、正常筋)	凍結切片	20	
2	NCNP* 疾病研 1 (林)	肢帯型筋ジストロフィー筋におけるジスフェルリンおよび関連筋タンパク質の生化学的研究 (同病生検筋)	凍結切片 凍結ブロック	10 10	
3	NCNP* 疾病研 7 (田中)	病理標本における微量抗原の研究 (DMRV筋と正常筋)	凍結切片	4	
4	NCNP* 疾病研 5 (辻野)	酸マルターゼ欠損症の分子遺伝学的研究 (生検筋と分離DNA)	凍結切片 DNA	7 7	Tsujino S, et al: <i>Neuromuscul Disord</i> 10: 599-603, 2000 日本人22人の本症の遺伝子変異の解析
5	NCNP* 疾病研 1 (林)	先天性筋ジストロフィーにおける筋細胞死に関する研究 (先天性筋ジストロフィーの生検筋とDNA)	凍結切片	10	Hayashi Y, et al: <i>Neuromuscul Disord</i> 11: 350-359, 2001 メロシン欠損型の筋壊死の病態解明
6	東芝林間病院 (古川)	アンキリンリピートをもつ新規タンパク質V-1の骨格筋細胞における発現 (デュシェンヌ型と正常筋)	凍結切片	10 10	
7	NIH (Hirasawa E)	Schwartz-Jampel 症候群における原因遺伝子の解明 (同病4例の生検筋と分離DNA)	凍結骨格筋	4	Ankawa-Hirasawa E et al: <i>Am J Hum Genet</i> 70: 1368-1375, 2002
8	NCNP* 疾病研 遺 伝子治療 (今村)	ヒト筋ジストロフィー筋組織におけるdystroglycan結合タンパク質の検出	凍結切片	4	
9	NCNP* 疾病研 1 (林)	LGMD1C とジスフェルリンについての研究 (同病の生検筋と筋ブロック)	凍結切片 凍結ブロック	5 5	
10	横浜市立大 (安光)	筋疾患・筋再生に関する細胞外マトリックスとその分解系の解明 (筋ジストロフィー筋)	凍結切片	23	
11	NCNP* 微細 (山本)	乳児重症型酸マルターゼが正常なリソソーム病 (同病2例コントロール5例)	凍結切片 DNA	12	Yamamoto A, et al: <i>Neurology</i> 57:903-905, 2001
2001年					
12	帝京大医 (長谷)	各種疾患筋における β -dystroglycanの分化およびMMPの活性について (疾患筋と正常筋)	凍結切片	8	
13	NCNP* 疾病研 1 (林)	肢帯型筋ジストロフィーにおける原因タンパク質の発現解析 (肢帯型筋ジストロフィー生検筋)	凍結切片 ブロック DNA	47 47 47	微量組織でのジスフェルリン、ジストロフィン、カルパインの定量化に成功。診断に活用。

14	NCNP* 疾病研 1 (林)	先天性筋ジストロフィーにおける α -dystroglycan の発現に関する研究 (福山型、WWS など)	凍結切片	10	Hayashi YK, et al : <i>Neurology</i> 57:115-121, 2001 福山型では α -dystroglycan が著減していることを証明
15	NCNP* 疾病研 1 (林)	三好型ミオパチーのジスフェルリン発現解析、遺伝子解析	ブロック DNA	15 15	
16	NCNP* 疾病研 7 (田中)	Rimmed vacuole 型遠位型ミオパチーにおける rimmed vacuole の構成成分の検討 (DMRV 筋)	凍結切片	4	
17	帝京大医 (長谷)	筋炎症例における MMP-2 の発現と β -dystroglycan の分析 (筋炎生検筋)	凍結切片 ブロック	22	
18	帝京大医 (新井)	福山型先天性筋ジストロフィー筋における β -dystroglycan の発現 (FCMD 筋)	凍結切片	20	
19	関東中央病 院 (田中)	1. 先天性筋強直性ジストロフィー剖検筋における DMPK 蛋白の発現・局在 2. ヒト幼若生検筋における VI/morphin の発現・局在	凍結切片	10	
20	信州大学医 (中村)	ジストロフィン欠損骨格筋におけるシグナル伝達異常に関する研究 (DMD, BMD 生検筋と DNA)	凍結切片	6	
21	獨協医大越 谷 (村上)	種々の神経・筋疾患における TGF- β 2, BDHF および受容体の発現についての検討	凍結切片	40	
22	島根医大, (田草)	VLCAD 欠損症に関する研究	凍結切片 培養細胞	5 1	
23	新潟大脳研 (河内)	炎症性筋疾患における樹状細胞の役割	凍結切片	5	
24	NCNP* 微細構造 (石川)	ウールリッヒ型先天性筋ジストロフィーの病態解明に関する研究	凍結切片 DNA 電顕試料	9 9 2	Ishikawa H, et al : <i>Neurology</i> 59:920-923, 2002
25	NCNP* 微細構造 (杉江)	非福山型先天性筋ジストロフィーとコラゲン VI 欠損の関係	凍結切片 DNA	80 15	
26	NCNP* 微細構造 (大橋)	VLCAD に関する病理学的、分子生物学的研究	凍結切片 DNA	60 6	特発性ミオグロビン尿症の中に VLCAD 欠損例が 12 例見いだされた。
	2002年				
27	九州大学 (池添)	筋線維内の Ca 濃度に異常がある筋疾患での筋鞘胞体に関する研究	凍結切片	30	
28	帝京大学 (新井)	LGMD における dystroglycan 複合体発現の検討	凍結切片	11	
29	東京医科歯 科大学 (齋藤)	FSHD の新しい DNA 診断法の開発研究	リンパ球	5	

30	奈良県立医科大学 (村田)	シェーグレン関連筋炎における α -フオドリンの発現	凍結切片	5	
31	鳥取大学 (守山)	Carp ならびに Arpp 蛋白質の病理学的解析	凍結切片	27	
32	国療東埼玉病院 (川村)	ジストロフィン遺伝子に部分重複のある DMD 患者における筋 mRNA の構造	凍結切片	10	
33	昭和大学 (若山)	Dysferlin 欠損症骨格筋における myoferlin 発現状態について	凍結切片	10	
34	群馬大学 (水野)	ミオパチーにおける desmuslin の局在	凍結切片	27	
35	鳥取大学 (守山)	筋疾患における ARPP ならびに CARP 蛋白質の発現解析	凍結切片	8	
36	徳島大学 (中江)	DMD 骨格筋における酸化的損傷についての研究	凍結切片	6	
37	Iowa Univ (Campbell)	FCMD の糖鎖解析	凍結筋	3	Michele DE, et al : <i>Nature</i> 418:417-422, 2002
38	NCNP* 一部 (西野)	DMRV の遺伝子解析と生化学的検討	DNA リンパ球	30 22	Nishino I, et al : <i>Neurology</i> 59:1689-1693, 2002
39	NCNP* 一部 (西野)	成人型自己食空胞性ミオパチーの病態解明	凍結切片	2	Kaneda D, et al : <i>Neurology</i> , in press
40	NCNP* 一部 (藤田)	DMD 生検試料を用いた cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析	凍結筋	10	Noguchi S, et al : <i>Hum Mol Genet</i> , in press
41	NCNP* 一部 (藤田)	ミオチューブラーミオパチー生検試料を用いた cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析	凍結筋	12	
42	NCNP* 一部 (黒川)	cDNA マイクロアレイによるメロシン欠損症の分子病態解明	凍結筋	2	
43	NCNP* 一部 (黒川)	cDNA マイクロアレイによる Ullrich 病の分子病態解明	凍結筋	6	
44	NCNP* 一部 (計良)	カルパイン 3 の筋線維内局在	凍結筋	25	Keira Y, et al : <i>J Biochem</i> , submitted
45	NCNP* 一部 (杉江)	自己食空胞を伴う筋疾患の病態解明	凍結切片 電顕試料	18 8	Sugie K, et al: <i>Neurology</i> 58:1773-1778, 2002
46	NCNP* 一部 (野口)	培養筋細胞を用いた cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析	筋芽細胞	43	
47	NCNP* 一部 (野口)	DMRV 細胞の生化学的解析	筋芽細胞・線維芽細胞	5	

48	NCNP* 一部 (野口)	FCMD 培養細胞における糖鎖の解析	筋芽細胞	4	
49	北里大学 (花岡)	染色体操作による DMD 病態モデルマウスの作成及び染色体ベクターの作成	筋芽細胞	10	
50	東京大学 (鈴木)	ミトコンドリア病由来変異 tRNA の解析	凍結筋	11	
51	東京大学 (清水)	診断未確定筋ジストロフィー症例における dysferlin 発現	凍結切片	2	
52	東京大学 (加納)	炎症性筋疾患の病理学的画像診断学的研究	凍結切片	10	
計				986	

* NCNP: 国立精神・神経センター

II. 分担研究報告

生検筋レポジトリーの研究への有効活用に関する研究

分担研究者 埜中征哉 国立精神・神経センター 武蔵病院 院長

研究主旨：診断に用いた生検筋検体の一部を研究に有効に利用し、一日も早い病態解明と治療法開発をもたらすことが望まれる。生検筋検体を各施設に提供して研究を進めた結果、3年間に全50件の依頼があり多くの研究成果を得た。その研究成果は、24報の論文となり全て国際誌に掲載された。本検体提供システムは検体の有効な研究利用の観点から極めて優れたシステムである。

A. 研究目的

我々の施設では、全国の施設に対して生検筋を用いた各種筋疾患の診断サービスを提供している。診断に用いた生検筋検体は、再検査の可能性を踏まえて、生検筋レポジトリーとして保管しているが、患者の了解を得たものに関しては、その検体の一部を研究に有効に利用し、一日も早い病態解明と治療法開発をもたらすことが望まれている。そこで、リサーチリソースネットワークを通じて、これら生検筋検体を有効に提供する方法について検討した。

B. 研究方法

リサーチリソースネットワークを通じて提供依頼を受け、各施設に検体の一部を提供した。

（倫理面への配慮）

生検筋検体を用いた各種診断を行う際には、全例に対して、当センター倫理委員会で承認された承諾書をもちいて同意を得ている。また、この承諾書の中で、検体の研究利用が承認された検体のみを用いて、研究利用を行った。

C. 研究結果

2000年からの3年間に全52件の依頼があり、延べ986検体を提供した。これらの研究結果は、延べ24報の論文の形で国際誌に掲載された。その内、重要な発見は、Danon病

が原発性LAMP-2欠損症であることを明らかにしたこと、Schwartz-Jampel症候群がPerlecan遺伝子変異によることを明らかにしたこと、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーがGNE遺伝子変異によることを明らかにしたこと、福山型を含む各種先天性筋ジストロフィーにおいては α -ジストログリカンが減少し、ラミニンとの結合を破綻することで発症していることが明らかになったこと、などである（論文リスト参照）。

D. 考察

多くの検体が利用されて、国際誌に掲載される実験結果を多く得た。このことは、単に医学の進歩に貢献するというだけでなく、患者検体が、患者が最も望んでいる各種筋疾患の「一日も早い病態解明と治療法開発」のために有効に利用されたことを示している。

E. 結論

本検体提供システムは、検体の有効な研究利用の観点から極めて優れたシステムである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

Arikawa-Hirasawa E, Le AH, Nishino I,

Nonaka I, Ho NC, Francomano CA,
Govindraj P, Hassell JR, Devaney JM,
Spranger J, Stevenson RE, Iannaccone S,
Dalakas, MC, Yamada Y:
Structural and functional mutations of the
Perlecan gene cause Schwartz-Jampel
syndrome, with myotonic myopathy and
chondrodysplasia.
Am J Hum Genet 2002; 70: 1368-1375

Nishino I, Noguchi S, Murayama K, Driss A,
Sugie K, Oya Y, Nagata T, Chida K,
Takahashi T, Takusa Y, Ohi T, Nishimiya J,
Sunohara N, Ciafaloni E, Kawai M, Aoki M,
Nonaka I:
Distal myopathy with rimmed vacuoles is
allelic to hereditary inclusion body
myopathy.
Neurology 59: 1689-1693, 2002

Hayashi YK, Ogawa M, Tagawa K,
Noguchi S, Ishihara T, Nonaka I, Arahata K:
Selective deficiency of alpha-dystroglycan
in Fukuyama-type congenital muscular
dystrophy.
Neurology 57: 115-121, 2001

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

研究要旨:DMRVと診断されてきた症例の大半では、GNE 遺伝子異常が同定されている。これまでの臨床・病理診断と遺伝子診断の整合性について検討した。発症年齢は10代半ば～40代半ばと当初の記載よりも広く分布し、筋罹患分布は、傍脊柱筋、臀筋群、大内転筋、大腿屈筋群、前脛骨筋もしくは下腿三頭筋が萎縮し、腸腰筋も萎縮傾向のことが多い。大腿四頭筋が残りやすい傾向はあるが、進行とともに障害されてくる。筋罹患はかなりの左右差もありうる。筋組織自体は異常でも、必ずしもRVは認められないことがある。臨床・病理所見からDMRVと診断してもGNE遺伝子異常を認めない症例もある。DMRV = GNE 遺伝子異常とすれば、DMRVの診断は臨床所見のみからは難しい。

国立精神・神経センター武蔵病院 神経内科

大矢 寧、川井 充

国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究一部

西野一三

A. 研究目的

いわゆる「縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー(DMRV)」はUDP-N-acetylglucosamine-2-epimerase / N-acetylmannosamine kinase (GNE)遺伝子変異が大多数の患者で見出されることが分かってきた。遺伝子異常が分かるに従い、その臨床所見の多様性が見えてきたため、臨床所見を再検討する必要がある。

B. 研究方法

当院神経内科でGNE遺伝子異常の有無を検索したDMRVの16例の臨床所見を検討した。16例中、13例でGNE遺伝子異常が見出され、3例(2家系)でexonに異常は認められなかった。なお16例中6例は最近の受診歴がなく、診療録の記載での検討にとどまった。

倫理面への配慮: 病理組織診断や遺伝子診断は、本研究班での研究成果に基づいた説明書・承諾書などを利用して、十分なインフォームド・コンセントのもとに実施された。

C. 研究結果

【症例1】28歳男性。GNE 遺伝子 A578T/T1043C。20歳頃より筋力低下を自覚した。次第に歩行困難を生じた。両側性に大腿は外側後筋のみ残存し、腰部傍脊柱筋、腸腰筋、中・小臀筋、下腿全体も高度に萎縮していた。

罹患筋の選択性は著しいが、遠位優位というわけでもなく、大腿四頭筋は保たれる傾向にあるが、その全体が保たれるわけではない。

【症例2】19歳男性。GNE 遺伝子 G1765C ホモ接合体。17歳頃から筋力低下を自覚した。18歳、前医での外側広筋生検でRVと、壊死線維の散在を認めた。CKは1800以上。両側性に臀筋、大内転筋、大腿屈筋群、下腿三頭筋が萎縮していて、外側広筋も萎縮していた。その後、大腿四頭筋も萎縮し、歩行不能になったが、それでも前脛骨筋は残存していた。

下腿筋萎縮が後面優位のGNE遺伝子異常ホモ接合体例があり、前脛骨筋優位の点は必須とはいえない。

【症例3】35歳女性。GNE 遺伝子 V572L ホモ接合体。34歳爪先がひっかかって転んだ。全身が細く近位筋萎縮も目立ち、当初先天性ミオパチーの可能性も考えられた。両側性に腰部傍脊柱筋、臀筋、大内転筋、内側広筋、前脛骨筋などが萎縮していた。大腿屈筋群の萎縮は目立たなかった。腓腹筋生検で、RVも多数みられたが、筋束によってはspheroid bodyなどの所見の方がむしろ目立った。

前脛骨筋萎縮があっても、大腿後面の萎縮は必ずしも目立つとは限らない。むしろ大腿内転筋などに注目すべき可能性がある。もともと頻度の高いGNE遺伝子異常のホモ接合体でも、臨床所見、筋病理所見ともに均一ではなく、非典型的なことがある。

【症例4】35歳女性。GNE 遺伝子 D176V/G708S。30歳代になり、つまづきやすくなり、35歳転んで膝下をぶ