

200936106A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

遠位型ミオパチーの実態調査

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 西野 一三

平成22年（2010年）3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

遠位型ミオパチーの実態調査

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 西野 一三

平成 22 年（2010 年）3 月

目 次

I. 総括研究報告

遠位型ミオパチーの実態調査	1
西野 一三 (国立精神・神経センター 神経研究所疾病研究第一部 部長)	
(資料) 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (MIM# 600737, Distal myopathy with rimmed vacuoles: DMRV) 診断基準	
(資料) 三好型ミオパチー (MIM# 254130, Miyoshi myopathy, Distal dysferlinopathy) 診断基準	
(資料) 眼咽頭遠位型ミオパチー (Oculopharyngodistal myopathy) 診断基準	
(資料) その他の遠位型ミオパチー診断基準	

II. 分担研究報告

1. 遠位型ミオパチー各病型の本邦患者数の推計と DMRV 遺伝子診断	11
西野 一三 (国立精神・神経センター 神経研究所疾病研究第一部 部長)	
2. 縁取り空胞を伴う Becker 型筋ジストロフィーの臨床 および病理学的特徴	13
西野 一三 (国立精神・神経センター 神経研究所疾病研究第一部 部長)	
3. 三好型遠位型ミオパチーの自然経過	15
青木 正志 (東北大学病院神経内科 講師)	
4. DMRV 長期経過例における筋障害の検討	17
富満 弘之 (東京医科歯科大学大学院脳神経病態学 助教)	
5. 長期経過 DMRV における筋力低下の推移	19
田中 恵子 (金沢医科大学神経内科 特任教授)	

6.	傷害筋線維と再生筋線維における GNE の発現誘導	20
	熊本 俊秀（大分大学医学部総合内科学第三講座 教授）	
7.	縁取り空胞を伴う筋疾患における DNA 損傷の検討	22
	中野 智（関西医科大学神経内科 准教授）	
8.	東大神経内科における生検筋で Autophagic vacuole を特徴とする ミオパチー症例について	25
	清水 潤（東京大学医学部附属病院神経内科 講師）	
9.	封入体筋炎における被検筋による	27
	針筋電図所見の違い：深指屈筋の有用性 園生 雅弘（帝京大学医学部神経内科 准教授）	
10.	縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーにおける	28
	TDP-43 の蓄積に関する研究 杉江 和馬（奈良県立医科大学 神経内科 講師）	
11.	DMRV 患者の筋力低下の経過	31
	大矢 寧（国立精神・神経センター病院神経内科 医長）	
12.	遺伝子診断に基づく縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー 自然歴把握のための患者アンケート解析結果	33
	中村 治雅（国立精神・神経センター病院 治験管理室 室長補佐・神経内科 医師） 森 まどか（国立精神・神経センター病院 神経内科 医師） （資料）臨床調査質問票 （資料）同意文書	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	63

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

「遠位型ミオパチーの実態調査」

研究代表者 西野 一三

国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部 部長

研究要旨

遠位型ミオパチーの患者数は、不明である。国立精神・神経センターにて、1978～2005年に筋病理診断を受けた例は、DMRV42例、三好型31例、OPDM11例であった。DMD患者数2000～4000程度と推計されるデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）は同期間に502例であることから、本邦での患者数はDMRV167～345人、三好型124～247人、OPDM44～88人と推計された。また、これまでに国立精神・神経センターにて遺伝学的診断が確立したDMRV患者は、累積135例となった。

研究分担者

青木正志・東北大学病院神経内科 講師
富満弘之・東京医科歯科大学大学院脳神経
病態学 助教
田中恵子・金沢医科大学神経内科
特任教授
熊本俊秀・大分大学医学部総合内科学第
三講座 教授
中野 智・関西医科大学神経内科 准教授
清水 潤・東京大学医学部附属病院神経内
科 講師
園生雅弘・帝京大学医学部神経内科
准教授
杉江和馬・奈良県立医科大学 神経内科
講師
大矢 寧・国立精神・神経センター病院
神経内科 医長
中村治雅・国立精神・神経センター病院
治験管理室 室長補佐・
神経内科 医師・

研究協力者

森まどか・国立精神・神経センター病院
神経内科 医師

中山貴博・労働者健康福祉機構横浜労災病
院神経内科 副部長

A. 研究目的

遠位型ミオパチーは、その治療薬開発に
営利企業の参入が望みにくい「超」希少疾
病であるが、それでも、本邦は諸外国と比
較すると患者が多いとされており、遠位型
ミオパチー研究に対する社会的要請も大き
い。しかしながら、遠位型ミオパチーの疾
患概念は必ずしも確立しておらず、欧米と
の疾患概念の差異もある。そこで、遠位型
ミオパチーの実態に迫るべく、（1）診断基
準作成、（2）疾患頻度調査、（3）臨床評
価指標、（4）ADL評価スケール作成と縁
取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（DMRV）
患者へのアンケート調査、（5）長期経過
DMRV例における筋力低下の経過検討、
（6）DMRV病態・診断研究、（7）三好型
の自然経過に関する研究、を行い、強い社
会的要請に応えるとともに、医療の均てん
化、延いては、国民の医療向上に寄与する

ことを目指した。

B. 研究方法

(1) 診断基準作成

本邦で患者が見出されている DMRV、三好型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチー(OPDM)の3疾患およびその他に分類し、診断基準を作成した。

(2) 疾患頻度調査

国立精神・神経センターにて、1978～2005年に筋病理診断を受けた例しらべ、同期間にデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)と診断された例との比較から、各病型の本邦患者数を推計した。

(3) 臨床評価指標

臨床試験への準備が進みつつある DMRV の自然歴把握と評価指標作成は緊急の課題である。そこで、遠位型ミオパチーのうち、特に、DMRV に焦点を当てた。自然歴を前方視的に把握するためには、臨床評価指標の設定が必要であるが、現状では可能な限りのデータを全て定期的に取得しておくべきと考え、2名の DMRV 患者においてフィージビリティスタディを行った。

(4) ADL 評価スケール作成と DMRV 患者へのアンケート調査

自然歴把握と臨床試験の際の評価指標の一つとすることを念頭に置き、遠位型ミオパチー用 ADL 評価スケール(DMSF)のプロトタイプを作成した。さらに、DMRV 診断確定例を対象として、DMRF に基づいたアンケート調査を行った。

(5) 長期経過 DMRV 例における筋力低下の経過検討

今後の臨床試験での評価指標設定の参考にするべく、DMRV 長期経過観察例6例につ

いて徒手筋力テストの経過を検討した。

(6) DMRV 病態・診断研究

1. 縁取り空胞性筋疾患共通の病態を探るべく、DMRV 類縁の封入体筋炎例の骨格筋切片に対して、DNA 二本鎖切断のマーカーとして広く用いられている γ -H2AX を含む各種抗原に対する特異抗体を用いて免疫組織化学的検討を行った。

2. 各種神経変性疾患で蓄積することが最近明らかになった TDP-43 について、DMRV モデルマウス骨格筋を用いて、免疫染色による解析を行った。

3. 縁取り空胞形成機序解明の手がかりを得るべく、筋生検を受けてベッカー型筋ジストロフィーと診断された例のうち縁取り空胞のある例を同定し、その臨床病理学的特徴について検討した。

4. GNE 遺伝子解析を確定診断目的で行った。

5. 類縁疾患の封入体筋炎において、被検筋による針筋電図所見の違いを検討した。

(7) 三好型の自然経過に関する研究

これまでに遺伝学的に診断が確定している三好型患者46家系49人について後方視的に臨床経過を検討した。

(倫理面への配慮)

すべての研究は、各施設の倫理委員会にて承認を得て行われた。ヒト検体は患者よりインフォームド・コンセントを得たものを用いた。

C. 研究結果と考察

(1) 診断基準作成

別紙のごとく、診断基準を作成した。診断基準は、外国の動向も踏まえ、多くが受け入れやすいものとした。DMRV については、

GNE 遺伝子変異を必須とするか議論があったが、欧米では当該疾患が遺伝性封入体ミオパチーと呼ばれていることもあり、DMRV を遺伝子変異の有無により更に分類することは更なる混乱をもたらすだけであると考え、現状では、GNE-opathy を DMRV と再定義する形にした。また、本邦では患者が見出されていない多くの病型があることから、その他として、リストアップした。

(2) 疾患頻度調査

1978～2005 年に筋病理診断を受けた例は、DMRV42 例、三好型 31 例、OPDM11 例であった。DMD は同期間に 502 例であった。H 本邦 DMD 患者数は 2000～4000 人程度と推計されることから、本邦での遠位型ミオパチー各病型の患者数は DMRV167～345 人、三好型 124～247 人、OPDM44～88 人と推計された。これまでに DMRV の遺伝学的診断が確立した例は国立精神・神経センターのみで 135 例、他施設での遺伝学的診断確定例は最低でも 40 例あると考えられることから、推計値の最小値を超える DMRV 患者が既に同定されていることになる。しかし、一方で、最大値までの幅を考えると、依然として 100 人以上の DMRV 患者が診断されない可能性もある。今後の臨床試験を念頭に入ると、このような潜在的な DMRV 患者を同定していくことが今後の課題と考えられる。

(3) 臨床評価指標

筋力、運動能力の評価に加え、各種検査を行った。2 名の患者では、2 泊 3 日程度で全ての項目を調べることが可能であった。ただし、部分介助の患者が疲労等で全ての項目を消化出来ない場合を考慮すると、平日 4 日間のスケジュールが妥当と考えられた。

(4) ADL 評価スケール作成と DMRV 患者へのアンケート調査

遠位型ミオパチー用 ADL 評価スケール (DMSF) のプロトタイプを作成した。これを元に、インフォームド・コンセントを得られた、GNE 遺伝子変異が確定している 20 歳以上の DMRV 患者を対象としてアンケート調査を行った。有効回答数は 57 名 (男性 20 名、女性 37 名) であった。発症年齢は 25.9 ± 9.7 歳で、ADL 障害度には年齢や性別と関係なく個人差があった。

(5) 長期経過 DMRV 例における筋力低下の経過検討

各筋群間での筋力低下の進行過程には個体差があるものの、一様に大腿四頭筋筋力は長期にわたり筋力が保たれていた。また、下肢の大腿屈筋群・大腿内転筋・前脛骨筋は、上肢筋群よりも早期から障害され、筋力低下の進行も速かった。今後 DMRV への臨床試験の際には、これら下肢筋群を第一に評価すべきと考えられる。

(6) DMRV 病態・診断研究

1. 正常骨格筋の免疫染色においては γ -H2AX の免疫反応はほとんど認めなかった。DMRV 類縁の封入体筋炎においては、 $74.1 \pm 13.0\%$ の空胞化線維の空胞辺縁に陽性沈着物を認めた。また、空胞化線維では $64.7 \pm 7.1\%$ の筋核が陽性であったが、非空胞化線維では $25.7 \pm 8.7\%$ の筋核のみ陽性であった。このことは、封入体筋炎においては、筋核崩壊・縁取り空胞形成に DNA 二本鎖切断が関与していることを示している。
2. TDP-43 の発現は、正常対照では核でのみ認められた。一方、DMRV 患者では、核に加え、細胞質と縁取り空胞でも認められた。また、ユビキチンと共局在し、一部はリン酸化 neurofilament、tau と共局在した。リン酸化 TDP-43 は、TDP-43 と同様の発現パ

ターンを示した。ウェスタンブロット解析では、FTLD-U の脳組織と同様、正常より濃い 43kDa バンドとより高分子の淡いバンドを認めた。DMRV モデルマウスでも患者と同様に、筋組織に TDP-43 の発現を認めた。さらに、加齢とともに TDP-43 が蓄積していた。DMRV においては、中枢神経での TDP-43 発現を示す疾患群と共通の病態基盤を有する可能性が示唆される。

3. RV を伴う BMD 例は 10/362 例 (2.8%) であった。ジストロフィン遺伝子解析では、エクソン 45-47 欠失が 3 例、45-48 欠失が 3 例、45-53 欠失が 1 例、c.5827A>G (p.Met1943Val, エクソン 41) 変異が 1 例であった。2 例では遺伝子変異が同定できなかった。臨床的には、RV のある BMD 患者の筋生検時年齢および発症年齢は、それぞれ、 40.5 ± 10.3 歳、 21.5 ± 18.1 歳と RV のない群 (17.9 ± 16.2 歳、 11.0 ± 10.7 歳) に比較して高かった。血清 CK は RV のある例が 1540 ± 920 、RV のない例が 4810 ± 6210 と、約 1/3 程度と低かった。組織学的には壊死・再生線維が少ないものの中等度の線維化がみられた。免疫組織化学的には RV は自己食空胞の性質 (LC3・LAMP-2 陽性空胞の存在) をもっていた。電子顕微鏡での観察では RV はグリコーゲン顆粒を伴う自己食空胞に加え、リポフスチンの沈着およびミエリン様小体を認めた。以上は、壊死・再生変化が軽く症状の軽い BMD に RV が出現すること、RV 形成の病態は疾患の種類によらず共通である可能性が示唆される。

4. GNE 遺伝子解析を確定診断目的で行い 135 例でホモ接合型または複合ヘテロ接合型変異を見出した。43 種類の変異が見出されたが、p.V572L 変異が一番多く、そのアレル頻度は 51.5%、次に多い変異は p.D176V でアレル頻度 21.1%であった。96.7%のアレルがミスセンス変異で占められ、両アレル

ともにミスセンス以外の変異を有する患者はいなかった。

5. DMRV 類縁疾患の封入体筋炎においては、ミオパチーの特徴とされる低振幅 MUP が深指屈筋 (FDP) では 57%、残り 2 筋は何れも 0%であった。Thin MUP は FDP で高頻度に認められた。一方、高振幅 MUP は随意収縮時所見では、FDP で有意に少なかった。このことは、封入体筋炎における FDP 筋電図の有用性を示している。

(7) 三好型の自然経過に関する研究

c.1566C>G, c.2997G>T, c.3373delG, c.4497delT 変異が多かった。肢帯型 2B 型と比較し c.2997G>T 変異は少なく、c.3373delG 変異は多かった。発症年齢は平均 21.8 ± 7.5 歳で、c.2997G>T 変異を持つと 28.8 ± 9.0 歳、持たないと 21.0 ± 7.0 歳と有意差が認められた。初発症状はつま先立ち困難が多かった。平均経過は走り困難 1 ± 2 年、階段昇り困難 3 ± 3 年、しゃがみ立ち困難 6 ± 4 年、つまづきやすい 7 ± 6 年、手の脱力 9 ± 9 年、上肢近位筋脱力 11 ± 11 年、杖使用 16 ± 8 年、車椅子使用 21 ± 9 年、電動車椅子使用 30 ± 13 年であった。三好型の自然経過の一端が明らかとなった。

D. 結論

本邦で初めて遠位型ミオパチーの診断基準を作成した。遠位型ミオパチー各病型の本邦における患者数の推計を初めて明らかにした。遠位型ミオパチー用の ADL 評価指標を作成した。長期経過例での検討から、DMRV において比較的短時間での変化を評価するには、下肢筋群の評価が有用であることを明らかにした。DMRV の縁取り空胞形成には他の疾患で見られる縁取り空胞形成と共通の分子基盤があることが予想された。三好

型の自然経過の一端を明らかにした。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Nakamura K, Tsukamoto Y, Hijiya N, Higuchi Y, Yano S, Yokoyama S, Kumamoto T, Moriyama M: Induction of GNE in myofibers after muscle injury. Pathobiology (in press)

2. 学会発表

Noguchi S, Malicdan MCV, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Muscle Atrophy in the DMRV/HIBM Mouse Model. 49th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, San Diego, United States of America, 12.7, 2009

Malicdan MCV, Noguchi S, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Sialic acids Prevent the Myopathic Phenotype in the DMRV/HIBM Mouse Model. 49th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, San Diego, United States of America, 12.7, 2009

Sugie K, Noguchi S, Kimura A, Komaki H, Kaneda D, Nonaka I, Ueno S, Nishino I. Clinical features of cardiac involvement in autophagic vacuolar myopathies characterized by autophagic vacuoles with sarcolemmal features (AVSF). The 9th Asian and Oceanean Myology Center (AOMC) Scientific Meeting, March 24-26, 2010, Seoul, Korea.

高橋俊明, 青木正志, 鈴木直輝, 堅山真規, 八木沼智香子, 早坂美保, 佐藤仁美, 相場瞳, 伊藤真理子, 阿部恵美, 松村剛, 林由起子, 西野一三, 埜中征哉, 吉岡勝, 今野秀彦, 小野寺宏, 糸山泰人. Dysferlinopathy におけるミスセンス変異と発症年齢の検討. 2009 年 9 月 23 日-26 日, 日本人類遺伝学会 第 54 回大会, 東京.

北國圭一, 園生雅弘, 村嶋英治他: 封入体筋炎における被検筋による針筋電図所見の違い: 深指屈筋 の有用性. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 5, 2010 (予定).

森まどか, 中村治雅:

2010 年日本神経学会総会、2010 年 world muscle society 学術会議 (予定)

G. 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

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (MIM# 600737, Distal myopathy with rimmed vacuoles: DMRV)

診断基準

●診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴

- a. 常染色体劣性遺伝または孤発性
- b. 進行性の筋力低下および筋萎縮：前脛骨筋や大腿屈筋群、大内転筋が侵されるが大腿四頭筋は多くは保たれる
(以下は参考所見)
 - ・発症年齢は 15 歳から 40 歳までが多い
 - ・5~20 年の経過で歩行不能となることが多い
 - ・血清 CK 値は正常から軽度高値 (1,500IU/L 以下)
 - ・針筋電図で筋原性変化 (fibrillation potential や高振幅 MUP が認められることがある)

B. 筋生検所見 (a は必須、b-f は参考所見)

- a. 縁取り空胞を伴う筋線維
(以下は参考所見)
 - ・通常強い炎症反応を伴わない
 - ・筋線維内のβ-アミロイド沈着
 - ・筋線維内のユビキチン陽性封入体
 - ・筋線維内のリン酸化タウ
 - ・(電子顕微鏡にて) 核または細胞質内の 15-20 nm のフィラメント状封入体(tubulofilamentous inclusions)の存在

C. 遺伝学的検査

- a. *GNE* 遺伝子のホモ接合型または複合ヘテロ接合型変異

●除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・遠位筋を侵し得る他の筋疾患 (他の遠位型ミオパチーを含む)
- ・神経原性疾患

病理学的鑑別

- ・縁取り空胞を来す他のミオパチー

●診断カテゴリー

確実例 A または B の少なくとも一方を満たし、かつ C を満たすもの

疑い例 A+B を満たすもの

三好型ミオパチー (MIM# 254130, Miyoshi myopathy, Distal dysferlinopathy) 診断基準

●診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴

- a. 常染色体劣性遺伝または孤発性
- b. 進行性の筋力低下および筋萎縮：下肢後面特に腓腹筋が侵される
- c. 歩行可能な時期に血清 CK 値が異常高値 (1,000IU/L 以上)を示す
(以下は参考所見)
 - ・発症年齢は 30 歳までに多い
 - ・進行すれば近位筋の筋力低下が出現する
 - ・針筋電図で筋原性変化

B. dysferlin の評価

- a. dysferlin 欠損 (骨格筋免疫染色またはウェスタンブロット解析)
- b. *DYSF*(dysferlin)遺伝子のホモ接合型または複合ヘテロ接合型変異
(以下は参考所見)
 - ・CD14 陽性リンパ球のウェスタンブロット解析で dysferlin 欠損

●除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・遠位筋を侵し得る他の筋疾患 (他の遠位型ミオパチーを含む)
- ・神経原性疾患

病理学的鑑別

- ・他の筋ジストロフィー
- ・多発筋炎

●診断カテゴリー

確実例 A+B を満たす例

疑い例 A を満たすが、B が施行されていない例

眼咽頭遠位型ミオパチー (Oculopharyngodistal myopathy) 診断基準

●診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴 (a・c は必須、d・f は参考所見)

- a. 眼瞼下垂を呈する
- b. 前脛骨筋の筋力低下・筋萎縮を呈する
(以下は参考所見)
 - ・緩徐進行性である
 - ・外眼筋麻痺、嚥下・構音障害を呈する
 - ・常染色体遺伝の家族歴を認めることがある

B. 一般的検査 (a は必須)

- a. 血清 CK 値は正常から軽度高値 (1,000 IU/L 以下)
(以下は参考所見)
 - ・針筋電図で筋原性変化 (fibrillation potential や高振幅 MUP が認められることがある)

C. 筋生検所見

- a. 縁取り空胞を伴う筋線維の存在

●除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・遠位筋を侵し得る他の筋疾患 (他の遠位型ミオパチーを含む)
- ・眼咽頭型筋ジストロフィー (OPMD)

病理学的鑑別

- ・縁取り空胞を来す他のミオパチー

●診断カテゴリー

確実例 A+B+C を満たすもの

疑い例 A+B であるが、C を満たさないもの

その他の遠位型ミオパチー診断基準

その他の遠位型ミオパチーは原因遺伝子の同定されていないものを含めて、各種の報告がある。ここでは、比較的疾患概念が確立しつつあるものを挙げるが、今後、疾患概念や分類が変わりうる可能性もある。また、先天性ミオパチーなどの疾患では、遠位筋を侵し、遠位型ミオパチーの臨床型をとりうることに注意が必要である。

- Distal anterior compartment myopathy (DACM): ジスフェルリン欠損による。臨床経過は三好型に似るが、下腿前面の筋肉が好んで侵される。AR、*DYSF*
- Non-dysferlin distal muscular dystrophy*: AR、*ANO5/TMEM16E*
- Welander distal myopathy*: 40代以降に発症し、手指伸筋の筋力低下を示す。AD、2p13
- Tibial muscular dystrophy (TMD)*: 前脛骨筋の筋力低下を示す。AD、*TTN*
- Early-onset distal myopathy*: 小児発症で前脛骨筋・手指伸筋群および頸部屈筋群の筋力低下を示す。AD、*MYH7*
- Distal myopathy with *CAV3* mutation: 若年発症で手内筋の筋力低下を示し、腓腹筋肥大を呈することがある。AD、*CAV3*
- Vocal cord and pharyngeal dysfunction with distal myopathy (VCPDM)*: 声帯および咽頭筋力低下を示すAD、*MATR3*
- Distal *VCP* (valosin containing protein)-mutated myopathy*: パジェット病と前頭側頭型認知症を伴う。AD、*VCP*
- Distal nebulin (*NEB*) myopathy*: 小児から若年成人発症で前脛骨筋の筋力低下を示す。AR、*NEB*
- 筋原線維性ミオパチー (myofibrillar myopathy): 通常AD
- その他

AD: 常染色体優性遺伝、AR: 常染色体劣性遺伝、*: 本邦で患者未同定

Ⅱ. 分 担 研 究 報 告

「遠位型ミオパチー各病型の本邦患者数の推計と DMRV 遺伝子診断」

研究代表者 西野 一三

国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部 部長

研究要旨

遠位型ミオパチーの患者数は、不明である。国立精神・神経センターにて、1978～2005 年に筋病理診断を受けた例は、DMRV42 例、三好型 31 例、OPDM11 例であった。DMD 患者数 2000～4000 程度と推計されるデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）は同期間に 502 例であることから、本邦での患者数は DMRV167～345 人、三好型 124～247 人、OPDM44～88 人と推計された。また、これまでに国立精神・神経センターにて遺伝学的診断が確立した DMRV 患者は、累積 135 例となった。

A. 研究目的

遠位型ミオパチー各病型の患者数は不明である。特に縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（DMRV）は、培養細胞レベルで明らかにされていたシアル酸補充療法の有効性が、昨年動物モデルでも証明されたことから（POC）、ヒトでの臨床試験を目指した準備が開始されている。このような状況を踏まえ、緊急に患者数の推計を出すことを目的とする。このような患者数の推計値は、遠位型ミオパチーのような「超」希少疾病に対する厚生労働行政上の戦略を考える上でも重要な基礎資料ともなる。

B. 研究方法

国立精神・神経センターにて、1978～2005 年に筋病理診断を受けた 9316 例を対象とし、DMRV、三好型、眼咽頭遠位型と診断された例数を調べるとともに、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）患者数と比較した。DMRV については GNE 遺伝子変異

が確定している例を、三好型については免疫染色またはウェスタンブロット解析においてジスフェルリン欠損が確定している例を対象とした。DMD に関しても、免疫染色またはウェスタンブロット解析においてジストロフィン欠損が確定している例を対象とした。DMD においては筋生検を行わず、遺伝子診断で診断が確定される例が近年増加していることから、最近 5 年を除き、対象検体を 2005 年までとした。

同時に、DMRV が疑われ診断確定目的にて血液検体が送られてきた例について、ゲノム DNA を抽出し、DMRV 原因遺伝子 GNE の全エクソンとイントロンの一部のシーケンスを行った。

（倫理面への配慮）

対象とした症例は、国立精神・神経センター倫理委員会にて承認を受けた同意書を用いてインフォームド・コンセントを得ている。また、遺伝子解析研究について倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1978～2005 年に筋病理診断を受けた例は、DMRV42 例、三好型 31 例、OPDM11 例であった。DMD は同期間に 502 例であった。シーケンス解析により DMRV と遺伝学的に確認した本邦患者数は、累積症例数が 135 例となった。43 種類の変異が見出されたが、p. V572L 変異が一番多く、そのアレル頻度は 51.5%、次に多い変異は p. D176V でアレル頻度 21.1%であった。96.7%のアレルがミスセンス変異で占められ、両アレルともにミスセンス以外の変異を有する患者はいなかった。

D. 考察

DMD の本邦での患者数は、報告により差はあるものの、概ね 2000～4000 人程度と考えられている。この結果を元に遠位型ミオパチー各病型の本邦における患者数を推計すると、DMRV167～345 人、三好型 124～247 人、OPDM44～88 人となる。

これまでに DMRV 遺伝学的診断が確立した例は国立精神・神経センターのみで 135 例となった。他施設での遺伝学的診断確定例は既に 40 例以上あると考えられることから、推計値の最小値を超える DMRV 患者が既に同定されていることになる。しかし、一方で、最大値までの幅を考えると、依然として 100 人以上の DMRV 患者が診断されないでいる可能性もある。今後の臨床試験を念頭に入れると、このような潜在的な DMRV 患者を同定していくことが今後の課題と考えられる。

E. 結論

遠位型ミオパチー各病型の本邦における患者数は、DMRV167～345 人、三好型 124～247 人、OPDM44～88 人と推計される。国立精神

・神経センターでは、これまでに 135 例の本邦患者において、遺伝学的診断を確立した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

「縁取り空胞を伴う Becker 型筋ジストロフィーの臨床および病理学的特徴」

研究代表者 西野 一三

国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部 部長

研究要旨

生検筋に縁取り空胞(RV)がみられた Becker 型筋ジストロフィー(BMD)患者は、これまでに世界で 1 例報告があるのみである。国立精神・神経センターにて 1978～2007 年に筋病理診断を受けた BMD 患者 362 例を検索し、10 例に RV を確認した。RV を有する BMD 患者のジストロフィン遺伝子変異は、軽症型 BMD が高頻度に認められるエクソン 45～48 領域に集中していた。また免疫組織化学的検索および電子顕微鏡的観察では、他疾患で報告されている RV と同様の特徴を示した。RV は、疾患に関わらず、何らかの共通した機序により形成されることが示唆された。

A. 研究目的

生検筋に縁取り空胞(以下 RV: rimmed vacuole)がみられた Becker 型筋ジストロフィー(以下 BMD: Becker Muscular Dystrophy)例は、これまでに全世界で一例の報告があるのみである。RV はさまざまな筋疾患で出現することが知られているが、その発生機序については十分明らかにされていない。RV を伴う BMD 患者の臨床症状および筋生検検体の解析を行うことによりその臨床的特徴を明らかにするとともに、RV の発生機序についての手がかりを得ることを目的とする。

B. 研究方法

国立精神・神経センターにて、1978～2007 年に筋病理診断を受け、免疫染色またはウェスタンブロット法によって診断が確立している BMD362 例を対象に、筋病理所見を再検討し、RV を認める例を検索した。RV を認めた例を対象とし、MLPA 法お

よびジストロフィン遺伝子の全エクソンとイントロンの一部の塩基配列の解析により、遺伝子変異を確定した。また、発症年齢および血清 CK 値を、RV のない BMD と比較した。さらに、筋病理学的特徴を免疫組織化学的手法および電子顕微鏡により観察した。

(倫理面への配慮)

すべての検体は、診断目的に採取されたものである。国立精神・神経センター倫理委員会で承認を受けた同意書を用いてインフォームド・コンセントを得た例を対象としている。

C. 研究結果

RV を伴う例は 10 例 (2.8%) であった。ジストロフィン遺伝子解析では、エクソン 45-47 欠失が 3 例、45-48 欠失が 3 例、45-53 欠失が 1 例、c. 5827A>G (p. Met1943Val, エクソン 41) 変異が 1 例であった。2 例では

遺伝子変異が同定できなかった。臨床的には、RVのあるBMD患者の筋生検時年齢および発症年齢は、それぞれ、 40.5 ± 10.3 歳、 21.5 ± 18.1 歳とRVのない群(17.9 ± 16.2 歳、 11.0 ± 10.7 歳)に比較して高かった。血清CKはRVのある例が 1540 ± 920 、RVのない例が 4810 ± 6210 と、約1/3程度と低かった。組織学的には壊死・再生線維が少ないものの中等度の線維化がみられた。免疫組織化学的にはRVは自己貪食空胞の性質(LC3・LAMP-2陽性空胞の存在)をもっていた。電子顕微鏡での観察ではRVはグリコーゲン顆粒を伴う自己貪食空胞に加え、リポフスチンの沈着およびミエリン様小体を認めた。

D. 考察

3人の患者にエクソン45-48の欠失を認めた。この変異は以前報告されたRVを伴うBMD例でも見出されているとともに、極めて軽い症状を起こすことが知られている。他の変異も近傍のエクソンの欠失または1塩基置換だった。RVのあるBMDは発症年齢・筋生検時年齢が高く、壊死・再生筋線維も目立たなかったことから、壊死・再生変化が軽く症状の軽いBMDにRVが出現する可能性が示された。また、免疫組織化学的に、他疾患でのRVとの本質的差はなかったことから、RV形成の病態は共通であることが示唆された。

E. 結論

RVは、BMDの軽症例に好んで形成されると考えられる。免疫組織化学的に、RVは他疾患でのRVとの本質的差はなく、疾患を越えて、RV形成の共通病態が存在すると予想される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

「三好型遠位型ミオパチーの自然経過」

研究分担者 青木 正志 東北大学病院神経内科 講師

研究要旨 三好型遠位型ミオパチーの自然経過を明らかにするため、dysferlin遺伝子変異の確定した46家系49人の遺伝子型と経過を解析した。遺伝子型では、肢帯型筋ジストロフィー2B型と比べc. 2997G>T変異は少なくc. 3373delG変異は多かった。c. 2997G>T変異をもつと有意に発症が遅かった。経過では、三好型遠位型ミオパチーはつま先立ち困難と手の脱力は有意に肢帯型より早く障害された。将来dysferlinopathyの治療研究がおこなわれる際の重要な基礎資料となると考える。

A. 研究目的

Dysferlinは1998年三好型遠位型ミオパチーの原因遺伝子としてクローニングされた。肢帯型筋ジストロフィー2B型の原因であることも判明し、dysferlinopathyという概念が確立した。我々は日本人三好型遠位型ミオパチーおよび肢帯型筋ジストロフィーにおいて同遺伝子異常のスクリーニングを行い、三好型遠位型ミオパチー46家系、肢帯型36家系で遺伝子変異を確定した。三好型遠位型ミオパチーの自然経過を明らかにする。

B. 研究方法

Dysferlin 遺伝子解析は、ゲノム DNA を各エクソンごとに polymerase chain reaction (PCR)-Single strand conformation polymorphism (SSCP) 法にて変異を検出し直接塩基配列決定法で同定した。この方法で dysferlin 遺伝子変異の確定した三好型遠位型ミオパチー46家系49人を対象とし、初発症状、経過を解析した。対象の内訳はc. 2997G>T (旧標記 G3370T) 変異の homo 接合1家系1人, hetero 接合5家系5人, なし40家系43人だった。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析はインフォームドコンセントを行い、書面で同意を得て、検体を匿名化し行った。東北大学および共同研究施設である国立病院機構西多賀病院の倫理委員会で承諾を受けた。

C. 研究結果

c. 1566C>G 変異, c. 2997G>T 変異, c. 3373delG

変異, c. 4497delT 変異が多かった。肢帯型筋ジストロフィー2B型と比べc. 2997G>T 変異は少なく, c. 3373delG 変異は多かった。

発症年齢は平均 21.8 ± 7.5 歳で, c. 2997G>T 変異をもつと 28.8 ± 9.0 歳, もたないと 21.0 ± 7.0 歳で有意差がみられた。

初発症状はつま先立ち困難17, 下腿筋委縮6, 階段困難5, 走り困難5, 下肢筋力低下5, 歩行困難4, 転倒1, 踵歩き困難1, 足がひっかかる1, 膝が上がらない1, 握力低下1人ずつだった。

平均経過はつま先立ち困難 0 ± 0 年, 走り困難 1 ± 2 年, 階段昇り困難 3 ± 3 年, しゃがみ立ち困難 6 ± 4 年, つまづきやすい 7 ± 6 年, 手の脱力 9 ± 9 年, 上肢近位脱力 11 ± 11 年, 杖使用 16 ± 8 年, 車椅子使用 21 ± 9 年, 電動車椅子使用 30 ± 13 年だった。

血清 CK 値の対数は罹病期間と相関 ($r = -0.745$) した。

D. 考察

肢帯型筋ジストロフィー2B型と経過を比較すると発症年齢が早かったが, c. 2997G>T変異を除いて比較すると差がなく, 肢帯型にこの変異が多いためと考えられた。つま先立ち困難と手の脱力は, 生存曲線での比較で有意に肢帯型より早く障害された。本研究は将来 dysferlinopathy の治療研究がおこなわれる際の重要な基礎資料となると考える。

E. 結論

三好型遠位型ミオパチーの自然経過を明らかにした。