

201024173A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

筋チャンネル病および関連疾患の診断・治療指針作成
および新規治療法開発に向けた基盤整備のための研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 高橋 正紀

平成23（2011）年 5月

目 次

I : 総括研究報告書	
「筋チャンネル病および関連疾患の診断・治療指針作成および新規治療法開発に向けた基盤整備のための研究」.....	1
研究代表者:高橋 正紀 大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学 助教	
II : 分担研究報告書	
1. 「筋チャンネル病の遺伝子解析および病態解析」.....	9
高橋 正紀 大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学 助教	
2. 「本邦における骨格筋チャンネル病の遺伝子解析」.....	13
佐々木良元 三重大学医学部附属病院神経内科 助教	
3. 「骨格筋 Na チャネロパチーの診断に有益な筋電図所見」.....	16
木下正信 首都大学東京 健康福祉学部 教授	
4. 「ナトリウムチャンネル異常症の臨床像および筋強直性ジストロフィー中枢神経症状発現機序に関する研究」.....	21
木村 卓 兵庫医科大学 内科学(神経・脳卒中科) 講師	
5. 「筋強直性ジストロフィーにおけるミスプライシングの制御」.....	25
石浦 章一 東京大学大学院総合文化研究科 教授	
6. 「本邦における DM2 調査研究」.....	28
松浦 徹 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経内科学 准教授	
7. 「筋強直性ジストロフィーのスプライシング異常の網羅的な解析とその制御研究」.....	30
大野 欽司 名古屋大学大学院医学系研究科 神経遺伝情報学 教授	
8. 「イオンチャンネルと神経細胞のオートファジー制御機構」.....	33
荒木 敏之 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 部長	
9. 「筋強直性ジストロフィー簡易スクリーニング法作成に関する研究」.....	36
松村 剛 独立行政法人国立病院機構刀根山病院	
10. 「筋強直性ジストロフィーの初発症状および初診時主訴」.....	38
尾方 克久 国立病院機構東埼玉病院臨床研究部長	
III : 研究成果の刊行に関する一覧表	41
IV:その他・資料	
平成22年度班員会議・ワークショップ	45
セミナー	48
GeneReviews 日本語版 (班による翻訳)	49
低カリウム性周期性四肢麻痺 (Hypokalemic Periodic Paralysis)	49
高カリウム性周期性四肢麻痺 1 型 (Hyperkalemic Periodic Paralysis Type 1)	60
先天性ミオトニー (Myotonia congenita)	68
筋強直性ジストロフィー1 型 (Myotonic Dystrophy Type 1) [Steinert's disease]	75
筋強直性ジストロフィー2 型 (Myotonic Dystrophy Type 2 (DM2))	84

I . 総括研究報告

「筋チャネル病および関連疾患の診断・治療指針作成および新規治療法
開発に向けた基盤整備のための研究」

研究代表者：高橋 正紀 大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学 助教

研究要旨： 一次性チャネル病については、われわれが遺伝子解析した症例を中心に文献報告も検索し、本邦例のなかで高頻度に見られる変異・臨床的特徴などを網羅し、一般臨床家に Web 公開できる状態とした(佐々木・高橋ら)。遺伝子診断を精力的に行い、新規変異を含む遺伝子異常を確定し、学会・論文発表を行った(高橋・木村・佐々木)。また、イントロン領域の変異による Na チャネルミオトニーの例を世界で初めて見出した(高橋・木村)。診断に有用な針筋電図所見を明らかにした(木下ら)。未報告の新規変異ではチャネル機能の解析を行い、病態との関連を明らかにした(高橋・木村ら)

二次性チャネル病である筋強直性ジストロフィー(DM)の治療の前提となる病態解明として、骨格筋および脳において病態と密接に関係する可能性が期待されるスプライシング異常をあらたに発見し(石浦・木村ら)、本症の病態と密接に関与する RNA 結合タンパク(CUGBP1, MBNL1)について標的 RNA 配列の網羅的解析も行った(大野)。いっぽう患者の早期発見の観点から、初発症状・初診時主訴を分析するとともに(尾方)、一般臨床医が使える本症のスクリーニング法の開発を行った(松村)。欧米では数割を占めるにもかかわらず本邦では一例しか同定されていない DM2 について、未同定の患者を見出すべく、Web で情報提供し遺伝子解析を行った(松浦)。細胞内イオン環境の恒常性と疾患に関する基礎研究も推進した(荒木)。

さらに当初計画にはなかったが、骨格筋チャネル病および筋強直性ジストロフィーについて情報提供するために Gene Reviews の日本語版翻訳を行い、既にホームページに掲載された。また、ワークショップを行い循環器・糖尿病の専門家と、既存の治療の問題点など意見交換を行い、今後の共同研究の方向性を検討した。また、治療研究で先行しているロチェスター大学の Wheeler 博士の公開セミナーを催し、意見・情報交換を行った。

分担研究者

石浦 章一

東京大学大学院

総合文化研究科 教授

大野 欽司

名古屋大学大学院医学系研究科

神経遺伝情報学 教授

木下 正信

首都大学東京

健康福祉学部 教授

松浦 徹

岡山大学大学院

医歯薬学総合研究科

脳神経内科学 准教授

松村 剛

国立病院機構刀根山病院

神経内科医長

尾方 克久

国立病院機構東埼玉病院

臨床研究部長

佐々木 良元 三重大学医学部附属病院
神経内科 助教
木村 卓 兵庫医科大学
内科学(神経・脳卒中科) 講師
荒木 敏之 独立行政法人国立精神・神経
医療研究センター
疾病研究第5部長

研究協力者

川井 充 国立病院機構東埼玉病院
院長
久保田 智哉 大阪大学医学部附属病院
神経内科・脳卒中科 医員
穀内 洋介 大阪大学医学部附属病院
神経内科・脳卒中科 医員

A. 研究目的

イオンチャンネルは骨格筋の電氣的興奮・収縮などに不可欠であり、その遺伝子異常は周期性四肢麻痺、ミオトニーなどの「チャンネル病」と総称される疾患の原因となる。これら骨格筋チャンネル病は、比較的良性的疾患と考えられているが、疾患自身が医療者に気づかれていない軽症例から、筋萎縮・筋力低下を呈する重症例まである。稀少なため、診断・治療などに困難を伴うことが多い。諸外国では Consortium for Clinical Investigations of Neurological Channelopathies のように、チャンネル病に対し体系的な研究体制が構築されつつあるところである。我々は平成21年度厚生労働科学研究「本邦における筋チャンネル病の実態に関する研究」の中で、臨床診断の問題点や、遺伝子診断施行例の少なさ、など本邦における問題点を明らかにした。そこで、診断確定のための遺伝子解析に加え、新規変異の場合にはチャンネル機能の電気

生理学的な解析まで、これまで以上に精力的に行い見逃されていた患者の発掘に努めることとした。我々は以前よりチャンネル病の遺伝子診断を行っており本邦の確定診断例のかなりを把握していることから、本研究ではそれら症例を中心に解析し、臨床診断・電気生理学的診断のための指針を作成し、今後の臨床診断の向上、遺伝子診断による確定につなげることを目的とした。

二次的チャンネル病である筋強直性ジストロフィー(DM)については、本症の代表的基礎研究者を網羅し、臨床家との共同研究を進めることを目指した。申請者らにより、mRNA のスプライシング異常が病態に主要な役割を果たすことが明らかになり、病態機序にもとづく治療薬のスクリーニングが行われ候補薬剤が同定される時代に至ったことから、臨床応用を目指した研究を行うこととした。具体的には、臨床家が有する患者由来細胞での候補薬剤の有用性の検討、および患者の自然歴・本症に特有の多くの合併症の経過などについてのデータ収集のためのデータベース構築といった基盤整備である。平成21年度厚生労働科学研究「本邦における筋チャンネル病の実態に関する研究」において、一般臨床家の本症に対する認識の問題が浮き彫りになったため、本年度はデータベースの整備以外に、初発症状などの解析、簡易スクリーニング法の作成も計画した。また、本症タイプ2(DM2)は欧米では数割を占めるにもかかわらず、本邦でまだ一家系しか同定されていないことから、十分に患者が把握されていないと考えられるため、患者を同定すべく積極的な情報提供により患者を発掘し、臨床的・遺伝的特徴を明らかにすることも目指した。

B. 研究方法

一次性筋チャンネル病

1. 遺伝子解析・チャンネル機能解析

同意取得後、患者リンパ球よりゲノム DNA を抽出した。臨床症状に応じ、*CACNA1S*、*SCN4A*、*KCNJ2*、*CLCN1* のうち可能性の高いものから解析を開始し、必要性に応じ全エクソンの塩基配列まで決定した。

遺伝子解析でこれまでに報告の無い変異が見出された場合、その変異が単なる多型であるのか、あるいは疾患関連性を有するかどうか、変異チャンネルを培養細胞 HEK293t にリン酸カルシウム法で発現させホールセルクランプ法により Na 電流の機能解析を行い、活性化、速い不活性化の電位依存性などを正常型と比較した。

2. 診断・検査指針—診断確定例の検討

遺伝子診断施行施設である大阪大学および三重大学の有する遺伝子診断確定例について、臨床データを匿名情報として共通のフォーマットで抽出し検討した。また、医学中央雑誌・PubMed などでの検索も行い、我々の施設以外の本邦の学会・論文発表例の情報も入手し遺伝子変異の部位・臨床症状・検査所見を検討した。

そのうち電気生理学的所見、特に実際の針筋電図波形が入手できたものについて、その発火周波数などを解析した。

二次性チャンネル病（筋強直性ジストロフィー）

1. DM2 患者の同定

DM2 の臨床症状などに関する情報提供を本研究班のホームページ上で掲載し臨床医に対し情報発信を行う。疑われる例について、患者リンパ球から抽出されたゲノム DNA を用いて、DM2 リピートの PCR 解析、repeat-primed PCR 法を用いて DM2 遺伝子変異の有無を検索した。

2. 臨床応用に向けた基盤整備

本症の自然歴の解明のひとつとしてデータベースについては引き続き症例の蓄積を行った。

さらに、初発症状および初診時主訴について東埼玉病院の患者について後方視的に分析し、その特性を抽出した。

簡易スクリーニング法の作成については、一般診察室での利用を前提とし、簡単な問診や診察で本症のスクリーニングが行えるよう、特徴的な症状・所見を整理した。

新規治療法の開発

筋強直性ジストロフィー症患者サンプル（脳・骨格筋）を用いた病態研究について mRNA スプライシングの異常の解析を行った。骨格筋についてエクソンアレイをもちいた網羅的解析、脳については標的候補についての個別解析を行った。さらに本症のスプライシング異常に関与していることが示されている RNA 結合タンパク CUGBP1 と MBNL1 の RNA 標的配列を HITS-CLIP 法を用いて網羅的な同定を行った。

さらに細胞内イオン環境の恒常性と疾患に関する基礎的研究も行った。近年細胞死の機構として注目されている、オートファジーの誘導機構への Na⁺/H⁺交換担体の関与について、神経系培養細胞に発現させその影響を検討することにより検討した。

（倫理面への配慮）

遺伝子診断確定例調査については、各大学のヒトゲノム研究審査委員会などにて承認済みで、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」などを遵守し行った。臨床情報に関する共同研究については、大阪大学、三重大学の倫理

委員会の承認を受け、連結可能匿名化を行い、臨床研究に関する倫理指針に準じて行った。

チャンネル病遺伝子に関わる研究については大阪大学ヒトゲノム研究審査委員会、DM2 遺伝子については名古屋大学医学部生命倫理委員会、および岡山大学にても承認されている。すべての患者から同意を文書にて得た。研究への参加は患者の自由意思に基づくこと、同意の撤回が自由にできること、連結可能匿名化を行い個人情報保護に最大限の配慮をすることなど「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」などを遵守し行った。

筋強直性ジストロフィー患者由来の組織に関わる研究については大阪大学、名古屋大学、岡山大学の倫理委員会にて承認されており、すべての患者から同意を文書で得た。研究への参加は患者の自由意思に基づくこと、同意の撤回が自由にできること、連結可能匿名化を行い個人情報保護に最大限の配慮をした。

本研究の一部に、動物実験が含まれるが、大阪大学・東京大学・名古屋大学の動物実験委員会の承認を受けている。動物実験の指針に従い、動物愛護上の配慮を十分に行い実験した。国立精神・神経センターでの動物実験については厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針も順守している。

C. 研究結果

一次性筋チャンネル病

1. 遺伝子解析・チャンネル機能解析

近畿・中部地方圏の患者を中心に 13 例のチャンネル病の遺伝子解析を行い、新規変異を含む遺伝子異常を同定した。

SCN4A 遺伝子のイントロン 21 に異常 (NG_011699.1:c.3912+6_3912+10delinsG) を有す

るミオトニー症候群の患者について、in frame のスプライシング変異チャンネルを培養細胞に発現させ、パッチクランプ法にて機能解析したところ、速い不活化の電位依存性が脱分極側にシフトしていた。この変化は、筋細胞の興奮性を増大する方向に寄与することから、臨床症状を十分に説明しうると考えられた。

2. 診断・検査指針—診断確定例の検討

遺伝子診断施行施設である大阪大学および三重大学の有する遺伝子診断確定例およびその他の文献報告例を解析し、本邦で報告された遺伝子 (*SCN4A*, *CACNA1S*, *CLCN1*) 変異の一覧を作成し、一般に公開することとした。具体的には、*SCN4A* 変異は 25 変異 39 例、*CACNA1S* 変異は 2 変異 17 例、*CLCN1* 変異は 7 変異 9 例であった。*CACNA1S* 変異と *CLCN1* 変異は、それぞれ低カリウム性周期性四肢麻痺とミオトニー症候群という均一な臨床像を示したが、*SCN4A* 変異は多彩な臨床像を示した。

特に、高 CK 血症の鑑別としてナトリウムチャンネル異常症を念頭に置き、家族歴がない症例でも、顔面筋に好発する筋強直症・麻痺発作の有無などの問診・診察、筋電図を行うことの必要性も明らかになった。

骨格筋チャンネル病の診断に種々の電気生理検査が有用であるが、針筋電図以外の電気生理検査が施行された症例はわずかであった。しかしながら針筋電図結果の波形が解析し得た Na チャンネロパチーでは、針筋電図にてミオトニア状態ではパイパーリズムという特異な筋電図所見を示すことが明らかになった。

なお、結果をふまえ、本報告書に添付したように一次性筋チャンネル病についての診断基準を小改訂した。

さらに、骨格筋チャンネル病について情報提供するために Gene Reviews の翻訳を行い、Gene Reviews Japan のホームページに掲載した(資料参照)。

二次性チャンネル病 (筋強直性ジストロフィー)

1. DM2 患者の同定

DM2 の臨床症状などに関する情報提供を本研究班のホームページ上で掲載し臨床医に対し情報発信を行った。臨床的に DM2 を疑われた 20 症例の、DM2 遺伝子診断を施行した。全例において DM2 は否定され、新規例は見いだされなかった。

2. 臨床応用に向けた基盤整備

後方視的解析から、筋強直性ジストロフィー患者は初発症状の出現から医療機関初診まで約 12 年の期間があった。初発症状、初診時主訴ともに「筋力低下」が最も多く、次いで「ミオトニア」であった。本症患者は運動障害として、ミオトニアより筋力低下に困っていることが示唆された。

本症のスクリーニングが行えるよう、特徴的な症状・所見を整理した。スクリーニング項目以外の特徴的な症状、合併症、家族歴、検査所見などについて補助項目として列挙し、簡易スクリーニング法の原案が作成できた。

10 月にワークショップを行い循環器・糖尿病の専門家と、既存の治療の問題点など意見交換を行い、今後の共同研究の方向性を検討した(資料参照)。

筋強直性ジストロフィーについて情報提供するために Gene Reviews の翻訳を行い、Gene Reviews Japan のホームページに掲載した(資料参照)。

病態機序解明・治療法の探索

筋強直性ジストロフィー患者骨格筋でスプライシング異常を起こしている遺伝子をエクソアレイで網羅的に検索したところ、119 個の遺伝子のミスプライシングが見つかった。そこで、骨格筋に発現している遺伝子を検索したところ、アクチン骨格関連の因子や Z 線結合タンパク質などの候補が見つかった。また、脳においても MBNL1 ノックアウトマウス脳と患者脳にみられる 4 種の新規スプライシング異常を見出した。

筋強直性ジストロフィーのスプライシング異常に関与することの示されている MBNL1 と CUGBP1 の RNA 標的配列を HITS-CLIP 法を用いて網羅的な同定を行ったところ、従来から報告をされている MBNL1 と CUGBP1 の選択的スプライシング調節機能に加えて、MBNL1 と CUGBP1 の結合部位の半数以上は 3' UTR に存在することが判明した。さらに、MBNL1 と CUGBP1 は標的 RNA を不安定化するという新たな働きが存在することを明らかにした

細胞膜・細胞内膜系に存在する Na/H 交換機構のなかで、特に NHE1、NHE5 のいずれかもしくは両方が、新規のオートファジー活性化メカニズムに関与し、細胞内異常蛋白蓄積を制御している可能性が示された。

治療研究で先行しているロチェスター大学の Wheeler 博士の公開セミナーを催し、共同研究について検討した(資料参照)。

D. 考察

骨格筋のチャンネル病についての臨床診断、電気生理検査、遺伝子検索、治療についての共同

研究体制の構築が遅れていた本邦でも、平成 21 年度厚生労働科学研究「本邦における筋チャンネル病の実態に関する研究」班の発足によりようやく研究実施体制が整備されるにいたった。同研究班の成果をふまえて組織された本研究班は、より幅広く基礎から臨床まで各方面の研究者を班員として網羅しているのが特徴である。

昨年度の「本邦における筋チャンネル病の実態に関する研究」班による、全国の小児神経・神経内科専門医への調査は現状把握に有用だったのみでなく、臨床医の関心を高めることにもなり遺伝子診断依頼の増加、ひいては本症患者の発掘にも寄与することになった。本研究班では、診断確定のために積極的な遺伝子解析を行うとともに、本症の診断・検査・治療を含めたいわゆる診療指針を最終的に策定することを目指している。積極的な遺伝子解析の成果のひとつとして、イントロン領域の変異によるミオトニー症候群を世界で初めて同定し、スプライシング変異体のチャンネル機能の解析まで行い、病態の全貌を明らかにすることができたことが特筆される。また、遺伝子診断確定例の分析を行い、骨格筋チャンネル病の各疾患の頻度、高頻度な遺伝子異常とその臨床症状などが明らかとなり、これらの成果を公表するまでとなっている。また、Na チャンネル病の診断に有用なパイパーリズムという電気生理学的所見も明らかにすることができた。これら成果を、今後、筋チャンネル病の正確な臨床診断、適切な電気生理検査、標準治療法の確立につなげ、来年度計画している診療指針策定に役立てたい。また、症例を蓄積することで、将来的には遺伝子変異にもとづく個別化治療にもつながると考えられる。

また、二次性チャンネル病に関しては、病態解明のために、臨床医と基礎研究者が共同で、病

態・治療に関する研究に取り組んでいく体制が形成されたことが特筆すべきである。病態解明の点では、本症の主要病態にかかわる分子異常について、患者検体を用いた研究で明らかにすることができた。さらに、まだ予備実験段階のため報告書に具体的記載はしていないが、モデルマウスに対する核酸治療でミオトニー軽減という有望な結果も得られており、その他にも治療研究が進んでいる。今後の実際の臨床応用に向けて、臨床医と基礎研究者の共同作業が本研究班を核として行われると予想される。さらに、骨格筋以外の合併症に対する既存の治療法について、神経内科以外の専門家を交えたワークショップを今年度開催したことも意義あるものと考えられる。多彩な症状をきたす多臓器疾患である本症の治療研究の上で、幅広い視点に立って患者治療を目指すことの重要性が認識され、今後の共同研究の基盤作りにも有用であった。また、本症の早期発見という観点から、初発症状、初診時主訴の解析、一般臨床医が簡易に使用できるスクリーニング法の開発も行った。地味ではあるが、本症の治療研究の推進を支えるために有用な研究である。

当初の計画にはなかった種々の活動が班員間の共同で行われたことも特筆すべきであろう。例えば、骨格筋チャンネル病の臨床医の認識の低さ、情報の欠如が、大きな問題であると考えたため、医療スタッフ向けの遺伝性疾患情報サイトで臨床遺伝医学に関する総合情報サイト GeneTests のセクションのひとつとして公開されている Gene Reviews の日本語訳を行い、Gene Reviews Japan のホームページに掲載することとした。また、低カリウム性周期性四肢麻痺については、海外に比較し遺伝子異常の同定できない割合が多いことから、本邦特有の原因遺伝子

同定を試みるべく、次世代シーケンサーによる網羅的解析にも着手している。これも遺伝学の専門家と臨床医とが共同できる本研究班の場があってこそなされる研究であろう。

E. 結論

本研究班は筋チャンネル病について、一次性に加え二次性のチャンネル病として筋強直性ジストロフィーも対象として、基礎から臨床まで各方面の研究者を班員として網羅し研究を進めた。遺伝子解析・チャンネル機能の生理学的解析・分子病態解析を精力的に推進し、成果をあげるとともに、トランスレーショナルリサーチのもととなる臨床研究も推進した。また、疾患に対する認識を向上させ、早期の発見・正確な診断につながるよう臨床研究および情報発信を積極的に行った。今後も、診断から治療までを向上させ、患者のADL・QOL向上につながるよう、いっそう本研究班を舞台とした共同研究の推進が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表:

(雑誌)

笠間 周平、木村 卓、梶山 幸司、武田 正中、高橋 正紀、芳川 浩男 著明な高CK血症と軽微な眼輪筋の筋強直を呈したナトリウムチャンネル異常症の一例 *臨床神経学* 51(2):120-124, 2011.

Nakamori M, Takahashi MP. The role of dystrobrevin in striated muscle. *Int. J. Molecular*

Sciences 12: 1660-1671, 2011.

Kubota T, Roca X, Kimura T, Kokunai Y, Nishino I, Sakoda S, Krainer AR, and Takahashi MP. A mutation in a rare type of intron in a sodium-channel gene results in aberrant splicing and causes myotonia. *Human Mutation* in press

Hara K, Kokubo Y, Ishiura H, Fukuda Y, Miyashita A, Kuwano R, Sasaki R, Goto J, Nishizawa M, Kuzuhara S, Tsuji S. TRPM7 is not associated with amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 153B: 310-313, 2010.

Li L, Funayama M, Tomiyama H, Li Y, Yoshino H, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Mizuno Y, Hattori N. No evidence for pathogenic role of GIGYF2 mutation in Parkinson disease in Japanese patients. *Neurosci Lett* 479: 245-8, 2010.

Sasabe, T., Futai, E. & Ishiura, S. Polypyrimidine tract-binding protein 1 regulates the alternative splicing of dopamine receptor D2. *J.Neurochem.* 116: 76-81, 2011.

Selcen D, Juel VC, Hobson-Webb LD, Smith EC, Stickler DE, Bite AV, Ohno K, Engel AG. Myasthenic Syndrome Caused by Plectinopathy. *Neurology* 76: 327-336, 2011.

Hirayama M, Nakamura T, Watanabe H, Uchida K, Hama T, Niimi Y, Ito M, Ohno K, Sobue G. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine correlate with

hallucinations rather than motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders* 17: 46-49, 2011.

Fu Y, Masuda A, Ito M, Shinmi J, Ohno K. AG-dependent 3' splice sites are predisposed to aberrant splicing due to a mutation at the first nucleotide of an exon. *Nucleic Acids Research* in press.

大野欽司「神経領域の RNA 病」細胞工学 29(2) 131-136, 2010

石浦章一 筋強直性ジストロフィーの成因 生体の科学 62: 103-105, 2011

(書籍)

Ishiura S, Kino Y, Oma Y, Sasagawa N, Nukina N. MBNL proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1. Takeda S. ed. Discovery of serum creatine kinase as a diagnostic marker of muscular dystrophy. シュプリンガー 2011 印刷中

Ohno K, Masuda A. RNA pathologies in neurological disorders. Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology 3rd edition. Vol. 25 Neurochemical Mechanisms in Disease. Ed by Abel Lajtha. Springer, New York, 2011, pp399-416.

Ohno K, Engel AG. Molecular defects of acetylcholine receptor subunits in congenital myasthenic syndromes. Pharmacology of

Nicotinic Acetylcholine Receptors from the Basic and Therapeutic Perspectives. Ed by Hugo R. Arias, Research Signpost, in press

尾方克久 筋ジストロフィー患者が来院したら? 医師・歯科医師のための口腔診療必携, 金原出版, 2010年, p.189

2. 学会発表:

(国内学会)

シンポジウム講演

計 5 件、分担研究報告に記載

一般演題

計 8 件、分担研究報告に記載

(国際学会)

シンポジウム講演

計 0 件、

一般演題

計 3 件、分担研究報告に記載

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

II. 分担研究報告

「筋チャンネル病の遺伝子解析および病態解析」

研究分担者：高橋 正紀 大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学 助教

研究要旨：骨格筋チャンネル病の診断指針の向上、検査指針の策定には、診断確定症例の精度の高い臨床情報・検査所見が不可欠である。診断未確定患者について積極的に遺伝子解析し変異同定を行い、その臨床情報・検査所見を収集した。あらたに見出された未報告の変異については本当に疾患変異であるかどうかを明白にし、病態を理解するためチャンネル機能の解析を行った。イントロン領域の変異による症例が見いだされたことから、より効率的な遺伝子解析、特にイントロン領域も含めた解析が求められる。また、新規変異のチャンネル機能の解析は診断確定のみならず、病態解明、チャンネルの分子機構解明にも有用であった。

A. 研究目的

骨格筋の電氣的興奮・収縮などに不可欠なイオンチャンネルの遺伝子異常が周期性四肢麻痺、ミオトニーなどの疾患の原因となることが判明した。これらは「チャンネル病」と総称される疾患に含まれる。これら骨格筋チャンネル病は、良性疾患と考えられているが、実際には、疾患として気づかれていない軽症例から、筋萎縮・筋力低下を呈する重症例までである。さらに、専門医であっても経験することが少なく、診断・治療などに困難を伴うことが多い。我々の21年度の調査から、遺伝子診断施行率が低く確定診断例が非常に少ないこと、臨床徴候（特にミオトニー症候群）に対する認識が低く見逃されている可能性のあることが浮き彫りになった。

そこで、診断未確定の骨格筋チャンネル病患者について積極的に遺伝子解析を行うとともに、精度の高い臨床情報・電気生理検査所見の蓄積を行った。さらに遺伝子解析のみでは、見出された変異が実際に疾患原因となっているかは判然としない。そこで、新規の *SCN4A* 変異につい

ては変異チャンネルの電気生理学的機能解析、コンピュータシミュレーションなどを用いて、その病態の全貌を明らかにすることまでを目標とした。

チャンネル機能解析結果は臨床症状・電気生理検査所見を理解するうえで欠かせない基礎的情報でもある。診断確定症例を増やし、臨床情報・電気生理検査所見情報を蓄積することにより、より精度の高い診断基準・検査指針の策定につなげることを目的とした。

B. 研究方法

1. 遺伝子解析

文書にて説明のうえ、同意取得した後、患者リンパ球由来よりゲノム DNA を抽出した。臨床症状に応じ、以下の遺伝子の解析を行った。

まず、低カリウム性周期性四肢麻痺については *CACNA1S*、*SCN4A* の順に標的エクソンの解析を行い、変異未同定例では *KCNJ2* の全エクソンの解析を行った。高カリウム性周期性四肢麻痺あるいはミオトニー症候群については、症状

あるいは *exercise test* などの神経生理検査結果より *SCN4A* あるいは *CLCN1* のうち可能性の高いと考えられる方から解析を開始し、必要性に応じ最終的に両者の全エクソンの塩基配列まで決定した。

2. 変異チャネルの機能解析

遺伝子解析でこれまでに報告の無い変異が見出された場合、その変異が単なる多型であるのか、あるいは疾患関連性を有するかどうか、変異チャネルを培養細胞に発現させ機能解析を行った。

具体的には、*mutagenesis* プライマーを用いて常法により変異 Na チャネルの発現ベクターを作成、リン酸カルシウム法で HEK293t 細胞に発現させた。ホールセルクランプ法により Na 電流の計測を行い、活性化、速い不活性化の電位依存性などを正常型と比較した。

(倫理面への配慮)

患者の遺伝子に関わる研究については大阪大学ヒトゲノム研究審査委員会にて承認済みである。すべての患者から同意を文書にて得る。研究への参加は患者の自由意思に基づくこと、同意の撤回が自由にできること、連結可能匿名化を行い個人情報保護に最大限の配慮をすることなど「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」などを遵守し行った。

C. 研究結果

1. 遺伝子解析

骨格筋チャネル病疑いの 13 例の遺伝子解析に平成 22 年度着手した。その臨床診断の内訳は低カリウム性周期性四肢麻痺 4 例(4 家系)、ミオトニー症候群 8 例(6 家系)、高カリウム性周期

性四肢麻痺 1 例であった。ミオトニー症候群のうち 1 例はその後他疾患であることが判明したため解析を中止した。

低カリウム性周期性四肢麻痺 4 例のうち家族性のも 2 例に *CACNA1S* の変異 p.R528H および p.R1239H を見出したが、孤発例の 2 例には既知の遺伝子変異を見出せなかった。

ミオトニー症候群 7 例(5 家系)のうち 3 例(2 家系)に *SCN4A* 遺伝子の変異を見出した。うち一例は既知 (p.V1293I) であったが、もう一例はこれまでに報告のない変異であり疾患との関連性は現在のところ不明である。今後チャネル機能の検討が必要である。残りの 4 例(3 家系)については現在も解析を行っているところである。いっぽう高カリウム性周期性四肢麻痺 1 例については既知の遺伝子変異を見出せなかった。

なお、診断確定例についてはその臨床徴候・電気生理学的検査所見などを収集し、班員の首都大学東京の木下正信教授、三重大大学の佐々木良元博士との共同研究に使用している。

2. 変異チャネルの機能解析

われわれは *SCN4A* 遺伝子のイントロン 21 に異常 (NG_011699.1:c.3912+6_3912+10delinsG) を有するミオトニー症候群の患者を見出し、生検筋 mRNA の解析からスプライシング異常が生じていることを見出していた。そのスプライスアイソフォームのひとつが *in frame* であったことから、チャネルとして発現し、その機能に異常が生じている可能性を考え、*in frame* の変異チャネルを培養細胞に発現させ、パッチクランプ法にて機能解析した

チャネルの活性化の電位依存性は正常とほぼ差がなかったが、速い不活化の電位依存性は $V_{1/2}$ が正常で $-70.4 \text{ mV} \pm 1.4$ 、変異チャネルでは

-51.3 mV±1.0 と著明に脱分極側にシフトしていた。この変化は、筋細胞の興奮性を増大する方向に寄与することから、臨床症状を十分に説明しうるものであった。さらにコンピューターシミュレーションを行い、チャンネル発現が 35%であったとしてもミオトニーが生じることを示した。

D. 考察

今年度のみで近畿・中部地方圏の患者を中心に 13 例のチャンネル病の遺伝子解析を行い、新規変異を含む遺伝子異常を同定した。全国にはまだまだまだ確定診断のできていない患者が存在することが予想される。さらに、低カリウム性周期性四肢麻痺では欧米に比して既知の高頻度変異が認められる割合が低かった。本邦特有の変異や他の遺伝子に異常が存在する可能性も考えられる。今後、効率的な遺伝子解析、未知の変異・原因遺伝子の同定を行うことが求められる。これらを踏まえ、班員である名古屋大学神経情報遺伝学の 大野 欽司 教授と次世代シーケンサーによる骨格筋チャンネル病の解析の試みを開始した。

イオンチャンネル遺伝子の非翻訳領域の疾患変異は、チャンネルの機能喪失(loss of function)により症状を引き起こすことが一般的である。いっぽう、チャンネル機能の異常を呈し(gain of function)、症状を呈する変異は、通常翻訳領域に存在するミスセンス変異である。たとえば高カリウム性周期性四肢麻痺や先天性パラミオトニーなどでは、骨格筋型 Na チャンネル遺伝子(SCN4A)の翻訳領域でのミスセンス変異が fast inactivation などのチャンネル機能異常を呈し(gain of function)、症状を示すことが明らかにされている。我々のような、イントロンに存在する変

異が mRNA のスプライシング異常を引き起こし、gain of function を呈した、電位依存性イオンチャンネル異常症を見出したのは初めてのことであり非常に意義深い。今後イントロン領域の変異についても積極的に遺伝子解析を行う必要がある。

E. 結論

本邦における骨格筋チャンネル病の遺伝子解析を積極的に行い、未報告の新規変異についてはチャンネル機能の解析まで行い疾患変異であること明らかにしてきた。診断未確定患者が多く存在することが想定されることから、今後はさらに効率的な遺伝子解析、イントロン領域も含めた解析が求められる。また、新規変異のチャンネル機能の解析は診断確定のみならず、病態解明、チャンネルの分子機構解明にも有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表:

笠間 周平、木村 卓、梶山 幸司、武田 正中、高橋 正紀、芳川 浩男 著明な高 CK 血症と軽微な眼輪筋の筋強直を呈したナトリウムチャンネル異常症の一例 *臨床神経学* 51(2):120-124, 2011

Nakamori M, Takahashi MP. The role of dystrobrevin in striated muscle. *Int. J. Molecular Sciences* 12:1660-1671, 2011

Kubota T, Roca X, Kimura T, Kokunai Y, Nishino I, Sakoda S, Krainer AR, and Takahashi MP. A mutation in a rare type of intron in a sodium-channel

gene results in aberrant splicing and causes myotonia. *Human Mutation* in press

2. 学会発表：

一般演題

久保田智哉、高橋正紀、木村卓、穀内洋介、佐古田三郎 骨格筋型電位依存性 Na チャネル (NaV1.4) のスプライシング異常によるミオトニー 第 51 回日本神経学会総会、平成 22 年 5 月 21 日、東京

Takahashi MP, Kubota T, Kokunai Y, Kimura T, Sakoda S. A myotonia caused by aberrant splicing of voltage-gated sodium channel due to an intronic mutation of SCN4A. The 15th International Congress of the World Muscle Society 平成 22 年 10 月 13 日、熊本

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

「本邦における骨格筋チャネル病の遺伝子解析」

研究分担者：佐々木良元 三重大学医学部附属病院神経内科助教

研究要旨 希少疾患である骨格筋チャネル病（周期性四肢麻痺、非ジストロフィー性ミオトニー症候群）の本邦における実態を明らかにするために、遺伝子診断確定例（自験例と本邦報告例）の臨床像を検討した。本邦でも諸外国と同様の遺伝子変異が認められた。*SCN4A* 変異には多彩な表現型がみられ、*SCN4A* 変異によるミオトニー症候群（ナトリウムチャネルミオトニー）は稀ではなかった。

A. 研究目的

周期性四肢麻痺や非ジストロフィー性ミオトニー症候群は、骨格筋イオンチャネルの遺伝子（*SCN4A*, *CACNA1S*, *CLCN1*）異常が原因であることが明らかにされており、「骨格筋チャネル病」と総称される。骨格筋チャネル病は、良性の疾患と考えられているが、実際には、疾患の存在そのものが医療者に気づかれていない軽症例から、筋委縮・筋力低下・筋痛により日常生活が障害される重症例まで様々である。さらに非常に稀なため、神経内科専門医であっても経験することは少なく、検査・診断・治療に難渋することが多い。欧米では骨格筋チャネル病に対する研究チームが発足しており、臨床診断、電気生理検査、遺伝子診断、治療について、体系的な研究体制が構築されているが、本邦では症例報告が散見されるのみで全容はほとんど把握されていない。本研究の目的は、本邦における骨格筋チャネル病の実態を明らかにすることである。

B. 研究方法

三重大学神経内科で1996年～2003年に遺伝子診断を施行し、遺伝子変異が認められた骨格

筋チャネル病症例と、他施設で遺伝子診断により確定された本邦の報告例から、各病型の頻度や遺伝子変異と臨床像の関連を検討した。

C. 研究結果

本邦で報告された遺伝子（*SCN4A*, *CACNA1S*, *CLCN1*）変異を表に示した。*SCN4A* 変異は25変異39例、*CACNA1S* 変異は2変異17例、*CLCN1* 変異は7変異9例で認められた。*CACNA1S* 変異と *CLCN1* 変異は、それぞれ低カリウム性周期性四肢麻痺とミオトニー症候群という均一な臨床像を示したが、*SCN4A* 変異は多彩な臨床像を示した。

SCN4A 変異の内訳は、高カリウム性周期性四肢麻痺5変異9例、低カリウム性周期性四肢麻痺3変異3例、先天性パラミオトニー8変異16例、ナトリウムチャネルミオトニー8変異8例、ミオトニーを伴う周期性四肢麻痺3変異3例であった。

高カリウム性周期性四肢麻痺では、T704M 変異（3例）と M1592V 変異（2例）が高頻度であった。M1592V 変異は3例認められたが、もう1例は先天性パラミオトニーの表現型であった。

先天性パラミオトニーでは、T1313M 変異 (5 例) と R1448 変異 (R1448C 3 例、R1448P 1 例の計 4 例) が高頻度であった。筋肥大や warm-up 現象が認められる例があり、先天性ミオトニーと鑑別困難な例があった。

ナトリウムチャンネルミオトニーは、CLCN1 変異による先天性ミオトニーと比較し、軽症から重症まで重症度が様々であった。このうち 2 例 (Q1633E、E1702K) では、乳児期に喉頭痙攣のためミルク摂取が困難であった。

他の特徴として、徒手筋力テストで 3 以下になるミオパチーを呈した例が 2 例 (T704M、C3912+6T_3912+10A delinsG)、骨格異常を呈した例が 2 例 (T704M、G1292D) あった。また、詐病を疑われた例があった。

低カリウム性周期性四肢麻痺では、CACNA1S 変異 17 例 (R528H 10 例、R1239H 7 例) と SCN4A 変異 3 例認められた。いずれも世界的に高頻度の変異であった。CACNA1S 変異と SCN4A 変異に臨床像の違いは認められなかった。

CLCN1 変異の 3 例は同じ変異 (P480T) で、いずれも九州在住の症例であったので、創始者効果によるものの可能性が考えられた。

骨格筋チャンネル病の診断に、針筋電図、prolonged exercise test、short exercise test、muscle cooling test、10Hz の repetitive stimulation test などの電気生理検査が有用であるが、針筋電図以外の電気生理検査が施行された症例はわずかであった。また、治療については、メキシレチンやアセタゾラミド投与により症状が軽減した症例が数例あった。今後、遺伝子診断で確定された各病型において、電気生理検査所見と治療効果の検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hara K, Kokubo Y, Ishiura H, Fukuda Y, Miyashita A, Kuwano R, Sasaki R, Goto J, Nishizawa M, Kuzuhara S, Tsuji S. TRPM7 is not associated with amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2010;153B: 310-313.

Li L, Funayama M, Tomiyama H, Li Y, Yoshino H, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Mizuno Y, Hattori N. No evidence for pathogenic role of GIGYF2 mutation in Parkinson disease in Japanese patients. Neurosci Lett 2010;479:245-8

2. 学会発表

田村麻子, 賀川賢, 佐々木良元, 伊井裕一郎, 富本秀和, 中谷中。MRI FLAIR 画像で後頭葉優位の白質および錐体路に高信号を呈し、ビタミン投与が有効であった、MTHFR 欠損症によると考えられた白質脳症の 1 例。第 127 回日本神経学会東海北陸地方会, 2010 年 6 月 26 日, 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

電位依存性Naチャンネル(SCN4A)遺伝子異常によるもの

mutation	Exon	Position	Phenotype	Reference	施設名	
c.664C>T	p.R222W	5	D1S4	hypokalemic PP PP/myotonia	臨床神経2008:48:1103 臨床神経2010:50:675	鹿児島大 沖縄病院, 鹿児島大
c.673C>T	p.R225W	9	D1S6	sodium channel myotonia	臨床神経2010:50:763	大阪赤十字病院, 東大
c.1320T>A	p.N440K		PP/myotonia	脳と発達2007:39:S195	愛媛大小児科, 鹿児島大	
c.2006G>A	p.R669H		hypokalemic PP	未発表	*, 三重大	
c.2015G>A	p.R672H	12	D2S4	hypokalemic PP	未発表	*, 三重大
c.2111C>T	p.T704M	13	D2S5	hyperkalemic PP	未発表	*, 三重大
				hyperkalemic PP	未発表	*, 三重大
				hyperkalemic PP	未発表	*, 三重大
c.2638_2640del	p.K880del	14		sodium channel myotonia	脳と発達 2010:42:60	聖隷三方原病院小児科
c.3473C>T	p.P1158L	19	D3S4-5	sodium channel myotonia	臨床神経2005:45:1072	鹿児島大
c.3472C>T	p.P1158S		hypokalemic PP/myotonia	Neurology2000; 54:2179 臨床神経2000:40:358	福島医大	
c.3875G>A	p.G1292D	21	D3S6	sodium channel myotonia	臨床神経2010:50:743	愛知医大, 大阪大
c.3877G>A	p.V1293I		paramyotonia congenita	臨床神経2000:40:859	神戸大, 三重大	
			paramyotonia congenita	臨床神経2010:50:764	大阪府済生会中津病院, 大阪大	
c.3912+6_3912+10delinsG	splicing異常	21i		sodium channel myotonia	Human Mutation in press	*, 大阪大
c.3917G>C	p.G1308A	22	D3-4	paramyotonia congenita	未発表	大阪大, 三重大
c.3938C>T	p.T1313M		paramyotonia congenita	Intern med 2003:42:856	埼玉医大, 三重大	
			paramyotonia congenita	臨床神経 1995:35:893	九州大学神経内科	
			paramyotonia congenita	未発表	*, 三重大	
			paramyotonia congenita	Muscle Nerve 2003:28:232	川崎医療センター, 鹿児島大	
			paramyotonia congenita	臨床神経2010:50:875	沖縄県立中部病院, 鹿児島大	
c.4078A>G	p.M1360V	23		hyperkalemic PP	臨床神経2008:48:1102	東京都立神経病院
c.4108A>G	p.M1370V		paramyotonia congenita	臨床神経2000:40:836	久留米大, 三重大	
			paramyotonia congenita	J. Neurol. 2001;248:1003	神戸大, 三重大	
c.4342C>T	p.R1448C	24	D4S4	paramyotonia congenita	未発表	大阪大, 三重大
c.4343G>A	p.R1448H		paramyotonia congenita	未発表	*, 三重大	
c.4343G>C	p.R1448P		paramyotonia congenita	未発表	*, 大阪大	
c.4352G>A	p.R1451H		hyperkalemic PP	未発表	*, 三重大	
c.4387G>A	p.G1456E		paramyotonia congenita	臨床神経2008:48:1102	名古屋医療センター, 鹿児島大	
			hyperkalemic PP	Arch Neurol 1999;56:692	防衛医大, 三重大	
			hyperkalemic PP	未発表	*, 三重大	
c.4774A>G	p.M1592V	D4S6	paramyotonia congenita	臨床神経2011:51:120	兵庫医大, 大阪大	
			hyperkalemic PP	未発表	*, 大阪大	
			hyperkalemic PP	未発表	*, 三重大	
c.4897C>G	p.Q1633E	C-ter		sodium channel myotonia	Muscle Nerve. 2009;39:666	大阪大, 三重大, 埼玉医大
c.5104G>A	p.E1702K		sodium channel myotonia	未発表	*, 三重大	
c.5120_28delinsTGT	p.1707A_1710PdelinsVS		sodium channel myotonia	臨床神経2001:41:874	鹿児島大	

電位依存性Caチャンネル(CACNA1S)遺伝子異常によるもの

Mutation	Exon	Position	Phenotype	Reference	施設名	
c.1583G>A	p.R528H	11	IIS4	hypokalemic PP	臨床神経1996:36:1447	群馬大
					臨床神経2000:40:91	名古屋日赤, 鳥取大
					臨床神経2001:41:747	大阪大, 三重大
					小児科臨床2002:55:373	金沢小児科
					臨床神経2003:43:60	兵庫県立姫路循環器病センター, 三重大
					Internal Med 2004:43:218	兵庫県立西宮病院, 群馬大
					臨床神経2005:45:1031	鳥取大
					臨床神経2008:48:1103	鹿児島大
					未発表	*, 三重大
					未発表	*, 大阪大
c.3716G>A	p.R1239H	30	IVS4	hypokalemic PP	臨床神経1998:38:567	鳥取大
					臨床神経1999:39:1478	鹿児島大
					日本小児科学会雑誌2005;109:1392	山形県立日本海病院小児科, 鳥取大
					臨床神経2005:45:1031	鳥取大
					臨床神経2007:47:63	愛知医大
					臨床神経2008:48:1103	鹿児島大
未発表	*, 大阪大					

電位依存性Clチャンネル(CLCN1)遺伝子異常によるもの

Mutation	Exon	遺伝形式	Reference	施設名	
c.449A>C	p.Y150S	4	AR	臨床神経2002:42:1369	長崎大
c.644A>G	p.K215R	5	AD	臨床神経2004:44:1146	鹿児島大
c.1333C>T	p.E445X	12	AR	Neuromuscul Disord. 1999;9:587	熊本大, 三重大
			AD	Muscle Nerve. 2001;24:357	熊本大, 三重大
c.1438C>A	p.P480T	13	AD	臨床神経2002:42:1369	長崎大
			未確認	未発表	*, 三重大
c.1615A>G	p.T539A	15	AD	臨床神経2006:46:1040	鹿児島大
c.1679T>C	p.M560T		AD	臨床神経2008:48:531	山口大
c.1976C>T	p.A659V	16	AR	Neuromuscul Disord. 1999;9:587	熊本大, 三重大

PP: periodic paralysis
AR: autosomal recessive
AD: autosomal dominant

*は未発表のため施設名を記載せず、記載施設は遺伝子解析施設のみ。

「骨格筋 Na チャネルパチーの診断に有益な筋電図所見」

研究分担者： 木下正信 首都大学東京 健康福祉学部 教授

研究要旨: Na チャネルパチーの *potassium-aggravated myotonia (PAM)* や *paramyotonia congenita (PMC)* では、針筋電図にて非ミオトニア状態ではミオトニア放電を認め、ミオトニア状態ではパイパーリズムという特異な筋電図所見を示すことが明らかになり、診断の糸口になることが考えられた。

A. 研究目的

ミオトニアは臨床的には *muscle relaxation* の遅延や困難さで定義されるが、*myotonic dystrophy type 1 (DM1)*、*type 2 (DM2)*のみならず Na チャネルパチーや Cl チャネルパチー (*Thomsen 病*、*Becker 病*)でも認められる。Na チャネルパチーは *voltage-gated sodium channel gene (Nav1.4)* の異常に起因し、*paramyotonia congenita (PMC)*、*potassium-aggravated myotonia (PAM)*、*hyperkalemic periodic paralysis (Hyper PP)*、*hypokalemic periodic paralysis (Hypo PP) type 2* 及び *Hyperkalemic paralysis and paramyotonia* に大別される¹⁾。

これらの疾病の中で *PMC* は寒冷暴露に伴う *muscle stiffness* や *spasms* とその後の筋脱力を特徴としている¹⁾。一方、*PAM* の臨床像は運動を契機にもしくは *potassium* 摂取により *muscle stiffness* や *spasms* の増悪を有することが特徴であり、軽症例から重症例まで幅が広い。さらに、その臨床像は *PMC*、*Thomsen 病* と類似している場合もあり、臨床的にも電気生理学的にも鑑別が難しい場合がある¹⁾。このような Na チャネルパチー、とくに *PAM* や *PMC* は本邦において極めて報告が少ないことから

診断に苦慮する場合が多い。このような実情を踏まえて、*PAM* 及び *PMC* の臨床診断及び病態にとって有益な手法の開発が不可欠であり針筋電図の有用性について検討した。

B. 研究方法

臨床症状及び遺伝子検索の結果、臨床診断が確定されている Na チャネル病の *PMC* 1 例と *PAM* 2 例において、非ミオトニア時とミオトニア時の針筋電図を施行した。

我々は、カリウム摂取時、運動開始時及び寒冷時に *painful spasm* を 4 世代にわたって有する 1 家系 (図 1) を経験した。この家系は以前、*Thomsen 病* の 1 家系として報告されていたが²⁾、臨床症状及び遺伝子解析から *Q1633E* という *novel mutation* を有する *PAM* と診断できた³⁾。この家系の IV-1 の症例のミオトニア時の針筋電図 (*EMG*) を施行し、IV-2 の症例の非ミオトニア時と寒冷時のミオトニア時の *EMG* を施行した。

さらに、寒冷暴露により *painful spasm* を呈する 1 家系 (*T1313M*) (図 2) を経験し⁴⁾、II-1 の症例の室温時の非ミオトニア時と寒冷時のミオトニア時の *EMG* を施行した。