

図1 Q1633E in skeletal muscle sodium channels in a Japanese family with PAM

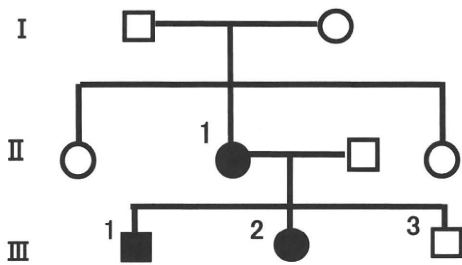


図2 T1313M mutation in skeletal muscle sodium channels in a Japanese family with PMC

(倫理面への配慮)

研究対象者に対して、人権擁護上の配慮を行い、研究対象者に対する不利益が及ばないこと、針筋電図を施行する際の危険性を排除していることを口頭及び書面にて説明し、文書にて本研究への参加の同意をとった。

C. 研究結果

Naチャンネル病であるPAMのIV-1の症例では左橈側手根伸筋で最大収縮時のEMG所見では針を刺入するとほぼ同時にいわゆる持続性放電が観察された(図3)。このEMG activityはsynchronousかつrhythmicでregular patternを示し、時にsign curve様のelectrical waveを有した(図3)。このactivityのfrequencyは55.6-83.3 Hz

で、振幅は2-6 mV以上を示し、needle displacementによってEMG activityはoutburstする(図3中段)。しかし、needle electrodeを同じ位置に維持すると振幅は減衰するがelectrical silenceは認めなかった(図3)。このactivityのfrequencyと振幅のmodulationによりcar engineを吹かす時に喩えられる様な特徴的なsoundを有したが、classical myotoniaのようなwaxing及びwaningを認めなかった(図3)。このEMG activityは、健常人での最大収縮時や里吉病のspasm中に観察されるパイパーリズム⁵⁾に類似していた(図3)。EMGの記録中motor unit potentials (MUPs)はほとんど検出できなかった(図4)。このEMG activityは最終的にfibrillation like potentialを示した(図3)。このpotentialのfrequencyは29.4もしくは29.6 Hz、振幅260もしくは280 μ V、interpotential intervalは33.5-34.0 msで持続時間は少なくとも2 ms以上であった(図4)。さらに、IV-2の症例では安静時でpainful spasmを自覚しない状態(非ミオトニア)と寒冷暴露によりpainful spasmを示した状態(ミオトニア)でEMGを施行した。非ミオトニア時にはミオトニア放電を認め、ミオトニア時には上記と同様にパイパーリズム様のEMG activityが観察された。

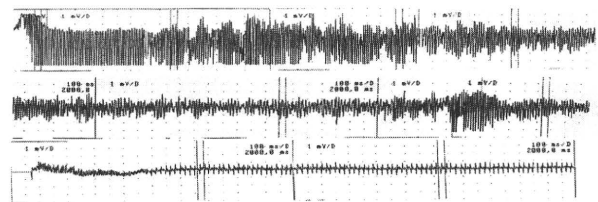


図3 PAM症例時の最大収縮時のEMG記録
上段と中段の升目は100ms、1mVで下段は100ms、200 μ Vである。上段から中断にかけて、刺入時とほぼ同時にいわゆる連続性放電を認め徐々に振幅は減衰していく。最終的には、下段に示すようなfibrillation like potentialを認めた。

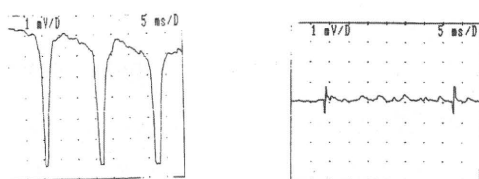


図4 図3の筋電図波形の再解析

左側の升目 5ms、1mV で右側は 5ms、200 μ V である。左側は図3のいわゆる連続性放電部分の波形であり MUPs を認めない。右側は図3の fibrillation like potential の波形である。

さらに、PMC の II-1 の症例では左尺即手根屈筋で室温時の非ミオトニア時にはミオトニア放電を認めた。寒冷暴露による painful spasm 時の EMG は、パイパーリズム様の synchronous EMG activity が needle displacement により誘発された (図5)。この EMG activity は rhythmic で regular pattern を示し、時に sign curve 様の electrical wave を有し、この EMG activity の frequency は約 108-140 Hz で振幅は約 1.2-4.5 mV を示した (図5)。needle electrode を同じ位置に維持するとこの EMG activity の frequency も amplitude も多少変動するが amplitude は徐々に減衰したが、classical myotonia のような waxing 及び waning を認めなかった(図5)。

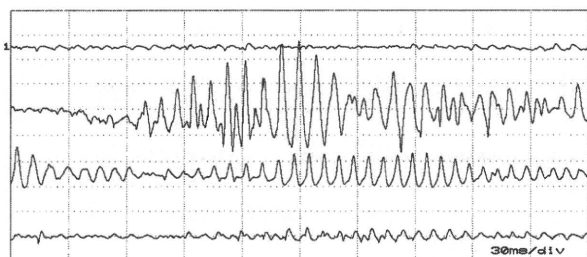


図5 PMC 症例の寒冷ミオトニア時の EMG

synchronous EMG activity を認め、時に sign curve 様を示す。

D. 考察

Na チャネルパチーは本邦において極め

て報告が少ないためその診断に苦慮することが多く、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る。本研究では、Na チャネルパチーの PAM 及び PMC の診断において、非ミオトニア時にはミオトニア放電が観察されミオトニア時には他の疾患ではほとんど観察されないパイパーリズム⁵⁾という特異な EMG 所見を示すことから Na チャネルパチーの診断に EMG が有益であることが明らかになった。

このミオトニア時のパイパーリズム様の EMG activity は、synchronous かつ rhythmic で regular pattern を示し、時に sign curve 様の electrical wave を示した。needle displacement によって、この EMG activity は増強するが、classical myotonia のような waxing and waning を認めず electrical silence も認めなかった。さらに、EMG の記録中 MUPs はほとんど見られなかったことから、この EMG activity は Na チャネルの機能異常に伴う筋膜の異常な過興奮に起因することが考えられた。

このいわゆる持続性 EMG activity は、classical myotonia や continuous muscle fiber activity at rest と鑑別が必要である。前者は、「随意収縮後、針の刺入時もしくは叩打といった手法によって二相性もしくは陽性波のどちらかが高頻度に繰り返される放電が誘発され、放電頻度と振幅が waxing 及び waning を有し特有な音を示し、安静時には electrical silence を示すことが特徴である」と定義されている⁶⁾。このような前者の定義から、今回観察されたパイパーリズム様の EMG activity と明らかに異なっている。

後者は、Issacs 症候群の EMG 所見として最初に強調されたが⁷⁾、その後、Stiff-person 症候群 (SPS) や Shwartz-Jampel 症候群 (SJS) でも報告され、neuromyotonic discharge と呼ばれて

いる⁸⁾。これらの3つの症候群で見られる後者の activity は waxing 及び waning はなく、Issacs 症候群では針の動きや叩打によっての影響はほとんどないのに対し SJS ではそれらによって増強するとされている^{7,8)}。MUPs は、Issacs 症候群では安静時には正常なものは見られないとされ、SPS では正常で、SJS では随意収縮時筋原性パターンを示すことが指摘されている^{7,8)}。さらに、今回観察されたパイパーリズム様の EMG の個々の activity の外観、frequency、振幅、synchronization、リズム及び規則性が明らかに後者の activity と異なっている^{7,8)}。

一方、パイパーリズム様の EMG は健常者の最大収縮時⁵⁾、里吉病⁹⁾及び myotonia permanence in PAM^{1), 10), 11)}で報告されている。myotonia permanence の持続性 EMG activity は spontaneous に見られる点は我々の症例と異なるが、needle displacement によって EMG activity が増強したり、waxing 及び waning を認めず electrical silence を示さないこと、さらに、MUPs がほとんど認められなかった点はほぼ一致している^{1), 10), 11)}。これらの EMG activity の frequency は 50-80 Hz、振幅は 3 mV 以内の報告^{1), 10)}と frequency は 65 Hz、振幅は約 6.5 mV を示す報告があり¹¹⁾、我々の PAM の症例の EMG activity と類似している。里吉病では、spasm 中にパイパーリズム様の EMG が観察され、needle displacement や叩打により増強し waxing 及び waning を認めない点は類似しているが⁹⁾、electrical silence を有する点で異なっている。さらに、その activity の frequency は 50 Hz、振幅は 4-5 mV である点も我々の PAM の症例の EMG activity と異なっている⁹⁾。さらに、健常者の最大収縮時に見られるパイパーリズムの frequency と振幅は、約 40-50 Hz、1-2 mV であり⁵⁾、我々

の PAM の症例の EMG activity と異なっている。

このように PAM の中でも最も重症な myotonia permanence の症例や我々の PAM の症例もミオトニア時には、frequency が 50-80 Hz 前後、振幅 6 mV 程度のパイパーリズム様の EMG activity を示すことが明らかになった。一方、PMC では、その EMG activity の frequency は 100 Hz 以上で振幅は 4.5 mV 以下と PAM と異なる frequency を示した。いずれの病態でもパイパーリズム様の EMG activity の中には MUPs を認めないことから、Na チャネルの機能異常に伴う筋膜の異常な過興奮に起因することが推察され、脱分極の程度と frequency や振幅の関連についてのさらなる検討が必要である。しかし、PAM 及び PMC の非ミオトニア時に共通して見られたミオトニア放電も筋膜の異常を反映しているものと考えられ、この放電の集合もしくは fibrillation like potentials の集合したものがパイパーリズムを形成しているのかもしれない。このような筋電図波形の解析と Na チャネルパチーの遺伝子異常部位、Na チャネルの inactivation の障害程度及び Na チャネルのパッチクランプによる脱分極の異常の程度の関連について今後の研究課題であると考えられる。

E. 結論

Na チャネルパチーの PAM や 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、診断の糸口になるとともに病態に深く関連していることが示唆された。

(引用文献)

1. Lehmann-Horn F, Rüdell R, Jurkat-Rott K: Nondystrophic myotonias and periodic

- paralyses. In: Engel AG, Franzini-Armstrong C, eds. *Myology*, 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 2003: 1257-1300.
2. Maekawa K, Adachi T, Saito F, et al: One family of myotonia congenita. *Shonika Sinryou* 1970; 33: 1227-1232.
 3. Kubota, T, Kinoshita, M, Sasaki, R, et al: New mutation of the Na channel in the severe form of potassium-aggravated myotonia. *Muscle Nerve* 2009; 39: 666-673.
 4. Kinoshita M, Sasaki R, Nagano T, et al : Thr1313Met mutation in skeletal muscle sodium channels in a Japanese family with paramyotonia congenita. *Inter Med* 2003; 42: 856-861.
 5. Piper H: Über den willkürlichen Muskel tetanus. *Pflügers Gesamte Physiol Menschen Tiere* 1907; 119: 301-338.
 6. Report of Sub-Committee of the Pavia Committee on Terminology on electromyography: *Bull. Amer. Ass. Electro-myography Electrodiagnosis* 1967; 14: 34-36.
 7. Isaacs H: A syndrome of continuous muscle-fiber activity. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1961; 61:319-325.
 8. Harper CM: Muscle pain, cramps, and fatigue. In: Engel AG, Franzini-Armstrong C, eds: *Myology*, 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 2003: 1739-1753.
 9. Satoyoshi E, Yamada K: Recurrent muscle spasms of central origin. *Arch Neurol* 1967; 16: 254-264.
 10. Spaans F, Theunissen P, Reekers AD, et al: Schwartz-Jampel syndrome: I. Clinical, electromyographic, and histologic studies. *Muscle Nerve* 1990; 13: 516-527.
 11. Colding-Jørgensen E, Duno M, and Vissing J: Autosomal dominant monosymptomatic myotonia permanens. *Neurology* 2006; 67: 153-155.

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 :

シンポジウム講演

木下正信, 廣瀬和彦 : Myotonic dystrophy type 1 (DM1)の糖尿病・耐糖能異常について」。「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班」(厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業)、ワークショップ 平成22年10月、大阪

一般演題

木下正信、廣瀬和彦 Myotonic dystrophy type 1では経年的に CTG repeat の増大、筋力及び糖代謝異常が進展 第107回日本内科学会総会、平成22年4月、東京

木下正信、廣瀬和彦 : paramyotonia congenita (PMC)の治療効果判定に有用な興味ある筋電図所見. 第50回日本神経学会総会、平成22年5月、東京

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

「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」

研究分担者： 木村 卓 兵庫医科大学 内科学（神経・脳卒中科） 講師

研究要旨：我々が経験した一次性チャンネル病であるナトリウムチャンネル異常症の症例を報告した。高 CK 血症を主訴とし、顔面のミオトニーが非常に軽微であったため、3歳時発症時点では診断に至らなかった。高 CK 血症の鑑別の一つとして、本症をあげることの重要性を示した。また二次性チャンネル病である筋強直性ジストロフィーの中枢神経症状の発現機序として、スプライシング異常の解析を行い、MBNL1 ノックアウトマウス脳とヒト DM1 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。

A. 研究目的

1. ナトリウムチャンネル異常症の臨床像の検討

本研究班の昨年度調査研究で、全国の神経内科専門医、小児神経科専門医にアンケート調査を行った結果、ナトリウムチャンネル異常症である高カリウム性周期性四肢麻痺（10%）、先天性パラミオトニー・カリウム惹起性ミオトニー（5%）と経験した医師の割合が非常に低く、神経内科医と小児神経科医との比較では高カリウム性周期性四肢麻痺の経験が小児神経科医で非常に低かった。これらの結果を踏まえ、我々が経験した一次チャンネル病であるナトリウムチャンネル異常症の一例について検討した。

2. 筋強直性ジストロフィーにおける中枢神経症状の発現機序の解析

二次性チャンネル病である筋強直性ジストロフィー症1型(DM1)は、筋強直や進行性の筋萎縮のほかに、白内障、認知機能障害など多彩な症状を呈する全身疾患である。本症の遺伝子異常の本態は、ある種のリン酸化酵素(DMPK)遺伝子

の非翻訳領域での3塩基対(CTG)の伸張である。これにより生じたDMPK転写物は長くなったりリピート部分でヘアピン構造を形成する事により細胞質への搬出が妨害され核内に蓄積する。この際、伸長リピート部分に結合するスプライシング制御蛋白（muscleblindファミリーのMBNL1/2など）を共に核内に閉じ込めてしまうため種々の遺伝子のスプライシング異常を引き起こす。今回MBNL1ノックアウトマウス脳との対比から筋強直性ジストロフィー患者脳におけるスプライシング異常を解析した。

B. 研究方法

1. ナトリウムチャンネル異常症の臨床像の検討

我々が経験した13歳男性例につき、問診、診察、阻血下運動負荷試験、筋電図検査、筋生検、遺伝子診断を行い、臨床像、遺伝子変異を明らかにした。

2. 筋強直性ジストロフィーにおける中枢神経症状の発現機序の解析

MBNL1 ノックアウトマウス脳 2 例、control マウス脳 1 例を用いた。脳組織より RNA を抽出し、Affimetrix oligonucleotide microarrays により解析した。新たに見出されたスプライシング異常を確認するため、RT-PCR 法を用いた。MBNL1 ノックアウトマウスより得られたスプライシング異常を、ヒト脳検体で調べるため、国立病院機構兵庫中央病院および刀根山病院にて採取された剖検脳 18 例 (DM12 例, disease control9 例 (MSA1 例, ALS7 例, PD 1 例)) および control 成人脳 RNA4 例、胎児脳 RNA1 例を用いた。マウス脳と同様、脳より RNA を抽出し、RT-PCR 法によってスプライシング異常を解析した。

(倫理面への配慮)

1. ナトリウムチャンネル異常症の臨床像の検討
遺伝子診断にあたっては、本人、家族に十分なインフォームドコンセントを得た後行った。

2. 筋強直性ジストロフィーにおける中枢神経症状の発現機序の解析

剖検脳の RNA の解析については採取した施設でインフォームドコンセントを得た後、匿名化して検体を受け取った。RNA を含む遺伝子解析については各種倫理指針を遵守し、当施設倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1. ナトリウムチャンネル異常症の臨床像の検討

症例は3歳時より運動中から運動後の下肢の疼痛、筋のこわばりを認めていたため近医小児科を受診し、筋炎の疑いとして無治療で経過観察されていた。2006年5月下旬、当院受診し、血清CK高値のため入院。舌、母指球の叩打性

筋強直症や、両手の把握性筋強直症を認めなかった。感覚系、反射、協調運動に異常を認めなかったが、舌の針筋電図にて刺入時、比較的持続時間1秒以内の短いミオトニー放電を認めた。また、「冬にセーターを脱ぐとき変な顔になる。」という家族の訴えがあり、詳細に診察したところ、通常の開閉眼では認めないが、開閉眼をししばらく続けた後、強い閉眼後に眼輪筋の筋強直症を認めた。糖原病の鑑別のため行った阻血下前腕運動負荷試験は正常反応であった。上腕二頭筋にて施行した筋生検では、HE染色・PAS染色やATP染色でも異常は認めなかった。筋強直症の鑑別として、有村らによる電気生理学的検査を右母指球筋にて行った。prolonged exercise test、short exercise test、cooling test すべて行ったが、明らかな異常を認めなかった。臨床症状、筋電図所見よりナトリウムチャンネル遺伝子異常について検索を行った。4774番塩基がアデニンからグアニンへのヘテロ置換を認めた。この変異は1592番アミノ酸のメチオニンからバリンへの置換を生じるものであり、既にナトリウムチャンネル異常症を引き起こすことが報告されている。よって、本例はナトリウムチャンネル異常症と診断した。塩酸メキシレチン150mg/日の投与を行い、筋のこわばりなどは消失した。CK値は入院後安静のみにて正常化したが、以後外来受診時の検査では、800-5500と明らかな誘因がない場合でも高値で推移した。

2. 筋強直性ジストロフィーにおける中枢神経症状の発現機序の解析

Calcium calmodulin dependent protein kinase II δ (CaMKII δ) を始めとする MBNL1 ノックアウトマウス、DM 患者脳に共通する 4 種の新規ス

プライシング異常を認めた。CaMKII δ の幼若なアイソフォームである $\delta 9$ がMBNL1ノックアウトマウス、DM1患者脳で、正常コントロール、疾患コントロールに比べ有意に増加していた。今までヒトDM1患者脳で異常がみられるmicrotubule associated tau(mapt)についてはMBNL1ノックアウトマウスで異常が認められなかった。

D. 考察

1. ナトリウムチャンネル異常症の臨床像の検討

我々の経験例は運動中から後の筋のこわばり、冬季の眼輪筋の筋強直症を自覚していたが、診断には至らず、高CK血症精査の過程でナトリウムチャンネル異常症と診断しえた一例である。一般にナトリウムチャンネル異常症は10歳以前の発症が多いが、軽症であれば医療機関を受診しないことも考えられる。また本疾患は常染色体優生遺伝形式をとるが、本例では両親には遺伝子異常を認めず、*de novo*変異例であることが考えられた。今回のように高CK血症で医療機関を受診する場合があります、高CK血症の鑑別として、家族歴がない症例でも、本疾患のようなナトリウムチャンネル異常症を念頭に置き、顔面筋に好発する筋強直症の有無、周期性麻痺発作の有無などの詳細な問診および診察、筋電図などの精査を行うことの必要性を示したという点で貴重な症例と考えられた。

2.筋強直性ジストロフィーにおける中枢神経症状の発現機序の解析

今回MBNL1ノックアウトマウス、DM1患者脳で共通するプライシング異常が見出されたことから、脳においても骨格筋で見られるの

と同様に、MBNL1の核内への蓄積を介してプライシング異常が起こっている可能性が示唆された。一方maptのようにDM1患者脳でプライシング異常がみられるにもかかわらず、MBNL1ノックアウトマウス脳でプライシング異常が見られない遺伝子が存在することから、脳ではMBNL1以外のプライシング制御蛋白が脳でのプライシング異常発現に関与している可能性が考えられた。

CaMKII δ は、脳では黒質、視交叉上核に多く発現し、視交叉上核で日内リズムの光同調への関与が知られている。DM1で見られるCaMKII δ のプライシング異常は光同調を障害し、本症で見られる日中の眠気に関与する可能性がある。

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 高CK血症を契機に診断されたナトリウムチャンネル異常症の一例 臨床神経学 51巻2号120-124、2011

2. 学会発表

一般演題

末永 浩一、木村 卓、中森 雅之、高橋 正紀、松村 剛、藤村 晴俊、陣内 研二、芳川 浩男 筋強直性ジストロフィー患者脳におけるCaMKII δ プライシング異常の検討 第51回日本神経学会総会 2010年5月、東京

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

「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」

研究分担者：石浦 章一 東京大学大学院総合文化研究科 教授

研究要旨：骨格筋チャンネル病の1つ筋強直性ジストロフィーは、CUGまたはCCUGリピートの伸長によって発症するが、直接の原因は伸長したRNAリピートにスプライシング因子がトラップされ、正常機能を果たせないことで発病する。そこで、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。

A. 研究目的

骨格筋チャンネル病の1つである筋強直性ジストロフィー1型(DM1)は筋強直(ミオトニア)を特徴とするが、この他にも精巣萎縮、白内障、耐糖能異常などが見られる全身性疾患である。我が国の筋ジストロフィーの中では一番多い疾患で、致死ではないものの、QOLの観点からも筋力低下やミオトニアなどの治療法開発が望まれている。本症の責任遺伝子は、第19染色体にあるDMPKで、その3'非翻訳領域にあるCTGリピートの伸長が病気の直接の原因である。また、筋強直性ジストロフィー2型(DM2)も発見されたが、これは第3染色体にあるZNF9遺伝子中のイントロン1にあるCCTGリピートの伸長で起こる。海外の研究結果によると、伸長したリピートだけを発現させたマウスでも同じ症状が見られ、リピート伸長が本症の本態であることが明らかになった。現在では、スプライシングが異常になって全身症状が出現すると考えられているが、これは伸長したRNAに特定のスプライシング因子が結合することで機能異常が起こ

る「RNA機能獲得説」で説明されている。私たちは「スプライシング因子であるMBNL1がDM1とDM2の2つの異なる型の塩基リピートに結合することを発見し、MBNL1の重要性を示した。また私たちはすでに、塩化物イオンチャンネル・インスリン受容体・トロポニンTなどの試験管内スプライシングアッセイ系を確立し、MBNL1をはじめとするRNA結合タンパク質（スプライシング調節因子）の結合配列特異性を明らかにしている。

これらのことから私たちは、MBNL1が現在まで最も効率よくスプライシングを変化させることに注目し、MBNL1応答配列を標的としたエクソンスキッピングがミオトニアの正常化に役立つことを、モデル動物（CTGリピートを300含むトランスジェニックマウス）を用いて明らかにした。特に、既報のアンチセンス配列(Wheeler, 2007)よりも、私たちの同定した配列が効率良く正常型塩化物イオンチャンネルをつくらせることを明らかにした。これはミニ遺伝子の作製と分子生物学的手法を用いての詳細な分析

(Kino,2009)の結果であり、臨床的に見ても意義あるものであり、私たちの方法が本症の治療の最前線にあることを示している。あと残されているものは、本症の QOL にもっとも関与していると考えられる筋力低下に関係する遺伝子の同定、アンチセンス薬剤の効率の良い投与方法（特に中枢に対する投与方法）、及び本症で見られる各種全身症状の治療である。本年度は、エクソナレイを用いた新規筋力低下関連遺伝子のスクリーニングを行った。

B. 研究方法

DM3 例、対照 4 例の骨格筋から RNA を抽出し、Affymetrix 社製の GeneChip Human Exon 1.0 ST Array (140 万プローブセット、平均 4 プローブ/プローブセット、100 万エクソンに対応)を用いて比較検討した。

ここで得られた 119 個のスプライシング異常遺伝子に関して、ミニ遺伝子を構築し、in vitro スプライシングアッセイ系を確立した。

C. 研究結果

特に骨格筋に発現している遺伝子の注目したところ、DM1 骨格筋において Myomesin、PDLIM3、ABLIM1 という 3 つの遺伝子のスプライシング異常が明らかになった。

このうち、アクチン結合タンパク質 PDLIM3 のエクソン 4 の挿入が患者筋で有意に認められた。PDLIM3 には 3 つのスプライシングパターンが認められ、エクソン 2,3,5,6,7 と続く PDLIM3a、エクソン 2,3,4,7 と続く PDLIM3b、そしてエクソン 2,3,5,7 と続く PDLIM3c があるが、この PDLIM3 のエクソン 4 の挿入の割合と、小胞体 ATP アーゼ(SERCA)のエクソン 22 の欠

落のスプライシングパターンを比較すると、はっきりと正の相関 ($R^2=0.8724$) が認められた。すなわち、DM のスプライシング異常の程度が似ているものが症状に関係する可能性があることがわかった。

D. 考察

本研究により、DM において新しいスプライシング異常が見つかった。PDLIM3 は α アクチニンに結合するタンパク質として研究がおこなわれており、筋力低下の候補と考えられた。

また、神経筋に発現しているスプライシング因子はいろいろあり、それぞれ異なる機能をはたしていると言われている(Sasabe, 2011)。PDLIM3 のスプライシングにどのような因子が働いているかについて、研究をいっつつある。またエクソナレイにおいて、Z 線に結合している myomesin にもスプライシング異常が見つかり、これらの相互作用についても検討の余地がある。

E. 結論

骨格筋チャネル病の 1 つである筋強直性ジストロフィーにおけるスプライシング異常遺伝子のいくつかが同定された。今後は、これらのミスプライシングが筋力低下にどの程度関与しているのかを明らかにすることが必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表：

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

2. 学会発表 :

シンポジウム講演

Shoichi Ishiura Correction of CIC-1 splicing by
antisense in mouse DM model. 筋ジストロ
フィーに対するトランスレーショナル・リサー
チ 2010年12月、東京

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 DM2 調査研究」

研究分担者： 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

研究要旨：筋強直性ジストロフィータイプ 2 (DM2)の遺伝子変異は、ZNF9 遺伝子イントロン 1 上の CCTG リピート異常伸長である。DM2 はヨーロッパ系白人に認めることが多いが、本邦を含めたアジアでの実態調査は十分になされていない。DM2 の臨床症状は幅広く、その程度は DM1 に比べ遥かに軽度であることから、見過ごされている症例が少なからず存在する可能性がある。全国の神経内科関連施設から DM1 遺伝子変異を否定され、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 は否定された。本邦における DM2 は稀少疾患であると考えられるが、1 家系が既に報告されており、今後も引き続き調査研究が必要である。

A. 研究目的

日本の筋強直性ジストロフィーはタイプ 1 (DM1) しかいないと考えられてきたが、2008 年に筋強直性ジストロフィータイプ 2 (DM2) も本邦に存在することを我々は初めて報告した (Saito T et al. *Neurogenetics* 2008)。そこで、本邦における DM2 頻度、臨床症状の特徴を調査すると共に、診断・治療についての問題点を明らかにすることを目的にする。

B. 研究方法

全国の神経内科関連施設より臨床的に DM2 を疑われた 20 症例から抽出された 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。DM2 リピート PCR 解析で異なるリピート数を持つヘテロ症例はその時点で DM2 を除外し、単一アレルを示す症例に repeat-primed PCR 法を施行し、CCTG 伸長変異の有無を検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断にあたり、各施設のヒトゲノム研究審査委員会などにて全て承認済みであった。遺伝子診断時にすべての患者から同意を文書にて取得した。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。

C. 研究結果

DM1 と比較した DM2 の臨床的特徴は、その筋障害が近位筋優位であること、ミオトニア現象が経過を通じて目立たないことが多いことである。今回解析した 20 症例は何れも、近位筋優位の障害を示し、ミオトニア現象を認めなかったり、認めても軽度であった。また、DM1 遺伝子変異は全て否定されていた。DM2 リピート PCR 解析・repeat-primed PCR 法で、全 20 症例におい

て DM2 は否定された。

D. 考察

今回の調査から、本邦における DM2 は稀少疾患であると考えられるが、臨床像が DM1 に比べ軽度であり、臨床医に充分その臨床像を把握されていないので、未診断症例が存在する可能性は、依然として高いと思われる。

臨床診断の不十分さ・遺伝子診断施行率の低さもその診断を妨げている可能性があり、今後の課題である。

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：

シンポジウム講演

1) 2010.3.13. 第 1 回生体制御科学シンポジウム (第 36 回岡山脳研究セミナー) (岡山)

松浦 徹 「脊髄小脳失調症 10 型と筋強直性ジストロフィーの RNA 神経病態」

2) 2010.5.20-22. 第 51 回日本神経学会総会 (東京) シンポジウム“神経疾患と RNA”

松浦 徹 「RNA-mediated disease mechanism of spinocerebellar ataxia type 10」

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：

“筋強直性ジストロフィーにおけるスプライシング異常を補正する低分子化合物” (K20090047)

出願人： 国立大学法人名古屋大学 発明者： 大野欽司、松浦 徹 2009.6.25

2. 実用新案登録：

“筋強直性ジストロフィー治療薬

(PCT/JP2010/06254 (WO) 出願人： 国立大学法人名古屋大学 発明者： 大野欽司、松浦 徹 2010.7.16.

3. その他：

なし

「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」

研究分担者：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

研究要旨:筋強直性ジストロフィーにおいて発現調節異常をきたす RNA 結合タンパク 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。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。ランダムに抽出をした遺伝子の解析、ならびに mRNA 転写を止めた後の mRNA 減衰を発現アレイで解析をすることにより MBNL1 と CUGBP1 は標的 RNA を不安定化することを見出した。MBNL1 と CUGBP1 はスプライシング調節よりもむしろ標的遺伝子発現に関与をすることを見出し、今後さらに病態解明ならびに疾患制御の研究を行っていく必要がある。

A.研究目的

筋強直性ジストロフィーは常染色体優性遺伝性疾患であり、筋萎縮、筋力低下、筋強直、白内障、インスリン抵抗性、性腺機能低下、心伝導障害、知能障害を特徴とする。筋強直性ジストロフィーには、*DMPK* 遺伝子 3'非翻訳領域の CTG 繰り返し配列の異常延長による DM1 (dystrophia myotonica type 1) と、*ZNF9* 遺伝子イントロン1の CCTG 繰り返し配列の異常延長による DM2 (dystrophia myotonica type 2)がある。いずれにおいても繰り返し配列の異常延長がスプライシングトランス因子 MBNL1 を核内 RNA 封入体に閉じ込め、PKC の活性化を介してスプライシングトランス因子 CUGBP1 の機能亢進を起し、標的遺伝子のスプライシング異常を起す

クロライドチャンネル遺伝子 *CLCN1* のスプライシング異常はミオトニアを惹き起す。またインスリン受容体 *INSR* のスプライシング異常は糖尿病の原因となる。MBNL1 と CUGBP1 の標的となりスプライシング異常を受ける複数の遺伝子が報告をされてきている。

本研究では、RNA 結合タンパクの標的 RNA 領域

を次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析をする high throughput sequencing of RNA isolated by crosslinking immunoprecipitation (HITS-CLIP)法を用いて MBNL1 と CUGBP1 に結合する RNA 領域を網羅的に同定した。MBNL1 と CUGBP1 の標的 RNA の同定は筋強直性ジストロフィーの病態分子機構をさらに明らかにするとともに分子標的治療法の開発に役立つものと期待をされる。

B.研究方法

CUGBP1 は胎児期ならびに未分化な状態で機能することが知られているため、未分化 C2C12 筋芽細胞を用いて CUGBP1 の HITS-CLIP を行った。一方、MBNL1 は分化した細胞に発現し機能することが知られているため、2%馬血清を用いて C2C12 を筋芽細胞に分化をさせた後 CLIP 法を行った。CLIP 産物を次世代シーケンサー Illumina Genome Analyzer II (GAII)を用いて網羅的な塩基配列決定を行った。Illumina GAII の出力結果をマウスゲノム・トランスクリプトームにマッピングをさせ解析手法は chromatin immunoprecipitation (ChIP)法ならびに

whole transcriptome 解析において用いられているが、2重鎖 DNA に対するマッピング、もしくは翻訳領域に対するマッピングを目的としているため我々の RNA 結合タンパク標的配列の決定には適さず独自のプログラム開発を行った。さらにマッピングを行ったタグのエクソン・イントロン構造、ならびに 5'UTR・3'UTR 領域との関連を解析した。標的 RNA を同定した後 MBNL1 ならびに CUGBP1 の siRNA ノックダウンがランダムに抽出をした標的 RNA のスプライシングならびに mRNA decay に対する影響を検討した。

C. 研究結果

CUGBP1, MBNL1 の HITS-CLIP 解析に加えてコントロールとして PTBP1 の HITS-CLIP 解析を行った。CUGBP1 と MBNL1 を用いてそれぞれ 34,733,815 個と 13,218,685 個の CLIP タグの遺伝子配列の決定を行った。これらのうちそれぞれ 85.1%と 84.5%をマウスゲノム mm9 にマッピングを行った。

モチーフ解析にて従来の *in vitro* SELEX 解析と同様に MBNL1 は GU 繰り返し配列に結合し、CUGBP1 は UGCU 配列に結合をすることを見出した。

エクソン・イントロン領域の解析にて MBNL1 は選択的スプライシングを受けるエクソンを好んで結合し、CUGBP1 は選択的スプライシングを受けるイントロン領域によく結合していた。一方 PTBP1 は選択的スプライシングを受ける遺伝子によく結合をするがエクソン・イントロンの明確な区別は存在しなかった。

ランダムに選んだ標的遺伝子に対して MBNL1 siRNA ならびに CUGBP1 siRNA を用いた解析を行い、MBNL1 はエクソンスキッピングとインクルージョンの 2 種類の作用を示すのに対して CUGBP1 はエクソンスキッピングを誘導することが判明した。

MBNL1 と CUGBP1 の標的領域のアノテーション解析にて MBNL1 と CUGBP1 結合部位の約半数は

3'UTR であることがわかった。一方 PTBP1 の RNA 結合部位の 80%以上はイントロン領域であった。さらに MBNL1 と CUGBP1 の両者により 3'UTR を認識される遺伝子が MBNL1 結合 3'UTR ならびに CUGBP1 結合 3'UTR の約 1/3 に存在した。

MBNL1 と CUGBP1 の 3'UTR への結合の機能的な意義を探る目的で luciferase 遺伝子下流に MBNL1 結合配列ならびに CUGBP1 結合配列を導入したところ MBNL1 も CUGBP1 も標的配列を不安定化させ mRNA の破壊を亢進させていることが判明した。さらに MBNL1 siRNA ならびに CUGBP1 siRNA 存在下、かつ mRNA 転写を止めて時系列を追いつながり発現アレイ解析を行うことにより、特に CUGBP1 において顕著かつ広範な mRNA 不安定化作用があることが判明した。

D. 考察

CUGBP1 の 3'UTR に対する結合ならびに標的遺伝子の不安定化作用は 2-3 の遺伝子にて報告をされてきているが MBNL1 に同様の作用があることを本研究で初めて明らかにした。また、MBNL1 も CUGBP1 もスプライシング制御よりもむしろ mRNA 安定化に作用している可能性を初めて明らかにした。MBNL1 と CUGBP1 の 3'UTR 結合遺伝子には myogenic differentiation factors が含まれており、これらの因子が筋分化に重要な役割を担っている可能性が示唆されるとともに、筋強直性ジストロフィーにおける MBNL1 と CUGBP1 の発現調節異常はこれら myogenic differentiation factors の発現調節異常を惹起している可能性が示唆された。

E. 結論

HITS-CLIP 法をもちいて MBNL1 と CUGBP1 の標的 RNA 配列を網羅的に決定をした。これらの分子機構を明らかにすることにより筋強直性ジストロフィーのさらなる分子病態を明らかにするとともに分子

標的療法の開発につなげたい。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

(Original Article)

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

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* 2011, 17:46-49..

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.

(Book Chapters)

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

2. 学会発表

(Platform Presentation)

Ito M, Suzuki Y, Okada T, Fukudome T, Yoshimura T, Masuda A, Takeda S, Krejci E, Ohno K. rAAV8-Mediated Protein-Anchoring Therapy for Targeting Collagen Q-Tailed Acetylcholinesterase to the Neuromuscular Junction. *American Society of Gene & Cell Therapy 13th Annual Meeting*, Washington DC, USA. May 17-22, 2010

(Poster Presentation)

Sugiyama A, Ito M, Nakata T, Azuma Y, Masuda A, Okumura A, Komaki H, Ohno K. Mutations at the C-terminal domain (CTD) of collagen Q (ColQ) causing acetylcholinesterase (AChE) deficiency prevent anchoring of ColQ to the neuromuscular junction (NMJ). *Society for Neuroscience Annual Meeting*, San Diego, USA. Nov 13-17, 2010.

(Invited Presentation)

大野欽司。「先天性筋無力症候群の病態と治療戦略」神経研究 Hot Spot 200X 大阪市、2010年10月1日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得:

大野欽司、松浦徹、「筋強直性ジストロフィー治療薬」、特願 2009-167809 号、2009.7.16 出願、PCT/JP2010/062054、2011年1月20日国際公開、WO2011/007866

2. 実用新案登録:

なし

3. その他:

なし

「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」

研究分担者 : 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 部長 荒木 敏之

研究要旨

イオンチャンネルの点変異などの遺伝変異に基づく機能異常が神経・筋細胞の機能不全や細胞死をきたすメカニズムは未だ十分に解明されていない。我々は、細胞膜・細胞内膜系に存在する Na/H 交換機構に着目し、このメカニズムが細胞のオートファジー活性化と細胞内異常蛋白蓄積の制御に関与する可能性を示した。神経系においてはオートファジー不全マウスが神経変性様症状を示すことがわかっており、このようなイオンチャンネルの機能変化と細胞機能とをつなぐメカニズムとして注目される。

A. 研究目的

オートファジーとはユビキチン-プロテアソーム系と並ぶ細胞内大規模分解系であり、酵母から哺乳類まで広く保存された機構である。近年、分子生物学的手法により、多くの関連遺伝子群(Atg 遺伝子群)が明らかにされている(Ohsumi, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001; Xie and Klionsky, *Nat Cell Biol.*, 2007)。これらの遺伝子改変動物を用いた解析から Atg5、Atg7 はオートファジーの誘導過程に必須の遺伝子であることが報告されている(Kuma *et al.*, *Nature*, 2004; Komatsu *et al.*, *J Cell Biol.*, 2005)。特に、神経特異的なオートファジーの不全は神経変性疾患様の徴候を示すことから神経変性疾患治療の標的として注目を集めている(Hara *et al.*, *Nature*, 2006; Komatsu *et al.*, *Nature*, 2006; Rubinsztein *et al.*, *Nat Rev Drug Discov.*, 2007)。更に、オートファジー不全により起こるユビキチン陽性封入体形成に関与する p62/ SQSTM1 との関連も徐々に明らかにされている(Bjørkøy *et al.*, *J Cell Biol.*, 2005; Komatsu *et al.*, *Cell*, 2007)。多くの神経変性疾患では神経細胞

内に異常蛋白の凝集体が起こることが知られているが、神経毒性はこれらの凝集体ではなく、凝集する前段階のオリゴマーが毒性を発揮すると考えられている(Taylor *et al.*, *Hum Mol Genet.*, 2003; Sánchez *et al.*, *Nature*, 2003)。細胞内凝集体の一種であるアグリソームの形成にはヒストン脱アセチル化酵素 HDAC6 が重要な役割を果たすことが報告されている(Kawaguchi *et al.*, *Cell*, 2003)。HDAC6 は酵素活性領域のほかにユビキチンおよび微小管のそれぞれと結合する領域を持ち、ユビキチン化蛋白を微小管形成中心に集める機能を有することから、こうして凝集した異常蛋白はオートファジーによって分解されることが示唆されていた。実際、ハンチントン舞踏病や脊髄球筋萎縮症といったポリグルタミン病モデルにおいて HDAC6 はオートファジーを増強して症状を改善しうることが示された (Iwata *et al.*, *J Biol Chem*, 2005; Pandey *et al.*, *Nature*, 2007)。また、オートファジーの調節因子の一つとして知られる mTOR を抑制することで誘導されるオートファジーがハンチントン舞踏病モデルにおいて凝集体の形成

と細胞毒性を有意に低減することも報告されている (Ravikumar *et al.*, *Nat Genet.*, 2004)。しかし、神経系では飢餓状態においてもオートファゴソーム形成の指標である GFP-LC3 のドットは光学顕微鏡ではほとんど観察することができない (Mizushima *et al.*, *Mol Cell Biol.*, 2004)。これらのことから絶食などの飢餓状態によらないオートファジーの誘導機構を見出すことはこれらの細胞内異常蛋白凝集を特徴とする難治性の神経変性疾患に新たな治療法を開発の道を拓く可能性がある。

昨年度、我々は神経細胞様に形態分化する培養細胞を用い、培養環境の変化によるオートファジー誘導の網羅的検討により、細胞外のpH環境変化によりオートファジー誘導がおこること、細胞外 pH 変化に伴うオートファジーの制御に NHE1 または NHE5 あるいはその両方が関与していることを示した。今年度の研究では、NHEの過剰発現による細胞への影響を検討した。

B. 研究方法

神経系でのNHEの役割を明らかにするため、マウス神経芽細胞腫由来 Neuro-2a 細胞に各 NHE とポリグルタミン蛋白の一種 HttEx1-Q97-mCherry を共発現させ、異常タンパク質の細胞内凝集が NHE の強制発現により抑制されるかどうかを確認した。NHE6 は神経変性疾患の一つである Angelman syndrome 様の疾患の原因遺伝子として最近報告され、オルガネラ型でありながら細胞膜へも局在変化することが知られていることから実験に加えた。

倫理面への配慮

本研究で行う動物実験および遺伝子組み換え実験は関係法令および指針に基づき、実施場所である国立精神・神経センター神経研究所の定める「小型実験動物倫理指針」、「小型実験動物研究施設の運営に関する規則」および「組み換え DNA 実験

安全規則」、「組み換え DNA 実験内部規則」に従って行った。

C. 研究成果

1) 図に示すように、NHEの過剰発現によって培養細胞におけるポリグルタミン凝集阻害が観察された。中でも、細胞膜型 NHE である NHE1 および NHE5 はポリグルタミンの凝集を有意に抑制するがオルガネラ型の NHE6 は抑制しなかった。NHE1 はイオン輸送活性欠損型の変異体でも有意に凝集を抑制することからイオン輸送活性以外の分子機構が存在することが示唆される。(NHE6 Δ ES は Angelman syndrome 様疾患の原因遺伝子として同定されたヒト NHE6 変異体のマウスオルソログ (E288, S289 の欠失) である。)

2) NHE1 はイオン輸送活性欠損変異体 NHE1 (E266I) でも有意に凝集を抑制するが NHE5 の変異体は凝集を抑制しないという結果となった。

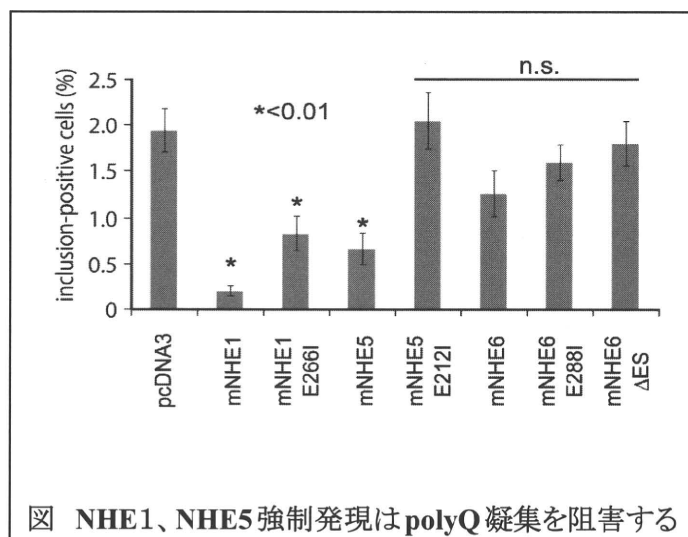


図 NHE1、NHE5強制発現は polyQ 凝集を阻害する

D. 考察

昨年度の研究により、NHE1若しくはNHE5は神経系培養細胞において、細胞外 pH 変化によるオートファジー活性化効果を媒介していることが明らかとなった。今年度報告したNHE過剰発現によるポリグルタミン凝集抑制効果は、従ってオートファジー活性化を介した変化であると考えているが、直接的なオートファジー活性化の証明は更に今後の課題である。NHE1,NHE5過剰発現もしくは発現抑制下のオートファジーレベルの測定が必要である。

変異型NHE1発現による効果に変異型NHE5とは異なる結果になっていることについては、これが生物学的な意味合いを持つかどうかに関し、今後さらに検討が必要である。

E. 結論

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、細胞の栄養飢餓状態とは異なる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を示した。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表
(投稿準備中)

2. 学会発表

国内学会

一般演題

三橋弘明, 林由起子, 松田知栄, 野口 悟, 若月修二, 荒木敏之, 西野一三:

筋ジストロフィー患者に特異的なA型ラミンSer458のリン酸化

第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会(BMB2010), 神戸, 12.8, 2010

富樫和也, 荒木敏之:

Na⁺/H⁺交換輸送体の強制発現によるポリグルタミン酸凝集の抑制.

第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会(BMB2010), 神戸, 12.9, 2010

平木啓子, 加藤英政, 高田仁実, 荒木敏之, 奥田晶彦

Culturing human iPS cells under non-feeder conditions alters their basic pluripotent status.

第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会(BMB2010), 神戸, 12.9, 2010

H. 知的財産権の出願・登録

1. 特許取得:

なし

2. 実用新案登録:

なし

3. その他:

なし

「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」

研究分担者 松村 剛 (独立行政法人国立病院機構刀根山病院)

研究要旨

平成 22 年度、大阪府下の循環器、糖尿病、産婦人科、眼科専門医に筋強直性ジストロフィー患者の診療経験についてのアンケート調査を行った。この結果、本症患者が神経内科以外で発見される事例が多いこと、トラブルで発見される事例もあり、その多くは事前の診断により予防できた可能性が高いことが分かった。本症の診断経験がある医師は、本症の特徴的的症状に対する関心が高く、簡易スクリーニング法の普及が専門科以外での診断能力向上に有効と示唆された。このため、本年度は簡易スクリーニング法の素案を作成した。

A. 研究目的

神経内科・小児神経科以外での筋強直性ジストロフィーの診断能力を向上させるため、本症の特徴的的症状・所見による簡易スクリーニング法を作成する。

B. 研究方法

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。

しかし、本症の重症度は極めて幅があるため、診断を補強する目的で、スクリーニング項目以外の特徴的的症状、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た。

C. 研究結果

スクリーニング項目として、斧様顔貌(禿頭、高口蓋、歯列不整・狭小化)、閉眼困難(眼瞼下垂、眼位異常・外眼筋麻痺)、若年性白内障、咬合力低下(固い物がかめない、固い物をかむと咬筋が

こわばる)、開鼻声(誤嚥性肺炎、舌萎縮)、口唇閉鎖不全(テント状口唇)、頸部屈曲筋力低下(頸部伸展は屈曲に比し良好)、手指脱力、把握ミオトニア(warm up 現象、叩打ミオトニア)、下肢遠位筋力低下(下垂足、足首捻挫の既往)、起き上がり困難(起立歩行時脊椎前弯、腰痛)を挙げた。

補助項目として中枢神経症状(集中力低下、日中眠気)、新生児症状(哺乳力低下、トーンス低下、呼吸不全、発達遅延、拘縮)、産婦人科(羊水過多・胎動低下、不妊症、子宮・卵巣腫瘍)、呼吸器(睡眠時無呼吸、肺活量に比し顕著な低酸素血症)、循環器(心伝導障害、不整脈、心不全)、既往歴・合併症(高脂血症、糖尿病、胆石、便秘、巨大結腸)、本症の家族歴、血液検査(CK 軽度高値、IgG 低値)などを挙げた。

来年度は他科の医師や研修医などに実際に使用してもらい、所要時間や感度・特異度を調査し、短時間で有効なスクリーニングが行えるよう項目の整理を行ない、スクリーニング法の完成を目指す予定である。