

201024174A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

自己貪食空胞性ミオパチーの  
診断基準確立と治療法開発に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 杉 江 和 馬  
(奈良県立医科大学 神経内科)

平成 23 (2011) 年 3 月



# 目次

## I. 総括研究報告

- 自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究  
杉江 和馬 (奈良県立医科大学 神経内科)..... 1

## II. 分担研究報告

1. 本邦での自己貪食空胞性ミオパチーの全国での実態調査(第1報)  
杉江 和馬 (奈良県立医科大学 神経内科)..... 7
2. 病態不明の Autophagic vacuolar myopathy  
西野 一三 (国立精神・神経医療研究センター 疾病研究第一部)..... 13
3. 心筋症における病因遺伝子変異の検索と機能解析  
木村 彰方 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所)..... 16
4. 自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立に関する研究  
小牧 宏文 (国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科)..... 21
5. 成人型自己貪食性ミオパチー症例における臨床病理学的研究  
金田 大太 (大阪赤十字病院 神経内科)..... 26

## III. 自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準..... 29

## IV. 研究班名簿..... 33

## V. 研究成果の刊行に関する一覧表..... 35

## VI. 研究成果の刊行物・別刷..... 37

# I. 総括研究報告

## 「自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究」

研究代表者 杉江 和馬 奈良県立医科大学 神経内科 講師

### 研究要旨

自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）は、筋細胞内の特異な自己貪食空胞（AVSF）を特徴とする稀な筋疾患である。AVMには、Danon病や過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー（XMEA）が含まれるが、いずれも臨床病態や発症機序は未解明の部分が多い。AVMの正確な診断や適切な治療を行うためには、本疾患の診断基準確立と治療法開発は必要不可欠である。今回、昨年度の本研究班で作成したAVMの診断基準を踏まえ、全国2,617の関連学会の施設に対し、本邦でのAVMの実態調査（第1次調査）を行った結果、疑い例を含め44例のAVM患者を見出した。また、新規患者を含めAVMの臨床病理学的特徴について解析した。さらに、遺伝性心筋症の病態形成機構解明に関する研究も行った。今後、第2次調査でより詳細な治療法と病態把握に努め、現状での最適な治療ガイドライン策定を目指す。また、本研究でXMEAのアレル病を発見し、一方既知の病型に該当しないAVM例が複数見出され、今後、AVMの臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。

### 研究分担者

西野一三（国立精神・神経医療研究  
センター神経研究所 部長）  
木村彰方（東京医科歯科大学  
難治疾患研究所 教授）  
小牧宏文（国立精神・神経医療研究  
センター病院小児神経科 医長）  
金田大太（大阪赤十字病院  
神経内科 医員）

### A. 研究目的

自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）は、筋病理学的に筋鞘膜の性質を有する極めて特異な自己貪食空胞（AVSF：autophagic vacuoles with sarcolemmal features）を有する稀少な筋疾患である。AVSFは他の筋疾患で認める空胞とは大きく異なる。AVMの病態には、オートファジー機構の関与が疑われているが、依然原因は不明で治療も未確立である。

代表疾患であるDanon病は、2000年に初めて原因遺伝子としてlysosome-associated

membrane protein-2（LAMP-2）が発見され（Nishino I et al. Nature 2000）、さらに我々が世界に先駆け初めてDanon病の臨床病型について報告した（Sugie K, et al. Neurology, 2002）。Danon病は、X染色体優性遺伝形式を示し、男性は心筋症・ミオパチー・知的遅滞を、保因者の女性でも心筋症をきたす予後不良な進行性疾患である。AVMのもう一つの代表疾患XMEA（過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー：X-linked myopathy with excessive autophagy）は、小児期発症で四肢筋力低下と筋萎縮を来す。共通して認められる自己貪食空胞：AVSFは、乳児型AVM、多臓器障害を伴う成人型AVM（Kaneda D, Sugie K, et al. Neurology, 2003）、X連鎖性先天性AVM（Yan C, Sugie K, et al. Neurology, 2005）にも認められる。いずれも稀少疾患で身体的障害度は重度であるが、発症年齢や合併症は様々で、臨床病型により生命予後は大きく異なる。

今回、AVMの正確な診断と適切な治療遂行には必要不可欠である診断基準確立と治療

ガイドライン策定のため、まず本邦でのAVM患者の実態調査を行った。そして、臨床病態の解析を行い、疾患の臨床的特徴を把握し、共通する分子病態の解明、さらに現行の治療法を把握して、将来の根本治療の手掛かりを得ることを目指した。

## B. 研究方法

### 1. 全国での疫学調査

昨年度の研究班「自己貪食空胞性ミオパチーの疾患概念確立と診断基準作成のための研究」班（研究代表者 杉江和馬）で作成した診断基準を踏まえて、全国での疫学調査を行い、診断がつかずに埋もれている患者を見出し、本疾患の実態を把握する。まず、疾患概要説明文書とアンケート調査票、アンケート依頼文書（別紙の資料）を作成し、日本神経学会（735施設）、日本循環器学会（1,265施設）、日本小児神経学会（479施設）、日本小児循環器学会（138施設）の合計2,617の各学会の専門医施設に一次調査票を送付して、回答結果の解析を行う。そして、本疾患患者を有する施設には、二次調査票を送り、臨床経過や合併症、検査所見、筋病理学的所見など症例の詳細を収集する。さらに、これまで施行された治療方法についても調査する。二次調査票の集計結果より、本邦での患者数や有病率、臨床病型の多様性の把握に努める。

### 2. AVM患者の臨床情報の整理

研究実施機関である国立精神・神経医療研究センターは、世界で最多のAVM患者の臨床情報を管理している。この貴重な情報に基づいて、臨床情報の整理、把握、および統計学的解析を行う。また、本研究班班員が各所属機関で現在進行形で診療しているAVM患者の臨床情報を直接得て整理を行う。近年、新たに自閉症や脳血管障害、末梢神経障害を有する症例の報告もあり、本疾患に普遍的な症状の適否も含めて検討する。さらに、心筋症については致死性で予後規定因子であり、根治療法は現段階では心臓移植しかない。この点で、心筋症の解析は臨床上重要であり、AVMを含めた遺伝性心筋症の臨床病

態を解析する。

### 3. 患者の生検筋における病理学的検討

AVMの診断基準作成には、骨格筋組織における筋細胞と特徴的な自己貪食空胞の病理学的所見は必要不可欠である。国立精神・神経医療研究センターでは、臨床情報とともに、世界で最も多くのAVMの検体数を誇る。診断基準項目への病理学的所見の導入に向けて、AVM患者の生検筋での組織化学的、免疫組織化学的、および電顕的解析を行って、病理学的に検討し統計学的解析を施行する。

### 4. AVM疑い患者の遺伝子解析

新たな症例が発見された際は、いずれの疾患に分類されるか臨床情報の丹念な精査を行い、併せて生検筋での組織化学的、免疫組織化学的、および電顕的解析を行う。確定診断に至るよう鑑別を進めて、必要があれば速やかに遺伝子解析を行う。そして、集積した症例に追加していく。新規症例の遺伝子解析は、国立精神・神経医療研究センターで施行する。

（倫理面への配慮）

AVM患者において行われた筋病理解析、遺伝子解析および臨床病態解析は、臨床研究および遺伝子研究に関する倫理指針、さらに当該研究施設で定めた倫理規程を遵守して、同施設倫理委員会で承認された説明書を用いて、臨床情報および生検筋の研究利用について十分な説明の上、所定の同意書に署名をしていただいで研究を遂行した。

## C. 研究結果および考察

### 1. 全国での疫学調査

全国47都道府県の合計2,617施設のうち、1,409施設から回答を得た（回収率54%）。全アンケートを集計した結果、AVM患者全体では、疑い例を含めて44例を見出した。Danon病の男性患者は、確定16例、疑い6例で、XMEA患者は、確定1例、疑い4例であった。先天性AVM患者は5例、乳児型AVM患者は1例、成人型AVM患者は1例であった。また、糖原病での自己貪食空胞やrimmed vacuoleとは異なる自己貪食空胞を有する、原因不明のAVM患者が

10例みられた。現在、各患者の詳細につき、第2次調査として、順次、各主治医に依頼して再調査している段階である。

本邦でのDanon病の男性患者16例のうち、13例の臨床情報は、国立精神・神経医療研究センターで管理している。この13例の臨床症状について集計した結果、発症年齢は、10歳前後で、ミオパチーと心筋症は13例中13例(100%)に認められ、知的遅滞は13例中6例(46%)にみられた。心筋症のうち、肥大型心筋症が10例(77%)、拡張型が2例(15%)、混合型が1例(8%)であった。肥大型心筋症のうち、1例は拡張相肥大型心筋症であった。他の合併症として、網膜症や肝腫大、低身長、pes cavusを呈する患者がみられた。

## 2. 臨床情報の整理

1) AVMの臨床病態や発症機序については依然未解明の部分が多く、診断基準確立のため、AVM患者の臨床情報の解析を行った。対象は、国立精神・神経医療研究センターで臨床情報を管理するDanon病17家系51例、XMEA疑い1例、乳児型AVM2例、多臓器障害を有する成人型AVM1例、先天性AVM7例。昨年度の本研究班で、先天性AVM患者でXMEAと同じ遺伝子変異を見出し、先天性AVMは、XMEAのアレル病であることが明らかになった。また、本年度の研究で、preliminary dataながら、乳児型AVMもXMEAのアレル病であることが疑われる。以上から、AVMはライソゾームの機能異常に伴う疾患であることがより明瞭となった。さらに、今後、臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。

2) 班員自らが診療するDanon病やXMEA、先天性AVMなどのAVM患者の臨床情報解析を行った。また、成人型AVM患者の世界初の病理解剖での全身検索を施行した。

・Danon病1例、XMEA2例の臨床的、筋病理学的、遺伝学的解析を行った。臨床症状では、Danon病患者で、心筋症、知的障害、肝障害、ブドウ膜炎を呈し、XMEAで筋力低下、呼吸障害、著明な骨格変形の特徴を示した。筋病理でAVSFを呈することが本症の特徴であり、臨床症状や筋生検以外の検査ではAVMの診断は困難であり、筋

生検は診断に必須であった。

・成人型AVM症例について、病理解剖を含めた臨床病理学的検討を行った。心筋症、ミオパチー、網膜色素変性に加え、全身病理検索から、障害の強い病変として、心筋、骨格筋、胸膜から肝・脾被膜にかけて線維性肥厚、限局性気管支拡張症を認めた。中枢神経では、中脳黒質ドパミン細胞の著明な脱色素所見を認め、メラニン含有細胞に限局したLC3抗体に対する染色性低下を示した。さらに髄液中のカテコラミン代謝物質の減少を認めた。今後、知的遅滞を呈する類縁疾患Danon病での検討が重要である。

3) AVMでは予後決定因子となる遺伝性心筋症の臨床病態解析を行った。骨格筋と心筋の構成要素や収縮機構には共通性があるため、骨格筋疾患と心筋疾患には病因や病態形成機構に共通点が存在する。そこで、横紋筋I帯構成要素であるネブレットに着目した心筋症関連変異の検索、Z帯構成要素異常に伴う不整脈発症機序、心筋症病態形成機序における性差の検討、ミオシン脱リン酸化酵素による筋収縮のカルシウム感受性制御機構、新規の骨格筋特異的発現遺伝子の同定研究を行った。その結果、ネブレット変異が拡張型心筋症の病因となること、LMNA変異ノックインマウスにおける心筋症病態の性差は男性ホルモンに依存すること、ミオシン脱リン酸化酵素のスマールサブユニットM21はROCKの活性化とM110のリン酸化を介して筋収縮のカルシウム感受性を制御すること、横紋筋に特異的に発現する新規Z帯タンパクHS452を同定し、その異常が肢帯型筋ジストロフィーの新規の原因となる可能性を示した。これらの知見は、横紋筋Z帯-I帯構成要素の機能的多様性の解明、骨格筋・心筋疾患の新たな病因・病態形成機構の解明、さらに病態修飾法の開発に繋がるものである。

## 3. 生検筋における病理学的検討

AVMの診断に筋病理所見は必要不可欠である。診断基準項目への病理学的所見導入のため、生検筋での特徴的な自己食空胞：AVSFの組織化学的、免疫組織化学



的、電顕的解析を行った。また、もう一つの重要な所見として、筋細胞膜の重層化が挙げられる。これは、Danon病以外の臨床病型で認めることから、Danon病と他の臨床病型を区別する所見と考えられる。病態機序については不明であるが、XMEA類似疾患で多く認めることから、VMA21の機能との関連やライソゾーム腔内のpHの関与も示唆される。

#### 4. 新規患者の遺伝子解析

我々は、AVSFを伴うAVMの中で遺伝子診断がなされていない10例について、臨床病理学的評価および遺伝学的解析を行った。臨床情報の検討では、10例の発症年齢や臨床症状は様々であり、共通項は見出せなかった。病理学的検討では、XMEAに類似した所見を呈する女性例が4例あった。既知のLAMP-2遺伝子とVMA21遺伝子の解析では、全例に変異を認めなかった。この結果から、おそらく各々の病因は異なると推測された。AVMの病態は依然として未解明な点が多く、有効な治療法のない疾患である。今後、さらなる症例の蓄積と病態の解明が望まれる。

#### 5. 今後の展望

AVMの診断基準を確立し、治療法の開発を目指すことは、今後のAVM患者の診療において大きな意義がある。正確な診断と現状で最適な治療を行うために、各臨床病型の詳細な分類や診断基準項目の選定を行い、感度・特異度のより高い診断基準の確立は必要不可欠である。今回、本診断基準を踏まえて、専門医や関連施設を通じて本邦での疫学調査（第1次調査）を行った。今後、詳細な第2次調査を行い、患者数や有病率、臨床症状の多様性の実態把握に努める。また、現在施行されている治療法を把握し、現状での最適な治療ガイドライン策定を目指す。

今回の検討から、XMEAのアレル病が発見される一方、AVSFを有するAVMでありながら、既知の臨床病型に該当しない症例が複数見出されていることから、今後、AVMの臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。

今後、我々の研究施設に保管されるAVM患者およびAVMのモデル動物の検体を用い

て、詳細な病理学的解析を行って筋組織でのオートファジー機構の解明に結び付けていく。共通する分子病態の解明から根本治療への手掛かりを発見し、治療への道筋の構築を目指す。さらに、超稀少疾患といえる本疾患の病態解析や今後の治験の実現を考えるためには、日本国内の連携のみならず、海外と連携した臨床遺伝学的検討とデータベース構築が必要である。

#### D. 結論

昨年度の本研究班において、自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）の臨床病態について臨床病理学および遺伝学的解析を行い、世界で初めて診断基準を作成した。今回、診断基準確立に向けて、本邦での疫学調査による実態調査を行った。今後は、現段階での適正な治療ガイドラインの策定、さらには基礎的な病理学的研究から根本治療法の開発が求められる。

#### E. 健康危険情報

該当なし

#### F. 研究発表

各分担研究報告書参照

#### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

表 自己貪食空胞性ミオパチーの臨床的特徴

	Danon病		XMEA	乳児型 AVM	先天性 AVM	成人型 AVM
	男性	女性				
遺伝	XD	XD	XR	XR?	XR	ARorXR?
発症年齢	10代	30代	10代	新生児	乳幼児	40代
ミオパチー	+	-	+	+	+	+
心筋症	+	+	-	±	-	+
知的遅滞	+	-	-	+	+	+
合併症	時に肝障害 網膜症	-	-	-	-	多臓器障害
自己貪食空胞	+	+	+	+	+	+
空胞壁での AChE発現	+	+	+	+	+	+
空胞壁での 筋鞘膜蛋白発現 (AVSF)	+	+	+	+	+	+
基底膜の 重層化	-	-	+	+	+	+
原因遺伝子	LAMP-2		VMA21	VMA21	VMA21	?



## Ⅱ. 分 担 研 究 報 告

## 「本邦での自己貪食空胞性ミオパチーの全国での実態調査（第1報）」

研究分担者 杉江 和馬 奈良県立医科大学 神経内科 講師  
研究協力者 木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授  
小牧 宏文 国立精神・神経センター病院 小児神経科 医長  
金田 大太 大阪赤十字病院 神経内科  
西野 一三 国立精神・神経センター疾病研究第一部 部長

### 研究要旨

自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）は、筋細胞内の特異な自己貪食空胞（AVSF）を特徴とする稀な筋疾患である。AVMには、Danon病や過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー（XMEA）が含まれるが、いずれも臨床病態や発症機序については未解明の部分が多い。今回、AVMの本邦での実態を把握するために、国内の関連学会 2,617施設に対して、アンケート調査を実施した。集計した結果、疑い例も含めて、AVM患者全体では44例と大変稀少であった。また、AVM患者の約半数がDanon病であった。Danon病の男性患者は、確定16例、疑い6例で、XMEA患者は、確定1例、疑い4例であった。先天性AVM患者は5例、乳児型AVM患者は1例、成人型AVM患者は1例であった。また、原因不明のAVM患者が10例認められた。Danon病の男性患者13例では、発症年齢は10歳前後で、ミオパチーと心筋症は全例に、知的遅滞は6例（46%）にみられた。心筋症では肥大型が10例（77%）であった。合併症では網膜症や肝腫大、低身長、pes cavusを認めた。今後は、本邦のAVM患者の詳細な第2次調査から、臨床経過や合併症、さらに現状では根本治療が困難であるが最適な治療ガイドラインの策定を目指す。

### A. 研究目的

自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）は、筋病理学的に筋鞘膜の性質を有する極めて特異な自己貪食空胞（AVSF：autophagic vacuoles with sarcolemmal features）を有する稀少な筋疾患である。AVSFは他の筋疾患で認める空胞とは大きく異なる。AVMの病態には、オートファジー機構の関与が疑われているが、依然原因は不明で治療も未確立である。

代表疾患であるDanon病は、2000年に初めて原因遺伝子としてlysosome-associated membrane protein-2（LAMP-2）が発見され（Nishino I et al. Nature 2000）、さらに我々が世界に先駆け初めてDanon病の臨床病型について報告した（Sugie K, et al. Neurology, 2002）。Danon病は、X染色体優

性遺伝形式を示し、男性は心筋症・ミオパチー・知的遅滞を、保因者の女性でも心筋症をきたす予後不良な進行性疾患である。

AVMのもう一つの代表疾患XMEA（過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー：X-linked myopathy with excessive autophagy）は、小児期発症で四肢筋力低下と筋萎縮を来す。

共通して認められる自己貪食空胞：AVSFは、乳児型AVM、多臓器障害を伴う成人型AVM（Kaneda D, Sugie K, et al. Neurology, 2003）、X連鎖性先天性AVM（Yan C, Sugie K, et al. Neurology, 2005）にも認められる。いずれも稀少疾患で身体的障害度は重度であるが、発症年齢や合併症は様々で、臨床病型により生命予後は大きく異なる。

平成21年度に、われわれは、厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

「自己貪食空胞性ミオパチーの疾患概念確立と診断基準作成のための研究」班（研究代表者 杉江和馬）の研究助成を得て、Danon病、XMEAを含めたAVMの診断基準の作成を行った。AVMの正確な診断や適切な治療を行うためには、本疾患の疾患概念の確立が必要不可欠である。

今年度は、本邦でのAVMの各臨床病型の実態を把握するため、本診断基準を踏まえて、専門医や関連施設を通じて全国での疫学調査を行い、患者数や有病率、臨床症状の多様性の把握に努める。さらに、診断がつかずに埋もれている患者を見出す。また、現在施行されている治療法を把握し、現状での最適な治療ガイドライン策定を目指す。正確な診断と、現状で最適な治療を行うために、各臨床病型の詳細な分類や実態調査は重要である。

## B. 研究方法

班員が協議して疾患概要説明文書とアンケート調査票、アンケート依頼文書（別紙の資料）を作成した。日本神経学会（735施設）、日本循環器学会（1,265施設）、日本小児神経学会（479施設）、日本小児循環器学会（138施設）の合計2,617の各学会の専門医施設に送付して、過去に診療したAVM患者の患者数を調査した。Danon病、XMEAの疑われる一部の例では、ダイレクトシーケンシング法によるLAMP-2遺伝子、VMA21遺伝子解析を実施した。

さらに国立精神・神経医療研究センターで管理している、新規のAVM患者を含めた国内のAVM患者における臨床症状についても調査した。

### （倫理面への配慮）

AVM患者において行われた筋病理解析、遺伝子解析および臨床病態解析は、臨床研究および遺伝子研究に関する倫理指針、さらに当該研究施設で定めた倫理規程を遵守して、同施設倫理委員会で承認された説明書を用いて、臨床情報および生検筋の研究利用について十分な説明の上、所定の同意書に署名をしていただいて、研究を遂行した。

## C. 研究結果

全国47都道府県の合計2,617施設のうち、1,409施設から回答を得た（回収率 54%）。

全アンケートを集計した結果（表1）、Danon病の男性患者は、確定 16例、疑い 6例で、XMEA患者は、確定 1例、疑い 4例であった。先天性AVM患者は 5例、乳児型AVM患者は 1例、成人型AVM患者は 1例であった。また、糖原病での自己貪食空胞やrimmed vacuoleとは異なる自己貪食空胞を有する、原因不明のAVM患者が 10例みられた。現在、各患者の詳細について、第2次調査として、順次、各AVM患者の主治医に依頼して再調査をしている段階である。

表 1 全国実態調査(第1次調査)の結果

回収数 1409施設 (回収率 54%)

Danon病(男性)	確定 16例	疑い 6例
XMEA	確定 1例	疑い 4例
先天性AVM	5例	
乳児型AVM	1例	
成人型AVM	1例	
原因不明のAVM	10例	

→ 現在、第2次調査中

表 2 本邦の Danon 病 9 家系 13 例の臨床的特徴

男性	
患者数	n=13
発症年齢	10歳前後
ミオパチー	13 / 13 (100%)
筋力低下	13 / 13 (100%)
易疲労性	13 / 13 (100%)
心筋症	13 / 13 (100%)
肥大型心筋症*	10 / 13 (77%)
拡張型心筋症	2 / 13 (15%)
混合型	1 / 13 (8%)
知的遅滞	6 / 13 (46%)

\* 拡張相肥大型心筋症 含む

■ 合併症 網膜症、肝腫大、低身長、Pes cavus

本邦でのDanon病の男性患者16例のうち、13例の臨床情報は、国立精神・神経医療研究センターで管理している。この13例の臨床症状について集計した結果（表2）、発症年齢は、10歳前後で、ミオパチーと心筋症は13例中13例（100%）に認められ、知的遅滞は13例中6例（46%）にみられた。心筋症

のうち、肥大型心筋症が 10例 (77%)、拡張型が 2例 (15%)、混合型が 1例 (8%)であった。肥大型心筋症のうち、1例は拡張相肥大型心筋症であった。他の合併症として、網膜症や肝腫大、低身長、pes cavusを呈する患者がみられた。

#### D. 考察

今回、われわれは、自己食空胞性ミオパチー (AVM) の本邦での実態を明らかにするため、全国調査を実施した。集計結果では、疑い例も含めて、AVM患者全体では 44例と大変稀少であった。また、AVM患者の約半数がDanon病であった。本邦のAVM患者の大半が、当該研究施設である国立精神・神経医療研究センターで臨床情報が管理されていた。

今後は、本邦のAVM患者の詳細な第2次調査から、臨床経過や合併症、さらに、現状では根本治療が困難で対症療法が主体となるが有効とされる治療ガイドラインの策定を目指していく。また、原因不明のAVM患者が多数発見されていることから、これらが筋病理学的にAVMであるのか、またどの臨床病型に該当するのか、検討していく。

#### E. 結論

AVMは、超稀少疾患で身体的障害は高度であるが、臨床病型により発症年齢や合併症、生命予後は大きく異なる。今後、さらに詳細な全国調査の解析から、本邦での本疾患の臨床実態を明らかにして、治療法確立のための病態解明を目指す。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sugie K, Kimura A, Komaki H, Kaneda D, Nonaka I, Ueno S, Nishino I. Clinicopathological features of autophagic vacuolar myopathies characterized by autophagic vacuoles with sarcolemmal features (AVSF). *Brain Pathology*. 20(9)

S1:93, 2010.

- 2) Sugie K, Hayashi YK, Goto K, Nishino I, Ueno S. Asymmetry of skeletal muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy: A neuroimaging study. *Neuromuscul Disord*. 20(9-10):665, 2010.
- 3) Sugie K, Morikawa M, Taoka T, Hirano M, Ueno S. Serial neuroimaging in Tolosa-Hunt syndrome with acute bilateral complete ophthalmoplegia. *J Neuroimaging*. 21:79-82, 2011.

##### 2. 学会発表

- 1) Sugie K, Kimura A, Komaki H, Kaneda D, Nonaka I, Ueno S, Nishino I. Clinicopathological features of autophagic vacuolar myopathies characterized by autophagic vacuoles with sarcolemmal features (AVSF). The 17th International Congress of Neuropathology, Salzburg, Austria, September, 2010.
- 2) Sugie K, Hayashi YK, Goto K, Nishino I, Ueno S. Asymmetry of skeletal muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy: A neuroimaging study. The 15th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Kumamoto, Japan, October, 2010.
- 3) 杉江和馬、林由起子、後藤加奈子、西野一三、上野 聡. 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーにおける骨格筋萎縮の放射線学的検討. 第51回日本神経学会総会、東京、2010年5月.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



## 「自己貪食空胞性ミオパチー」の実態に関する全国調査のお願い

この度、全国での初めての自己貪食空胞性ミオパチーの実態調査を実施することとなり、ご協力いただきたくお手紙を差し上げる次第です。

### I. 自己貪食空胞性ミオパチー

本疾患は、病理学的に特異な自己貪食空胞 (AVSF) を伴い、致死性心筋症と進行性のミオパチー（筋力低下・筋萎縮）を来す予後不良の稀な筋疾患です。代表疾患である Danon 病と XMEA（過剰自己貪食を伴う X 連鎖性ミオパチー）の各々の原因遺伝子 LAMP-2、VMA21 がリソソーム関連蛋白であり、筋変性に自己貪食（オートファジー）の関与が示唆されています。

しかし、現時点では、発症機序は未解明で、治療も未確立です。昨年度の私たちの研究班で、本疾患の診断基準を作成いたしました（別紙の通り）。

\*縁取り空胞 (rimmed vacuole) を伴う疾患や Pompe 病とは異なります。

\*他の原因の確定している心筋症は除外します。

### II. 全国調査の目的

本疾患の既報告は、国内・海外あわせて約 80 例で、日本人患者の報告が多数を占めます。今回、神経内科、循環器科、小児神経科、小児循環器科の専門の先生方のご協力をお願いして、全国での疫学調査を行って、患者数や有病率、臨床症状の多様性、合併症、施行中の治療法などの実態を明らかにすることを目指します。また、診断がつかずに埋もれている患者を見出したいと考えています。

なお、本研究は、奈良県立医科大学 医の倫理委員会にて承認を得ております。

ご多忙の折、恐縮ではございますが、**平成 22 年 10 月 15 日**までに、**同封の封筒**あるいは **FAX 0744-24-6065**にて、別紙のアンケートをご返信いただければ幸甚です。

該当症例がない場合も、**0 と記入**し、ご返送いただきたくお願い申し上げます。

また、後日、改めて症例の詳細（臨床症状や治療法など）につきまして、ご連絡を差し上げる場合があります。ご協力のほど、何卒よろしくお願いいたします。

平成 22 年 9 月 1 日

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業  
「自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究」班  
研究代表者：奈良県立医科大学 神経内科 杉江 和馬  
研究分担者：国立精神・神経医療研究センター 西野 一三

連絡先 奈良県立医科大学 神経内科  
〒634-8522 奈良県橿原市四条町 840  
TEL 0744-29-8860 FAX 0744-24-6065  
[ksugic@naramed-u.ac.jp](mailto:ksugic@naramed-u.ac.jp)

平成 22 年度 厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業  
「自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究」班  
研究代表者：奈良県立医科大学 神経内科 杉江 和馬  
研究分担者：国立精神・神経医療研究センター 西野 一三

## 「自己貪食空胞性ミオパチー」に関するアンケート調査

(10月15日〆切)

該当症例がない場合も、0 と記入して、ご返送ください

御担当者 \_\_\_\_\_ 施設名 \_\_\_\_\_ 病院 \_\_\_\_\_ 科 \_\_\_\_\_  
連絡先 (住所) \_\_\_\_\_ (TEL) \_\_\_\_\_

貴施設における下記の症例のこれまでのご診療経験についてお伺いします。

### I. 自己貪食空胞性ミオパチー (別紙の診断基準参照)

- |   |     |    |     |    |
|---|-----|----|-----|----|
| 1) Danon 病  | (確定 | 例) | (疑い | 例) |
| 2) XMEA<br>(過剰自己貪食を伴う X 連鎖性ミオパチー: X-linked myopathy with excessive autophagy) | (確定 | 例) | (疑い | 例) |
| 3) 乳児型  | (   | 例) |     |    |
| 4) 多臓器障害を伴う成人型  | (   | 例) |     |    |
| 5) X 連鎖性先天性   | (   | 例) |     |    |

### II. 原因不明の自己貪食空胞を伴うミオパチー ( ) 例)

\*但し、縁取り空胞 (rimmed vacuole) を伴う疾患や Pompe 病は除きます。

### III. 家族歴のある心筋症と、ミオパチー(四肢筋力低下や筋萎縮)の合併例 ( ) 例)

- |                             |   |   |    |
|-----------------------------|---|---|----|
| III - 1) 上記のうち、X連鎖性優性遺伝     | 例 | ( | 例) |
| III - 2) 上記のうち、多臓器障害を伴う成人発症 | 例 | ( | 例) |

### IV. 上記の I ~ III の症例のうち、学会や論文でのご報告例

- ・学会 or 雑誌名 ( )
- ・演者名 ( )
- ・演題 ( )
- ・報告時期 ( 年 月) → 複数ある場合は裏面に記載して下さい。

以上です。ありがとうございました。

返信先 奈良県立医科大学 神経内科 杉江和馬  
〒634-8522 奈良県橿原市四条町 840  
FAX 0744-24-6065

# 「自己貪食空胞性ミオパチー(AVM)」の疾患概要

**【概要】** 骨格筋の筋線維内に特徴的な自己貪食空胞(AVSF)が出現する極めて稀少な遺伝性の筋疾患で、治療は未確立です。致死性心筋症と進行性のミオパチー(筋力低下・筋萎縮)を来す予後不良な進行性疾患です。

- \* 縁取り空胞(rimmed vacuole)を伴う疾患や Pompe 病とは異なります。
- \* 他の原因の確定している心筋症は除きます。

**【臨床病型】**

1) Danon 病	→ X連鎖性優性
2) XMEA (X-linked myopathy with excessive autophagy: 過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー)	→ X連鎖性劣性
3) 乳児型 AVM	→ X連鎖性劣性 or 常染色体劣性
4) 多臓器障害を伴う成人型 AVM	→ 遺伝形式不明
5) X連鎖性先天性 AVM	→ X連鎖性劣性

**【原因の解明】** 近年、Danon 病とXMEAの原因遺伝子が発見されましたが、その他の臨床病型は原因不明です。Danon 病とXMEAの原因遺伝子がリソソーム関連蛋白であり、筋変性に自己貪食(オートファジー)が関与することが疑われます。

**【患者数】** 正確には不明。国内・海外合わせて既報告は、約 80 例

**【主な症状】**

- (1) 骨格筋障害 緩徐進行性の四肢筋力低下や筋萎縮
- (2) 心筋障害 進行性の心筋症(肥大型、拡張型)、不整脈(WPWほか)
- (3) 知的遅滞

但し、臨床病型によっては、(2)(3)を伴わないことがあります。  
発症年齢は様々で、生下時から 50 歳代まで報告があります。

**【主な合併症】** けいれんなどの中枢神経障害や肝障害、腎障害、肺水腫、網膜症、自閉症、脳血管障害、末梢神経障害をきたす症例の報告があります。

**【主な治療法】** 治療法は確立していません。心筋障害は予後決定因子で致死性であり、心臓移植のみが根治療法とされています。他の症状や合併症には、対症療法が主体です。

**【参考文献】**

1. Sugie K, et al. Clinicopathological features of genetically confirmed Danon disease. Neurology. 58: 1773-1778. 2002
2. 杉江和馬、ほか. Danon 病患者 17 家系 51 例における心筋障害の臨床的特徴. 心臓 41:413-418, 2009.
3. 西野一三. 自己貪食空胞性ミオパチーの病態解明と治療法開発. 臨床神経学, 50(1):1-6, 2010.

平成 22 年度 厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業  
「自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究」班

研究代表者: 奈良県立医科大学 神経内科 杉江 和馬  
研究分担者: 国立精神・神経医療研究センター 西野 一三

連絡先 奈良県立医科大学 神経内科  
〒634-8522 奈良県橿原市四條町 840  
TEL 0744-29-8860 FAX 0744-24-6065  
E-mail: ksugie@naramed-u.ac.jp

「病態不明の Autophagic vacuolar myopathy」

研究分担者 西野一三 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部 部長  
研究協力者 本田真也 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部  
圓谷理恵 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部  
林由起子 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部

**研究要旨**

Autophagic vacuolar myopathy (AVM) は、筋病理組織における自己貪食空胞の存在により診断される疾患の総称である。Autophagic vacuoles with sarcolemmal features と呼ばれる特異な自己貪食空胞を伴う代表的な AVM として、Danon 病および X-linked myopathy with excessive autophagy (XMEA) が知られている。この2疾患は X連鎖性の遺伝形式をとり、それぞれ *LAMP-2* 遺伝子および *VMA21* 遺伝子が原因遺伝子として報告されている。

我々は、AVSF を伴う AVM の中で遺伝子診断がなされていない 10 例について、臨床・病理学的評価および遺伝学的解析を行った。臨床情報の検討では、10 例の発症年齢や臨床症状は様々であり、共通項は見いだせなかった。病理学的検討では、XMEA に類似した所見を呈する女性例が 4 例あった。既知の 2 遺伝子の解析では、全例に変異を認めなかった。この結果から、おそらく各々の病因は異なると推測された。AVM の病態は依然として未解明な点が多く、有効な治療法のない疾患である。今後、さらなる症例の蓄積と病態の解明が望まれる。

**A. 研究目的**

Autophagic vacuolar myopathy (AVM) は、筋病理組織において自己貪食空胞を認める疾患の総称である。筋鞘膜の性質を有する特異な自己貪食空胞は、Autophagic vacuoles with sarcolemmal features (AVSF) と呼ばれ、AVSF を伴う AVM として Danon 病および X-linked myopathy with excessive autophagy (XMEA) が代表的である。両者はともに X連鎖性の遺伝形式をとり、原因遺伝子として、それぞれ *LAMP-2* 遺伝子および *LOC203547* (*VMA21*) 遺伝子が知られている。*VMA21* 蛋白は Vacuolar ATPase (V-ATPase) という細胞の形質膜に存在するプロトンポンプを形成するアセンブリー因子である。V-ATPase 活性の低下が XMEA の病態に関与している

と考えられているが、依然として不確定な要素が多い。またなぜ筋鞘膜の構成成分が発現されるのかなど AVSF の成因も明らかではない。このように AVM の病態についてはまだ不明な点が多く、有効な治療法も見出されていない。AVM はまれな疾患であり、患者一人一人を詳細に検討し、知見を集積していくことが重要である。

今回我々は、AVM の臨床・病理学的、および遺伝学的解析を目的として研究を行った。

**B. 研究方法**

AVSF を認める AVM の中で、すでに *LAMP-2* 遺伝子および *VMA21* 遺伝子変異が既知の例を除外し、かつ当センターの骨格筋レポジトリに筋検体が登録されている 10 例(男



性4例、女性6例)を対象とした。全例について、臨床情報を集計し、骨格筋病理組織所見を評価した。AVSFは、AChE染色やNSE染色、抗ジストロフィンや抗メロシン抗体の免疫染色により、空胞膜が陽性を示すものと定義した。全例にMembrane attack complex (MAC)やCD63による免疫染色を行い、6例について電子顕微鏡による観察を行った。全例に対して、ゲノムDNA上で*LAMP-2*遺伝子および*VMA21*遺伝子についてシーケンス解析を行った。

(倫理面への配慮)

国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認を受けた所定の同意書によりインフォームド・コンセントを得ている。

### C. 研究結果

発症年齢は、5か月～56歳と幅広く、発症年齢と臨床症状の重症度に相関はなかった。同様の症状を呈する家族歴を有する例はなかった。臨床症状は、反復する発熱時の高クレアチンキナーゼ(CK)血症のみで筋症状のない女兒例、精神発達遅滞や家族性先天性白内障を合併する女兒例、高CK血症および軽度の筋力低下のみの成人男性例など様々だった。男性1例が心伝導障害および混合性肺障害を含む多臓器障害を合併していたが、その他には心筋症や呼吸障害を合併する例はなかった。CK値は正常範囲内～2000 IU/L台と必ずしも高値ではなかった。全体を総括すると、これら10例の臨床的な共通項は見いだせなかった。

AVSFを有する筋線維の頻度は0.5～20%を占め、成人例の方が多い傾向にあった。NSE染色やAChE染色および筋鞘膜構成蛋白の免疫染色では、Danon病やXMEAで見られるAVSFと同様の染色性を呈した。またXMEAでは、筋鞘膜にMACが沈着する所見が特異的だが、女性4例で同様の所見を認めた。この4例は、電子顕微鏡的観察においても基底膜の重層化などXMEAに類似した所見を呈した。

*LAMP-2*遺伝子および*VMA21*遺伝子の全エクソンおよび近傍イントロンに変異を認めた例はなかった。

### D. 考察

*LAMP-2*遺伝子および*VMA21*遺伝子に異常のないAVM例は、発症年齢や臨床症状も様々であり、各々の症例の病因は異なるものと推測された。

Danon病の女性保因者は症候性であるが、XMEAでは、症候性の保因者は報告されていない。Danon病の保因者以外にも、症候性のAVM女性例が存在するというのは新たな知見であった。ただし、今回の遺伝子解析の範囲内では変異を認めなかったが、*VMA21*遺伝子のイントロン内やプロモーター領域などに変異をもつXMEAの症候性保因者である可能性は否定できない。*VMA21*の発現レベルの解析やより広範囲の遺伝子解析などを行っていく必要がある。

XMEAに類似した病理像を呈する例では、*VMA21*以外のV-ATPase関連分子の異常が関与している可能性も考えられる。XMEAにおけるV-ATPaseの機能異常について未解明な点をさらに研究していくとともに、V-ATPase複合体やその関連分子についての解析や網羅的な候補遺伝子の検索などが必要である。

### E. 結論

今回我々は、既知の2遺伝子に変異を認めない10例のAVSFを伴うAVM症例を報告した。これら報告例の中には、未知の疾患が含まれている可能性も考えられ、各々の詳細な病態の研究が必要である。

また既知のDanon病やXMEAの病態についてもまだ不明な点が多く、有効な治療法も見出されていない。今後、さらなる症例の蓄積と病態の解明が望まれる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yamazaki Y, Kamei Y, Sugita S, Akaike F, Kanai S, Miura S, Hirata Y, Troen BR, Kitamura T, Nishino I, Suganami T, Ezaki O, Ogawa Y: The cathepsin L gene is a direct target of FOXO1 in skeletal muscle. *Biochem J* 427: 171-178, Apr, 2010.
- 2) Kim H, Cho A, Lim BC, Kim MJ, Kim KJ, Nishino I, Hwang YS, Chae JH: A 13-year-old girl with proximal weakness and hypertrophic cardiomyopathy with danon disease. *Muscle Nerve* 41: 879-882, Jun, 2010.
- 3) Crotzer VL, Glosson N, Zhou D, Nishino I, Blum JS: LAMP-2-deficient human B cells exhibit altered MHC class II presentation of exogenous antigens. *Immunology* 131: 318-330, Nov, 2010.

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 「心筋症における病因遺伝子変異の検索と機能解析」

研究分担者 木村彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授

### 研究要旨

骨格筋と心筋の構成要素や収縮機構には共通性があるため、骨格筋疾患と心筋疾患には病因や病態形成機構に共通点が存在する。そこで本研究では、横紋筋I帯構成要素であるネブレットに着目した心筋症関連変異の検索、Z帯構成要素異常に伴う不整脈発生機序、心筋症病態形成機序における性差の検討、ミオシン脱リン酸化酵素による筋収縮のカルシウム感受性制御機構、新規の骨格筋特異的発現遺伝子の同定研究を行った。その結果、ネブレット変異が拡張型心筋症の病因となること、LMNA変異ノックインマウスにおける心筋症病態の性差は男性ホルモンに依存すること、ミオシン脱リン酸化酵素のsmallサブユニットM21はROCKの活性化とM110のリン酸化を介して筋収縮のカルシウム感受性を制御すること、横紋筋に特異的に発現する新規Z帯タンパクHS452を同定し、その異常がLimb-Girdle型筋ジストロフィーの新規の原因となる可能性を示した。これらの知見は、横紋筋Z帯-I帯構成要素の機能的多様性の解明、骨格筋・心筋疾患の新たな病因・病態形成機構の解明、さらには病態修飾法の開発に繋がるものである。

### A. 研究目的

自己食空胞性ミオパチーは骨格筋障害を主徴とするが、患者の多くは心筋障害や心不全を合併する。骨格筋と心筋は、いずれも横紋筋に分類され、構成要素や機能性に相同性があること、骨格筋疾患患者には心筋症の合併があること、これまでに知られている遺伝性心筋症の原因遺伝子の多くが心筋と骨格筋に共に発現していることなどから、骨格筋疾患と心筋症との間には病因や病態形成機構に共通点があると考えられる。そこで本研究では、心筋症・心不全の病因にかかる遺伝子異常とそれによる機能変化について検討することで、横紋筋の機能異常がもたらす病態形成機構を解明することを目的とする。また、筋収縮のカルシウム感受性制御機序としてのミオシン脱リン酸化酵素の機能制御機構を詳細に検討する。さらに、横紋筋機能をより詳細に理解することを目的として、横紋筋に特異的に発現する新規の遺伝子を同定する。

### B. 研究方法

- 1) 原因不明の心筋症における遺伝子異常の検索と機能異常の検討：我々は以前にZ帯-I帯構成要素であるネブレットの遺伝子多型が孤発性拡張型心筋症の発症危険因子となることを報告しているが、本研究では、家族性心筋症患者集団を対象としてネブレット遺伝子変異を検索した。また、見出された変異による機能変化を検討した。
- 2) 心筋症病態発現における性差の検討：心筋症の病態発現には性差があり、一般には男性が重症である。肢帯型筋ジストロフィー患者に見出されたLMNA変異(His222Pro)をノックインしたマウス(LMNA-KI)のホモ接合体は重症心不全を発症し、早期に死亡するが、このマウスでも雄マウスの方がより早期に発症し、より重症である。そこで、このマウスの心機能と生存予後におよぼす性ホルモンの影響を検討した。
- 3) ミオシン脱リン酸化酵素によるカルシウム感受性制御機構の検討：我々は以前に、

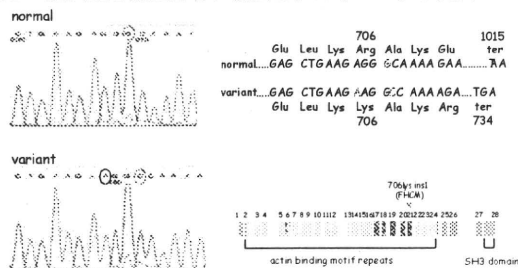
心筋収縮のカルシウム感受性制御にはミオシン脱リン酸化酵素のsmallサブユニットである M21 が関わること、M21 はlargeサブユニットである M110 と結合することを報告している。そこで本研究では、M21 によるミオシン脱リン酸化酵素の活性制御機構を生化学的に詳細に検討した。

4) 骨格筋特異的構成要素の同定：新規の Limb-Girdle 型筋ジストロフィー原因遺伝子を同定することを目的として、サブクローン法によって骨格筋特異的に発現する遺伝子 cDNA を同定し、原因不明の Limb-Girdle 型筋ジストロフィー患者集団を対象として当該遺伝子の変異を検索した。

(倫理面への配慮)

本研究には、心筋症患者およびその血縁者を対象とした遺伝子解析研究が含まれるが、それらはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従って遂行することとして、東京医科歯科大学難治疾患研究所倫理審査委員会に研究計画を提出し、その承認を受けている(「拡張型心筋症の病因と病態形成機構の究明に関わる研究(研究代表者：木村彰方)」および「肥大型心筋症の病因と病態形成機構の究明に関わる研究(研究代表者：木村彰方)」、いずれも平成 21 年 4 月 9 日付承認)。また、本研究に関連する組換え DNA 実験「難治性疾患の病因と病態形成機構の解明に関する研究(研究代表者：木村彰方、承認番号 2008-13、平成 20 年 5 月 2 日付承認)」および動物実験「循環器病・難治性疾患の発症・進展に関わる遺伝学的研究(研究代表者：木村彰方、承認番号 10040、平成 21 年 9 月 3 日付承認)」についてもそれぞれ学内委員会による承認を受けている。

図1 肥大型心筋症患者に検出されたネブレット変異



C. 研究結果

1) 原因不明の心筋症における遺伝子異常の検索と機能異常の検討：肥大型心筋症あるいは拡張型心筋症患者集団を対象として、ネブレット遺伝子変異を検索した。その結果、日本人肥大型心筋症患者 160 名中 1 名にフレームシフト変異 Lys706fr/28

(codon706 の 1 塩基挿入 AGG→AAG) (図 1)。

一方、アメリカ人拡張型心筋症患者 260 名中 4 名に Lys60Asn、Gln128Arg、Gly202Arg、Ala592Glu の 4 種の変異 (図 2) が見出された。

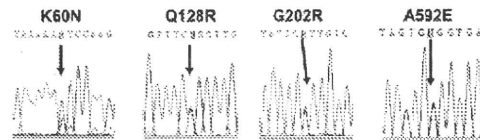


図2 拡張型心筋症患者に検出されたネブレット変異

これらの変異は、健常日本人 300 名、健常アメリカ人 300 名には検出されなかったため、病因変異の可能性が考えられた。そこで、当該患者の家系について調査したところ、図 3 に示すとおり、日本人肥大型心筋症患者家系では変異と HCM は共分離しなかった。すなわち、3 名の肥大型心筋症患者にネブレット変異がなかったことから、この家系においてはヘテロ接合性のネブレットフレームシフト変異は心筋症の原因とはならないと考えられた。

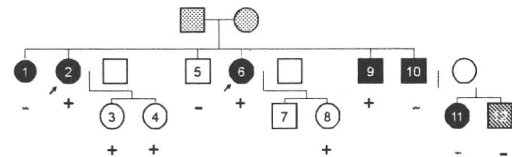


図3 肥大型心筋症家系におけるネブレット変異の遺伝

これに対して、アメリカ人拡張型心筋症患者家系の調査では、Lys60Asn 変異は健常な両親には見出されなかったため、de novo 変異と考えられた。その他の家系では疾患との共分離が確認されなかった。そこで、これらのミスセンス変異の病因としての意義を明らかにするため、Lys60Asn、Gln128Arg、Gly202Arg、Ala592Glu 変異をそれぞれ高発現するトランスジェニックマウスの作製を試みたところ、Lys60Asn、