

201027063B

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

(神経・筋疾患分野)

スプライシングを利用した筋強直性ジストロフィーの治療

平成 20～22 年度 総合研究報告書

主任研究者 石浦 章一

平成 23 (2011) 年 4 月

目 次

I. 総合研究報告	
筋強直性ジストロフィーの病態解明と RNA を介した治療.....1	
石浦 章一	
先天性筋強直性筋ジストロフィーの病理学的鑑別に関する研究.....4	
西野 一三	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表 9
III. 研究成果の刊行物・別刷14

スプライシングを利用した筋強直性ジストロフィーの治療

総括研究者 石浦章一 東京大学大学院 総合文化研究科 教授

研究要旨

筋強直性ジストロフィー1型(DM1)は、スプライシング異常を主徴とする全身性疾患で、筋強直、精巣萎縮、白内障、耐糖能異常などが特徴である。私たちはその中で本症の大きな特長である筋強直を治療するために、エクソンスキッピングの手法を用いた。遺伝子改変を利用して効率よく正常型塩素チャネルをつくらせる配列を特定し、CTGリピートを300含むトランスジェニックマウスに同モルフォリノアンチセンスオリゴを投与したところ、筋強直を防ぐ結果が得られた。

分担研究者：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

A. 研究目的

筋強直性ジストロフィー (DM) は遺伝子が伸長することによる全身性疾患で、遺伝的に DM1 と DM2 の 2 種類が報告されている。DM1 は DMPK 遺伝子の非翻訳領域の CTG リピートの伸長、DM2 は ZNF9 遺伝子のイントロン1にある CCTG リピートの伸長が原因で発症する。症状は、長く伸びた RNA の CUG3 塩基リピートまたは CCUG4 塩基リピートに MBNL1 や CUG-binding protein (CUG-BP) などの RNA 結合タンパク質がトラップされ、正常の機能であるスプライシングができなくなることによって生じるので、本症は「RNA 病」と言われている。そのため、スプライシングを正常化することが治療の第一選択となっている。

この目的のためには2つの方法がある。1つは RNA リピートに結合するスプライシング調節タンパク質の発現を加減することによって、正常化スプライシングを導くという戦略である。もう1つは、薬物添加やアンチセンスの手法を用いてスプライシング自体を変化させるものである。本研究では、後者の方法を検討した。また、分担研究者の西野の協力の下、DM 患者筋を用いた新しいスプライシング異常の検出も行った。ミオトニアに直接関係する塩素チャネル遺伝子に注目し、ミニ

遺伝子を作製してスプライシング・アッセイ系を構築し、スプライシング調節活性を持つ MBNL1 の標的配列を明らかにすることを目的とした。次に、この配列を標的としたエクソンスキッピングを行い、スプライシング機能を正常化する新規 DM 治療法の開発を目指した。

3年目には、同定した配列をもつモルフォリノオリゴヌクレオチドをモデル動物 (CTG リピートを300含むトランスジェニックマウス) に投与し、筋強直を防ぐという良好な結果を得た。

B. 研究方法 (倫理面の配慮含む)

塩素チャネルミニ遺伝子 (エクソン 6、7a、7 でできている短い遺伝子) を作製し、エクソン 7a をスキップするか、しないか、というスプライシングアッセイ系を実験に用いた。エクソン 7a がない成人 (正常) 型と、エクソン 7a を含む幼若 (異常) 型の比率は、正常筋では圧倒的に前者が多く、DM 筋では後者が増えている。そこで、私たちが同定した MBNL1 結合部位近辺の配列で作成した 2'-O-メチルアンチセンスオリゴを投与し、どの程度スプライシングを正常化させることができるかを、まず検討した。次いで、エクソン 7a の最初の塩基を 1 として、-15~10、0~25、26~50、51~75、76~+21 をコードする各アンチセンスを、塩素チャネル・ミニ遺伝子をトランスフェクトした COS-7 細胞に添加して効果を見た。次に、最も効果があった配列のモルフォリノオリ

ゴヌクレオチドを作製し、*in vivo*での効果を調べた。また、このモルフォリノを CTG300 を持つトランスジェニックマウス前脛骨筋に 3 回投与（筋注）し、最後の注射から 2 日後に筋強直を測定した。

（倫理面への配慮）

DM 患者生検筋は、患者からインフォームドコンセントを取得し、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ものを用いた。

C. 研究結果

まず、アンチセンス S オリゴを試したが、スプライシング調節機能は認められなかった。そこで、2'-O-methyl-phosphothioate に変えたところ、エクソンスキッピングが促進され、非活性型の割合が減り、活性型塩素チャネル遺伝子が多くなることが確認できた。

そこでエクソン 7a の最初の塩基を 1 として、-15~10、0~25、26~50、51~75、76~+21 をコードする各アンチセンスを、塩素チャネル・ミニ遺伝子をトランスフェクトした COS-7 細胞に添加して効果を見たところ、エクソン 7a の 0~25 に対するアンチセンスを投与したときに、7a 含有型の割合が約 50% から 10% に低下した。この抑制結果は、以前報告のあった Wheeler らのアンチセンスより高く、筋強直の治療に使えるものと考えられた。

生体内への保持能力の高いモルフォリノアンチセンスオリゴの効果は培養細胞系で確認ずみのため、このオリゴ人工的にリピートを 300 に増やした HSALR-マウスの前脛骨筋に注射し、効果を筋強直を指標に判定した。その結果、筋強直症状が大幅に改善されていることがわかった。

D. 考察

エクソン 7A のスキッピングにより成熟型の塩素チャネルが作られることが分かっており、いかにして効率良く行うかが問題となっていた。平成 20 年度の研究により、MBNL1 結合配列を標的とし

たエクソンスキッピングを行うことが重要であることが明らかになった。

次に私たちは、まずミニ遺伝子上の MBNL1 の結合部位を同定し、その付近に的を絞ってアンチセンスを設計した。その結果、Kino らが MBNL1 結合配列と同定したエクソン 7a の 0-6 という配列を含む 0-25 の部分が最も効率よくエクソンスキップを促すことが判明した。これは 2007 年前に発表された Wheeler らの配列よりも効率がよいことが証明された。

次に動物の治療実験を行い効果が明らかになった。エクソンスキッピングを実際に行うときには、効率の良い配列を選ばないと *in vivo* の治療効果が望めないことがわかった。

E. 結論

3 年間の研究により、エクソンスキッピングは、DM の効果的治療になるのではないかと結論づけられた。

CTG リピートを 300 含むトランスジェニックマウスに対して、私たちが新しく開発したアンチセンスモルフォリノオリゴ配列は劇的な治療効果をもたらした。今後は、ドラッグデリバリーの効率を高めることと、実際の QOL に必要な筋萎縮を防ぐために、筋力低下に関わる新規遺伝子を同定することが必要となると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Onishi, H., Kino, Y., Morita, T., Futai, E., Sasagawa, N. & Ishiura, S. (2008) MBNL1 associates with YB-1 in cytoplasmic stress granules. *J. Neurosci. Res.* 86, 1994-2002
- (2) Mori, D., Sasagawa, N., Kino, Y. & Ishiura, S. (2008) Quantitative analysis of CUG-BP1 binding to RNA repeats. *J. Biochem.* 143, 377-383

- (3) Dhaenens, M-C., Schraen-Maschke, S., Tran, H., Vingtdoux, V., Ghanem-Le-Dizes, D., Leroy, O., Delplanque, J., Vanbrussel, E., Delacourte, A., Vermersch, P., Maurage, C-A., Gruffat, H., Sergeant, A., Mahadevan, M., Ishiura, S., Buee, L., Cooper, T., Caillet-Boudin, M-L., Charlet-Berguerand, N., Sablonniere B. & Sergeant, N. (2008) Overexpression of MBNL1 fetal isoforms and modified splicing of tau in the DM1 brain: two individual consequences of CUG trinucleotide repeats. *Exp. Neurol.* 210, 467-478
- (4) Sasagawa, N., Ohno, E., Kino, Y., Watanabe, Y. & Ishiura, S. (2008) Identification of *Caenorhabditis elegans* K02H8.1 (CeMBL) as a functional ortholog of the mammalian MBNL proteins. *J. Neurosci. Res.* 87, 1090-1097
- (5) Toriumi, K., Oma, Y., Kino, Y., Futai, E., Sasagawa, N. & Ishiura, S. (2008) Expression of polyalanine stretches induces mitochondrial dysfunction. *J. Neurosci. Res.* 86, 1529-1537
- (6) Kino, Y., Washizu, C., Oma, Y., Onishi, H., Nezu, Y., Sasagawa, N., Nukina, N. & Ishiura, S. (2009) MBNL and CELF proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel *CLCN1*. *Nucleic Acid Res.* 37, 6477-6490
- (7) Toriumi, K., Oma, Y., Mimoto, A., Futai, E., Sasagawa, N., Turk, B. & Ishiura, S. (2009) Polyalanine tracts directly induce the release of cytochrome *c*, independently of the mitochondrial permeability transition pore, leading to apoptosis. *Genes to Cells* 14, 751-757
- (8) Nojima, J., Oma, Y., Futai, E., Sasagawa, N., Kuroda, R., Turk, B. & Ishiura, S. (2009) Biochemical analysis of oligomerization of expanded polyalanine repeat proteins. *J. Neurosci. Res.* 87, 2290-2296
- (9) 笹川昇、石浦章一(2009) 筋強直性ジストロフィー。小児内科 41, 909-913
- (10) 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
- (11) 石浦章一(2011) 筋強直性ジストロフィーの成因。生体の科学 印刷中
- (12) Ishiura, S., Kino, Y., Oma, Y., Sasagawa, N. & Nukina, N. (2011) MBNL proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel *CLCN1*. *In* Discovery of serum creatine kinase as a diagnostic marker of muscular dystrophy. 印刷中

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

先天性筋強直性筋ジストロフィーの病理学的鑑別に関する研究

研究分担者 西野 一三 （独）国立精神・神経医療研究センター神経研究所部長

筋強直性ジストロフィーは、筋病理学的に多彩な所見を呈することが知られている。特に、先天性筋強直性筋ジストロフィーでは、乳児重症型ミオチューブラーミオパチーおよび先天性筋線維タイプ不均等症との鑑別が困難であることが知られている。そこで先天性筋強直性筋ジストロフィーと乳児重症型ミオチューブラーミオパチーの病理学的鑑別点を明らかにするべく、3歳以下の先天性筋強直性筋ジストロフィー22例とミオチューブラーミオパチー32例について病理学的比較を行った。先天性筋強直性筋ジストロフィーの47.6%に peripheral halo を認め、その頻度は $16.0 \pm 25.5\%$ であったが、ミオチューブラーミオパチーでは全例に peripheral halo を認め、頻度は $70.5 \pm 24.1\%$ であった。Ring fiber は先天性筋強直性筋ジストロフィーで27.3%に認めたが、ミオチューブラーミオパチーで認めた例は1例もなかった。先天性筋強直性筋ジストロフィーでのタイプ2C線維の頻度は、 $33.5 \pm 33.0\%$ に対して、ミオチューブラーミオパチーでは $2.8 \pm 2.8\%$ であった。タイプ1線維優位と強萎縮タイプ2線維は先天性筋強直性筋ジストロフィーでは認めなかったが、ミオチューブラーミオパチーではそれぞれ87.5%、81.0%に認めた。以上の結果から、病理学的にも先天性筋強直性筋ジストロフィーとミオチューブラーミオパチーを鑑別できる可能性がある。一方、先天性筋線維タイプ不均等症（CFTD）については、1歳以下で筋生検を受け、CFTDと病理学的に診断された28例を対象に *DMPK* 遺伝子のCTG反復配列延長の有無を検討したところ、4例（14%）がCDM（CFTD_CDM）であった。CFTD_CDMの病理学的特徴を明らかにするために、臨床遺伝学的に診断された先天性筋強直性筋ジストロフィー20例、*ACTA1*変異を伴うCFTD（CFTD_*ACTA1*）4例、*TPM3*変異を伴うCFTD（CFTD_*TPM3*）2例を対象に研究を行った。筋線維タイプ不均等度（%FSD）は、CFTD_CDMと比較しCFTD_*ACTA1*、CFTD_*TPM3*において優位に高かった。1歳以下のCFTD患者において、%FSDが40%以下の場合、先天性筋強直性筋ジストロフィーの可能性を検討する必要がある。

A. 研究目的

先天性筋強直性筋ジストロフィーは、病理学的に乳児重症型のミオチューブラーミオパチーや先天性筋線維タイプ不均等症（CFTD）との鑑別が困難であるとされている。そこで、遺伝学的に *MTM1* 変異を確認した乳児重症型ミオチューブラーミオパチー例と同様に遺伝学的に診断を確定した先天

性筋強直性筋ジストロフィー例の筋生検組織を比較検討し、病理学的な鑑別が可能かどうかを詳細に検討した。さらに、CFTDと診断された例の中にCDM例がないかを検討するとともに、遺伝学的にCDMと確認された例（CFTD_CDM）の病理学的特徴を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象は、2010年までに国立精神・神経医療研究センター生検筋レポジトリに登録された凍結筋検体の内、3歳以下の例で、*DMPK* 遺伝子内の CTG リピート及び *ZNF9* 遺伝子内の CCTG リピート伸張を確認した先天性筋強直性ジストロフィー例 17 例および、同様に 3 歳以下で *MTM1* 遺伝子変異を確認したミオチューブラーミオパチー例 32 例。全検体に対して、3 列からなる連続切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン、ゴモリ・トリクローム変法、NADH-TR、ミオシン ATPase を含む各種組織化学染色を行い、病理学的変化を比較検討した。またミオチューブラーミオパチーの 1 例で電子顕微鏡的検索を行った。一方、CFTD については、CFTD と病理診断された 104 例（男 47 例、女 57 例、年齢 9.3 ± 14.7 歳）を対象とした。DNA を抽出し、triplet repeat PCR 法により *DMPK* 遺伝子内の CTG リピート伸張の有無を確認した。また、CTG リピート伸張のなかった例を対象に *TPM3* 遺伝子のシーケンス解析を行った。先天性筋強直性ジストロフィーと確認された 13 例（CFTD_CDM）を対象に、*TPM3* 変異による CFTD（CFTD_TPM3）例（自験例 2 例＋文献例 8 例）の組織所見と比較検討した。

（倫理面配慮）

全ての検体について、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「「診断」と「保存/研究使用」に関する同意書」を用い、患者からのインフォームド・コンセントを取得している。

C. 研究結果

先天性筋強直性ジストロフィー例では、47.6%の例に peripheral halo を認めた。頻度は、 $16.0 \pm 25.5\%$ であった。Peripheral halo を認めた例は全例生後 12 ヶ月以下であった。中心核線維の頻度は、平均 $4.6 \pm 6.1\%$ であった。Ring fiber は 27.3% に認めた。タイプ 2C 線維の頻度は、 $33.5 \pm 33\%$ であった。タイプ 2C 線維は、新生児とくに生後 1

ヶ月以内の例に多く認められ、大半の例で筋線維全体の 50%以上がタイプ 2C 線維であった。一方、生後 1 年を過ぎると全例 20%以下となった。タイプ 1 線維優位を認めた例はなかった。また一部のタイプ 2 線維が強萎縮を示す所見はなかった。一方、ミオチューブラーミオパチー例では、年齢と関係なく全例に peripheral halo を認め、その頻度は $70.5 \pm 24.1\%$ であった。中心核線維の頻度は、平均 $15.4 \pm 14.4\%$ であった。Ring fiber を認めた例はなかった。タイプ 2C 線維の頻度は、0-11%（平均 $2.8 \pm 2.8\%$ ）であった。その頻度に年齢的な変化は認められなかった。87.5%の例にタイプ 1 線維優位が認められた。また一部のタイプ 2 線維が強萎縮を示す所見が 81%の例に認められた。電子顕微鏡的検索を行った 1 例では、中心核は認めるものの、個々の筋原線維は正常に構成されており、筋原線維自体に幼若性は認めなかった。

一方、CFTD については、CTG リピート伸張は 13 例（12.5%）に認められた。この 13 例における筋線維タイプ不均等度（%FSD）は、17-42%（平均 $29.4 \pm 7.4\%$ ）であった。一方、CFTD_TPM3 では、45-76%（平均 $59.7 \pm 9.9\%$ ）であり、CFTD_CDM で優位に低かった。タイプ 1 線維の頻度は $55.0 \pm 4.7\%$ であったが、CFTD_TPM3 では $76.4 \pm 13.0\%$ であり、CFTD_TPM3 でよりタイプ 1 線維優位が明らかであった。タイプ 2C 線維の頻度は $11.4 \pm 11.9\%$ に対して、CFTD_TPM3 では $0.8 \pm 1.0\%$ と、CFTD_CDM で優位に高かった。

D. 考察

ミオチューブラーミオパチーでは、タイプ 2C 線維の頻度が多くても 10%程度であるのに対して、先天性筋強直性ジストロフィーでは、 $33.5 \pm 33\%$ であった。特に、peripheral halo を示す 12 ヶ月以下の例では、大半が 50%を越えていた。従って、peripheral halo を呈する例では、タイプ 2C 線維の頻度を見ることにより、ミオチューブラーミオパチーと先天性筋強直性ジストロフィーを病理学的に鑑別することが出来る可能性を示している。

さらに、先天性筋強直性ジストロフィーにおいて、タイプ 2C 線維が多数認められることは、peripheral halo を伴うような病理学的変化が恐らく筋線維の未熟性を反映している可能性を示している。一方、ミオチューブラーミオパチーでは、タイプ 2C 線維が少なく、peripheral halo を伴う筋原線維の配列の変化が幼弱ではなく、myotubularin の機能喪失による細胞内膜輸送の異常を反映したものであることを強く示唆している。電子顕微鏡的検索で、筋原線維の未熟性が認められなかった事実も、この考え方を支持している。従って、一見同様に見える病理学的変化ではあるが、恐らく全く異なった病態を背景としている可能性が高い。

一方、CFTD は%FSD が 12%以上であり、他に構造的異常が認められない筋疾患と定義されている。Clarke NF ら (Ann Neurol 2008) によれば、CFTD では *TPM3* 変異を原因とする例 (CFTD-TPM3) が最も頻度が高い。今回の結果から、病理学的に CFTD と診断される例のうち 10%以上が CFTD-CDM であることが明らかとなった。CFTD-CDM は、CFTD-TPM3 と比較して明らかに%FSD が低く、CFTD の定義をより高い%FSD に設定することで、CFTD-CDM を除外することが技術的に可能であろうと考えられる。また、タイプ 2C 線維が高頻度で認められたことは、先天性筋強直性ジストロフィーが筋線維の何らかの未熟性を病態とすることを示唆するものと考えられた。診断的には、%FSD が 50%以下であり、タイプ 2C 線維の多い例では、先天性筋強直性ジストロフィーの可能性を検討する必要があることが示唆された。

E. 結論

先天性筋強直性ジストロフィーでは peripheral halo を認めて、乳児重症型ミオチューブラーミオパチーと一見病理学的に酷似する場合があるが、タイプ 2C 線維が高頻度に認められる点、ring fiber を認めることが多い点、ミオチューブラーミオパチーとの鑑別が可能であると考えられる。さらに、

ミオチューブラーミオパチーにおいては、強萎縮したタイプ 2 線維認められることがある点も鑑別に有用であると考えられる。また、%FSD が 50%以下であり、タイプ 2C 線維の多い CFTD 例においては、先天性筋強直性ジストロフィーの可能性を検討する必要がある。何れの検討においても、先天性筋強直性ジストロフィーではタイプ 2C 線維が多く認められる傾向があり、筋線維の未熟性が基本的な病態であることが示唆される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ohkuma A, Nonaka I, Malicdan MCV, Noguchi S, Nomura K, Sugie H, Hayashi YK, Nishino I: Distal lipid storage myopathy due to PNPLA2 mutation. *Neuromuscul Disord* 18: 671-674, 2008
2. Shalaby S, Hayashi YK, Goto K, Ogawa M, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I: Rigid spine syndrome caused by a novel mutation in four-and-a-half LIM domain 1 gene (FHL1). *Neuromuscul Disord*. 18: 959-961, 2008
3. Shalaby S, Hayashi YK, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I: Novel FHL1 mutations in fatal and benign reducing body myopathy. *Neurology*. 72: 375-376, 2009
4. Ohkuma A, Noguchi S, Sugie H, Malicdan MCV, Fukuda T, Shimazu K, López LC, Hirano M, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Clinical and genetic analysis of lipid storage myopathies. *Muscle Nerve*. 39: 333-342, 2009

5. Murakami T, Hayashi YK, Ogawa M, Noguchi S, Campbell KP, Togawa M, Inoue T, Oka A, Ohno K, Nonaka I, Nishino I: A novel POMT2 mutation causes mild congenital muscular dystrophy with normal brain MRI. *Brain Dev.* 31: 465-468, 2009
 6. Shalaby S, Mitsuhashi H, Matsuda C, Minami N, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I, Hayashi YK: Defective Myotilin Homodimerization Caused by a Novel Mutation in MYOT Exon 9 in the First Japanese Limb Girdle Muscular Dystrophy 1A Patient. *J Neuropathol Exp Neurol.* 68: 701-707, 2009
 7. Park YE, Hayashi YK, Bonne G, Arimura T, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Autophagic degradation of nuclear components in mammalian cells. *Autophagy.* 5: 795-804, 2009
 8. Hayashi YK, Matsuda C, Ogawa M, Goto K, Tominaga K, Mitsuhashi S, Park YE, Nonaka I, Hino-Fukuyo N, Haginoya K, Sugano H, Nishino I: Human PTRF mutations cause secondary deficiency of caveolins resulting in muscular dystrophy with generalized lipodystrophy. *J Clin Invest.* 119: 2623-2633, 2009
 9. Iwabu M, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Sato K, Nakagawa T, Funata M, Yamaguchi M, Namiki S, Nakayama R, Tabata M, Ogata H, Kubota N, Takamoto I, Hayashi YK, Yamauchi N, Waki H, Fukayama M, Nishino I, Tokuyama K, Oike Y, Ishii S, Hirose K, Shimizu T, Touhara K, Kadowaki T: Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1 α and mitochondria by Ca²⁺ and AMPK/SIRT1. *Nature* 464: 1313-1319, Apr, 2010
 10. Tominaga K, Hayashi YK, Goto K, Minami N, Noguchi S, Nonaka I, Miki T, Nishino I: Congenital myotonic dystrophy can show congenital fiber type disproportion pathology. *Acta Neuropathol* 119: 481-486, Apr, 2010
 11. Mitsuhashi H, Hayashi YK, Matsuda C, Noguchi S, Nishino I: Specific phosphorylation on Ser 458 of A-type lamins in LMNA-associated myopathy patients. *J Cell Sci* 123: 3893-3900, Nov, 2010
 12. Liang WC, Mitsuhashi H, Keduka E, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I, Hayashi YK: TMEM43 Mutations in Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy-Related Myopathy. *Ann Neurol* in press
2. 学会発表
1. Nishino I, Okada M, Hayashi YK, Noguchi S, Nonaka I: Marinesco-Sjogren syndrome due to SIL1 mutations is characterized by rimmed vacuolar myopathy with outer nuclear membrane abnormality. 60th Annual Meeting of American Academy of Neurology, Chicago, 4.17, 2008
 2. Nishino I: RYR1-related core and non-core myopathies. Myology 2008, Marseille, 5.29, 2008
 3. Nishino I: Ullrich congenital muscular dystrophy due to sarcolemma specific collagen VI deficiency. International Workshop for Congenital Muscular

- Dystrophy, Iowa City, 7.17, 2008
4. Tominaga K, Hayashi YK, Goto K, Minami N, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Congenital myotonic dystrophy in patients diagnosed as congenital fiber type disproportion. 14th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Geneva, Switzerland, 9.11, 2009
 5. 冨永佳代, 林由起子, 後藤加奈子, 南 成祐, 野口 悟, 埜中征哉, 西野一三: 先天性金線維タイプ不均等症(CFTD)様先天性筋強直性ジストロフィー(CDM). 第50回日本神経学会総会, 仙台, 5.20, 2009
 6. 清野智恵子, 南 成祐, 野口 悟, 林由起子, 埜中征哉, 西野一三: 先天性筋強直性筋ジストロフィーとX連鎖性ミオチューブラーミオパチーの筋病理学的鑑別. 第50回日本神経学会総会, 仙台, 5.21, 2009
 7. Nishino I: Recent advance in congenital muscular dystrophy. The 6th Congress of Asian Society for Pediatric Research & 51st Annual Meeting of Taiwan Pediatric Association, Taipei, Taiwan, 4.17, 2010.
 8. Nishino I: State of the art in muscle lipid diseases. World Federation of Neurology, XII International Congress on Neuromuscular Diseases, Naples, Italy, 7.19, 2010.
 9. Nishino I: RYR1 gene mutation in congenital myopathies. NCNP International Symposium CONGENITAL MYOPATHIES: PATHOGENESIS AND MANAGEMENT, Kodaira, Japan, 10.23, 2010.
 10. Tominaga K, Tsuburaya R, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Congenital myopathy with extreme muscle immaturity. NCNP International Symposium CONGENITAL MYOPATHIES: PATHOGENESIS AND MANAGEMENT, Kodaira, Japan, 10.23, 2010.
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得
特になし
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
笹川昇、石浦章一	筋強直性ジストロフィー		小児内科	東京医学社	日本	2009	41, 909-913
石浦章一	筋強直性ジストロフィーの成因	武田伸一	生体の科学	金原一郎 記念医学 医療財団	日本	2011	印刷中
Ishiura, S., Kino, Y., Oma, Y., Sasagawa, N. & Nukina, N.	MBNL proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel <i>Cl_v</i> <i>LCN1</i> .	Takeda, S.	Discovery of serum creatine kinase as a diagnostic marker of muscular dystrophy.	シュプリ ンガー	日本	2011	印刷中

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mori, D., Sasagawa, N., Kino, Y. & Ishiura, S.	Quantitative analysis of CUG-BP1 binding to RNA repeats.	J.Biochem.	143	377-383	2008
Dhaenens, M-C., Schraen-Maschke, S., Tran, H., Vingtdoux, V., Ghanem-Le-Dizes, D., Leroy, O., Delplanque, J., Vanbrussel, E., Delacourte, A., Vermersch, P., Maurage, C-A., Gruffat, H., Sergeant, A., Mahadevan, M., Ishiura, S., Buee, L., Cooper, T., Caillet-Boudin, M-L., Charlet-Berguerand, N., Sablonniere B. & Sergeant, N.	Overexpression of MBNL1 fetal isoforms and modified splicing of tau in the DM1 brain: two individual consequences of CUG trinucleotide repeats.	Exp.Neurol.	210	467-478	2008

Onishi, H., Kino, Y., Morita, T., Futai, E., Sasagawa, N. & Ishiura, S,	MBNL1 associates with YB-1 in cytoplasmic stress granules.	J.Neurosci. Res.	86	1994-2002	2009
Sasagawa, N., Ohno, E., Kino, Y., Watanabe, Y. & Ishiura, S.	Identification of <i>Caenorhabditis elegans</i> K02H8.1 (CeMBL) as a functional ortholog of the mammalian MBNL proteins.	J.Neurosci. Res.	87	1090-1097	2009
石浦章一	筋強直性ジストロフィーの原因と治療戦略	こころの健康科学研究	10月号	8-9	2008
大西隼、石浦章一	筋強直性ジストロフィー発症に関わる RNA 結合タンパク質ファミリーの新しい機能	実験医学	26	1596-1601	2008
石浦章一	筋強直性ジストロフィー	Clinical Neuroscience	26	178-180	2009
石浦章一	筋強直性ジストロフィーの治療戦略	医学のあゆみ	226	447-451	2009
Kino, Y., Washizu, C., Oma, Y., Onishi, H., Nezu, Y., Sasagawa, N., Nukina, N. & Ishiura, S.	MBNL and CELF proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1.	Nucleic Acid Res.	37	6477-6490	2009

Toriumi, K., Oma, Y., Mimoto, A., Futai, E., Sasagawa, N., Turk, B. & <u>Ishiura, S.</u>	Polyalanine tracts directly induce the release of cytochrome <i>c</i> , independently of the mitochondrial permeability transition pore, leading to apoptosis.	Genes to Cells	14	751-757	2009
Nojima, J., Oma, Y., Futai, E., Sasagawa, N., Kuroda, R., Turk, B. & <u>Ishiura, S.</u>	Biochemical analysis of oligomerization of expanded polyalanine repeat proteins.	J.Neurosci. Res.	87	2290-2296	2009
Goto, A., Wang, Y-L., Kabuta, T., Setsuie, R., Osaka, H., Sawa, A., <u>Ishiura, S.</u> & Wada, K.	Proteomic and histochemical analysis of proteins involved in the dying-back-type of axonal degeneration in the gracile axonal dystrophy (<i>gax</i>) mouse.	Neurochem. Int.	54	330-338	2009
Sasabe, T., Futai, E. & <u>Ishiura, S.</u>	Polypyrimidine tract-binding protein 1 regulates the alternative splicing of dopamine receptor D2.	J.Neurochem.	116	76-81	2011
Kanno, K. & <u>Ishiura S.</u>	Differential effects of the HESR/HEY transcription factor family on dopamine transporter (<i>DAT1</i>) reporter gene expression via variable number of tandem repeats.	J.Neurosci. Res.	89	562-575	2011

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohkuma A, Nonaka I, Malicdan MCV, Noguchi S, Nomura K, Sugie H, Hayashi YK, Nishino I	Distal lipid storage myopathy due to PNPLA2 mutation.	Neuromuscul Disord	18	671-674	2008
Shalaby S, Hayashi YK, Goto K, Ogawa M, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I	Rigid spine syndrome caused by a novel mutation in four-and-a-half LIM domain 1 gene (FHL1).	Neuromuscul Disord	18	959-961	2008
Shalaby S, Hayashi YK, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I	Novel FHL1 mutations in fatal and benign reducing body myopathy.	Neurology.	72	375-376	2009
Ohkuma A, Noguchi S, Sugie H, Malicdan MCV, Fukuda T, Shimazu K, López LC, Hirano M, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I	Clinical and genetic analysis of lipid storage myopathies.	Muscle Nerve.	39	333-342	2009
Murakami T, Hayashi YK, Ogawa M, Noguchi S, Campbell KP, Togawa M, Inoue T, Oka A, Ohno K, Nonaka I, Nishino I	A novel POMT2 mutation causes mild congenital muscular dystrophy with normal brain MRI.	Brain Dev.	31	465-468	2009
Shalaby S, Mitsuhashi H, Matsuda C, Minami N, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I, Hayashi YK	Defective Myotilin Homodimerization Caused by a Novel Mutation in MYOT Exon 9 in the First Japanese Limb Girdle Muscular Dystrophy 1A Patient.	J Neuropathol Exp Neurol.	68	701-707	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Park YE, Hayashi YK, Bonne G, Arimura T, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I	Autophagic degradation of nuclear components in mammalian cells.	Autophagy.	5	795-804	2009
Hayashi YK, Matsuda C, Ogawa M, Goto K, Tominaga K, Mitsuhashi S, Park YE, Nonaka I, Hino-Fukuyo N, Haginoya K, Sugano H, Nishino I	Human PTRF mutations cause secondary deficiency of caveolins resulting in muscular dystrophy with generalized lipodystrophy.	J Clin Invest.	119	2623-2633	2009
Iwabu M, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Sato K, Nakagawa T, Funata M, Yamaguchi M, Namiki S, Nakayama R, Tabata M, Ogata H, Kubota N, Takamoto I, Hayashi YK, Yamauchi N, Waki H, Fukayama M, Nishino I, Tokuyama K, Oike Y, Ishii S, Hirose K, Shimizu T, Touhara K, Kadowaki T	Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1alpha and mitochondria by Ca ²⁺ and AMPK/SIRT1.	Nature.	464	1313-1319	2010
Tominaga K, Hayashi YK, Goto K, Minami N, Noguchi S, Nonaka I, Miki T, Nishino I	Congenital myotonic dystrophy can show congenital fiber type disproportion pathology.	Acta Neuropathol.	119	481-486	2010
Mitsuhashi H, Hayashi YK, Matsuda C, Noguchi S, Nishino I	Specific phosphorylation on Ser 458 of A-type lamins in LMNA-associated myopathy patients.	J Cell Sci.	123	3893-3900	2010
Liang WC, Mitsuhashi H, Keduka E, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I, Hayashi YK	TMEM43 Mutations in Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy-Related Myopathy.	Ann Neurol in press.			2010

IV.研究成果の刊行物・別刷

筋強直性ジストロフィー

Myotonic dystrophy

笹川 昇*

SASAGAWA Noboru

石浦章一**

ISHIURA Shoichi

① 基本病因, 発症機序

筋強直性ジストロフィー (dystrophia myotonica: DM) は, 常染色体優性の形式で発症する遺伝病である¹⁾。多くの場合, DM は成人してから発症するが, それ以外に出産直後から DM の症状を示す場合 (先天性筋強直性ジストロフィー) や, 子どものときに発症する場合などがある。出現頻度は 8,000 人に 1 人といわれている。これは成人発症型の筋ジストロフィーのなかではもっとも高い出現頻度であり, 若年性の筋ジストロフィーのなかで

は Duchenne 型について 2 番目に多い。

1992 年に責任遺伝子およびその遺伝子変異が同定された。この遺伝子は第 19 番染色体長腕 13.3 の部位に位置しており, 新規の蛋白質リン酸化酵素 (DM protein kinase: DMPK) をコードしていた。しかし驚くべきことに, その変異は蛋白質の翻訳領域ではなく, 3' 側非翻訳領域に CTG 三塩基リピートがあり, 正常対照では繰り返し数が多くても 37 回, たいていは 5 回なのに対し, 患者では最低でも 50 回以上, 多いものでは数千回にまで達していることが判明したのである²⁾ (図 1a)。ま

a DM1型 (第19番染色体)

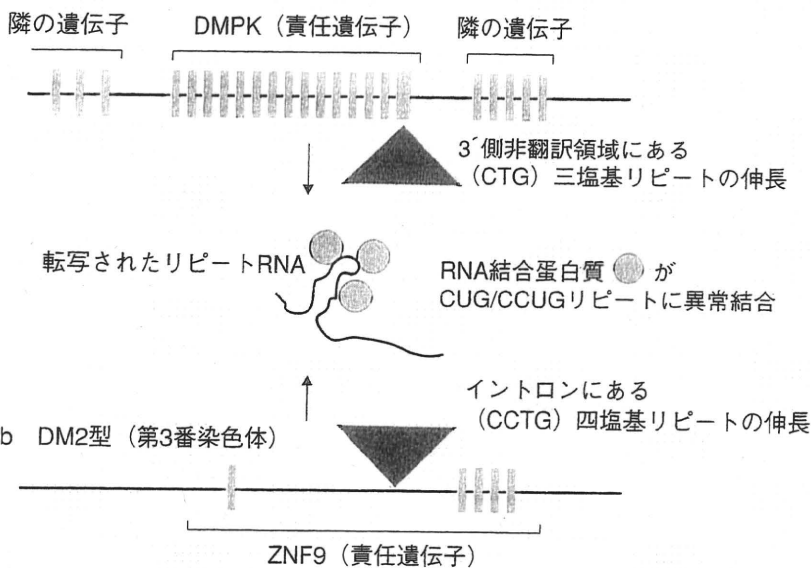


図1 筋強直性ジストロフィー(DM)の分子機構

筋強直性ジストロフィー(DM)は, 常染色体優性の形式で発症する遺伝病である。現在までに, DM1型, DM2型の遺伝子座が同定されている。

a: DM1型の責任遺伝子は第19番染色体に位置する。遺伝子変異は3'側非翻訳領域にあるCTG三塩基リピートの伸長である。

b: DM2型の責任遺伝子は第3番染色体に位置する。遺伝子変異はイントロンにあるCCTG四塩基リピートの伸長である。DM1型, DM2型ともに, 責任遺伝子の翻訳産物に変異を伴わないことに注意する必要がある。

* 東京大学大学院総合文化研究科生命科学構造化センター ** 同 生命環境科学系

[〒153-8902 東京都目黒区駒場3-8-1] TEL/FAX 03-5454-6739

E-mail: cishiura@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

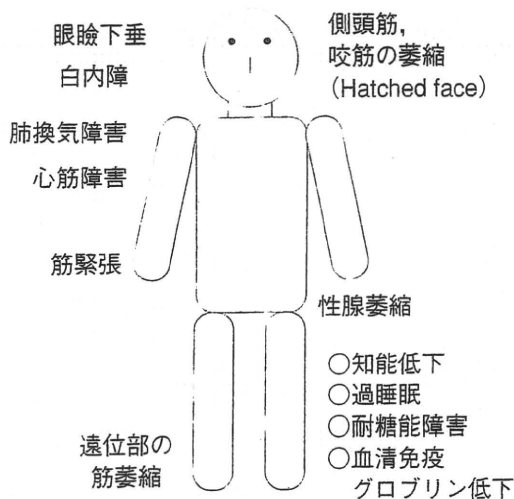


図2 DMでみられる全身的な症状
DMは筋ジストロフィーという名で想像される以上に、きわめて多くの症状を併発する。DMでみられる全身的な症状をここに示した。

た、CTG三塩基リピートの数(長さ)と症状の重篤度には正の相関があり、リピート数が長いほど症状が重いことが示されている。さらに、DMでは

親よりも子、子よりも孫の症状が重く、発症時期も早まる現象(表現促進現象)がみられることがあるが、それはCTG三塩基リピートが不安定であり、世代間で配偶子を形成する際に伸長していくことで説明されている。先に述べた先天性DMなども、CTG三塩基リピートが世代間で大幅に伸長した結果であると説明される。

現在では、DMはスプライシング異常病と考えられている。後述するように、DMは筋肉のみならず全身に多くの症状を併発するが、その分子的な原因は責任遺伝子(DMPK)の翻訳産物の機能異常ではなく、CTG三塩基リピートが転写されてできるCUGリピートが細胞内のRNA結合蛋白質と異常に結合し、RNA結合蛋白質の本来の正常な機能を阻害することにあることが示唆されている。その結果、本来RNA結合蛋白質を必要としているほかのさまざまな遺伝子転写産物の成熟異常、つまりスプライシング異常が起こり、本来必要とされていないスプライシングアイソフォームが発現

Eye problems include cataracts which cause blurring and dimming of vision. This may be the only problem caused by myotonic dystrophy, particularly in the first affected generation of a family. Droopy eyelids can cause a problem with reading and watching television. You should have regular checks at the optician and see a medical eye specialist if there is any concern.

Anaesthetics and surgery. Myotonic dystrophy can cause problems with your recovery after an operation when certain anaesthetic drugs are used. Make sure the surgeon and anaesthetist know about your myotonic dystrophy before an operation. They may wish to contact a specialist centre for advice. Carry this document or an Alert Card in your wallet or purse at all times, in case of an accident or emergency. Anaesthetic guidelines are at: www.gla.ac.uk/muscle/anaesthesia.htm

Other problems include: Diabetes, (ask to have your blood or urine sugar checked); male infertility; the muscle in the womb can be involved and lead to long difficult labour (possibly with bleeding afterwards), and obstetric help may be required; the brain can be affected causing thinking and learning difficulty, especially when onset is in childhood.

Special difficulties in affected children: Muscle involvement in affected babies may have only a short time. However, if an affected baby survives infancy, parents and doctors are often surprised by the good progress the child subsequently makes but speech, educational and behaviour problems are common.

Inheritance: Other family members are frequently affected. It can affect and be passed on by both sexes, but affected mothers are more at risk of having a seriously affected baby than affected fathers. Genetic counselling is advised if genetic testing is being considered. Accurate genetic tests are possible for healthy people who are at risk of developing myotonic dystrophy because they have an affected relative and in early pregnancy where one parent is affected.

Note: it is very unlikely one person would develop all these problems.

Myotonic Dystrophy and how it could affect your health.

Personality changes are often the main problem reported by families and can include lack of motivation, inertia, stubbornness and being a set routine. This can lead to relationship problems with family, friends and at school or work.

Tiredness is very common and sometimes can be extreme. Sleeping during the day increases with age and sleep at night is often poor.

Muscle weakness is very variable and can range from mild to severe. It particularly involves the face of facial expression. Handwriting may start well but become a strain after a few lines.

Myotonia is a difficulty in relaxing a muscle after it has been contracted, e.g. after gripping something, it might be difficult to let go.

Heart problems can cause abnormal rhythm of the heart might require treatment. This can affect adults, even those without symptoms. Regular ECGs (heart tracings) of affected adults are advised to detect problems at an early stage.

Chest and breathing problems include chest infections. These may result from weakness of breathing muscles, including the diaphragm, or from food entering lungs as a result of choking.

Digestive problems are common as the muscle throughout the digestive system may be affected. This may lead to: swallowing problems (which can also be a cause of food entering the lungs); pain in the bowels with constipation and diarrhea; soiling of underwear particularly when stressed or excited and occasionally enlargement of the large bowel. Gallstones, which can cause painful gasms after eating fatty food, can be a problem in myotonic dystrophy (even in young adults) and great care needs to be taken with any surgical treatment. Many patients have reported that medicines containing codeine cause severe constipation.

Version 10.02 : 06/06/02

Card enquiries and suggestions to: d.e.wilcox@climmed.gla.ac.uk

Phone: Information, regional and updated versions of www.gla.ac.uk/muscle/dm.htm

Address: Scottish Muscle Network
Email: info@muscular-dystrophy.org
Web: www.muscular-dystrophy.org

Name: Emergency Contact
Tel: 0207 720 8055
Muscular Dystrophy Campaign: a charity funding medical research and support, including Family Care Officers, for people with neuromuscular conditions.
Email: mdsg@iasco.net

Phone: Tel: 0115 987 0080
Myotonic Dystrophy Support Group: a self help group, willing to provide support to families affected by Myotonic Dystrophy.

Address: Regional Muscle Clinic:
DOB: Address/contact details.

Name: Further Information

MEDICAL ALERT

MYOTONIC DYSTROPHY

The bearer of this card has MYOTONIC DYSTROPHY, a neuromuscular condition that may cause the following:

- A. muscle weakness and stiffness.
- B. extreme tiredness.
- C. speech difficulties.
- D. Adverse reaction to commonly used anaesthetic agents.
- E. Abnormal heart rhythm.



CARE CARD

図3 欧米で筋強直性ジストロフィーの支援団体が発行している患者カード

このカードは、折りたたむと携帯に便利なようにつくられている。文字の一部が反転しているのはそのためであるが、本稿ではそのまま掲載した。

してしまうことが、この病気の症状につながっているという見方が確立されている。

さらに、近位性筋強直性ミオパチー (proximal myotonic myopathy : PROMM) とよばれていた DM2 型の遺伝子座も同定されており、この場合は第 3 番染色体にある ZNF9 とよばれる転写因子をコードする遺伝子の変異によって起こる。この場合も驚くべきことに、遺伝子変異は蛋白質の翻訳領域でなく、イントロン部分にある CCTG 四塩基リピートの伸長が発症の原因であることが報告されている³⁾(図 1b)。なお、CTG 三塩基リピートの伸長が原因で発症する本来の DM を DM1 型とよぶが、DM2 型の出現頻度は 1 型に比べて圧倒的に少なく、わが国では 1 例が報告されたのみである。

2 基本病態

ここに、DM でみられる基本的な病態を示した(図 2)。DM の症状は筋肉だけに現れるだけでなく、全身的な症状を併発することを特徴とする。また図 3 は、欧米で患者が保持することを勧められているカードである。周囲の理解や、応急処置の際に役立つようにとの配慮がされている。基本的な症状についても記載されているので、参考にされたい。

3 病態生理からみた臨床症候

一番の特徴に筋強直(ミオトニア)があり、握手のあとに手が開きにくい、などの症状がみられる。

筋力低下はとくに腕、顔、首で多くみられる。顔面の筋力が低下した結果、眼瞼下垂、無表情、下顎が下がるなどの特徴的な顔貌を呈する。

筋力低下は主に遠位性のものである。胸鎖乳突筋が衰えた結果、頭をもち上げるのが困難になる。そのほか、腕や手の筋力が低下することにより、ものをもち上げたり、細かい仕事が難しくなる。

また、進行性の筋萎縮がみられる。年を経るごとに萎縮は進んでいくが、急激な変化をするわけではない。

そのほか、不整脈、呼吸障害、嚥下障害、胃腸障害、白内障、日中過眠、ホルモン障害、糖尿病などの全身的な症状を併発する。ただし、一人の患者がこれらすべての症状を呈することはまれで

あり、患者個人によって程度の差が非常に大きいことが知られている^{4,5)}。

4 病態生理からみた診断のための臨床検査

DM は常染色体優性の形式で起こる遺伝病であるため、遺伝子診断を行うのが確実である。国内にも検査業者は存在する。血液から DNA を回収し、サザン解析を行うのが現実的である。マーカーと交差する DNA 断片の長さを解析することにより、CTG リピートの長さを同定できる。PCR 反応は、より少量の DNA で検査できることが利点だが、CTG リピートは GC 含量に富むため、DM においては、通常の PCR 反応では DNA が増幅しにくく、増幅してもスメアとなって検出が難しい場合がある。

問題は、明らかな DM 症状が認められない場合の診断である。病院でほかの症状を訴える患者を検査したところ、実は DM だった、という例もある。具体的には、以下の症状が認められるとき、DM の可能性も疑われる (<http://www.myotonic.com/go/mdf/disease-information/about-the-disease/diagnosis/complaints-and-specialists/>を和訳、改変)。

- ・かかりつけの医師：疲労、熟睡できない、過度の日中の眠気、感情の低下
- ・小児科：いわゆる、ぐにゃぐにゃしている幼児や、学習や行動に問題を抱えている場合
- ・眼科：白内障、眼筋の筋力低下、眼瞼下垂
- ・循環器科：不整脈、心筋障害
- ・呼吸器科：慢性の呼吸異常、睡眠時無呼吸、慢性的な胸の風邪、嚥下障害による誤嚥性肺炎
- ・内分泌科：インスリン抵抗性、甲状腺障害、低テストステロン
- ・皮膚科：毛質性上皮腫
- ・胃腸科：慢性的な下痢、便秘、原因不明の胃痛、胆石、嚥下障害
- ・産婦人科：子宮外妊娠、不妊、流産、死産
- ・精神科：うつ、意欲低下、社会的な問題行動、注意欠陥
- ・神経科：苦痛を伴う神経や筋肉の脱力や硬直、慢性的な筋肉痛、認知発達の遅れ、決断力低下
- ・麻酔科：全身麻酔の前後で呼吸不全
- ・整形外科：足の形成不全、背骨の彎曲

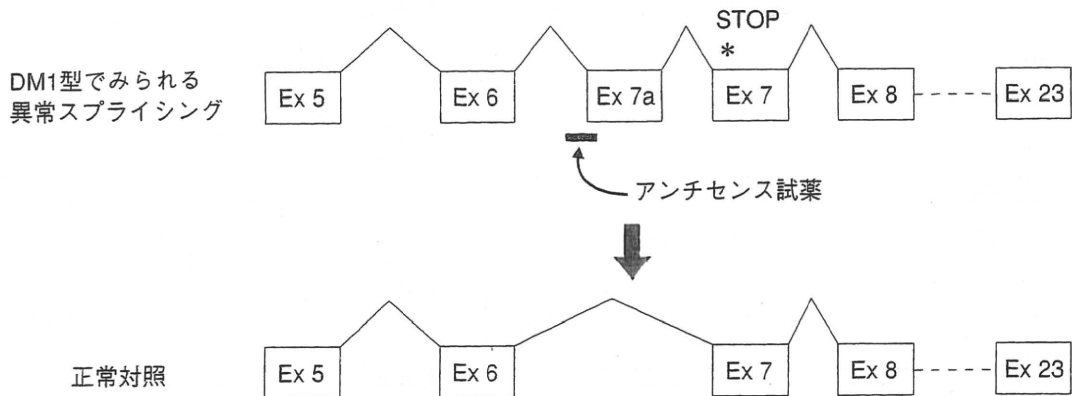


図4 モデルマウスを用いた、DMの根本治療に向けて行われている最新の研究
 CTG/CCTG リピートの伸長により、DM患者では、本来発現するべきではないスプライシング型の遺伝子が発現している。このことが、DMにおける多岐にわたる全身症状の原因となっている。この図で紹介する方法は、DMでみられる異常型のスプライシングパターンを示す遺伝子(ここでは、塩素チャネル遺伝子)を、相補的な配列をもつ短いアンチセンス試薬を投ずることによって正常型に戻そうとする試みである。まだマウスの段階だが、この方法での良好な効果が報告されている。(Wheelerら⁶⁾、2007より引用改変)

- ・ 口腔外科：正常な発音や咀嚼を妨げる骨形成不全
- ・ 耳鼻科：聴力損失
- ・ 音声病理科：発音障害、嚥下障害
- ・ 理学療法科：歩行困難と筋の脱力

5 治療目標とその手順および症状検査所見からみた効果判定指標

この病気は進行性の神経筋疾患であり、根本的な治療法は確立されていない。筋強直を和らげる場合には、イギリスではメキシレチンがよく使われる。またフェニトイン、キニーネ、プロカインアミドが使用されることもある。

筋萎縮を抑える薬は、今のところ開発されていない。筋力の低下を補う方法として、その部位をプラスチック装具で補助する、クラッチグラスを使用する、などの対応がとられている。運動の効果には個人差があり、指導者の計画のもとで行う必要がある。

根本的な治療としては、変異遺伝子を標的とし、その影響を抑えるような薬剤の開発が待たれるが、先に述べたようにDMの遺伝子変異は非常に特殊なものであり、間接的に影響を受ける遺伝子は多岐にわたるため、その治療法確立は容易ではない。

一方でモデルマウスを用いた最新の研究では、病態に関連してスプライシング異常を受けている

遺伝子(ここでは、塩素チャネル)のスプライシングパターンを正常型に戻すようなアンチセンス試薬を打ち込むことで、スプライシング異常を受けた遺伝子を正常型の発現パターンに戻す試みが行われ、一定の成果をあげたことが報告されている⁶⁾(図4)。

6 よくある合併症の病態生理とその診断・治療・予防

すでに記したように、DMでは筋肉のみならず、全身にわたる症状を併発する。これは、この遺伝病の特殊な遺伝子変異によって説明がつく。表現型は責任遺伝子の翻訳産物の機能いかにかわらず、間接的にスプライシング異常を受けるほかの多くの遺伝子によるものと考えられているからである。

一般的にみて、麻酔は、DM患者では重大な危険性がある。とくに、DMであるにもかかわらず、その診断がされていない場合、麻酔のリスクは高い(<http://www.gla.ac.uk/centres/muscle/dam/anaesthesia.htm>)。

7 症状経過、検査所見からみた予後判定

症状は漸次進行する。根本的な治療法は確立されておらず、今後の研究が待たれる。