

201122014B

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）

サルコメア配列異常を主病変とする筋ジストロフィーの
病因・病態の解明と治療法の開発

総合研究報告書

平成 21 年度～平成 23 年度

研究代表者 林 由起子

平成 24 (2012) 年 5 月

目次

| | | |
|-----|---|----|
| I | 総合研究報告 サルコメア配列異常を主病変とする筋ジストロフィーの 病因・病態の解明と治療法の開発 1 林 由起子（独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所） | 1 |
| II | 研究成果の刊行に関する一覧表 14 | 14 |
| III | 研究成果の刊行物・別刷 17 | 17 |

I 総合研究報告

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））
総合研究報告書

サルコメア配列異常を主病変とする筋ジストロフィーの
病因・病態の解明と治療法の開発

研究代表者 林 由起子（独）国立精神・神経医療研究センター神経研究所 室長

研究要旨 サルコメア配列異常を主病変とする筋ジストロフィー(MFM)の病因・病態を明らかにする目的で、NCNP 骨格筋レポジトリーから筋病理学的に MFM と診断された日本人計 129 家系を抽出し、計 16 遺伝子におよぶ大規模変異スクリーニングを行った。その結果、既知 6 遺伝子に変異のある例は 17%、新規疾患原因遺伝子と考えられる遺伝子も含めると、約半数に遺伝子変化が同定された。既知疾患原因遺伝子については、原因遺伝子ごとの臨床病理学的解析を行い、それぞれの特徴を明らかにした。また、新規疾患関連遺伝子のスクリーニングの結果、本邦で初めて VCP 変異 7 家系を見だし、その臨床病理学的解析を行った。その他、数多く見いだされた新規遺伝子変異候補に対しては、病態との関連を明らかにするために、細胞生物学的解析ならびにモデル動物を使った解析を行った。その結果、エレクトロポレーション法を用いたマウス骨格筋への変異遺伝子発現導入は、短時間でヒト病理変化を効率よく再現でき、効果的な方法であることを明らかにした。また、メダカ変異体発現モデルの効率的な作製・解析法を確立し、病態解析のみならず、今後の治療法のスクリーニングにおいても有用なモデル生物であることを明らかにした。また、Z 線形成とアクチン重合との関連についても検討を進めた。骨格筋の基本構造であるサルコメアの形成、機能維持の全体像を明らかにするために、また治療法の開発へ向けて、更なる研究の遂行が不可欠である。

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 疾病研究第一部 部長

野口 悟

(独) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第一部 室長

三橋弘明

(独) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第一部 流動研究員

毛塚悦子

(独) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第一部 流動研究員

大久 敬

(独) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第一部 流動研究員

松田 知栄

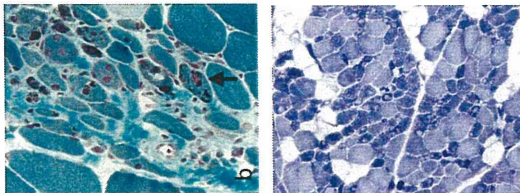
(独) 産業技術総合研究所 脳神経情報研究部門 脳遺伝子研究グループ 主任研究員

高野和儀

国立大学法人 千葉大学大学院融合科学研究科 分子細胞生物学 助教

A. 研究目的

横紋筋の基本収縮構造単位であるサルコメアの配列の乱れを主病変とし、細胞内のタンパク質異常蓄積を伴う筋ジストロフィー(筋原線維性ミオパチー;MFM)について、その病因・病態を明らかにし、治療法開発へ向けた知見を得ることを目的とした。MFMの原因遺伝子としてこれまでに、Z線に密接に関連する6遺伝子の存在が知られている。我々は、本邦MFM症例における各責任遺伝子について、その臨床病理学的特徴を明らかにするとともに、新たな疾患関連遺伝子を同定し、Z線タンパク質と疾患との具体的・総合的な関連を明らかにすること、さらには病態解析の結果に基づく治療法開発を目指した基礎データの収集をおこなうことを目的とした。



B. 研究方法

(独) 国立精神・神経医療研究センターの保管する12,000検体以上の凍結骨格筋組織レポジトリを活用し、サルコメア配列の異常を主病理変化とするMFM症例を抽出した。MFMの既知6原因遺伝子である*DES*、*CRYAB*、*MYOT*、*ZASP*、*FLNC*、

*BAG3*の変異スクリーニングを行い、各遺伝子の変異頻度ならびに臨床病理学的特徴について検討した。また、MFMの病態と密接に関連するZ線関連タンパク質やシャペロン関連タンパク質をコードする新規10候補遺伝子についても、大規模変異スクリーニングを行った。遺伝子変化の見いだされた症例については、臨床症状の検討ならびに、免疫組織化学法や電子顕微鏡観察などを含めた詳細な筋病理学的解析を行った。見いだした変化が新規のものである場合は、培養細胞を用いた発現実験、エレクトロポレーション法を用いたマウス骨格筋への発現系の解析、ならびに変異遺伝子発現メダカの作製・解析を行うとともに、タンパク質相互作用やユビキチン化などの生化学的解析などを行い、病態への関与について検討した。一方、Z線形成不全が病態と深く関わっていると考えられるネマリニンミオパチー30例を抽出し、その原因遺伝子産物の1つであるnebulinとその結合タンパク質N-WASPについても検討を加えた。

(倫理面への配慮)

本研究において使用した全てのヒト検体は、いずれも疾患の確定診断のために病理学的、生化学的、免疫学的ならびに遺伝子レベルの解析が必要であり、かつ患者および家族もこれを希望し、患者および家族の了解を得た上で採取された組織(生検・剖

検筋、皮膚、血球など)を用いて得られたものであり、かつ、(独)国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認された所定の承諾書を用いて、患者あるいはその親権者から遺伝子解析を含む研究使用に対する検体の使用許可(インフォームドコンセント)を得たものである。遺伝子解析に関しては「ヒトゲノム解析研究に関する共通指針」を遵守した上で、施行されたものである。これらの情報を使用するに当たっては、プライバシーを尊重し、匿名化した上で使用した。

またすべての動物実験は、(独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所動物実験に関する倫理指針に従い行い、(独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所動物実験管理委員会の審査・承認を得た。研究に使用する際には、必要最小限度の動物を使用するとともに、動物に苦痛を与えないよう最大限の注意を払った。すべての組み換えDNA実験は、カルタヘナ議定書に基づく「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」と関係省令を遵守し、(独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所組み換えDNA実験安全委員会の審査・承認を得た。

C. 研究結果

1) 変異スクリーニング

本邦MFM129家系について既知6遺伝子について変異スクリーニングを行った結果、計22例(17.1%)でのみ変異を見出した。これらの症例について遺伝子毎の臨床医学的特徴を明らかにした。

臨床症状

| | DES | CRYAB | ZASP | MYOT | FLNC | BAG3 |
|--------|------------------|-------------|--------|--------|-------|----------------|
| 遺伝形式 | AD/AR | AD | AD | AD | AD | AD |
| 本邦の頻度 | 5% | 0% | 4% | 3% | 4% | 1% |
| 米国の頻度 | 6% | 3% | 15% | 10% | 3% | 6% |
| 発症年齢 | 6-60代 | 30-50代 | 60代 | 42-77才 | 1-57才 | 0-67才 |
| 障害筋分布 | 遠位, 近位 顔面, 咽頭 | 近位>遠位 咽頭 | 近位, 遠位 | 近位, 遠位 | 近位>遠位 | 四肢, 体幹 脊椎強直 |
| 呼吸障害 | あり | あり | なし | あり | あり | あり |
| 心症状 | 頻発, 不整脈 | あり | 頻発 | あり | 頻発 | あり |
| 末梢神経障害 | あり | あり | あり | あり | あり | あり |
| 白内障 | なし | あり | なし | なし | なし | なし |
| 血清CK | 正常~軽度上昇 | | | | | |

さらに関連遺伝子と考えられる *FHL1*, *VCP* などを含む10遺伝子変異スクリーニングの結果、MFM家系の計47%で変異が見いだされた。このうち、これまでに本邦で報告のなかった *VCP* の変異例を7家系と高頻度で見いだした。*VCP* 変異例はいずれもMFMの病理所見に加え、神経原性変化を合併しており、核内、および細胞内凝集体を特徴とした。臨床的には既報告例で認められるような中枢神経症状、骨変化に乏しい、という特徴を有していた。

新規疾患関連遺伝子の同定

VCP 変異によるミオパチー

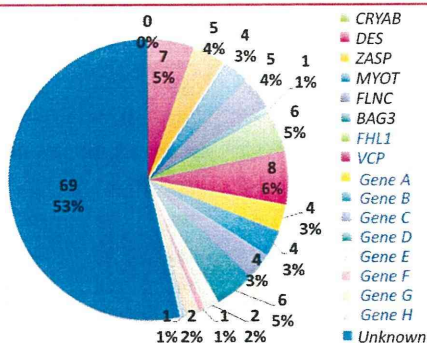
Shi, et al. Eur J Neurol. 2012

- Inclusion body myopathy with Paget's disease of bone, and frontotemporal dementia (IBMPFD)
- 家族性ALS
- 筋原線維性ミオパチー (MFM): 7例
筋症状が主
臨床診断: LGMDまたは遠位型ミオパチー



また、新たに解析し、変異の見いだされた8遺伝子は新規疾患関連遺伝子と考えられ、病態との関連について検討を進めた。

疾患関連候補遺伝子解析結果 (129家系)

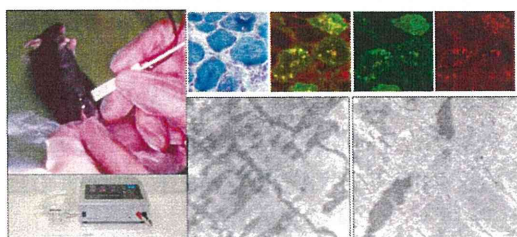


2) 新規変異と病態との関連

変異スクリーニングの結果、複数の新規遺伝子変化を同定した。日本人コントロール100人で同じ変化が見いだされないこと、データベースでの登録のないことを確認後、変異体を培養細胞、マウス骨格筋、およびメダカ受精卵に導入し、その変化を観察した。細胞培養の系では、MFMM骨格筋で認められる細胞内凝集体は、DES変異体導入細胞では高率に再現できたが、BAG3やMYOT変異体では凝集体を形成しない変異が多く認められた。一方、MYOT変異体はマウス骨格筋へのエレクトロポレーション法によって高率にヒト骨格筋で見いだされる筋病理変化を再現でき、本方法はスクリーニングに有用な方法であることが示された。

変異MYOTのエレクトロポレーション法を用いた解析

Keduka, et al. Am J Pathol, 2012



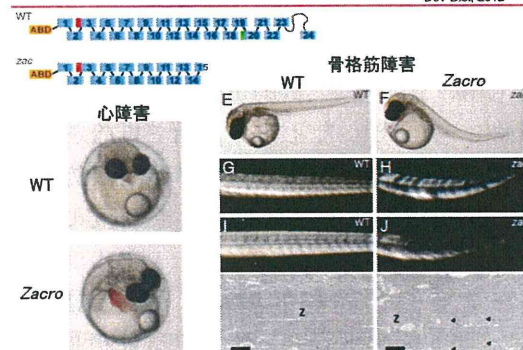
マウス前脛骨筋に変異MYOTを発現 → ヒト筋病理変化の再現

変異体発現メダカも順調に解析を進め、さまざまな表現型や筋病理変化を見いだすことが可能であった。また、FLNC変異メダカ

を用いた解析から、フィラミンCの骨格筋及び心筋のサルコメア構造維持における重要性を明らかにした。

Flnc変異メダカ (Zacro)

Fujita & Mitsuhashi, et al. Dev Biol, 2012



新規疾患関連遺伝子の病態への関与については、免疫沈降法やイースト2ハイブリッド法などを用いて、タンパク質相互作用の変化が認められ、病態への関与が示唆された。

3) Z線形成不全とミオパチー

Z線形成不全が病態と深く関わっていると考えられるネマリンミオパチー30例について検討した。原因遺伝子の1つであるNebulinのC端側の欠損例は見いだされなかったが、タンパク量の減少しているものが5例見いだされた。またnebulin結合タンパク質であるN-WASPはネマリン小体には局在していないことを明らかにした。

D. 考察

本邦MFMM患者では、既知疾患原因遺伝子に変異の認められる例が少なく、その全体像の把握には、新たな原因遺伝子の同定が必要である。また、新たに見いだした遺伝子変化の疾患との関連については、複数の手法を用いた解析が必要となる。特に多数の遺伝子変化を簡便にスクリーニングする手法の更なる開発が必要となる。トラ

ンスジェニックメダカは、分子レベルから個体レベルまでの総合的な疾患研究に資する有用なモデル生物となり得、今後はこれらを用いた分子病態の解明、治療法の開発等にも極めて有用であろう。

E. 結論

本邦 MFM129 家系の臨床病理学的、分子遺伝学的解析を行った。その結果、17%には既知遺伝子の変異が同定され、30%には新規疾患関連遺伝子に変化が見いだされた。新規遺伝子変異に関しては、それぞれについて病態との関連を複数の方法を用いて検討している。しかしながら本邦 MFMの半数は原因すら明らかでなく、今後、新たな手法を用いた解析が必要であると考えられる。骨格筋の基本構造であるサルコメアの構築と機能維持の詳細なメカニズムを理解し、さらには今後の治療法の開発を進めるには、更なる検討が不可欠であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

2009(H21)年度

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(6): 465-468, Jun, 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(6): 701-707, Jun, 2009.

Park YE, Hayashi YK, Bonne G, Arimura T, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Autophagic degradation of nuclear components in mammalian cells. *Autophagy* 5(6): 795-804, Aug, 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(9): 2623-2633, Sep, 2009.

林由起子：肢帯型筋ジストロフィーの心障害. 別冊・医学のあゆみ ミオパチー—臨床と治療研究の最前線 (編集：埜中征哉), 医歯薬出版株式会社, 東京, pp99-103, 2009.

林由起子：肢帯型筋ジストロフィーの筋病理. 神経内科 特集 筋病理—最近の進歩— 71: 345-353, 2009.

西野一三：筋病理. 小児筋疾患診療ハンドブック(監修：埜中征哉 編集：小牧宏文) 診断と治療社, 東京, pp18-22, 2009.

川井 充, 徳富智明, 圓谷理恵, 西野一三：IBM(inclusion body myositis)は筋炎であるか否か. *Clinical Neuroscience* 28: 228-229, 2010.

2010(H22)年度

Yamazaki Y, Kamei Y, Sugita S, Akaike F, Kanai S, Miura S, Hirata Y, Troen BR, Kitamura T, Nishino I, Sukanami T, Ezaki O, Ogawa Y: The cathepsin L gene is a direct target of FOXO1 in skeletal muscle. *Biochem J* 427(1): 171-178, Mar, 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(4): 481-486, Apr, 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(Pt22): 3893-3900, Nov, 2010.

Liang WC, Nishino I: Lipid Storage Myopathy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 11(1): 97-103, Feb, 2011.

2011(H23)年度

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*, 69(6): 1005-1013, Jun, 2011.

Mitsuhashi S, Ohkuma A, Talim B, Karahashi M, Koumura T, Aoyama C, Kurihara M, Quinlivan R, Sewry C, Mitsuhashi H, Goto K, Koksal B, Kale G, Ikeda K, Taguchi R, Noguchi S, Hayashi YK, Nonaka I, Sher RB, Sugimoto H, Nakagawa Y, Cox GA, Topaloglu H, Nishino I: A congenital muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities caused by defective de novo phosphatidylcholine biosynthesis. *Am J Hum Genet*. 88(6): 845-851, Jun, 2011.

Senju Y, Itoh Y, Takano K, Hamada S, Suetsugu S: Essential roles of PACSIN2/syndapin-II in caveolae membrane sculpting. *J. Cell Sci* 124: 2032-2040, Jun, 2011.

Komaki H, Hayashi YK, Tsuburaya R, Sugie K, Kato M, Nagai T, Imataka G, Suzuki S, Saitoh S, Asahina N, Honke K, Higuchi Y, Sakuma H, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nonaka I, Nishino I: Inflammatory changes in infantile-onset LMNA-associated myopathy. *Neuromuscul Disord*. 21(8): 563-568, Aug, 2011.

Mitsuhashi S, Hatakeyama H, Karahashi M, Koumura T, Nonaka I, Hayashi YK, Noguchi S, Sher RB, Nakagawa Y, Manfredi G, Goto YI, Cox GA, Nishino I: Muscle choline kinase beta defect causes mitochondrial dysfunction and increased mitophagy. *Hum Mol Genet*. 20(19): 3841-3851, Oct, 2011.

Fujita M, Mitsuhashi H, Isogai S, Nakata T, Kawakami A, Nonaka I, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I, Kudo A: Filamin C plays an essential role in the maintenance of the structural integrity of cardiac and skeletal muscles, revealed by the medaka mutant zacro. *Dev Biol*. 361(1): 79-89, Jan, 2012.

Sukigara S, Liang WC, Komaki H, Fukuda T, Miyamoto T, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Hayashi YK, Sugie H, Sasaki M, Nishino I: Muscle glycogen storage disease 0 presenting recurrent syncope with weakness and myalgia. *Neuromuscul Disord*. 22(2): 162-165, Feb, 2012.

Shi Z, Hayashi YK, Mitsuhashi S, Goto K, Kaneda D, Choi YC, Toyoda C, Hieda S, Kamiyama T, Sato H, Wada M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Characterization of the Asian myopathy patients with VCP mutations. *Eur J Neurol*. 19(3): 501-509, Mar, 2012.

Furusawa Y, Mori-Yoshimura M, Yamamoto T, Sakamoto C, Wakita M, Kobayashi Y, Fukumoto Y, Oya Y, Fukuda T, Sugie H, Hayashi YK, Nishino I, Nonaka I, Murata M: Effects of enzyme replacement therapy on five patients with advanced late-onset glycogen storage disease type II: a 2-year follow-up study. *J Inherit Metab Dis*. 35(2): 301-310, Mar, 2012.

Suzuki N, Aoki M, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Increase in number of sporadic inclusion body myositis (sIBM) in Japan. *J Neurol*. 259(3): 554-556, Mar, 2012.

Keduka E, Hayashi YK, Shalaby S, Mitsuhashi H, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: *In Vivo* Characterization of Mutant Myotilins. *Am J Pathol*. Epub Feb 18, 2012.

圓谷理恵, 西野一三: 心筋症をきたす筋疾患. 病理と臨床 循環器病理 I 1. 心筋疾患 話題の心筋症. 29: 154-158, Apr, 2011.

林由起子: 新たな肢帯型筋ジストロフィー. 生体の科学 特集 筋ジストロフィーの分子病態から治療へ. 62(2): 100-102, Apr. 2011.

佐藤孝俊, 西野一三: Dystrophin 解説編. 病理と臨床 臨時創刊号 病理診断に役立つ分子生物学. 29: 210-212, Apr. 2011.

林由起子: Myofibrillar myopathy と類縁疾患. 神経内科. 75(1): 52-59, Jul. 2011.

西野一三: 筋病理の基本. 臨床神経学. 51(9): 669-676, Sep, 2011.

林由起子: Nucleophagy. 生体の科学 増大

号 細胞核—構造と機能. 62(5): 374-375, Oct, 2011.

林由起子: A型ラミン. 生体の科学 増大 号 細胞核—構造と機能. 62(5): 404-405, Oct, 2011.

林由起子: 筋原線維性ミオパチー. BRAIN and NERVE 特集: 筋疾患 up date. 63(11): 1179-1188, Nov, 2011.

2. 学会発表

2009(H21)年度

Nishino I: Approach to Congenital Myopathies. 8th Asian and Oceanian Myology Centre (AOMC) Scientific Meeting, Mumbai, India, 5.24, 2009.

Hayashi YK: Identification of a novel gene for muscular dystrophy with secondary caveolin deficiency. The 8th French-Japanese Workshop for Muscular Dystrophy, Paris, 7.3, 2009.

Hayashi YK, Goto K, Noguchi S, Nishino I: Screening the FHL1 mutation in Japanese patients with non-4q35 FSHD. 14th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Geneva, Switzerland, 9.10, 2009.

Matsuda C, Kameyama K, Nishino I, Hayashi YK: The association of dysferlin and affixin is regulated by calcium concentration. 14th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Geneva, Switzerland, 9.10, 2009.

Shalaby S, Hayashi YK, Mitsuhashi H, Goto K, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I: New variant of myofibrillar myopathy with CNS involvement. 14th International Congress of the World

Muscle Society (WMS), Geneva, Switzerland, 9.11, 2009.

Arai A, Nonaka I, Saito Y, Komaki F, Sakuma H, Sugai K, Sasaki M, Robertson SP, Nishimura G, Nishino I: Actin myopathy with myofibrillar dysgenesis and abnormal ossification. 14th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Geneva, Switzerland, 9.11, 2009.

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.

Park YE, Hayashi YK, Bonne G, Arimura T, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Autophagic degradation of nuclear component in nuclear envelopathy. 14th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Geneva, Switzerland, 9.11, 2009.

Hayashi YK, Park YE, Bonne G, Arimura T, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Autophagic degradation of nuclear components in mammalian cells. The 5th International Symposium on Autophagy: Molecular Mechanism, Cellular and Physiological Functions and Diseases, Ots, 9.28, 2009.

Nishino I: Congenital muscular dystrophies. 19th World Congress of Neurology, Education Program: Neuromuscular Disorders, Bangkok, Thailand, 10.25, 2009.

Nishino I: Muscle pathology. 19th World Congress of Neurology, Workshop:

Diagnostic Approaches in Neuromuscular Diseases, Bangkok, Thailand, 10.25, 2009.

Nishino I: Myopathy: update in diagnosis and treatment. 19th World Congress of Neurology, Symposium: Child Neurology 1, Bangkok, Thailand, 10.27, 2009.

Hayashi YK: A Novel Muscular Dystrophy Associated with Secondary Deficiency of Caveolin. The 9th Annual Asian and Oceanian Myology Center (AOMC) Scientific Meeting, Seoul, Korea, 3.25, 2010.

Hayashi YK: A Novel Muscular Dystrophy Associated with Secondary Deficiency of Caveolin. 14th International Congress of Endocrinology Official Satellite Symposium, Kyoto, Japan, 3.30, 2010.

林由起子, 三橋里美, 朴 英恩, 埜中征哉, 西野一三: 二次性カベオリン欠損症の新規原因遺伝子同定とその臨床病態についての検討. 第50回日本神経学会総会, 仙台, 5.21, 2009.

三橋里美, Shalaby S, 後藤加奈子, 埜中征哉, 野口 悟, 林由起子, 西野一三: 本邦 zaspopathy 症例における臨床筋病理学的検討. 第50回日本神経学会総会, 仙台, 5.21, 2009.

林由起子, 菅野 尚, 萩野谷和裕, 福興なおみ, 埜中征哉, 西野一三: 二次性カベオリン欠損症の新規原因遺伝子同定とその臨床病態についての検討. 日本人類遺伝学会第54回大会, 港区, 9.26, 2009.

三橋弘明, Shalaby S, 松田知榮, 南 成祐, 野口 悟, 埜中征哉, 林由起子, 西野一三: 肢帯型筋ジストロフィー1A型患者に見出

された myotilin のホモダイマー形成異常.
第 82 回日本生化学会大会, 神戸, 10.24,
2009.

富永佳代, 西野一三, 埜中征哉: 出生時より呼吸不全と著明な低緊張を認める 2 歳男児. 第 69 回 Neuro Muscular Conference (NMC), 東京, 12.19, 2009.

2010(H22)年度

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.

Hayashi YK: Molecular diagnosis by long range PCR. Best Practice Meeting Molecular Diagnosis of FSHD, Leiden, the Netherlands, 6.9, 2010.

Shalaby S, Quinzii CM, Hayashi YK, Goto K, Nonaka I, Noguchi S, Hirano M, Nishino I: Novel FHL1 mutations in fatal and benign reducing body myopathy, rigid spine and myofibrillar myopathy. 20th Meeting of the European-Neurological-Society, Berlin, Germany, 6.19-23, 2010.

Hayashi YK, Matsuda C, Nonaka I, Nishino I: Human PTRF mutations cause secondary deficiency of caveolins resulting in muscular dystrophy with generalized lipodystrophy. World Federation of Neurology, XII International Congress on Neuromuscular Diseases, Naples, Italy, 7.18, 2010.

Matsuda C, Kameyama K, Takeshima H, Nishino I, Hayashi YK: Dysferlin C2A domain is important for association with MG53 (TRIM72). World Federation of

Neurology, XII International Congress on Neuromuscular Diseases, Naples, Italy, 7.18, 2010.

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.

Liang WC, Hayashi YK, Park YE, Mitsuhashi H, Arimura T, Bonne G, Noguchi S, Nishino I: Characterization of Emd^{-/-}/Lmna^{H222P/H222P} mice: focus on the heart. World Federation of Neurology, XII International Congress on Neuromuscular Diseases, Naples, Italy, 7.19, 2010.

Hayashi YK, Matsuda C, Ogawa M, Noguchi S, Nishino I: Expression of cavin family members in skeletal muscle. 15th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Kumamoto, Japan, 10.13, 2010.

Keduka E, Hayashi YK, Shalaby S, Mitsuhashi H, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: In vivo electroporation is an effective method to reproduce pathological changes in myofibrillar myopathy. 15th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Kumamoto, Japan, 10.13, 2010.

Mitsuhashi H, Fujita M, Yasuta H, Hayashi YK, Noguchi S, Nonaka I, Kawakami A, Kudo A, Nishino I: Filamin C is required for the maintenance of sarcomere structure in medaka. 15th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Kumamoto, Japan, 10.13, 2010.

Tsuburaya R, Hayashi YK, Nonaka I,

Nishino I: High nonspecific esterase activity may be a good marker for vascular involvement in inflammatory myopathies. 15th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Kumamoto, Japan, 10.13, 2010.

Tominaga K, Hayashi YK, Goto K, Minami N, Noguchi S, Nonaka I, Miki T, Nishino I: Genetic, clinical, and pathological features of congenital fiber type disproportion in Japan. 15th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Kumamoto, Japan, 10.13, 2010.

Liang WC, Mitsuhashi H, Keduka E, Nonaka I, Noguchi S, Nishino I, Hayashi YK: TMEM43 mutations in Emery-Dreifuss muscular dystrophy-like patients cause dysfunctions of a nuclear membrane protein, LUMA. 15th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Kumamoto, Japan, 10.14, 2010.

Mitsuhashi S, Ohkuma A, Talim B, Karahashi M, Koumura T, Aoyama C, Kurihara M, Mitsuhashi H, Goto K, Koksal B, Kale G, Noguchi S, Hayashi YK, Nonaka I, Sher RB, Sugimoto H, Nakagawa Y, Cox GA, Topaloglu H, Nishino I: A novel congenital muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities caused by defective de novo phosphatidylcholine biosynthesis. 15th International Congress of the World Muscle Society (WMS), Kumamoto, Japan, 10.14, 2010.

Nishino I: RYR1 gene mutation in congenital myopathies. NCNP International Symposium CONGENITAL MYOPATHIES: PATHOGENESIS AND MANAGEMENT, Kodaira, Japan, 10.23,

2010.

Hayashi YK, Shalaby S, Xiao X, Goto K, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: FHL1 gene mutation in congenital myopathies. NCNP International Symposium CONGENITAL MYOPATHIES: PATHOGENESIS AND MANAGEMENT, Kodaira, Japan, 10.23, 2010.

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.

Mitsuhashi H, Fujita M, Yasuta H, Hayashi YK, Mitsuhashi S, Noguchi S, Nonaka I, Kawakami A, Kudo A, Nishino I: Filamin C is required for the maintenance of sarcomere structure in medaka. NCNP International Symposium CONGENITAL MYOPATHIES: PATHOGENESIS AND MANAGEMENT, Kodaira, Japan, 10.23, 2010.

Mitsuhashi S, Hatakeyama H, Nonaka I, Sher R, Cox G, Goto Y, Nishino I: Mitochondrial dysfunction and mitophagy in muscle choline kinase beta defect. The 7th conference of Asian society for mitochondrial research and medicine (ASMRM) And The 10th conference of Japanese society of mitochondrial research and medicine (J-mit). Fukuoka, Japan, 12.18, 2010.

林由起子：二次性カベオリン欠損症の新規原因遺伝子同定とその臨床病態についての検討。第107回日本内科学会講演会，東京，4.9, 2010.

林由起子：PTRF 欠損症の臨床病態に関する研究. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 5.20, 2010.

三橋里美, 畠山英之, 唐橋美奈子, 幸村知子, 野口 悟, 林由起子, 埜中征哉, 中川靖一, 後藤雄一, 西野一三：rmd マウスにおけるミトコンドリア巨大化機構の解明. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 5.20, 2010.

三橋弘明, 藤田深里, 安田裕隆, 林由起子, 野口 悟, 埜中征哉, 川上厚志, 工藤 明, 西野一三：心筋・骨格筋に異常を示すメダカ変異体 *zacro* の解析. 第 16 回小型魚類研究会, 埼玉, 9.18, 2010.

林由起子：PTRF 欠損症の頻度並びに臨床病態. 第 55 回人類遺伝学会, 埼玉, 10.29, 2010.

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合同大会, 神戸, 12.7, 2010.

2011(H23)年度

Cowling B, Amoasii L, Toussaint A, Koebel P, Ferry A, Davignon L, Nishino I, Mandel JL, Laporte J: Increased wild-type dynamin 2 expression or a CNM mutant of dynamin 2 expressed in skeletal muscle of adult wild-type mice leads to structural defects and muscle weakness. 4th international congress of myology, Paris, France, 5.9-13, 2011.

Bartoli M, Nguyen K, Bernard R, Walrafen P, Attarian S, Hayashi YK, Pouget J, Nishino I, Krahn M, Helmbacher F, Levy N: Detection of

genomic defects at the 4Q35 FSHD-associated locus by using multiple and large scale genomic tools. 4th international congress of myology, Paris, France, 5.12, 2011.

Liang WC, Er TK, Ohkuma A, Hayashi YK, Lopez LC, Hirano M, Nonaka I, Nishino I, Jong YJ: Patients with Riboflavin-Responsive Multiple Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency in Taiwan. 第 53 回日本小児神経学会総会, 横浜, 5.27, 2011.

Matsuda C, Miyake K, Kameyama K, Takeshima H, Keduka E, Araki N, Nishino I, Hayashi YK: Real time analysis of sarcolemmal repair mediated by dysferlin and MG53. 16th International Congress of the World Muscle Society, Algarve, Portugal, 10.19, 2011.

Shi ZH, Hayashi YK, Mitsuhashi S, Momma K, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Expanding clinicopathological findings observed in the Asian patients with VCP mutation. 16th International Congress of the World Muscle Society, Algarve, Portugal, 10.19, 2011.

Hayashi YK, Goto K, Kure Y, Ohnishi M, Sato T, Keduka E, Shalaby S, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Characterization of Japanese patients with myofibrillar myopathy. 16th International Congress of the World Muscle Society, Algarve, Portugal, 10.20, 2011.

Quinlivan R, Nishino I, Mitsuhashi S, Aoyama C, Sewry C, Muntoni F, Cirak S, Robb S, Moore D, Abbs S, Bushby K, Straub V: Myopathy associated with mutations in CHKB in three UK patients. 16th International Congress of the World

Muscle Society, Algarve, Portugal, 10.20, 2011.

Martinez Arroyo A, Naberhaus B, Liang WC, Nishino I, Alonso E, Jugla A, Olive M: Novel mutation in PNPLA2 presenting with distal myopathy and lipodystrophy. 16th International Congress of the World Muscle Society, Algarve, Portugal, 10.21, 2011.

Keduka E, Hayashi YK, Shalaby S, Mitsuhashi H, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: In vivo characterization of mutant myotilins. 16th International Congress of the World Muscle Society, Algarve, Portugal, 10.21, 2011.

Sato T, Hayashi YK, Keduka E, Noguchi S, Osawa M, Nonaka I, Nishino I: Novel BAG3 mutations in myofibrillar myopathy patients. 16th International Congress of the World Muscle Society, Algarve, Portugal, 10.21, 2011.

Nishino I: PATHOLOGICAL FEATURES. 20th World Congress of Neurology, Marrakesh, Morocco, 11.13, 2011.

Nishino I: Distal myopathy: What's new? The Fourth Thai-Japanese Workshop on Muscle Diseases. Bangkok, 2.23, 2012.

三橋弘明, 藤田深里, 安田裕隆, 林由起子, 野口 悟, 埜中征哉, 川上厚志, 工藤 明, 西野一三: 筋疾患の病態解明を目指したメダカの利用. 第32回国立精神・神経医療研究センター神経研究所研究発表会, 小平, 5.9, 2011.

三橋里美, 大熊 彩, Talim B, 唐橋美奈子, 幸村知子, 青山智英子, 栗原まな, Quinlivan R, Sewry C, 三橋弘明, 後藤加奈子, Koksals B, Kale G, 杉本博之, 中川靖一, Cox GA,

Topaloglu H, 西野一三: ホスファチジルコリン合成酵素 CHKB 変異により先天性筋ジストロフィーが引き起こされる. 第32回国立精神・神経医療研究センター神経研究所研究発表会, 小平, 5.9, 2011,

毛塚悦子, 林由起子, Shalaby S, 三橋弘明, 野口 悟, 西野一三: エレクトロポレーション法を用いた変異ミオティリンの解析. 第32回国立精神・神経医療研究センター神経研究所研究発表会, 小平, 5.10, 2011.

倉重毅志, 高橋哲也, 近藤啓太, 中村 毅, 山脇健盛, 圓谷理恵, 林由起子, 埜中征哉, 西野一三, 松本昌泰: X-linked myopathy with excessive autophagyの一家系. 第52回日本神経学会学術大会, 名古屋, 5.18, 2011.

林由起子, 後藤加奈子, 埜中征哉, 西野一三: 本邦における筋原線維性ミオパチーの臨床遺伝学的・筋病理学的特徴. 第52回日本神経学会学術大会, 名古屋, 5.19, 2011.

尾内幸子, 石垣景子, 村上てるみ, 佐藤孝俊, 齊藤 崇, 宍倉啓子, 鈴木暘子, 平山義人, 林由起子, 大澤真木子: CAV3遺伝子変異によるRippling muscle diseaseの1例. 第53回日本小児神経学会総会, 横浜, 5.26, 2011.

高野和儀, 竹縄忠臣, 遠藤剛: Nebulette と N-WASP は心筋筋原線維のアクチン線維形成にかかわっている. 第63回日本細胞生物学会大会, 北海道大学, 6.28, 2011.

遠藤剛, 高野和儀: 筋収縮と筋再生・筋肥大を担う筋原線維のアクチン線維形成機構. 第84回日本生化学会大会, 京都国際会館, 9.21, 2011.

高野和儀, 渡邊-高野晴子, 竹縄忠臣, 遠藤剛: 骨格筋と心筋におけるアクチン重合核形成と伸長の分子機構. 第84回日本生化学

会大会, 京都国際会館, 9.23, 2011.

林由起子: サルコメア配列異常を主病変とする筋ジストロフィーの病因・病態の解明と治療法の開発. 障害者対策総合 (神経・筋疾患分野) 研究成果発表会, 東京, 2.8, 2012.

佐藤孝俊, 林由起子, 後藤加奈子, 高見真希, 鈴木茂文, 野口 悟, 西野一三: DNAJB6 ミオパチー. 平成23年度(第33回)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 研究発表会, 小平, 3.22, 2012.

毛塚悦子, 林由起子, Shalaby S, 三橋弘明, 野口 悟, 埜中征哉, 西野一三: 筋原線維性ミオパチーに関連する変異タンパク質の解析. 平成23年度 (第33回) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 研究発表会, 小平, 3.23, 2012.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

サルコメア配列異常を主病変とする筋ジストロフィーの
病因・病態の解明と治療法の開発

II 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表
2009 (H21) 年度 ~ 2011 (H23) 年度

| 発表者氏名 : 論文タイトル名. 発表誌名 巻(号) : ページ, 出版年 |
|--|
| Murakami T, <u>Hayashi YK</u> , Ogawa M, <u>Noguchi S</u> , Campbell KP, Togawa M, Inoue T, Oka A, Ohno K, Nonaka I, <u>Nishino I</u> : A novel POMT2 mutation causes mild congenital muscular dystrophy with normal brain MRI. <i>Brain Dev</i> 31(6): 465-468, Jun, 2009. |
| Shalaby S, <u>Mitsuhashi H</u> , <u>Matsuda C</u> , Minami N, <u>Noguchi S</u> , Nonaka I, <u>Nishino I</u> , <u>Hayashi YK</u> : Defective Myotilin Homodimerization Caused by a Novel Mutation in MYOT Exon 9 in the First Japanese Limb Girdle Muscular Dystrophy 1A Patient. <i>J Neuropathol Exp Neurol</i> 68(6): 701-707, Jun, 2009. |
| Park YE, <u>Hayashi YK</u> , Bonne G, Arimura T, <u>Noguchi S</u> , Nonaka I, <u>Nishino I</u> : Autophagic degradation of nuclear components in mammalian cells. <i>Autophagy</i> 5(6): 795-804, Aug, 2009. |
| <u>Hayashi YK</u> , <u>Matsuda C</u> , Ogawa M, Goto K, Tominaga K, Mitsuhashi S, Park YE, Nonaka I, Hino-Fukuyo N, Haginoya K, Sugano H, <u>Nishino I</u> : Human PTRF mutations cause secondary deficiency of caveolins resulting in muscular dystrophy with generalized lipodystrophy. <i>J Clin Invest</i> 119(9): 2623-2633, Sep, 2009. |
| Yamazaki Y, Kamei Y, Sugita S, Akaike F, Kanai S, Miura S, Hirata Y, Troen BR, Kitamura T, <u>Nishino I</u> , Suganami T, Ezaki O, Ogawa Y: The cathepsin L gene is a direct target of FOXO1 in skeletal muscle. <i>Biochem J</i> 427(1): 171-178, Mar, 2010. |
| Tominaga K, <u>Hayashi YK</u> , Goto K, Minami N, <u>Noguchi S</u> , Nonaka I, Miki T, <u>Nishino I</u> : Congenital myotonic dystrophy can show congenital fiber type disproportion pathology. <i>Acta Neuropathol</i> 119(4): 481-486, Apr, 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(Pt22): 3893-3900, Nov, 2010.

Liang WC, Nishino I: Lipid Storage Myopathy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 11(1): 97-103, Feb, 2011.

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*, 69(6): 1005-1013, Jun, 2011.

Mitsuhashi S, Ohkuma A, Talim B, Karahashi M, Koumura T, Aoyama C, Kurihara M, Quinlivan R, Sewry C, Mitsuhashi H, Goto K, Koksal B, Kale G, Ikeda K, Taguchi R, Noguchi S, Hayashi YK, Nonaka I, Sher RB, Sugimoto H, Nakagawa Y, Cox GA, Topaloglu H, Nishino I: A congenital muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities caused by defective de novo phosphatidylcholine biosynthesis. *Am J Hum Genet.* 88(6): 845-851, Jun, 2011.

Komaki H, Hayashi YK, Tsuburaya R, Sugie K, Kato M, Nagai T, Imataka G, Suzuki S, Saitoh S, Asahina N, Honke K, Higuchi Y, Sakuma H, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nonaka I, Nishino I: Inflammatory changes in infantile-onset LMNA-associated myopathy. *Neuromuscul Disord.* 21(8): 563-568, Aug, 2011.

Mitsuhashi S, Hatakeyama H, Karahashi M, Koumura T, Nonaka I, Hayashi YK, Noguchi S, Sher RB, Nakagawa Y, Manfredi G, Goto YI, Cox GA, Nishino I: Muscle choline kinase beta defect causes mitochondrial dysfunction and increased mitophagy. *Hum Mol Genet.* 20(19): 3841-3851, Oct, 2011.

Fujita M, Mitsuhashi H, Isogai S, Nakata T, Kawakami A, Nonaka I, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I, Kudo A: Filamin C plays an essential role in the maintenance of the structural integrity of cardiac and skeletal muscles, revealed by the medaka mutant zacro. *Dev Biol.* 361(1): 79-89, Jan, 2012.