

201128078A

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

封入体筋炎（IBM）の臨床病理学的調査
および診断基準の精度向上に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 青木 正志
東北大学大学院医学系研究科 神経内科

平成 24 年 3 月 印刷

目次

I. 班体制

II. 総括研究報告書

- 封入体筋炎（IBM）の臨床病理学的調査および診断基準の精度向上に関する研究 ----- 1
東北大学大学院医学系研究科 神経内科 青木 正志

III. 分担研究報告書

1. アジア初の骨 Paget 病と前頭側頭型認知症を伴う封入体性ミオパチー ----- 7
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 西野 一三
2. 封入体筋炎に対する免疫グロブリン大量療法の効果についての検討 ----- 11
国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科 森 まどか
3. 封入体筋炎における DNA 酸化損傷の研究 ----- 13
関西医科大学 神経内科 日下 博文
4. 封入体筋炎と肥大型心筋症を合併し、Myosin binding protein C3 遺伝子異常を認めた一部検例 ----- 15
鹿児島大学大学院 医歯学研究科 神経内科老年病学 樋口 逸郎
5. 封入体筋炎患者の画像診断 ----- 18
和歌山県立医科大学 神経内科 村田 顕也
6. 封入体筋炎骨格筋組織における家族性 ALS 関連分子の関与 ----- 22
熊本大学医学部附属病院 神経内科 山下 賢
7. 封入体筋炎との鑑別を要した非典型例の検討 ----- 25
徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 神経内科 梶 龍兒
- IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 29
- V. 研究成果に関する刊行物 ----- 31

I. 班体制

封入体筋炎（IBM）の臨床病理学的調査および診断基準の精度向上に関する研究

研究代表者	青木 正志	東北大学大学院医学系研究科 神経内科
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 疾病研究第一部
	森 まどか	国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科
	日下 博文	関西医科大学 神経内科
	樋口 逸郎	鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 神経内科
	村田 顕也	和歌山県立医科大学 神経内科
	山下 賢	熊本大学医学部附属病院 神経内科
	梶 龍兒	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 神経内科
事務局	加藤 昌昭	東北大学 神経内科
	鈴木 直輝	東北大学 神経内科
	伊藤 詩織	東北大学 神経内科

総 括 研 究 報 告 書

「封入体筋炎（IBM）の臨床病理学的調査および診断基準の精度向上に関する研究」

研究代表者： 青木 正志

東北大学大学院医学系研究科 神経内科 教授

研究要旨

封入体筋炎(Inclusion Body Myositis 以下 IBM)は骨格筋に縁取り空胞と呼ばれる特徴的な組織変化を生じ炎症細胞浸潤を伴う難治性・進行性筋疾患であり、時に筋萎縮性側索硬化症(ALS)と鑑別困難な場合もある難病である。欧米では高齢者の筋疾患の中で最多という報告もあるが、日本での自然歴や有病率は検討されたことがない。

国立精神・神経医療研究センターには世界にも類を見ない数の筋病理が保管されており、後向き調査を行う場合に非常に有用である。これらの全国からの検体情報と各協力施設の症例を検討することにより日本人のIBMの有病率を10万人当たり1.17人と推定した。これは1990年代前半のデータ推定の0.25人と比較して5倍弱の増加であり日本でIBMが増加していることを裏付ける結果であり英文誌に報告した。また日本語の診断基準を初めて策定した。一方、神経内科専門医・患者アンケートにより有病率を推定し2005年からの5年間の神経内科専門医による新規診断数は1047名と算定した。現在、日本には1000-1500人前後のIBM患者がいると考えられる。自然歴を明らかにするためにIBMの臨床調査を今後も継続して行っていく。日本人のIBM患者は増加傾向にあり日本人での病態解析に基づいた治療法を開発することが今後も必要である。

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 疾病研究第一部・部長)

森 まどか (国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科・医師)

日下 博文 (関西医科大学 神経内科・教授)

樋口 逸郎 (鹿児島大学 神経内科・准教授)

村田 顕也 (和歌山県立医科大学 神経内科・教授)

山下 賢 (熊本大学 神経内科・助教)

梶 龍兒 (徳島大学 神経内科・教授)

A. 研究目的

封入体筋炎(Sporadic Inclusion Body Myositis:以下 IBM)は骨格筋に縁取り空胞と呼ばれる特徴的な組織変化を生じ炎症細胞浸潤を伴う難治性・進行性筋疾患であり、時に筋萎縮性側索硬化症(ALS)と鑑別困難な場合もある難病である。ステロイドや免疫グロブリン大量療法といった免疫学的治療に不応もしくはかえって増悪することもあり、有効な治療法は無い。これまで炎症性筋疾患とされていたが縁取り空胞にはAβ蛋白やユビキチンの存在が指摘され、アルツハイマー病との相同性が注目されており、「筋変性疾患」と分類し直すべき病態と考えられる。

IBMの診断基準は、1995年にGriggsらが提唱したものが改変されて用いられているが病理学的に多発筋炎との相違が問題になる例も多く、病理を中心とした診断基準では将来的な臨床治験を見据えると不十分である。欧米では高齢者の筋疾患の中で最多という報告もあるが、IBMの日本での自然歴や有病率は検討されたことがない。

国立精神・神経医療研究センターの筋バンクは世界にも類を見ない数の筋病理が保管されており、後向き調査を行う場合に非常に有用である。これを元に臨床経過をさかのぼって評価することでIBMの臨床経過の特徴をつかむことができる。この後向き調査を元に欧米で用いられている診断基準を見直し、IBM診断基準を作成する。協力施設からIBM患者情報を収集し、日本人IBM患者の臨床的特徴を抽出した。さらに今年度は神経内科専門医・患者アンケートにより有病率を推定し、自然歴を解析する。

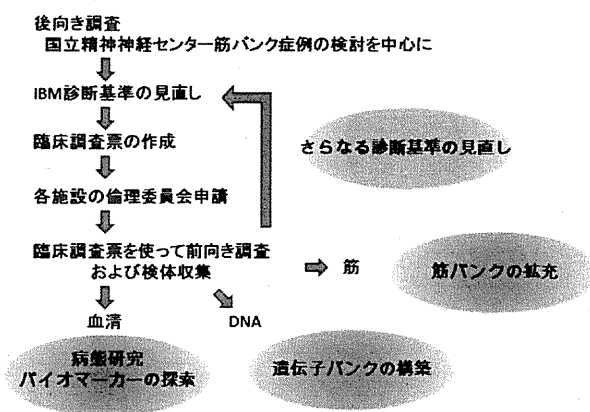
B. 研究方法

国立精神・神経医療研究センター神経研究所の筋バンクを用いて縁取り空胞を呈した難治性筋疾患の臨床的特徴の抽出を行う。臨床情報の追跡調査が必要な症例については後述の臨床調査票を作成し自然歴を明らかにする。この後向き調査を元に、国内外の文献検索とその検討を行いつつ診断基準を見直し、前向き調査で用いる臨床調査票を作成する。特にIBMで特徴的な手指屈筋・手関節屈筋・大腿四頭筋の筋力低下や免疫学的治療への反応性について詳細に調査する。これらは研究班構成員全員に配布して意見を交換する。

なお、患者からの臨床情報の取得およびDNAの採取に関しては「ヒトゲノム・遺伝

子解析研究に関する倫理指針」に従い、最初に東北大学医学部のヒトゲノム委員会および倫理委員会に研究計画書を提出する。その審議を経たのちに他施設のヒトゲノム委員会および倫理委員会に研究計画書を提出する。

さらに平成22年度には全国の神経内科専門医4587名に依頼し、IBMの2005-2009年の新規診断数、2009年の外来受診数を調査した。協力の得られる患者にアンケート調査を依頼し、自然歴について調査を行った。



〈研究の流れ図〉

C. 研究結果

平成21年度に国立精神・神経医療研究センターの全国からの検体情報と各協力施設の症例を検討し日本での有病率の概数を2003年時点で10万人当たり1.17人と推定した。これは1990年代前半の0.25人と比較して5倍弱の増加であり日本でIBMが増加していることを裏付ける結果であった。現在日本には1000-1500人前後のIBM患者がいると考えられこの疾患に対する対策の重要性を明らかにした。臨床的・病理学的にIBMと確定した121例の検討では男女比は1.23:1で男性にやや多く、初発年齢

は 64.4 ± 8.6 歳 (40-81)、初発症状は 74% が大腿四頭筋の脱力による階段登りなどの障害であった。嚥下障害は 23% に見られ生命予後を左右する要因の一つである。CK 値は 511.2 ± 368.1 (30-2401) IU/L だった。初発症状が出てから診断確定までに 52.7 ± 47.6 ヶ月 (4-288) かかっており、病理前診断が IBM だったものが半数程度であることから疾患の認知度を広めることも重要と考えられる。また HTLV-1 や HCV 陽性患者が 20%、家族歴のあるものが 5 例おり興味深い。この後向き調査を元に暫定的な日本語版の診断基準を作成した (末尾に添付)。さらに IBM の臨床調査票を作成し倫理委員会による検体収集を含めた調査の承認も得ている。

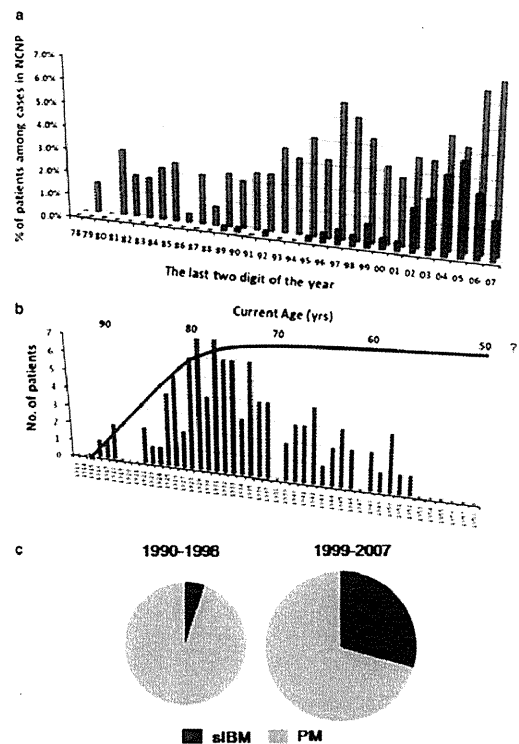
平成 22 年度は全国の神経内科専門医を対象に新規診断数および外来受診者数の調査を行った。2005 年からの 5 年間の神経内科専門医による新規診断数は 1047 名と算定された。この数値は昨年度、筋バンクで推定した数値と同程度であり、方法の妥当性が示されたものと考えている。

さらに IBM 患者に自己記入・郵送してもらう形で患者アンケートを行った。67 名 (男 49 名、女 18 名) から回答を得た。平均年齢は 73 歳、発症から平均 8.7 年経過していた。特に肉類を好んで食するのは 11% 程度だった。症状の出現時期としてはしゃがみ立ち不能が発症後 4.6 年、車椅子が 7.3 年、電動車椅子が 13.7 年、ペットボトルの開栓不能が 6.6 年、洗顔不能が 7.2 年であった。これらは将来的な治験などを行ううえで自然歴として重要なマイルストーンと考えられる。嚥下困難の出現時期、胃ろうの有無については追加調査が必要である。また今回の調査では患者の生の声が多く聞かれ、特

に精神的・経済的不安が見られた (添付表)。主介護者が年老いた配偶者であることも影響していると思われ、公費負担などの患者支援の必要性が感じられた。過去 10 年での日本人 IBM の患者数増加には第二次世界大戦後生れの発症数増加が寄与していると考えられる。生活習慣の欧米化も影響があるものと推測しており、疫学的に IBM の病因を推定する上でも貴重な資料となりうる。

平成 21 年度は研究協力施設のみの調査であったが、平成 22 年度の全国調査により患者数推計の裏づけを行うことができた。また病態把握や将来の治療開発のためには生体サンプルの収集や自然歴の把握が必要であり戦略的・継続的な調査が必須であると考えている。

さらに本研究班の成果として日本人での IBM の病理診断数の推移、PM との比較による有病率の推定を Journal of Neurology 誌に報告した (図)。戦後、患者数が増えていることの背景に生活の



欧米化、食生活の変化がある可能性を指摘している。さらにBrain and Nerve誌に日本語総説を、Medical Tribune誌には疾患に関する解説記事を掲載し、病気に関する認識を拡げることに役立っていると考えている。

暫定版：封入体筋炎（Inclusion Body Myositis：IBM）診断基準

診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴

- a. 他の部位に比して大腿四頭筋または手指屈筋（特に深指屈筋）が侵される進行性の筋力低下および筋萎縮
 - b. 筋力低下は数ヶ月以上の経過で緩徐に進行する
- *多くは発症後 5 年前後で日常生活に支障をきたす。数週間で歩行不能などの急性の経過はとらない
- c. 発症年齢は 40 歳以上
 - d. 安静時の血清 CK 値は 2,000 IU/L を越えない

（以下は参考所見）

- ・嚥下障害が見られる
- ・針筋電図では早期動員、PSW/Fibrillation/CRD の存在

B. 筋生検所見

筋内鞘への単核球浸潤を伴っており、かつ以下の所見を認める

- a. 縁取り空胞を伴う筋線維
- b. 非壊死線維への単核球の侵入や単核球による包囲

（以下は参考所見）

- ・筋線維の壊死・再生
- ・免疫染色が可能なら非壊死線維への単核細胞浸潤は主に CD8 陽性 T 細胞

- ・形態学的に正常な筋線維における MHC class I 発現
- ・筋線維内のユビキチン陽性封入体とアミロイド沈着
- ・COX 染色陰性の筋線維：年齢に比して高頻度
- ・（電子顕微鏡にて）核や細胞質における 16-20 nm のフィラメント状封入体の存在

合併しうる病態

HIV, HTLV-I, C 型肝炎ウイルス感染症

除外すべき疾患

- ・縁取り空胞を伴う筋疾患（眼咽頭型筋ジストロフィー・縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー・多発筋炎を含む）
 - ・他の炎症性筋疾患（多発筋炎・皮膚筋炎）
 - ・筋萎縮性側索硬化症などの運動ニューロン病
- *Myofibrillar myopathy (FHL1, Desmin, Filamin-C, Myotilin, BAG3, ZASP, Plectin 変異例) や Becker 型筋ジストロフィーも縁取り空胞が出現しうるので鑑別として念頭に入れる。特に家族性の場合には検討を要する

診断カテゴリー：診断には筋生検の施行が必須である

Definite A の a-d および B の a, b の全てを満たすもの

Probable A の a-d および B の a, bのうち、いずれか 5 項目を満たすもの

Possible A の a-d のみ満たすもの（筋生検で B の a, b のいずれもみられないもの）

参考文献

- ・ Griggs RC, Askanas V, DiMauro S, et al. Ann Neurol 1995;38:705-713.
- ・ Needham M, Mastaglia FL. Lancet Neurol 2007;6:620-631

D. 考察

全国からの検体情報と各協力施設の症例を検討することにより日本人 IBM の有病率を 10 万人当たり 1.17 人と推定した。これは 1990 年代前半の 0.25 人と比較して 5 倍弱の増加であり日本で IBM が増加していることを裏付ける結果であった。現在日本には 1000-1500 人前後の IBM 患者がいると推定できる。今回の後向き調査を元に暫定的な日本語版の診断基準を作成することができた。また患者アンケートにより病期のマイルストーンや患者の抱く不安について明らかにすることができた。

E. 結論

今後も継続して前向き調査での病態解明や患者数把握が必要である。同時に診断基準の精度についても検証していく。さらにモデルマウスの開発や患者血清・筋サンプルを用いた病態解明を行っていく。公費負担を含めた社会的支援も必要と考える。

F. 健康情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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 2011 (in press)

Suzuki N, Aoki M. Inclusion body myositis. Brain Nerve, 2011;63:1205-1215.

Suzuki N, Tateyama M, Warita H, Izumi R, Nishino I, Aoki M. Pathomechanism and prevalence of sporadic inclusion body myositis (sIBM). Rinsho Shinkeigaku 2011;51:964-6.

2. 学会発表

鈴木直輝、青木正志：第 52 回日本神経学会学術大会 企画シンポジウム 「筋炎研究最近の進歩」封入体筋炎の病態と頻度 第 52 回日本神経学会総会 2011 年 5 月 名古屋

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

分 担 研 究 報 告 書

「アジア初の骨 Paget 病と前頭側頭型認知症を伴う封入体性ミオパチー」

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

共同研究者： 石志鴻， 埜中征哉， 林由起子

（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

研究要旨

昨年度報告した 6 例に加えて、新たに 4 例の患者に見出した。1 例は、昨年度報告例の同胞、1 例はアルゼンチン人である。これにより、全 9 家系 10 例（日本人患者は全 7 家系 8 例）の骨 Paget 病と前頭側頭型認知症を伴う封入体性ミオパチーを見出したことになる。このことは、日本にも確かに前頭側頭型認知症を伴う封入体性ミオパチーが存在することを示している。日本人患者に注目すると、臨床病型では、5 例が遠位筋優位の筋力低下を示して縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー様の臨床型を示した。臨床病理学的に縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーと診断される例の 1.5%が IBMPFD であることが明らかとなった。比較的早期からの大腿四頭筋障害・左右差・筋痛などの症状や優性遺伝を示唆する家族歴が疑われる場合には、鑑別に有用な手がかりとなる可能性がある。

A. 研究目的

封入体筋炎の類縁疾患である骨 Paget 病と前頭側頭型認知症を伴う封入体性ミオパチー（inclusion body myopathy with Paget's disease of bone and frontotemporal dementia: IBMPFD）は valosing-containing protein (VCP) 遺伝子変異によることが知られ、これまでに世界各地から 40 家系以上が見出されている。昨年度は、日本人患者 5 名および韓国人患者 1 名を同定し、報告した。本年は追加で解析を進めて、更なる患者の同定に努めるべく VCP 遺伝子変異スクリーニングを行った。

B. 研究方法

臨床的あるいは病理学的に縁取り空

胞を伴う遠位型ミオパチーが疑われるものの GNE 遺伝子変異を有しない例（日本人患者 99 例）、縁取り空胞を伴う肢帯型筋ジストロフィー例（日本人患者 29 例）、縁取り空胞を伴うミオパチー（日本人患者 44 例）を対象として、ゲノム DNA 上で VCP 遺伝子のシーケンス解析を行った。また、骨格筋組織に対して、VCP を含む各種抗体を用いての免疫組織化学的検討ならびに電子顕微鏡的検討を行った。

（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

昨年度見出した6例(日本人5例、韓国人1例;男4例、女2例)の患者に加えて、新たに4例の患者(日本人3例、アルゼンチン人1例)(日本人例のうち1例は昨年度報告した例の同胞)を見出した。昨年度は、5種類のヘテロ接合型変異(p. R93C, p. R155H, p. R155C, pR191Q, p. A439P)(p. R155Cは日本人1例、韓国人1例に認められた)を見出していたが、今回は、新たに3種類(p. V87F, p. D98V, p. I126)の変異を見出した。今回新たに見出された変異は全て新規変異であった。昨年報告したp. A439Pと同様、コントロール DNA100 検体にはこれらの変異を認めなかった。

臨床的には、日本人8例のうち5例が遠位筋、特に前脛骨筋優位の筋力低下を示し、病理所見とも併せて、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーを疑われていた。ただし、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーとは異なり、大腿四頭筋もやられる傾向が認められた。また、このうち2例は肩甲骨腕部に非対称性の筋力低下・筋萎縮を来して、肩甲腓骨型筋障害を呈していた。これらの例では、顔面肩甲骨腕型筋ジストロフィーも鑑別に上がり、DNA診断が行われていた。3例は、近位筋優位の筋力低下を示し、肢帯型筋ジストロフィーの臨床診断を受けていた。

筋病理診断では、何れの例でも縁取り空胞を認めた。さらに、群萎縮や fiber type grouping といった神経原性変化が加わっていた。免疫染色では、TDP-43の筋核染色性が全般性に低下していた。一方、核内および細胞質内に TDP-43, VCP, HDAC6 陽性で、且つポリユビキチン化されている封入体を有する筋線維が散見された。対照として用いた縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー患者筋お

よび封入体筋炎患者筋では、TDP-43の染色性低下が見られる核はほとんど無く、また、核内・細胞質内の TDP-43/VCP/HDAC6 陽性封入体は認めなかった。一方、細胞質全体に VCP が強発現している筋線維が少数認められた。

D. 考察

変異が同定された日本人患者8例のうち、5例は臨床的あるいは病理学的所見から、当初、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーの可能性が疑われていた例であった。従って、GNE 変異を認めない例の約5%が VCP 変異による IBMPFD であることになる。以前我々は、臨床病理学的に縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーと診断される例の約2/3は GNE 変異を有するが、残り1/3は GNE 変異を認めないことを報告している(Nishino et al. Neurology 2002)。このことは、臨床病理学的に縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーと診断される例の1.5%が IBMPFDであることを示している。

ただし、常染色体優性遺伝形式を示唆する家族歴に加えて、詳細に見ると筋痛や筋力低下に左右差が認められたりする点が GNE 変異による縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーとは異なっている。また、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーでは、大腿四頭筋が病後期まで比較的良好に保存されるが、IBMPFD 患者では病初期より侵される点も鑑別の手がかりになると考えられた。

E. 結論

日本人にも IBMPFD が存在する。縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー類似の症候を呈することが多く、臨床病理学的に縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーと診断される例の1.5%が IBMPFD である。比較的早期からの大腿四頭筋障害・左右

差・筋痛などの症状や優性遺伝を示唆する家族歴が疑われる場合には、鑑別に有用な手がかりとなる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) Suzuki S, Ohta M, Shimizu Y, Hayashi YK, Nishino I: Anti-signal recognition particle myopathy in the first decade of life. *Pediatr Neurol.* 45 (2): 114-116, Aug, 2011.
- 3) 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.
- 4) Mitsuhashi S, Nishino I: Phospholipid synthetic defect and mitophagy in muscle disease. *Autophagy.* 7 (24): 1559-1561, Dec, 2011.
- 5) Fujita M, Mitsuhashi H, Isogai S, Nakata T, Kawakami A, Nonaka I, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I: 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.
- 6) 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, Jan, 2012.
- 7) 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.* Jul, 2011. [Epub ahead of print]
- 8) 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.* Oct, 2011. [Epub ahead of print]
- 9) 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. Oct, 2011. [Epub ahead of print]

- 10) Tsuburaya RS, Monma K, Oya Y, Nakayama T, Fukuda T, Sugie H, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Acid phosphatase-positive globular inclusions is a good diagnostic marker for two patients with adult-onset Pompe disease lacking disease specific pathology. Neuromuscul Disord. Dec, 2011. [Epub ahead of print]
- 11) Matsuura T, Minami N, Arahata H, Ohno K, Abe K, Hayashi YK, Nishino I: Myotonic dystrophy type 2 is rare in the Japanese population. J Hum Genet. Jan, 2012. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

なし

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

「封入体筋炎に対する免疫グロブリン大量療法の効果についての検討」

研究分担者：森まどか（国立精神・神経医療研究センター病院）
共同研究者：西川敦子、山本敏之、大矢寧、西野一三、村田美穂
（国立精神・神経医療研究センター病院）

研究要旨

来るべき封入体筋炎(IBM)の治験に備えて、IBMの経時変化および治療効果を判定できる評価項目を検討した。Definite/probable IBMにおいて、免疫グロブリン大量療法(IVIg)を施行した症例を対象とし、経時的に徒手筋力テスト、ピンチ力、握力、大腿四頭筋筋力測定、起立時間、10m歩行、6分間歩行（施行可能症例のみ）、嚥下機能検査(VF)、血液検査(CK, AST, ALT, アルドラーゼ、ミオグロビン、クレアチン・クレアチニン比)、呼吸機能検査、IBM機能評価尺度(IBM-FRS)を行うことを計画した。筋力測定、血液・生化学検査はvisitごと、嚥下機能検査は検査開始時と終了時に施行とした。6人がエントリーし、5名が低容量プレドニンの内服中であった。一例はSS-A陽性例であった。現在観察期間中であり中途経過の報告となるが、選択した検査項目は簡便かつ短時間で施行可能であった。SS-A陽性症例は初回投与から著明な治療効果を認めると、病因あるいは治療反応性に対するIBMのheterogeneityを示すと考えた。

A. 研究目的

封入体筋炎(inclusion body myositis, IBM)は手指屈筋・大腿四頭筋など特徴的な筋肉病変の分布を呈する炎症性筋疾患である。根治療法は存在しないが、過去に装具や薬剤を使った治験が多数行われており、免疫治療の進歩に伴い今後も継続されると予想される。多施設共同で施行可能な比較的簡便であるなIBMの病状評価項目の検討を計画した。

IVIgは難治性炎症性筋疾患への効果が示されており、IBMに対しても一部症例で嚥下障害に於いてついて治療効果のが見られることが知られている。

当科症例でIVIg投与に合わせた前向き研究を行い、症状変化と臨床症状の対応を検討する。

B. 研究方法

2010年IBM班診断基準のdefinite 3名、probable 3名の、計6名に対して、6週間毎に免疫グロブリン400mg/kg/日、5日間連続投与を行った。評価項目として、筋力、握力、ピンチ力、大腿四頭筋筋力、10m歩行、6分間歩行、IBM-FRS、嚥下機能、呼吸機能、CK値、アルドラーゼ値を用いた。

C. 研究結果

現在11例のみ検討終了、55例で治療及び評価の継続中である。Sjögren症候群を合併した11例でIVIg療法が著効し、筋力、握力、ピンチ力、大腿四頭筋筋力、10m歩行、6分間歩行、IBM-FRSで改善を認めた。その他の例では項目によりばらつきがあるが、日常生活動作の指標となる

IBM-FRS で悪化を認めた例はなかった。嚥下機能障害を認めた 11 例では嚥下機能には変化はなかった。CK 値、アルドラーゼ値は一定の傾向を示さなかった。

D. 考察

Sjögren 症候群を合併した例で IVIg 療法に対する反応が良好であったが、これらの例は通常の IBM とは病態が異なる可能性がある。Sjögren 症候群を合併した IBM では IVIg 療法を含めた免疫抑制治療を積極的に考慮してもよいと考える。

その他の例でも全項目で悪化を認めた例はなく、IVIg 療法による進行予防の可能性について、研究終了後にデータ解析を行い、cross-over 試験を検討したい。

E. 結論

Definite/probable IBM 患者 6 名に対し、6 週間毎に IVIg 療法を施行中であり、今後効果を検討していく予定である。我々が用いた評価項目は簡便に経過を観察することが可能であり、多施設共同研究に用いることができる用いられる可能性がある。Sjögren 症候群を合併した例で IVIg 療法の反応が特に良好であり、IBM の不均一性を示唆していると考えられた。今後、治療研究等の結果に、背景にある自己免疫疾患が影響を及ぼす可能性を考慮する必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 Mori-Yoshimura M, Okuma A, Oya Y, Fujimura-Kiyono C, Nakajima H, Matsuura K, Takemura A, Malicdan MC, Hayashi YK, Nonaka I, Murata M, Nishino I, Clinicopathological features of centronuclear myopathy in Japanese populations harboring mutations in Dynamin 2 J Clin Neurol Neurosurg accepted.

2. 学会発表 池田謙輔, 森まどか, 山本敏之, 大矢寧, 村田美穂「免疫抑制療法中に脳膿瘍を発症した抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチーの 50 歳男性例」2011 年神経感染症学会総会 (11 月 5 日東京)

3. 学会発表 池田謙輔, 森まどか, 近土善行, 中村治雅, 山本敏之, 大矢寧, 橋本明子, 清水潤, 西野一三, 村田美穂「抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチーの臨床・病理組織像と治療経過の検討」2011 年神経学会学術大会 (5 月 19 日名古屋)

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

「封入体筋炎における DNA 酸化損傷の研究」

研究分担者：日下 博文（関西医科大学神経内科）

共同研究者：中野 智、中村 聖香（大阪市立総合医療センター神経内科、
関西医科大学神経内科）

西井 誠、金子 鋭（関西医科大学神経内科）

研究要旨

封入体筋炎では活性化酸素による筋細胞の障害が示唆されている。Thymine glycol(TG)は生体内の活性化酸素などによってDNA中に生じ、チミン塩基にヒドロキシラジカル（・OH）が付加したものである。活性化酸素によるDNA損傷が筋変性と関係するかどうか証明するために、封入体筋炎において、TGの分布を検討した。封入体筋炎・多発筋炎・皮膚筋炎・その他の生検筋のクリオスタット切片を作成、1次抗体としてTGに対するモノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に検討した。封入体筋炎のリン酸化蛋白封入体のマーカーとしてリン酸化Elk-1(pElk-1)を用いた。封入体筋炎において、縁取り空胞をもつ筋線維や小径線維の一部で細胞質にTGの陽性封入体が見られた。他の疾患では同様の封入体は見られなかった。TG陽性封入体を細胞質にもつ筋線維は、pElk-1陽性封入体をもつ筋線維のうちの一部で認められた。蛍光二重染色では、TG陽性顆粒は、pElk-1陽性顆粒のうち一部で重なりが確認できた。以上より、封入体筋炎の筋線維変性にはDNAの酸化損傷が関与していると推定された。

A. 研究目的

Thymine glycol(TG)は生体内の活性化酸素などによって損傷されたDNA中に生じるものであり、チミン塩基にヒドロキシラジカル（・OH）が付加したものである。

封入体筋炎では活性化酸素による筋細胞の障害が示唆されている。活性化酸素によるDNA損傷を検証するために封入体筋炎の生検筋組織においてTGの分布を検討した。

B. 研究方法

病理学的診断基準を満たす、封入体筋炎(7例)・多発筋炎(5例)・皮膚筋炎(3例)・その他(7例)の生検筋の凍結連続クリオスタット切片を作成、1次抗体としてTGに対

するモノクローナル抗体(2E8、mouse monoclonal、1:10、JaICA)を用いペルオキシダーゼ法で免疫組織化学的に検討した。非特異的反応を除外するため、連続切片でDNase処理を行わないものを行ったものとを比較した。また、封入体筋炎のリン酸化蛋白封入体のマーカーとしてリン酸化Elk-1(pElk-1、rabbit polyclonal、1:75、Cell Signaling)を用い連続切片で免疫組織化学を行いTG染色と比較した。さらに上記2種の1次抗体と二本鎖DNAマーカー(DAPI)を用い蛍光多重染色法を行い検討した。標本の観察は光学顕微鏡とconfocal顕微鏡 ZEISS LSM510-METAで行った。

C. 研究結果

封入体筋炎において、縁取り空胞をもつ筋線維や小径線維の一部で細胞質に TG の陽性封入体がみられた。他の疾患において同様の封入体は認めなかった。DNase 処理により TG の免疫染色性は消失した。封入体筋炎に於いて TG 陽性封入体を細胞質にもつ筋線維は、pElk-1 陽性封入体をもつ筋線維の一部にみられた。蛍光多重染色では、TG 陽性顆粒は pElk-1 陽性顆粒のうちの一部で重なりが見られた。核 DNA マーカーである DAPI との重なりは認めなかった。

D. 考察

封入体筋炎の変性筋線維の細胞質で DNA 酸化損傷マーカーが観察されたことから、この疾患の筋線維変性に DNA の酸化損傷が関与していると推定される。リン酸化蛋白封入体とこの DNA 酸化損傷マーカーとの重なりが一部認められた結果については、分解処理しきれずに残った分子が互いに凝集体をなしている（いわゆる aggresome formation）などの機序が推定されるが、さらに今後の検討が必要である。DAPI は二本鎖 DNA に結合する蛍光色素であることから、TG と DAPI の重なりが見られなかったことは、TG を有する DNA は正常の二本鎖構造を保っていない、核が崩壊したため細胞質放出された DNA か、あるいはミトコンドリア DNA と推定される。

E. 結論

封入体筋炎の筋線維変性には、DNA の酸化損傷が関与していると推定される。

F. 健康危険情報

報告すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nishii M, Nakano S, Nakamura S, Wate R, Shinde A, Kaneko S, Kusaka H.

Myonuclear breakdown in sporadic inclusion body myositis is accompanied by DNA double strand breaks. *Neuromuscul Disord.* 2011 May;21(5):345-52.

2) Nakano S, Kusaka H. Myonuclear Breakdown in Sporadic Inclusion Body Myositis in “Idiopathic Inflammatory Myopathies - Recent Developments” Gran JT. Ed, *InTech*, September 2011, pp143-162.

3) Nakamura S, Nakano S, Nishii M, Kaneko S, Kusaka H. Localization of O-GlcNAc-modified proteins in neuromuscular diseases. *Medical Molecular Morphology*, in press

2. 学会発表

1) 封入体筋炎における DNA 酸化損傷マーカーの検討、第 52 回日本神経学会総会
中村聖香, 中野智, 西井誠, 中村正孝, 金子鋭, 日下博文 2011/05/19、名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

「封入体筋炎と肥大型心筋症を合併し、Myosin binding protein C3 遺伝子異常を認めた一剖検例」

研究分担者： 樋口逸郎

（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 神経内科老年病学）

共同研究者： 稲森由恵 1, 橋口昭大 1, 白石匡史 1, 東 桂子 1,

大窪隆一 1, 井上輝彦 2, 三山吉夫 2, 高嶋 博 1,

（1.鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 神経内科 老年病学

2.大悟病院老年期精神疾患センター）

研究要旨

封入体筋炎の経過中に肥大型心筋症を発症した剖検例を経験した。症例は 60 代後半の男性で、肩甲帯、大腿四頭筋、前腕屈筋群に目立つ緩徐進行性の筋力低下筋萎縮を認め、筋生検にて封入体筋炎と診断された。免疫療法を施行したが無効であり、診断後数年で終日ベッド臥床となった。診断から 5 年後、突然死され剖検にて肥大型心筋症に伴う不整脈死と診断された。症例の姉にも同様の筋萎縮・筋力低下を認めた（詳細不明）。また、血清 HTLV-1 抗体陽性であった。

剖検では横隔膜を含めた複数筋（上腕二頭筋、大腿直筋、腸腰筋、腹直筋、横隔膜）に炎症細胞浸潤と rimmed vacuole を認めたが、その程度は様々であった。Hypertrophy の程度や COX 欠損線維の頻度が筋力と関連しているように思われた。筋力生検筋と剖検筋における経時的変化について検討すると、免疫療法にて炎症性変化は抑制されているにも関わらず、rimmed vacuole の出現頻度や p62, TAR DNA-binding protein 43 陽性 deposit の頻度は増加しており、封入体筋炎の進行過程においては炎症よりも筋変性がより関与している可能性が示唆された。

また、分子遺伝学的検討にて家族性肥大型心筋症の原因遺伝子のひとつである Myosin binding protein C3 (MYBPC3) 遺伝子に T1046M 変異を認めた。本例は封入体筋炎としては非典型的な臨床像を呈しており、本例の骨格筋病変に HTLV-1 感染や MYBPC3 遺伝子 T1046M 変異が修飾因子として関与した可能性が考えられた。

A. 研究目的

封入体筋炎の経過中に肥大型心筋症を発症した一剖検例をについて臨床的特徴を明らかにし、経時変化を含め、複数筋における筋病理学的検討を行う。また、分子遺伝学的検討を行う。

B. 研究方法

【症例】60 代後半の男性。血清 HTLV-1 抗体陽性。肩甲帯、大腿四頭筋、前腕屈筋群に目立つ緩徐進行性の筋力低下・筋萎縮を認めた。本例の姉にも同様の筋力低下・筋萎縮を認めた（詳細不明）。筋生検にて炎症細胞浸潤と rimmed

vacuole, MHC class I のびまん性の発現を認め、封入体筋炎と診断。免疫療法を施行したが効果なく、数年で終日ベッド臥床となった。診断から5年後、突然死され、剖検にて肥大型心筋症に伴う不整脈死と診断された。

横隔膜を含めた複数筋(上腕二頭筋, 腹直筋, 腸腰筋, 大腿四頭筋, 横隔膜)および心筋の一般組織学的および免疫組織化学的染色(CD8, CD4, MHC-class I, TAR DNA-binding protein 43:TDP43, p62/sequestosomel)について検討する。上腕二頭筋における経時的変化について検討する。

脳組織の組織学的染色(H.E, Bielschowsky 銀染色)について検討する。

家族性肥大型心筋症の原因遺伝子で頻度が高いとされる cardiac MYBPC (*MYBPC3*), β -myosin heavy chain (*MYH7*), cardiac troponin T (*TNNT2*) について, direct sequencing にて検討した。

C. 研究結果

横隔膜を含めた全ての筋で炎症細胞浸潤や rimmed vacuole を認めたが, その程度は様々であった。病初期より筋力低下・筋萎縮が目立った筋では hypertrophy があまり見られず, COX 欠損線維の頻度が高い傾向にあった。経時的変化では, 生検筋と比較し剖検筋では炎症細胞浸潤は明らかに減少し, MHC class I の発現は消失していた。

また, rimmed vacuole の出現頻度は増加し, p62; TDP43 陽性 deposit の出現頻度も増加していた。

剖検心筋では肉眼的に左室肥大を認め, 組織学的に錯綜配列, 肥大心筋を認め, 肥大型心筋症を示唆する所見を呈し

た。心筋内に炎症細胞浸潤は認めなかった。

剖検脳は重量 1460g。肉眼的に海馬を含めた大脳皮質の明らかな萎縮は認めなかった。組織学的に神経細胞脱落や老人班はほとんど認めず, 神経原線維変化は海馬, 海馬傍回にてわずかに認めるのみであった (Braak stage II)。

分子遺伝学的検索にて, MYBPC3 遺伝子 T1046M 変異を認めた (家族性肥大型心筋症の原因変異として既報告)。

D. 考察

臨床的には同胞に同様症状を認める点, 病初期より肩甲帯の筋力低下・筋萎縮が目立った点, 比較的進行が速い点, HTLV-1 キャリアである点が特徴的であった。

筋病理では臨床的に明らかな呼吸障害は認められなかったが, 横隔膜を含めた全ての筋が involve されていた。経時的変化では, 免疫療法にて炎症性変化は抑制されていたにも関わらず, rimmed vacuole, p62, TDP43 の出現頻度は増加しており, 封入体筋炎の進行過程においては炎症よりも筋変性がより関与している可能性が示唆された。

本例は封入体筋炎としては非典型的な臨床像を呈しており, 本例の骨格筋病変に MYBPC3 遺伝子変異や HTLV-1 感染が修飾因子として関与した可能性が考えられた。

E. 結論

封入体筋炎に肥大型心筋症を合併した剖検例を経験した。MYBPC3 遺伝子変異, HTLV-1 感染を認め, これらが病態に関与した可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

なし