

2011-28078B

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 22 年度～ 23 年度 総合研究報告書

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. 総合研究報告書

- 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. 封入体筋炎の臨床評価項目と鑑別診断についての検討 ----- 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 損傷の研究 ----- 14
関西医科大学 神経内科 日下 博文
4. 肥大型心筋症を伴った封入体筋炎について ----- 17
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. 嚥下障害を有する封入体筋炎患者へのバルーンカテーテル拡張法の検討および封入体筋炎患者の画像診断 ----- 20
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. 封入体筋炎におけるエコーの有用性と非典型例の検討 ----- 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

平成 22 年度

研究代表者	青木 正志	東北大学 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
	近藤 智善	和歌山県立医科大学 神経内科
	内野 誠	熊本大学大学院 神経内科学分野
	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	鈴木 直輝	東北大学 神経内科
	金森 洋子	東北大学 神経内科

平成 23 年度

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 合 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ることがない。

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始めて策定した。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）

近藤 智善（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、有効な治療法はない。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。

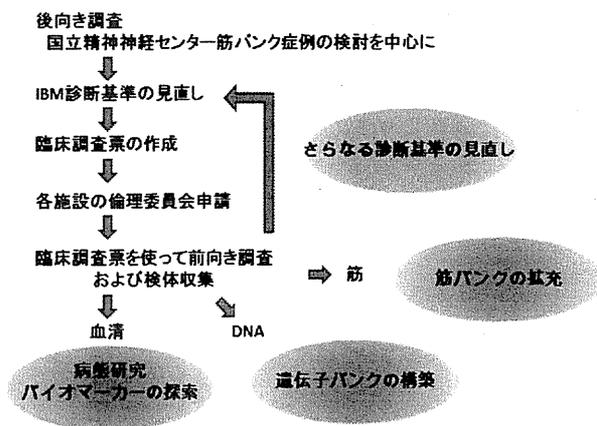
B. 研究方法

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。

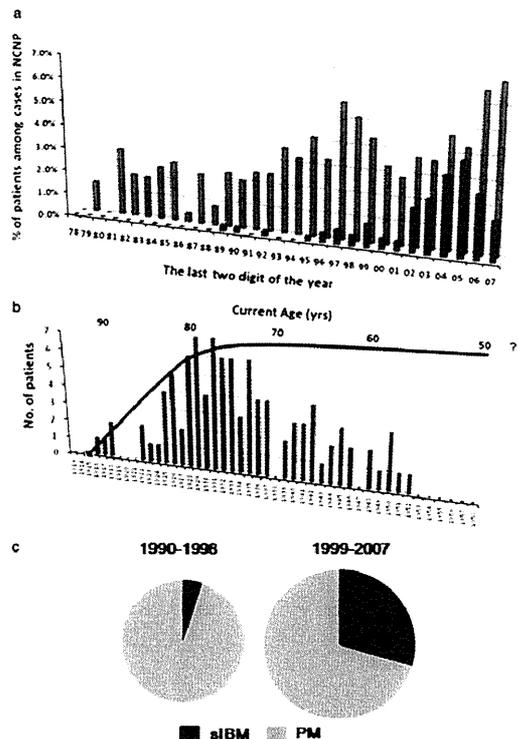
さらに IBM 患者に自己記入・郵送してもらう形で患者アンケートを行った。67名 (男49名、女18名) から回答を得た。平均年齢は73歳、発症から平均8.7年経過していた。特に肉類を好んで食するのは11%程度だった。症状の出現時期としてはしゃがみ立ち不能が発症後4.6年、車椅子が7.3年、電動車椅子が13.7年、ペットボトルの開栓不能が6.6年、洗顔不能が7.2年であった。これらは将来的な治験などを行ううえで自然歴として重要なマイルストーンと考えられる。嚥下困難の出現時期、胃ろうの有無については追加調査が必要である。また今回の調査では患者の生の

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)。主介護者が年配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られる。

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. 健康危険情報

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、青木正志ら：日本における封入体筋炎の臨床・病理学的特徴の検討。第 51 回日本神経学会総会 2010 年 5 月 東京

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

全 172 例（非 GNE 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー 99 例、縁取り空胞を伴う肢帯型筋ジストロフィー 29 例、縁取り空胞を伴う非特異的ミオパチー 44 例）の日本人患者を調べ。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（inclusion body myopathy with Paget's disease of bone and frontotemporal dementia: IBMPFD）患者を見出した。日本にも確かに IBMPFD が存在することを示している。臨床病型では、5 例が遠位筋優位の筋力低下を示しており、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、臨床的鑑別に有用である。病理学的には、縁取り空胞に加えて神経原性変化を認める。また、免疫染色では、TDP-43 の筋核染色性が全般性に低下するとともに、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が筋線維の核内および細胞質内に認められる。

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。本邦にも IBMPFD 患者がいるかどうかを明らかにすべく、VCP 遺伝子変異スクリーニングを行った。また、変異が同定された例について、筋病理学的特徴を明らかにすべく、組織化学染色標本を再検討するとともに、VCP, TDP-43 などに対する免疫染色を行い、病態を明らかにしようとした。

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、筋病理組織化学染色標本を再検討するとともに、骨格筋組織に対して、VCP や TDP-43 を含む各種抗体を用いての免疫組織化学的検討を行った。

（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

7家系8例でVCP遺伝子変異を見出した。全ての家系で異なるヘテロ接合型変異(p. V87F, p. R93C, p. I126F, p. R155C, p. R155H, pR191Q, p. A439P)を有していた。このうち、p. V87F, p. I126F, p. A439Pの3変異は過去に報告のない新規変異であったが、コントロールDNA100検体にはこれらの変異は認められなかった。また、併せて、韓国人1例(p. R155C)、アルゼンチン人1例(p. D98V)にも変異を見出した。これらの患者は、それぞれ、遠位型ミオパチーと非特異的ミオパチーの病型を呈していた。

臨床的には、同定された日本人IBMPFD患者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、大腿四頭筋が比較的早期から障害される傾向が認められた。また、このうち2例は肩甲骨上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、顔面肩甲骨上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。

また、縁取り空胞の出現に加えて、神経原性変化が様々な程度で加わっていることが特徴であった。免疫染色では、TDP-43の筋核染色性が全般性に低下している点、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が筋線維の核内および細胞質内に認められる点が、特徴的であると考えられた。

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臨床・病理像を呈することが多い。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%、GNE に変異を認めない縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー一例の 5%が IBMPFD である。臨床的には、比較的早期からの大腿四頭筋障害・左右差・筋痛などの症状および、常染色体優性遺伝を示唆する家族歴が鑑別に有用である。病理学的には、縁取り空胞に加えて、神経原性変化が認められることが特徴であった。免疫染色では、TDP-43 の筋核染色性が全般性に低下し、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が筋線維の核内および細胞質内に認められる。

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, Sukanami 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) Toussaint A, Cowling BS, Hnia K, Mohr M, Oldfors A, Schwab Y, Yis U, Maisonobe T, Stojkovic T, Wallgren-Pettersson C, Laugel V, Echaniz-Laguna A, Mandel JL, Nishino I, Laporte J: Defects in amphiphysin 2 (BIN1) and triads in several forms of centronuclear myopathies. *Acta Neuropathol* 121: 253-266, Feb, 2011.
- 3) Mitsuhashi S, Ohkuma A, Talim B, Karahashi M, Koumura T, Aoyama C, Kurihara M, Quinlivan R, Sewry C, Mitsuhashi H, Goto K, Koksai 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Mitsuhashi S, Nishino I: Phospholipid synthetic defect and mitophagy in muscle disease. *Autophagy.* 7 (24): 1559-1561, Dec, 2011.

- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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]
- 10) 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]
- 11) 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]
- 12) 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]
- 13) 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
- 1) 西野一三：26 年来の緩徐進行性の筋力低下と筋委縮を示す 58 歳男性。第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会，東京，4.23, 2010.
- 2) 西野一三：封入体筋炎とは？ 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 19 回国際リウマチシンポジウム，神戸，4.24, 2010.
- 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

「封入体筋炎の臨床評価項目と鑑別診断についての検討」

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）の治験に備えてそなえて、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、経時的に臨床評価および血液検査・嚥下造影検査を行うことを計画し実行した。またIVIgの有効性について多数例での詳細な検討を行った。

加えて、診断精度の向上のため、IBMとの鑑別が困難であった類似症例、およびIBMとしては治療反応性が著しく良好であったSjögren症候群合併IBMについて検討し、診断基準へのフィードバックを考察した。

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。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。

また、長期経過の筋炎や一部の非典型的経過を取る筋炎では、IMBBMに認められる手指屈筋に強い罹患パターンや著明な嚥下障害を呈する。IBM以外の炎症性筋疾患とIBMとの鑑別について検討した。

B. 研究方法

【研究1】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。

【研究2】当科で経験した炎症性筋疾患で、①IBMと類似の筋病変分布を取った一例。②IBM同様嚥下障害を呈するSRPP抗体陽性例との鑑別について、当院で2008年以降診断・治療を受けたSRPミオパチー5例（男性2名2、女性3名3）の後ろ向き検討を行い、全例で嚥下造影および筋病理検査の結果をIBMと比較検討した。

C. 研究結果

【研究1】現在①1例のみ検討終了、②5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無かった。CK値、アルドラーゼ値は一定の傾向を示さなかった。

【研究2】①類似の筋力低下を示した1例は発症後7年で嚥下障害なし、手指屈筋筋力2、前脛骨筋および大腿四頭筋の萎縮も高度、病理所見で縁取り空胞や封入体を欠き、筋束内にCD8 (+) T細胞に加えCD4 (+) T細胞、CD20 (+) B細胞の浸潤が見られた点がIBMと異なっていた。またステロイドへの反応も良好であった。②自覚症状がない2例を含め全例に嚥下造影 (VF) で咽頭収縮の低下や水分・固形物の残留、1例に誤嚥を認めたが輪状咽頭筋開大不全は認めず咽頭筋の収縮力低下・萎縮が主体だった。筋病理では壊死・再生線維が目立ち、3例では炎症細胞浸潤は目立たず、HLA-ABC異所性発現を認める筋線維の比率は20%-100%であった。全例経口ステロイドで治療開始したが、3例は漸減中に再燃、1例でステロイドミオパチーを合併し、1例は糖尿病がありステロイド早期減量を要し、全例に免疫抑制剤の追加投与でさらに改善を認めた。治療により筋力と嚥下障害が改善した後もVFでの改善は乏しかった。

D. 考察

IBMの患者数は国内で1500人以上と推定され、高齢者を中心に全国に散在して

いると考えられる。臨床研究や治験は筋疾患の拠点病院のみならず地域の中核病院も参加できることが望ましい。我々が行った臨床評価は、高額な機器や特別な訓練を必要とせず施行可能であり、多施設共同研究に有用であると思われる。各評価項目の有効性はIVIgの有効性と併せて合わせて研究終了時に解析を行う予定である。現在まで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。

鑑別困難例に対しては臨床・病理評価を詳細に行う必要がある。VFでの輪状咽頭筋開大不全やrimmed vacuoleは一定の判断指標になる一方特異所見ではなく、IBMで治療効果が乏しいのに対し類似の病態で治療反応性を認めたことから、確定診断が困難な場合、類似疾患の可能性も考えて診断的治療を行うことをも考慮するべきである。

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IBMとは病態が異なる可能性がある。

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られる用いることができる可能性がある。

Sjögren症候群合併例は治療への反応が良好であったことから、Sjögren症候群合併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、今後症例を重ねる必要がある。

IBM類似症例は治療反応性が良好であ

り、診断困難例に関しては臨床・病理学的鑑別を行い、場合により診断的治療を行うことも必要と考えた。

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)

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

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

「封入体筋炎における DNA 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

初年度の研究では、封入体筋炎の核変性がDNA損傷を伴っているかどうかを検証した。封入体筋炎における筋病理上の診断的特徴である縁取り空胞には核由来成分が証明されており、空胞は主に筋核の変性産物と考えられる。封入体筋炎から得られた生検筋を用い、リン酸化ヒストンH2AX (γ -H2AX : DNA二本鎖切断の組織学的マーカー) とDNA-PKに対する特異抗体を用いてDNA二本鎖切断の有無を免疫組織化学的に検討した。封入体筋炎の空胞辺縁には γ -H2AXとDNA-PKの3因子(DNA-PKcs, Ku70, Ku80)の陽性沈着物が観察された。また、Ku70と核膜成分であるエメリン、DNAの3重蛍光染色では、核の崩壊像が明瞭に観察され、またKu70の核内への輸送障害が示唆される像が得られた。封入体筋炎の非空胞化線維に比べ、空胞化筋線維では γ -H2AX陽性核の割合が有意に高値であった。以上より、封入体筋炎では筋細胞の核膜になんらかの異常が生じ、核の脆弱性やDNA二本鎖切断、核輸送障害を惹起しているものと推定された。平成23年度は、活性化酸素によるDNA損傷が封入体筋炎の筋変性と関係するかどうか証明するため、Thymine glycol(TG)の分布を検討した。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(\cdot OH)が付加したものである。免疫組織学的検討の結果、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の陽性封入体が見られた。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

封入体筋炎は50歳以上のミオパチーの原因としてかなりの部分を占めるが、未だに有効な治療法が見出されていない。

封入体筋炎の筋病理は、炎症細胞浸潤像のほかに、縁取り空胞がみられることが特徴である。この縁取り空胞の由来は細胞核であることを示した仕事はいくつか発表されている。この核の異常がDNA損傷を伴っているかを明らかにすること

が本研究の目的である。DNA損傷としてDNA二本鎖切断(DSB)を対象とした。また、活性化酸素によるDNA損傷の有無を検証するためThymine glycol(TG)の分布を検討した。

B. 研究方法

(22年度) DSBのマーカーとして広く用いられているリン酸化ヒストンH2AX (γ -H2AX) に対する特異抗体、DSB修復

酵素 DNA-PK の 3 つの構成因子 DNA-PKcs、Ku70 および Ku80 に対する特異抗体を用いて免疫組織化学（ペルオキシダーゼ法、蛍光多重染色法）、免疫電顕により検討した。

（23年度）

Thymine glycol(TG)の分布を免疫組織化学的に検討した。

C. 研究結果

（22年度） γ -H2AXの免疫組織化学では、病理学的所見のない例ではほとんど陽性反応を認めなかった。皮膚筋炎の perifascicular atrophy にある筋線維の核や神経原性筋萎縮症の grouped atrophy の小径角化線維の核で陽性反応をみとめた。封入体筋炎組織では、 $74.1 \pm 13.0\%$ （平均 \pm SD）の空胞化線維の空胞辺縁に陽性沈着物を認めた。また、筋核に注目すると、空胞化線維で $64.7 \pm 7.1\%$ （平均 \pm SD）、非空胞化線維では $25.7 \pm 8.7\%$ の核で陽性であり、有意 ($p < 0.01$) に空胞化線維の核が γ -H2AX に陽性であった。つぎに DNA-PK の免疫組織化学では、いずれのコンポーネントも空胞辺縁でしばしば陽性反応を認めた。また Ku70 は細胞質に封入体を形成していた。次に Ku70 の分布を蛍光 3 重染色（Ku70、エメリン[核膜のマーカー]、DNA）で検討したところ、再生筋線維では Ku70 はエメリンで囲まれた範囲内に局限していたが、封入体筋炎の空胞化線維ではその位置関係がくずれて、Ku70 陽性沈着物と核の断片と入り乱れてみられた。また、核膜が破れている像も見られた。一方、核膜が破れておらず Ku70 が核外にあるような像も観察された。免疫電顕では、細胞質の Ku70 陽性沈着物、核由来と考えられる構造物の周囲に陽性沈着物を認めた。

（23年度）

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 陽性封入体をもち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

封入体筋炎の筋細胞では、核の変性・空胞形成と並行して DNA 二本鎖切断 (DSB) が生じている。また、DSB 修復酵素活性化因子 Ku70 の細胞質・核間輸送の障害が認められ、このことがさらに DSB を促進させていると考える。

Perifascicular atrophy の筋細胞核など、一部の病的筋線維の核でも γ -H2AX 陽性を示したことから、封入体筋炎では、筋細胞核崩壊を生じさせる別のファクターを考える必要がある。核膜は老化により核孔蛋白、核膜の裏打ち蛋白であるラミンが変性し、物理的に脆弱になる、あるいは、核細胞質間輸送障害が起こるなどの変化が明らかにされており、封入体筋炎の核変性には、核膜の老化が関与している可能性がある。

次に、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。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

封入体筋炎の筋細胞の核変性・縁取り空胞形成には DNA 二本鎖切断が関与している。老化などによる核膜変性によりこれらの変化が生じていると推定される。今後は核膜構成成分の変化についての検討が必要である。

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) 中村聖香, 中野智, 西井誠, 金子鋭, 日下博文: 封入体筋炎組織の空胞における核膜とライソゾーム成分の比較. 第 51 回日本神経学会学術大会 2010 年 5 月 20 日 東京

2) 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 年 5 月 19 日, 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし