

特集 ミオパチー—最近の知見—

骨格筋チャンネル病*
—ミオトニー症候群と周期性四肢麻痺—

● 久保田智哉** / 佐々木良元*** / 高橋正紀**

Key Words : myotonia, paramyotonia, hypokalemic, hyperkalemic, ion channel

はじめに

骨格筋細胞膜にはさまざまなイオンチャンネルが存在し、骨格筋の電気的活動を担っている。これらのイオンチャンネルの機能異常はミオトニーや麻痺といった症状を呈する疾患の原因となり、筋チャンネル病と総称される。本稿では、まず骨格筋におけるイオンチャンネルの役割について概説し、筋チャンネル病の臨床像・病態生理の最近の知見について、ミオトニー症候群と周期性四肢麻痺を中心に述べる。

筋細胞膜の興奮性

1. 平衡電位と静止膜電位

異なるイオン組成の細胞内外は筋細胞膜で隔られている。イオン濃度に違いがあるとイオンはその濃度勾配に従って移動するが、イオンのもつ電荷により細胞膜内外の電位差が生じる。一方、この電位差によってイオンは濃度勾配と逆方向の電気的勾配による力を受ける。この濃度勾配による力と電気的勾配による力が釣り合う時、見かけ上イオンの移動も電位変化もない

状態となる。この電位を平衡電位と呼び、各イオンについて細胞内外の濃度からNernstの式により求められる(図1)。

筋細胞内外には Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- などのイオンが存在し、各イオンは個々の平衡電位をもつ。また、細胞膜には選択的にイオンを通すイオンチャンネルが存在し、それぞれ独自のイオン透過性(コンダクタンス)をもつ。膜電位がある値(V)の時、各イオンの平衡電位(E_x)との差($V-E_x$)とチャンネルのコンダクタンスの積に応じてイオン電流が流れる。この電流の総和が0の時、電位は一定となる。これが静止膜電位である(図2)。実際の筋細胞膜の静止膜電位は約 -90mV であり、 K^+ イオンの平衡電位と近い値である。これは静止時のコンダクタンスの多くをKチャンネルが占めるからであり、 K^+ イオン濃度は静止膜電位に大きく関与することがわかる。また、 Cl^- イオンは最多の陰イオンであり、その平衡電位は静止膜電位に近い値を取る。骨格筋では神経などに比べて Cl^- チャンネルは豊富に発現している[骨格筋型 Cl^- チャンネル(ClC-1)]。電位変化に比例して Cl^- イオンを通す性質をもつため、膜電位を安定化させる効果をもつ。

2. 活動電位の発生

活動電位発生の主な担い手は骨格筋型 Na^+ チャ

* Channelopathies of skeletal muscle—myotonic syndromes and periodic paralysis—.

** Tomoya KUBOTA, M.D., Ph.D. & Masanori P. TAKAHASHI, M.D., Ph.D.: 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学[〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2]; Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka 565-0871, Japan.

*** Ryogen SASAKI, M.D., Ph.D.: 三重大学大学院医学系研究科神経病態内科学; Department of Neurology, Mie University Graduate School of Medicine, Tsu, Mie, Japan.

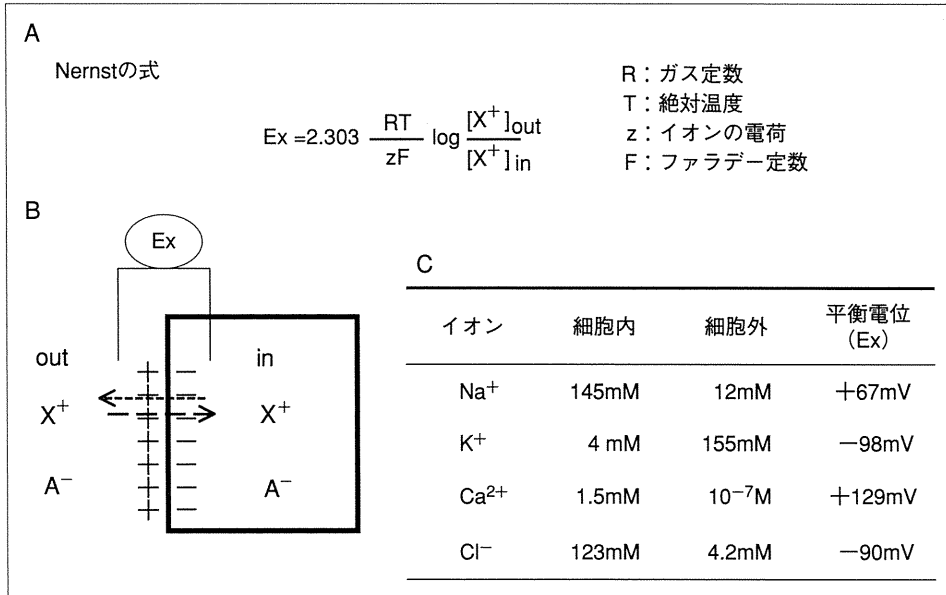


図1 平衡電位

A, B : 細胞膜に隔てられたある陽イオンX⁺について、このイオンの細胞内濃度が細胞外より高い時、細胞内から細胞外へと濃度勾配によって移動しようとする (B : 短破線)。反対に荷電する陰イオンA⁻に膜透過性がなく内外の移動がない場合、X⁺の移動により細胞内外に電位差が生じ、X⁺は電荷を有するため濃度勾配と逆向きに電氣的勾配による力を受ける (B : 長破線)。このようにイオンの濃度勾配と電氣的勾配が釣り合う電位をそのイオンの平衡電位と呼ぶ。各イオンの平衡電位はNernstの式で求められる。C : 筋細胞における内外イオン濃度と平衡電位を示す。

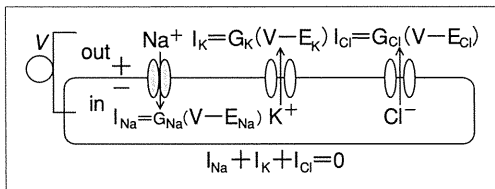


図2 静止膜電位

筋細胞膜上のNaチャンネル、Kチャンネル、Clチャンネルを示す。各イオンチャンネルにおいて、図の矢印の方向にイオン電流が流れる。これらのイオン電流の総和が0の時の電位が筋細胞膜の静止膜電位である (V : 膜電位, G_x : 各イオンチャンネルのコンダクタンス, E_x : 各イオンの平衡電位, I_x : 各イオン電流. x : Na⁺, K⁺, Cl⁻)。

ネル (Nav1.4)である。Nav1.4には活性化しチャンネルが開いた状態 (O)、チャンネルが閉じている状態 (C)、不活化している状態 (I)がある。不活化状態はイオンを透過しないという点では閉じている状態と同様であるが、電位が変化しても透過可能にはならないという点で異なる (話はそれるが、軸索不応期の基本機序)。不活化にはその

時間経過から速い不活化と遅い不活化の少なくとも2種類がある。速い不活化は、活動電位発生後の再分極に関与する (図3, 4)。遅い不活化については数百msから数sec以上の長い脱分極により生じる不活化状態で、複数の状態があると考えられているが、詳細は不明な部分が多い。

筋細胞に電流が流れると膜電位が上昇し始める。上昇するにつれ外向きのK電流・Cl電流、内向きのNa電流が流れ始める。膜電位がある程度まで上昇するとNa電流が急激に増加し、膜電位上昇が加速して活動電位が発生する。ピークに達した膜電位は再分極に向うが、その過程はNa電流の減衰 (速い不活化)、K電流、Cl電流の三つのバランスによって決まる。膜が十分に再分極しない場合、再度Na電流が活性化されて脱分極してしまい自発性反復放電 (ミオトニー放電)が発生する。たとえば、CIC-1の量が減ると再分極させる働きが减弱してしまい細胞膜が興奮しやすくなる。一方、Nav1.4に関しては不活化の障害、活性化の亢進が興奮性亢進の原因として

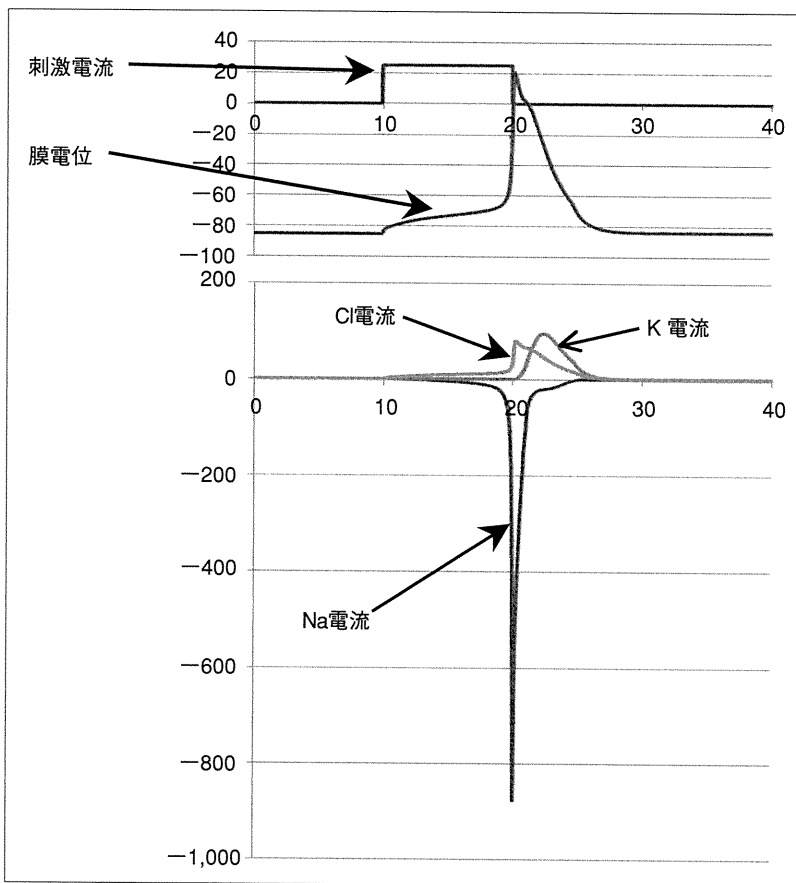


図3 活動電位

筋細胞膜に矩形波電流が流れた際の活動電位の発生とその時の各イオン電流を示す(ここで矩形波電流を用いているのはシミュレーションのためで、生体内ではアセチルコリン受容体チャネルを介する電流などに相当する)。膜電位が上昇していき細胞内へNa電流が急激に流れ始めるとともに膜電位も急激に上昇し、活動電位を形成するのがわかる。再分極はNa電流の減少、K電流、Cl電流の三つのバランスで成り立つ。

あげられる(図4)。

筋チャンネル病の分類

筋チャンネル病はミオトニーが主な疾患と、麻痺症状が主な疾患とに大別できるが、両者が混在しはっきりと区別し難い例もよくみられる。また、チャンネル遺伝子の変異によるもの(一次性または遺伝性)とほかの原因によりチャンネルの発現や機能が影響を受けて発症するもの(二次性)とがある(図5)。

ミオトニーは随意運動または叩打により誘発された筋収縮の弛緩遅延と定義され、把握ミオトニーや叩打ミオトニーとして観察される。その生理学的本態は筋細胞膜の異常な興奮性亢進

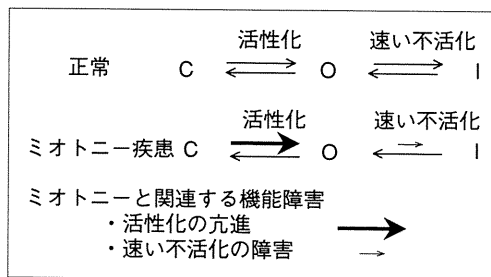


図4 Nav1.4異常によるミオトニーの病態生理

Nav1.4の活性化しチャンネルが開いた状態(O)、チャンネルが閉じている状態(C)、不活化している状態(I)を模式的に示す。活性化が亢進、速い不活化が障害、もしくはその両方により、Nav1.4は開いた状態(O)になりやすく興奮性が亢進した状態となりミオトニー放電が生じる。Na電流と筋細胞膜電位の関係については図6-Bも参照。

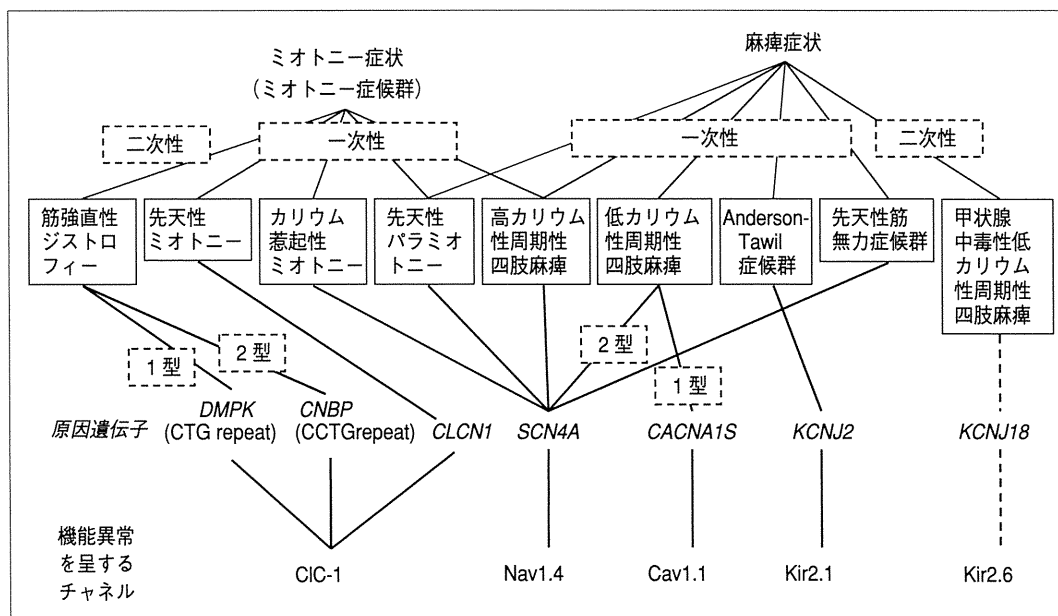


図5 骨格筋チャンネル病の分類

骨格筋チャンネル病はミオトニーを主症状とするものと麻痺を主症状とするものとに大別される。各疾患の原因遺伝子, 原因となるチャンネルを示す。麻痺を主症状とする二次性骨格筋チャンネル病としては重症筋無力症やLambert-Eaton症候群も広義には含まれるが, ここでは割愛する。

である。ミオトニーを呈する疾患群を総称しミオトニー症候群と呼ぶ¹⁾。一次性ミオトニー症候群は非ジストロフィー性ミオトニー症候群 (nondystrophic myotonia) と呼ばれるが, 実際には筋萎縮を呈する症例も散見される。一方, 麻痺症状の本態は, 細胞膜の脱分極が持続することによりNaチャンネルが不活化した状態になることで起こる脱分極性麻痺であり, 細胞膜異常興奮による症状という点でミオトニー症候群と共通の病態を背景にもつ。

1. ミオトニー症候群

a. 骨格筋型Clチャンネル(CIC-1)異常によるミオトニー

CIC-1は第7染色体上にあるCLCN1遺伝子にコードされており, 二つの同一の分子(サブユニット)から構成されるダイマーである。各サブユニットはプロトポアと呼ばれるイオン伝達経路を別々に形成している。CIC-1異常によるミオトニーはCIC-1の機能低下・発現量の低下(loss of function)による。

(1)先天性ミオトニー(Thomsen病, Becker病) 先天性ミオトニー(myotonia congenita : MC)

は外眼筋, 顔面筋や舌筋を含む全身の骨格筋にみられるミオトニーと筋肥大を特徴とする。筋緊張は筋を繰り返して収縮させることにより軽減する(warm-up現象)。優性遺伝型をThomsen病, 劣性遺伝型をBecker病と呼ぶ。Becker病の方がThomsen病よりも重度となる傾向がある。優性遺伝形式でも発症する理由として, 正常チャンネルの機能に影響する優性陰性(dominant negative)変異によるとされている。

(2)筋強直性ジストロフィー(dystrophia myotonica : DM)

成人の筋ジストロフィーの中で最多である。筋萎縮・筋力低下, ミオトニーを主徴とする常染色体優性遺伝性疾患で, 1型(DM1)と2型(DM2)が知られている。DM1は, 第19染色体上のDMPK遺伝子にあるCTG反復配列の反復回数延長(>50回)が原因であり, わが国ではほとんどがDM1である。DM1の主な病態については, CTG反復配列伸長に起因したスプライシング因子の量的変化による種々のmRNAのスプライシング異常であることが明らかになりつつある。ミオトニーはスプライシング異常によりCIC-1の発現が低下す

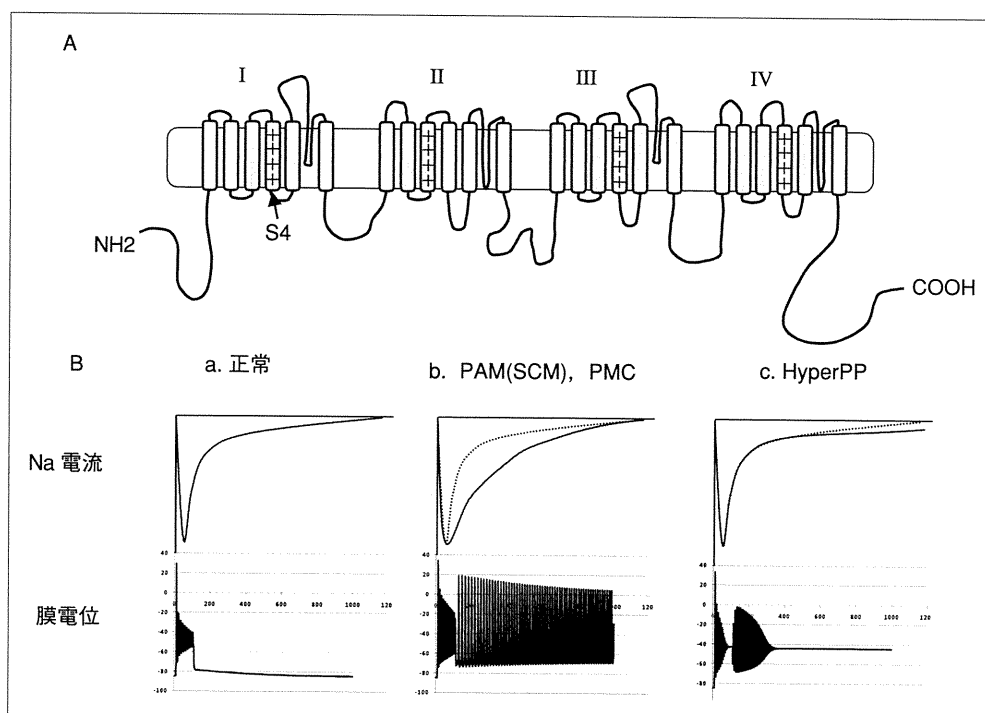


図6 Nav1.4チャンネル

- A : Nav1.4チャンネルの構造の模式図を示す。6回膜貫通セグメント(S1~S6)をもつ4つのドメイン(DI~DIV)で構成される。S5およびS6はチャンネルの穴(ポア)を形成し、ポアドメインと呼ぶ。S4は、3アミノ酸ごとにプラスに荷電するアミノ酸(アルギニンまたはリジン)が規則正しく並ぶ構造をもち、電位感受センサーとして働く。S1~S4を電位感受ドメイン(voltage sensing domain : VSD)と呼ぶ。実際には β サブユニットも合わさって筋細胞膜上に存在する。
- B : Nav1.4異常症の各疾患とチャンネル機能異常の関係を示す。上段はNa電流を、下段はその機能異常をもとに筋細胞膜の電位変化のシミュレーションを示している。下段は上段より時間軸を約1,000倍縮めてある。正常では、筋細胞が刺激されている間のみ(図3と同様にシミュレーションのため矩形波を用いている)、活動電位が発生する(a)。Nav1.4の速い不活化が障害され、Na電流の減衰が遅くなっている場合(b-上段)、筋細胞膜には刺激終了後も自発性反復放電(ミオトニー放電)が発生し、これがPAMやPMCの病型にあたる(b)。Na電流の減衰が遅いだけでなく、完全に減衰せずに電流が流れ続ける場合(c-上段)、刺激終了後も活動電位が発生し、ついには脱分極性麻痺に至る。これがHyperPPの病型にあたる(c)。(文献⁴⁾より改変引用)

ることによって生じることが示されている²⁾。

b. 骨格筋型Naチャンネル(Nav1.4)異常によるミオトニー

Nav1.4は第17染色体上にあるSCN4A遺伝子にコードされている。Nav1.4は6つの膜貫通セグメントをもつドメインが4つつながって構成される(図6)。各ドメインの5番目と6番目のセグメントは一つのチャンネルの穴(ポア)を形成する。4番目のセグメント(S4)は、3アミノ酸ごとにプラスに荷電したアミノ酸(アルギニンまたはリジン)が規則正しく並ぶ構造をもち、電位感受性センサーとなる(図6,7)³⁾。

カリウム惹起性ミオトニー(potassium aggravated myotonia : PAM)、先天性パラミオトニー(paramyotonia congenita : PMC)、高K性周期性四肢麻痺(hyperkalemic periodic paralysis : HyperPP)は同じSCN4A遺伝子の変異で生じる疾患群である。CIC-1異常によるミオトニーはCIC-1のloss of functionで生じるのに対し、上記3疾患はSCN4A変異により活動電位発生の主な担い手であるNav1.4の機能が、より興奮性亢進へと変化している(gain of function)ことにより生じる(図5)⁴⁾。

(1) PAM(SCM)

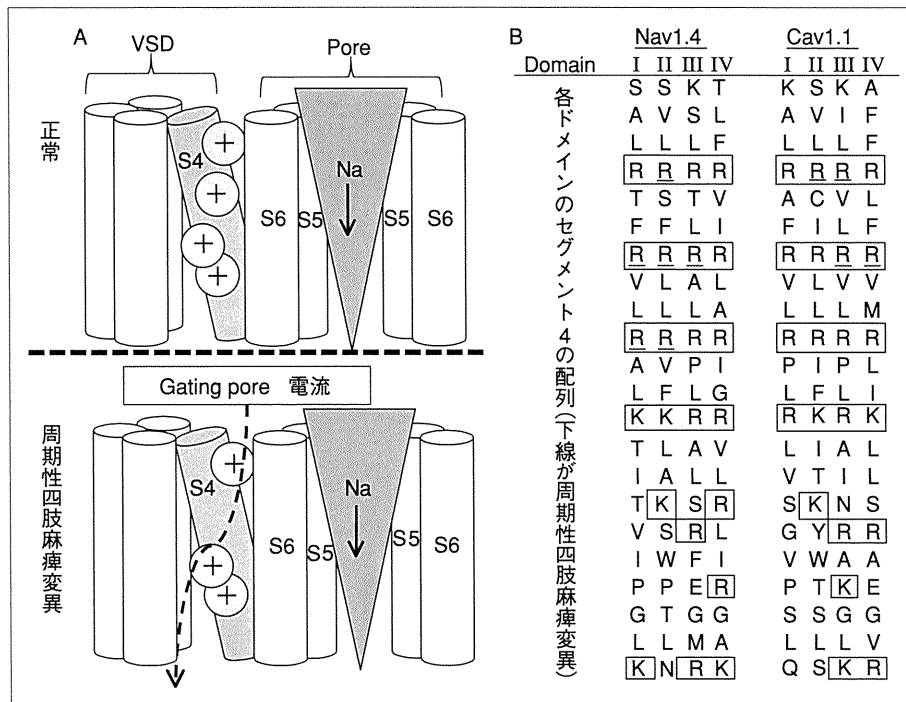


図7 電位感受ドメイン(VSD)とgating pore電流

- A: Nav1.4の4つのドメインのうち一つを中心に示す。Naイオンが通過するポアは残りのすべての三つのドメインのS5およびS6と組み合わさって構成される(上段:正常型)。S4に存在するプラスに帯電したアミノ酸が変異することで、本来のイオンの透過経路(逆三角)以外を通る微小なgating pore電流(破線)が生じる(下段:周期性四肢麻痺型)。
- B: Nav1.4およびCav1.1の各ドメインS4のアミノ酸配列を示す。規則正しく正電荷のアミノ酸が三つごとに並ぶのがわかる。一次性低K性周期性四肢麻痺の原因として報告されている変異部位を下線で示す。

運動やカリウム経口摂取後の筋のこわばりを特徴とする。しかし、パラミオトニー(後述)も麻痺の病歴もなくPAMと考えられる症例の中で、カリウム摂取で誘発されない例も多く、PAMという病名自体に議論がある。現在はNaチャンネルミオトニー(sodium channel myotonia: SCM)と呼ぶべきと提唱されている¹⁾。軽症(myotonia fluctuans)から重症(myotonia permanens)までスペクトラムに幅がある。Myotonia permanensは歴史的にはG1306E変異に対してのみ使用されてきた病名である。後述するが、warm-upを呈する症例もあり、先天性ミオトニーとの臨床的鑑別が難しく遺伝子診断が必要なことも多い。

(2) PMC

寒冷により誘発される筋のこわばりを特徴とする。時に弛緩性筋力低下や麻痺に至る。筋のこわばりは反復活動で増悪するパラミオトニー

という特徴をもつ。力強く開閉眼を繰り返すと開眼できなくなる。パラミオトニーは反復運動でミオトニーが軽快するwarm-up現象とは対照的である。

(3) HyperPP

高K血症を伴う弛緩性麻痺発作が特徴である。呼吸不全は通常生じない。麻痺間欠期には軽いミオトニーを有することが多いが、診察上は認めず筋電図でのみミオトニー放電が認められることもしばしばである。カリウム経口摂取、運動後の安静、寒冷は発作の誘因・増悪因子である。典型的な発作経過は朝食前に生じ15分から1時間ほど持続した後消失する。患者の変異チャンネルでは遅い不活化の障害も併せもつものが多い⁴⁾。

3疾患の鑑別診断のポイントを大まかに述べれば以下のとおりである。

表1 筋チャンネル病の各疾患の特徴

	先天性ミオトニー		カリウム惹起性 ミオトニー (Na チャンネルミオト ニー) PAM	先天性 パラミオトニー PMC	高カリウム性 周期性四肢 麻痺 HyperPP	低カリウム性 周期性四肢 麻痺HypoPP	
	Thomsen	Becker					
原因遺伝子	CLCN1		SCN4A			CACNA1S SCN4A	
遺伝様式	AD	AR	AD			AD	
発症年齢	数~10歳	数~20歳	0~10歳	数~10歳	数~10歳	5~20歳	
麻痺発作	有無	なし	±	なし	あり	あり	
	発作時間		一過性		数十分~数時間	数十分~数時間	数時間~数日
臨床的ミオ トニー	程度	軽度~ 中等度	中等度~ 重度	動揺性~重度まで さまざま	軽度~中等度	中等度	なし
	眼瞼	あり		あり	あり	あり~±	なし
麻痺または ミオトニーの誘因	安静		運動, カリウム摂取	運動, 寒冷	運動, 寒冷, カリウム摂取	炭水化物, 運動後の安静, ストレス	
ミオトニー に対する 影響	繰返し 運動	改善 (warm-up現象)		±	悪化 (paramyotonia)	?	
	寒冷	なし		はっきりしない	増悪	増悪	
筋肥大	軽度	中等度	軽度~中等度	±	±	なし	

・ミオトニーが明らかにあり、パラミオトニーが確実にあればPMCである。

・ミオトニーは明らかにあるがパラミオトニーがはっきりしない場合は、麻痺があればPMC、麻痺がなければPAMである(後述)。

・ミオトニーはあるが弛緩性麻痺症状が主体であればHyperPPである。

2. 麻痺症状を主症状とする筋チャンネル病

a. 低K性周期性四肢麻痺1型, 2型(hypokalemic periodic paralysis type 1, type 2 : HypoPP1, HypoPP2)

低K血症を伴う弛緩性麻痺発作を特徴とする。本症の発作はHyperPPに比べて持続時間が長い。ミオトニーは認めず、ミオパチーや永続的な筋力低下を生じることがある。カリウム経口投与で発作が抑制される。

HypoPP1は骨格筋型Caチャンネル遺伝子(CACNA1S)の変異, HypoPP2はSCN4Aの変異により生じる³⁾⁵⁾。これらの共通点は電位センサーであるS4にあるアルギニン(R)が変異していることである。二つの異なるチャンネル異常が同一疾患の原因となる理由として, gating pore電流と呼ばれる, 通常のポアとは別の経路を介する微小な電流が生じることが示されている(図7)³⁾。このHypoPP変異にみられるgating pore電流は膜

電位が過分極状態で活性化される性質をもち, その結果, 安静時でも細胞内へ少量の陽イオンが流れ続けることとなり, 一次的あるいは二次的に膜電位上昇の原因となると提唱されている。一方, 稀な型として麻痺発作時の血清K値が正常の周期性四肢麻痺が報告され, 正K性周期性四肢麻痺(NormoPP)と呼ばれる。SCN4AのドメインII・S4にあるR675G/Q/W変異により生じるが, この変異でのgating pore電流はほかのHypoPP変異とは異なり脱分極状態で活性化される性質をもつ⁷⁾。

b. 先天性筋無力症候群

易疲労性の全身筋力低下と生後から繰り返す呼吸筋麻痺発作を特徴とする。通常, アセチルコリン受容体の種々のサブユニットの変異などによるが, SCN4A遺伝子変異による報告がある⁸⁾。

c. Andersen-Tawil症候群

周期性四肢麻痺, 不整脈(心室性やQT延長), 奇形の3徴を特徴とするが, 3徴がそろわない例も多い。10歳前後で, 動悸や失神といった心症状か, 麻痺発作で発症する。内向き整流性Kチャンネル2.1(Kir2.1)をコードするKCNJ2遺伝子の変異が原因で, 常染色体優性遺伝である⁵⁾。

d. 甲状腺中毒性周期性四肢麻痺(thyrotoxic periodic paralysis : TPP)

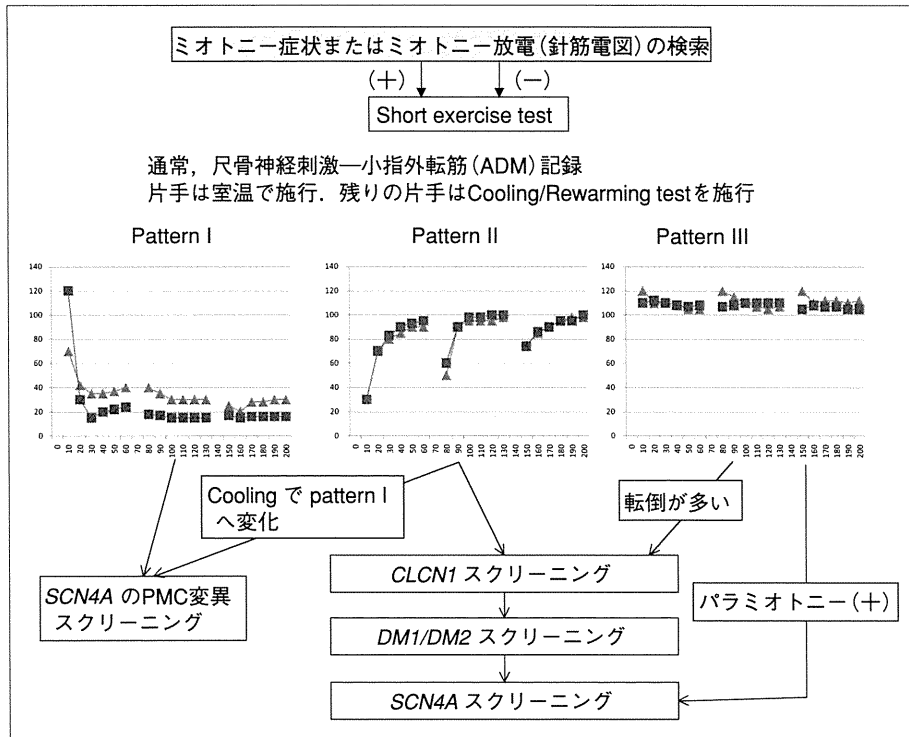


図8 骨格筋チャンネル病(ミオトニー症候群)の診断チャート(short exercise test)

Short exercise testは短時間運動負荷(5~12秒)後に1分間にわたって10秒ごとに複合筋活動電位(CMAP)を記録する。これを続けて3回施行するのが通常である(repeated short exercise test)。結果から3パターンに分類される。パターンIおよびIIはCMAPの振幅・面積ともに運動負荷前のCMAPから20%以上の低下を認め、図にあるような傾向をもつことで判定する。減少が20%未満、あるいはCMAPの振幅と面積の変化に乖離がある場合パターンIIIと判定される。図中▲はCMAP振幅、■はCMAP面積の結果を表す。これらのパターンにさらにcooling下でのshort exercise testや臨床症状を加えることで原因遺伝子の候補推定が可能となる。(文献¹²⁾より改変引用)

甲状腺機能亢進症患者に起こる二次性の筋チャンネル病で、症状は一次性HypoPPに似る。白人には稀でアジアやラテンアメリカ男性に多い。近年、海外のTPP患者の33%に新規遺伝子KCNJ18の変異が同定された。KCNJ18は内向き整流性Kチャンネル(Kir 2.6)をコードしており、プロモーター領域に甲状腺ホルモン応答配列が存在することから、上昇した甲状腺ホルモンの作用でKir2.6の発現量が増加し、機能異常を有する変異Kir2.6の作用で骨格筋細胞膜の興奮性が上昇すると考えられている⁹⁾。

筋チャンネル病の各疾患の特徴を表1に示す。臨床診断を進めていき、最終的には遺伝子解析による変異同定が確定診断となる。ただし、同一の変異症例・同一家系の中でも症状の程度はもちろん、場合によっては表現型が違うことも

経験される。新規変異の場合には多型であることを否定するため、チャンネルの機能異常を証明することが望まれる。最近われわれは、SCN4Aのイントロン領域の変異によるミオトニー症例を経験し、mRNAの解析、チャンネル機能解析やシミュレーションまで行い、原因変異であることを証明し得た¹⁰⁾。

診断・診療の際に留意すべき点

1. 弛緩性麻痺なのか、ミオトニーで動けないのか

「動けなくなることがある」と訴える症例において、それが麻痺なのか、または非常に強いミオトニーによるものなのか、その時の筋の固さなどの徴候に留意すべきである。「麻痺の有無」自体がPAM(SCM)とPMCの鑑別点と提唱されて

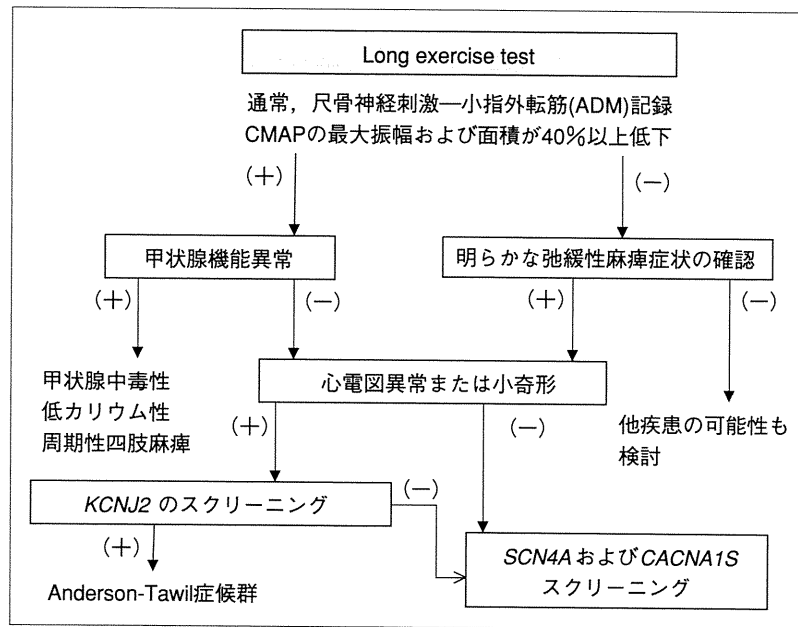


図9 骨格筋チャネル病(周期性四肢麻痺)の診断チャート(long exercise test)
弛緩性麻痺を主症状とする骨格筋チャネル病診断にはlong exercise testによる麻痺の再現が有用である。長時間運動負荷(15~45秒ごとに3~4秒の短い休息を入れながら, 2~5分間の負荷)後に最初は1~2分ごと, その後は5分ごとに, 30~45分にわたってCMAPを記録する。一般に40%以上のCMAP振幅・面積の低下がある場合は異常と判定されるが, 人種差が指摘されており, 注意を要する。

いる¹⁾。

2. 痛みを伴う症例と伴わない症例

ミオトニーによる痛みを訴える症例とあまり訴えない症例とが経験される。この違いの原因は不明であるが, Naチャネル異常によるミオトニーで痛みを伴う症例が多い傾向がある。痛みを伴う症例では, メキシレチンなどによるミオトニーを緩和する治療が積極的に行われる。痛みのない症例で, ミオトニーを放置することで二次的な関節拘縮や筋萎縮を生じる可能性はないのか, という点については結論が出ていない。

3. Warm-upとパラミオトニー

MCがwarm-upを起こしやすく, PMCがパラミオトニーを主症状とすることは確かである。眼瞼のwarm-upやパラミオトニーなどは非常に有用な徴候である。しかしながら, PAM(SCM)の中にはwarm-upを呈する症例が散見され, warm-up=MCとはいえないことに注意すべきである。

4. 麻痺時の血清K値の解釈

周期性四肢麻痺の麻痺発作中の血清K値の判断には注意を要する。麻痺極期の血清K値が重

要であり, 1回の検査結果だけで「低K」, 「正K」, 「高K」と呼ぶべきではない。たとえばHypoPPの場合, まだ麻痺が残存している状態でも, 回復に転じ出すと筋細胞内に取り込まれていたK⁺イオンが急速に細胞外(血清中)へと戻ってきて, 一過性に高カリウム血症さえ呈することがある。「麻痺極期」の判断は難しく, 救急受診時の血清K値でも回復期に移行しつつある状態での検査の可能性もあり注意を要する。

5. 電気生理学的検査

「筋のこわばり」や「麻痺」のエピソードは問診のみでは判断が難しいことも多い。エピソードを部分的に再現する補助診断方法として, 電気生理学的検査がある。

針筋電図によるミオトニー放電の検出はきわめて有用な検査であるが, 検出できないからといってミオトニー症候群ではないとは判断できない。

また, 原因チャネルの推測にshort exercise test (SET)やlong exercise test (LET)といったexercise testが有用であることが有村らにより以前から紹

介されている¹¹⁾。SETはミオトニー症候群の鑑別に有用であり、臨床症状も組み合わせた改変された診断チャートが最近報告された。LETは周期性四肢麻痺の麻痺症状を再現しうる重要な検査であるが、人種により正常値が異なることも指摘されており、解釈に注意を要する(図8,9)¹²⁾。

最後に

ミオトニー症候群の病態はチャネル機能解析やシミュレーションで理解が深まった。一方、低カリウム性周期性四肢麻痺はgating pore電流の発見により病態理解は進んだが、まだ不明な点も多い。これら疾患は良性と思われているが、学校・社会生活に大きな支障をきたしていることもしばしばであり、患者の悩みは大きい。診断に苦慮することも多いが注意深く問診・診察を行い、電気生理学的検査により診断することは神経内科医に求められる仕事であり、今後いっそうの診断向上が望まれる。

本研究の一部は厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)の成果による。

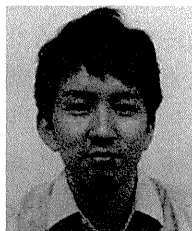
文 献

- 1) Matthews E, Fialho D, Tan SV, et al. The non-dystrophic myotonias : molecular pathogenesis, diagnosis and treatment. *Brain* 2010 ; 133 : 9-22.
- 2) Mankodi A, Takahashi MP, Jiang H, et al. Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of ClC-1 chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. *Mol Cell* 2002 ; 10 : 35-44.
- 3) Cannon SC. Voltage-sensor mutations in channelopathies of skeletal muscle. *J Physiol* 2010 ; 588 : 1887-95.
- 4) Cannon SC. Pathomechanisms in channelopathies of skeletal muscle and brain. *Annu Rev Neurosci* 2006 ; 29 : 387-415.
- 5) Venance SL, Cannon SC, Fialho D, et al. The primary periodic paralyses : diagnosis, pathogenesis and treatment. *Brain* 2006 ; 129 : 8-17.
- 6) Sokolov S, Scheuer T, Catterall WA. Gating pore current in an inherited ion channelopathy. *Nature* 2007 ; 446 : 76-8.
- 7) Sokolov S, Scheuer T, Catterall WA. Depolarization-activated gating pore current conducted by mutant sodium channels in potassium-sensitive normokalemic periodic paralysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 19980-5.
- 8) Tsujino A, Maertens C, Ohno K, et al. Myasthenic syndrome caused by mutation of the SCN4A sodium channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 7377-82.
- 9) Ryan DP, da Silva MR, Soong TW, et al. Mutations in potassium channel Kir2.6 cause susceptibility to thyrotoxic hypokalemic periodic paralysis. *Cell* 2010 ; 140 : 88-98.
- 10) Kubota T, Roca X, Kimura T, et al. A mutation in a rare type of intron in a sodium-channel gene results in aberrant splicing and causes myotonia. *Hum Mutat* 2011 ; in press.
- 11) 有村由美子, 迫田俊一, 有村公良. 筋チャネル異常症の電気生理診断は可能か. *臨床神経生理学* 2001 ; 29 : 221-7.
- 12) Tan SV, Matthews E, Barber M, et al. Refined exercise testing can aid DNA-based diagnosis in muscle channelopathies. *Ann Neurol* 2011 ; 69 : 328-40.

* * *

RNA結合蛋白質が引き起こす筋強直性ジストロフィー

Myotonic dystrophy and RNA-binding proteins



古戒道典(写真) 石浦章一

Michinori KOEBISU and Shoichi ISHIURA

東京大学大学院総合文化研究科生命環境科学系

◎筋強直性ジストロフィー(DM1)は、CTG リピートの伸長により発症する優性遺伝疾患である。伸長したリピートはさまざまな経路で症状をもたらすが、そのひとつに RNA レベルでの毒性があげられる。これまでの研究で、CUG リピートをもつ RNA は複数の RNA 結合蛋白質の挙動を変化させ、多様な RNA 代謝経路に異常をもたらすことが明らかになってきた。本稿では、そのなかで CELF ファミリーと MBNL ファミリーという 2 つの RNA 結合蛋白質に焦点を絞り、DM1 の病理機構のなかでどのような役割を担っているのかについて概観したい。



筋強直性ジストロフィー(DM1), 選択的スプライシング, 翻訳制御, mRNA分解

DM1の発症機構

筋強直性ジストロフィー(myotonic dystrophy type 1: DM1)で異常伸長がみられる CTG リピートは、DMPK 遺伝子の 3'非翻訳領域(3'UTR)に存在する¹⁻⁴⁾。そのため CTG リピートの伸長は蛋白質のアミノ酸配列には直接影響しないが、伸長したリピートはその周辺のヘテロクロマチン構造を変化させたり^{5,6)}、DMPK 遺伝子の転写産物の核外搬出を阻害したりして⁷⁾、DMPK 遺伝子やその下流にある SIX5 遺伝子の発現量を抑制すると考えられている^{8,9)}。ノックアウトマウスの解析から、これらの遺伝子の発現量の低下が一部の症状を引き起こすことが示唆されており、伸長リピートによる遺伝子発現の抑制は、DM1 の病理機構の重要な側面となっている¹⁰⁻¹²⁾。一方で、多くの研究が伸長した CTG リピートが RNA レベルで毒性をもつことを示唆している。たとえば、CUG リピート RNA を発現するトランスジェニックマウス(HSA^{LR})は、ミオトニアや骨格筋の組織学的な特徴、選択的スプライシングの異常など、DM1 患者にみられる症状を再現する^{13,14)}。In situ hybridization で DM1 患者細胞のリピート RNA を検出すると CUG リピートが核内で凝集体を形成するこ

とが示され、この CUG リピートの奇妙な挙動も注目を集めてきた^{7,15)}。

さらに 2001 年には、DM1 とは異なる遺伝子座にリピートの伸長をもつ DM の家系がみつかった¹⁶⁾。この家系では、第 3 番染色体の ZNF9 遺伝子のエクソン 1 に存在する CCTG リピートが伸長している。ZNF9 遺伝子やその周辺に遺伝子座をもつ遺伝子は、DMPK 遺伝子や SIX5 遺伝子との明らかな関連はなく、このあらたな DM の発見は伸長したリピート RNA それ自身が DM の発症原因になることを強く示唆している。

伸長した CUG リピート RNA は、RNA 結合蛋白質の挙動を変化させることで毒性を発揮すると考えられている¹⁷⁾。すなわち、RNA 結合蛋白質が DM1 の病理機構の中心的役割を担っているともいえる。CUG リピート RNA に結合する蛋白質として、mucleblind-like(MBNL)と CUG-BP-ETR-3-like factors(CELF)とよばれる RNA 結合蛋白質ファミリーが見出され、DM1 の症状の発現にこれら 2 つの蛋白質ファミリーが重要な役割を担うことが、多数の報告で示されている(図 1)。DM1 で異常となるスプライシングの多くが、これらの蛋白質によって制御されうる。

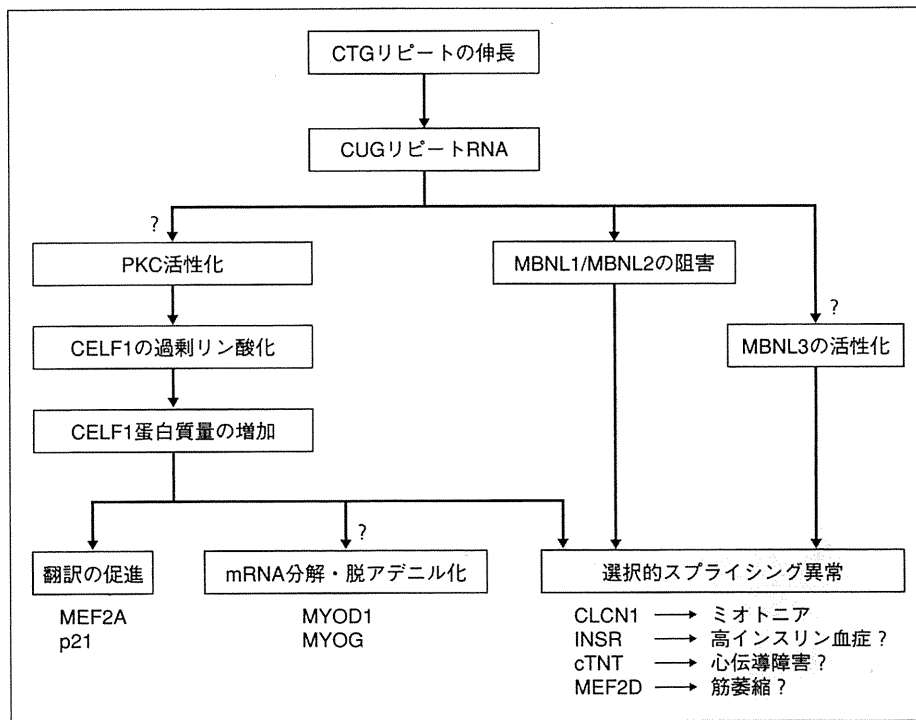


図 1 DMの発症機構モデル

本稿では MBNL, CELF ファミリーがそれぞれどのように DM1 の発症に関与しているかについて、最近の報告を踏まえて紹介したい。

● CELF1 はリン酸化によって発現量が増加する

CELF ファミリーは CELF1/CUG-BP (CUG-binding protein) と CELF2/ETR-3 (embryonic lethal abnormal vision type RNA-binding protein 3) のホモログからなる RNA 結合蛋白質ファミリーであり、ヒトでは 6 つのホモログ (CELF1~CELF6) が同定されている。

CELF1 は CUG-BP という別名が示すとおり、CUG リピートに結合する蛋白質として発見された¹⁸⁾。HeLa 細胞の抽出物のなかに (CUG)₈ プロープに結合する蛋白質が見出され、CUG-BP と名づけられたのである。しかしその後の研究で、CELF1 はかならずしも CUG リピートに特異的に結合するのではないことが明らかになってきた。たとえば、当研究室の酵母 3 ハイブリッド法を用いた研究では、CELF1 は CUG リピートよりもむ

しろ UG リピートに選択的に結合することが示されている¹⁹⁾。そうした経緯をもつものの、CELF1 は DM1 の病理機構のなかで主要な因子として注目され続けている。その理由のひとつは、DM1 患者の筋組織で CELF1 蛋白質の発現量が上昇していることが観察されることである²⁰⁻²²⁾。Kuyumcu-Martinez らは、DM1 の細胞で CELF1 蛋白質が過剰にリン酸化され分解されにくくなった結果、発現量が上昇していることを示した²³⁾。また、培養細胞に CUG リピートを発現させると PKC がリン酸化により活性化し、PKC 阻害剤は CELF1 リン酸化を阻害した。しかし、リピート RNA がどのように PKC を活性化するのか、その経路については明らかになっていない。

CELF1 が注目されるもうひとつの理由は、CELF1 の過剰発現によって DM1 でみられる異常のいくつかが再現されることである。たとえば、マウスに CELF1 を過剰発現すると中心核や筋変性などの筋障害や心伝導障害を呈することから、CELF1 の発現量の上昇は骨格筋や心筋の筋障害に関与しているらしい²⁴⁻²⁷⁾。

● CELF1の活性化とDM1の発症

CELF1の発現量の上昇が筋障害をもたらす分子メカニズムについては、明確なことはわかっていない。ひとつの可能性は、筋組織の形成・維持にかかわる選択的スプライシングの異常であるが、近年、CELF1が選択的スプライシングの制御だけでなく、さまざまなRNA代謝や翻訳の制御にも関与することが明らかになってきた。

CELF1はmRNAの脱アデニル化と分解を制御するツメガエルEDEN-BP遺伝子のオルソログであり、EDEN-BP同様にmRNA寿命を制御しているらしい。Moraesらは、CELF1が寿命の短いmRNAに結合し、脱アデニル化を促進することを示した²⁸⁾。またVlasovaらは、CELF1がc-junやjunBなどの寿命の短いmRNAに結合しmRNAの分解を抑制すると報告している²⁹⁾。さらにLeeらは、RNA免疫沈降法とDNAマイクロアレイを組み合わせた方法(RNA-Chip法)でCELF1によるmRNA分解のターゲットを探索し、Myod1やMyogなどの筋特異的転写調節因子がCELF1のターゲット候補であることを同定した³⁰⁾。

一方で、CELF1は翻訳の制御にも関与することが報告されている。Timchenkoらは、CELF1を過剰発現するトランスジェニックマウスの骨格筋でp21とMef2Aの発現量が増加していることを見出した²⁴⁾。CELF1はどちらの遺伝子のmRNAにも直接結合し、結合依存的に翻訳を促進する。p21とMEF2Aはどちらも筋分化を促進する作用をもつと考えられており、これらの発現量の上昇はDM1の骨格筋でも観察されることから、DM1の発症機構を考えるにあたってとりわけ興味深い。

● MBNLファミリーはCUGリピートの機能阻害を受ける

一方、MBNLファミリーはショウジョウバエのmuscleblind遺伝子のオルソログであり、muscleblind-likeからこの名がついた。線虫からヒトに至るまで広く保存された遺伝子であり、ヒトやマウスでは3つのアイソフォーム(MBNL1, MBNL2, MBNL3)が同定されている。MBNLもCELFと同様に、CUGリピートに結合する蛋白質

としてみつかった³¹⁾。CELF1と異なり、MBNL1はCUGリピートおよびCCUGリピートと高い親和性を持ち³²⁾、興味深いことに、DM1の骨格筋切片やCUGリピートを発現させた培養細胞をMBNL抗体で染色すると、MBNL1およびMBNL2がCUGリピートを形成する凝集体と共存する像が観察される^{31,33)}。このことから、DM1患者の細胞内ではMBNLファミリー蛋白質がCUGリピートにトラップされ、本来の基質と結合できなくなることで機能が阻害されているのではないかと考えられるようになった。

MBNLの機能阻害がDM1の病理に関与するという仮説は、*Mbnl1*のノックアウトマウスの作製によって広く信じられるようになった³⁴⁾。*Mbnl1*を欠損する*Mbnl1*^{ΔE3/ΔE3}マウスは、塩素チャンネル*Clcn1*の選択的スプライシングの異常や、ミオトニア、筋線維の中心核、白内障、認知障害など、DM1患者が呈する異常を再現するのである。とくにDM1患者でみられる選択的スプライシング異常に対して、MBNL1の機能低下が重要な役割を担っているらしい。Duらは最近、DNAマイクロアレイを用いて*HSA*^{LR}マウスと*Mbnl1*^{ΔE3/ΔE3}マウスのスプライシングパターンを網羅的に探索し、この2系統のマウスが示すスプライシング異常が83%一致するという結果を得ている¹⁴⁾。またKanadiaらは、CUGリピートを発現する*HSA*^{LR}マウスに*Mbnl1*を過剰発現することで複数の選択的スプライシング異常が改善することを明らかにした³⁵⁾。これらの結果は、すくなくとも*HSA*^{LR}マウスの選択的スプライシング異常のかなりの部分が、*Mbnl1*の機能低下だけで説明できることを示している。

一方で、*Mbnl1*^{ΔE3/ΔE3}マウスは筋組織の障害をほとんど示さない。そのひとつの理由は、*Mbnl2*が*Mbnl1*の欠損を補償しているからかもしれない。実際、*Mbnl2*のノックアウトマウスも選択的スプライシングの異常や筋線維の中心核など、DM1の特徴を再現すると報告されており³⁶⁾、DM1患者や*HSA*^{LR}マウスではMBNL1とMBNL2がともにCUGリピートの凝集体にトラップされることで、より重篤な表現型が現れている可能性がある。

MBNL3に関しては最近、患者の骨格筋と心筋

で発現量が増加していることが見出された³⁷⁾。MBNL3 は、培養細胞に CUG リピートを発現させても発現量の上昇を示す。さらに、MBNL3 をマウス筋芽細胞である C2C12 に発現させると Mef2D の選択的スプライシングの制御を介して筋分化を抑制することも示された。DM1 患者における MBNL3 の発現量上昇のメカニズムや症状への寄与の解明は今後の課題であるが、MBNL1 や MBNL2 とは異なる機構で DM1 病理機構に関与する可能性が示されたのは興味深い。

● RNA結合蛋白質のバランスの異常とDM1

CELF 蛋白質と MBNL 蛋白質は、Clcn1 や心筋トロポニン T 遺伝子、インスリン受容体遺伝子などいくつかの選択的スプライシング制御において拮抗的に作用することがわかっている^{20,38-40)}。また、マウスの心臓では出生後に CELF1 の発現量が低下する一方、MBNL1 の発現量が増加することから、これらの RNA 結合蛋白質の発現量のバランスが筋の成熟を決定するというモデルも提唱されている⁴¹⁾。しかし、著者らはこれらに反する例も経験しており^{42,43)}、かならずしも拮抗説が正しいとは言いきれない。DM1 においては、CELF と MBNL のバランスの崩れが病理機構の根幹をなしている。これまでみてきたように、とくに CELF1 ではさまざまな RNA 制御機構を介して DM1 の諸症状を引き起こしている可能性があり、DM1 の多様な症状がどのような過程で生じるのか、今後さらなる解明が期待される。

文献

- 1) Brook, J. D. et al. : *Cell*, **68** : 799-808, 1992.
- 2) Aslanidis, C. et al. : *Nature*, **355** : 548-551, 1992.
- 3) Buxton, J. et al. : *Nature*, **355** : 547-548, 1992.
- 4) Harley, H. G. et al. : *Nature*, **355** : 545-546, 1992.
- 5) Steinbach, P. et al. : *Am. J. Hum. Genet.*, **62** : 278-285, 1998.
- 6) Otten, A. D. and Tapscott, S. J. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92** : 5465-5469, 1995.
- 7) Davis, B. M. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94** : 7388-7393, 1997.
- 8) Thornton, C. A. et al. : *Nat. Genet.*, **16** : 407-409, 1997.
- 9) Boucher, C. A. et al. : *Hum. Mol. Genet.*, **4** : 1919-1925, 1995.
- 10) Reddy, S. et al. : *Nat. Genet.*, **13** : 325-335, 1996.
- 11) Sarkar, P. S. et al. : *Nat. Genet.*, **25** : 110-114, 2000.
- 12) Klesert, T. R. et al. : *Nat. Genet.*, **25** : 105-109, 2000.
- 13) Mankodi, A. et al. : *Science*, **289** : 1769-1773, 2000.
- 14) Du, H. et al. : *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17** : 187-193, 2010.
- 15) Taneja, K. L. et al. : *J. Cell Biol.*, **128** : 995-1002, 1995.
- 16) Liquori, C. L. et al. : *Science*, **293** : 864-867, 2001.
- 17) Ranum, L. P. and Cooper, T. A. : *Annu. Rev. Neurosci.*, **29** : 259-277, 2006.
- 18) Timchenko, L. T. et al. : *Nucleic Acids Res.*, **24** : 4407-4414, 1996.
- 19) Takahashi, N. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **277** : 518-523, 2000.
- 20) Savkur, R. S. et al. : *Nat. Genet.*, **29** : 40-47, 2001.
- 21) Timchenko, N. A. et al. : *Mol. Cell. Biol.*, **21** : 6927-6238, 2001.
- 22) Ladd, A. N. et al. : *J. Biol. Chem.*, **279** : 17756-17764, 2004.
- 23) Kuyumcu-Martinez, N. M. et al. : *Mol. Cell*, **28** : 68-78, 2007.
- 24) Timchenko, N. A. et al. : *J. Biol. Chem.*, **279** : 13129-13139, 2004.
- 25) Ho, T. H. et al. : *Hum. Mol. Genet.*, **14** : 1539-1547, 2005.
- 26) Koshelev, M. et al. : *Hum. Mol. Genet.*, **19** : 1066-1075, 2010.
- 27) Ward, A. J. et al. : *Hum. Mol. Genet.*, **19** : 3614-3622, 2010.
- 28) Moraes, K. C. et al. : *RNA*, **12** : 1084-1091, 2006.
- 29) Vlasova, I. A. et al. : *Mol. Cell*, **29** : 263-270, 2008.
- 30) Lee, J. E. et al. : *PLoS One*, **5** : e11201, 2010.
- 31) Miller, J. W. et al. : *EMBO J.*, **19** : 4439-4448, 2000.
- 32) Kino, Y. et al. : *Hum. Mol. Genet.*, **13** : 495-507, 2004.
- 33) Fardaei, M. et al. : *Nucleic Acids Res.*, **29** : 2766-2771, 2001.
- 34) Kanadia, R. N. et al. : *Science*, **302** : 1978-1980, 2003.
- 35) Kanadia, R. N. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103** : 11748-11753, 2006.
- 36) Hao, M. et al. : *Dev. Dyn.*, **237** : 403-410, 2008.
- 37) Lee, K. S. et al. : *J. Biol. Chem.*, **285** : 33779-33787, 2010.
- 38) Kino, Y. et al. : *Nucleic Acids Res.*, **37** : 6477-6490, 2009.
- 39) Philips, A. V. et al. : *Science*, **280** : 737-741, 1998.
- 40) Ho, T. H. et al. : *EMBO J.*, **23** : 3103-3112, 2004.
- 41) Kalsotra, A. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105** : 20333-20338, 2008.
- 42) Koebis, M. et al. : *Genes Cells*, 2011. (in press)
- 43) Ohsawa, M. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **409** : 64-69, 2011.

