

Fig. 3 Perinatal complications of myotonic dystrophy patients.

Perinatal complications were asked in a multiple choice manner. Thirty-three gynecologists had experienced perinatal complications. Among them four doctors reported troubles in using ritodrine hydrochloride.

医全体の構成を反映しており、概ね全体の傾向を反映したものであると推測する。診断経験やトラブル経験がある医師の回答率が高く、診療経験率を実際よりも高く推定している可能性も否定できないが、本症の存在に気づかずに診療されている事例も多いと推測される。

今回の調査では、各科とも30~40%程度の専門医がDM1の診療経験を有しており、DM1患者が様々な科を受診している実態が裏付けられた。DM1を診断した経験を有する医師も65名あり、神経内科や小児神経科などの専門科以外の受診を契機に発見される事例も多いことが再確認された。施設別には神経内科を有する病院に勤務している医師が診療経験・診断ともにもっとも高率であった。これは本症患者の多数が神経内科を受診していることに加え、複数の合併症を有するために総合病院を受診する機会が多いこと、神経内科医へのコンサルトで確定診断がしやすいことなどが関連すると推測される。

本症の重症度は妊娠中・出生児から症状を示す先天型から、一生涯日常生活に支障がない軽症例まで大きな幅があるため、骨格筋症状に無自覚な症例は神経内科・小児神経科よりも先に非専門科を受診する可能性が高い。本症が多臓器疾患であり集学的管理が必要であること、表現促進現象があり遺伝相談などに特別な配慮が必要であること、本症に気づかずに手術などをおこなったばあいトラブルをおこしやすいことなどから、非専門科での診断能力向上と集学的医療体制構築が重要な課題である。実際、産婦人科では周術期合併症や塩酸リトドリンをふくむ周産期・周術期トラブル、先天性患児への対応困難を契機に発見された事例が多かった。これらは、事前に診断されていれば一定の予防・対策が図れていた可能性が高い。発見経験がある医師は筋強直現象や顔貌などの特徴的的症状への関心が高く、経験のない医師は筋力低下以外への関心が低かった。このことから、本症の特徴的的症状による簡

易スクリーニング法を開発・普及させることで、診断率が向上すると期待される。

循環器科の受診契機となった疾患は、心不全がもっとも多く、伝導障害や不整脈にくらべ心不全の合併頻度が少ないとする従来の報告²⁾とことなる結果であった。この原因として、心不全の頻度が従来考えられているより高い可能性もあるものの、むしろ伝導障害や不整脈は多くのばあい無症状で受診率が低いに対し、心不全の受診率が高いためではないかと推測される。また、循環器では循環器疾患以外の内科合併症や在宅医療管理のために受診している患者も多かった。糖尿病で同様の質問を設定していなかったためこの点が不明だが、診療所勤務医がホームドクターとして本症の在宅療養を支えていることも示唆された。

ペースメーカー・除細動器に対する適応は、一般よりも消極的とする医師が積極的とする医師よりも多かった。これは、本症におけるペースメーカー適応を、AHA2006年ガイドライン⁴⁾で有・無症状のIII度または高度II度房室ブロック(class I)、有・無症状の(I度をふくむ)全レベルの房室ブロック(class IIb)、本邦のJCS2006年改訂版ガイドラインで高度またはIII度房室ブロック(class I)とし、積極的にとらえていることと対照的であった。要因の一つに、筋ジストロフィーという病名による否定的イメージが懸念されるが、pacingによる心機能への悪影響を懸念する意見もあった。本症のペースメーカー・除細動器については海外で積極的に検討されている⁵⁾⁻⁸⁾が、本邦の実情に合わせた適応について神経内科と循環器内科の間で共通認識を形成していく必要があると思われた。一方、病識の不足から患者自身が消極的な事例も少なく、患者教育も重要な課題である。

糖尿病では、一般的なOGTT、HbA1cに加え、食後血糖・インスリンやHOMA-IRを挙げた医師も少なくなかった。積極的に使用する薬剤もインスリン抵抗性改善作用を有するチアゾリジン誘導体やビッグアニドが多く、SU製剤が無いなど本症のインスリン抵抗性や食後高血糖・高インスリン血症⁹⁾を意識した管理がなされていることが推測された。その一方で、治療方針は一般より緩やかとする医師が厳密とする医師より多かった。その理由については質問を設定していなかったため不明であるが、循環器と同様予後に対する悲観的意識や患者の病識の低さが影響していることが推測される。

産婦人科は正常・異常妊娠・出産がもっとも多かった。女性患者の妊娠は、先天性患児の問題だけでなく、未発症・軽症例でも症状発現・増悪することが多いこと、周産期トラブルなど様々な問題を生じやすい。不妊症での受診も多いことが推察されたが、本症患者への不妊治療の適応は慎重な配慮が必要であり、不妊症患者で本症のスクリーニングと遺伝相談をふくむ適切なカウンセリングの必要性を感じた。生殖器腫瘍³⁾での受診も多く、本症の医療管理における産婦人科の重要性が再確認された。周産期トラブルの経験者は、本症の経験者の過半数におよび、有効回答率やコメント記載率の高さもふくめ、産婦人科側でも対応に苦慮されている実情がうかがえた。

眼科は、白内障での受診が多数で、若年性白内障で本症の顔貌を確認してうたがうとの意見が多かった。眼瞼下垂・兔眼での受診も多かったが、本症患者で眼瞼挙上術を施行したばあい兔眼の増悪が生じうるため一定の配慮が必要と思われる。全身麻酔の機会に乏しく周術期トラブルが少ないか、困ったことへのコメントが少ないことも特徴であった。

集学的治療に向けた課題として、患者・家族の病識の問題が改めて認識された。本症の生命予後およびQOL改善のためには、種々の合併症を早期に発見し適切に管理していくことが重要である。神経内科・小児神経科は本症の集学的治療の中心的役割を果たすべきであるが、自覚症状に乏しいこと、原疾患自体の治療法がないことなどのため、患者・家族にとって積極的な受診意義を感じにくいことが推察される。今後、患者・医療者双方に向けた啓発活動が必要と思われる。

謝辞：本研究の調査にご協力いただいた、大阪府下の循環器科・糖尿病・産婦人科・眼科専門医の各先生方に深謝いたします。アンケートの発送・集計などに尽力いただいた水野水希さんに感謝します。本研究は平成21年度厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服事業「本邦における筋チャンネル病の実態に関する研究(21210301)」および平成22年度厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服事業「筋チャンネル病および関連疾患の診断・治療指針作成および新規治療法開発に向けた基盤整備のための研究(10103469)」の援助を受けておこなった。

文 献

- 1) Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 1992;68:799-808.
- 2) Harper PS, Engelen Bv, Eymard B, et al. Myotonic dystrophy present management future therapy New York: Oxford university press; 2004.
- 3) 松村 剛, 野崎園子, 横江 勝ら. 筋強直性ジストロフィーでは子宮筋腫合併率が高い. *医療* 2002;56:472-475.
- 4) Epstein AE, DiMarco JP, Ellenbogen KA, et al. ACC/AHA/HRS 2008 Guidelines for Device-Based Therapy of Cardiac Rhythm Abnormalities: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the ACC/AHA/NASPE 2002 Guideline Update for Implantation of Cardiac Pacemakers and Antiarrhythmia Devices): developed in collaboration with the American Association for Thoracic Surgery and Society of Thoracic Surgeons. *Circulation* 2008;117:e350-408.
- 5) Hawley RJ, Colleran JA, Fletcher R, et al. Indications for Cardiac Pacemaker Implantation in Myotonic Dystrophy. *MedGenMed* 1999;E5.
- 6) Lazarus A, Varin J, Babuty D, et al. Long-term follow-up of arrhythmias in patients with myotonic dystrophy treated by pacing: a multicenter diagnostic pacemaker study. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1645-1652.
- 7) Dello Russo A, Mangiola F, Della Bella P, et al. Risk of arrhythmias in myotonic dystrophy: trial design of the R-MYD study. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2009;10:51-58.
- 8) Laurent V, Pellieux S, Corcia P, et al. Mortality in myotonic dystrophy patients in the area of prophylactic pacing devices. *Int J Cardiol* 2011;150:54-58.
- 9) Matsumura T, Iwahashi H, Funahashi T, et al. A cross-sectional study for glucose intolerance of myotonic dystrophy. *J Neurol Sci* 2009;276:60-65.

Abstract

A survey of cardiologists, diabetologists, gynecologists and ophthalmologists practicing in Osaka on the medical consultation behaviors of myotonic dystrophy patients

Tsuyoshi Matsumura, M.D.¹⁾, Takashi Kimura, M.D.²⁾, Yosuke Kokunai, M.D.³⁾,
Tomoya Kubota, M.D.³⁾, Masanori P. Takahashi, M.D.³⁾ and Saburo Sakoda, M.D.^{1,3)}

¹⁾Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital

²⁾Neurology, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine

³⁾Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine

An anonymous postal survey of cardiologists, diabetologists, gynecologists, and ophthalmologists in Osaka was performed to assess the medical care-seeking behaviors of and problems associated with the medical management of patients with myotonic dystrophy (DM). The questionnaires were sent to 927 cardiologists, 357 diabetologists, 882 gynecologists, and 915 ophthalmologists. Of these, 172 cardiologists, 85 diabetologists, 220 gynecologists, and 154 ophthalmologists responded. More than 30% of responders had provided care to DM patients, and approximately 10% had experience diagnosing DM patients. These facts suggest that DM patients receive medical care from various specialists due to complications involving multiple systems and some of them visit other specialists prior to neurologists. Some patients were diagnosed after perinatal or perioperative difficulties. Therefore, it seems important to improve the ability of physicians to identify DM patients. Because specialists with experience diagnosing DM paid more attention to the characteristic features of DM, such as grip myotonia and hatchet face, a simple screening test may be useful for detecting DM. Some responders pointed out the negative attitude of DM patients toward medical care and the lack of neurologists for consultation as problems in the medical management of DM patients. Cooperation among neurologists and other specialists and education of DM patients are important to improve the medical management of DM patients.

(Clin Neurol 2011;51:677-682)

Key words: Myotonic dystrophy, medical consultation behavior, multidisciplinary management, anonymous questionnaire survey



筋強直性ジストロフィー

— 異常 RNA による病態機序と新たな治療法の探索

Myotonic Dystrophy: Therapeutic Approaches to RNA Toxicity

中 森 雅 之^{1,2)} 高 橋 正 紀¹⁾

Masayuki Nakamori^{1,2)}, Masanori P. Takahashi¹⁾

Abstract

Myotonic dystrophy (DM) is the most common hereditary muscle disease in adults, caused by unstable genomic expansions of simple sequence repeats. The mutant RNA transcripts containing the expanded repeat give rise to a toxic gainofunction by perturbing splicing factors in the nucleus, leading to the misregulation of alternative pre-mRNA splicing. Although no curative treatment exists, recent advances in research and pharmaceutical technology have provided clues for therapeutic intervention in DM. Herein, we review the RNA-dominant mechanism of DM and potential therapeutic approaches for degrading or neutralizing the toxic RNA, restoring splicing factors, correcting splicing misregulation, and stabilizing the repeat.

Key words : myotonic dystrophy, splicing, MBNL1, CELF1, antisense

はじめに

筋強直性ジストロフィー (myotonic dystrophy : DM) は、有病率が 1/8,000 人と、成人で最も頻度の高い遺伝性筋疾患であり、常染色体優性遺伝形式をとる¹⁾。DM 患者は、筋強直 (ミオトニア) や進行性の筋力低下・筋萎縮のほか、心伝導障害、認知機能障害、白内障、内分泌機能異常など、多彩な全身症状を呈する。近年、DM の病態の主座は、遺伝子上の塩基繰り返し配列から転写される、異常 RNA であることがわかってきた。本稿では、“RNA dominant disease”としての DM の病態と、それに対して現在検討されている治療法について概説する。

I. 筋強直性ジストロフィー (DM) の病態

本邦の DM 症例の大部分を占める筋強直性ジストロ

フィー 1 型 (DM1) は、*DMPK* 遺伝子の 3' 非翻訳領域 (3' untranslated region : 3' UTR) にある CTG3 塩基繰り返し配列の異常伸長が原因とされている²⁾(Fig. 1)。正常の CTG リピート長は 5~37 であるのに対し、DM1 患者の筋組織では 3,000~6,000 まで伸びている³⁾。一般に、CTG リピート長は症状と相関しており、リピートが長いほど発症が早くなる⁴⁾。この異常 CTG リピートは世代を経るごとに伸長する傾向があり、DM1 の母親から生まれた子では、リピート長がさらに数千以上も伸びて、先天性 DM1 と呼ばれる重症例となることがある。また同一患者の組織間でもリピート長は異なり、罹患臓器である骨格筋・心筋で特に長く、さらに年齢とともに伸長を続ける^{4,5)}。

DM1 同様、遺伝子上の 3 塩基繰り返し配列が異常に伸長するトリプレットリピート病には、Huntington 病や球脊髄性筋萎縮症、遺伝性脊髄小脳萎縮症などもある⁶⁾。これらの疾患ではいずれも蛋白翻訳領域にある CAG リ

1) 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, 2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

2) ロチェスター大学メディカルセンター神経学 Department of Neurology, University of Rochester Medical Center

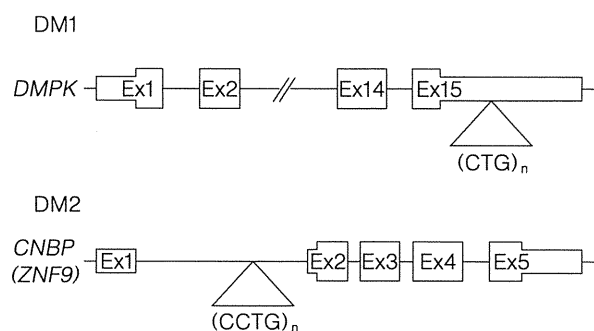


Fig. 1 DMの原因遺伝子

白の box はエクソン (Ex) を示す。細い box は非翻訳領域。DM1 では *DMPK* 遺伝子 3' 非翻訳領域に CTG リピートの、DM2 では *CNBP* (*ZNF9*) 遺伝子イントロン 1 上に CCTG リピートの異常伸長をみる。

リピートが伸長しており、それが原因でポリグルタミンを含む異常蛋白が生成され、疾患を引き起こすと考えられている。これに対し DM1 では、CTG リピートは非翻訳領域にあり、異常な *DMPK* 蛋白が生じる訳ではない。また、患者組織で *DMPK* は必ずしも低下しておらず、*DMPK* をまったく発現しないノックアウトマウスでも DM1 様の症状はあまりみられないことから^{7,8)}、長らく DM1 の病態機序は不明であった。しかし、*DMPK* ではなくアクチン遺伝子の 3' 非翻訳領域に 250 CTG リピートを組み入れたモデルマウス (*HSA*^{LR}) が DM 同様ミオトニアなどの症状を呈すること⁹⁾、DM1 と類似した症状を示す DM2 の原因が *DMPK* とはまったく異なる *CNBP* (*ZNF9*) 遺伝子イントロン 1 上の CCTG リピートの伸長であることから¹⁰⁾ (Fig. 1)、現在では DM は *DMPK* や *CNBP* といった蛋白自体の異常ではなく、伸長した CUG, CCUG リピートを持つ異常 RNA が病態の中心であると考えられている (RNA dominant disease)⁶⁾。

II. DM とスプライシング異常

DM1 患者組織においては、異常伸長した CTG を持つアリル由来の異常 *DMPK* mRNA も、正常アリル由来の *DMPK* mRNA と同様に転写される。正常 *DMPK* mRNA が核外へ運ばれ蛋白に翻訳される一方、異常 *DMPK* mRNA では、伸長した CUG リピート (CUG^{exp}) がヘアピン構造をとり、細胞質へは輸送されず核内で RNA 凝集体 (ribonuclear foci) を形成する (Fig. 2)。こうして核内に蓄積された CUG^{exp} により、本来 CUG 配列を含む RNA に結合する能力を持つ MBNL (mus-

cleblind), CELF1 (CUGBP1) といった 2 つの蛋白群が影響を受ける^{11,12)}。これらはともに pre-mRNA スプライシングを制御する蛋白であり、特に発達に伴う幼若型から成熟型への選択的スプライシング変換を調節している。MBNL は、その高い CUG 配列への結合力が災いして RNA 凝集体に絡めとられ、DM1 核内で正常に機能する MBNL が枯渇する¹³⁾ (Fig. 2)。一方、CELF1 は RNA 凝集体とは結合しないものの、リン酸化が促進され安定化し、核内で CELF1 が増加する¹⁴⁾。この結果、DM1 では MBNL・CELF1 というスプライシング制御因子のアンバランスが生じ、さまざまな mRNA のスプライシング異常 (幼若型スプライシングアイソフォームの増加) が引き起こされる (Fig. 3)。

DM2 でも、異常に伸長した CCUG を含む RNA (CCUG^{exp}) が核内に蓄積して MBNL を凝集し、DM1 と共通のスプライシング異常をきたす。このスプライシング異常は、*HSA*^{LR} マウスのみならず MBNL1 ノックアウトマウスや CELF1 過剰発現マウスでも再現されている。また、これらのマウスがミオトニアや心伝導障害を呈することからも^{15,16)}、DM の多彩な症状は CUG^{exp} や CCUG^{exp} といった toxic RNA がもたらす pre-mRNA スプライシング異常によるものと考えられている。

骨格筋型クロライドチャンネル (*CLCN1*) は、筋での静止膜電位維持に重要な役割を果たしている。DM ではスプライシング制御機構の異常により、エクソン 7a が挿入された幼若型スプライシング産物が増加する¹⁷⁾。このスプライシング産物からは正常な機能をもつ *CLCN1* が形成されず、機能するチャンネル量が減少するため筋細胞膜の興奮性が高まり、ミオトニアを引き起こす。また DM ではインスリン受容体、心筋トロポニン T のスプライシング異常が報告されており、それぞれ耐糖能異常、心伝導障害の原因となる可能性が示唆されている^{18,19)}。ほかにもリアノジン受容体、筋小胞体カルシウムポンプといった筋細胞のカルシウム恒常性を担う蛋白²⁰⁾、ジストロフィン、ジストロプレビンといった筋細胞骨格蛋白など^{21,22)}、20 あまりのスプライシング異常が DM 骨格筋や心筋、脳で見出されている (Table)。しかしながら、DM で最も重要な症状といえる進行性筋力低下・筋萎縮の原因となるスプライシング異常は確定しておらず、さまざまなスプライシング異常が複合的に関与している可能性も考えられる。

III. DM 治療への展望

これまで DM では、Na チャンネル阻害薬を中心にミオ

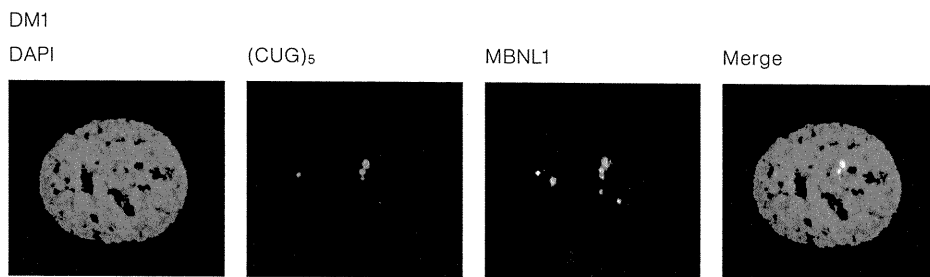


Fig. 2 DM1 および正常筋芽細胞の FISH-IF

核：青 (DAPI), CUG^{exp} RNA：赤 (FISH), MBNL1：緑 (IF)。正常筋芽細胞では CUG^{exp} RNA による凝集体形成はなく, MBNL1 も核内に広く分布しているが, DM1 筋芽細胞では凝集体に MBNL1 が凝集している。

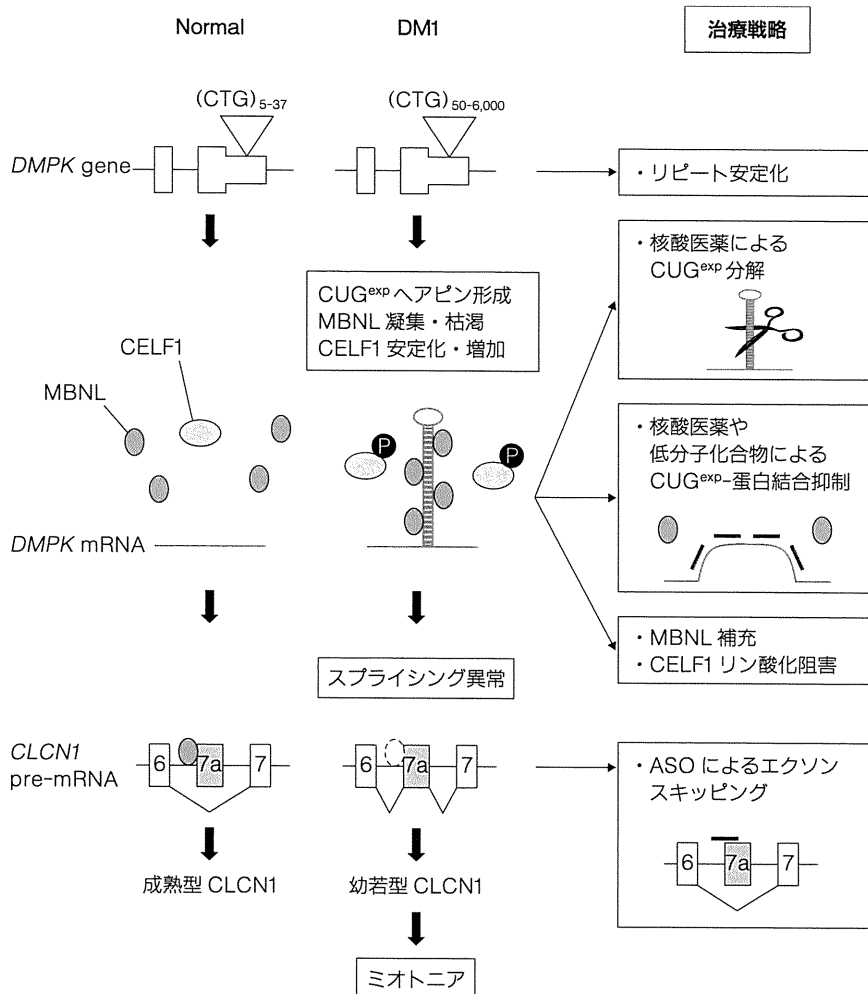
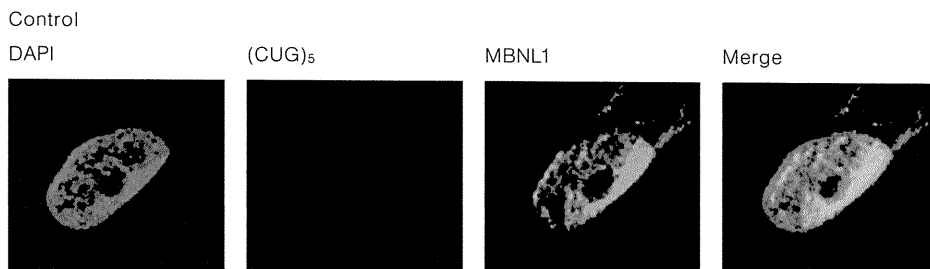


Fig. 3 DM1 における RNA dominant mechanism と治療戦略

DM1 では伸長したリピートを持つ CUG^{exp} RNA がヘアピン構造をとり, MBNL を吸着し CELF1 を増加させる。これらスプライシング制御因子の異常により, pre-mRNA スプライシングに障害をきたし, さまざまな症状を呈する。DM2 でも, CCUG^{exp} RNA による同様の機序が考えられている。

Table DM でみられる pre-mRNA スプライシング異常

	遺伝子	蛋白
骨格筋	<i>TNNT3</i>	骨格筋型トロポニン T
	<i>INSR</i>	インスリン受容体
	<i>CLCN1</i>	骨格筋型塩化物チャネル
	<i>MTMR1</i>	ミオチュブラリン関連蛋白
	<i>RYR1</i>	リアノジン受容体
	<i>SERCA1</i>	筋小胞体 Ca ²⁺ ポンプ
	<i>SERCA2</i>	筋小胞体 Ca ²⁺ ポンプ
	<i>LDB3</i>	LIM domain 結合蛋白
	<i>MBNL1</i>	マッスルプラインド様蛋白
	<i>MBNL2</i>	マッスルプラインド様蛋白
	<i>TTN</i>	タイチン
	<i>CAPN3</i>	カルパイン 3
	<i>FHOD1</i>	フォルミン関連蛋白
	<i>GFPT1</i>	グルタミン・フルクトース-6-リン酸トランスアミナーゼ
	<i>NRAP</i>	ネブリン関連蛋白
	<i>PDLIM3</i>	PDZ/LIM domain 蛋白
	<i>MAPT</i>	タウ蛋白
	<i>DMD</i>	ジストロフィン
	<i>DTNA</i>	ジストロプレビン
<i>MEF2C</i>	筋細胞エンハンサー因子	
心筋	<i>TNNT2</i>	心筋型トロポニン T
	<i>MTMR1</i>	ミオチュブラリン関連蛋白
	<i>KCNAB1</i>	電位依存性カリウムチャネル
	<i>LDB3</i>	LIM domain 結合蛋白
	<i>TTN</i>	タイチン
	<i>PDLIM3</i>	PDZ/LIM domain 蛋白
	<i>DMD</i>	ジストロフィン
	<i>DTNA</i>	ジストロプレビン
脳	<i>APP</i>	アミロイド前駆体蛋白
	<i>GRIN1</i>	NMDA 受容体
	<i>MAPT</i>	タウ蛋白

トニアを軽減する対症療法が行われてきた。しかし、根本的な治療はなく、多くは進行性の筋力低下による呼吸不全や心伝導障害による突然死などの転帰をとる。しかし近年、RNA dominant disease としての病態が解明され、根本的な治療として介入可能なターゲットが明らかになってきた (Fig. 3)。現在それぞれのターゲットに対するさまざまなアプローチが模索されており、以下にその方向性と臨床応用への可能性について概説する。

1. Toxic RNA (CUG^{exp}) をターゲットとする治療法

前述のとおり、DM では伸長したリピートを持つ異常 RNA が病態の根幹をなす。この異常 RNA の作用を抑制できれば、DM の症状を引き起こすスプライシング異常を網羅的に改善できるため、現在異常 RNA をターゲットとする治療アプローチが最も期待され、また研究も進んでいる。この分野で昨今進歩が著しい技術として、

アンチセンスオリゴヌクレオチド (antisense oligonucleotide: ASO) などの核酸医薬を用いた方法がある。核酸医薬はターゲットとする RNA に相補的な配列を含む短い塩基あるいは塩基対からなり、ターゲット RNA と結合することで作用を発揮する。これらは構成する塩基のさまざまな化学的修飾とそのデザインにより特性が異なり、大きく 2 通りに分類される。1 つは RNA 分解酵素 (RNase H) や RNA 干渉を利用してターゲット RNA を直接分解する作用を持つもの、もう 1 つはターゲット RNA と結合し、RNA から蛋白への翻訳やほかの蛋白との結合を抑制する作用を持つものである。

前者の作用で異常 RNA を減らすことを目的にして、Puymirat らのグループは、*DMPK* 3' UTR をターゲットとする short hairpin RNA や RNA-ASO をレトロウイルスベクターにより DM1 筋芽細胞に導入、異常 *DMPK* mRNA を最大 80% 減少させ、筋芽細胞の融合能も改善させることに成功した^{23,24)}。また同グループは、*DMPK* 3' UTR にある cleavage site をターゲットとする hammerhead ribozyme の DM1 筋芽細胞への導入により、異常 *DMPK* mRNA と RNA 凝集体が減少することを報告した²⁵⁾。しかし、これらのアプローチは動物レベルで検証されておらず、さらにリピートの伸長していない正常型 *DMPK* mRNA レベルも同時にかなり低下する。*DMPK* ノックアウトマウスでは軽度ではあるが心伝導障害などを示すことから、正常 *DMPK* 蛋白低下による影響も懸念される。

一方、後者の ASO による異常 RNA 中和作用を利用して、MBNL の凝集体への凝集を防ぐアプローチも試みられている。Wansink らのグループは 2'-O-methylphosphorothioate (CAG)₇ ASO が、DM 細胞モデルで RNA 凝集体を減少させることを報告した²⁶⁾。また 2'-O-methylphosphorothioate (CAG)₇ ASO を HSA^{L/R} マウスへ筋肉内投与することで、凝集体形成の軽減と凝集体に絡めとられていた MBNL1 の核内再分布、さらにはわずかではあるが *Clcn1* などのスプライシング異常が改善することを示した。またほぼ同時期に Thornton らのグループは、(CAG)₂₅ morpholino ASO を HSA^{L/R} マウスへ筋肉内投与し、凝集体の減少と MBNL1 の核内再分布、さらに *Clcn1* のスプライシングを正常化し、ミオトニアも改善することを報告している²⁷⁾。またごく最近、Furling らのグループが、DM1 筋芽細胞ではあるが、(CAG)₁₅ を持つ U7-small nuclear RNA を導入して、凝集体の減少と MBNL1 の核内再分布、一部のスプライシング異常を改善することを見出している²⁸⁾。興味深いことに、これら CUG リピートをターゲットとした 3 種の

ASOは異常 *DMPK* mRNAを直接分解する特性はないものの、細胞モデル・モデルマウスともに CUG^{exp} レベルを選択的に低下させている。詳細な機序はいまだ不明だが、CUG^{exp} と MBNL との結合を抑制することにより CUG^{exp} の核外輸送が促進され、細胞質での RNA decay に供される可能性や、核内での未知の RNA 変性メカニズムなどが考えられている。いずれにしても、CUG^{exp} をターゲットとする ASO が、実際にモデルマウスでスプライシングを改善することは大変画期的であり、DM の治療法として有望ではあるが、課題も残っている。マウスで効果を示した 2'-O-methyl-phosphorothioate (CAG)₇, (CAG)₂₅ morpholino は、ともに筋肉内へ有効に導入するため、電気穿孔法で強い電気刺激を加えているが、これはヒトへの適応は難しい。また、静脈などを介する ASO の全身投与も Duchenne 型筋ジストロフィーでは確立しているが、DM では Duchenne 型筋ジストロフィーほど筋変性が強くないため、筋肉への ASO の移行性が問題となる。さらに、マウスへの筋肉内投与では異常 *DMPK* mRNA に選択的な RNA レベルの減少がみられたが、全身のしかも反復投与となると、ASO が集積しやすいといわれている特に肝臓で、*DMPK* 以外で CUG 配列を持つ RNA の非特異的な発現低下(オフターゲット効果)を招き、予期せぬ副作用を引き起こす可能性も危惧される。

一方、ASO を用いずに、CUG^{exp} と MBNL の結合を防ぐアプローチも考えられている。これまでに、Hoechst 33258 誘導体とカナマイシン誘導体、および triaminotriazine-acridine 複合体といった低分子化合物が、試験管内で CUG^{exp} と MBNL との結合を抑制することが報告されている²⁹⁻³¹⁾。しかし、これら化合物の生体への安全性は不明で、特に triaminotriazine-acridine 複合体についてはもとの化合物が強い毒性を持つため、臨床応用は困難と考えられる。そんななか、Berglund らのグループは、既に臨床で使用されている薬剤を含む 26 の化合物をスクリーニングし、ペンタミジンとネオマイシン B に CUG^{exp}-MBNL 結合抑制作用があることを見出した³²⁾。さらにペンタミジンが DM1 モデル細胞で凝集体形成を抑制し、HSA^{LR} マウスへ腹腔内投与することでスプライシング異常を改善することを報告している。ペンタミジンは、カリニ肺炎などの治療で広く用いられている薬剤であり、DM への治療に期待が持てるが、モデルマウスへはヒト標準投与量の 10 倍量を投与してもなお、*Cln1* スプライシングを正常化しミオトニアを消失させるほどの効果はなく、また高容量投与による毒性もみられている。今後ほかの有望な化合物の同定や、CUG^{exp} へ

の結合能、生体での安全性をさらに高めた誘導体の開発が待たれる。

2. スプライシング制御因子をターゲットとする治療法

DM1 では CUG^{exp} による MBNL の枯渇と CELF1 の増加という 2 つのスプライシング制御因子の異常がみられる。これらの是正を目的に、スプライシング制御蛋白をターゲットとするアプローチも考えられている。*CLCN1* のスプライシングは MBNL により制御されている³³⁾。HSA^{LR} マウスでも (CUG)₂₅₀ を含む RNA 凝集体に MBNL が凝集し、DM 同様 *Cln1* のスプライシング異常とミオトニアを呈する¹⁷⁾。Swanson らのグループは、この HSA^{LR} マウスにアデノ随伴ウイルスベクターを用いて MBNL1 を過剰発現させると、*Cln1* スプライシング異常とミオトニアが改善することを示した³⁴⁾。DM でも、RNA 凝集体に蓄積し、核内で枯渇している MBNL1 を外部からウイルスベクターにより補充することで、MBNL 依存性のスプライシングを正常化させる方法が検討されている。この方法の問題点は、筋肉で安定的に発現できるようにウイルスベクターシステムの改良がなお必要であることや、DM1 でみられるもう 1 つのスプライシング制御因子 CELF1 の異常と、RNA 凝集体に凝集する別の MBNL ファミリー蛋白、MBNL2 については改善できないことが挙げられる。実際、MBNL1 を過剰発現させた HSA^{LR} マウスでは、ミオトニアは改善するものの、筋組織のミオパチー様変化には改善がみられていない。

また、MBNL とは異なり、CUG^{exp} に凝集しない CELF1 が DM1 で増加する機序ははっきりとわかっていない。Cooper らのグループは、CUG^{exp} がなんらかのメカニズムで protein kinase C (PKC) を活性化し、PKC が CELF1 をリン酸化して CELF1 蛋白の半減期を伸ばすことを報告した¹⁴⁾。同グループが作製した 960 の CUG リピートを心特異的に発現するマウスでも、PKC の活性化、CELF1 のリン酸化および CELF1 の増加が認められ、DM1 でみられるスプライシング変化や心伝導障害もみられる^{14,16)}。さらに、このモデルマウスに PKC 阻害薬を投与すると、CELF1 が低下し、CELF1 依存性のスプライシング異常と心伝導障害が改善することが見出されている³⁵⁾。PKC 阻害薬は心不全モデル動物で心機能を改善するという報告もあり³⁵⁾、心障害を合併することのある DM にとっては期待が持てる。しかし、DM でみられる心障害の機序については明確でない部分もあり、また PKC 阻害薬のほかの臓器に及ぼす影響も不明である。さ

らに、DM2ではCELF1レベルは必ずしも増加しておらず、またCELF1依存性のスプライシング異常がほかの筋疾患モデルでも非特異的に認められることから³⁶⁾、DMにおけるCELF1の意義については、今一度詳細な検討が必要である。

3. pre-mRNA スプライシングをターゲットとする治療法

ASOには、pre-mRNA上にあるスプライシング調節配列に結合し、mRNAのスプライシングを制御する作用もある。これを利用し、症状につながる個々のスプライシング異常を直接治療するアプローチも試みられている。Thorntonらのグループは、HSA^{LR}マウスに*Cln1*エクソン7aの5 prime splice siteと3 prime splice siteをターゲットとしたmorpholino ASOを筋肉内投与してエクソン7aをスキップさせ、幼若型から成熟型へスプライシングを転換し、正常型塩化物チャネルの発現回復とミオトニアの改善を示した³⁷⁾。このように個別のスプライシング異常をターゲットとしたASOによる治療も有効であるが、前述したとおり、全身投与での筋移行性の問題があり、また現時点では筋力低下・筋萎縮のターゲットとなるスプライシング異常が判明していない点が課題である。

4. リピート不安定性をターゲットとする治療法

DM1で伸長しているCTGリピート長は一定ではなく、年齢とともに増大し、症状の進行に関与する。従来リピートの不安定性には、DNAの複製・修復機構が関わっているとされてきたが、近年、CTGリピートの転写機構こそが大きく影響していることが明らかとなった³⁸⁾。このことはDMPKの転写が活発な筋組織でリピート長が長いことにも合致し、異常mRNAへの転写がtoxic RNAの産生だけでなく、リピートの伸長という面でも悪影響を及ぼしていることを意味する。一見治療のターゲットとして忘れ去られがちなCTGリピートの不安定性であるが、前述のような治療法が臨床応用可能となり、いったんDM症状の改善をみたとしても、年々増大するリピートを放置すればtoxic RNAの負荷が増え、治療効果の減弱・消失につながるおそれがある。残念ながら現在CTGリピートを安定化すると報告されている化合物は、DNA複製・修復機構に広汎に影響を及ぼし、毒性も強いいため長期投与には向かない³⁹⁾。リピートの安定化については、発症初期や発症前の早期介入によるDM1の進行抑制だけでなく、ほかのトリプレットリピート病へ応用することも可能であり、引き続き安全性

の高い治療法の開発が待たれる。

おわりに

RNA dominant diseaseとしてDMの病態が解明されつつあり、有望な治療法の開発に向けても、着実に、特にここ数年大きな進歩がみられている。しかし、DMで最も重要な症状である筋力低下の原因は解明されておらず、DM1とDM2の病態の相違など、今後明らかにすべき点は多い。また、治療効果の判定に向けても、DM2モデルマウスはもとより、DM1の筋症状を反映するモデルマウスの開発が必要である。個別の治療アプローチについてもまだまだ課題は多々あるが、それらを克服するべくたゆまぬ努力が続けられており、近い将来必ずDMの根本的治療が可能となる日がくると期待される。

文献

- 1) Harper PS: Myotonic Dystrophy. WB Saunders Company, London, 2001
- 2) Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, Buckler AJ, Church D, et al: Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 68: 799-808, 1992
- 3) López Castel A, Nakamori M, Tomé S, Chitayat D, Gourdon G, et al: Expanded CTG repeat demarcates a boundary for abnormal CpG methylation in myotonic dystrophy patient tissues. *Hum Mol Genet* 20: 1-15, 2011
- 4) Ashizawa T, Dubel JR, Harati Y: Somatic instability of CTG repeat in myotonic dystrophy. *Neurology* 43: 2674-2678, 1993
- 5) Martorell L, Monckton DG, Gamez J, Johnson KJ, Gich I, et al: Progression of somatic CTG repeat length heterogeneity in the blood cells of myotonic dystrophy patients. *Hum Mol Genet* 7: 307-312, 1998
- 6) Nakamori M, Thornton C: Epigenetic changes and non-coding expanded repeats. *Neurobiol Dis* 39: 21-27, 2010
- 7) Jansen G, Groenen PJ, Bächner D, Jap PH, Coerwinkel M, et al: Abnormal myotonic dystrophy protein kinase levels produce only mild myopathy in mice. *Nat Genet* 13: 316-324, 1996
- 8) Reddy S, Smith DBJ, Rich MM, Leferovich JM, Reilly P, et al: Mice lacking the myotonic dystrophy protein kinase develop a late onset progressive myopathy. *Nat Genet* 13: 325-334, 1996
- 9) Mankodi A, Logigian E, Callahan L, McClain C, White R, et al: Myotonic dystrophy in transgenic mice ex-

- pressing an expanded CUG repeat. *Science* **289**: 1769-1773, 2000
- 10) Liquori CL, Ricker K, Moseley ML, Jacobsen JF, Kress W, et al: Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. *Science* **293**: 864-867, 2001
 - 11) Kino Y, Mori D, Oma Y, Takeshita Y, Sasagawa N, et al: Muscleblind protein, MBNL1/EXP, binds specifically to CHHG repeats. *Hum Mol Genet* **13**: 495-507, 2004
 - 12) Roberts R, Timchenko NA, Miller JW, Reddy S, Caskey CT, et al: Altered phosphorylation and intracellular distribution of a (CUG)_n triplet repeat RNA-binding protein in patients with myotonic dystrophy and in myotonin protein kinase knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 13221-13226, 1997
 - 13) Miller JW, Urbinati CR, Teng-Ummuay P, Stenberg MG, Byrne BJ, et al: Recruitment of human muscleblind proteins to (CUG)_n expansions associated with myotonic dystrophy. *EMBO J* **19**: 4439-4448, 2000
 - 14) Kuyumcu-Martinez NM, Wang GS, Cooper TA: Increased steady-state levels of CUGBP1 in myotonic dystrophy 1 are due to PKC-mediated hyperphosphorylation. *Mol Cell* **28**: 68-78, 2007
 - 15) Kanadia RN, Johnstone KA, Mankodi A, Lungu C, Thornton CA, et al: A muscleblind knockout model for myotonic dystrophy. *Science* **302**: 1978-1980, 2003
 - 16) Wang GS, Kearney DL, De Biasi M, Taffet G, Cooper TA: Elevation of RNA-binding protein CUGBP1 is an early event in an inducible heart-specific mouse model of myotonic dystrophy. *J Clin Invest* **117**: 2802-2811, 2007
 - 17) Mankodi A, Takahashi MP, Jiang H, Beck CL, Bowers WJ, 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* **10**: 35-44, 2002
 - 18) Savkur RS, Philips AV, Cooper TA: Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat Genet* **29**: 40-47, 2001
 - 19) Philips AV, Timchenko LT, Cooper TA: Disruption of splicing regulated by a CUG-binding protein in myotonic dystrophy. *Science* **280**: 737-741, 1998
 - 20) Kimura T, Nakamori M, Lueck JD, Pouliquin P, Aoike F, et al: Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* **14**: 2189-2200, 2005
 - 21) Nakamori M, Kimura T, Fujimura H, Takahashi MP, Sakoda S: Altered mRNA splicing of dystrophin in type 1 myotonic dystrophy. *Muscle Nerve* **36**: 251-257, 2007
 - 22) Nakamori M, Kimura T, Kubota T, Matsumura T, Sumi H, et al: Aberrantly spliced alpha-dystrobrevin alters alpha-syntrophin binding in myotonic dystrophy type 1. *Neurology* **70**: 677-685, 2008
 - 23) Langlois MA, Boniface C, Wang G, Alluin J, Salvatera PM, et al: Cytoplasmic and nuclear retained DMPK mRNAs are targets for RNA interference in myotonic dystrophy cells. *J Biol Chem* **280**: 16949-16954, 2005
 - 24) Furling D, Doucet G, Langlois MA, Timchenko L, Belanger E, et al: Viral vector producing antisense RNA restores myotonic dystrophy myoblast functions. *Gene Ther* **10**: 795-802, 2003
 - 25) Langlois MA, Lee NS, Rossi JJ, Puymirat J: Hammerhead ribozyme-mediated destruction of nuclear foci in myotonic dystrophy myoblasts. *Mol Ther* **7**: 670-680, 2003
 - 26) Mulders SA, van den Broek WJ, Wheeler TM, Croes HJ, van Kuik-Romeijn P, et al: Triplet-repeat oligonucleotide-mediated reversal of RNA toxicity in myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**: 13915-13920, 2009
 - 27) Wheeler TM, Sobczak K, Lueck JD, Osborne RJ, Lin X, et al: Reversal of RNA dominance by displacement of protein sequestered on triplet repeat RNA. *Science* **325**: 336-339, 2009
 - 28) Francois V, Klein AF, Beley C, Jollet A, Lemerrier C, et al: Selective silencing of mutated mRNAs in DM1 by using modified hU7-snrRNAs. *Nat Struct Mol Biol* **18**: 85-87, 2011
 - 29) Pushechnikov A, Lee MM, Childs-Disney JL, Sobczak K, French JM, et al: Rational design of ligands targeting triplet repeating transcripts that cause RNA dominant disease: application to myotonic muscular dystrophy type 1 and spinocerebellar ataxia type 3. *J Am Chem Soc* **131**: 9767-9779, 2009
 - 30) Lee MM, Childs-Disney JL, Pushechnikov A, French JM, Sobczak K, et al: Controlling the specificity of modularly assembled small molecules for RNA via ligand module spacing: targeting the RNAs that cause myotonic muscular dystrophy. *J Am Chem Soc* **131**: 17464-17472, 2009
 - 31) Arambula JF, Ramisetty SR, Baranger AM, Zimmerman SC: A simple ligand that selectively targets CUG trinucleotide repeats and inhibits MBNL protein binding. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**: 16068-16073, 2009
 - 32) Warf MB, Nakamori M, Matthys CM, Thornton CA, Berglund JA: Pentamidine reverses the splicing defects associated with myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**: 18551-18556, 2009
 - 33) Kino Y, Washizu C, Oma Y, Onishi H, Nezu Y, et al: MBNL and CELF proteins regulate alternative splic-

- ing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1. *Nucleic Acids Res* **37**: 6477-6490, 2009
- 34) Kanadia RN, Shin J, Yuan Y, Beattie SG, Wheeler TM, et al: Reversal of RNA missplicing and myotonia after muscleblind overexpression in a mouse poly(CUG) model for myotonic dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 11748-11753, 2006
- 35) Wang GS, Kuyumcu-Martinez MN, Sarma S, Mathur N, Wehrens XH, et al: PKC inhibition ameliorates the cardiac phenotype in a mouse model of myotonic dystrophy type 1. *J Clin Invest* **119**: 3797-3806, 2009
- 36) Orengo JP, Ward AJ, Cooper TA: Alternative splicing dysregulation secondary to skeletal muscle regeneration. *Ann Neurol* **69**: 681-690, 2011
- 37) Wheeler TM, Lueck JD, Swanson MS, Dirksen RT, Thornton CA: Correction of CIC-1 splicing eliminates chloride channelopathy and myotonia in mouse models of myotonic dystrophy. *J Clin Invest* **117**: 3952-3957, 2007
- 38) Nakamori M, Pearson CE, Thornton CA: Bidirectional transcription stimulates expansion and contraction of expanded (CTG)ⁿ(CAG) repeats. *Hum Mol Genet* **20**: 580-588, 2011
- 39) Gomes-Pereira M, Monckton DG: Chemical modifiers of unstable expanded simple sequence repeats: what goes up, could come down. *Mutat Res* **598**: 15-34, 2006

特集 ミオパチー—最近の知見—

骨格筋チャネル病*

—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ネルが存在し、骨格筋の電氣的活動を担っている。これらのイオンチャ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ネルの役割について概説し、筋チャネル病の臨床像・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されている。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氣的勾配による力を受ける。この濃度勾配による力と電氣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^- チャネルは豊富に発現している[骨格筋型 Cl^- チャネル(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.

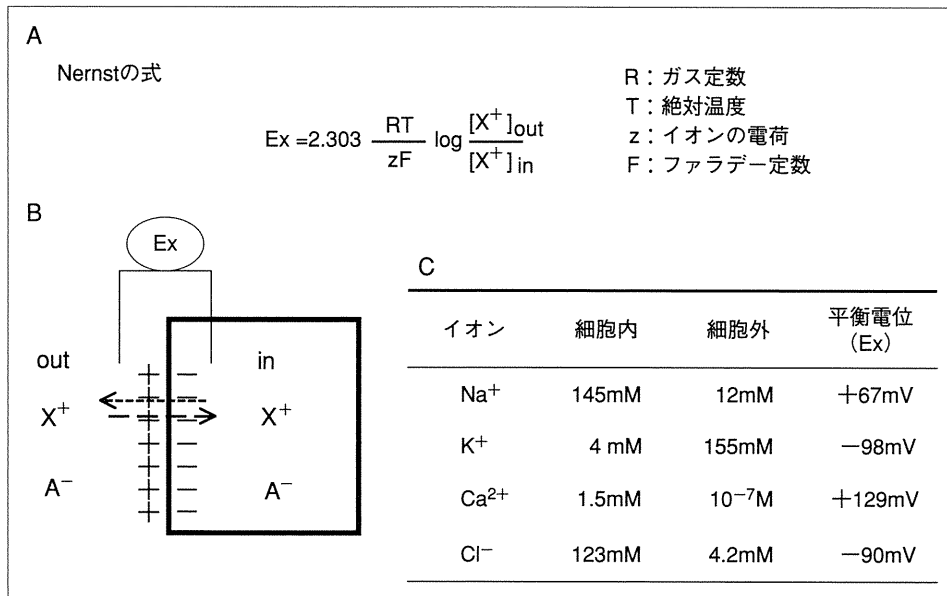


図1 平衡電位

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。

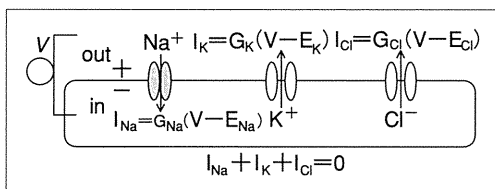


図2 静止膜電位

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参与する (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、ClC-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

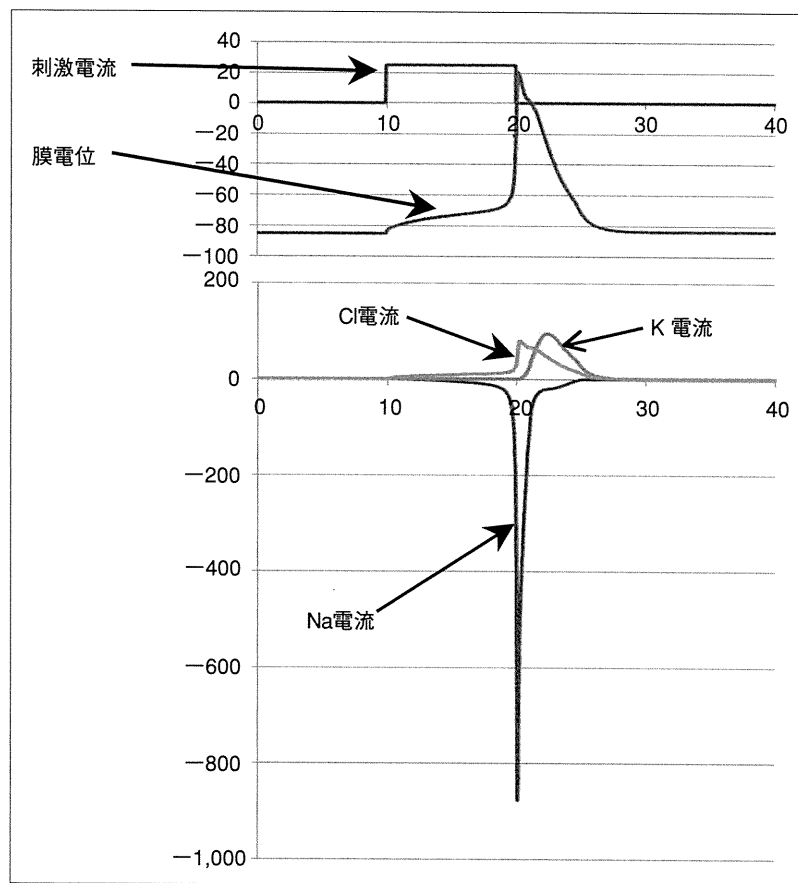


図3 活動電位

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

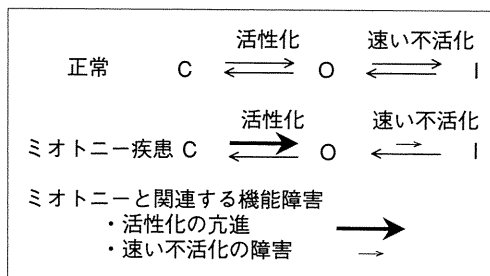


図4 Nav1.4異常によるミオトニーの病態生理

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。

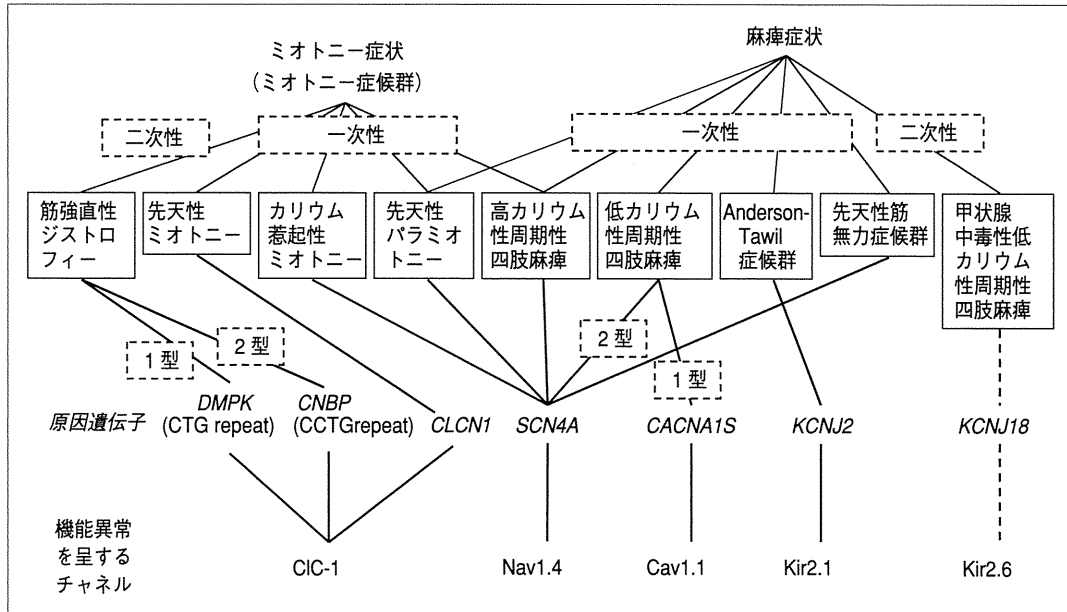


図5 骨格筋チャンネル病の分類

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(non-dystrophic 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

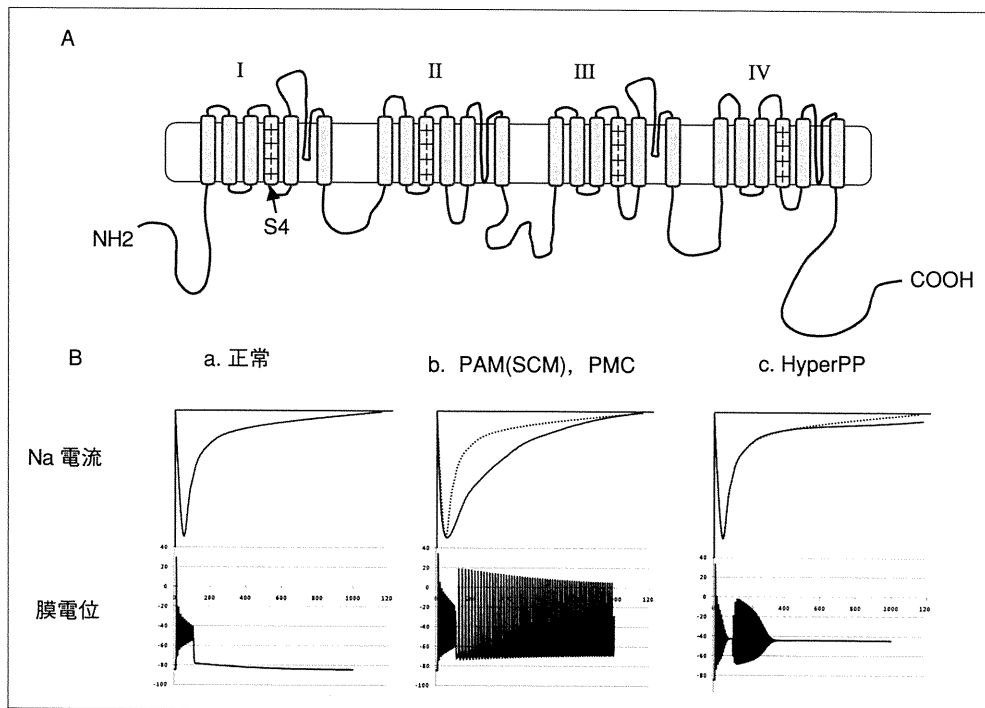


図6 Nav1.4チャネル

- A: Nav1.4チャ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)

ることで生じることが示されている²⁾。

b. 骨格筋型Naチャネル(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。ClC-1異常によるミオトニーはClC-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)

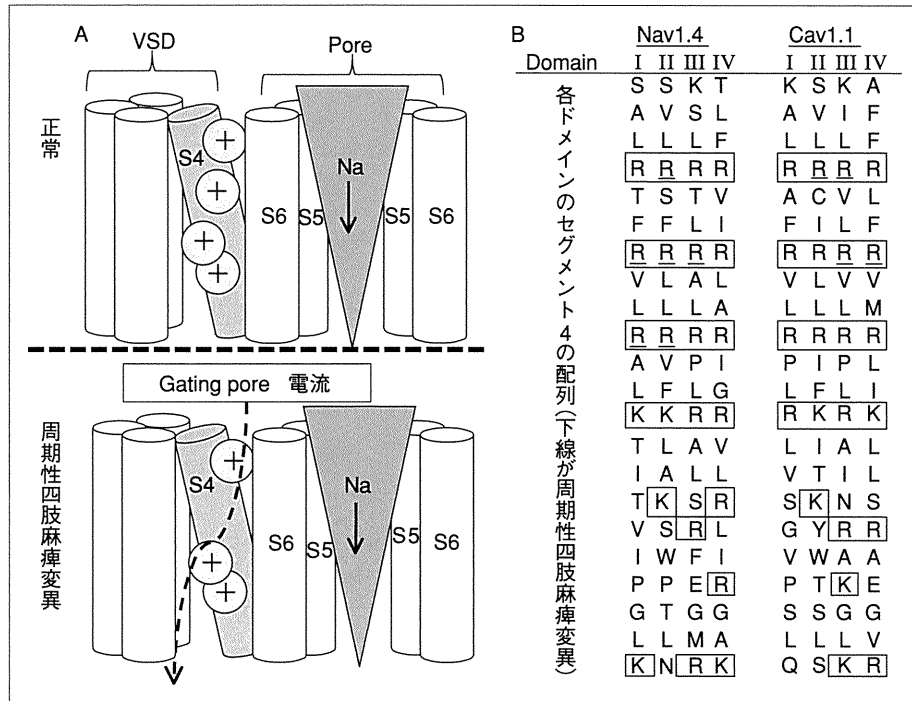


図7 電位感受ドメイン(VSD)とgating pore電流

- 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と組み合わせられて構成される(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の特徴とする。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の特徴とする。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だ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	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)

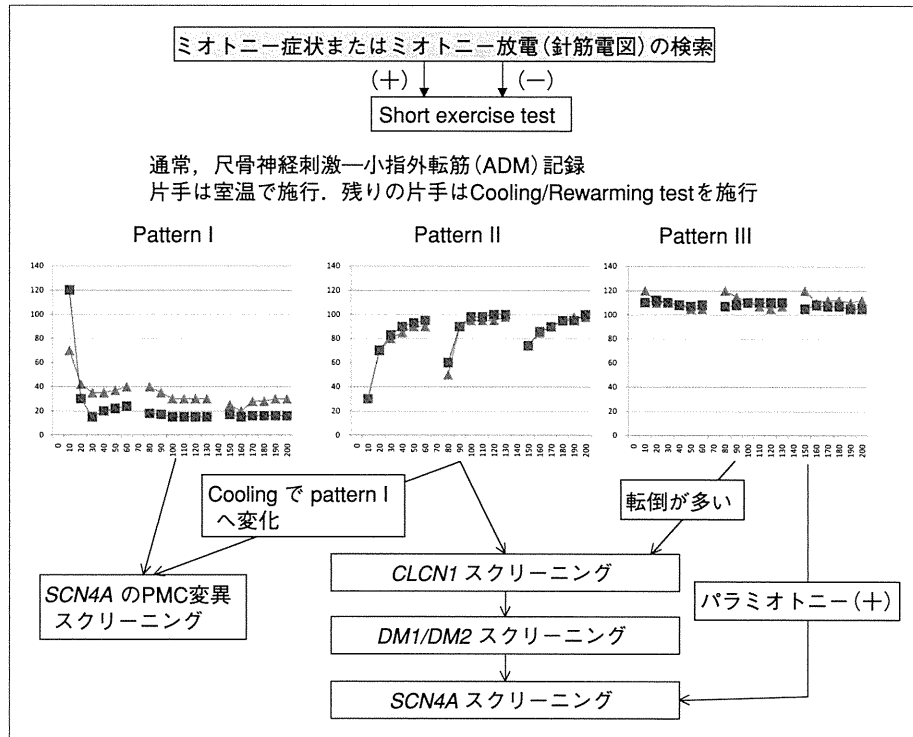


図8 骨格筋チャンネル病(ミオトニー症候群)の診断チャート(short exercise test)

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異なることも

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を行い、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

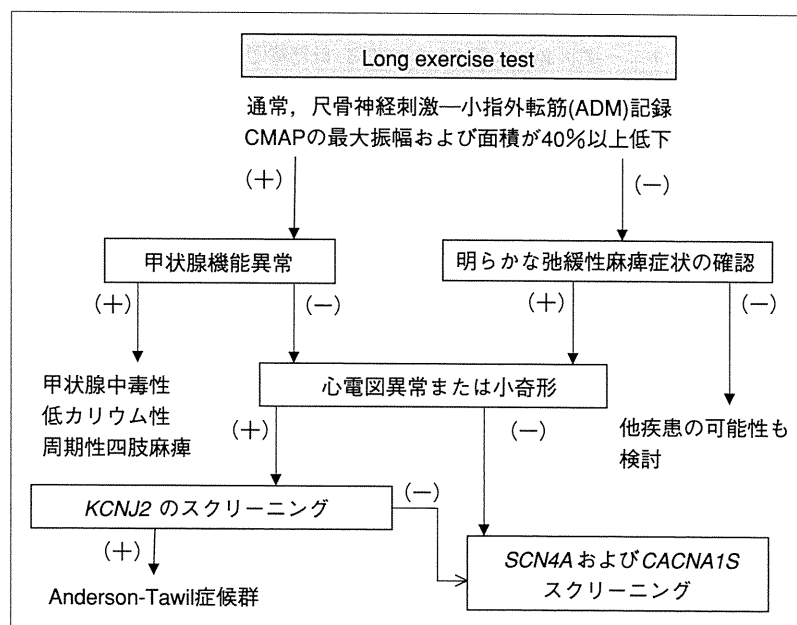


図9 骨格筋チャンネル病(周期性四肢麻痺)の診断チャート(long exercise test)

弛緩性麻痺を主症状とする骨格筋チャンネル病診断には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チャン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、原因チャンネルの推測に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