

201128080A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

自己貪食空胞性ミオパチーの  
診断基準確立と治療法開発に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 杉江 和馬  
(奈良県立医科大学 神経内科)

平成 24 (2012) 年 3 月

# 目次

I. 総括研究報告	
自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究 杉江 和馬 (奈良県立医科大学 神経内科).....	1
II. 分担研究報告	
1. 本邦での自己貪食空胞性ミオパチーの全国での実態調査(第2報) 杉江 和馬 (奈良県立医科大学 神経内科).....	7
2. ミトコンドリア選択的オートファジーを伴う先天性筋ジストロフィー 西野 一三 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所).....	15
3. 心筋症における病因遺伝子変異の検索と機能解析 木村 彰方 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所).....	18
4. 自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立に関する臨床的検討 小牧 宏文 (国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科).....	24
5. 成人型自己貪食性ミオパチー症例における臨床的・病理学的研究 金田 大太 (大阪赤十字病院 神経内科).....	29
III. 自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準.....	33
IV. 研究班名簿.....	37
V. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	39
VI. 研究成果の刊行物・別刷.....	43



# I. 総括研究報告

## 「自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究」

研究代表者 杉江 和馬 奈良県立医科大学 神経内科 講師

### 研究要旨

自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）は、筋細胞内の特異な自己貪食空胞（AVSF）を特徴とする稀な筋疾患である。AVMには、Danon病や過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー（XMEA）が含まれるが、いずれも臨床病態や発症機序は未解明の部分が多い。AVMの正確な診断や適切な治療を行うためには、本疾患の診断基準確立と治療法開発は必要不可欠である。平成21年度の「自己貪食空胞性ミオパチー」研究班で作成したAVMの診断基準を踏まえ、平成22年度に全国2,617の関連学会の施設に対し、本邦でのAVMの実態調査（第1次調査）を行い、AVM患者40例を確認した。他に、AVM疑い例や既知の病型に該当しないAVM例を20例以上見出した。平成23年度には、第2次調査として、新規患者を含めたAVMの臨床病理学的特徴と現在施行されている治療法について解析した。さらに、遺伝性心筋症の病態形成機構解明に関する研究も行った。今後、より詳細な病態把握に努め、臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。さらに、治療法開発に向けての基礎的研究とともに、現状で最適な治療法を確立して診療ガイドライン策定が必要である。

### 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 部長）  
木村彰方（東京医科歯科大学  
難治疾患研究所 教授）  
小牧宏文（国立精神・神経医療研究  
センター病院小児神経科 医長）  
金田大太（大阪赤十字病院  
神経内科 医員）

### A. 研究目的

自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）は、筋病理学的に筋鞘膜の性質を有する極めて特異な自己貪食空胞（AVSF：autophagic vacuoles with sarcolemmal features）を有する稀少な筋疾患である。AVSFは他の筋疾患で認める空胞とは大きく異なる。AVMの病態には、オートファジー機構の関与が疑われているが、依然原因不明で治療も未確立である。

代表疾患であるDanon病は、2000年に初め

て原因遺伝子としてlysosome-associated membrane protein-2（LAMP-2）が発見され（Nishino I et al. Nature 2000）、さらに我々が世界に先駆け初めてDanon病の臨床病型について報告した（Sugie K, et al. Neurology, 2002）。Danon病は、X染色体優性遺伝形式を示し、男性は心筋症・ミオパチー・知的遅滞を、保因者の女性でも心筋症をきたす予後不良な進行性疾患である。AVMのもう一つの代表疾患XMEA（過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー：X-linked myopathy with excessive autophagy）は、小児期発症で四肢筋力低下と筋萎縮を来す。共通して認められる自己貪食空胞：AVSFは、乳児型AVM、多臓器障害を伴う成人型AVM（Kaneda D, Sugie K, et al. Neurology, 2003）、X連鎖性先天性AVM（Yan C, Sugie K, et al. Neurology, 2005）にも認められる。いずれも稀少疾患で身体的障害度は重度であるが、発症年齢や合併症は様々で、臨床病型により生命予後は大きく異なる。

平成21年度の「自己貪食空胞性ミオパチーの疾患概念確立と診断基準作成のための研究」班（研究代表者 杉江和馬）で、AVMの疾患概念確立のために、AVMの診断基準を作成した。

平成22年度に、AVMの正確な診断と適切な治療遂行には必要不可欠である診断基準確立と治療法開発のために、まず第1次調査として、本邦でのAVM患者の実態調査を行った。そして、平成23年度には、第2次調査として、新規患者を含めたAVM患者の臨床病態について調査を行い、各臨床病型の病態解析を行った。疾患の臨床的特徴を把握し、共通する分子病態の解明、さらに現行の治療法を把握して、将来の根本治療の手掛かりを得ることを目指した。

## B. 研究方法

### 1. 全国での疫学調査

平成21年度の「自己貪食空胞性ミオパチー」研究班で作成したAVMの診断基準を踏まえて、平成22年度に、全国での疫学調査を行い、診断がつかずに埋もれている患者を見出し、本疾患の実態把握を行った。まず、疾患概要説明文書とアンケート調査票、アンケート依頼文書を作成し、日本神経学会（735施設）、日本循環器学会（1,265施設）、日本小児神経学会（479施設）、日本小児循環器学会（138施設）の合計2,617の各学会の専門医施設に第1次調査票を送付して、回答結果の解析を行う。そして、平成23年度には、本疾患患者を有する施設には、第2次調査票を送り、臨床経過や合併症、検査所見、筋病理学的所見など症例の詳細を収集する。さらに、これまで施行された治療方法についても調査する。第2次調査票の集計結果より、本邦での患者数や臨床病型の多様性、および現行の治療法の把握に努める。

### 2. AVM患者の臨床情報の整理

研究実施機関である国立精神・神経医療研究センターは、世界で最多のAVM患者の臨床情報を管理している。この貴重な情報に基づいて、臨床情報の整理、把握、および統計学的解析を行う。また、本研

究班班員が各所属機関で現在進行形で診療しているAVM患者の臨床情報を直接得て整理を行う。近年、新たに自閉症や脳血管障害、末梢神経障害を有する症例の報告もあり、本疾患に普遍的な症状の適否も含めて検討する。

### 3. 患者の生検筋における病理学的検討

AVMの診断には、骨格筋組織における筋細胞と特徴的な自己貪食空胞の病理学的所見は必要不可欠である。国立精神・神経医療研究センターでは、臨床情報とともに、世界で最も多くのAVMの検体数を誇る。診断基準項目としての病理学的所見の確立に向けて、AVM患者の生検筋での組織化学的、免疫組織化学的、および電顕的解析を行って、病理学的に検討し統計学的解析を施行する。

### 4. AVM疑い患者の遺伝子解析

新たな症例が発見された際は、いずれの疾患に分類されるか臨床情報の丹念な精査を行い、併せて生検筋での組織化学的、免疫組織化学的、および電顕的解析を行う。確定診断に至るよう鑑別を進めて、必要があれば速やかに遺伝子解析を行う。そして、集積した症例に追加していく。新規症例の遺伝子解析は、国立精神・神経医療研究センターで施行する。

### 5. 筋組織でのオートファジー機構の解析

AVMの根本治療法の開発のためには、共通する分子病態、特にオートファジーの分子機構の解明が必要である。オートファジーの分子機構は、近年、生体内での蛋白分解系の1つである生体防御の機構として飛躍的に注目されているが、未解明の部分が多く、特に筋組織での研究はほとんど進んでいない。病態解明の戦略として、オートファジー機構の分子病態の解明から、根本治療法の開発への道筋の構築を目指す。

### 6. AVMを含めた遺伝性心筋症の解析

AVMの心筋症については致死性で予後規定因子であり、根治療法は現段階では心臓移植しかない。心筋症の解析は臨床上大変重要であり、AVMを含めた遺伝性心筋症の臨床病態について解析する。

(倫理面への配慮)

AVM患者において行われた筋病理解析、遺伝子解析および臨床病態解析は、臨床研究および遺伝子研究に関する倫理指針、さらに当該研究施設で定めた倫理規程を遵守して、同施設倫理委員会で承認された説明書を用いて、臨床情報および生検筋の研究利用について十分な説明の上、所定の同意書に署名をしていただいて研究を遂行した。

## C. 研究結果および考察

### 1. 全国での疫学調査

全国47都道府県の合計2,617施設のうち、1,409施設から第一次調査の回答を得た(回収率 54%)。AVM患者を有する施設には第二次調査として患者の実態調査を行った。集計結果から、AVM患者 40例を確認した

(Danon病 12家系27例、XMEA 1家系3例、X連鎖性先天性AVM 1家系7例、乳児型AVM 2例、成人型AVM 1例)。

本邦でのDanon病の27例のうち、男性患者16例、女性患者11例であった。男性患者13例の臨床症状について集計した結果、ミオパチーと心筋症は13例中13例(100%)に認められ、知的遅滞は13例中6例(46%)にみられた。心筋症のうち、肥大型が10例

(77%)、拡張型が2例(15%)、混合型が1例(8%)であった。肥大型心筋症のうち、1例は拡張相肥大型心筋症であった。他の合併症として、網膜症や肝腫大、低身長、pes cavusを呈する患者がみられた。Danon病の発症年齢は男性10代、女性30代で、平均死亡年齢は男性20代、女性40代であった。ミオパチーと肥大型心筋症を示し、死因は心不全であった。治療として、βブロッカーを中心とした投薬加療が多く、6例でペースメーカー埋込、4例で根治療法である心臓移植が施行されていた。一方、XMEAと先天性AVMはミオパチーのみで心筋障害は稀であった。

集計結果では、他に、AVM疑い例や既知の病型に該当しないAVM例を20例以上見出した。また、本研究班での研究において、XMEAと先天性AVMの2病型はVMA21遺伝子を原因とするアレル病と考えられる。以上より、今後、AVMの臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。

## 2. 臨床情報の整理

1) AVMの臨床病態や発症機序については依然未解明の部分が多く、診断基準確立のため、AVM患者の臨床情報の解析を行った。対象は、国立精神・神経医療研究センターで臨床情報を管理するDanon病17家系51例、XMEA疑い1例、乳児型AVM2例、多臓器障害を有する成人型AVM1例、先天性AVM7例(海外症例を含む)。臨床的には、三主徴であるミオパチー、心筋症、知的遅滞と合併症について調査した。さらに、筋病理学的所見、遺伝子解析についても比較検討して、AVMの臨床的特徴についてまとめた(表)。

平成21年度の「自己貪食空胞性ミオパチー」研究班で、先天性AVM患者でXMEAと同じ遺伝子変異を見出し、先天性AVMは、XMEAのアレル病であることが明らかになった。また、平成22年度の研究で、preliminary dataながら、乳児型AVMもXMEAのアレル病であることを明らかにした。以上から、AVMはライソゾームの機能異常に伴う疾患であることがより明瞭となった。

表 自己貪食空胞性ミオパチーの臨床的特徴

	Danon病		XMEA	乳児型AVM	先天性AVM	成人型AVM
	男性	女性				
遺伝	XD	XD	XR	XR?	XR	ARorXR?
発症年齢	10代	30代	10代	新生児	乳幼児	40代
ミオパチー	+	-	+	+	+	+
心筋症	+	+	-	±	-	+
知的遅滞	+	-	-	+?	+	+
合併症	時に肝障害 網膜症		-	-	-	多臓器障害
自己貪食空胞	+	+	+	+	+	+
空胞壁でのAChE発現	+	+	+	+	+	+
空胞壁での筋線粒体蛋白質発現(AVS)	+	+	+	+	+	+
基底膜の重複化	-	-	+	+	+	+
原因遺伝子	LAMP-2		VMA21	VMA21	VMA21	?

2) 班員自らが診療するDanon病やXMEA、先天性AVMなどのAVM患者の臨床情報解析を行った。また、成人型AVM患者の世界初の病理解剖での全身検索を施行した。

・Danon病 1例、XMEA 2例の臨床的、筋病理学的、遺伝学的解析を行った。Danon病 1例ではLAMP-2遺伝子異常を、XMEA 2例ではVMA21遺伝子異常を確認した。臨床症状

では、Danon病患者で、心筋症、知的障害、肝障害、ブドウ膜炎を呈した。XMEA患者で、筋力低下、呼吸障害、著明な骨格変形の特徴を示し、XMEA例中では重症であった。筋病理でAVSFを呈することが本症の特徴であり、臨床症状や筋生検以外の検査ではAVMの診断は困難であり、筋生検は診断に必須であった。

- 成人型AVM症例について、世界初の病理解剖を含めた臨床病理学的検討を行った。心筋症、ミオパチー、網膜色素変性に加え、全身病理検索から、障害の強い病変として、心筋、骨格筋、胸膜から肝・脾被膜にかけた線維性肥厚、限局性気管支拡張症を認めた。中枢神経では、中脳黒質ドパミン細胞の著明な脱色素所見を認め、メラニン含有細胞でのLC3染色性低下と嗅内野でのタウ病変を示した。さらに髄液中のカテコラミン代謝物質の減少を認めたがシニクレイノパチーはみられなかった。AVMでの知的遅滞とドパミン系の異常との関与が示唆された。今後、知的遅滞を呈する類縁疾患Danon病での検討が重要である。

### 3. 生検筋における病理学的検討

AVMの診断に筋病理所見は必要不可欠である。診断基準項目への病理学的所見導入のため、生検筋での特徴的な自己食空胞：AVSFの組織化学的、免疫組織化学的、電顕的解析を行った。また、もう一つの重要な所見として、筋細胞膜の重層化が挙げられる。これは、Danon病以外の臨床病型で認めることから、Danon病と他の臨床病型を区別する所見と考えられる。病態機序については不明であるが、XMEA類似疾患で多く認めることから、VMA21の機能との関連やライソゾーム腔内のpHの関与も示唆される。

### 4. AVM疑い患者の遺伝子解析

筋病理学的にAVSFを認めてAVMと診断された例について、新規患者も含めて遺伝学的に再検討した。対象は、AVMと診断された34例（男性28例、女性6例）で、LAMP-2遺伝子解析およびVMA21遺伝子を行った。このうち、LAMP-2遺伝子変異を認めてDanon病と診断された例は20例（男

性19例、女性1例）で、VMA21遺伝子変異を認めてXMEAと診断された例は4例（全て男性）であった。XMEA例のうち、2例は兄弟であり、X連鎖性先天性AVMであった。また1例は、乳児型AVMとして報告した例であった。残りの10例（男性5例、女性5例）には変異を認めなかった。この10例の臨床情報の検討では、発症年齢や臨床症状は様々で、病理学的検討では、XMEAに類似した所見を呈する女性例が4例あった。10例のAVMは原因遺伝子未知の新たなAVMと考えられた。全国での集計結果でも既知の病型に該当しないAVM例を20例以上見出しており、今後、AVMの臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。

### 5. 筋組織でのオートファジー機構の解析

コリンキナーゼβ遺伝子*Chkb*にnull変異を持つマウスは、ヒト筋ジストロフィー同様ミトコンドリアの巨大化を示す。このマウス骨格筋ではホスファチジルコリン含量が低下しているが、その脂肪酸分子種プロファイルをマスマスペクトロメトリー解析で調べたところ、骨格筋および骨格筋より単離したミトコンドリアにおいてドコサヘキサエン酸を含むホスファチジルコリンが著減していることがわかった。このマウス骨格筋では、ミトコンドリアからの活性酸素産生が増加し、過酸化脂質が増加していることを見出した。酸化ストレスはミトコンドリア機能低下や骨格筋の変性に寄与している可能性がある。このマウス骨格筋では、ミトコンドリアが選択的に自己食され、病気の進行にしたがい、経時的に消失していくことが明らかとなった。この疾患の特徴であるミトコンドリアの形態異常にミトコンドリア選択的オートファジーが関与している可能性が示された。

### 6. AVMを含めた遺伝性心筋症の解析

AVMでは予後決定因子となる遺伝性心筋症の臨床病態解析を行った。骨格筋と心筋の構成要素や収縮機構には共通性があるため、骨格筋疾患と心筋疾患には病因や病態形成機構に共通点が存在する。そこで本研究では、横紋筋Z帯-I帯構成要素に着目して心筋症関連変異の検索お

よび変異による機能異常の解明を目的とした。原因不明の遺伝性心筋症患者（肥大型144例、拡張型72例）を対象に、横紋筋Z-I帯構成要素であるCARP、ネブレット、BAG3などの遺伝子変異を検索し、同定された変異による機能異常を生化学的、細胞生物学的に検討した。解析の結果、遺伝性肥大型心筋症（HCM）患者にCARP変異3種、遺伝性拡張型心筋症（DCM）患者にCARP変異3種、ネブレット変異2種、BAG3変異2種を同定した。HCMに見出されたCARP変異はいずれもCARPの核内移行を促進した。一方、DCMに見出されたCARP変異、ネブレット変異、BAG3変異はいずれもサルコメア整合性を障害した。また、DCM関連BAG3変異は心筋細胞のアポトーシスを促進した。なお、骨格筋疾患で報告されているBAG3変異はサルコメア整合性異常やアポトーシス亢進をもたらさず、筋細胞の分化融合を障害した。Z-I帯構成要素（CARP、ネブレット、BAG3）の異常が遺伝性心筋症の原因となることを初めて明らかにした。また、変異による機能異常は心筋症の病型ごとに異なっているが、HCM関連変異では肥大反応亢進、DCM関連変異はサルコメア整合性異常をもたらすとの共通があった。しかしながら、これらの機能異常は骨格筋疾患に関連する変異ではもたらされないことから、Z-I帯構成要素は多岐に渡る機能を有し、そのうちのどの機能が障害されるかで異なる病態をもたらすと考えられた。以上、新規の遺伝性心筋症の原因遺伝子を解明し、病因変異による病態形成機序を明らかにした。これらの知見は、横紋筋Z帯-I帯構成要素の機能的多様性の解明、骨格筋・心筋疾患の新たな病因・病態形成機構の解明、さらに病態修飾法の開発に繋がる。

## 6. 今後の展望

AVMの診断基準を確立し、治療法を開発を目指すことは、今後のAVM患者の診療において大きな意義がある。正確な診断と現状で最適な治療を行うために、各臨床病型の詳細な分類や診断基準項目の選定を行い、感度・特異度のより高い診断基準の確立は必要不可欠である。今回、本診断基準を踏ま

えて、専門医や関連施設を通じて本邦での初めての疫学調査（第1次、第2次調査）を行い、患者数や臨床症状の多様性の実態把握に努めた。

今後は、全国での集計結果で既知の病型に該当しないAVM例を20例以上見出しており、より詳細な病態把握に努め、AVMの臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。また、現在施行されている治療法を把握し、将来の治療法開発に向けての基礎的研究とともに、現状で最適な治療法を確立して診療ガイドライン策定が必要である。さらに、今後、我々の研究施設に保管されるAVM患者およびAVMのモデル動物の検体を用いて、詳細な病理学的解析を行って筋組織でのオートファジー機構の解明に結び付けていく。共通する分子病態の解明から根本治療への手掛かりを発見し、治療への道筋の構築を目指す。さらに、超稀少疾病といえる本疾患の病態解析や今後の治験の実現を考えるためには、日本国内の連携のみならず、海外と連携した臨床遺伝学的検討とデータベース構築が必要である。

## D. 結論

平成21年度の「自己食空胞性ミオパチー（AVM）」研究班において、AVMの臨床病態について臨床病理学的および遺伝学的解析を行い、世界で初めて診断基準を作成した。今回、診断基準確立に向けて、本邦で初めての疫学調査によるAVM患者の実態調査を行った。各臨床病型により重症度や発症年齢、合併症、生命予後は大きく異なる。AVMは超稀少疾患であるため、今回の実態調査解析から治療を含めた診療ガイドラインの策定、さらには基礎的な病理学的研究から根本治療法の開発が必要である。



**E. 健康危険情報**

該当なし

**F. 研究発表**

各分担研究報告書参照

**G. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）**

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## Ⅱ. 分担研究報告

「本邦での自己貪食空胞性ミオパチーの全国での実態調査（第2報）」

研究分担者 杉江 和馬 奈良県立医科大学 神経内科 講師

研究協力者 木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授

小牧 宏文 国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科 医長

金田 大太 大阪赤十字病院 神経内科

西野 一三 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部 部長

研究要旨

自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）は、筋細胞内の特異な自己貪食空胞（AVSF）を特徴とする稀な筋疾患である。AVMには、Danon病や過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー（XMEA）が含まれるが、いずれも臨床病態や発症機序については未解明の部分が多い。今回、AVMの本邦での実態を把握するために、国内の関連学会 2,617施設に対して、アンケート調査を実施した。集計した結果、AVM患者全体では40例と大変稀少であった。AVM患者の約70%がDanon病であった。Danon病患者は12家系27例で、XMEA患者1家系3例、先天性AVM患者1家系7例、乳児型AVM患者2例、成人型AVM患者1例であった。また、原因不明のAVM患者が20例以上認められた。Danon病の発症年齢は男性10代、女性30代で、平均死亡年齢は男性20代、女性40代であった。ミオパチーと肥大型心筋症を示し、死因は心不全であった。合併症では網膜症や肝腫大、低身長、pes cavusを認めた。治療として、βブロッカーを中心とした投薬加療が多く、6例でペースメーカー埋込、4例で根治療法である心臓移植が施行されていた。一方、XMEAと先天性AVMはミオパチーのみで心筋障害は稀であった。今回初めてAVM患者の全国実態調査を行った。臨床病型により重症度や発症年齢、合併症、生命予後は大きく異なる。AVMは超稀少疾患であるため、今回の実態調査解析から治療を含めた診療ガイドラインの作成が必要である。

A. 研究目的

自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）は、筋病理学的に筋鞘膜の性質を有する極めて特異な自己貪食空胞（AVSF：autophagic vacuoles with sarcolemmal features）を有する稀少な筋疾患である。AVSFは他の筋疾患で認める空胞とは大きく異なる。AVMの病態には、オートファジー機構の関与が疑われているが、依然原因は不明で治療も未確立である。

代表疾患であるDanon病は、2000年に初めて原因遺伝子としてlysosome-associated membrane protein-2（LAMP-2）が発見され（Nishino I et al. Nature 2000）、さらに

我々が世界に先駆け初めてDanon病の臨床病型について報告した（Sugie K, et al. Neurology, 2002）。Danon病は、X染色体優性遺伝形式を示し、男性は心筋症・ミオパチー・知的遅滞を、保因者の女性でも心筋症をきたす予後不良な進行性疾患である。

AVMのもう一つの代表疾患XMEA（過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー：X-linked myopathy with excessive autophagy）は、小児期発症で四肢筋力低下と筋萎縮を来す。

共通して認められる自己貪食空胞：AVSFは、乳児型AVM、多臓器障害を伴う成人型AVM（Kaneda D, Sugie K, et al. Neurology, 2003）、X連鎖性先天性AVM（Yan C, Sugie K,

et al. Neurology, 2005)にも認められる。いずれも稀少疾患で身体的障害度は重度であるが、発症年齢や合併症は様々で、臨床病型により生命予後は大きく異なる。

平成21年度に、われわれは、厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「自己貪食空胞性ミオパチーの疾患概念確立と診断基準作成のための研究」班(研究代表者 杉江和馬)の研究助成を得て、Danon病、XMEAを含めたAVMの診断基準の作成を行った。AVMの正確な診断や適切な治療を行うためには、本疾患の疾患概念の確立が必要不可欠である。

平成22年度は、まず、本邦でのAVMの各臨床病型の実態を把握するため、本診断基準を踏まえて、専門医や関連施設を通じて全国での疫学調査(第1次調査)を行った。

平成23年度は、引き続き、第1次調査で明らかになったAVM患者において、臨床症状や合併症などの詳細な調査(第2次調査)を行い、患者数や臨床症状の多様性の把握に努める。さらに、診断がつかずに埋もれている患者を見出す。また、現在施行されている治療法を把握し、現状での最適な治療方針について検討する。正確な診断と、現状で最適な治療を行うために、各臨床病型の詳細な分類や実態調査は重要である。

## B. 研究方法

班員が協議して疾患概要説明文書とアンケート調査票、アンケート依頼文書(別紙の資料)を作成した。日本神経学会(735施設)、日本循環器学会(1,265施設)、日本小児神経学会(479施設)、日本小児循環器学会(138施設)の合計2,617の各学会の専門医施設に送付して、過去に診療したAVM患者の患者数を調査した。Danon病、XMEAが疑われる一部の症例では、ダイレクトシーケンス法によるLAMP-2遺伝子、VMA21遺伝子解析を実施した。

さらに国立精神・神経医療研究センターで管理している、新規のAVM患者を含めた国内のAVM患者における臨床症状についても調査した。

(倫理面への配慮)

AVM患者において行われた筋病理解析、遺伝子解析および臨床病態解析は、臨床研究および遺伝子研究に関する倫理指針、さらに当該研究施設で定めた倫理規程を遵守して、同施設倫理委員会で承認された説明書を用いて、臨床情報および生検筋の研究利用について十分な説明の上、所定の同意書に署名をしていただいて、研究を遂行した。

## C. 研究結果

全国47都道府県の合計2,617施設のうち、1,409施設から回答を得た(回収率54%)。

全アンケートを集計した結果(表1)、Danon病は、12家系27例、XMEA患者は、1家系3例、X連鎖性先天性AVM患者は1家系7例、乳児型AVM患者は2例、成人型AVM患者は1例を確認した。また、糖原病での自己貪食空胞やrimmed vacuoleとは異なる自己貪食空胞を有する、原因不明のAVM患者が20例以上見出された。

表 全国実態調査(第2次調査)の結果

回収数 1409施設 (回収率 54%)

Danon病	12家系	27例
XMEA	1家系	3例
先天性AVM	1家系	7例
乳児型AVM		2例
成人型AVM		1例
原因不明のAVM		20例以上

本邦でのDanon病の27例のうち、男性患者16例、女性患者11例であった。男性患者13例の臨床症状について集計した結果、ミオパチーと心筋症は13例中13例(100%)に認められ、知的遅滞は13例中6例(46%)にみられた。心筋症のうち、肥大型心筋症が10例(77%)、拡張型が2例(15%)、混合型が1例(8%)であった。肥大型心筋症のうち、1例は拡張相肥大型心筋症であった。他の合併症として、網膜症や肝腫大、低身長、pes cavusを呈する患者がみられた。

Danon病の発症年齢は男性10代、女性30



代で、平均死亡年齢は男性20代、女性40代であった。ミオパチーと肥大型心筋症を示し、死因は心不全であった。治療として、βブロッカーを中心とした投薬加療が多く、6例でペースメーカー埋込、4例で根治療法である心臓移植が施行されていた。

一方、XMEAと先天性AVMはミオパチーのみで心筋障害は稀であった。本研究班での研究において、この2病型はVMA21遺伝子を原因とするアレル病と考えられることから、将来的には、AVMの臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。

#### D. 考察

今回、われわれは、自己貪食空胞性ミオパチー (AVM) の本邦での実態を明らかにするため、全国調査を実施した。集計結果では、AVM患者全体では40例と大変稀少であった。また、AVM患者の約半数がDanon病であった。本邦のAVM患者の大半が、当該研究施設である国立精神・神経医療研究センターで臨床情報が管理されていた。

AVMの診断基準を確立し、治療法の開発を目指すことは、今後のAVM患者の診療において大きな意義がある。正確な診断と現状で最適な治療を行うために、各臨床病型の詳細な分類や診断基準項目の選定を行い、感度・特異度のより高い診断基準の確立は必要不可欠である。今回、本診断基準を踏まえて、専門医や関連施設を通じて本邦での初めての疫学調査（第1次、第2次調査）を行い、患者数や臨床症状の多様性の実態把握に努めた。

今後は、全国での集計結果で既知の病型に該当しないAVM例を20例以上見出しており、より詳細な病態把握に努め、AVMの臨床病型の分類に再検討が必要と考えられる。また、現在施行されている治療法を把握し、将来の治療法開発に向けての基礎的研究とともに、現状で最適な治療法を確立して診療ガイドライン策定が必要である。さらに、今後、我々の研究施設に保管されるAVM患者およびAVMのモデル動物の検体を用いて、詳細な病理学的解析を行って筋組織でのオートファジー機構の解明に結び付けていく。共通する分子病態の解明から根本治療への

手掛かりを発見し、治療への道筋の構築を目指す。さらに、超稀少疾病といえる本疾患の病態解析や今後の治験の実現を考えるためには、日本国内の連携のみならず、海外と連携した臨床遺伝学的検討とデータベース構築が必要である。

#### E. 結論

今回初めてAVM患者の全国実態調査を行った。AVMは、超稀少疾患で身体的障害は高度であるが、臨床病型により重症度や発症年齢、合併症、生命予後は大きく異なる。今後、さらに、本疾患の臨床病態を明らかにして、治療法確立のための病態解明と治療を含めた診療ガイドラインの作成を目指す。

#### F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sugie K, Hayashi YK, Goto K, Nishino I, Ueno S. Unusual presentation: Unilateral arm and contralateral leg amyotrophy in FSHD. Neurology. 2012, (in press).
- 2) Sugie K, Tonomura Y, Ueno S. Characterization of dermatomyositis with coexistence of anti-Jo-1 and anti-SRP antibodies. Intern Med 51: 799-802, 2012.
- 3) Komaki H, Hayashi YK, Tsuburaya R, Sugie K, Kato M, Nagai T, Imataka G, Suzuki S, Saitoh S, Asahina N, Honke K, Higuchi Y, Sakuma H, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nonaka I, Nishino I. Inflammatory changes in infantile-onset LMNA-associated myopathy. Neuromuscul Disord. 21(8):563-568, 2011.
- 4) Sawa N, Kataoka H, Sugie K, Kawahara M, Horikawa H, Kusunoki S, Ueno S. Clinical analysis and outcomes of amyotrophic lateral sclerosis with demyelinating polyneuropathy. Amyotroph Lateral Scler 13: 125-31, 2012.

### 2. 学会発表

- 1) Sugie K, Kurashige T, Kaneda D, Kimura A, Komaki H, Matsumoto M, Ueno S, Nishino I. Clinicopathological and genetical features of autophagic vacuolar myopathies characterized by autophagic vacuoles with sarcolemmal features (AVSF). The 12th International Congress of Human Genetics (ICHG), Montreal, Canada, October 11-15, 2011.
- 2) 杉江和馬、木村彰方、小牧宏文、金田大太、上野 聡、西野一三. 自己食空胞性ミオパチーの臨床病

理的解析と全国実態調査.

第52回日本神経学会学術集会、愛知、2011年5月.

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 「自己貪食空胞性ミオパチー」全国実態調査(二次調査)のお願い

昨年度は、全国での初めての自己貪食空胞性ミオパチーの実態調査(一次調査)にご協力いただきありがとうございました。昨年度の「一次調査」で、自己貪食空胞性ミオパチー患者(疑い含む)が現在までにおられたと回答されました施設の担当の先生を対象に、「二次調査」で各患者の臨床情報を把握させていただこうと思います。今後、自己貪食空胞性ミオパチー患者の臨床症状の多様性、合併症、治療法などの実態を明らかにしていきたいと考えております。

つきましては、添付の「二次調査票」に、患者 1 例につき各 1 枚ずつ記載いただきたく存じます。特に、治療方法につきましては、投与された薬物名も記載いただければ幸甚です。

なお、本研究は、奈良県立医科大学 医の倫理委員会の承認を得ております。

ご多忙の折、恐縮ではございますが、平成 23 年 11 月 25 日までに、同封の封筒にて、別紙の「二次調査票」をご返信いただければ幸甚です。

お忙しいところ、誠に恐縮ではございますが、調査の趣旨をご理解いただき、二次調査にご協力くださいますよう、よろしくお願い申し上げます。

平成 23 年 10 月 15 日

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業  
「自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究」班

研究代表者：奈良県立医科大学 神経内科 杉江 和馬  
研究分担者：国立精神・神経医療研究センター 西野 一三

連絡先 奈良県立医科大学 神経内科  
〒634-8522 奈良県橿原市四条町 840  
TEL 0744-29-8860 FAX 0744-24-6065  
[ksugie@naramed-u.ac.jp](mailto:ksugie@naramed-u.ac.jp)

## 「自己貪食空胞性ミオパチー(AVM)」の疾患概要

【概要】 骨格筋の筋線維内に特徴的な自己貪食空胞(AVSF)が出現する極めて稀少な遺伝性の筋疾患で、治療は未確立です。致死性心筋症と進行性のミオパチー(筋力低下・筋萎縮)を来す予後不良な進行性疾患です。

\* 縁取り空胞(rimmed vacuole)を伴う疾患や Pompe 病とは異なります。

\* 他の原因の確定している心筋症は除きます。

【臨床病型】

1) Danon 病	→ X 連鎖性優性
2) XMEA (X-linked myopathy with excessive autophagy: 過剰自己貪食を伴う X 連鎖性ミオパチー)	→ X 連鎖性劣性
3) 乳児型 AVM	→ X 連鎖性劣性 or 常染色体劣性
4) 多臓器障害を伴う成人型 AVM	→ 遺伝形式不明
5) X 連鎖性先天性 AVM	→ X 連鎖性劣性

【原因の解明】 近年、Danon 病と XMEA の原因遺伝子が発見されましたが、その他の臨床病型は原因不明です。Danon 病と XMEA の原因遺伝子がリソソーム関連蛋白であり、筋変性に自己貪食(オートファジー)が関与することが疑われます。

【患者数】 正確には不明。国内・海外合わせて既報告は、約 80 例

【主な症状】

- (1) 骨格筋障害 緩徐進行性の四肢筋力低下や筋萎縮
- (2) 心筋障害 進行性の心筋症(肥大型、拡張型)、不整脈(WPW ほか)
- (3) 知的遅滞

但し、臨床病型によっては、(2)(3)を伴わないことがあります。  
発症年齢は様々で、生下時から 50 歳代まで報告があります。

【主な合併症】 けいれんなどの中枢神経障害や肝障害、腎障害、肺水腫、網膜症、自閉症、脳血管障害、末梢神経障害をきたす症例の報告があります。

【主な治療法】 治療法は確立していません。心筋障害は予後決定因子で致死性であり、心臓移植のみが根治療法とされています。他の症状や合併症には、対症療法が主体です。

【参考文献】

1. Sugie K, et al. Clinicopathological features of genetically confirmed Danon disease. *Neurology*. 58: 1773-1778. 2002
2. 杉江和馬、ほか. Danon 病患者 17 家系 51 例における心筋障害の臨床的特徴. *心臓* 41:413-418, 2009.
3. 西野一三. 自己貪食空胞性ミオパチーの病態解明と治療法開発. *臨床神経学*, 50(1):1-6, 2010.

平成 22 年度 厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業  
「自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と治療法開発に関する研究」班

研究代表者: 奈良県立医科大学 神経内科 杉江 和馬  
研究分担者: 国立精神・神経医療研究センター 西野 一三

連絡先 奈良県立医科大学 神経内科  
〒634-8522 奈良県橿原市四条町 840  
TEL 0744-29-8860 FAX 0744-24-6065  
E-mail: ksugie@naramed-u.ac.jp



# 「自己貪食空胞性ミオパチー」 二次調査票

ご施設： \_\_\_\_\_ 科名： \_\_\_\_\_

担当者氏名： \_\_\_\_\_ E-mail： \_\_\_\_\_

学会や論文に報告されていたら、下記に記載してください。

- ・学会あるいは雑誌名 ( \_\_\_\_\_ )
- ・演者名 ( \_\_\_\_\_ )
- ・演題 ( \_\_\_\_\_ )
- ・報告時期 ( \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月)

## 臨床情報

臨床診断： Danon 病 ・ XMEA

症例 ( \_\_\_\_\_ )

現在の年齢 または 死亡時年齢 ( \_\_\_\_\_ ) 歳 性別 (男・女)

## 臨床経過

既往歴： \_\_\_\_\_

家族歴：

血族婚 (無・有 \_\_\_\_\_)

類症 (無・有 \_\_\_\_\_)

## 身体所見

### 1) 精神機能

知能 (低下・正常) IQ \_\_\_\_\_

自閉症 (無・有) 他の精神障害 (無・有 \_\_\_\_\_)

### 2) 骨格筋症状

四肢筋力低下 (無・有→軽度・中等度・高度)

しゃがみ立ち (可能・不可能) 歩行 (可能・不可能)

易疲労性 (無・有) 四肢筋萎縮 (無・有 \_\_\_\_\_)

嚥下障害 (無・有) 構音障害 (無・有) 呼吸障害 (無・有)

### 3) 心症状

心拍 \_\_\_\_\_ / 分 血圧 \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ mmHg 下肢浮腫 (無・有)

心筋症 (無・肥大型・拡張型)

### 4) 身体所見

凹足 (無・有 \_\_\_\_\_) 小奇形 (無・有 \_\_\_\_\_)

家系図

## 検査所見

CK \_\_\_\_\_ (正常値 \_\_\_\_\_) ALD \_\_\_\_\_ (正常値 \_\_\_\_\_) BNP \_\_\_\_\_ (正常値 \_\_\_\_\_)

針筋電図 \_\_\_\_\_

末梢神経伝導検査 \_\_\_\_\_

画像所見 (骨格筋・心筋) \_\_\_\_\_

(中枢神経系) \_\_\_\_\_

心電図 \_\_\_\_\_ WPW 症候群 (無・有)

心エコー \_\_\_\_\_

呼吸機能障害 (無・閉塞性・拘束性) 高 CO2 血症 (無・有)

その他 \_\_\_\_\_

## 筋生検 (無・有)

自己貪食空胞 (無・有・不明)

AVSF (Autophagic vacuoles with sarcolemmal features) (無・有・不明)

LAMP-2 免疫染色での染色性低下 (無・有・不明)

筋細胞膜の重層化 (無・有・不明)

## 遺伝子解析

LAMP-2 解析 (未・済) 変異 (無・有 → 変異部位 \_\_\_\_\_)

VMA21 解析 (未・済) 変異 (無・有 → 変異部位 \_\_\_\_\_)

## 治療方法

### 1) 心筋症に対する治療

・投薬: Ca blocker (無・有 \_\_\_\_\_)  $\beta$  blocker (無・有 \_\_\_\_\_)

Na channel blocker (無・有 \_\_\_\_\_) ジギタリス (無・有 \_\_\_\_\_)

ACE 阻害薬 (無・有 \_\_\_\_\_) 利尿薬 (無・有 \_\_\_\_\_)

ARB (無・有 \_\_\_\_\_) ワルファリン (無・有 \_\_\_\_\_)

その他 ( \_\_\_\_\_ )

・ペースメーカー埋込 (無・有)

植込み型除細動器 (無・有)

カテーテルアブレーション (無・有)

心臓移植 (無・有)

・その他の治療 ( \_\_\_\_\_ )

### 2) 骨格筋、精神機能に対する治療

・投薬: ( \_\_\_\_\_ )

・リハビリテーション (無・有)

・その他の治療 ( \_\_\_\_\_ )

以上です。ご協力ありがとうございました。

## 「ミトコンドリア選択的オートファジーを伴う先天性筋ジストロフィー」

研究分担者 西野一三 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部 部長  
研究協力者 三橋里美 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部  
埜中征哉 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部  
野口 悟 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部  
林由起子 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部

### 研究要旨

コリンキナーゼβ遺伝子 *Chkb* に null 変異を持つマウスは、ヒト筋ジストロフィー同様ミトコンドリアの巨大化を示す。このマウスの骨格筋ではホスファチジルコリン含量が低下しているが、その脂肪酸分子種プロファイルをマススペクトロメトリー解析により調べたところ、骨格筋および骨格筋より単離したミトコンドリアにおいてドコサヘキサエン酸を含むホスファチジルコリンが著減していることがわかった。このマウスの骨格筋では、ミトコンドリアからの活性酸素産生が増加し、過酸化脂質が増加していることを見いだした。酸化ストレスはミトコンドリア機能低下や骨格筋の変性に寄与している可能性がある。このマウスの骨格筋では、ミトコンドリアが選択的に自己貪食され、病気の進行にしたがい、経時的に消失していくことが明らかとなった。この疾患の特徴であるミトコンドリアの形態異常にミトコンドリア選択的オートファジーが関わっている可能性が示された。

### A. 研究目的

ミトコンドリア巨大化を伴う先天性筋ジストロフィーは、乳児期より筋力低下と精神発達遅滞を伴い、筋病理でミトコンドリアの巨大化と、筋線維中心部でのミトコンドリアの消失が見られることが特徴の、常染色体劣性遺伝形式を示す疾患である。我々は、コリンキナーゼβ遺伝子 *CHKB* の機能喪失変異によりこの病気が引き起こされることを見いだした。しかし、ミトコンドリアの巨大化と消失は他の筋ジストロフィーには全く見られない特徴であり、この疾患の病態機序は全くの謎であった。

コリンキナーゼは真核生物における主要なリン脂質であるホスファリジルコリン生合成経路の第一段階を触媒する酵素である。また、ミトコンドリア膜においても、ホスファチジルコリンが

40%以上を占める重要なリン脂質であり、ミトコンドリア内膜のリン脂質異常は呼吸鎖酵素複合体形成に影響を与えることが知られている。

我々は、ミトコンドリア膜におけるリン脂質組成の異常が、ミトコンドリア機能異常を引き起こし、疾患発症に至るのではないかという仮説のもと、ヒト同様にコリンキナーゼβに機能喪失変異をもつ *rmd* マウスの骨格筋を用いて、リン脂質プロファイルおよびミトコンドリア機能の解析を行った。

### B. 研究方法

*Rmd* マウスの骨格筋および単離ミトコンドリアを用いた。薄層クロマトグラフィーによってホスファチジルコリン含量を、マススペクトロメトリーによってホスファチジルコリンの分子種のプロファイル調べ

た。さらに、ミトコンドリア機能の評価として、ミトコンドリア電子伝達複合体酵素活性およびATP合成能を測定した。また、電子伝達系複合体形成への影響を調べるためNativePAGEにより分離した複合体を、ゲル活性染色およびウェスタンブロットにより評価した。さらに、単離ミトコンドリアからの活性酸素産生を測定した。ミトコンドリアの形態の解析は、ミトコンドリア活性染色、免疫組織化学染色および電子顕微鏡を用いて行った。また、骨格筋内のミトコンドリアDNAのコピー数を、定量的PCRにより測定した。

(倫理面への配慮)

患者検体の使用においては、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会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。また、動物実験については、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会承認されたプロトコールに則って行った。

### C. 研究結果

Rmdマウス骨格筋および単離ミトコンドリアでは、ホスファチジルコリン含量が70%まで低下していた。この低下は、前肢に比較して、骨格筋症状がより重症である後肢でより著名であった。さらに、ホスファチジルコリンの中でも、骨格筋に特異的に多い、ドコサヘキサエン酸を脂肪酸にもつホスファチジルコリンの含量が10%程度にまで低下していることがわかった。

さらに、rmdマウスの骨格筋ミトコンドリアでは、呼吸鎖酵素複合体活性が低下しており、ATP合成も低下していることがわかった。これらのミトコンドリアエネルギー産生機能の異常は、後肢でより強く見られた。一方、NativePAGEによる解析では、呼吸鎖酵素複合体形成は正常であることがわかった。活性の低下は酵素複体の欠損ではなく、活性調節にあることが示唆された。また、rmdマウスでは、ミトコンドリアからの活性酸素生成が増加していた。

電子顕微鏡解析および免疫組織化学染色によって、ミトコンドリアの形態異常に加え、rmdマウスではミトコンドリア選択的オートファジーが起きていることがわかった。さらに、rmdマウスでは、ミトコンドリアの数およびミトコンドリアDNAコピー数が減少しており、この減少は、rmdマウスの症状進行に従い進行していることがわかった。

### D. 考察

Rmdマウスでは、骨格筋および単離ミトコンドリアのドコサヘキサエン酸ホスファチジルコリンが著減していることがわかった。この分子種は他の臓器に比べて骨格筋に特に多く、この分子種の合成に骨格筋内のコリンキナーゼ経路が重要であることが示唆された。

ミトコンドリア選択的オートファジーは、機能異常を来したミトコンドリアを排除するために起きると考えられている。Rmdマウスの骨格筋ミトコンドリアではエネルギー産生能に異常を来し、活性酸素種の生成が上昇するため、ミトコンドリア選択的オートファジーが働き、異常ミトコンドリアを排除する結果、ミトコンドリア数の減少が起き、その代償としてミトコンドリアの巨大化を来している可能性があると考えられる。さらに、病気の進行に伴い、ミトコンドリア数の減少が著しくなるため、エネルギー代謝に破綻を来し、筋ジストロフィーが進行するのではないかと考えられる。

しかし、ミトコンドリア膜脂質の異常とミトコンドリア機能の異常、さらにミトコンドリア選択的オートファジーを繋ぐ直接的な機構は未だ不明であり、今後はミトコンドリア選択的オートファジー阻害などを用いた研究が必要と考えられる。

### E. 結論

我々は、ミトコンドリア巨大化を伴う筋ジストロフィーでは、骨格筋ミトコンドリアのリン脂質組成に異常が起きており、さらにミトコンドリアのエネルギー産生機能の低下があり、ミトコンドリア選択的オートファジーおよびミトコ