

ットスーツ HAL の医療への応用および治験の
話: シャルコー・マリー・トゥース病の患者会
の皆様へ」(横浜 2012 年 9 月 16 日)

8. 末尾の別紙資料参照-日本経済新聞 朝刊
2012 年 6 月 19 日 国立病院機構新潟病院で
の HAL 治験の報道が行われた。
9. 市民患者向け、説明会 神経筋難病に対する生
体電位駆動型ロボットの臨床応用について、
2012 年 12 月 2 日、東京国際フォーラム 当
研究班と厚生労働科学研究 難治性疾患等克服
研究事業「患者および患者支援団体等による研
究支援体制の構築に関わる研究班」(橋本操研
究代表者) との共催

G. 知的所有権の取得状況

今回の研究年ではあらたな取得はなかった。

SMN1mRNA 導入ポリオウイルスベクターの開発研究

野本明男 公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 所長

研究要旨

ポリオウイルス (PV) RNA ゲノム内の構造蛋白質をコードする領域を欠失させ、同部位に、Green fluorescent protein(GFP)をタグとして結合した Survival of motor neuron 1(SMN1)mRNA を導入した PV ベクターを構築し、GFP-SMN1 mRNA 搭載 PV 粒子を作製した。この PV 粒子を用いて、脊髄性筋萎縮症(SMA)患者由来細胞に GFP-SMN1 mRNA を導入し、機能を有する GFP-SMN 融合蛋白質が発現した。PV ベクターを用いて SMA 患者由来細胞に機能を有する SMN 蛋白質の発現に成功したのはこの研究が最初である。

共同研究者

荒川正行（公益財団法人微生物化学研究会
微生物化学研究所）

滝沢直己（公益財団法人微生物化学研究会
微生物化学研究所）

藤原俊伸（公益財団法人微生物化学研究会
微生物化学研究所）

斎藤加代子（東京女子医科大学附属遺伝子医療センター）

載 PV DI 粒子 (PV-GFP-SMN1) を作製した (平成 23 年度研究分担報告書)。この粒子を用いて、正常ヒト胎児由来線維芽細胞及び SMAI 型患者由来線維芽細胞に GFP-SMN1mRNA を導入し、発現した GFP-SMN 融合蛋白質について生化学的、細胞生物学的手法を用いて解析を行った。(SMN 蛋白質の発現: 蛍光顕微鏡観察、ウエスタンブロット法、SMN 蛋白質複合体形成能: 免疫沈降法、細胞内局在: 免疫組織化学染色法)

(倫理面への配慮)

本研究における組換え生物実験及び微生物化学研究所の指針に基づき行った。また、東京女子医科大学より分与された患者サンプルについては、東京女子医科大学の倫理委員会の承認を受け、インフォームドコンセントに基づき行った。

A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症(SMA)は脊髄前角運動神経細胞の変性疾患であり、その病因の一つは Survival of motor neuron 1(SMN1)遺伝子の欠失・変異である。一方、ポリオウイルス (PV) はプラス鎖 RNA ウイルスであり、ヒトに感染後、脊髄前角の運動神経細胞で増殖・複製する。さらに、PV には自己複製能を持たず 1 回限りの感染が成立する欠陥干渉粒子 (DI 粒子) が存在する。これら PV の特長に着目し、PV DI 粒子に SMN1 mRNA を搭載し、運動神経細胞特異的に SMN 蛋白質を発現する PV ベクターを開発する。

B. 研究方法

PV ゲノム内の構造蛋白質コード領域 (P1) を GFP-tagged ヒト SMN1 mRNA に置換し、この領域を PV の internal ribosome entry site (IRES) で発現させるように設計した GFP-SMN1 mRNA 搭

C. 研究結果

PV-GFP-SMN1 粒子を用いて、正常ヒト胎児由来線維芽細胞及び SMAI 型患者由来線維芽細胞に GFP-SMN1 mRNA を導入し、両細胞ともに導入後 6-8 時間で GFP-SMN 融合蛋白質を発現した。SMN 蛋白質複合体形成能を調べた結果、SMAI 型患者由来線維芽細胞に導入した GFP-SMN 融合蛋白質は、抗 GFP 抗体による免疫沈降法により gemin2 及び gemin3 と共沈した。細胞内局在では、免疫組織化学染色法により、GFP-SMN 融合蛋白質は核内で gemin2 と一部共局在した。さらに、SMAI

型患者由来線維芽細胞において、PV-GFP-SMN1 粒子による GFP-SMN1 mRNA 導入後 8 時間で内在の SMN2 mRNA 由来 SMN 蛋白質の発現増加が認められた。

D. 考察

作製した PV-GFP-SMN1 粒子を用いて SMAI 型患者由来線維芽細胞に GFP-SMN1 mRNA を導入後、GFP-SMN 融合蛋白質は、核内及び細胞質に発現した。また、SMA 患者由来細胞に PV-GFP-SMN1 粒子由来の SMN 蛋白質を発現させることによって、細胞内で SMN 蛋白質複合体を形成し、内在の SMN2 遺伝子由来の SMN 蛋白質の発現増加が認められた。これらの結果から PV ベクターに導入した SMN1 mRNA 由来の SMN 蛋白質は、SMA 患者由来細胞内で機能を有し、内在の SMN2 pre-mRNA の exon7 のスプライシングや翻訳メカニズムに影響することが示唆された。

E. 結論

ポリオウイルスゲノムをベクターとして、GFP-SMN1 mRNA を導入した PV DI 粒子を作製した。この粒子を用いて、SMAI 型患者由来線維芽細胞に PV ベクター由来の SMN1 mRNA を導入し、機能を有する SMN 蛋白質が発現することが明らかとなった。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Poliovirus trafficking toward central nervous system via human poliovirus receptor-dependent and -independent pathway. S. Ohka, C. Nihei, M. Yamazaki, A. Nomoto
Frontiers in Microbiology, 3: 1-5, 2012

2. 学会発表

ポリオウイルス感染と生体分子

野本明男

TCCI 第 2 回実験化学との交流シンポジウム 11

月 16 日 (京都)

H. 知的財産権の出願・登録状 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

脊髄性筋萎縮症患者由来疾患 iPS 細胞の樹立

山本 俊至 東京女子医科大学統合医科学研究所 准教授

研究要旨

脊髄性筋萎縮症の病態解析に用いるツールとして利用するために、患者皮膚線維芽細胞を得て、エピソーマルベクターを使った遺伝子導入法による患者由来 iPS 細胞樹立を試みた。エピソーマルベクターはウイルスを使わないため簡便であるだけでなく、染色体へのインテグレーションがなく、phenotype への影響が少ないため、病態解析に適している。今回、条件の良い細胞株を複数樹立することができたため、神経系細胞に分化誘導させ、病態解析、治療研究に応用できるものと考えている。

A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症の病態解析・治療研究に用いるツールとして疾患患者由来 iPS 細胞を樹立し、今後の研究に利用することを目的として本研究を行った。

iPS 細胞の樹立方法にはオリジナルの手法であるレトロウイルスを用いた遺伝子導入による方法が当初使われていたが、レトロウイルスベクターの特徴として、染色体内に integration することが細胞の癌化や形質異常に繋がるとされ、アデノウイルスやセンダイウイルスなど、様々な方法による遺伝子導入法が検討されてきた。今回、より簡便なエピソーマルベクターをエレクトロポレーション法で細胞内に導入する手法を用いて iPS 細胞の樹立を試みた。

B. 研究方法

pCXLE-hOct3/4-shp53-F 、 pCXLE-hSK 、 pCXLE-hUL の計 3 種類のエピソーマルベクターを Neon transfectionsystem (Life Technologies) を用いて患者皮膚線維芽細胞に導入した。そして、1 週間後に SNL フィーダー細胞上にまき直し、以後は ES 細胞用培地で培養した。約 3 週間後に現れたコロニーを最低 50 個収穫し、別々に培養した。以後、真の iPS 細胞が得られたかどうかを検証するために、得られたコロニー細胞の DNA を抽出してベクター DNA の残存の有無と、ゲノムコピー数異常の有無を検

証した。結果により解析に堪え得る細胞を取捨選別し、解析に使用することとした。

(倫理面への配慮)

本研究は学内倫理委員会の承認を得ている。研究計画書に則り書面による説明を家族に対して行い、書面への署名による同意を得て行った。

C. 研究結果

エレクトロポレーション法により山中 4 因子を導入し、患者皮膚線維芽細胞から iPS 細胞を樹立した。

得られた iPS 細胞中、プラスミドが残存するものや染色体再構成が認められるものは無かった。

D. 考察

iPS 細胞の樹立では、適切なクローンを得ることがその後の分化誘導実験にとって重要となるが、今回エレクトロポレーション法により効率良く iPS 細胞を得ることができた。今後は病態解析や治療研究に応用する予定である。

E. 結論

エレクトロポレーション法により効率良く脊髄性筋萎縮症患者由来 iPS 細胞を樹立することができた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi J, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T. Whole-exome sequencing of a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria, and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathol* (in press).
- 2) Yamamoto T, Shimojima K. Pelizaeus-Merzbacher disease as a chromosomal disorder. *Congenit Anom* (in press).
- 3) Shichiji M, Ito Y, Shimojima K, Nakamu H, Oguni H, Osawa M, Yamamoto T. A cryptic microdeletion including MBD5 occurring within the breakpoint of a reciprocal translocation between chromosomes 2 and 5 in a patient with developmental delay and obesity. *Am J Med genet* (in press)
- 4) Okumura A, Shimojima K, Kubota T, Abe S, Yamashita S, Imai K, Okanishi T, Enoki H, Fukasawa T, Tanabe T, Dibbens LM, Shimizu T, Yamamoto T. PRRT2 mutation in Japanese children with benign infantile epilepsy. *Brain Dev* (in press)
- 5) Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev* (in press)
- 6) Usui D, Shimada S, Shimojima K, Sugawara M, Kawasaki H, Shigematu H, Takahashi Y, Inoue Y, Imai K, Yamamoto T. Interstitial duplication of 2q32.1-q33.3 in a patient with epilepsy, developmental delay, and autistic behavior. *Am J Med Genet A* (in press)
- 7) Shimojima K, Shimada S, Sugawara M, Yoshikawa N, Niijima S, Urao M, Yamamoto T. Challenges in genetic counseling because of intra-familial phenotypic variation of oral-facial-digital syndrome type 1. *Congenit Anom* (in press).
- 8) Okumura A, Hayashi M, Tsurui H, Yamakawa Y, Abe S, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T, Yamamoto T. Lissencephaly with marked ventricular dilation, agenesis of corpus callosum, and cerebellar hypoplasia caused by TUBA1A mutation. *Brain Dev* (in press)
- 9) 山本俊至 編. 1p36 欠失症候群ガイドブック. 診断と治療社, 東京, (2012).
- 10) 山本俊至. 臨床遺伝に関わる人のためのマイクローレイ染色体検査. 診断と治療社, 東京, (2012).
- 11) Miya K, Shimojima K, Sugawara M, Shimada S, Tsurui H, Harai-Tanaka T, Nakaoka S, Kanegane H, Miyawaki T, Yamamoto T. A de novo interstitial deletion of 8p11.2 including ANK1 identified in a patient with spherocytosis, psychomotor developmental delay, and distinctive facial features. *Gene* (2012) 506: 146-9.
- 12) Shimojima K, Okamoto N, Suzuki Y, Saito M, Mori M, Yamagata T, Momoi M, Hattori H, Okano Y, Hisata K, Okumura A, Yamamoto T. Subtelomeric deletions of 1q43q44 and severe brain impairment associated with delayed myelination. *J Hum Genet* (2012) 57: 593-600.
- 13) Shimojima K, Inoue T, Imai Y, Arai Y, Komoike Y, Sugawara M, Fujita T, Ideguchi H, Yasumoto S, Kanno H, Hirose S, Yamamoto T. Reduced

- PLP1 expression in induced pluripotent stem cells derived from a Pelizaeus-Merzbacher disease patient with a partial PLP1 duplication. *J Hum Genet* (2012) 57: 580-6.
- 14) Shimojima K, Okumura A, Mori H, Abe S, Ikeno M, Shimizu T, Yamamoto T. De novo microdeletion of 5q14.3 excluding MEF2C in a patient with infantile spasms, microcephaly, and agenesis of the corpus callosum. *Am J Med Genet* (2012) 158A: 2272-6.
- 15) Shimada S, Miya K, Oda N, Watanabe Y, Kumada T, Sugawara M, Shimojima K, Yamamoto T. An unmasked mutation of EIF2B2 due to submicroscopic deletion of 14q24.3 in a patient with vanishing white matter disease. *Am J Med Genet* (2012) 158A: 1771-7.
- 16) Shimojima K, Mano T, Kashiwagi M, Tanabe T, Sugawara M, Okamoto N, Arai H, Yamamoto T. Pelizaeus-Merzbacher disease caused by a duplication-inverted triplication-duplication in chromosomal segments including the PLP1 region. *Eur J Med Genet* (2012) 55: 400-3.
- 17) Nakayama T, Nabatame S, Saito Y, Nakagawa E, Shimojima K, Yamamoto T, Kaneko Y, Okumura K, Fujie H, Uematsu M, Komaki H, Sugai K, Sasaki M. 8p deletion and 9p duplication in two children with electrical status epilepticus in sleep syndrome. *Seizure* (2012) 21: 295-9.
- 18) Miyatake S, Miyake N, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saitsu H, Shimojima K, Yamamoto T, Higurashi M, Kawahara N, Kawauchi H, Nagasaka K, Okamoto N, Mori T, Koyano S, Kuroiwa Y, Taguri M, Morita S, Matsubara Y, Kure S, Matsumoto N. Homozygous c.14576G>A variant of RNF213 predicts early-onset and severe form of moyamoya disease. *Neurology* 78: 803-810, 2012.
- 19) Shimojima K, Okumura A, Natsume J, Aiba K, Kurahashi H, Kubota T, Yokochi K, Yamamoto T. Spinocerebellar ataxias type 27 derived from a disruption of the fibroblast growth factor 14 gene with mimicking phenotype of paroxysmal non-kinesigenic dyskinesia. *Brain Dev* 34: 230-233, 2012.
- 20) Shimojima K and Yamamoto T. Growth profiles of 34 patients with Wolf-Hirschhorn syndrome. *J Pediatr Genet* 1: 33-7, 2012.
- 21) Takahashi I, Takahashi T, Sawada K, Shimojima K, Yamamoto T. Jacobsen syndrome due to an unbalanced translocation between 11q23 and 22q11.2 identified at age 40 years. *Am J Med Genet* 158A, 220-3, 2012.

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
斎藤加代子	脊髄性筋萎縮症		小児科診断・治療指針	中山書店	東京	2012	764-766
斎藤加代子	1章 脊髄性筋萎縮症 (SMA) とは	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	1-5
斎藤加代子、相楽有規子	5章-3 遺伝子検査はどのようなことをするのですか	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	38-40
浦野真理	6章 SMAと診断されたときー遺伝カウンセリングを含む心理社会的支援についてー	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	41-46
荒川玲子	9章-1 運動機能の評価法 (Hammersmith運動機能評価スケール)	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	72-74
松尾真理	10章-4 気管切開および気管喉頭分離術	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	107-110
伊藤万由里、梅野愛子	14章 SMAの専門医療機関・ホームページ	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	136-143
益子貴史、森田光哉、中野今治	3章 成人発症SMA (IV型)の臨床症状と診断	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	14-22
森田光哉	5章-2 成人発症SMAの原因と病態は何ですか	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	36-37
小牧宏文	2章 小児期発症SMA (I, II, III型)の臨床症状と診断	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	6-13
齊藤利雄	7章 SMAの合併症	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	47-60
Saito T, Tataro K.	Database of Wards for Patients with Muscular Dystrophy in Japan	Madhuri Hegde, Arunkanth Ankala	Muscular Dystrophy	InTech	Croatia	2012	247-260
Saito T, Tataro K.	Comparison Between Courses of Home and Inpatients Mechanical Ventilation in Patients with Muscular Dystrophy in Japan	Ashraf Zaher	Neuromuscular Disorders	InTech	Croatia	2012	105-116

西尾久英	5章-1 小児期発症SMAの原因と病態は何ですか.	SMA診療マニュアル編集委員会	『脊髄性筋萎縮症診療マニュアル』	金芳堂	東京	2012	31-35
西尾久英	12章-1 薬物治療の研究の進歩	SMA診療マニュアル編集委員会	『脊髄性筋萎縮症診療マニュアル』	金芳堂	東京	2012	114-118
中島孝	12章-2 ロボットスーツHAL開発の進歩	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	119-125
中島孝	第7章心理ケア	日本ALS協会	新ALSケアブック	川島書店	東京	2012	印刷中
中島孝	第5章D「BMIとロボット工学の臨床応用	西澤正豊	小脳と運動失調小脳はなにをしているの	中山書店	東京	2012	印刷中
野本明男、荒川正行	12章-3 ウイルスベクターを用いた治療研究の展開-SMAに対する遺伝子治療の可能性とその展望	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	125-128
荒川正行	12章-4 再生医療の進歩-iPS細胞の可能性	SMA診療マニュアル編集委員会	脊髄性筋萎縮症診療マニュアル	金芳堂	京都	2012	129-130

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Saito K	Fukuyama congenital muscular dystrophy	Gene Reviews	database online		2012
岡本健太郎、斎藤加代子、佐藤孝俊、石垣景子、舟塚真、大澤真木子	脊髄性筋萎縮症0型の1例	脳と発達	44(5)	31-35	2012
斎藤加代子、近藤恵里、青木亮子	筋疾患の診断における遺伝子検査の役割	小児内科	44(9)	1442-1448	2012
斎藤加代子	24. ウィリアムス症候群	内科	109(6)	1067-1069	2012
荒川玲子、松尾真理、斎藤加代子	脊髄性筋萎縮症の診断とケア	難病と在宅ケア	18(9)	40-43	2012
Akizawa Y, Kanno H, Kawamichi Y, Matsuda Y, Ohta H, Fujii H, Matsui H, Saito K.	Enhanced expression of myogenic differentiation factors and skeletal muscle proteins in human amnion-derived cells via the forced expression of MYOD1	Brain Dev	35	349-355	2013
伊藤万由里、斎藤加代子、大澤真木子	日本における脊髄性筋萎縮症の臨床実態調査	東女医大誌	83	52-57	2013
益子貴史、森田光哉、中野今治	成人型脊髄性筋萎縮症SMAの診断基準症例の臨床と遺伝学的背景	難病と在宅ケア	18(4)	56-58	2012

Tetsuka S, Morita M, Ikeguchi K, Nakano I.	Creatinine/cystatin C ratio as a surrogate marker of residual muscle mass in amyotrophic lateral sclerosis	Neurol Clin Neurosci	1(1)	32-37	2013
Tetsuka S, Morita M, Iida A, Uehara R, Ikegawa S, Nakano I.	ZNF512B gene is a prognostic factor in patients with amyotrophic lateral sclerosis	J Neurol Sci	324(1-2)	163-166	2013
Shimazaki H, Takiyama Y, Ishiura H, Sakai C, Matsushima Y, Nakano I, et al.	A homozygous mutation of C12orf65 causes spastic paraplegia with optic atrophy and neuropathy (SPG55)	J Med Genet	49(12)	777-784	2012
Miyamoto M, Miyamoto T, Iwanami M, Muramatsu S, Asari S, Nakano I, et al.	Preclinical substantia nigra dysfunction in rapid eye movement sleep behaviour disorder	Sleep Med	13(1)	102-106	2012
Suwabe T, Ubara Y, Inoue M, Kitajima I, Oohashi K, Nakano I, Takaichi K.	What can we learn from a patient on dialysis for 42 years?	Clin Nephrol			In press
Yonekawa T, Komaki H, Saito Y, Sugai K, Sasaki M.	Peripheral nerve abnormalities in pediatric patients with spinal muscular atrophy	Brain Dev	35	165-171	2013
齊藤利雄	神経筋疾患による脊柱変形に対する脊椎外科治療アンケート調査	J Spine Res			In press
Harahap IS, Saito T, San LP, Sasaki N, Gunadi, Nurputra DK, Yusoff S, Yamamoto T, Morikawa S, Nishimura N, Lee MJ, Takeshima Y, Matsuo M, Nishio H.	Valproic acid increases SMN2 expression and modulates SF2/ASF and hnRNPA1 expression in SMA fibroblast cell lines	Brain Dev.	34(3)	213-222	2012
藤野陽生, 齊藤利雄, 井村 修, 松村 剛, 神野 進.	Duchenne型筋ジストロフィー児への病気の説明に関する調査	脳と発達	45(1)	11-16	2013
Marini M, Sasongko TH, Watihayati MS, Atif AB, Hayati F, Gunadi, Zabidi-Hussin ZA, Ravichandran M, Nishio H, Zilfalil BA.	Allele-specific PCR for a cost-effective & time-efficient diagnostic screening of spinal muscular atrophy.	Indian J Med Res.	135(1)	31-35	2012

Harahap NI, Harahap IS, Kaszynski RH, Nurputra DK, Hartomo TB, Pham HT, Yamamoto T, Morikawa S, Nishimura N, Rusdi I, Widiastuti R, Nishio H.	Spinal muscular atrophy patient detection and carrier screenin g using dried blood spots on fi lter paper.	Genet Test Mol Biomarkers.	16(2)	123-129	2012
Tanaka C, Kaji H, He J, Hazama R, Yokoyama K, Kinoshita E, Tsujioka T, Tohyama K, Yamamura H, Nishio H, Tohyama Y.	Rab27b regulates c-kit expression by controlling the secretion of stem cell factor.	Biochem Biophys Res Commun.	419(2)	368-373	2012
中島孝	尊厳死論を超える一緩和ケア難病 ケアの視座	現代思想	40(7)	116-125	2012
中島孝	患者もスタッフもいきいきとする ケアを行なうために 治らない病 気とともに生きる患者のQOLを考 える	看護管理	22	563-568	2012
中島孝	大災害時の神経疾患治療としての 問題点 8ヵ月後の今 神経難病患 者の災害時の対応 二回の地震と 東日本大震災への支援経験から	神経治療学	29	207-211	2012
Shimizu T, Nagaoka U, Nakayama Y, Kawata A, Kugimoto C, Kuroiwa Y, Kawai M, Shimohata T, Nishizawa M, Mihara B, Arahata H, Fujii N, Namba R, Ito H, Imai T, Nobukuni K, Kondo K, Ogino M, Nakajima T, Komori T.	Reduction rate of body mass index predicts prognosis for survival in amyotrophic lateral sclerosis: a multicenter study in Japan.	Amyotroph Lateral Scler.	13(4)	363-366	2012

IV. 研究成果の刊行物・別刷

脊髄性筋萎縮症

定義, 概念

- 脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy : SMA) は, 脊髄前角細胞の変性によって起こる筋萎縮と筋の脱力の特徴とする常染色体劣性遺伝病である。
- 発症年齢, 臨床経過に基づき, I 型, II 型, III 型, IV 型に分類される (6)。
- 線維束性収縮などの脱神経の症状と近位筋優位の骨格筋の筋萎縮を伴った筋力低下の症状を示す。

病態, 臨床像

- 原因遺伝子は 5 番染色体長腕 5q13 に存在する

SMN1 (survival motor neuron) 遺伝子¹⁾である。同領域に向反性に重複した配列の SMN2 遺伝子も存在する。

- I 型から IV 型の臨床的重症度の幅については, SMN タンパク質の発現量, すなわち SMN2 遺伝子がどの程度, SMN タンパク質を産生するかで説明できる。臨床像が軽症の場合, SMN 遺伝子欠失ではなく遺伝子変換により SMN1 遺伝子が SMN2 遺伝子になること, すなわち SMN2 遺伝子の遺伝子産物の量が多くなっている。正常では SMN タンパク量が 100% であるとする, SMA I 型は 20%, II 型は 30%, III 型は 40% と考えられ, 臨床症状の重症から軽症の幅を説明するもの

㉑ SMA の分類

型	病名	発症年齢	最高到達運動機能	遺伝
I	Werdnig-Hoffmann 病 急性乳児型 SMA	0～6 か月	never sit	常劣
II	Dubowitz 病 慢性小児型 SMA	<1 歳 6 か月	never stand	常劣
III	Kugelberg-Welander 病 若年型 SMA	1 歳 6 か月～20 歳	stand & walk alone	常劣 まれに 常優
IV	成人型 SMA	20 歳<	normal	多くは孤発 常優か常劣

常劣：常染色体劣性，常優：常染色体優性。

㉒ 脊髄性筋萎縮症の臨床像

<p>I 型：重症型，急性乳児型，Werdnig-Hoffmann 病</p> <p>筋力低下が重症で全身性である。妊娠中の胎動が弱い例も存在する。発症は生後 6 か月まで。発症後，運動発達は停止し，体幹を動かすこともできず，筋緊張低下のために体が軟らかいフロッピーインファントの状態を呈する。肋間筋に対して横隔膜の筋力が維持されているため吸気時に腹部が膨らみ，胸部が陥凹する奇異呼吸を示す。支えなしに座ることができず，哺乳困難，嚥下困難，誤嚥，呼吸不全を伴う。舌の線維束性収縮がみられる。深部腱反射は消失，上肢の末梢神経の障害によって，手の尺側偏位と手首が軟らかく屈曲する形の wrist drop が認められる。人工呼吸管理を行わない場合，死亡年齢は平均 6～9 か月であり，24 か月までにほぼ全例が死亡する。</p>
<p>II 型：中間型，慢性乳児型，Dubowitz 病</p> <p>発症は 1 歳 6 か月まで。支えなしの起立，歩行ができないが，座位保持が可能である。舌の線維束性収縮，手指の振戦がみられる。腱反射は減弱または消失。次第に側弯が著明になる。II 型のうち，より重症な症例は呼吸器感染に伴って，呼吸不全を示すことがある。</p>
<p>III 型：軽症型，慢性型，Kugelberg-Welander 病</p> <p>発症は 1 歳 6 か月以降。自立歩行を獲得するが，次第に転びやすい，歩けない，立てないという症状がでてくる。後に，上肢の拳上も困難になる。</p>
<p>IV 型：成人発症型</p> <p>20 歳以上の発症。小児期や思春期に筋力低下を示す III 型の小児は側弯を示すが，成人発症の SMA 患者では側弯は生じない。それぞれの型のなかでも臨床的重症度は多様であり，分布は連続性である。</p>

となっている²⁾。

●臨床像を㉒に示す。

診断 (㉓)

- 左右対称性で近位筋優位の筋力低下，筋萎縮，舌・手指の線維束性収縮 (fasciculation)，腱反射減弱～消失などの下位運動ニューロン徴候から SMA を疑う。
- 中枢神経機能障害，関節拘縮症，外眼筋・横隔膜・

㉓ 脊髄性筋萎縮症の認定診断基準

<p>1. 主要項目</p> <p>(1) 臨床所見</p> <p>① 下記のような下位運動ニューロン症候を認める。</p> <ul style="list-style-type: none"> 筋力低下 筋萎縮 舌，手指の線維束性収縮 (fasciculation) 腱反射は減弱から消失 <p>② 下記のような上位運動ニューロン症候は認めない。</p> <ul style="list-style-type: none"> 痙縮 腱反射亢進 病的反射陽性 <p>③ 経過は進行性である。</p> <p>(2) 臨床検査所見</p> <p>筋電図で高振幅電位や多相性電位などの神経原性所見を認める。</p> <p>(3) 遺伝子診断</p> <p>survival motor neuron (SMN) 遺伝子変異を認める。</p>
<p>2. 鑑別診断</p> <p>筋萎縮性側索硬化症，球脊髄性筋萎縮症，脳腫瘍・脊髄疾患，頸椎症，椎間板ヘルニア，脳および脊髄腫瘍，脊髄空洞症，末梢神経疾患，筋疾患，感染症に関連した下位運動ニューロン障害，傍腫瘍症候群，先天性多発性関節拘縮症，神経筋接合部疾患</p>
<p>3. 診断の判定</p> <p>上記の 1 (1) ①②③すべてと (2)，(3) の 1 項目以上を満たし，かつ 2 のいずれでもない。</p>

(厚生労働省難治性疾患克服研究事業 (中野班 2009) より)

心筋の障害，聴覚障害，著しい顔面筋罹患，知覚障害，血清クレアチンキナーゼ値が正常上限の 10 倍以上，運動神経伝導速度が正常下限の 70% 以下，知覚神経活動電位の異常などの所見がある場合，SMA とは考えにくい。

- 筋生検で小径萎縮筋線維の大集団，群萎縮 (group atrophy)，I 型線維の肥大，筋電図では高電位で幅が広い giant spike などの神経原性変化を示す。
- SMA において，遺伝子診断は最も広く行われる非侵襲的診断方法である。末梢血リンパ球より

DNAを抽出し、*SMN1* 遺伝子の exon 7, 8 の欠失の有無を確認することにより診断する。*SMN1* 遺伝子のホモ接合性の欠失は SMA I 型, II 型では 90% 以上に認められるが, III, IV 型では 50% 以下となる³³⁾。

治療と医療管理

- SMA に対する根本的な治療は、いまだ確立していない。*SMN2* 遺伝子の exon 7 のスプライシングパターンを変えることにより *SMN2* 由来の全長 mRNA を増やす方法、*SMN* の転写のレベルを全体的に上げる方法、*SMN* タンパクを安定化させる方法、変性した運動ニューロンを幹細胞によって修復する方法などが研究されている。
- SMA は現在の社会的環境では日常生活の多くの活動を他人に頼らなければならない疾患である一方、患児はしばしば高度な能力を有し、正常の心臓機能を示している。適切な道具や訓練により、社会的に満足のいく生活を送ることが可能である。彼らの能力を発揮できる環境を整備していくことが必要である^{*33)}。

呼吸

- SMA の I 型, II 型の患児の最大の問題は、呼吸器感染や誤嚥に伴う呼吸不全である。
- I 型は気管挿管と人工呼吸管理を行わなければ死亡する疾患である。人工呼吸器はコンパクトで便利になり人工呼吸管理を受けつつ病院や在宅にて QOL の向上をめざしている I 型の患児も増加している。
- 座位保持が可能な II 型の患児は、呼吸不全状態のため気管挿管と人工呼吸管理が必要になっても、永続的な使用とはならないことも多い。肺の低換

気を示す II 型の患児は、鼻マスクを用いた IPPV (間欠的陽圧換気) の使用により、呼吸不全の治療と予防が可能である。インフルエンザの予防接種など、呼吸器感染の予防も積極的に行うべきである。

理学療法

- I 型で人工呼吸管理を受けている患児や II 型で車椅子の生活をしている患児は、関節の拘縮に対して予防が必要である。II 型では座位の保持が可能であるが、次第に側弯や関節拘縮が著明になるために、III 型では起立や歩行が困難になった場合も、リハビリテーションによる拘縮の予防が必要である。
- II 型では側弯に対して、手術的治療として脊柱固定術が行われ始めている。
- 呼吸器感染時には、カフマシンの使用や、肺の理学療法によって排痰ドレナージュを行う。

移動

- I 型, II 型では一人で起立や歩行が不可能であり、車椅子が必要である。上半身の力がないので、手動ではなく電動の車椅子を必要とする。
- 欧米では 2~3 歳で電動車椅子を安全に動かすことを教えており、家や外で家族や友達と一緒に活動できるようになる。

(斎藤加代子)

引用文献

- 1) Lefebvre S, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene. *Cell* 1995; 80: 155-65.
- 2) Wirth B, et al. Mildly affected patients with spinal muscular atrophy are partially protected by an increased *SMN2* copy number. *Hum Genet* 2006; 119: 422-8.
- 3) 斎藤加代子, 伊藤万由里. 脊髄性筋萎縮症の遺伝子診断. *神経内科* 2008; 69: 528-32.

*33 患者サポート組織: SMA の人々をとりまく環境を快いものにして、ともに支え合う場をもつことを目的として、1999 年 10 月に「SMA 家族の会」が結成され、全国レベルの活動をしている。

脊髄性筋萎縮症 診療マニュアル

spinal muscular atrophy (SMA)

SMA診療マニュアル編集委員会 編



 Kinpodo

発刊に際して

SMA を知ろう！

脊髄性筋萎縮症 (SMA) の特徴のひとつは、生後すぐの新生児から高齢者まで、幅広い年齢の患者さんがいることです。共通して、運動機能の障害と筋緊張低下を示しますが、その程度はさまざまです。I型からIV型に分類されていて、I型は never sit (坐らない)、II型は never stand (立たない)、III型は stand and walk alone (立ったり歩いたりできる)、IV型は adult onset (成人発症) です。初めて診断される医療機関が新生児室、小児科、神経内科と各科にまたがっており、診断後に外科、整形外科、リハビリテーション科、口腔外科 (歯科) なども受診することがあります。2009年から原因遺伝子のひとつである SMN 遺伝子検査が保険収載され、筋生検によらずに確定診断がなされるようになってきていることから、遺伝子検査と遺伝カウンセリングを希望して遺伝子医療の専門施設に受診する方も増えてきています。

このような幅広い年齢層の患者さんを診療する医療施設が、高いレベルで診療できること、また根本治療を目指す研究の発展について、本人、家族、医療関係者が情報を共有することを目的として、日本の SMA の診療・研究の第一線にいるプロフェッショナルの皆様と SMA (脊髄性筋萎縮症) 家族の会の皆様に、分担執筆をお願いしました。

SMA の歴史を紐解くと、1891年 (日本では明治24年に相当します)、1894年にオーストリアのグラーツの神経科医師である Werdnig が症例を報告し、病理解剖において脊髄の運動神経と三叉神経核、顔面神経核の萎縮を見出し、神経原性であることを提唱したのが SMA の疾患概念の最初です。一方、1893年に Hoffmann による剖検例も含んだ報告で、乳児期に発症、急速に進行し、脊髄前角細胞、脳神経核の変性と脱落を示す疾患として小児の SMA が位置づけられました。彼らの名前を冠して、SMA のうち最も重症なタイプ (I型) を Werdnig-Hoffmann 病と呼んでいます。しかし、彼らの報告した症例は、実は現在の分類から判断するとII型に相当しています。1897年の Hoffmann の論文ではII型の可愛らしい聡明そうな

女性の患者さんの4歳4か月から5歳10か月までの写真が載っています。彼女の、脊柱の側弯が進行し、笑顔のない悲しい表情に胸を打たれます。それから約120年を経過して、今、皆さんは笑顔を見せてくれています。

SMAをもちつつ人生を前向きに、エネルギーに生きていく素晴らしい人々に接し、専門職として、何とかしてSMAを治したい、進行を止めたいと熱望します。欧米からも、たびたび明るい治療研究の情報が届いています。皆がSMAを理解して、患者さん・家族の方たちが人生を楽しみ、最善の治療を受けることができるように、執筆者一同、努力を続けて参ります。その願いを込めて、春の訪れとともに、このたび「脊髄性筋萎縮症診療マニュアル」を発刊致します。

本書は厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）「脊髄性筋萎縮症の臨床実態の分析、遺伝子解析、治療法開発の研究」の研究者を中心としたSMAの専門職の皆様、SMA（脊髄性筋萎縮症）家族の会の東良弘人会長と会員の皆様のご尽力により発刊することができました。短い時間に無理を申しあげましたが、快く執筆をしてくださいました分担執筆者の皆様、夜遅くまで企画、構成、デザイン、連絡などなど、細部にわたって貢献して下さいました梅野愛子様、我儘をお聞き下さりながら京都弁ではんなりと対応をしてくださいました金芳堂の三島民子様、鳥羽匠様に心からの感謝を申し上げます。

平成24年3月31日

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

「脊髄性筋萎縮症の臨床実態の分析、遺伝子解析、治療法開発の研究」研究代表者

東京女子医科大学附属遺伝子医療センター 所長・教授 齋藤加代子

目 次

1章 脊髄性筋萎縮症 (SMA) とは (齋藤加代子) 1

- SMA とは 1
- 発病のメカニズム：下位運動ニューロン病 2
- SMA と遺伝子 2
- 診断の進歩 3
- 診断基準, 認定基準 3
- 治療と予後 3
- 研究の進歩 4

2章 小児期発症 SMA (I, II, III型) の臨床症状と診断 (小牧宏文) 6

- 小児期発症 SMA (I, II, III型) はどのような違いがあるのですか 6
- 小児期発症 SMA (I, II, III型) の患者さんはどのような症状をもっていますか 8
- どのようにして診断がなされるのですか 9
- 小児期発症 SMA (I, II, III型) と似た症状の疾患には何があるのですか 12

3章 成人発症 SMA (IV型) の臨床症状と診断 (益子貴史・森田光哉・中野今治) 14

- 成人発症 SMA (IV型) はどのような人になるのでしょうか 14
- 小児期発症 SMA (I, II, III型) と成人発症 SMA (IV型) の違いは何ですか 14
- 成人発症 SMA (IV型) の患者さんはどのような症状をもっていますか 15
- 診察では何がわかりますか 16
- どのようにして診断がなされるのですか 17
- 成人発症 SMA (IV型) と似た症状の疾患には何があるのですか 18

4章 病理 23

- 4-1 神経病理 (林 雅晴) 23
 - 脳の構造 23

- 運動神経 24
 - 下位運動ニューロンの障害 25
 - 下位運動ニューロン以外の病変 26
 - 視床の病変 27
 - SMN タンパク質の低下との関係 27
- 4-2 筋病理 (宍倉啓子) 28
- 筋病理の基本 28
 - I 型, II 型の筋病理 28
 - III 型の筋病理 29

5 章 遺伝子疾患としての SMA

31

- 5-1 小児期発症 SMA の原因と病態は何ですか (西尾久英) 31
- SMN1 遺伝子と SMN タンパク質 31
 - SMN タンパク質と低分子量リボ核タンパク質合成 32
 - SMN タンパク質と運動ニューロン回路形成 34
 - まとめ 35
- 5-2 成人発症 SMA の原因と病態は何ですか (森田光哉) 36
- 成人発症 SMA の分類上の位置づけについて 36
 - 成人発症 SMA の原因と病態の解明に向けて 36
- 5-3 遺伝子検査はどのようなことをするのですか (齋藤加代子・相楽有規子) 38
- SMA と診断された人の皆が SMN 遺伝子検査により診断されるわけではありません 39

6 章 SMA と診断されたとき

— 遺伝カウンセリングを含む心理社会的支援について — (浦野真理) 41

- 病名を告知されたとき 41
- 遺伝カウンセリングを受ける 42
- 社会とつながりをもつ 43
- SMA と診断された兄弟姉妹とともに 44
- SMA とともに 46