

## ベスレムミオパチーの臨床病理学的特徴 GNE ミオパチーの遺伝子変異・表現型解析

研究分担者：氏名 西野 一三<sup>1)</sup>

共同研究者：氏名 米川 貴博<sup>1)</sup>、漆葉 章典<sup>1)</sup>

1) (独) 国立精神・神経医療研究センター

### 研究要旨

ベスレムミオパチー (BM) は未診断例が多いと考えられる。国立精神・神経医療研究センターの凍結生検筋レポジトリーにおいて、西野班において作成した BM 診断基準 A-a. 常染色体優性遺伝の家族歴があること、B-b.VI 型コラーゲン免疫染色異常があること、又は C-a.COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異を有することを満たす例を抽出し、BM 症例の掘り起しに役立つ臨床病理情報を明らかにすることを目的とし研究を行った。

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (GNE ミオパチー) については、本邦には 200-300 人の患者が存在すると推定されることを報告してきたが、本研究では、引き続き新たな患者を同定すること、遺伝学的に診断が確定している患者実数の把握と遺伝子型と表現型相関を明らかにすることを目的として研究を行った。

BM6 家系 30 名の患者の臨床、骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色、COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異について解析した。ヘテロ接合性変異が 5 家系に認められた。BM 例の多くは幼少期に発症する。比較的早期に関節拘縮 (手指、肘、足関節) が認められる。アキレス腱延長術の既往が 9 名にあり (手術時年齢 6-17 歳)、うち 4 例はそれぞれ 12、35、43、53 歳まで歩行可能であった。骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は、4 家系からの生検筋で SSCD であった。

本邦には少なくとも 212 名の GNE ミオパチー患者が存在する。424 アレルのうち、ミスセンス変異が 402 アレル (94.8%) を占め、p.V572L 変異が 205 アレル (48.3%) と最多であり、重症の表現型と相関する傾向にあった。次に、p.D176V 変異が 95 アレル (22.4%) を占め多かった。

足関節の尖足位拘縮は、BM を疑う特徴的な症状であるとともに、筋力低下よりも早期に顕在化する。欧米の BM 診断基準では、骨格筋 VI 型コラーゲン染色性は保たれるとされているが、本研究結果は、BM の初代患者、或いは未診断家系の掘り起しに骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色が役立つことを示している。

p.V572L 変異が本邦 GNE ミオパチー患者のアレルの約半数を占め、重症の表現型と関連する。これは、欧米の患者に比し、本邦患者が重症である傾向と対応する。

### A : 研究目的

#### 1) ベスレムミオパチー

ベスレムミオパチー (BM) とウルリッヒ型先天性筋ジストロフィー (UCMD) は、VI 型コラーゲンをコードする COL6A1、

COL6A2、COL6A3 遺伝子変異によって発症する。

平成 22 年度「ベスレムミオパチーとその類縁疾患の実態調査」研究班 (西野班) が、1978-2004 年の国立精神・神経医療研究セ

ンター（当施設）の筋病理および遺伝子診断実績に基づいて、UCMD の患者頻度 0.4-0.8（10 万対）BM は疑い例を含めたとしても UCMD の 1/10 程度になることを報告した。しかし、最近英国における UCMD、BM の患者頻度がそれぞれ 0.13（10 万対）0.77（10 万対）と報告されたことから、本邦の BM の患者数はもっと多いと考えられる。つまり、BM の患者のなかには、肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）としてフォローされていたり、筋力低下が軽度で未受診となっている例があると予想され、BM 症例の掘り起しが必要である。

本研究では、これまでに確保された BM 例に加え、当施設の凍結生検筋レポジトリーにおいて、臨床像、VI 型コラーゲン免疫染色、COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異スクリーニングから新たに確保された症例も含め、BM 症例の掘り起しに役立つ臨床病理情報を明らかにすることを目的とした。

#### 2) 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（DMRV）は、GNE 遺伝子の劣性変異により発症する疾患である。最近では、GNE ミオパチーと呼ばれることが推奨されている。本疾患においては、既にシアル酸補充療法の第 相臨床試験が海外で行われており、近い将来、本邦でも第 相試験が開始されると期待されている。

これまでに、本邦には 200-300 人の患者が存在すると推定されることを報告してきた。本研究では、引き続き新たな患者を同定すること、遺伝学的に診断が確定している患者実数の把握と遺伝子変異型と表現型相関を明らかにすることを目的とした。

### B：研究方法

#### 1) ベスレムミオパチー

当施設凍結生検筋レポジトリーから BM と考えられる例を抽出し、西野班で報告した例も加えて臨床情報を解析した。抽出の際に用いた基準は、西野班において作成した BM 診断基準であり、具体的には A-a. 常染色体優性遺伝の家族歴があること、B-b. VI 型コラーゲン免疫染色異常または

C-a. COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異を有することとした。

#### 2) GNE ミオパチー

患者血液または骨格筋よりゲノム DNA を抽出し、サンガー法により全エクソンおよびエクソン・イントロン境界領域のシーケンス決定を行った。

当施設凍結生検筋レポジトリーにおける患者臨床情報に基づいて遺伝子型と表現型の相関を解析した。

#### （倫理面への配慮）

本申請研究において使用するすべてのヒト検体は、生検時に当施設倫理委員会で承認を受けた「診断と検体の研究使用に関する承諾書」を用いてインフォームド・コンセントを得ており、「神経・筋疾患の病態解明と治療法開発」を目的とした研究への検体使用が認可されている。また、臨床情報を扱う際には、連結可能匿名化された既存の情報のみを扱う。遺伝子解析は「ヒトゲノム解析研究に関する共通指針」を遵守した上で施行される。解析情報を使用するにあたっては匿名化した上で使用する。

### C：研究結果

#### 1) ベスレムミオパチー

[6 家系、30 名の内分け]

家系 1 には 8 名の患者がおり、2 名で骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は筋線維膜特異的欠損（SSCD）であった。この家系の 1 名では、genomic DNA を用いた COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異解析で、COL6A2 遺伝子に c.1053+1G>A 変異が見出された。

家系 2 には 3 名の患者がおり、1 名では骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は正常であり、COL6A2 遺伝子に c.1861G>A (p.Asp621Asn) ヘテロ接合性変異が見出された。

家系 3 には 4 名の患者がおり、2 名で骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は正常であったが、3 名では COL6A1 遺伝子に IVS14DS,G-A,+1 ヘテロ接合性変異が見出された。

家系 4 には 9 名の患者がおり、1 名では

骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は SSCD であった。5 名に *COL6A1* 遺伝子に c.956A>G (p.Lys319Arg) ヘテロ接合性変異が見出された。

家系 5 には 3 名の患者があり、1 名では骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は SSCD であり、*COL6A1* 遺伝子に c.428+1G>T ヘテロ接合性変異が見出された。

家系 6 には 3 名の患者があり、2 名では骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は SSCD であった。この家系の 1 名では、genomic DNA を用いた *COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* 遺伝子解析で変異は見出されなかった。

#### [ 臨床症状 ]

発症年齢は 3-43 歳まで分布したが、大部分の例は就学前から小学校であった。初発症状は、近位筋の筋力低下や足関節尖足位拘縮であった。思春期頃までに関節拘縮を認め、好発部位は手指関節、肘関節、足関節であった。

9/30 名でアキレス腱延長術の既往があり、年齢は 6 - 17 歳であった。

1 名は 43 歳で独歩不能となったが、35、45、53、54、69 歳で独歩可能であった。1 家系では側弯症がみられた。関節過伸展や人工呼吸器導入例はなかった。

#### 2) GNE ミオパチー

212 名の患者で *GNE* 遺伝子変異を同定した。424 アレルのうち、ミスセンス変異が 402 アレル (94.8%) を占めていた。この中では、p.V572L 変異が 205 アレル (48.3%) を占め最多であり、また p.V572L 変異がどちらかという重症の表現型と関連していた。次に、p.D176V 変異が 95 アレル (22.4%) を占め多かった。

### D : 考察

#### 1) ベスレムミオパチー

BM は、幼少期に発症する例が多いが、成人発症例の報告もある。緩徐に進行する近位筋優位の筋力低下と筋萎縮、比較的早期に関節拘縮 (手指、肘、足関節) が認められることが特徴である。

本研究で対象とした BM30 例のうち、病歴上アキレス腱延長術の既往が 9 例にあり (年齢 6 - 17 歳) うち 4 例はそれぞれ 12、

35、43、53 歳まで歩行可能であることが確認された。これは、本症の足関節尖足位拘縮は、筋力低下よりも早期に顕在化し、BM を疑う特徴的な症状であることを示している。

BM は、*COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* 遺伝子のヘテロ接合性変異により発症し、優性遺伝形式をとる。UCMD も同様に大分の症例はヘテロ接合性変異によって発症するが、本症の変異は *de novo* である。BM では UCMD と異なり、骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色で異常がないとされている。しかし、本研究で解析対象とした 6 家系のうち、2 家系では VI 型コラーゲン染色パターンは正常であったものの、4 家系ですべて SSCD であった。欧米の BM 診断基準には、骨格筋 VI 型コラーゲン染色性は保たれるとされているが、西野班による診断基準には、筋鞘膜特異的欠損や部分欠損を含めている。骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は、BM の初代患者、或いは家系内の未診断例の掘り起しに役立つと考えられる。

BM と UCMD は、それぞれが軽症、重症の両端となる VI 型コラーゲン関連ミオパチースペクトラムを成している。つまり、両疾患に本質的な違いはなく、ヘテロ接合性変異が継代されるか否かだけが違いと言ってもよいだろう。

#### 2) GNE ミオパチー

本邦には少なくとも 200 名以上の患者が確かに存在することが明らかとなった。これまでの報告と同様に p.V572L 変異が最も高頻度であった。また、p.V572L 変異がどちらかという重症の表現型と関連していることを明らかにした。これは、欧米の患者に比して、本邦患者が重症である傾向があることの理由の一つかも知れない。

### E : 結論

BM は、幼少期に発症する例が多い。比較的早期に関節拘縮 (手指、肘、足関節) が認められる。足関節の尖足位拘縮は BM を疑う特徴的な症状である。VI 型コラーゲン免疫染色で SSCD をみることもあり、BM の診断に役立つと考えられる。

本邦には少なくとも 212 名の DMRV 患者

が存在する。p.V572L 変異が本邦患者のアレルの約半数を占め、重症の表現型と関連する。

**F：健康危険情報**

なし

**G：研究発表**

**1：論文発表**

Mori-Yoshimura M, Oya Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M: Respiratory dysfunction in patients severely affected by GNE myopathy (distal myopathy with rimmed vacuoles). *Neuromuscul Disord.*23(1): 84-88, 2013

Nalini A, Gayathri N, Nishino I, Hayashi YK: GNE myopathy in India. *Neurol India.* 61(4): 371-374, 2013

Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I: Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 84(9): 982-988, 2013

Cho A, Hayashi YK, Monma K, Oya Y, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Mutation profile of the *GNE* gene in Japanese patients with distal myopathy with rimmed vacuoles (GNE myopathy). *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* [Epub 2013 Sep]

Murakami N, Hayashi YK, Oto Y, Shiraishi M, Itabashi H, Kudo K, Nishino I, Nonaka I, Nagai T: Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood. *Neuromuscul Disord.* 23(5): 441-444, 2013 [Epub 2013 Mar]

**2：学会発表**

Nishino I: Metabolic Diseases in Muscle. 12th Asian and Oceanian Congress on Child Neurology (AOCCN) 2013, Riyadh, Saudi Arabia (King Faisal Conference Hall), 9.16, 2013 (9.14-9.18)

Nishino I: Congenital Muscular Dystrophies. 12th Asian and Oceanian Congress on Child Neurology (AOCCN) 2013, Riyadh, Saudi Arabia (King Faisal Conference Hall), 9.16, 2013 (9.14-9.18)

Nishino I: The Japanese large cohort. The Third GNE myopathy (HIBM) consortium meeting, Burlingame, USA (San Francisco Marriott Airport Waterfront Hotel), 9.30, 2013 (9.29-9.30)

Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Noguchi S, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I: Natural history of Ullrich congenital muscular dystrophy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.2, 2013 (10.1-10.5)

Uruha A, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I: High prevalence of hepatitis C virus infection in a Japanese inclusion body myositis cohort. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.3, 2013 (10.1-10.5)

**H：知的所有権の取得状況（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