

型肝炎について、一般的な Q&A 改訂第 6 版) に比し高頻度であった。また、当施設凍結生検筋レポジトリーにおいて同時期に登録された多発筋炎同齡患者の HCV 既感染率 (3.7%、2/54 例) に比し有意に高い割合であった ( $p < 0.01$ )。

解析した限りにおいて、HCV 既感染群と非感染群との間に臨床・病理学的な差異は認められなかった。これは、HCV が HCV 非感染 IBM と異なる特殊な病態を生じさせているのではなく、IBM 病態の誘発因子として作用している可能性を示唆している。また、この結果は IBM の基礎研究のなかで、HCV を何らかの形で実験ツールとして活用できる可能性を想起させる。

インターフェロン治療後に IBM を発症した 5 例は注目すべきである。病歴に記載されていない場合もあると思われる。このような症例の実数把握とともに、インターフェロン治療が真に IBM 発症の危険因子であるか否かを検討する必要がある。

さらに、本研究において解析した臨床情報では患者の診断後の経過は不明である。HCV 既感染群と非感染群の間に進行速度や治療反応性などの違いがないかも明らかにする必要がある。

## 2) 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。

## 3) 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原因の一つかも知れない。

## E : 結論

IBM 患者における HCV 既感染率は 24.1% と高い。解析した限りにおいて、HCV 既感染群と非感染群との間に臨床・病理学的な差異は認められなかった。

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 をみることがあり、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

Ramachandran N, Munteanu I, Wang P, Ruggieri A, Rilstone JJ, Israelian N, Naranian T, Paroutis P, Guo R, Ren ZP, Nishino I, Chabrol B, Pellissier JF, Minetti C, Udd B, Fardeau M, Taylor CS, Mahuran DJ, Kissel JT, Kalimo H, Levy N, Manolson MF, Ackerley CA, Minassian BA: VMA21 deficiency prevents vacuolar ATPase assembly and causes autophagic vacuolar myopathy. *Acta Neuropathol.* [Epub 2013 Jan] 125(3): 439-457, 2013

Furuta A, Wakabayashi K, Haratake J, Kikuchi H, Kabuta T, Mori F, Tokonami F, Katsumi Y, Tanioka F, Uchiyama Y, Nishino I, Wada K: Lysosomal storage and advanced senescence in the brain of LAMP-2 deficient Danon Disease. *Acta Neuropathol.* [Epub 2012 Dec] 125(3): 459-461, 2013

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, Asilomar, 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

## 先天性ミオパチー

研究分担者：林由起子<sup>1) 2) 3)</sup>

共同研究者：西野一三<sup>2) 3)</sup>

- 1) 東京医科大学神経生理学
- 2) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第一部
- 3) 同トランスレーショナルメディカルセンター臨床開発部

### 研究要旨

先天性ミオパチーは乳児期早期より筋力低下を示す遺伝性筋疾患で、筋病理所見により病型分類されている。我々は(独)国立精神・神経医療研究センター(NCNP)骨格筋レポジトリを活用し、本邦における先天性ミオパチーの各病型頻度を推計した。その中で最も頻度の高いネマリンミオパチーについて既知原因遺伝子について網羅的に変異スクリーニングを行った。その結果、本邦では *ACTA1* 変異例が最も多く、その74%が乳児重症型を呈すること、一方で成人発症の良性型も存在することが明らかとなった。また、国際共同研究により、ネマリンミオパチーの新規原因遺伝子として *KLHL40*, *KLHL41* を見いだした。

### A：研究目的

先天性ミオパチーは生直後あるいは乳児期早期より全身の筋緊張低下、発達遅滞、呼吸・哺乳障害などを示す遺伝性筋疾患で、筋病理所見の特徴からいくつかの病型に分類されている。これまでに複数の原因遺伝子が明らかになっているが、まだ原因不明のものも多い。本研究では、先天性ミオパチーの各病型の頻度、病因、診断及び臨床管理上の問題点を明らかにし、診断基準の作成を行うことを目的とする。

### B：研究方法

- 1) 先天性ミオパチーの臨床病理学的解析

全国の病院から筋病理診断を依頼されたヒト凍結骨格筋組織約1万3千検体を有する(独)国立精神・神経医療研究センター(NCNP)骨格筋レポジトリに保存されている先天性ミオパチー症例について、病型の明らかである先天性ミオパチーと分類不能の先天性ミオパチー患者各々の数を明らかにすることにより、本邦における各病型頻度を推計する。

## 2) 先天性ミオパチーの原因遺伝子の同定

先天性ミオパチーの中で最も頻度が高いことが判明したネマリンミオパチーについて、既知原因遺伝子すべてに対しターゲットシーケンス法を用いて、変異スクリーニングを行い、診断確定を進める。また原因の明らかでない例は、次世代型シーケンサーを用いたエクソーム解析により新規疾患候補遺伝子の探索を進める。

### (倫理面への配慮)

本研究において使用した全てのヒト検体は、確定診断のために病理学的、生化学的、免疫学的ならびに遺伝子レベルの解析が必要であり、かつ患者および家族もこれを希望し、その了解を得た上で採取された組織であり、かつ、NCNP 倫理委員会で平成 13 年 7 月 19 日に承認された所定の承諾書を用いて、患者あるいはその親権者から遺伝子解析を含む研究使用に対する検体の使用許可を得たものである。遺伝子解析に関しては「ヒトゲノム解析に関する共通指針」を遵守した上で施行した(平成 21 年 6 月 8 日承認)。これらの情報を使用するに当たっては、プライバシーを尊重し、匿名化した上で使用した。

## C : 研究結果

### 1) 先天性ミオパチーの病型頻度

NCNP 骨格筋レポジトリ約 13,000 検体のデータを分析し、各病型頻度を推計した。その結果、先天性ミオパチー全体の数は Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD) とほぼ同数であった。ネマリンミ

オパチーが最も多く 26% を占め、次いで中心核ミオパチー、先天性筋線維タイプ不均等症、セントラルコア病の順で、分類不能のものも 31%認められた。

### 2) 遺伝子変異解析

先天性ミオパチーの中で、最も頻度の高いネマリンミオパチー180例について、既知疾患原因遺伝子すべてについて変異スクリーニングを行った。その結果、本邦患者ではACTA1変異が最も多く、ついでNEB変異例であった。また、次世代シーケンサーを用いた国際共同研究によって、乳児重症型ネマリンミオパチーの新規疾患原因遺伝子(KLHL40, KLHL41)を見だし、報告した。このうち、KLHL40変異例は本邦で頻度が高く、創始者効果の存在が示唆された。

## D : 考察

先天性ミオパチーは、DMDとほぼ同じ患者数そんざいし、比較的頻度の高い筋疾患である事が明らかとなった。そのうち最も頻度の高いネマリンミオパチーについては、既知原因遺伝子の網羅的変異スクリーニングを行ったにも関わらず、60%以上の患者で変異が見いだされなかったことから、未知の疾患原因遺伝子が複数存在することが示唆され、今後の課題となった。また、NEB変異は、海外ではネマリンミオパチーの約半数を占めるとの報告もあるが、今回我々のスクリーニング結果では多くても10数パーセントである。また、変異が1つのみしか見いだされない例が多いことから、検出方法の見直しなどが今後必要となると考えられる。

## E : 結論

本邦における先天性ミオパチーの病型頻度、ならびにネマリンミオパチーの病因と臨床症状についてその特徴と問題点を明らかにした。

## F : 健康危険情報

なし

## G : 研究発表

### 1 : 論文発表

- Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar MA, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Yau KS, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJ, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH. Identification of KLHL41 Mutations Implicates BTB-Kelch-Mediated Ubiquitination as an Alternate Pathway to Myofibrillar Disruption in Nemaline Myopathy. *Am J Hum Genet.* 93(6): 1108-1117, 2013
- Motoki T, Fukuda M, Nakano T, Matsukage S, Fukui A, Akiyoshi S, Hayashi YK, Ishii E, Nishino I: Fatal hepatic hemorrhage by peliosis hepatis in X-linked myotubular myopathy: A case report. *Neuromuscul Disord.* 23(11): 917-921, 2013
- Matsuura T, Kurosaki T, Omote Y, Minami N, Hayashi YK, Nishino I, Abe K: Exome sequencing as a diagnostic tool to identify a causal mutation in genetically highly heterogeneous limb-girdle muscular dystrophy. *J Hum Genet.* 58(8): 564-565, 2013
- Liang WC, Hayashi YK, Ogawa M, Wang CH, Huang WT, Nishino I, JongYJ: Limb-girdle muscular dystrophy type 2I is not rare in Taiwan. *Neuromuscul Disord.* 23(8): 675-681, 2013
- Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, Miyake N, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Osaka H, Yamashita S, Ohya T, Sakamoto Y, Koshimizu E, Imamura S, Yamashita M, Ogata K, Shiina M, Bryson-Richardson RJ, Vaz R, Ceyhan O, Brownstein CA, Swanson LC, Monnot S, Romero NB, Amthor H, Kresoje N, Sivadorai P, Kiraly-Borri C, Haliloglu G, Talim B, Orhan D, Kale G, Charles AK, Fabian VA, Davis MR, Lammens M, Sewry CA, Manzur A, Muntoni F, Clarke NF, North KN, Bertini E, Nevo Y, Willichowski E, Silberg IE, Topaloglu H, Beggs AH, Allcock RJ, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Laing NG: Mutations in KLHL40 Are a Frequent Cause of Severe Autosomal-Recessive Nemaline Myopathy. *Am J Hum. Genet* 93(1):6-18, 2013.
- 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
- Keduka E, Hayashi YK, Shalaby S, Mitsuhashi H, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: *In Vivo* Characterization of Mutant Myotilins. *Am J Pathol.* 180(4): 1570-1580, Apr, 2012.
  - Tsuburaya RS, Monma K, Oya Y, Nakayama T, Fukuda T, Sugie H, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Acid phosphatase-positive globular inclusions is a good diagnostic marker for two patients with adult-onset Pompe disease lacking disease specific pathology. *Neuromuscul Disord.* 22(5): 389-393, May, 2012.
  - Suzuki S, Hayashi YK, Kuwana M, Tsuburaya R, Suzuki N, Nishino I: Myopathy associated with antibodies to signal recognition particle: disease progression and neurological outcome. *Arch Neurol.* 69(6): 2012
  - 須藤 章, 林由起子, 佐野仁美, 川村信明, 西野一三, 埜中征哉: *ACTA1* 遺伝子変異を有する重症乳児型ネマリニンミオパチーの兄弟例. *脳と発達.* 45(6):452-456, 2013
  - 猪狩龍佑, 和田 学, 佐藤裕康, 林由起子, 西野一三, 加藤丈夫: 運動ニューロン疾患の臨床像を呈し、VCP 遺伝子変異が明らかになった inclusion body myopathy with Paget's disease of bone and frontotemporal dementia (IBMPFD) の 1 例. *臨床神経学.* 53(6): 458-464, 2013
  - 上山 勉, 仙石錬平, 佐々木正之, 林由起子, 西野一三, 持尾聰一郎, 井口保之: 認知症を併発した valosin-containing protein 遺伝子の新規変異によるミオパチーの進行例. *臨床神経学.* 53(6): 465-469, 2013
- ## 2 : 学会発表
- Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar M, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJN, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH: Genetic Analysis and new gene discovery in nemaline myopathy. American Society of Human Genetics 63<sup>rd</sup> Annual Meeting. Boston, MA, USA, 10.22-10.26, 2013.
    - Endo Y, Motomura K, Hayashi YK, Noguchi S, Nonaka I, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Nishino I: Exome analysis on tubular aggregate myopathy. American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting, Boston, USA (Boston Convention & Exhibition Center), 10.22-10.26, 2013
  - Hayashi YK, Goto K, Noguchi S,

- Matsumoto N, Laing N, North K, Clark N, Nonaka I, Nishino I: Mutation screening of a large cohort of nemaline myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA, 10.1-10.5, 2013
- Behin A, Laforet P, Malfatti E, Pellegrini N, Hayashi YK, Carlier RY, Orlikowski D, DiMauro S, Nishino I, Romero N: Megaconial myopathy presenting as a progressive limb-girdle myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5, 2013
  - Nascimento A, Jou C, Ortez C, Hayashi YK, Nishino I, Olive M, Ferrer I, Colomer J, Paco S, Jimenez-Mallebrera C: Megaconial congenital muscular dystrophy in two children with mutations in the CHKB Gene. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5, 2013
  - Hamanaka K, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I: Useful differential diagnostic markers between congenital myotonic dystrophy and X-linked myotubular myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5, 2013
  - Dastgir J, Rutkowski A, Alvarez R, Cossette S, Yan K, Hoffmann R, Sewry C, Hayashi YK, Moore SA, Goebel H, Bonnemann C, Lawlor MW: Common data elements for muscle biopsy reporting. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5, 2013
  - Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar M, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJN, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH: Whole exome sequencing identifies *KLHL41* mutations as a cause of autosomal-recessive nemaline myopathy. 18<sup>th</sup> International Congress of the World Muscle Society. Asilomar Conference Grounds, CA, USA. 10.1-10.5, 2013
  - Kajino S, Hayashi YK, Ishigaki K, Nonaka I, Osawa M, Nishino I: Fiber type disproportion caused by LMNA mutations. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
  - Noju A, Suzuki M, Ogata K, Yatabe K, Honma Y, Ishihara T, Hayashi YK, Nishino I, Nonaka I, Tamura T, Kawai M: Adult-onset centronuclear myopathy with dynamin 2 (DNM2)



- mutation. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
- Takata M, Suzuki M, Ogata K, Yatabe K, Shigeyama T, Honma Y, Hayashi YK, Nishino I, Nonaka I, Tamura T, Kawai M: Myopathy with tubular aggregates associated with miosis and ophthalmoplegia: a new disease? The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
  - Ishiyama A, Hayashi YK, Kajino S, Komaki H, Sugai K, Sasaki M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Congenital fiber type disproportion with myofibrillar disorganization and altered internal nuclei is caused by RYR1 mutation. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
  - Endo Y, Komaki H, Sasaki M, Nonaka I, Hayashi YK, Nishino I: Familial cases of progressive muscle weakness with rigid spine syndrome. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
  - Uruha A, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: A 19-year old lady with progressive muscle weakness and atrophy. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
  - Hayashi YK: Japanese family phenotypes. NEMALINE MYOPATHY SATELLITE WORKSHOP. Perth, Australia, 10.14, 2012
  - Ishiyama A, Hayashi YK, Kajino S, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Congenital fiber type disproportion with myofibrillar disorganization and altered internal nuclei is caused by RYR1 mutation. 17th International Congress of the World Muscle Society. Perth, Australia, 10.9-10.13, 2012
  - Kajino S, Hayashi YK, Ishigaki K, Nonaka I, Osawa M, Nishino I: Fiber type disproportion caused by LMNA mutations. 17th International Congress of the World Muscle Society. Perth, Australia, 10.9-10.13, 2012
  - 林 由起子, 宮武 聡子, 興水 江里子, 松本 直通, 野口 悟, 西野 一三. ネマリンミオパチーの遺伝子変異解析. 日本人類遺伝学会, 仙台, 11.20-11.23, 2013.
  - 宮武 聡子, 興水 江里子, 林 由起子, Gianina Ravenscroft3, 三宅 紀子, 土井 宏, 鶴崎 美德, 才津 浩智, 小坂 仁, 山下 純正, 大宅 喬, 増澤 祐子, 今村 伸太朗, 山下 倫明, 椎名 政昭, 緒方 一博, 西野 一三, Nigel Laing, 松本 直通. ネマリンミオパチーの新規原因遺伝子 KLHL40 の同定. 日本人類遺伝学会, 仙台, 11.20-11.23, 2013.
  - 林由起子, 本村和嗣, 後藤加奈子, 野口 悟, 宮武聡子, 興水江里子, 松本直通, 西野一三: ネマリンミオパチーの臨床遺伝学的解析. 第54回日本神経

- 学会学術大会，東京，5.29-6.1，2013
- 西野一三. Tubular aggregates を伴う遺伝型筋疾患の原因遺伝子. 第54回日本神経学会学術大会 東京，5.29-6.1，2013
  - Endo Y, Hayashi YK, Komaki H, Nonaka I, Nishino I: Whole Exome Sequencing Analysis on hereditary muscle disease with tubular aggregates. 第55回日本小児神経学会学術集会，大分，5.30-6.1，2013
  - 西野一三：遺伝性筋疾患診断の網羅的遺伝子解析. 第116回日本小児科学会学術集会，広島市（広島市文化交流会館），4.19-4.21，2013
  - 岡崎哲也，小牧宏文，石山昭彦，鋤柄小百合，藤井克則，齋藤貴志，斎藤義朗，中川栄二，須貝研司，佐々木征行，林由起子，西野一三：幼児期発症の遠位型ミオパチーの2例. 第54回日本小児神経学会総会，札幌，5.18，2012
  - 梶野幸子，林由起子，石垣景子，埜中征哉，大澤真木子，西野一三：筋線維タイプ不均等症を呈する LMNA 遺伝子変異例の検討. 第54回日本小児神経学会総会，札幌，5.18，2012

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

## 先天性ミオパチー（臨床医学的研究）

研究分担者：小牧 宏文

共同研究者：石山 昭彦

（独）国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科

### 研究要旨

先天性ミオパチーは乳児期早期に発症する遺伝性筋疾患で、筋病理学所見から複数の病型に分類されている。病理学的な診断が基本となるが、骨格筋画像では病型ごとに筋障害の分布・程度が異なる筋選択性も報告されている。本研究では、本邦における先天性ミオパチーの病型頻度・臨床的特徴を明らかにすることを目的とし、診断基準作成を視野に入れている。先天性ミオパチーの臨床的特徴を明らかにし、診断基準を作成するにあたり、骨格筋画像をもとにしたデータベース化をはかり複数施設からの登録を可能とするためのオンライン画像登録システムの体制整備を行った。そのシステムを用い、単施設から 56 例の骨格筋画像を臨床、検査所見とあわせて登録し、各病型の骨格筋画像データシート作成を行った。複数施設からの症例蓄積へと発展させ、臨床的特徴をより明確とし診断基準作成へとすすめ、臨床管理上での問題点を明らかにしていく。

### A：研究目的

先天性ミオパチーは生直後あるいは乳児期早期より全身の筋緊張低下、発達遅滞、呼吸・哺乳障害などを示す遺伝性筋疾患で、筋病理所見の特徴からいくつかの病型に分類されている。病型が複数にわたり病型ごとに臨床症状が異なること、病型ごとに複数の原因遺伝子の存在が知られており、さらに原因不明である例も多いため、診断基準やガイドライン作成は困難を極める。本研究では先天性ミオパチーの各病型の頻度、診断や臨床管理上での問題点を明らかにし、診断基準作成を行うことを目的としている。

先天性筋疾患の骨格筋画像では、筋ごとに障害の程度が異なる筋の選択性が報告されているが、病型または進行の程度により判断が困難な例も存在する。診断基準作成を目指すにあたり、より客観的な評価法・所見である骨格筋画像に着目し、臨床所見、検査所見、筋病理所見、分子遺伝学的解析との統合から、診断基準作成にあたり必要かつ適正な項目を検討していく。

### B：研究方法

全国の診療施設の協力をあおぎ多数の画像症例や臨床情報データの収集を行うため、

(独) 国立精神・神経医療研究センターの脳病態統合イメージングセンターが開発・提供する、画像情報を統合的に Web 上で閲覧可能なオンラインサポートシステム IBISS (Integrative Brain Imaging Support System)を用いた。骨格筋画像登録にあたり、倫理委員会への申請を行い、承認を得たうえで登録システムを確立した。骨格筋画像登録とともに、臨床、検査、病理、分子遺伝学的解析結果などを記入するデータシート作成を行った。

このシステムを用い 2005 年 1 月から 2013 年 12 月までに当センターで精査が行われた症例のうち、筋病理学または遺伝学的な解析により疾患名が確定した 56 例の画像登録を行った。各症例を病型ごとに分類し下肢骨格筋画像の解析が可能であった MRI 画像 45 例、CT 画像 48 例の画像登録を行った。罹患筋の選択性と筋障害の程度の解析は、萎縮・脂肪変性なしと、50%未満または 50%以上萎縮・変性ありの 3 群に分けて分類を行い、各病型で 6 割以上の症例で萎縮・変性を認める筋を、筋障害の選択性部位として採用した。これによる画像ごとでの筋選択性のデータシートを作成し、また診断年齢、血清 CK 値、側弯症の有無をもあわせて登録し、病型間での特徴を検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究において使用するすべてのヒト検体から得られた情報はいずれも疾患の確定診断のために筋病理、生化学、免疫学的ならびに遺伝子レベルでの解析が必要でありかつ患者および家族もこれを希望し、患者および家族の了解を得た上で採取した組織（生検・剖検筋、皮膚、血球など）を用いて得られたもの

であり、かつ(独)国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認された所定の承諾書を用いて、患者あるいはその親権者から遺伝子解析を含む研究使用に対する検体の使用許可（インフォームド・コンセント）を得たものである。遺伝子解析に関しては「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たものである。これら情報を使用するに当たってはプライバシーを尊重し、匿名化した上で使用する。

また骨格筋画像において得られた情報も、「疫学調査研究に関する倫理指針」に準じて行われ、本研究では個別のインフォームド・コンセントを得ることは計画していないが、インフォームド・コンセントを得ずに本研究を実施可能とする根拠は、収集する MRI 画像情報は過去に診断や経過観察など診療のために得られた診療録情報の一部であり、本研究のために新たに患者から資料や情報収集することはなく、疫学研究の倫理指針（平成 19 年 8 月 16 日全部改正）の「第 3 インフォームド・コンセント等 1. 研究対象者からインフォームド・コンセントを受ける手続等」の「(2) 観察研究を行う場合 [2] 人体から採取された資料を用いない場合 イ. 既存資料のみ用いる観察研究の場合」に該当することにあたり、同倫理委員会でも承認が得られている。

また、本研究で得られた研究成果はすべて公開する。

#### C : 研究結果

先天性ミオパチーの確定診断がなされた 56 例 (MRI 画像 45 例、CT 画像 48 例) の画像登録を行いオンラインでの参照システムを確立した。この登録データを用いた解析に

より、セントラルコア病、*DNM2*変異が確定している中心核ミオパチー等では筋選択性が明瞭であり、画像上での症例間の相違も少なかった。またセントラルコア病では大腿直筋が腫大する所見を全例に認める等、特徴的な所見も認め進行した例でもその所見を保っていた。ネマリンミオパチー、先天性筋線維タイプ不均等症では、筋選択性として病型内で一様でないものの、各病型とも数種類への細分類が可能で原因遺伝子との関連性が示唆された。血清CK値はいずれの病型でも正常下限から低値であり、病型間での比較もほぼ近似していた。側弯症は各病型で28~67%といずれの病型でも認めていた。

#### D : 考察

先天性ミオパチーの病型によって、骨格筋画像の筋選択性の所見の有用性が高い病型、そのみでは鑑別診断に不十分な病型が存在した。単一遺伝子が原因である病型では明瞭な筋選択性を認め、複数の原因遺伝子を認める病型ではそのパターンも複数認めており、遺伝子ごとでの関連性が示唆された。全例で遺伝子解析が実施されているわけではなく、因果関係を証明するに至っていないが、将来的に診断のための参考ツールとしての正確なデータベースの役割を担う可能性を考慮すると、これらの症例の遺伝子解析は必須である。

実際の診断基準作成にあたっては、その他の臨床所見、検査所見との組み合わせが必要であると考えられるが、血清CK値や側弯症の有無は先天性ミオパチーとしての診断に重要であるものの、病型分類にあたっての鑑別での有用性は低い。骨格筋画像所見と臨床、検査所見のいずれの組み合わせが、先天性ミオパチーの診断、病型分類に適切かは、更なる

検討をすすめる必要がある。

骨格筋画像の登録は、現時点では単施設での登録・解析にとどまるが、オンラインシステムの利点を用いることで複数施設での症例蓄積を行い、先天性ミオパチーの骨格筋画像データベースを確立し、臨床、検査、病理、遺伝学的情報との統合を行っていくことが、適正な診断基準の作成への有用な手がかりになると考える。

#### E : 結論

先天性ミオパチーの骨格筋画像 Web 登録によるインフラ整備を行い、骨格筋画像を主体にしたデータベースとして単施設での画像登録、解析を行った。筋病理所見、分子遺伝学的な基礎医学分野での病態解析との連携をはかりつつ、臨床的な視点から先天性ミオパチーの骨格筋画像所見の有用性を明らかにし、診断基準作成や診断ツールとして活用されることが期待される。

#### F : 健康危険情報

とくになし

#### G : 研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

##### 1 : 論文発表

Takeuchi F, Yonemoto N, Nakamura H, Shimizu R, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Nishino I, Kawai M, Kimura E, Takeda S. Prednisolone improves walking in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients. J Neurol. In press.

Nakamura H, Kimura E, Mori-Yoshimura M, Komaki H, Matsuda Y, Goto K, Hayashi

- YK, Nishino I, Takeda SI, Kawai M. Characteristics of Japanese Duchenne and Becker muscular dystrophy patients in a novel Japanese national registry of muscular dystrophy (Remudy). *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:60.
- Goto M, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto YI. MELAS phenotype associated with m.3302A>G mutation in mitochondrial tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) gene. *Brain Dev.* 2013 Apr 9. [Epub ahead of print]
- 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.* 2013; 84:982-8.
- Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K. Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction. *Hum Mutat.* 2013; 34:997-1004.
- Yonekawa T, Komaki H, Saito Y, Takashima H, Sasaki M. Congenital hypomyelinating neuropathy attributable to a de novo p.Asp61Asn mutation of the myelin protein zero gene. *Pediatr Neurol.* 2013; 48:59-62.
- Kawabata T, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Hayashi YK, Nishino I, Momomura M, Kizawa T, Imagawa T, Yokota S. A pediatric patient with myopathy associated with antibodies to a signal recognition particle. *Brain Dev.* 2012;34:877-80.
- Hattori A, Komaki H, Kawatani M, Sakuma H, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I. A novel mutation in the LMNA gene causes congenital muscular dystrophy with dropped head and brain involvement. *Neuromuscul Disord.* 2012;22:149-51.
- Sukigara S, Liang WC, Komaki H, Fukuda T, Miyamoto T, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Hayashi YK, Sugie H, Sasaki M, Nishino I. Muscle glycogen storage disease 0 presenting recurrent syncope with weakness and myalgia. *Neuromuscul Disord.* 2012;22:162-5.

## 2 : 学会発表

- Ishiyama A, Hayashi Y, Kajino S, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Congenital fiber type disproportion with myofibrillar disorganization and altered internal nuclei is caused by RYR1 mutation. The 11th annual scientific meeting of the Asian Oceanian mycology Center. Kyoto, June 6-8, 2012.

Akihiko Ishiyama; Yukiko Hayashi;

Sachiko Kajino; Hirofumi Komaki; Takashi Saito; Yoshiaki Saito; Eiji Nakagawa; Kenji Sugai; Masayuki Sasaki; Satoru Noguchi, Ikuya Nonaka; Ichizo Nishino: Congenital fiber type disproportion with myofibrillar disorganization and altered internal nuclei is caused by RYR1 mutation. 17th international world muscular society congress. Perth, Oct 9-13, 2012.

石山昭彦、小牧宏文、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、佐々木征行：福山型先天性筋ジストロフィーにおける骨格筋画像。第 55 回日本小児神経学会総会、大分、5/29-6/1.2013

青木雄介、小牧宏文、石山昭彦、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、佐々木征行：Duchenne 型筋ジストロフィーにおける脳梗塞発症の危険因子に関する検討。第 55 回日本小児神経学会総会、大分、5/29-6/1.2013

青木雄介、小牧宏文、竹下絵里、石山昭彦、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、林由起子、西野一三、佐々木征行：中枢神経病変を認めない、フクチン遺伝子変異による先天性筋ジストロフィーの一例。第 59 回日本小児神経学会関東地方会、神奈川、9/21.2013

米川貴博、小牧宏文、齋藤祐子、大矢寧、石山昭彦、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、西野一三、橋口昭大、高嶋博、佐々木征行：MPZ 遺伝子の p.Asp61Asn ヘテロ接合性変異は先天性髄鞘形成不全性ニューロパチーと Charcot-Marie-Tooth type 1 の原因となる。第 54 回日本神経病理学会総会。東京、

4/24-4/26.2013

仲村貞郎、石山昭彦、米川貴博、小牧宏文、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、佐々木征行：脊髄性筋萎縮症における末梢神経伝導検査の検討。第 43 回日本臨床神経生理学会学術大会。高知、11/7-11/9.2013

**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

## 筋チャネル病の遺伝子解析および病態解析

研究分担者：高橋 正紀<sup>1)</sup>

共同研究者：古田 充<sup>1)</sup>、穀内洋介<sup>1)</sup>、久保田智哉<sup>1)</sup>、中森雅之<sup>1)</sup>、  
松浦 徹<sup>2)</sup>、木下正信<sup>3)</sup>、佐々木良元<sup>4)</sup>、大野欽司<sup>5)</sup>、

- 1) 大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学
- 2) 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 脳神経内科学
- 3) 首都大学東京 健康福祉学部
- 4) 三重大学医学部附属病院 神経内科
- 5) 名古屋大学大学院 医学系研究科 神経遺伝情報学

### 研究要旨

骨格筋チャネル病の診断向上には、診断確定症例の臨床情報・検査所見蓄積が重要である。全国から依頼された症例について遺伝子解析を行った。未報告の変異については、真に疾患変異であることを証明し病態を理解するため、チャネル機能の電気生理学的解析を行い、コンピューターシミュレーションにより症状との関連を検討した。さらに、臨床診断が周期性四肢麻痺とされている症例の半数以上では、原因となる遺伝子異常が同定されないことから、周期性四肢麻痺について、次世代シーケンサによる解析を行い、新規原因遺伝子（Kir3.4 サブユニットをコードする *KCNJ5* 遺伝子）を同定した。また、iPS 細胞を用いた病態研究・治療薬スクリーニングを目指すため、再生医療実現拠点ネットワークプログラム共同研究拠点に、患者検体を提供した。

### A：研究目的

骨格筋の電氣的興奮・収縮などに不可欠なイオンチャネルの遺伝子異常が周期性四肢麻痺、ミオトニーなどの疾患の原因となることが判明した。これらは「チャネル病」と総称される疾患に含まれる。これら骨格筋チャネル病は、疾患として気づかれていない軽症例から、

筋萎縮・筋力低下を呈する重症例までである。さらに、専門医であっても経験することが稀で、診断・治療などに困難を伴うことが多い。我々の21年度の調査から、遺伝子診断施行率が低く確定診断例が非常に少ないこと、臨床徴候（特にミオトニー症候群）に対する認識が低く見逃されている可能性のあることが浮



き彫りになった。そこで、診断確定症例を増やし、臨床情報・電気生理検査所見を蓄積することにより、より精度の高い診断基準・検査指針の策定につなげることを目的とした。

また、特に原因となる遺伝子異常が同定されないことの多い低カリウム性周期性四肢麻痺について、次世代シーケンサによる網羅的解析を精力的に行い、原因遺伝子を同定することも目的とした。

iPS細胞を用いた病態研究・治療薬スクリーニングを目指すため、再生医療実現拠点ネットワークプログラム共同研究拠点「疾患特異的 iPS 細胞を活用した筋骨格系難病研究」班に、患者検体を提供し、疾患特異的 iPS 細胞樹立を行うことも目的とした。

## B：研究方法

### 遺伝子および電気生理による診断確定

全国から共同研究として依頼された筋チャンネル病(周期性四肢麻痺、非ジストロフィー性ミオトニー症候群など)疑いの症例について、既知の原因遺伝子 (*SCN4A*, *CACNA1S*, *CLCN1*, *KCNJ2*, *KCNJ18*) についてサンガーシーケンス解析を施行した。報告のない変異が見つかった場合には、培養細胞 (HEK293) に変異チャンネルを発現させ、パッチクランプ法でチャンネルの電位依存性などの機能に異常が生じているかどうかを確認した。

### 新たな原因遺伝子の探索

既知の原因遺伝子に変異を認めない周期性四肢麻痺症例のうち 5 例を選び、次世代シーケンサによるエクソーム解析を行い、原因遺伝子の同定を試みた。具体的には、Sure Select Human All Exon v.2 (Agilent) でゲノム DNA から全エクソームを濃縮し、ライブ

ラリを調整した後、SOLiD4 システムで配列情報を取得した。162 のイオンチャンネル遺伝子を疾患原因候補として解析した (大野欽司班員による)。

見出された変異チャンネルをツメガエル卵母細胞へ RNA を注入し発現させ、チャンネル電流を二電極膜電位固定法にて解析し、チャンネル機能の異常が認められるかどうか検討した。

### 疾患特異的 iPS 細胞樹立のための試料提供

低カリウム性周期性四肢麻痺および筋チャンネル病の関連疾患である筋強直性ジストロフィーについて、患者由来線維芽細胞から iPS 細胞の樹立を、国立精神神経医療研究センター 神経研究所 荒木敏之部長のもとで行った。

### (倫理面への配慮)

患者の遺伝子に関わる研究、患者情報・組織を用いた研究については、それぞれ大阪大学ヒトゲノム研究審査委員会、大阪大学医学部・医学部附属病院倫理委員会にて承認済みである (下記一覧)。同意を文書にて得て、研究への参加は患者の自由意思に基づくこと、同意の撤回が自由にできること、連結可能匿名化を行い個人情報保護に最大限の配慮をすることなど「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」などを遵守し行った。

### 承認状況

「神経・筋チャンネル病の遺伝子解析」 大阪大学研究倫理審査委員会 平成 16 年初版承認、2012 年 4 月 3 日最新版承認

「本邦における筋チャンネル病の実態に関する研究」 大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会 2009 年 8 月 13 日承認

「筋疾患患者からの人工多能性幹細胞(iPS 細

胞)樹立とそれを用いた病態解析・治療法探索」 大阪大学医学部倫理審査委員会 2011年9月5日承認

「神経疾患患者からの iPS 細胞の樹立とそれを用いた疾患解析に関する研究」 大阪大学医学部倫理審査委員会 2012年4月25日承認

## C : 研究結果

### 遺伝子診断および診断基準改訂

平成 24・25 年度の 2 年間の間に、大阪大学のみに 30 例以上の遺伝子解析を行った。

*CLCN1* 複合ヘテロ変異により重症化したトムゼン型先天性筋強直症（優性遺伝性）や *SCN4A*, *CLCN1* の両方に新規変異が見出された、高カリウム性周期性四肢麻痺疑い例、その他新規変異など、貴重な症例が多く見出された。研究協力者の三重大学 佐々木良元助教のもとでも遺伝子解析を行い、情報交換するとともに、両者の遺伝子変異リストを Web へ公開するなど、情報発信に努めた。

さらに、前身の「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班」によって作成された診断基準の改訂を行い、日本神経学会の承認を得た（2013年4月15日）。この診断基準も Web へ公開し、情報発信に努めた。

### 新たな原因遺伝子の探索

次世代シーケンサで解析し、162 のイオンチャンネル関連遺伝子を候補として検討したところ、G タンパク共役型内向き整流性 K チャンネルを構成する Kir3.4 サブユニットをコードする *KCNJ5* にミスセンス変異 (p. G387R) を認めた。

Kir3.4 タンパクが心筋・骨格筋においても発現していることを Immunoblotting によって確認した。ツメガエル卵母細胞に cRNA を注入しチャンネル電流を解析したところ、Kir2.1 との共発現では Kir3.4 は内向き整流電流を抑制し、変異タンパクでより強い抑制を認めた。さらに、本邦における 3 つの ATS コHORT における *KCNJ2* 変異のない 21 例の ATS のゲノムを解析したところ 1 例に *KCNJ5* の変異を見出した。

### 疾患特異的 iPS 細胞樹立のための試料提供

低カリウム性周期性四肢麻痺および筋強直性ジストロフィーについて、患者由来線維芽細胞から iPS 細胞の樹立を、国立精神神経医療研究センター 神経研究所 荒木敏之部長のもとで行った。すでに分化細胞を用いた RNA などの解析を開始している。

## D : 考察

チャンネル病の遺伝子解析を行い、新規変異を含む遺伝子異常を同定した。全国にはまだまだまだ確定診断のできていない患者が存在することが予想される。今後、効率的な遺伝子解析、未知の変異・原因遺伝子の同定を行うことが求められる。

周期性四肢麻痺では欧米に比して既知の変異が認められる割合が低かったことから、班員である名古屋大学の 大野欽司教授と次世代シーケンサによる解析を行った。その結果、*KCNJ5* は周期性四肢麻痺の新たな原因遺伝子と考えられた。Andersen-Tawil 症候群の原因遺伝子が構成する Kir2.1 に対する抑制作用は心臓・骨格筋両者の病態をうまく説明できる。また、Kir2.X の電流量の調整という Kir3.4 の骨格筋における新たな生理作用が示

唆された。

再生医療実現拠点ネットワークプログラム共同研究拠点「疾患特異的 iPS 細胞を活用した筋骨格系難病研究」班との連携が進んでいくことも特筆すべき成果であると考えられる。今後、薬剤スクリーニング系等の構築に活用することが期待される。

#### E : 結論

本邦における骨格筋チャンネル病の遺伝子解析を積極的に行い、一部はチャンネル機能の解析まで行い疾患変異であること確定した。診断未確定患者が多く存在することから、今後はさらに効率的な遺伝子解析の体制が求められる。また、周期性四肢麻痺の次世代シーケンサを用いた解析を行い、新規原因遺伝子の同定という特筆すべき成果があったが、その過程で心臓のチャンネル病の研究者と共同研究体制が構築されたことは、今後の研究の発展につながると考えられる。また、再生医療実現拠点ネットワークプログラム共同研究拠点との共同により、今後の創薬研究につながる疾患特異的 iPS 細胞の樹立に寄与することができた。

#### F : 健康危険情報

なし

#### G : 研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

##### 1 : 論文発表

Yoshinaga Y, Sakoda S-I, Good JM, Takahashi MP, Kubota T, Arikawa-Hirasawa E, Nakata T, Ohno K, Kitamura T, Kobayashi K, Ohtsuka Y. A novel

mutation in SCN4A causes severe myotonia and school-age-onset paralytic episodes. *J Neurol Sci.* 2012; 315(1-2):15-9.

Suenaga K, Lee KY, Nakamori M, Tatsumi Y, Takahashi MP, Fujimura H, Jinnai K, Yoshikawa H, Du H, Ares M Jr, Swanson MS, Kimura T. Muscleblind-like 1 knockout mice reveal novel splicing defects in the myotonic dystrophy brain. *PLoS One.* 2012;7(3):e33218.

Kokunai Y, Goto K, Kubota T, Fukuoka T, Sakoda S, Ibi T, Doyu M, Mochizuki H, Sahashi K, Takahashi MP. A sodium channel myotonia due to a novel SCN4A mutation accompanied by acquired autoimmune myasthenia gravis. *Neurosci Lett.* 2012; 519(1):67-72.

Charizanis K, Lee K-Y, Batra R, Goodwin M, Zhang C, Yuan Y, Shiue L, Cline M, Scotti MM, Xia G, Kumar A, Ashizawa T, Brent Clark H, Kimura T, Takahashi MP, Fujimura H, Jinnai K, Yoshikawa H, Gomes-Pereira M, Gourdon G, Sakai N, Nishino S, Ares Jr M, Darnell RB, Swanson M. Muscleblind-like 2 mediated alternative splicing in the developing brain and dysregulation in myotonic dystrophy. *Neuron* 2012; 75(3):437-50.

Oana K, Oma Y, Suo S, Takahashi MP, Nishino I, Takeda S, Ishiura S. Manumycin A corrects aberrant splicing of Clcn1 in myotonic dystrophy type 1 (DM1) mice.

Sci Rep. 2013;3:2142.

Koebis M, Kiyatake T, Yamaura H, Nagano K, Higashihara M, Sonoo M, Hayashi Y, Negishi Y, Endo-Takahashi Y, Yanagihara D, Matsuda R, Takahashi MP, Nishino I, Ishiura S. Ultrasound-enhanced delivery of Morpholino with Bubble liposomes ameliorates the myotonia of myotonic dystrophy model mice. Sci Rep. 2013; 3:2242.

Kokunai Y, Nakata T, Furuta M, Sakata S, Kimura H, Aiba T, Yoshinaga M, Osaki Y, Nakamori M, Itoh H, Sato T, Kubota T, Kadota K, Shindo K, Mochizuki H, Shimizu W, Horie M, Okamura Y, Ohno K, Takahashi MP. A Kir3.4 mutation causes Andersen-Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1. Neurology 印刷中

佐々木良元、高橋正紀、穀内洋介、平山正昭、衣斐 達、富本秀和、望月秀樹、佐橋 功 骨格筋型塩化物イオンチャンネル遺伝子 (CLCN1) の複合ヘテロ接合体変異で重症化した Thomsen 病 臨床神経学 2013;53(4): 316-319

久保田智哉 高橋正紀 骨格筋チャンネル病の最新知見—ミオトニー症候群と周期性四肢麻痺を中心に 医学のあゆみ 2013;245(9): 732-739.

高橋正紀 周期性四肢麻痺 今日の診断指針 2014年版 印刷中

## 2 : 学会発表

(シンポジウム・招待講演)

Takahashi MP. Molecular mechanisms in myotonic syndromes. June 7, 2012, L'Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC)-CNRS UMR 7104 - Inserm U 964 Illkirch フランス

Takahashi MP. RNA mis-splicing in myotonic disorders. The 9th Japanese-French Symposium for 'muscular dystrophy' Sep 7, 2012 東京

(一般発表)

穀内 洋介, 紀 嘉浩, Li Moyi, 伊藤 英樹, 中森 雅之, 木村 卓, 松村 剛, 藤村 晴俊, 貫名 信行, 堀江 稔, 井本 敬二, 石浦 章一, Maurice Swanson, 佐古田 三郎, 高橋 正紀, 望月 秀樹 筋強直性ジストロフィーにおける心筋型 Na チャネルのスプライシング異常と心伝導障害 第 53 回日本神経学会学術大会 2012 年 5 月 24 日 東京 (東京国際フォーラム)

末永 浩一, 木村 卓, Kuang-Yung Lee, 中森 雅之, 高橋 正紀, 藤村 晴俊, 陣内 研二, 久保 秀司, 玉置(橋本) 知子, Manuel Ares, Maurice Swanson, 芳川 浩男 筋強直性ジストロフィー症における中枢神経スプライシング異常およびその分子機序の解明 第 53 回日本神経学会学術大会 2012 年 5 月 25 日 東京 (東京国際フォーラム)

佐々木良元, 高橋正紀, 穀内洋介, 平山正昭,