

## 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「ヒトゲノム解析研究に関する共通指針」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 骨格筋レポジトリー約 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, Jong YJ: 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), 110.1-10.5,2013
  - 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, 輿水 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, 輿水 江里子, 林 由起子, Gianina Ravenscroft<sup>3</sup>, 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 伸太郎, 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, 輿水江里子, 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