

異未確定例は次世代型シーケンサーによるターゲットシーケンスにより変異スクリーニングを行った。既知原因遺伝子に変異の見いだされなかった例は国際共同研究チームの一員として全エクソーム解析を行い、新規疾患原因遺伝子の同定を試みた。原因遺伝子を同定しえた例について、臨床・病理学的特徴を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究において使用するヒト試料は、共同研究施設である NCNP 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利用に対する検体の使用許可を得たものを用いた。

C. 研究結果

ネマリンミオパチー280例中、*ACTA1*変異は15.4%に認められ、その74%が孤発性の乳児期重症型であったが、常染色体優性の遺伝形式をとる軽症家系も認められた。常染色体劣性の遺伝形式をとるネマリンミオパチーの原因遺伝子 *NEB* には、フレームシフト変異が多く認められたが、片方のアレルのみの変化も多く、さらなる解析が必要であった。また、全エクソーム解析で見いだした新たな原因遺伝子 *KLHL40*、*KLHL41*、他について変異スクリーニングを行った結果、*KLHL40*には日本人患者で共通変異が存在し、本邦乳児重症型ネマリンミオパチーの原因として *ACTA1*に次いで頻度の高い原因遺伝子であることを明らかにした。一方、*KLHL41*変異例は1例も認められなかった。

先天性ミオパチーの中で、ネマリンミオパチーに次いで頻度の高い先天性筋線維不均等症と診断された症例の中に、*LMNA*変異例を見いだし、報告した。

D. 考察

ネマリンミオパチーは臨床遺伝学的に多彩であり、次世代シーケンサーを活用することにより、効率よく診断が可能となる。これまでの網羅的変異解析にもかかわらず、未だ60%の例で原因遺伝子が判明しておら

ず、今後、新規原因遺伝子の同定も含め、さらなる解析が必要である。

E. 結論

本邦ネマリンミオパチーの遺伝学的背景を明らかにした。今後、さらなる解析方法の工夫をし、疾患の全容を明らかにすることにより、詳細な病態や治療法の開発を含めた研究を進展させていく必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Gupta VA, et al. 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
- Yonekawa T, et al. Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 84 (9) : 982-988, 2013
- Liang WC, et al. Limb-girdle muscular dystrophy type 2I is not rare in Taiwan. *Neuromuscul Disord* 23 (8) :675-681, 2013
- Ravenscroft G, et al. Mutations in *KLHL40* Are a Frequent Cause of Severe Autosomal-Recessive Nemaline Myopathy. *Am J Hum.* 93(1) : 6-18, 2013
- Murakami N, et al. Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood. *Neuromuscul Disord.* 23 (5) : 441-444, 2013.
- 須藤 章, 他. *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
- 林由起子: 筋ジストロフィー. 検査と技術. 41 (6) : 448-453, Jun, 2013

- 林由起子：Emery - Dreifuss 型筋ジストロフィー. 筋疾患診療ハンドブック. (監修：内野 誠, 編集：青木正志), 中外医学社, 東京, pp160-164, Jun, 2013

2. 学会発表

- Hayashi YK, et al. FHL1 Myopathies in Japan. 199th ENMC International Workshop, Naarden, The Netherlands (NH Naarden Hotel), 6. 8, 2013
- 林由起子：骨パジェット病および前頭側頭型痴呆をともなう封入体ミオパチー (IBMPFD). 第54回日本神経学会学術大会, 千代田区 (東京国際フォーラム), 5. 31, 2013
- 林由起子, 他. 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, 千代田区 (東京国際フォーラム), 5. 29, 2013
- 林由起子：Myofibrillar myopathy. 第54回日本神経学会学術大会, 千代田区 (東京国際フォーラム), 5. 30, 2013
- Hayashi YK, et al. Mutation screening of a large cohort of nemaline myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomar, USA (Asilomar Conference Grounds), 10. 2, 2013

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

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(難病関係研究分野))
分担研究報告書

「ミトコンドリアミオパチーの原因解明」

研究分担者 後藤 雄一 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 部長
研究協力者 松本 直道 横浜市立大学 教授
竹下 絵里 国立精神・神経医療研究センター病院 医師
佐藤有希子 国立精神・神経医療研究センター病院 認定遺伝カウンセラー

研究要旨

ミトコンドリアミオパチーの約60%で原因が確定しておらず、そのほとんどが核DNAにコードされた核遺伝子と予想されている。1500余りのミトコンドリア関連タンパクが同定され、これまでに約200のタンパクの遺伝子に変異が報告されている。このような状況で、次世代シーケンサーで網羅的に原因遺伝子を検索することは研究的、臨床的に意義が高い。今年度は、約800のミトコンドリア関連タンパクをコードする遺伝子配列を調べるために、7368箇所の領域をキャプチャーするHaloplex®を用いた解析を生化学的に呼吸鎖酵素複合体 I 機能低下症の2症例に試みた。その結果、それぞれに病因の可能性の高い遺伝子変異が、それぞれコンパウンドヘテロ接合体とホモ接合体で見いだされ、そのうち1例では表現系回復実験を行い病因と確定した。この方法の有用性が確認できた。今後はミトコンドリア機能異常が確定している症例についての解析を継続させるとともに、臨床診断への応用も視野に入れた活用法を追求する。

A. 研究目的

ミトコンドリアはATPを供給するオルガネラ（細胞内小機器官）で、その機能障害が引き起こす疾患としてミトコンドリアミオパチーがある。ミトコンドリアミオパチー患者はミトコンドリアDNA(mtDNA)もしくは核DNAコードのミトコンドリア関連遺伝子に病因変異を有する。従来の分子遺伝学的検査の大部分はmtDNAを対象としているため、核DNAコードの遺伝子に病因変異が確定している症例はそれほど多くない。実際、核DNAコードのミトコンドリア関連タンパク質は1500個以上に及び、それらの遺伝子すべてに疾患の原因があると推定され、今までに約200個の遺伝子に病的変異が同定されているのみである。

現在、ミトコンドリアミオパチー患者の約60%は病因が不明であり、そのほとんどが核DNAに病因的変異を有すると考えられている。

本研究ではmtDNAに変異を持たない症例について、次世代シーケンサーを用いて核DNAコードのミトコンドリア病関連遺伝子の変異を検索する方法を確立し、具体的に病因変異を特定することを目的とする。

B. 研究方法

1. 検体試料

国立精神・神経医療研究センターの筋レポジトリーには、すでに1500近くのミトコンドリアミオパチー患者の登録がある。臨床的に同病が疑われる患者から採取した凍結骨格筋を用いて、病理学的検査を行い、診断結果を担当医に報告するとともに、残余試料を研究に使用している。本研究では、ミトコンドリア病理異常や機能異常が確認され、欠失や点変異などのmtDNAの病的変異が同定されていない患者の筋組織、もしくは血液からのDNAを使用した。また、一部の患者では、

筋肉組織より樹立した筋芽細胞を解析に用いた。

2. 検体選定

過去 30 年以上の期間に収集した mtDNA に病的変異を持たない患者骨格筋は、おおよそ 1000 検体を保有している。その中で、ミトコンドリア呼吸鎖複合体の活性を測定する生化学検査において服すの呼吸鎖酵素活性低下及びミトコンドリア DNA 由来タンパクの翻訳活性の低下している 2 検体を選定した。患者 1 は 1 ヶ月の男児で Leigh 症候群を呈し、患者 2 は 16 歳の男性で高乳酸血症を呈している。いずれの患者の両親も血族婚ではなかった。

翻訳活性に関しては、エメチンで各 DNA の翻訳活性を抑制した後に、35S メチオニンでラベルした 13 個のミトコンドリアタンパク質を PAGE で検出した (図 1)。

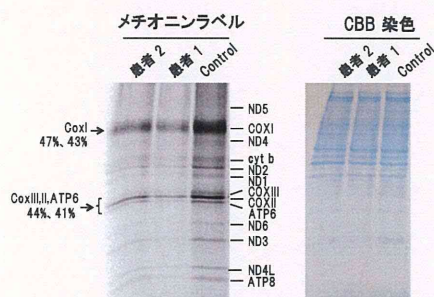


図1 生化学検査の結果 (翻訳活性)

患者由来筋芽細胞を用いて、細胞質の翻訳を停止させた状態で35Sメチオニンを用いてパルスラベルし、ミトコンドリア翻訳活性を検出した。左図はミトコンドリアの翻訳産物を示し、右図は同量のタンパク質が泳動されていることを確認するためのCBB染色像である。患者においてミトコンドリア翻訳活性がコントロールの40-50%に低下していた。

また、骨格筋を用いた呼吸鎖複合体 I の活性がコントロールの約 45%、複合体 III が 40%、複合体 IV が 64% に低下していた。一方、患者 2 においては、呼吸鎖複合体 I の活性はコントロールの 26%、複合体 III が 23%、複合体 IV が 39% に低下していた (図 2)。

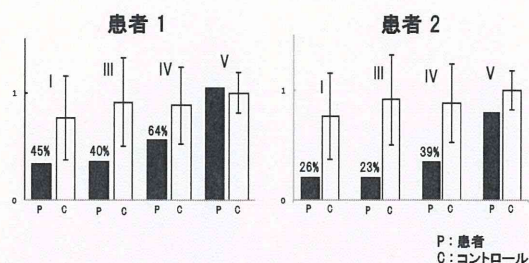


図2 生化学検査の結果 (呼吸鎖複合体酵素活性)

患者の骨格筋を用いた生化学検査において呼吸鎖複合体IVの活性を複合体IIの活性でノーマライズした値を示す。コントロールはミトコンドリア病でない5名の値。検体1、2も複合体I、III、IVの活性低下が認められた。

3. シーケンス対象領域の選択

現在までにミトコンドリアミオパチーの核 DNA コードの病因遺伝子として報告されている約 200 遺伝子に加え、ミトコンドリア病を引き起こす可能性がある遺伝子として既知の病因遺伝子の類縁遺伝子や、遺伝子カスケードの前後に位置すると予想される遺伝子を選定した。さらに酵母のミトコンドリア関連遺伝子との類似性からミトコンドリアでの機能が予測される遺伝子のうち細胞内局在予測プログラム (Mitoprot) によりミトコンドリアへの局在の可能性が高い遺伝子を加え、合計約 800 遺伝子の 7368 領域をターゲットとした。ターゲット領域の抽出は HaloPlex® ターゲットエンリッチメントシステム (Agilent Technologies 社) を用い、添付のプロトコールに従って行った。

4. シーケンス及びその後の解析

次世代シーケンサーは MiSeq (illumina 社) を用いた。データの解析はアメリカ株式会社製のプログラム QCleaner、QMerge を用いて行った。その後の絞り込みは、イントロン領域の除去、同義置換変異の除去、ミスマッピングの除去、リード数が少なく判定不能なデータの除去を行い、公共的な SNP のデータベースを参照するなどして、その作業を行った。

(倫理面への配慮)

国立精神・神経医療研究センター倫理委員

会において、骨格筋の診断とその後の研究使用における研究計画の最初の倫理承認は平成9(1997)年1月であり、その後、倫理ガイドラインの改正や当センターにおける骨格筋管理の実態(培養細胞の追加、骨格筋レポジトリーを集中管理するトランスレーショナル・メディカルセンターの開棟など)に合わせ、平成13(2001)年7月19日、平成21(2009)年5月、平成24(2012)年8月に倫理委員会から承認を得ている。

C. 研究結果

1. Haloplex®を用いたターゲティング

これまで患者で報告のある200近くの遺伝子に加えて、600近くのミトコンドリア関連遺伝子を調べる目的で、総計7368領域をキャプチャーできる用に設計した。僅か2例の結果であるが、マッピングされたリード数は全体の82.3%であった(表1)。さらに、同一領域がマッピングされた数(depth)では、50以上のリード数の領域は、53.9%~54.5%、30以上のリード数の領域は64.2%~65.0%、10以上のリード数の領域は80.5%~81.5%であり、その後の解析に耐える比率であった。

	患者1	患者2
クオリティフィルターをパスしたリードの割合	99.4%	99.3%
上記のリードのうち、マッピングされたリードの割合	82.3%	82.2%
ターゲット領域の数	7368	7368
リードがマッピングされなかったターゲット領域の割合	3.2%	2.5%
10リード以上でカバーされているターゲット領域の割合	86.2%	84.2%
30リード以上でカバーされているターゲット領域の割合	73.4%	69.8%

表1. シーケンスリードのクオリティとターゲット領域のカバー率

2. 病因候補変異の絞り込み

7368の全ターゲット領域で見いだされた変異の数はそれぞれ、6295変異と6261変異であった。そこで、エキソン/スプライシング領域の変異に絞り、同義置換を除き、ミスマッピングの可能性の高いものを除き、リード数が少ないもの(10程度以下)の者を除くことで、それぞれ240変異、243変異に絞

られた(表2)。

サンプル番号	患者1	患者2
年齢・性別	1m Male	16y6m Male
臨床診断	Leigh脳症	高乳酸血症
血族増	なし	なし
複合体活性	8%	20-30%
スーパーコンプレックス	60%	Not tested
解析パイプライン	BWA-GATK	BWA-GATK
キャプチャ方法	Haloplex	Haloplex
ターゲット領域の数	7368	7368
同定された全変異	5640	5534
エクソン/スプライシング領域の変異	1286	1289
同義置換変異を除く	811	818
ミスマッピングの可能性が高いものを除く	249	249
リード数が少なく(10程度以下)	240	243
判定不能なものを除く		
SNP登録ありを除く	16	12

表2 同定された変異と絞り込みの状況

さらに、公共的 SNP データベースや HGMD®を用いて、病的変異か SNP かの検討を行った。公共的 SNP データベースで検索すると、患者1については、登録のない変異が16個、患者2については、12個となった。患者1で見いだされた16個の変異は、いずれもヘテロ変異であった。そのうち同一の遺伝子に2つのヘテロ変異が見いだされた複合体Iサブユニット集合に係わる因子をコードする遺伝子Aは病因である可能性がある。また、患者2についてはSNP登録のない変異を12個見だし、そのうちの2個はホモ変異で存在した。この変異をもつ遺伝子BはミトコンドリアDNAの翻訳に係わるタンパクをコードしており、病因の可能性はある。

3. 遺伝子A(患者1)の病因確定

患者1で同一遺伝子上に2つの変異が確認された遺伝子Aについて、複合ヘテロ変異かどうかを確定できたのは、次世代シーケンサーでの結果であった。図3に示す通り、それぞれのリードに、どちらかの変異が同定された。

遺伝子名	機能	変異	SNP登録
遺伝子A	mtDNAコピー数調節?	① c.T2G: p.M1R	なし
		② c.C5T: p.A2V	なし



個々のリードに、片方の変異が存在することから、複合ヘテロ変異と確定

ともに、SNP登録のない変異であった

図3 患者1の原因遺伝子の有力候補

この遺伝子Aの2ヶ所の変異について、ゲノムDNAとcDNAを用いたサンガー法で変異確認を行ったところ、確かに2つの変異がヘテロで接合性に検出された。また、cDNAシーケンスの結果から、mRNAには質的変化はなく、新たなスプライシング異常などを起こしているものではないことが確認できた。

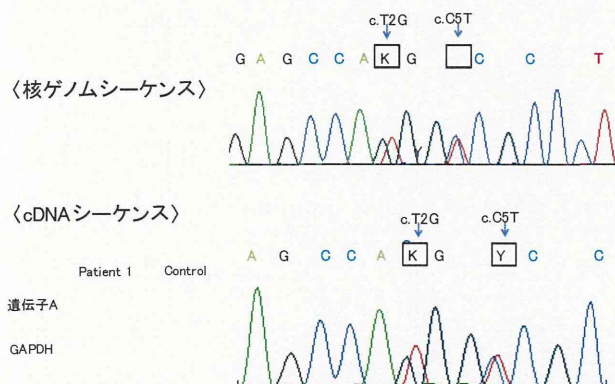
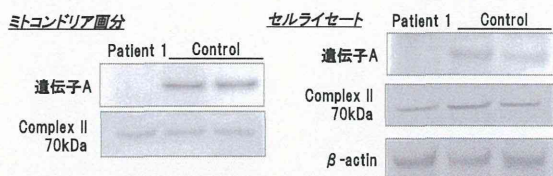


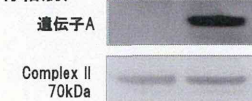
図4 サンガー法で変異の確認

さらに、タンパクレベルでの確認実験として、発現低下している患者由来細胞に正常な配列をもつ発現ベクターを導入して、発現が回復することを確認した。また、遺伝子Aの活性を測定する系を確立し、活性低下が回復することも確認できた。

〈筋芽細胞〉



〈骨格筋〉



患者由来細胞に野生型の遺伝子Aを導入し、患者細胞の表現型が回復することを確認した
→原因遺伝子と確定

図5 遺伝子Aのタンパク質発現

以上から、遺伝子Aの遺伝子変異は患者1の病因であると判定した。

4. 遺伝子Bの病因確定作業

患者2で見いだされた遺伝子Bが病因かどうかの確定作業は現在も継続中である。

D. 考察

ミトコンドリアミオパチーの病因としてすでに報告されている核DNAコードの遺伝子は200近くに昇っている。遺伝子型と表現型の関係は極めて複雑で、臨床症状から調べる遺伝子を選ぶことは困難であるのがミトコンドリア病の特徴である。このような点を考慮すると、多種類のミトコンドリアミオパチー原因核遺伝子を次世代シーケンサーで網羅的に解析することは理にかなっており、すでに欧米でもその戦略での原因遺伝子探索が進められている。

今年度はミトコンドリア関連タンパク質をコードする約800個の遺伝子をHaloplex®を用いたキャプチャー解析の方法で昨年見いだされた2例のうち、その1例の病因確定作業を中心に研究を進めた。

患者1の原因遺伝子候補は、次世代シーケンスの結果から複合ヘテロ接合性とわかり、現在標準的に用いられているサンガー法にて変異を確認した。さらに、タンパクレベルでの病因性の確認のためにレスキュー実験（表現型回復実験）を行い、タンパク量と酵素活性の両方で機能回復を認め、病因と確定した。

網羅的遺伝子解析を行う前提として、生化学的検査等を用いた詳細な機能解析を行って原因遺

伝子の確定できるように、臨床試料を用意しておくことが必要である。まだ最初の一例ではあるが、本研究では機能回復実験が可能な患者試料を確保していることが重要であり、その意味で培養細胞を含めた神経・筋疾患患者約1200例（そのうち、ミトコンドリア病患者症例は約300例）の試料が登録されている国立精神・神経医療研究センターの筋レポジトリーの持つ意味は大きい。

この点は、今後エキソーム解析やホールゲノム解析が次世代シーケンサーを用いて行われるように手法が進化しても、遺伝学的手法だけで病因の確定が困難になることは十分予想できる。したがって、ミトコンドリア機能解析を行う系を確立・運用しておくことが不可欠であり、特に疾患の臨床診断に応用する際には、さらにその重要性が増すと考えられる。

また別のキーとなる問題は、網羅的な解析を行う方法として、エキソーム解析を行うか、本研究で用いた有力な遺伝子群をキャプチャーして解析を行うかの選択である。ミトコンドリア病はそのほとんどがミトコンドリアに関連するタンパク質に原因があると予想され、すでに1500個ほどのミトコンドリア関連タンパク質のデータベースが構築されている。この点を考慮すると、キャプチャー解析を行うことは、次世代シーケンサーから出されるデータを効率的に解析し、病因遺伝子を同定できると考えられる。また、エキソーム解析を行った場合には、偶発的所見についての取り扱いを考慮することが不可欠になる。

E. 結論

本研究はこれまで病因変異の不明であったミトコンドリアミオパチー患者の核DNAコードの原因遺伝子の同定を行うものであり、約800の遺伝子をターゲットしたキャプチャー解析の有用性を示した。今後は機能解析（機能回復実験）が可能な試料をもつ患者を中心に症例を重ねてその研究的意義を高めつつ、臨床の現場にどのように応用させるかについての研究も行うことが肝要と考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 著書、総説

後藤雄一. ミトコンドリア病, 「遺伝医学やさしい系統講義 18 講」, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, pp. 95-111, 2013

後藤雄一. ミトコンドリア病, 「内科学, 第 10 版」, 朝倉書店, 東京, pp. 2339-2342, 2013

2) 原著論文

Ishiyama A, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Itagaki Y, Matsuzaki K, Nakura M, Nishino I, Goto Y, Sasaki M. Unusual exocrine complication of pancreatitis in mitochondrial disease. *Brain Dev* 35:654-659, 2013 August

Goto M, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto Y. MELAS phenotype associated with m. 3302A>G mutation in mitochondrial tRNA-Leu (UUR) gene. *Brain Dev* 36: 180-182, 2014 Feb

2. 学会発表

1) 国際学会

Takeshita E, Mimaki M, Ishii T, Awazu M, Shinjoh M, Hasegawa T, Miki J, Hidaka Y, Motobayashi M, Kumagai E, Goto Y. Novel mitochondrial point mutation (m. 9155A>G) in two patients with chronic renal failure caused by focal glomerular sclerosis. International Congress of Pediatrics 2013, the 27th Congress of the International Pediatric Association, Melbourne, Australia, 8. 24-29, 2013

Ito S, Hirano Y, Nakano K, Goto Y, Ohtani Y, Shimada S, Ishigaki K, Funatsuka M, Oguni H, Osawa M, Nahgata S: The first case of infantile-onset spinocerebellar ataxia in Japan caused by novel autosomal recessive Twinkle/C12orf2 mutations. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11. 6-11. 7, 2013

Matsushima Y, Hatakeyama H, Takeshita E, Kitamura T, Kobayashi K, Yoshinaga H, Goto Y: Leigh-like syndrome associated with calci-

fication of the bilateral basal ganglia caused by mutaitons in mitochondrial poly(A) polymerase. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

Yokota M, Hatakeyama H, Okabe S, Ono Y, Goto Y. Mitochondrial dysfunction is the barrier against cellular reprogramming, but not the maintenance of pluripotency. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

Hatakeyama H, Yokota M, Okabe S, Ono Y, Goto Y. *in vitro* neural modeling of various mitochondrial disorders using patient-derived iPSC cells. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

Hatakeyama H, Yokota M, Okabe S, Ono Y, Goto Y. Molecular pathogenesis and iPSC-cell-based disease modeling of MELAS caused by a mutation in anticodon-stem of *MTTW* gene. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

2) 国内学会

竹下絵里, 石井智弘, 粟津緑, 新庄正宜, 長谷川奉延, 三木純, 日高義彦, 本林光雄, 熊谷悦子, 後藤雄一: 単状糸球体硬化症による慢性腎不全を呈したミトコンドリア DNA9155A>G 変異の 2 例. 第 116 回日本小児科学会総会, 広島, 4. 20, 2013

竹下絵里, 三牧正和, 西野一三, 埜中征哉, 後藤雄一: ミトコンドリア病の遺伝子診断には、long PCR 法、サザンブロット法、全周シーケンス法を用いた解析と総合的な判断が必要である. 第 55 回日本小児神経学会総会, 大分, 6. 1, 2013

後藤雄一. 難病に対する生殖医療の近未来-アタ棚対策の方向性を求めて-. ART FORUM 2013, 大分, 8. 5, 2013

根岸裕, 服部文子, 竹下絵里, 安藤直樹, 伊藤哲哉, 後藤雄一, 齋藤伸治. ミトコンドリア

DNA3697G>A ホモプラスミー変異を認めた Leigh 脳症の 3 同胞例. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 仙台, 11. 23, 2013

三宅紀子, 矢野正三, 後藤雄一, 松本直通. UQCR2 ホモ接合性変異による新規ミトコンドリア呼吸鎖複合体 III 欠損症. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 仙台, 11. 23, 2013

竹下絵里, 三牧正和, 吉田寿美子, 西野一三, 後藤雄一. Leigh 脳症 64 例における原因遺伝子の検討. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 仙台, 11. 23, 2013

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

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(難病関係研究分野))
分担研究報告書

「遺伝性ミオパチーの原因解明へ向けた臨床情報集積と次世代シーケンズを用いた遺伝子解析」

研究分担者 小牧 宏文 (独) 国立精神・神経医療研究センター 病院小児神経科
医長

研究協力者 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
医師

研究要旨 遺伝性ミオパチーの病因は多因性であり、かつ未だ病因不明な例も多く存在する。また遺伝性ミオパチーでこれまでに同定されている原因遺伝子の多くが、NebulinやRYR1などの巨大遺伝子であり、たとえ原因遺伝子が判明している疾患であっても従来のサンガー法で遺伝子診断を行うことは困難な状況であった。我々は臨床医の立場で遺伝子解析を効率良く行うべく、次世代シーケンサー解析へ向けての基礎となる臨床データ集積の基盤作成を行った。

その臨床情報データの集積の中から得られた症例から、中枢病変を伴うミオパチーの一群を見だし、次世代シーケンサー解析を行い、ナンセンス変異を含む病因の可能性の高い遺伝子変異をコンパウンドヘテロ接合体で見いだした。その変異は、ミトコンドリア機能異常を疑わせる所見であり、病因確定のため、生化学的な機能解析を行い、遺伝子と病態についての解明を行っている。

A. 研究目的

遺伝性ミオパチーには新生児期より呼吸障害、哺乳障害を認める乳児重症型から、乳児期以降に筋緊張低下や発育・発達の遅れを示すが、それ以降、歩行を獲得し、非進行性もしくは緩序進行性の経過を示す良性先天型まで、幅広い臨床像を認める。診断は筋病理所見に基づき行われるが、その特徴的所見から多くの病型が存在する。先天的な筋力低下、筋緊張低下を呈するミオパチーとしては、ネマリンミオパチー、セントラルコア病、中心核ミオパチー、ミオチューブラーミオパチーや先天性筋線維タイプ不均等症などが挙げられ、また代謝性疾患でも、ミトコンドリア機能異常による、高乳酸血症、卒中様症状を伴うミトコンドリア病 (MELAS)、赤色ぼろ線維を伴うミオク

ローヌステんかん (MERRF)、慢性進行性外眼筋麻痺症候群 (CPEO)、Leigh脳症等の幾つかの病型が知られる。

原因遺伝子として、ACTA1, NEB, TPM2, TPM3, TNNT1, CFL2, KBTBD13, RYR1, SEPN1, MTM1, DMN2, BIN1, FHL1等の他、ミトコンドリア機能異常関連では、ミトコンドリア遺伝子のみならず核遺伝子での原因遺伝子としてPOLG, TWINKLE, TK2, NDUFS, NDUFV, PDHA1, PDHB, PDHX等の多くの病因が知られている。遺伝性ミオパチーの病因は多因性であるが、その中には未だ病因が不明な例も多く存在する。また、遺伝性ミオパチーでこれまでに同定されている原因遺伝子のうち、NebulinやRYR1などの巨大な遺伝子もあり原因遺伝子が判明している例であっても容易に遺伝子診断を行うことは困難なのが現状である。

そこで我々は臨床医の立場から、次世代シーケンサーをより効率に行うために、遺伝性ミオパチー各病型の基礎となる臨床データの集積を行い、なかでも主観によらない客観的評価が可能な画像所見、とくに骨格筋画像や頭部画像検査を重視して検討することとした。これまでの研究にて遺伝性ミオパチーの病型毎に骨格筋障害の選択性（障害の強い筋とそうでない筋の存在）のパターンが異なる傾向があることが知られており鑑別診断や運動機能解析に役立てられている。また代謝性疾患では、頭部MRIの病的所見の部位や年齢毎での所見が異なることが知られている。骨格筋画像や頭部画像の解析は、病態解明のひとつのツールとして有用と考えられ、多数の症例の画像集積が病態解明に寄与できる可能性が高く、またこの情報集積の中から特徴的な所見を呈する症例群に関しては新規または未知の病態像を示す疾患群である可能性を秘める。このような症例に対し、次世代シーケンサーを行うことで臨床情報を有効に用いた適切な症例選択や各種解析へとすすめられ、今回はその基盤作成を目的とする。

B. 研究方法

- 1) 臨床経過：家族歴、妊娠分娩歴、出生時の状況、合併症、臨床経過等を網羅的に把握する。
- 2) 検査所見：CK値等の生化学的所見、筋電図、末梢神経伝導検査の所見を把握する。
- 3) 筋病理所見：筋生検を行なっている例では病理レポートを参照し、筋病理診断のまとめを把握する。
- 4) 遺伝子：すでに遺伝子解析を行なっている例には、検索した遺伝子名、具体的な変異を把握する。さらに不明な例ではエクソンキャプチャーチップを用いた既知遺伝子変異の解析を実施する。
- 5) 骨格筋画像：IBISSは（独）国立精神・神経医療研究センター内の脳病態統合イメージングセンター（IBIC）が独自に開発・提供するオンラインサポートシステムであり、ID・パスワード認証された

全国の研究参加施設から連結可能匿名化された脳画像・臨床診断情報をHTTPS通信にて収集し、それらの情報を統合的にWeb上で閲覧できるシステムである。それにより研究に必要な画像情報・臨床情報を共有可能な仮想空間を構築することが出来る。本研究では、遺伝性ミオパチーの診断、経過観察など通常の診療の一環として撮影された頭部画像、骨格筋画像を既存の患者臨床情報とともに収集しIBISS上に構築することにより、疾患における臨床画像研究を推進するものである。本研究はIBISS運営推進委員会ですでに承認が得られている。骨格筋画像データは、共同研究者、研究協力者の医療施設において、連結可能匿名化され、個人情報を含まない状態にした上でHTTPS通信を通して収集する。送られた画像および臨床データは、研究代表者によりIBISSにアップロードされる。IBISSは、元画像（DICOMフォーマット）からヘッダを取り除き、画質を落としたJPEG画像に変換して使用するため、他者による論文盗用の防止や、データ量を少なくすることによる通信の高速化、DICOMヘッダからの情報流出の防止等、安全性と利便性を重視した技術である。

（独）国立精神・神経医療研究センター病院からIBISSに登録する場合は、個人情報管理担当者にて連結匿名化を行い、その情報は常に鍵のかかった部屋（病院総合医局）でかつ鍵のついたボックス内に保管することとする。

（倫理面への配慮）

本研究において使用する全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、血球等）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あたっては、プライバシーを尊重し、匿名化した上で使用する。

また、頭部、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。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等の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」に該当し、同倫理委員会でも承認が得られている。

C. 研究結果

1) 臨床情報と画像情報の集積

先天的な筋力低下、筋緊張低下を示すミオパチー群では、全 56 例 (MRI 45 例、CT 48 例) の骨格筋画像登録を行った。この登録情報を用いた解析により、セントラルコア病、中心核ミオパチー等の、原因遺伝子が単一あるいは比較的少数である疾患群では、遺伝子変異の種類と筋選択性としての表現型の相関が明瞭で、画像上の症例間の相違も少なかった。そのような症例群のなかで RYR1 変異を有するセントラルコア病は、大腿直筋が腫大する所見を全例に認めており、進行例や年長例でもその所見を保っている等、経時的な変化の有無についても検討することが可能であった。ネマリニンミオ

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。一方、特異的な所見を呈さない先天性ミオパチーとして分類されている例が 6 例存在したが、いずれも家族歴を有しておらず、また 6 例に共通な特徴的臨床像も認めず、次世代シーケンサーによる解析には至っていない。

代謝性疾患として、ミトコンドリアの機能異常による疾患群の頭部 MRI 画像登録を 26 例で実施した。うち両側基底核病変を有する例が 23 例、うち遺伝子解析が実施され変異同定に至っている例は 9 例あった。これらはすべてミトコンドリア遺伝子上の変異であった。頭部画像所見や遺伝子変異も多様性があり、これらの所見や臨床症状、筋病理所見等を用いた細分類は困難であった。一方で、大脳白質と脳梁に嚢胞性の病変を有する白質障害を認める 3 例が存在し、同一病態を呈していると考えられた。これをひとつの疾患群と考え遺伝子解析へとすすめた。

2) 画像上で特異的な所見を有する群での次世代シーケンサー解析

代謝性疾患として位置づけた症例の頭部画像登録例の中で、大脳白質と脳梁に嚢胞性病変を認める 3 例があり、これをひとつの疾患群と考え、候補遺伝子の検索のため次世代シーケンサーによる解析を行った。その結果、ナンセンス変異を含む病因の可能性が高い遺伝子変異をコンパウンドヘテロ接合体で見いだした。動物実験ではミトコンドリア機能に関連する遺伝子であるとの既報があり、病因確定のため患者検体を用いた生化学的なミトコンドリア機能解析を行い、遺伝子と病態の関連解明を行っている。

D. 考察

遺伝性ミオパチーの病型により、骨格筋画像での筋選択性や頭部画像所見等の有用性が高い病型、それのみでは鑑別や分類に不十分な病型が存在した。なかでも、単一遺伝子が原因である病型では、骨格筋の筋選択性も特異的であり、臨床情報の有用性も高い。このような疾患群では既知遺伝子解析をすすめていくことで、臨床情報から遺伝子変異を推定することも可能となり、将来的に臨床情報の有用性が高まるものと期待される。一方で、代謝性疾患としての遺伝性ミオパチーや先天性筋力低下、筋緊張を呈する群で、遺伝子変異が多様な例では、その表現型、臨床所見も多様である。そのため、何が有用な臨床情報であるかの見極めが遺伝子や病態を含めた更なる解析の鍵となる。今回登録された症例は、全例で遺伝子解析での結論が得られているわけでないため、これまでに当研究で実施しているエクソキャプチャーチップを用いた既知遺伝子変異解析等をすすめることで、各症例の遺伝子変異と臨床型との因果関係についてより確実にしていく必要がある。そのような積み重ねの結果が既知の病型に分類できない新たな疾患群を発見するきっかけとなり新たな疾患群や遺伝子変異の同定に繋がると考えられる。

現在は単施設のみでの臨床情報集積であるが多施設に広げ、登録症例を広げ、症例毎での臨床情報を積み重ね、個々の解析ならびに症例全体としての特徴を明らかにすることで、典型例より逸脱する症例の抽出が可能となり、より効率的な次世代シーケンサーでの解析へとすすめられると考える。

E. 結論

遺伝性ミオパチーの骨格筋、頭部画像所見を主体とした臨床情報集積を行い、次世代シーケンサー解析前のデータベースとして単施設での画像、臨床情報登録を実施した。この登録を行った例の中から、脳画像所見上で特異な所見を有

する症例を見だし、次世代シーケンサーによる解析で、新たな原因遺伝子の解明へと至る例を選定することが可能であった。今後、解析へとすすむ症例の選別に課題は残るが、より効率的な次世代シーケンサーの活用に、臨床情報の適切な利用と、未知の疾患群のなかでの病型分類の必要性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

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.

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.

2. 学会発表

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
林由起子	Emery-Dreifuss型筋ジストロフィー	監修：内野誠，編集：青木正志	筋疾患診療ハンドブック	中外医学社	東京	2013	160-164
後藤雄一	ミトコンドリア病	矢崎義雄 総編集	内科学、第10版	朝倉書店	東京	2013	2339-2342
後藤雄一	ミトコンドリア病	福嶋義光 監修	遺伝医学やさしい系統講義	メディカル・サイエンス・インターナショナル	東京	2013	95-111

雑誌

発表者氏名 (研究分担者名にはアンダーライン):	論文タイトル名.	発表誌名	巻号:	ページ,	出版年
Kajino S, Ishihara K, Goto K, Ishigaki K, <u>Noguchi S</u> , Nonaka I, Osawa M, <u>Nishino I</u> , <u>Hayashi YK</u> .	Congenital fiber type disproportion myopathy caused by LMNA mutations.	J Neurol Sci	(in press)		
Cho A, <u>Hayashi YK</u> , Monma K, Oya Y, <u>Noguchi S</u> , Nonaka I, <u>Nishino I</u> .	Mutation profile of the <i>GNE</i> gene in Japanese patients with distal myopathy with rimmed vacuoles (GNE myopathy).	J Neurol Neurosurg Psychiatry.	(Epub ahead of print)		
Motoki T, Fukuda M, Nakano T, Matsukage S, Fukui A, Akiyoshi S, <u>Hayashi YK</u> , Ishii E, <u>Nishino I</u> :	Fatal hepatic hemorrhage by peliosis hepatis in X-linked myotubular myopathy: A case report.	Neuromuscul Disord.	23(11): 917-921,		2013
Liang WC, <u>Hayashi YK</u> , <u>Ogawa M</u> , Wang CH, Huang WT, <u>Nishino I</u> , JongYJ:	Limb-girdle muscular dystrophy type 2I is not rare in Taiwan.	Neuromuscul Disord.	23(8): 675-681,		2013
Yonekawa T, Komaki H, Okada M, <u>Hayashi YK</u> , Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, <u>Nishino I</u> :	Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy.	J Neurol Neurosurg Psychiatry.	84(9): 982-988,		2013
Murakami N, <u>Hayashi YK</u> , Oto Y, Shiraishi M, Itabashi H, Kudo K, <u>Nishino I</u> , Nonaka I, Nagai T.	Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood.	Neuromuscul Disord.	23(5):441-4,		2013.

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィー

■ポイント

- Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィー (EDMD) は、幼児期以降に発症する緩徐進行性の筋力低下に加え、病初期からの関節拘縮を特徴とする筋疾患である。
- 思春期以降に重篤な心伝導障害と心筋症の合併をきたし、高率に突然死をきたすので、定期的な心機能評価の上、除細動装置付きペースメーカーの装着が必須となる。

A 臨床症状

Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィー (EDMD) は、1) 筋ジストロフィー、2) 関節拘縮、3) 心伝導障害を伴う心筋症、を臨床的な 3 徴とするまれな遺伝性筋疾患である (図 1)。幼児期以降、肩甲帯ならびに下腿を中心とした全身性の筋萎縮、筋力低下が緩徐進行性に認められる。血清 CK 値は正常の 2~5 倍程度と中等度の上昇を認める。筋力低下の目立つ前から足関節や肘関節の拘縮が認められる点が本疾患の特徴で、しばしばアキレス腱延長術が施行される。また、頸部の前屈制限も目立ち、強直性脊椎症候群 (rigid spine syndrome) と診断されている場合もある。心症状は通常、思

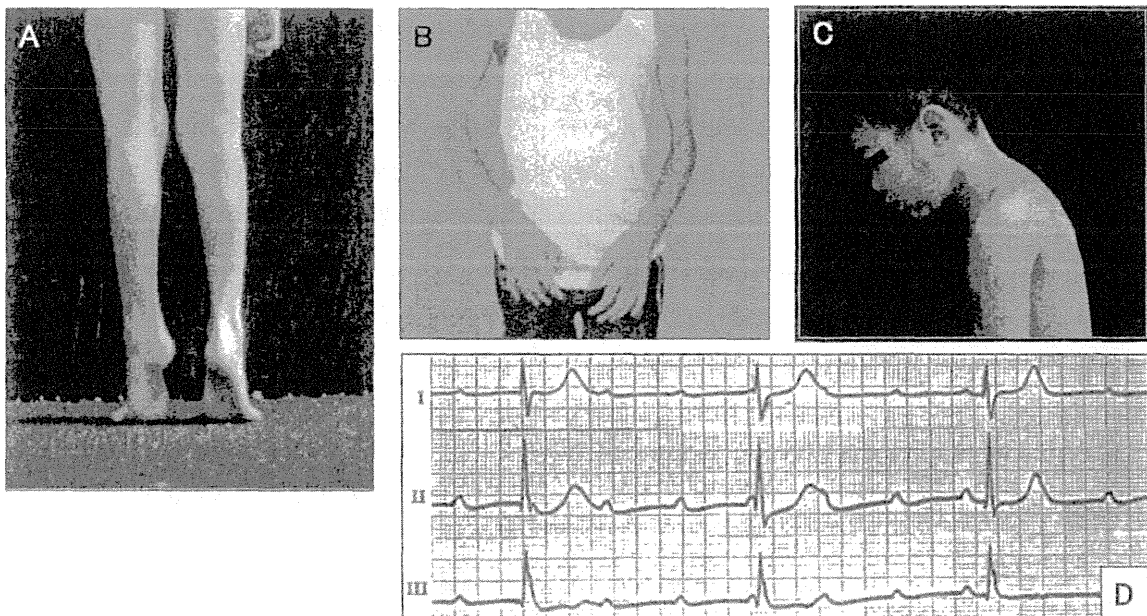


図 1

EDMD で認められた足関節 (A)、肘関節 (B)、および後頸部の拘縮 (C) と完全房室ブロック (D)。

春期以降に必発する。Sick sinus 症候群などの高度の伝導障害とともに拡張型心筋症も合併する。ペースメーカーの挿入が必須となるが、致死的な心室性不整脈も頻発するため、除細動装置付きのペースメーカーでないと突然死を防ぐことはできない。また、定期的な心機能評価にもかかわらず、ストレスなどで突然、致死性の不整脈をきたすこともあるので、常に注意が必要である。

B 原因遺伝子

EDMD の原因遺伝子はこれまでに6つが同定されているが、核膜関連蛋白質をコードするものが多く、また同じ遺伝子の変異が、EDMD 以外の臨床病型を示すことが知られている。

EDMD の原因遺伝子として最初に同定されたのは、X 染色体劣性の遺伝形式をとる EDMD の責任遺伝子、*EMD* (当初は *STA* とよばれていた) で、エメリンという核の内膜に存在する蛋白質をコードしている^{1,2)}。核膜蛋白質の欠損が筋ジストロフィーの原因となるという事実は当時、非常に注目を集めた。その後、核ラミナの主要構成成分である A 型ラミンをコードする遺伝子、*LMNA* の変異が常染色体優性、および劣性の EDMD を引き起こすことが報告された³⁾。以後、様々なヒト疾患が核膜関連蛋白質の異常によることが明らかにされ、「nuclear envelopathy; 核膜病」と総称されるようになっていく⁴⁾ (図 2A)。

EMD は Xq28 に存在する遺伝子で、エメリン蛋白質の欠損が EDMD の原因となる。発症年齢は幼児期から成人期以降と様々である。エメリンは骨格筋のみならず、全身の様々な細胞の核膜に存在する蛋白質で、筋組織のみならず、皮膚生検や口腔粘膜細胞を用いても、免疫組織染色でエメリンの欠損を確認することにより、診断が可能となる (図 2B)。EDMD の遺伝子変異は EDMD の他、まれに病初期に関節拘縮を認めず、四肢の近位筋優位の筋障害を示す肢帯型筋ジストロフィーを示す場合もある⁵⁾。また、女性の保因者は、成人以降に心症状を示すことがあるので、注意する必要がある。

染色体 1q21.2 にコードされる *LMNA* の変異は常染色体優性、あるいは劣性の EDMD の他、肢帯型筋ジストロフィー 1B 型 (LGMD1B)、先天性筋ジストロフィー (L-CMD)、伝導障害を伴う心筋症 (CMD1A) といった筋疾患、さらには脂肪萎縮症である Dunnigan-type partial lipodystrophy (FPLD2)、末梢神経障害を呈する Charcot-Marie-Tooth 病 2B1 型 (CMT2B1)、早老症候群である Hutchinson-Gilford progeria syndrome や atypical Werner syndrome、新生児致死性皮膚疾患 (lethal restrictive dermopathy)、といった遺伝形式も臨床症状も全く異なる様々な疾患を引き起こすことが相次いで明らかになり、これらを総称してラミノパチーとよんでいる⁴⁾。*LMNA* 変異による EDMD は幼児期早期に発症することが多く、臨床症状は典型的な EDMD の他、先天型や肢帯型との中間型を示す場合もあり、多彩である⁶⁾。確定診断には遺伝子診断が必要となる。

その他、症例数は少ないが、複数の EDMD 原因遺伝子が同定されている。ネスプリン-1、-2 をコードする *SYNE1*、および *SYNE2* の変異は、いずれも常染色体優性遺伝形式をとる EDMD の原因となる⁷⁾。*SYNE1* は常染色体劣性の脊髄小脳変性症 8 型 (SCAR8) や常染色体劣性の関節拘縮を伴う先天性筋ジストロフィーの原因遺伝子でもある^{8,9)}。ネスプリン-1 および-2 は、C 末端側にある膜貫通ドメインを介して核外膜に局在する蛋白質で、患者細胞では、A 型ラミンやエメリンの局在異常、ならびに核膜の脆弱性が認められる。

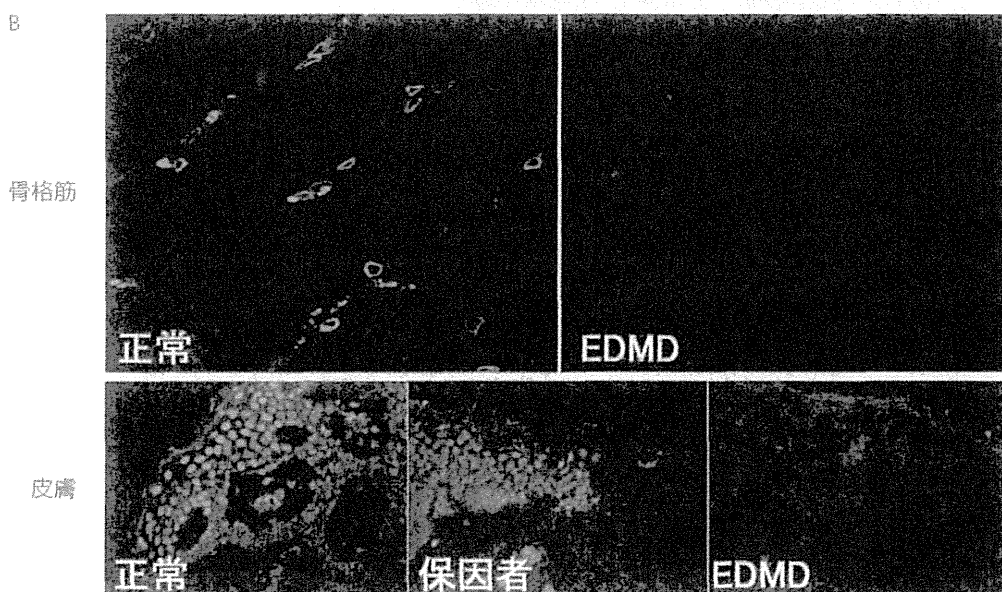
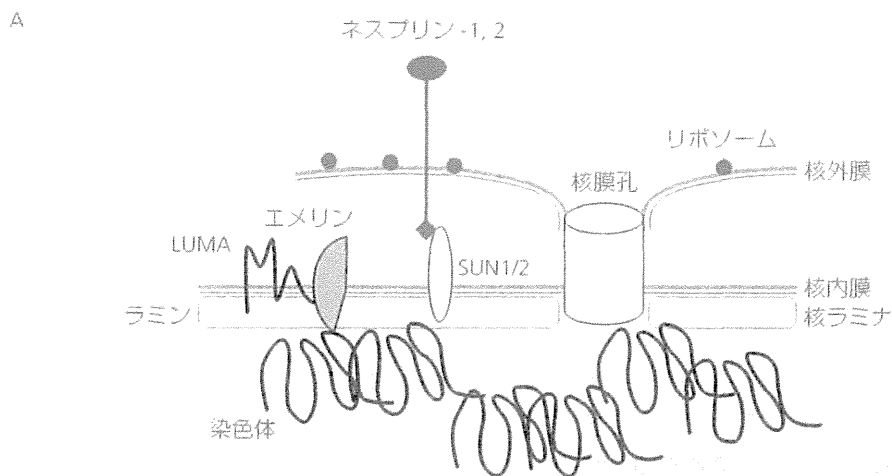


図2

A: 核膜蛋白質の模式図

B: エメリン染色。正常組織では核膜に存在するエメリンがEDMD変異によるEDMDでは欠損している。保因者はエメリンが正常な核と欠損する核が混在する。

染色体 Xq26,3 に存在する *FHL1* の変異もまた EDMD の原因となる。*FHL1* 変異による筋疾患の臨床症状は多彩で、EDMD の他、還元小体ミオパチー、X-linked dominant scapuloperoneal myopathy (SPM)、X-linked myopathy with postural muscle atrophy (XMPDA)、強直性脊椎症候群、といった疾患も引き起こす¹⁰⁻¹⁴⁾。家族内発症がある場合、女性の発症者のほうが症状は軽度である。*FHL1* 変異のほとんどは2番目のLIMドメイン部分に集中しているが、EDMDを示すものは*FHL1* のC末端側のアミノ酸変化による。変異部位の違いがどのようにして異なった臨床症状を示すのかは明らかでない。

TMEM43 は、染色体 3p25.1 に存在し、核膜蛋白質 LUMA をコードする。我々は *TMEM43* のヘテロ接合変異が EDMD 様の筋ジストロフィーを引き起こすことを報告した¹⁵⁾。*TMEM43* は、fami-

lial arrhythmogenic right ventricular dysplasia 5 (ARVD5) の原因でもあることも報告されている¹⁶⁾.

以上のように、EDMD は臨床的 3 徴を示す疾患の総称であり、遺伝学的には多様な疾患群である。原因遺伝子の判明していない例も多い。核膜蛋白質は様々な疾患の原因となりうることから、その具体的な発症機序の解明が待たれている。

患者へのアドバイス

- EDMD は、骨格筋、関節、心臓の障害を特徴とするまれな疾患である。
- 幼児期以降、いずれの年代でも発症する。
- 筋萎縮、筋力低下は緩徐進行性である。
- 関節拘縮は足関節、肘関節、後頸部に強い。
- 思春期以降、心伝導障害や心筋症といった心症状が出現する。
- 突然死を予防するため、定期的な心機能検査が必要であるとともに、必要に応じてペースメーカーの挿入が必要となる。
- 動悸やめまい、立ちくらみ、短時間の意識消失など、なんらかの異常を感じた場合、速やかに受診すること。

文献

- 1) Bione S, Maestrini E, Rivella S, et al. Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet.* 1994; 8: 323-7.
- 2) Nagano A, Koga R, Ogawa M, et al. Emerin deficiency at the nuclear membrane in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet.* 1996; 12: 254-9.
- 3) Bonne G, Di Barletta MR, Varnous S, et al. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet.* 1999; 21: 285-8.
- 4) Méndez-López I, Worman HJ. Inner nuclear membrane proteins: impact on human disease. *Chromosoma.* 2012; 121: 153-67.
- 5) Ura S, Hayashi YK, Goto K, et al. Limb-girdle muscular dystrophy due to emerin gene mutations. *Arch Neurol.* 2007; 64: 1038-41.
- 6) Astejada MN, Goto K, Nagano A, et al. Emerinopathy and laminopathy clinical, pathological and molecular features of muscular dystrophy with nuclear envelopathy in Japan. *Acta Myol.* 2007; 26: 159-64.
- 7) Zhang Q, Bethmann C, Worth NF, et al. Nesprin-1 and-2 are involved in the pathogenesis of Emery Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity. *Hum Mol Genet.* 2007; 16: 2816-33.
- 8) Gros-Louis F, Dupre N, Dion P, et al. Mutations in SYNE1 lead to a newly discovered form of autosomal recessive cerebellar ataxia. *Nature Genet.* 2007; 39: 80-5.
- 9) Attali R, Warwar N, Israel A, et al. Mutation of SYNE-1, encoding an essential component of the nuclear lamina, is responsible for autosomal recessive arthrogryposis. *Hum Mol Genet.* 2009; 18: 3462-9.
- 10) Gueneau L, Bertrand AT, Jais J-P, et al. Mutations of the FHL1 gene cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am J Hum Genet.* 2009; 85: 338-53.
- 11) Schessl J, Zou Y, McGrath MJ, et al. Proteomic identification of FHL1 as the protein mutated in human reducing body myopathy. *J Clin Invest.* 2008; 118: 904-12.
- 12) Quinzii CM, Vu TH, Min KC, et al. X-linked dominant scapuloperoneal myopathy is due to mutation in the gene encoding four-and-a-half-LIM protein 1. *Am J Hum Genet.* 2008; 82: 208-