

「先天性ミオパチーの原因解明」

研究分担者 林 由起子 東京医科大学 主任教授
(H25.8.1より現在まで)
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 室長
(H25.7.31まで)

研究協力者 清水 玲子 国立精神・神経医療研究センター
トランスレーショナル・メディカルセンター
竹内 芙美 国立精神・神経医療研究センター
トランスレーショナル・メディカルセンター
高山 和子 国立精神・神経医療研究センター神経研究所
ドン ミンルイ 国立精神・神経医療研究センター神経研究所

研究要旨

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 280例について、既知原因遺伝子の網羅的変異スクリーニングならびに新規原因遺伝子の同定を試みた。その結果、本邦ではACTA1変異例が最も多く、乳児重症型が3/4を占めた。巨大遺伝子NEBの変異スクリーニングに次世代型シーケンサーは有用であったが、さらなる解析方法の改善が必要と考えられた。国際共同研究により新規疾患関連遺伝子としてKLHL40, KLHL41を見いだし、報告した。特に本邦では、共通変異を有するKLHL40変異例が多く認められ、全例が超重症乳児型であった。既知原因遺伝子について網羅的スクリーニングを行ったにもかかわらず、60%の例では原因遺伝子が同定されず、今後、さらに病因を明らかにしていく必要がある。また先天性筋線維不均等症と鑑別困難なLMNAミオパチー例を見いだし、報告した。

A. 研究目的

先天性ミオパチーの中で最も頻度の高い疾患はネマリンミオパチーで、筋病理学的にネマリン小体と呼ばれる細胞内構造物の存在を特徴とする。臨床的には乳児期早期に発症し、運動発達遅滞や呼吸障害を認める乳児重症型から成人期以降に発症するものまで様々である。これまでに複数の原因遺伝子が同定されているが、183エクソンからなるNEBなどの巨大遺伝子も含まれており、原因の明らかでない例が多い。また、自己免疫疾患などに合併する場合も知られている。我々は、本邦におけるネマリンミ

オパチーの頻度ならびに臨床遺伝学的特徴を明らかにすることを目的として、次世代シーケンサーを活用し変異スクリーニングを行った。

B. 研究方法

(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、筋病理学的にネマリンミオパチーと診断された280例を抽出した。変異頻度が高く、エクソン数の少ないACTA1、および新規に見いだされた原因遺伝子については、サンガー法による直接シーケンス法を、遺伝子変

異未確定例は次世代型シークエンサーによるターゲットシークエ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、片方のアリ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、次世代シークエ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