

2014/5030B

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等実用化研究事業(難治性疾患実用化研究事業)

小児期発症脊髄性筋萎縮症に対するバルプロ酸ナトリウム
多施設共同医師主導治験準備研究

課題番号 H25-難治等(難)-一般-022

平成25-26年度 総合研究報告書

研究代表者 斎藤 加代子

平成27(2015)年3月

目 次

I. 総括研究報告	
小児期発症脊髄性筋萎縮症に対するバルプロ酸ナトリウム 多施設共同医師主導治験準備研究 -----	3
齋藤 加代子	
II. 分担研究報告	
1. 脊髄性筋萎縮症に対する治療法を目指したゲノム解析およびSMN タンパク質 発現解析 -----	11
齋藤 加代子	
2. SMA 治療薬剤評価方法及び SMA スクリーニング方法に関する研究 -----	15
西尾 久英	
3. 脊髄性筋萎縮症におけるバルプロ酸投与の臨床評価, 呼吸機能障害に対する 理学療法の効果, ケトン体利用に関する研究 -----	20
齋藤 利雄	
4. 小児脊髄性筋萎縮症における 3次元運動解析による治療評価に 関する研究 -----	24
加藤 善一郎	
5. SMA 及び神経・筋疾患に対するロボットスーツ HAL 医療用の 小児治験にむけて -----	30
中島 孝	
6. バイオマーカーとしての SMN 蛋白質測定法に関する研究 -----	34
荒川 正行、野本 明男	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	37
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	41

I. 総括研究報告

小児期発症脊髄性筋萎縮症に対するバルプロ酸ナトリウム多施設共同医師主導治験 準備研究

斎藤加代子 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター 所長・教授

研究要旨

小児期発症の難治性疾患である脊髄性筋萎縮症（SMA）の病態修飾治療を目的として、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害効果による SMN 蛋白質増加を期待したバルプロ酸ナトリウム(VPA)を用いる多施設共同医師主導治験準備研究（ステップ 1）を実施した。本治験の SMN 蛋白質増加傾向、運動機能改善結果により、二重盲検対照試験 phase II b 検証的治験を実施する根拠を得た。2018 年の薬事承認を目指し、小児希少難病治療の時代へ展開する。

共同研究者

西尾久英（神戸大学大学院医学研究科地域社会
医学・健康科学講座疫学分野）

齊藤利雄（国立病院機構刀根山病院神経内科、
小児神経内科）

加藤善一郎（岐阜大学大学院連合創薬医療情報
研究科）

中島孝（国立病院機構新潟病院）

荒川正行、野本明男（公益財団法人微生物化学
研究会微生物化学研究所）

荒川玲子、梅野愛子（東京女子医科大学附属遺
伝子医療センター）

療法士のトレーナーを招き、評価トレーニングを
実施し、修了証をもって、本医師主導治験の評価
者と認定した。

2) 多施設共同医師主導治験の実施(コホート 1)

PMDA 対面助言を受け、13 例の 8 歳未満の I, II,
III 型 SMA 患児を対象に、VPA の非盲検非対照試
験, phase II a, 探索的試験を実施した l-carnitine
を併用した。主要評価項目を SMN 定量、副次評価
項目を運動機能評価とした。運動機能評価は、I
型、II 型は The Children's Hospital of
Philadelphia Infant Test of Neuromuscular
Disorders (CHOP INTEND)、II 型、III 型は
Hammersmith Functional Motor Scale Expand
(HFMSSE) を実施した。安全性評価として VPA 血中濃
度、アンモニア値測定を行った。

A. 研究目的

小児期発症の難治性疾患である脊髄性筋萎縮
症（SMA）の病態修飾治療を目的として、ヒスト
ン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害効果による SMN
蛋白質増加を期待したバルプロ酸ナトリウム
(VPA)を用いる多施設共同医師主導治験準備研
究（ステップ 1）を実施した。本治験により VPA
の適応拡大を目指す。

B. 研究方法

1) 治験実施体制の整備

医師主導治験実施体制を整備する。具体的には
治験調整事務局を設立し、治験実施計画を策定し、
各種委託の契約を行った。評価方法の均霑化のた
めに、コロンビア大学、オーストラリアから理学

（倫理面への配慮）

人を対象とした臨床研究であり、「ヘルシンキ
宣言」、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及
び安全性の確保等に関する法律」、文部科学省・
厚生労働省「人を対象とする医学系研究に関する
倫理指針」、厚生労働省「医薬品の臨床試験の
実施の基準に関する省令」、日本医学会「医療に
おける遺伝学的検査・診断に関するガイドライ
ン」を遵守する。治験として企業との関わりの
適正な対応のため、「厚生労働科学研究における
利益相反（Conflict of Interest : COI）の管理
に関する指針」、日本医学会「医学研究の COI マ

ネージメントに関するガイドライン」を遵守する。本研究において、研究代表者、研究分担者、研究協力者とともに、関連する企業との利益相反はない。本研究では、「脊髄性筋萎縮症の遺伝子解析研究」（承認番号 145）および「遺伝性神経筋疾患患者由来細胞の分子遺伝学・分子生物学的研究」（承認番号 2466）は、申請者の所属施設東京女子医科大学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1) 治験実施体制の整備

治験実施体制の整備し、治験実施に至った。

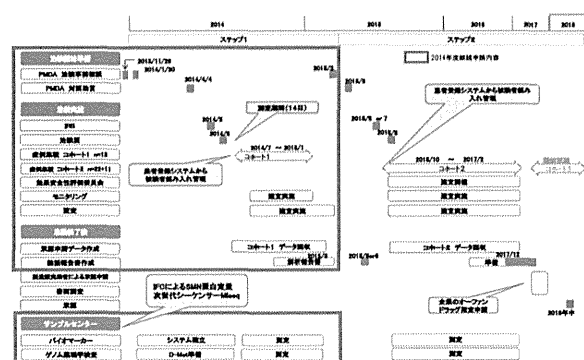


図1 医師主導治験ロードマップ

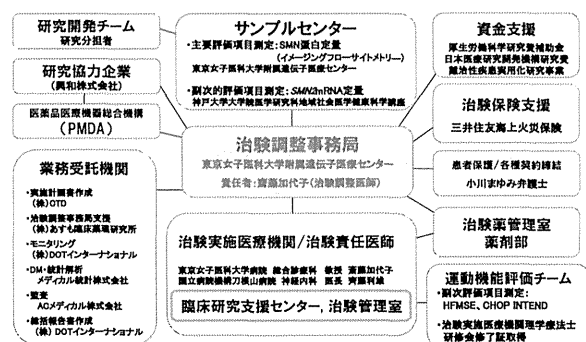


図2 治験実施体制

バイオマーカー-SMN 定量法(特願2014-076985)を確立した(Arakawa et al. BBRC 2014)。CHOP INTEND と HFMSE のトレーニングを実施して、図1のような修了証の受領者を評価者とする体制とした。

研修会を2回開催した。

◇2014年1月18日(土)「SMAの運動機能評価に関する研修会」於：東京国際フォーラム ガラス棟

G602

[講演]SMAにおける評価基準：疾患による負担と治療による利益を評価する

[実習]Hammersmith運動機能評価スケール拡大版(HFMSE)、SMA II型、III型の評価

[実習]Philadelphia小児病院の神経筋疾患乳児版テスト

臨床評価の均霑化を目的として、コロンビア大学の理学療法士であるJacqueline Montes, PT, EdD, NCS を招聘した。本研修会を受講し、修了証を受けた理学療法士がHFMSEおよびCHOP INTENDの評価を行う体制とすることとなった。

第1回 SMA 運動機能評価トレーニング



◇2014年7月19日(土)「SMAの運動機能評価に関する研修会」於：コンファレンススクエア エムプラス

[講演・実習]The Children's Hospital of Philadelphia, Infant Test of Neuromuscular Disorders (CHOP INTEND)

The Hammersmith Functional Motor Scale Expanded (HFMSE)

By Kristy Rose, PT

Institute for Neuroscience and Muscle
Research, The Children's Hospital at Westmead,
Australia



図3 CHOP INTEND と HFMSE のトレーニング実施

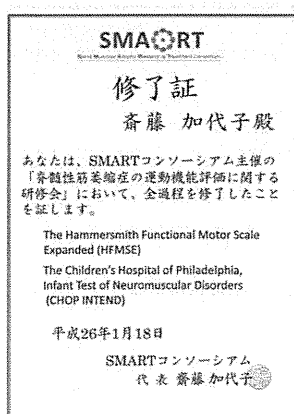
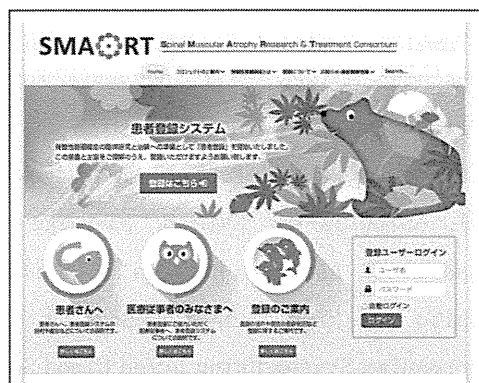


図4 CHOP INTEND と HFMSE のトレーニング修了証

ホームページの開設とニュースレターの発行
患者への情報提供と目的として、ホームページ
を開設した。<http://www.sma-rt.org/>



患者登録システム登録者へニュースレターを

発行した。

2) 多施設共同医師主導治験の実施（コホー
ト1）

東京女子医科大学病院にて9例、国立病院機
構刀根山病院にて4例を治験登録、2014年6月
3日に治験届提出、7月23日に症例登録開始、
2015年1月21日まで非盲検治験を実施した。
2015年1月23日にデータ固定、3月に解析報告、
6月に総括報告完了予定である。現時点の結果で
は、SMN蛋白質定量により、VPAによるSMN蛋白質
増加傾向($p=0.0574$)をみた。VPA投与前後の運
動機能評価では、I-III型のHFMSE ($p=0.0430$)、
II型のCHOP-INTEND ($p=0.0141$)と、有意な上昇
であった。VPAは25mg/kg/日が安全で有効な投
与量であった。

D. 考察

本治験のSMN蛋白質増加傾向、運動機能改善
結果により、運動機能評価を主要評価項目とし
て二重盲検対照試験 phase II b 検証的治験を実施
する根拠を得た。2018年の薬事承認を目指す。
患者の便益を考慮し、さらなる多施設共同治験
とする。臨床評価均霑化のための研修会、サン
プルセンターにてバイオマーカーSMN定量、有効
性評価項目 outcome measure の検討、有効例・
無効例別の次世代シーケンサーによるPGx検査、
根本治療法開発と、さらなる治験体制整備を行
う。SMA治療ガイドラインを作成し、小児希少難
病治療の時代へ展開する。

E. 結論

本治験のSMN蛋白質増加傾向、運動機能改善結
果により、二重盲検対照試験 phase II b 検証的治
験を実施する根拠を得た。2018年の薬事承認を
目指し、小児希少難病治療の時代へ展開する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 伊藤万由里、斎藤加代子、大澤眞木子、日本における脊髄性筋萎縮症の臨床実態調査, 東女医大誌 2013;83 (臨時増刊) :E52-E57.
- 2) 浦野真理、斎藤加代子、脊髄性筋萎縮症の遺伝カウンセリング, 東女医大誌 2013;83 (臨時増刊) :E651-E655.
- 3) 斎藤加代子、浦野真理、神経筋疾患における小児医療から成人医療への移行：遺伝子診断および遺伝カウンセリングを通じた介入, 診断と治療 2013;101(12):1887-1890.
- 4) 斎藤加代子、久保祐二、III変性疾患 運動ニューロン疾患 脊髄性筋萎縮症 5 番染色体性劣性遺伝性脊髄性筋萎縮症 脊髄性筋萎縮症 0 型, 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ NO. 27, 2014:530-532.
- 5) Toyota K, Ogino D, Hayashi M, Taki M, Saito K, Abe A, Hashimoto T, Umetsu K, Tsukaguchi H, Hayasaka K. INF2 mutations in Charcot-Marie-Tooth disease complicated with focal segmental glomerulosclerosis. J Peripher Nerv Syst 2013;18:97-98.
- 6) Nurputra DK, Lai PS, Harahap NI, Morikawa S, Yamamoto T, Nishimura N, Kubo Y, Takeuchi A, Saito T, Takeshima Y, Tohyama Y, Tay SK, Low PS, Saito K, Nishio H. Spinal Muscular Atrophy: From gene discovery to clinical trials. Ann Hum Genet 2013;77(5):435-463.
- 7) Sato Y, Yamauchi A, Urano M, Kondo E, Saito K. Corticosteroid therapy for duchenne muscular dystrophy: improvement of psychomotor function. Pediatr Neurol 2014;50:31-37.
- 8) 斎藤加代子、遺伝カウンセリング, 小児神経学の進歩, 2013:13-21, 診断と治療社, 東京.
- 9) 斎藤加代子、久保祐二, 脊髄性筋萎縮症, すべてがわかる ALS・運動ニューロン疾患, 2013: 116-124, 中山書店, 東京.
- 10) 斎藤加代子, 第 23 章神経筋疾患, 標準小児科学第 8 版 (内山聖監、原寿郎・高橋孝雄・細井創編), 2013:671-689, 医学書院, 東京.
- 11) Yamamoto T, Sato H, Lai PS, Nurputra DK, Harahap NI, Morikawa S, Nishimura N, Kurashige T, Ohshita T, Nakajima H, Yamada H, Nishida Y, Toda S, Takanashi J, Takeuchi A, Tohyama Y, Kubo Y, Saito K, Takeshima Y, Matsuo M, Nishio H. Intragenic mutations in SMN1 may contribute more significantly to clinical severity than SMN2 copy numbers in some spinal muscular atrophy (SMA) patients. Brain Dev. 2014; 36(10):914-920.
- 12) Arakawa M, Arakawa R, Tatsumi S, Aoki R, Saito K, Nomoto A. A novel evaluation method of survival motor neuron protein as a biomarker of spinal muscular atrophy by imaging flow cytometry. Biochem Biophys Res Commun. 2014; 453(3):368-374.
- 13) Saito T, Nurputra DK, Harahap NI, Indra S. K. Harahap, Yamamoto H, Muneshige E, Nishizono H, Matsumura T, Fujimura H, Sakoda S, Saito K, Nishio H. A study of valproic acid for patients with spinal muscular atrophy. Neurology and Clinical Neuroscience. 2014:1-9.
- 14) Kato N, Sa'adah N, Rochmah MA, Harahap NI, Nurputra DK, Sato H, Nishimura N, Sadewa AH, Astuti I, Haryana SM, Saito T, Saito K, Nishio H, Takeuchi A. SMA Screening System Using Dried Blood Spots on Filter Paper : Application of COP-PCR

- to the SMN1 Deletion Test. Kobe J Med Sci. 2014; in press.
- 15) Harahap NI, Takeuchi A, Yusoff S, Tominaga K, Okinaga T, Kitai Y, Takarada T, Kubo Y, Saito K, Sa'adah N, Nurputra DK, Nishimura N, Saito T, Nishio H. Trinucleotide insertion in the SMN2 promoter may not be related to the clinical phenotype of SMA. Brain Dev. 2014; in press.
- 16) 斎藤加代子. パーソナルゲノム解析の医療応用と遺伝カウンセリングの実践. 医薬ジャーナル, 2014; 50(3):77-957-961.
- 17) 斎藤加代子. 遺伝子検査施行時の倫理的対応. 周産期医学. 2014; 44(2):153-156.
- 18) 浦野真理、斎藤加代子. 出生前診断の遺伝カウンセリング. 小児科臨床. 2014;67(10):1631-1635.
- 19) 久保祐二、伊藤万由理、青木亮子、斎藤加代子. 脊髄性筋萎縮症における SMN 遺伝子のコピー数解析と遺伝カウンセリングへの応用. 日本遺伝カウンセリング学会誌. 2014; 10;35(3):99-104.
- 20) Kubo Y, Nishio H, Saito K. A new method for SMN1 and hybrid SMN gene analysis in spinal muscular atrophy using long-range PCR followed by sequencing. J Hum Genet. 2015; in press.
- 21) Furukawa Y, Ogawa G, Hokkoku K, Hatanaka Y, Aoki R, Saito K, Sonoo M. Diagnostic use of surface EMG in a patient with spinal muscular atrophy. Muscle Nerve. 2015; in press.
- 22) Yamada H, Nishida Y, Maihara T, Sa'adah N, Harahap NI, Nurputra DK, Rochmah MA, Nishimura N, Satio T, Kubo Y, Saito K, Nishio H. Two Japanese patients with SMA type 1 suggest that axonal-SMN may not modify the disease severity. Pediatr Neurol. 2015 in press.
- ## 2. 学会発表
- 1) 斎藤加代子, 神経筋疾患を抱える子ども達の思春期の課題. 日本小児科学会, 2013. 4. 20, 広島
 - 2) 久保祐二、伊藤万由里、青木亮子、斎藤加代子, 脊髄性筋萎縮症における SMN 遺伝子の copy 数の解析と遺伝カウンセリング学会への応用, 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 2013. 6. 21, 川崎
 - 3) 浦野真理、斎藤加代子, 出生前診断に関わる遺伝カウンセリング—当センターの経験から—, 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 2013. 6. 22, 川崎
 - 4) 斎藤加代子, 遺伝医療の将来と未来, 第 4 回遺伝カウンセリング研修会, 2013. 7. 13, 京都
 - 5) 久保祐二、山本友人、森川悟、西尾久英、中島秀樹、大下智彦、倉重毅志、斎藤加代子, 脊髄性筋萎縮症者における新たな SMN1 遺伝子単離法による新規遺伝子変異の同定, 第 20 回日本遺伝子診療学会, 2013. 7. 20, 浜松
 - 6) 荒川玲子、久保祐二、青木亮子、斎藤加代子, 脊髄性筋萎縮症の SMN2 遺伝子コピー数がシシプロ酸投与時の SMN タンパク質発現量に与える影響, 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013. 11. 22, 仙台
 - 7) 浦野真理、斎藤加代子, 神経筋疾患をもつ子ども達の思春期の課題. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013. 11. 22, 仙台
 - 8) 斎藤加代子. 遺伝医療：遺伝学的検査と遺伝カウンセリング. 第 33 回愛媛県小児神経研究会. 2014. 7. 5. 愛媛
 - 9) 久保祐二、青木亮子、近藤恵理、斎藤加代子. 次世代シーケンサーを用いた SMN1 遺伝子欠失を認めない脊髄性筋萎縮症のゲノム解析. 日本人類遺伝学会第 59 回大会. 2014. 11. 20. 東京
 - 10) 斎藤加代子. 小児期発症脊髄性筋萎縮症に対するバルプロ酸ナトリウム多施設共同医師主導治験準備研究. 平成 26 年度厚生労働

科学特別研究事業進捗管理班（難治性疾患
実用化研究・腎疾患実用化研究・慢性の痛
み解明研究）成果報告会. 2015. 3. 13. 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特許出願中（特願2014-076985）

（発明の名称）

SMN タンパク質の発現を検出する方法

（特許出願日）平成26年4月3日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担研究報告

脊髄性筋萎縮症に対する治療法を目指したゲノム解析および SMN タンパク質発現解析 斎藤加代子 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター 所長・教授

研究要旨

脊髄性筋萎縮症(SMA)に対する薬物療法の確立に向けて、血液検体を用いた SMN タンパク質定量法の開発および薬剤効果を予測する薬物代謝関連遺伝子多型解析を行った。さらに、患者において SMN タンパク質を産生している *SMN2* 遺伝子の全領域をシークエンスする手法を開発した。

共同研究者

荒川玲子、久保祐二、金子芳、大月典子

(東京女子医科大学附属遺伝子医療センター)

A. 研究目的

Survival of motor neuron 1 (*SMN1*) 遺伝子変異による脊髄性筋萎縮症(SMA)に対する治療法開発を目的として、治療効果判定に用いるための血中 SMN タンパク質定量解析法の開発を行う。

さらに現在検討を進めているバルプロ酸ナトリウム(VPA)治療においては、治療に対して良好な反応を示す群(レスポンド)と示さない群(ノンレスポンド)があることが知られている。そのため、実際に患者にVPA投与を行う前にレスポンドであることを予測できるシステムを開発することは個別化医療の推進に重要であると考えられる。本研究においては、Gene Chip® マイクロアレイ解析システムと MiSeq を用いたゲノム解析により VPA のレスポンド、ノンレスポンドにおける PGx 解析と関連遺伝子発現解析および *SMN2* 遺伝子シークエンスを行う。

B. 研究方法

① SMN タンパク質定量：血液をヘパリン管で採取し、赤血球を溶血後に固定する。細胞を洗浄後に細胞膜透過処理を行い、蛍光(FITC)標識された抗 SMN モノクローナル抗体を反応させた後に、核染色を行い、イメージングフローサイトメトリー(FlowSight、メルク株式会社)で血液細胞における SMN の蛍光強度およびイメージデ

ータを取得、解析ソフト IDEAS を用いて SMN タンパク質発現量の定量解析を行う。

② Gene Chip® マイクロアレイ解析システムを用いた遺伝子多型の解析：SMA 患者の血液から DNA を調整し、Gene Chip® マイクロアレイ解析システム(シスメックス社)を用いて薬物代謝関連遺伝子について、遺伝子多型の同定を行う。

③ Miseq を用いた *SMN2* 遺伝子シークエンス：VPA に対する反応性が *SMN2* 遺伝子配列と関連しているかについて検討を行うために、SMA 患者の *SMN2* 遺伝子のみを単離し、次世代シークエンス(Miseq)を用いて *SMN2* 遺伝子全領域のシークエンスを行う。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京女子医科大学倫理委員会の承認のもと、本人もしくは代諾者の同意を得た上で行った。

C. 研究結果

SMN タンパク質定量解析法の開発においては、血液細胞の形状を保ったまま可視化し、解析に適した生細胞のみを抽出し、さらに細胞を大きさと側方散乱光によりクラスターに分け、SMN タンパク質を定量する手法を開発した(特願2014-076985)。本手法により鋭敏に SMN タンパク質定量を行うことが可能となった。

さらに、*SMN1* 遺伝子欠失を有する症例の血液検体を用いて、*SMN2* 遺伝子全領域を単離する方法を確立した。本手法を用いて、薬物代謝関連の225遺伝子について遺伝子多型の同定および、

SMN2 遺伝子の全領域シーケンスを施行中である。

D. 考察

本研究における血液細胞を用いた SMN タンパク質定量法では、従来の末梢血単核球細胞のみを対象とした ELISA 法による定量とは異なり、有核細胞全てを対象とした SMN タンパク質発現解析が可能となった。

SMA に対する VPA 治療においては、患者ごとで治療効果が異なることが知られている。しかし、レスポンドーおよびノンレスポンドーの差異については、未だ明らかになっていない。PGx 解析と関連遺伝子発現解析法を用いた解析により、患者への投与前に効果を予測できる指標について現在解析を進めている。

E. 結論

より適切な医療を提供するために、レスポンドーを予測した上で、患者へ薬物投与を行い、さらにバイオマーカーとして、血液を用いて SMN タンパク質定量を行えるシステムの開発を本研究で推進している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 伊藤万由里、斎藤加代子、大澤眞木子、日本における脊髄性筋萎縮症の臨床実態調査、東女医大誌 2013;83（臨時増刊）：E52-E57.
- 2) 浦野真理、斎藤加代子、脊髄性筋萎縮症の遺伝カウンセリング、東女医大誌 2013;83（臨時増刊）：E651-E655.
- 3) 斎藤加代子、浦野真理、神経筋疾患における小児医療から成人医療への移行：遺伝子診断および遺伝カウンセリングを通じた介入、診断と治療 2013;101(12)：1887-1890.
- 4) 斎藤加代子、久保祐二、III変性疾患 運動ニューロン疾患 脊髄性筋萎縮症 5 番染色体性劣性遺伝性脊髄性筋萎縮症 脊髄性筋萎縮症 0 型、別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ NO.27, 2014:530-532.
- 5) Toyota K, Ogino D, Hayashi M, Taki M, Saito K, Abe A, Hashimoto T, Umetsu K, Tsukaguchi H, Hayasaka K. INF2 mutations in Charcot-Marie-Tooth disease complicated with focal segmental glomerulosclerosis. J Peripher Nerv Syst 2013;18:97-98.
- 6) Nurputra DK, Lai PS, Harahap NI, Morikawa S, Yamamoto T, Nishimura N, Kubo Y, Takeuchi A, Saito T, Takeshima Y, Tohyama Y, Tay SK, Low PS, Saito K, Nishio H. Spinal Muscular Atrophy: From gene discovery to clinical trials. Ann Hum Genet 2013;77(5):435-463.
- 7) Sato Y, Yamauchi A, Urano M, Kondo E, Saito K. Corticosteroid therapy for duchenne muscular dystrophy: improvement of psychomotor function. Pediatr Neurol 2014;50:31-37.
- 8) 斎藤加代子、遺伝カウンセリング、小児神経学の進歩、2013:13-21, 診断と治療社, 東京.
- 9) 斎藤加代子、久保祐二、脊髄性筋萎縮症、すべてがわかる ALS・運動ニューロン疾患、2013: 116-124, 中山書店, 東京.
- 10) 斎藤加代子、第 23 章神経筋疾患、標準小児科学第 8 版（内山聖監、原寿郎・高橋孝雄・細井創編）、2013:671-689, 医学書院, 東京.
- 11) Yamamoto T, Sato H, Lai PS, Nurputra DK, Harahap NI, Morikawa S, Nishimura N, Kurashige T, Ohshita T, Nakajima H, Yamada H, Nishida Y, Toda S, Takanashi J, Takeuchi A, Tohyama Y, Kubo Y, Saito K,

- Takeshima Y, Matsuo M, Nishio H. Intragenic mutations in SMN1 may contribute more significantly to clinical severity than SMN2 copy numbers in some spinal muscular atrophy (SMA) patients. *Brain Dev.* 2014; 36(10):914-920.
- 12) Arakawa M, Arakawa R, Tatsumi S, Aoki R, Saito K, Nomoto A. A novel evaluation method of survival motor neuron protein as a biomarker of spinal muscular atrophy by imaging flow cytometry. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014; 453(3):368-374.
- 13) Saito T, Nurputra DK, Harahap NI, Indra S.K, Harahap , Yamamoto H, Muneshige E, Nishizono H, Matsumura T, Fujimura H, Sakoda S, Saito K, Nishio H. A study of valproic acid for patients with spinal muscular atrophy. *Neurology and Clinical Neuroscience.* 2014:1-9.
- 14) Kato N, Sa'adah N, Rochmah MA, Harahap NI, Nurputra DK, Sato H, Nishimura N, Sadewa AH, Astuti I, Haryana SM, Saito T, Saito K, Nishio H, Takeuchi A. SMA Screening System Using Dried Blood Spots on Filter Paper : Application of COP-PCR to the SMN1 Deletion Test. *Kobe J Med Sci.* 2014; in press.
- 15) Harahap NI, Takeuchi A, Yusoff S, Tominaga K, Okinaga T, Kitai Y, Takarada T, Kubo Y, Saito K, Sa'adah N, Nurputra DK, Nishimura N, Saito T, Nishio H. Trinucleotide insertion in the SMN2 promoter may not be related to the clinical phenotype of SMA. *Brain Dev.* 2014; in press.
- 16) 斎藤加代子. パーソナルゲノム解析の医療応用と遺伝カウンセリングの実践. *医薬ジャーナル*, 2014; 50(3):77-957-961.
- 17) 斎藤加代子. 遺伝子検査施行時の倫理的対応. *周産期医学.* 2014; 44(2):153-156.
- 18) 浦野真理、斎藤加代子. 出生前診断の遺伝カウンセリング. *小児科臨床.* 2014;67(10):1631-1635.
- 19) 久保祐二、伊藤万由理、青木亮子、斎藤加代子. 脊髄性筋萎縮症における SMN 遺伝子のコピー数解析と遺伝カウンセリングへの応用. *日本遺伝カウンセリング学会誌.* 2014; 10;35(3):99-104.
- 20) Kubo Y, Nishio H, Saito K. A new method for SMN1 and hybrid SMN gene analysis in spinal muscular atrophy using long-range PCR followed by sequencing. *J Hum Genet.* 2015; in press.
- 21) Furukawa Y, Ogawa G, Hokkoku K, Hatanaka Y, Aoki R, Saito K, Sonoo M. Diagnostic use of surface EMG in a patient with spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve.* 2015; in press.
- 22) Yamada H, Nishida Y, Maihara T, Sa'adah N, Harahap NI, Nurputra DK, Rochmah MA, Nishimura N, Satio T, Kubo Y, Saito K, Nishio H. Two Japanese patients with SMA type 1 suggest that axonal-SMN may not modify the disease severity. *Pediatr Neurol.* 2015 in press.
- ## 2. 学会発表
- 1) 斎藤加代子, 神経筋疾患を抱える子ども達の思春期の課題. *日本小児科学会*, 2013. 4. 20, 広島
- 2) 久保祐二、伊藤万由里、青木亮子、斎藤加代子, 脊髄性筋萎縮症における SMN 遺伝子の copy 数の解析と遺伝カウンセリング学会への応用, 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 2013. 6. 21, 川崎
- 3) 浦野真理、斎藤加代子, 出生前診断に関わる遺伝カウンセリング—当センターの経験から—, 第 37 回

- 日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 2013. 6. 22,
川崎
- 4) 斎藤加代子, 遺伝医療の将来と未来, 第4回遺伝カ
ウンセリング研修会, 2013. 7. 13, 京都
- 5) 久保祐二, 山本友人, 森川悟, 西尾久英, 中島秀樹,
大下智彦, 倉重毅志, 斎藤加代子, 脊髄性筋萎縮症
者における新たな *SMN1* 遺伝子単離法による新規遺
伝子変異の同定, 第20回日本遺伝子診療学会,
2013. 7. 20, 浜松
- 6) 荒川玲子, 久保祐二, 青木亮子, 斎藤加代子, 脊髄
性筋萎縮症の *SMN2* 遺伝子コピー数がバルプロ酸投
与時の *SMN* タンパク質発現量に与える影響, 日本人
類遺伝学会第58回大会, 2013. 11. 22, 仙台
- 7) 浦野真理, 斎藤加代子, 神経筋疾患をもつ子どもた
ちの思春期の課題, 日本人類遺伝学会第58回大会,
2013. 11. 22, 仙台
- 8) 斎藤加代子. 遺伝医療: 遺伝学的検査と遺
伝カウンセリング. 第33回愛媛県小児神
経研究会. 2014. 7. 5. 愛媛
- 9) 久保祐二, 青木亮子, 近藤恵理, 斎藤加代
子. 次世代シーケンサーを用いた *SMN1* 遺
伝子欠失を認めない脊髄性筋萎縮症のゲノ
ム解析. 日本人類遺伝学会第59回大
会. 2014. 11. 20. 東京
- 10) 斎藤加代子. 小児期発症脊髄性筋萎縮症に
対するバルプロ酸ナトリウム多施設共同医
師主導治験準備研究. 平成26年度厚生労働
科学特別研究事業進捗管理班（難治性疾患
実用化研究・腎疾患実用化研究・慢性の痛
み解明研究）成果報告会. 2015. 3. 13. 東京

なし

3. その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

特許出願中（特願2014-076985）

（発明の名称）

SMN タンパク質の発現を検出する方法

（特許出願日）平成26年4月3日

2. 実用新案登録

SMA 治療薬剤評価方法及び SMA スクリーニング方法に関する研究

研究分担者 西尾久英 神戸大学大学院医学研究科地域社会医学・健康科学講座疫学分野

研究要旨

我々は、(1) SMA 治療薬剤評価方法の確立、(2) SMA スクリーニング方法の開発を目指して研究をおこなった。(1) では、バルプロ酸投与の前後で、末梢白血球を採取し、各種 SMN2 転写産物を測定した。Total-SMN 転写産物 (エクソン 1-2b)、FL-SMN 転写産物 (エクソン 7-8)、 Δ 7-SMN 転写産物 (エクソン 5-6/8) の量的変動が同一傾向を示さなかったことから、バルプロ酸の作用が SMN2 以外の遺伝子にも及んでいることが推測された。(2) では、乾燥濾紙血から DNA を抽出し、その DNA を PCR のテンプレートとして用いた。今回用いた PCR 技術は COP-PCR と PCR-HRMA である。前者は異なるプライマーを用いるアリル特異的 PCR の 1 種であり、後者は PCR 産物の融解曲線解析によるアリル判別である。いずれの方法も簡便、迅速、正確であり、SMA スクリーニングを可能ならしめるものであった。

共同研究者

(1) SMA 治療薬剤評価方法の確立

森川 悟 (神戸大学大学院医学研究科地域社会医学・健康科学講座疫学分野)、

通山 由美 (姫路獨協大学薬学部)

(2) SMA スクリーニング方法の開発

ディアン・ケスマプラムディア・ヌルプトラ

(Dian Kesumapramudya Nurputra)、

ヌル・インマ・ファティマ・ハラハップ

(Nur Imma Fatimah Harahap)、

マワダ・アル・ロホマ (Mawaddah Ar Rochmah)

(この 3 人の所属は神戸大学大学院医学研究科地域社会医学・健康科学講座疫学分野)

(1) SMA 治療薬剤評価方法の確立

A. 研究目的

近年、脊髄性筋萎縮症 (SMA) に対して、バルプロ酸 (VPA) の投与が行われるようになった。これは、VPA がヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤として遺伝子プロモーターを活性化することを利用し、SMA 患者に残存する SMN2 遺伝子のプロモーターを活性化し、その転写を促進させる戦略に基づく治療法である。今回、我々は、白血球の SMN2 転写産物量を指標にして、VPA に対する反応性を調べた。

B. 研究方法

[対象] 患者 1 は 15 歳女児。1 型 SMA と診断されている。寝たきり、気管切開・24 時間人工呼吸器管理。SMN1 遺伝子欠失、NAIP 遺伝子欠失。SMN2 遺伝子 2 コピー。VPA を 3 か月間投与 (8 mg/kg/day)。投与開始 1 か月後と 3 か月後の VPA 血中濃度は、それぞれ 33.4 と 44.4 (μ g/ml) であった。VPA 投与後、運動機能改善は認められないものの、筋力増強の印象あり。患者 2 は 6 歳女児。2 型 SMA と診断されている。座位保持可能。SMN1 遺伝子欠失、NAIP 遺伝子残存、SMN2 遺伝子 3 コピー。VPA を 3 か月間投与 (20mg/kg/day)。投与開始 1 か月後と 3 月後の VPA 血中濃度は、それぞれ 94.3 と 87.2 (μ g/ml) であった。VPA 投与後運動機能改善。

[検体採取、RNA 抽出、cDNA 合成] 検体の採取、輸送には、RNA 検査用の容器 (PAXgene Blood RNA Tube: PreAnalytiX) を用いた。RNA 抽出、cDNA 合成は常法に従った。

[転写産物定量] Total-SMN 転写産物 (エクソン 1-2b)、FL-SMN 転写産物 (エクソン 7-8)、 Δ 7-SMN 転写産物 (エクソン 5-6/8) を増幅するプライマーを設計し、リアルタイム PCR 法で測定した。対照として GAPDH 転写産物を用いた。

[倫理面への配慮] 本研究は神戸大学医学倫理委員会による承認を得て行われた。

C. 研究結果

今回の対象となった患者2名は、いずれも、FL-SMN 転写産物量の増加傾向と Δ 7-SMN 転写産物量の減少傾向を認めた。また、患者のケアをしている人たちからの報告では、それぞれの患者の筋力は増強し、運動量が増加したことも事実のようである。これらのことより、ある患者には、VPA が有効であることは確かである。

D. 考察

今回の研究で、白血球の SMN2 転写産物量を指標にした時に留意すべき点も明らかになった。それは、① 白血球の SMN2 転写産物量は、個人によってかなりばらつく（不規則に分布する）こと、② 患者2のように、VPA によって Total-SMN 転写産物量が増加せず、むしろ減少する例もあること、③ VPA は SMN2 遺伝子のスプライシング修正にも働くことも期待できること等の点である。

Brichta らも「VPA が SMN2 遺伝子のスプライシング修正にも働く」こと示している（Human Molecular Genetics, 2003）。このことは、VPA がスプライシングに関連する蛋白をコードする遺伝子にも働いていることを示唆している。我々も、以前の研究で、VPA 投与によってスプライシング関連蛋白の発現が変化していることを示してきた（Harahap et al. Brain and Development, 2011）

E. 結論

多数例の検討が出来ていないものの、今回の患者については、FL-SMN 転写産物量の増加と Δ 7-SMN 転写産物量の減少が認められ、臨床症状についても改善があった。これらのことは、VPA 治療を推進する根拠となり得るものである。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

（G. 研究発表およびH. 知的財産権の出願・登録状況については、最後に一括して示す。）

（2）SMA スクリーニング方法の開発

A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症（SMA）の治療法の開発が進められる一方、モデルマウスを使った研究で、治療が有効な期間に限られていることも明らかにされつつある。治療が有効な期間は“window of opportunity for treating children at risk of developing SMA”と呼ばれているが、この期間が乳児期早期に限られているかどうかについてはさらなる研究が必要である。いずれにせよ、SMA 患者に有効な治療を行うためには、本疾患の早期診断が重要であることは確かである。今回、我々は、SMA の早期診断を可能にするスクリーニング方法の開発に取り組み、乾燥濾紙血と PCR を用いた、2 種類の簡便なスクリーニング方法（COP-PCR 法、PCR-HRMA 法）を確立した。

B. 研究方法

〔乾燥濾紙血と DNA 抽出〕神戸大学大学院医学研究科疫学分野に送付されてきた SMA が疑われた患者血液の一部を濾紙に滴下し、室温で暗所に保存した。濾紙は、FTA® Elute Cards を用いた。乾燥濾紙血検体の保存期間は、1年から8年に及んだ。DNA 抽出は煮沸法によった。〔COP-PCR〕SMA 患者28例および対照者22例を分析した。全例について、新鮮血から採取した DNA を用いた PCR-RFLP 法での分析は既に終了している。SMN1 と SMN2 から特異的にエクソン7を増幅する COP-PCR を行った。共通 forward primer (R111)、SMN1 特異的または SMN2 特異的 reverse primer (SMN1-COP または SMN2-COP) を含む反応溶液を PCR 反応に供した。COP-PCR 産物はアガロースゲル電気泳動を行った。〔PCR-HRMA〕SMA 患者42例および対照者28例を分析した。全例について、新鮮血から採取した DNA を用いた PCR-RFLP 法での分析は既に終了している。SMN1 と SMN2 から同時にエクソン7を増幅する PCR を行った。共通 forward primer (R111)、共通 reverse primer (541C770) を含

む反応溶液を PCR 反応に供した。PCR 産物は LightCycler®480 System II で高分解融解曲線解析 (HRMA) を行った。[倫理面への配慮] 本研究は神戸大学医学倫理委員会による承認を得て行われた。

C. 研究結果

<COP-PCR>

[COP-PCR のパターン解析] COP-PCR 反応により *SMN1* exon 7 と *SMN2* exon 7 の特異的増幅が可能であった。

[シーケンスによる増幅産物の特異性の検証] COP-PCR 産物の特異性を確認するため、シーケンス分析を実施した。*SMN1* と *SMN2* の違いは、イントロン 6 内に存在する 1 塩基違い (エクソン 7 から遡って-44 の位置)、すなわち *SMN1* は G、*SMN2* は A である。今回の結果はこの 1 塩基の違いを確認出来ていることを証明した。

[新鮮血-DNA の PCR-RFLP と 乾燥濾紙血-DNA の COP-PCR の比較] 乾燥濾紙血-DNA を用いた COP-PCR の結果は、新鮮血-DNA を用いた PCR-RFLP の結果と完全に一致した。

<PCR-HRMA>

[PCR-HRMA のパターン解析] PCR-HRMA により *SMN1* exon 7 と *SMN2* exon 7 の特異的曲線が得られた。

[新鮮血-DNA の PCR-RFLP と 乾燥濾紙血-DNA の PCR-HRMA の比較] 乾燥濾紙血-DNA を用いた PCR-HRMA の結果は、新鮮血-DNA を用いた PCR-RFLP の結果と完全に一致した。

D. 考察

今回、我々は、乾燥濾紙血-DNA 抽出と PCR 分析を組み合わせることによって、正確な *SMN1*-欠失検出システムを確立した。

乾燥濾紙血は、取り扱い、輸送、保存およびコスト面で、実用的である。また、乾燥濾紙血-DNA は、PCR 鋳型として十分量の DNA を取得することが出来る。このような点で、乾燥濾紙血-DNA は、非常に有用な診断ツールになる。

また、COP-PCR 法は十分な施設のない地域の DNA スクリーニングに適した方法であり、PCR-HRMA 法は大量の検体を扱う大規模スクリーニングに適した方法であると言えよう。

今後、SMA の治療法の確立とともに、早期診断のためのスクリーニング法が必要になるものと思われる。を規定しているものと考えられた。

E. 結論

今回の研究結果から、乾燥濾紙血-DNA を用いた COP-PCR 法、PCR-HRMA 法は、SMA 患者のスクリーニングに有用であると判断された。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Nurputra DK, Lai PS, Harahap NI, Morikawa S, Yamamoto T, Nishimura N, Kubo Y, Takeuchi A, Saito T, Takeshima Y, Tohyama Y, Tay SK, Low PS, Saito K, Nishio H. Spinal Muscular Atrophy: From Gene Discovery to Clinical Trials. *Ann Hum Genet*, 77(5):435-463, 2013.
- (2) Nishio H. PLS3 expression and SMA phenotype: a commentary on correlation of PLS3 expression with disease severity in children with spinal muscular atrophy. *J Hum Genet*, 59(2):64-65, 2014.
- (3) 羽深理恵, 鈴木俊明, 長谷川博也, 唐澤環, 金子詩子, 池住洋平, 大橋伯, 赤坂紀幸, 遠山潤, 西尾久英, 齋藤昭彦. 劇症肝不全を発症した脊髄性筋萎縮症の1例. *日本小児科学会雑誌*, 117(6):1031-1036, 2013.
- (4) Yamamoto T, Sato Hideyuki, Lai PS, Nurputra DK, Harahap NI, Morikawa S, Nishimura N, Kurashige T, Ohshita T, Nakajima H, Yamada H, Nishida Y, Toda S, Takashi J, Takeuchi A, Tohyama Y, Kubo Y, Saito K, Takeshima Y, Matsuo M, Nishio

- H. Intragenic mutations in SMN1 may contribute more significantly to clinical severity than SMN2 copy numbers in some spinal muscular atrophy (SMA) patients. *Brain & Development*, 36(10):914-920, 2014.
- (5) Harahapa NI, Takeuchi A, Yusoff S, Tominaga K, Okinaga T, Kitai Y, Takarada T, Kubo Y, Saito K, Sa'adah N, Nurputra DK, Nishimura N, Saito T, Nishio H. Trinucleotide insertion in the SMN2 promoter may not be related to the clinical phenotype of SMA. *Brain & Development*, 2014 in press.
- (6) Kato N, Sa'adah N, Rochmah MA, Harahap NI, Nurputra DK, Sato H, Nishimura N, Sadewa AH, Astuti I, Haryana SM, Saito T, Saito K, Nishio H, Takeuchi A. SMA screening system using dried blood spots on filter paper: Application of COP-PCR to the SMN1 deletion test. *Kobe J Med Sci*, 60(4) 2014 in press.
- (7) Sa'adah N, Harahap NI, Nurputra DK, Rochmah MR, Morikawa S, Nishimura N, Sadewa AH, Astuti I, Haryana SM, Saito T, Saito K, Nishio H. A Rapid, Accurate and simple screening method for spinal muscular atrophy: High-resolution melting analysis using dried blood spots on filter paper. *Clinical Laboratory*, 2014 in press.
- (8) Saito T, Nurputra DK, Harahap NI, Harahap ISK, Yamamoto H, Muneshige E, Nisizono H, Matsumura T, Fujimura H, Sakoda S, Saito K, Nishio H. A Study of valproic acid for patients with spinal muscular atrophy. *Neurology and Clinical Neuroscience*, 2014 in press.
- (9) 西尾久英. 脊髄性筋萎縮症 [SMA I 型 (infantile acute SMA、Werdnig-Hoffmann 病)、SMA II 型 (infantile chronic SMA、Dubowitz 病)]. *日本臨床 新領域別症候群シリーズ* No. 27, 533-537, 2014.
- (10) 西尾久英. 脊髄性筋萎縮症 遺伝子診断から治療戦略まで. *日本小児科学会雑誌*, 118(9): 1315-1323, 2014.
- ## 2. 学会発表
- (1) Nurputra DK, Morita H, Nishio H, Tohyama Y. Abnormal acetylation status of α -tubulin in fibroblasts derived from SMA patients. (第60回日本生化学会近畿支部例会 2013年5月18日 大阪大学吹田キャンパス, 要旨集 p73)
- (2) 中森正博, 大下智彦, 倉重毅志, 上弘貴, 越智一秀, 丸山博文, 西尾久英, 松本昌泰. 軽症で経過している SMN1 遺伝子新規点変異(c.5C>T)を認めた spinal muscular atrophy type III の16歳男性例. (第94回日本神経学会中国・四国地方会 2013年6月29日 松山市総合コミュニティセンター, *臨床神経学*, 54(1):73, 2014.
- (3) 久保祐二, 山本友人, 森川悟, 西尾久英, 中嶋秀樹, 大下智彦, 倉重毅志, 齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症患者における新たな SMN1 遺伝子単離法による新規遺伝子変異の同定. (第20回日本遺伝子診療学会大会 2013年7月20日 アクトシティ 浜松コンgresセンター 抄録集 p91)
- (4) Nurputra DK, Morita H, Nishio H, Tohyama Y. SMN is essential for the HDAC6 mediated tubulin-deacetylation in fibroblasts. (第61回日本生化学会近畿支部例会 日時: 2014年5月17日 京都産業大学, 要旨集 p43)
- (5) 山田博之, 西田吉伸, 松本貴子, 毎原敏郎, 山本友人, 西尾久英. SMN1 遺伝子 exon6 に frameshift 変異を認めた脊髄性筋萎縮症 1 型の一例. (第56回日本小児神経学会総会 2014年5月30日 アクトシティ浜松、脳と発達 46 巻 suppl. pS411, 2014)
- (6) Nurputra DK, Morita H, Tohyama Y, Nishio H. HDAC6, a new therapeutic target of SMA, work in the downstream pathway of cytoskeleton dynamics. (日本人類遺伝学会第59回大会 2014年

11月20日 タワーホール船堀、要旨集 p258)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

脊髄性筋萎縮症におけるバルプロ酸投与の臨床評価，
呼吸機能障害に対する理学療法の効果，ケトン体利用に関する研究
研究分担者 齊藤利雄 国立病院機構刀根山病院 神経内科・小児神経内科

研究要旨

稀少疾患での臨床試験，治験では，バイオマーカーや評価項目の選定が重要である．平成25年度は，脊髄性筋萎縮症(SMA)に対するバルプロ酸(VPA)投与の既報告の分析を，平成26年度は，SMAの呼吸機能障害に対する理学療法の効果の検討を，SMAでのケトン体利用に関する検討を行った．本検討での知見は，SMAにおける臨床試験，治験施行に資する．

共同研究者

山本洋史，宗重絵美，岩田裕美子，井下兼一郎，川村佳祐，久保美佳子，與那嶺春野，永山ひろみ，柳原慶子，高田祐斗，西園博章(国立病院機構刀根山病院 リハビリテーション科)，土江宜子，松井仁美(国立病院機構刀根山病院 治験管理室)，井上貴美子(国立病院機構刀根山病院神経内科・リハビリテーション科)，藤村晴俊，佐古田三郎(国立病院機構刀根山病院 神経内科)

平成25年度は，脊髄性筋萎縮症(SMA)におけるバルプロ酸(VPA)投与の既報告の分析を，平成26年度は，呼吸機能障害に対する理学療法の効果，ケトン体利用に関する検討を行った．以下に，各研究について記載する．

#1 SMAにおけるVPA投与の既報告の分析

A. 研究目的

SMAに対するVPA投与と医師主導治験でのプロトコル作成に資するため，既報告の分析を行う．

B. 研究方法

SMAに対しVPA投与を行った8報告を対象とし，Phase，対象病型，年齢，VPA投与量，投与期間，評価法，結果などをsummarizeした．(倫理面への配慮)既報告の検討であり，倫理的問題は生じない．

C. 研究結果 (表)

対象病型のほとんどは2,3型であった．年齢は小児から成人と幅広く1.5~45歳であった．

VPAの投与量は，抗てんかん薬での投与量，血中濃度を参考に決められていた．5つの報告では，カルニチンが併用されていた．二重盲検試験は1報告で，他報告はオープンラベルであった．薬剤投与期間は4週~1年であった．

6つの報告で，*SMN*転写あるいは蛋白レベルの評価がされていた．VPA投与で，*SMNmRNA*増加の報告が2例，蛋白量の増加の報告が1例あったが，他報告では変化はなかった．

運動機能は，Hammersmith Functional Motor Scale (HFMS)あるいはModified Hammersmith Functional Motor Scale for SMA (MHFMS)が5つの報告で用いられ，筋力評価も4つの報告で用いられていた．Weihlは3,4型患者での運動機能改善を報告したが，Darbarは，3型での

HFMSでの変化はなかったとしていた．一方，Swobodaは，2型の評価でMHFMSの改善は，5歳以下の小児に限るとし，さらに他報告で2-3歳のみに限られるとした．また，Saitoは，2歳症例でのMHFMS改善を報告した．

呼吸機能の改善を報告した報告は2報告であったが，うち1報告は，成長発達の影響も否定できない症例であった．

D. 考察

小児・成人両者を含む既報告の概観では，SMAに対するVPA投与の効果は一定していなかったが，小児例を中心に有効性の再評価を行う必要があると考えられる．しかしながら，SMAは稀少疾患であり，治験に当たってはコントロール設定に配慮が必要であること，小児対象であるので，投与期間，評価期間は，運動発達の影響も考慮し決定する必要があることなど，解決すべき課題がある．さらに，既存の評価法では検出できない程度の運動機能変化が検出できるような運動機能評価を中心とした臨床評価法の開発，バイオマーカー開発などが望まれる．

E. 結論

SMAに対するVPA投与の医師主導治験にあたっては，臨床評価法の開発，バイオマーカー開発が望まれる．

#2 SMA呼吸機能障害に対する理学療法の効果

A. 研究目的

SMAでは特に1型と2型は呼吸筋の筋力低下をきたす．その結果，睡眠時の低換気や胸郭と肺の発育不全，さらに喀痰に必要な咳嗽力が低下するため，気道感染症罹患時に急性増悪しやすい．これらのことから，SMA患者は呼吸ケア・マネージメントが必要である．呼吸理学療法において，肺活量(vital capacity; VC)と咳のピークフロー(cough peak flow; CPF)を測定することは喀痰能力を評価する上で重要である．本研究は，これらを経年的に追い，SMAにおける呼吸理学療法について考察することを目的とした．

B. 研究方法

過去10年間で理学療法を処方されたSMA患者39名(1型5名，2型20名，3型13名，4型1名)のうち，VCとCPFを継続的に測定できた2型19名(男性8名，女性11