

封入体筋炎としては非典型的な臨床経過を呈した

抗 cN1A 抗体陽性の炎症性筋疾患 6 例

研究協力者：森 まどか¹⁾

共同研究者：川添 僚也¹⁾ 西村 洋昭²⁾ 大矢 寧¹⁾

金井 雅裕¹⁾ 西川 敦子¹⁾ 池田 謙輔¹⁾

山本 敏之¹⁾ 西野 一三^{2), 3)} 村田 美穂¹⁾

1) 国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科

2) 同 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

A：研究目的

近年、封入体筋炎（inclusion body myositis, 以下 IBM）の診断的マーカーとして抗 cytosolic 5' nucleotidase 1A（以下 cN1A）抗体が注目されている。陽性症例を詳細に検討し、抗 cN1A 抗体の臨床的意義について検討した。

B：研究方法

IBM 診断基準として 2010 年封入体筋炎 (IBM) の臨床病理学的調査および診断基準の精度向上に関する研究班、および 2011 年 188th ENMC International Workshop 双方を満たす症例を IBM と診断した。当センター病院神経内科で「筋炎の統合的診断」プロジェクト研究に参加し、抗 cN1A 抗体を測定した 49 名のうち、抗体陽性症例について検討した。IBM 以外の臨床診断であった患者の初発症状、筋力、嚥下障害、合併疾患および治療

への反応性を検討した。抗 cN1A 抗体測定に関しては原著を参考に ERISA 法で行った[西村ら、投稿中]

（倫理面への配慮）

特になし

C：研究結果

7 例（男性 3, 女性 4）が該当した。ENMC および 2010 年 IBM 班双方を満たす症例は 1 例のみで、その他の最終診断は多発筋炎 3 例、抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチー 1 例、強皮症合併筋炎 1 例、筋サルコイドーシス 1 例だった。

IBM 以外の症例では、全例手指屈筋や大腿四頭筋の著明な筋力低下は認めなかった。多発筋炎 2 例、強皮症合併筋炎 1 例、筋サルコイドーシス症例の計 4 例は筋力低下に比して高度の嚥下障害を呈した。筋病理では全例 CD8 陽性炎症細胞浸潤を伴う HLA-ABC 抗体

の異所性発現を認めた。筋サルコイドーシス例のみ筋病理でサルコイド結節とともにごく少量の縁取り空胞を認めた。

一方 IBM の診断基準を満たす症例 7 例中、抗体陽性例は 1 例のみだった。炎症性筋疾患以外の症例群（筋ジストロフィー・ミオパチーなど）17 例では抗体陽性例は見られなかった。

D：考察

抗 cN1A 抗体は炎症性筋疾患のうち嚥下障害が強い症例に関係がある症例で陽性だったが、嚥下障害が強い症例の全例が陽性ではなく解釈には症例の蓄積が必要である。既報告との感度・特異度の相違および上記のような特異な経過をとった症例が存在する背景として、NCNP に集積する非典型的慢性筋疾患を調査の母集団としたことに起因する可能性がある。また、検査方法の相違も影響した可能性がある。

E：結論

抗 cN1A 抗体は高度の嚥下障害と関係がある可能性を考えた。IBM の診断ツールとしては感度・特異度も高いとは言えない。

F：健康危険情報

特になし

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

1. Mori-Yoshimura M, Oya Y, Yajima H, Yonemoto N, Kobayashi Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M: GNE myopathy: a prospective natural history

study of disease progression. *Neuromuscul Disord* 2014 May; 24(5):380–386.

2. Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Yonemoto N, et al.

Nationwide patient registry for GNE myopathy in Japan. *Orphanet J Rare Diseases* 2014 Oct;11:9:150 Oct

2：学会発表

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

特になし

封入体筋炎における選択的オートファジー

研究協力者：日下 博文¹⁾

共同研究者：中野 智²⁾、隠岐 光彬¹⁾

1) 関西医科大学 神経内科

2) 大阪市立総合医療センター 神経内科

A：研究目的

オートファジーは元来非選択的に細胞成分や細胞内小器官を分解する系であるが、ユビキチン化された蛋白質を選択的に分解する場合があります、選択的オートファジーと呼ばれる。選択的オートファジーでは p62/SQSTM1 が中心的役割を果たす。p62 はユビキチンの Lys63 を介してポリユビキチン化されたターゲット蛋白質をより選択的に認識する。また、p62 がポリユビキチン化蛋白質と強く結合するには、p62 の Ser403 がリン酸化されている必要がある。選択的オートファジーが封入体筋炎で病的筋線維に発現しているか検討した。

B：研究方法

封入体筋炎 8 例の生検筋クリオスタット切片で、Lys63-ubiquitin、Ser403 リン酸化 p62 を認識する抗体、通常の抗 p62 抗体、抗 LC3 抗体により、それらの分布を免疫組織化学的に検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は関西医科大学倫理委員会の指針に従った。また、本研究は大阪市立総合医療セ

ンターの倫理委員会の承認を得た。

C：研究結果

Lys63-ubiquitin、Ser403 リン酸化 p62 は空胞化筋線維やその他形態学的に異常な筋線維に陽性凝集体として発現していた。蛍光二重染色では、これらの陽性沈着物の分布は、通常の p62 陽性凝集体とよく一致した。また、p62 と LC3 の二重染色では、よく一致している部分もあったが、しばしば両者の分布が乖離していた。

D：考察

封入体筋炎筋線維の p62 陽性凝集体は、Ser403 がリン酸化され、Lys63 ユビキチンと共存している。このことから、封入体筋炎筋細胞では、選択的オートファジーが誘導されていると考えられる。しかし、p62 と LC3 凝集体の分布は完全には一致しなかった。この間の何らかの異常を反映したものと推定される。しかし、p62 を介さないオートファジーの存在や、発現の時間差の可能性も残る。

E：結論

1. 封入体筋炎では選択的オートファジーが異常筋線維に誘導されている。
2. p62-LC3 間の乖離は、この間の何らかの異常を反映したものと推定される。

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

1) 辰野健太郎, 中村聖香, 朝山 知子, 中野智
筋症状のみを呈した慢性ミオパチー型筋サル
コイドーシスの 1 例 臨床神経, 54 : 313-
316, 2014

2) Ayaki T, Ito H, Fukushima H, Inoue T,
Kondo T, Ikemoto A, Asano T, Shodai A,
Fujita T, Fukui S, Morino H, Nakano S,
Kusaka H, Yamashita H, Ihara M,
Matsumoto R, Kawamata J, Urushitani M,
Kawakami H, Takahashi R.

Immunoreactivity of valosin-containing
protein in sporadic amyotrophic lateral
sclerosis and in a case of its novel mutant.

Acta Neuropathol Commun. 2014 Dec
10;2(1):172. [Epub ahead of print]

2：学会発表

1) 隠岐光彬ほか 封入体筋炎における
Glutathione peroxidase 1/2 陽性封入体 第
55 回日本神経学会学術大会 2014 年 5 月 23
日 福岡市

2) 中野智ほか 封入体筋炎筋組織における
p62/sequestosome1 の発現と核貪食 第 55 回
日本神経学会学術大会 2014 年 5 月 22 日 福
岡市

3) 松本瑞樹、西川敦子、神吉理枝、森畑宏一、
中野智 抗ミトコンドリア抗体が陽性であつ
た抗 SRP 抗体陽性壊死性筋症の一例 第
101 回 日本神経学会 近畿地方会 2014 年
12 月 13 日 神戸市

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

当院蓄積症例による IBM と HTLV-1 感染との関連についての研究

研究協力者：樋口逸郎¹⁾

共同研究者：橋口昭大²⁾ 野妻智嗣²⁾ 松浦英治²⁾ 高嶋博²⁾

1) 鹿児島大学医学部保健学科理学療法学専攻 基礎理学療法学講座

2) 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経内科・老年病学

A：研究目的

鹿児島県は一般 HTLV-1 感染率が約 2%と全国で最も高い。当科における PM, DM, IBM において HTLV-1 感染と臨床像及び治療効果との関連を明らかにする。

B：研究方法

2004 年から 2014 年の間に鹿児島大学神経内科で精査され、臨床的、電気生理学的、筋組織学的に IBM, PM, DM と診断された 89 例について retrospective に HTLV-1 感染の有無で分けて比較検討した。

（倫理面への配慮）

筋生検を施行する際に、全例文書による同意・署名を取得した。同時に筋疾患における研究に検体を利用することに文書で同意・署名を得ている。

C：研究結果

診断された 89 例の内訳は、IBM 23 例、PM 26 例、DM 40 例であった。それぞれの HTLV-1 感染率は IBM 27.3%、PM 20.8%、DM 21.1% と一般陽性率の 10 倍以上高かった。HTLV-1 陽性 IBM 患者の平均発症年齢は 69.2 歳、陰性 IBM の平均発症年齢は 65.1 歳と有意差は

認められなかった。HTLV-1 陽性 IBM の発症から診断までに要した期間は平均 28.3 ヶ月で、陰性 IBM の 45.6 ヶ月と比較すると短かったが有意差はつかなかった。ステロイド治療の反応性は HTLV-1 感染の有無による違いは認められなかった。

D：考察

HTLV-1 陽性 IBM 患者の筋内膜には HTLV-1 特異的細胞傷害性 T リンパ球が浸潤しており、HTLV-1 陽性 IBM 患者の進行経過が陰性 IBM 患者の経過よりも速い傾向があり、HTLV-1 感染が病因に直接関与している可能性が残る。IBM のみならず PM, DM においても HTLV-1 感染率は高く、その炎症機序に HTLV-1 ウイルス感染が関与している可能性も示唆された。

E：結論

IBM を含む炎症性筋疾患において HTLV-1 感染率は一般人口感染率の 10 倍以上であった。HTLV-1 陽性 IBM は HTLV-1 陰性 IBM より発症から確定診断に至るまでの期間が短い傾向があった。HTLV-1 感染の有無に関係なく IBM のステロイド治療効果は乏しかった。

F：健康危険情報

なし

G：研究発表

1：論文発表

なし

2：学会発表

なし

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

骨格筋再生過程における Myostatin および関連蛋白の検討

研究協力者：村田顕也

共同研究者：高橋麻衣子、中山宜昭、森めぐみ、伊東秀文

和歌山県立医科大学 神経内科

A：研究目的

Myostatin (MSTN)は、骨格筋に特異的に発現する TGF β スーパーファミリーに属するサイトカインである。MSTN は、activin receptor IIB (ActR IIB)と結合後、Smad 依存性/非依存性経路を活性化し、筋分化や筋肥大を誘導する遺伝子群の発現を抑制し、筋線維萎縮を促す。

今回、私たちは、Cardiotoxin (CTX)による骨格筋損傷マウスモデルと炎症性ミオパチーの生検筋の筋再生過程における MSTN と ActR IIB の発現を病理学的に検討し、その臨床的意義を解明した。

B：研究方法

① 生後 8-12 週の C57BL/6 マウスの大腿内転筋群に CTX (10 μ M) を投与し、筋損傷マウスモデルを作製した。CTX 投与 1,2,3 週後に sacrifice し、損傷部の病理学的変化を、MSTN, ActRIIB, myosin-heavy chain slow (MHC-s), myosin-heavy chain developmental (MHC-d) 抗体を用い検討した。CTX の代わりに生食を投与したマウスを対照群とし同様の検討を行った。

②炎症性ミオパチー(封入体筋炎、皮膚筋炎)の生検筋を用いて同様の病理学的検討を行った。

C：研究結果

① 筋損傷モデル

CTX 非投与群：MSTN と ActR IIB は、Type 1 陰性の萎縮筋線維の筋細胞膜と筋細胞質に発現していた。(図 1)

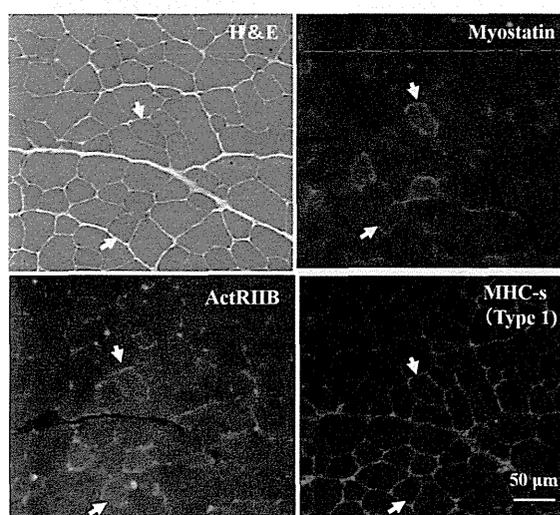


図 1. 正常対象の病理学的検討

CTX 投与群：CTX 損傷後 1 週間目には、MSTN と ActR IIB の発現は軽度であったが（図 2）、CTX 損傷後 3 週間目には、MSTN と ActR IIB は、MHC-d 陽性の再生過程の筋線維の内在核と筋細胞質に発現していた（図 3, 4）。

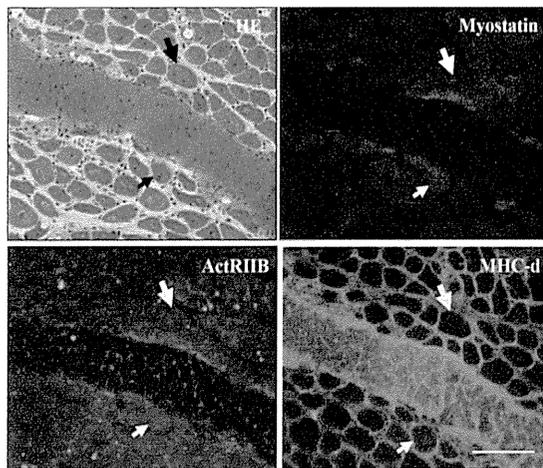


図 2 1week post CTX injury

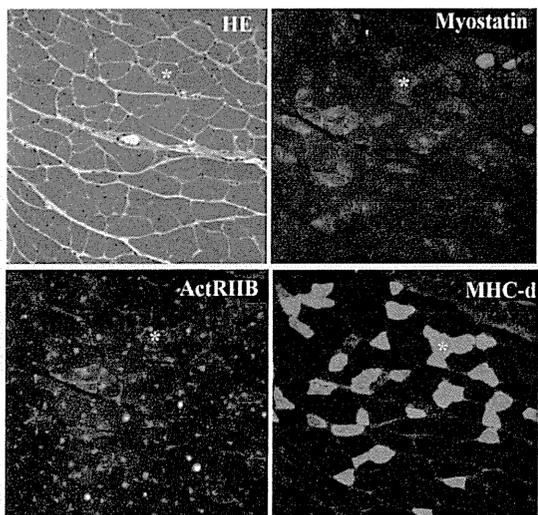


図 3 3week post CTX injury

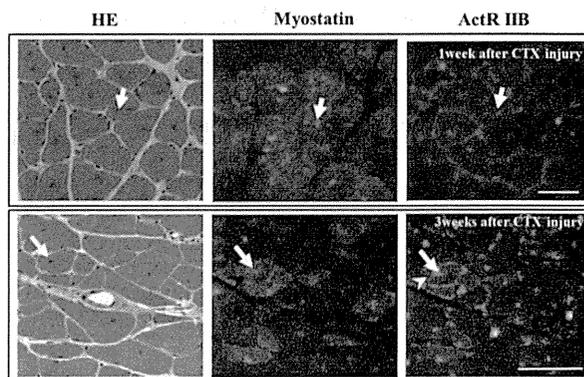


図 4 Post CTX injury

再生筋線維に占める MSTN 陽性線維の割合は損傷後の時期を問わず 42-49%であった。

また、ActR IIB 陽性筋線維は、常に MSTN 陽性を呈したが、再生筋線維に占める MSTN-ActR IIB 共陽性線維の割合は、損傷 1 週後は 8.4%、2 週後は 24.1%、3 週後は 18.3% と経時的に変化した（表 1）。

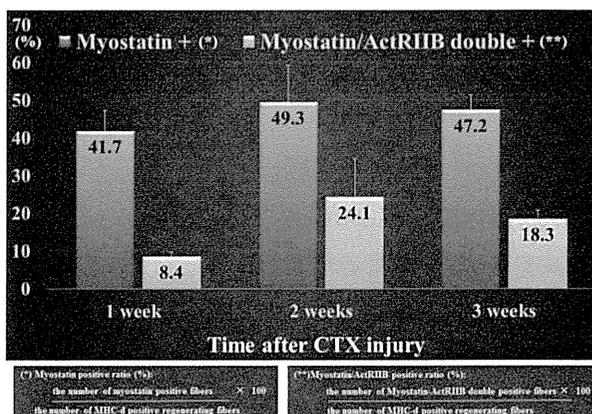


表 1 Myostatin, Myostatin/ActRIIB 陽性線維の割合

② 生検筋

s-IBM : MSTN と ActRIIB は、MHC-d 陽性の再生筋線維で発現していたが Rimmed-vacuole を有する筋線維では発現していなかった (図 5)。MHC-d 陰性の高度に萎縮した筋線維でも MSTN と ActRIIB は共陽性を示した (図 6)。

皮膚筋炎 : perifascicular atrophy を来した筋線維のうち、MHC-d 陰性の萎縮筋線維において MSTN と ActRIIB は共陽性を示した (図 7)

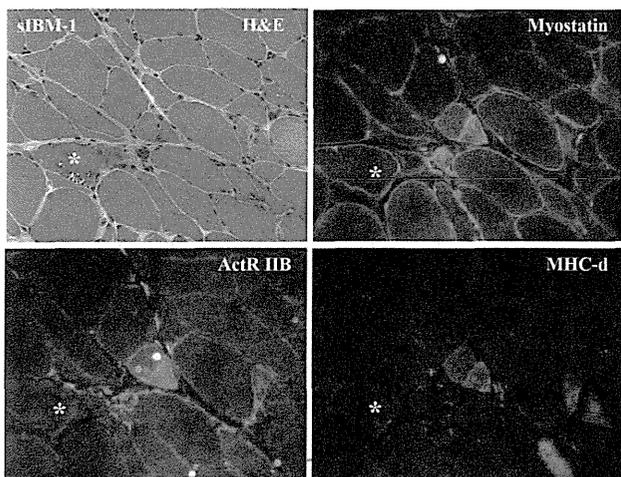


図 5 s-IBM

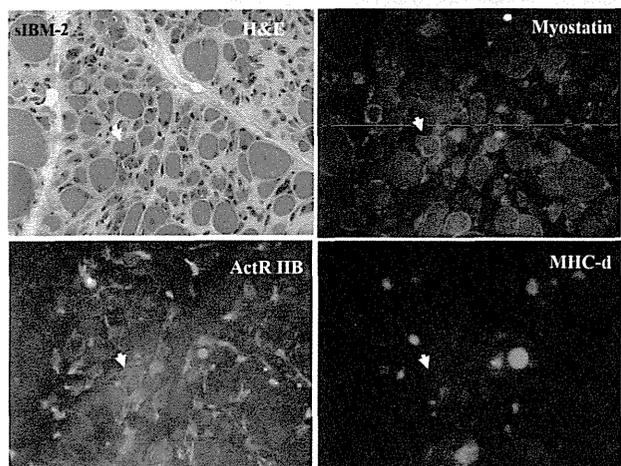


図 6 s-IBM (高度萎縮部分)

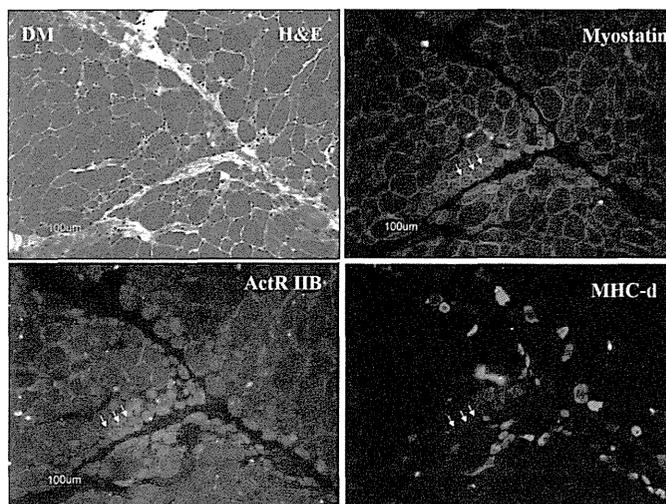


図 7 皮膚筋炎

【考察】

Myostatin (MSTN)は、骨格筋に特異的に発現する TGF β スーパーファミリーに属するサイトカインで、activin receptor IIB(ActR IIB)と結合後、Smad 依存性/非依存性経路を活性化し、筋分化や筋肥大を誘導する遺伝子群の発現を抑制し筋萎縮を促す (図 8)。

MSTN は、Type 2 線維に発現するとの既報告はあるが、その受容体である ActRIIB の局在についての報告はなされていない。

今回の CTX の筋損傷モデルから、筋再生時の MSTN と ActRIIB の発現パターンは、経時的に変化し、MSTN と ActRIIB は必ずしも同一の筋線維に発現するとは限らず、double-positive 線維の割合が経時的に変化することが判明した。

また、生検筋の検討から、MHC-d 陽性再生筋線維は、MSTN 陽性と陰性群に大別され、MSTN 陽性群は更に ActR IIB 陽性と陰性群に大別された。一方、MHC-d 陰性線維は、筋萎縮を免れた MSTN 陽性・ActR IIB 陰性 Type 1 線維と MSTN 陽性・ActR IIB 陽性筋線維に大別できた。この MSTN ActR IIB double positive 線維は、皮膚筋炎の perifascicular atrophy や sIBM の高度の萎縮した筋線維で発現していた。(図 9)

以上のことから、筋傷害後、再生過程にある筋線維でまず、MSTN が発現し、その後 ActR IIB が発現した筋線維が最終的に萎縮に陥ることが推測された。

E：結論

MSTN と ActR IIB は筋線維萎縮に関係しているが再生過程の筋線維における両者の発現は必ずしも一致していない。筋萎縮の進行の予測には共陽性再生筋線維の割合を検討することが重要である。

Myostatin および関連蛋白の発現パターン

	1	2	3	4
Myostatin	—	+	+	＋～±
ActR IIB	—	-/+	—	+
MHC-d	+	+	—	—

再生筋線維 萎縮を免れた Type 1筋線維 高度な萎縮筋線維 (perifascicular atrophy)

F：健康危険情報

なし

G：研究発表

論文発表

村田顕也, 伊東秀文：封入体筋炎の病態と原因.

Brain and Nerve 66, 1385-1394, 2014

H：知的所有権の取得状況（予定を含む）

1：特許取得 2：実用新案登録

3：その他 なし

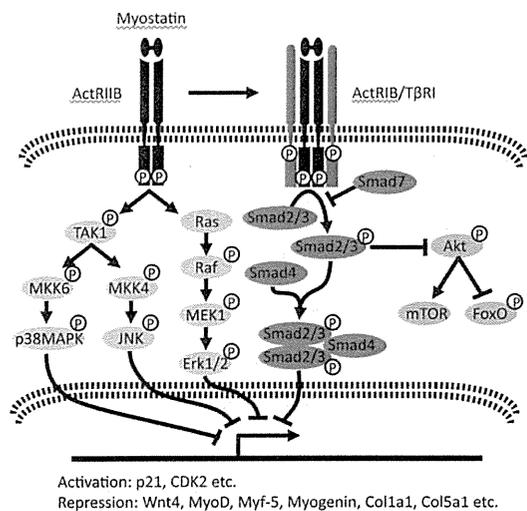


図 8 Myostatin と ActRIIB の作用機序

孤発性封入体筋炎における抗 NT5C1A 抗体の測定意義と

病態への関与に関する検討

研究協力者：山下 賢

共同研究者：俵 望、西上 朋、道鬼 つかさ、松尾 圭将、
前田 寧、安東 由喜雄

熊本大学大学院医学薬学研究部 神経内科学分野

A：研究目的

孤発性封入体筋炎（sIBM）は炎症性筋疾患に分類されているが、sIBM の骨格筋筋質内にはアミロイドβや TDP-43、タウなどアルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症と共通する蛋白凝集がみられることや、多発性筋炎（PM）や皮膚筋炎（DM）と異なり免疫抑制剤による治療に対する治療反応性が非常に乏しく、筋萎縮が進行していくことなどから神経変性疾患と共通の病態を持つことが推察されている。しかし、炎症性疾患としての側面と変性疾患としての側面とのつながりを十分に説明する機序は未だ明らかにされていない。sIBM の炎症性筋疾患としての側面における新たな発見として、2013 年に Larman ら¹⁾、Pluk ら²⁾ の 2 つの異なるグループより sIBM 患者血清において Cytosolic 5' -nucleotidase 1A（NT5C1A）に対する自己抗体が存在するとの報告がなされた。Larman らは Dot blot assay 法を用いた抗体測定を行い、カットオフ値を 10IU と定めた場合の sIBM 診断の感

度は 34%、特異度は 98%であると報告した。抗 NT5C1A 抗体測定はその特異性の高さから sIBM の診断に非常に有用である可能性がある。またこの抗体が標的とする NT5C1A が sIBM の骨格筋において核周囲に存在するという病理像などから、NT5C1A が sIBM の炎症性病態と変性病態とをつなぐ鍵になりうる分子として注目されている。しかしながら抗 NT5C1A 抗体や NT5C1A が sIBM の病態にいかんして関与しているかは十分な検討がなされていない。本研究では、sIBM 患者における抗 NT5C1A 抗体の測定意義とその病態への関与を解明することを目的とする。

B：研究方法

1) 抗 NT5C1A 抗体測定

sIBM 患者 13 例、炎症性筋疾患（PM もしくは DM）10 例、炎症性筋疾患以外の筋疾患 10 例、神経原性筋萎縮疾患 10 例、健常者 5 例の計 53 例の血清について、Cell-based assay 法を用いて抗 NT5C1A 抗体の

定性的評価を行い、sIBM の診断における感度、特異度の検討を行った。Cell based assay 法は Cos7 細胞に GFP 標識 NT5C1A 過剰発現ベクターを遺伝子導入後、一次抗体に患者および健常者血清、二次抗体に抗ヒト IgG 抗体を用い、蛍光顕微鏡観察にて評価した。

2) sIBM での NT5C1A の局在検討

sIBM 11 例の凍結骨格筋生検組織標本について、抗 NT5C1A 抗体 (abcam 社) を用いて免疫組織化学染色を行い、NT5C1A の局在について検討した。また筋線維タイプ毎の局在を明らかにするためにタイプ 2 線維のマーカーである抗 Fast myosin heavy chain 抗体 (abcam 社) との二重蛍光免疫組織化学染色を行った。また蛋白分解経路との関連を検討するため、抗 p62 抗体 (MBL 社) との二重蛍光免疫組織化学染色を行った。

3) 抗 NT5C1A 抗体陽性例での臨床像および筋病理像

抗体陽性群と抗体陰性群について臨床像および筋病理像の比較を行った。

4) 活性型 AMP activated kinase の発現検討
また筋萎縮や蛋白分解経路と NT5C1A が関連する機序について、活性型 AMP activated kinase (P-AMPK) について抗体陽性、陰性群でウェスタンブロット法による蛋白発現量の比較を行った。

(倫理面への配慮)

検体採取時に研究試料に用いることについて患者からの同意を得ており、研究結果については匿名性に留意した。

C : 研究結果

1) 抗 NT5C1A 抗体の sIBM 診断における感

度、特異度

sIBM 患者血清 13 症例のうち 4 症例が抗 NT5C1A 抗体陽性 (Figure.1) を示し、その他 40 例は陰性であった。sIBM 診断における抗 NT5C1A 抗体測定感度は 30.8%、特異度は 100% であった。(Table.1)

Figure.1 抗 NT5C1A 抗体陽性、陰性代表例

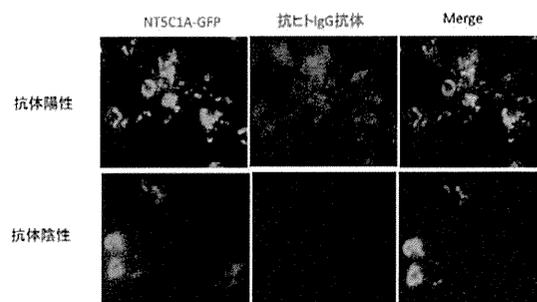


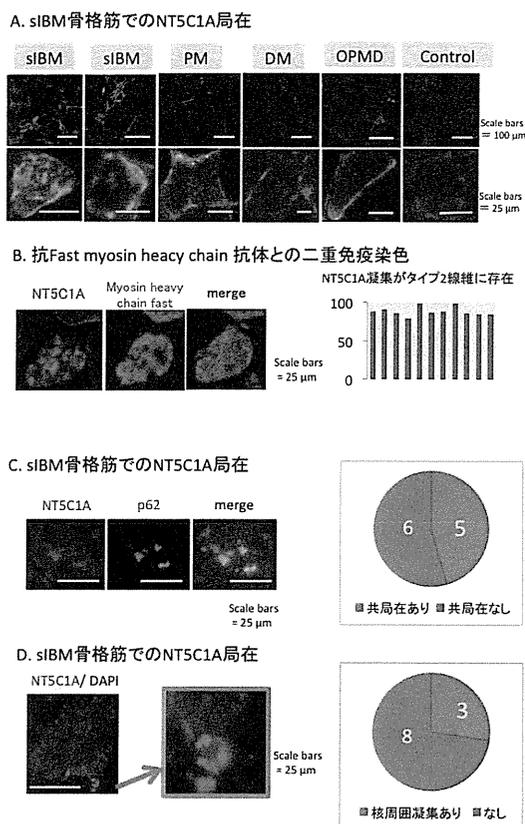
Table.1 抗 NT5C1A 抗体の疾患別陽性率

	sIBM	PM/DM	その他の筋疾患	神経原性筋萎縮疾患	Control
抗NT5C1A抗体陽性	4/13	0/10	0/10	0/15	0/5
陽性率 (%)	30.8	0	0	0	0

2) sIBM での NT5C1A の局在

NT5C1A は sIBM 骨格筋 11 例全例で小径化した筋線維の筋形質および筋形質膜に凝集して発現していた (Figure. 2A)。sIBM では非特異的な所見であるがタイプ 2 線維萎縮が強いと報告されており³⁾、今回 NT5C1A 凝集を認めた線維がタイプ 2 線維である可能性を考え、抗 Fast myosin heavy chain 抗体との二重免疫染色を行った結果、NT5C1A 凝集がみられた線維は高率にタイプ 2 線維に一致した (Figure. 2B)。p62 は封入体筋炎の病理学的マーカーの一つであり、その筋形質内凝集は蛋白分解経路の障害を示唆すると考えられているが、NT5C1A が p62 と共局在をとるものが 5/11 例で認められた (Figure. 2C)。また核周囲に凝集を認めるものが 3/11 例で認められた (Figure. 2D)。

Figure.2 sIBM 筋における NT5C1A の局在



3) 抗 NT5C1A 抗体陽性例での臨床像および筋病理像比較

発症年齢や診断までの罹病期間、男女比、諸初時自覚症状が上肢から始まった比率について差はみられなかった。有意な差ではなかったものの、抗体陽性 sIBM では嚥下障害の合併頻度が高い傾向と CK 値がより低値である傾向がみられた (Table. 2)。抗体陽性例の病理像においては縁取り空胞頻度や炎症細胞浸潤の程度、コンゴレッド染色陽性線維の有無には明らかな差は認められなかったが、有意にタイプ 2 線維の平均面積が小さかった。また NT5C1A が p62 との共局在をとるものや、核周囲に凝集するパターンは抗体陽性例で多い傾向がみられた (Table.3)。

4) 活性型 AMP activated kinase の発現検討

抗体陽性例で AMPK 発現は高い傾向があり、NT5C1A 発現量は低い傾向にあった。(Figure.3)

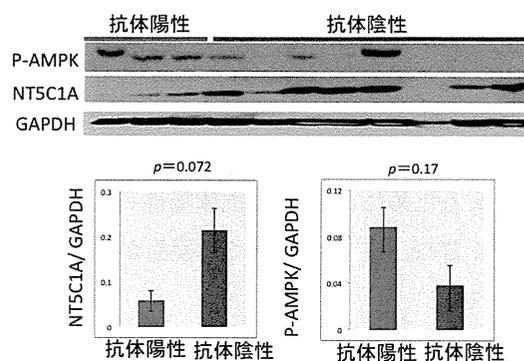
Table.2 抗 NT51A 抗体と臨床像の関連性

	抗体陽性 N=4	抗体陰性 N=9	p value
発症時年齢 (歳)	67.2 ± 5.3	64.8 ± 4.3	0.74
診断時年齢 (歳)	73.0 ± 3.2	72.3 ± 3.1	0.90
診断までの罹病期間 (年)	5.8 ± 2.8	7.5 ± 1.9	0.61
男性比率 (%)	75.0	66.7	0.79
初発症状上肢 (%)	25.0	33.3	0.78
嚥下障害 (%)	50.0	22.2	0.36
CK値 (IU/l)	379 ± 65.7	967.2 ± 241.3	0.14

Table.3 抗 NT51A 抗体と病理像の関連性

	抗体陽性 N=3	抗体陰性 N=8	p value
縁取り空胞頻度	6.1 ± 2.8	4.3 ± 3.9	0.56
炎症細胞浸潤程度 強	100.0	66.6	0.21
コンゴレッド染色陽性 (%)	0	22.2	0.35
NT5C1Aがp62と共局在 (%)	100	37.5	0.073
NT5C1Aが核周囲 (%)	66.7	12.5	0.085
タイプ2線維平均面積 (μm ²)	924.9 ± 184.2	2067.2 ± 326.7	0.049

Figure.3 抗体陽性陰性例での活性型 AMPK 発現比較



D : 考察

1.抗 NT5C1A の感度・特異度

今回の検討での抗 NT5C1A 抗体の sIBM 診

断における感度、特異度はそれぞれ 30.8%、100%となり、dot blot assay を用いた Larman ら⁷⁾、免疫沈降法を用いた Pluk ら⁸⁾の既報告の感度、特異度と同程度の結果であった。今回少数規模での評価ではあるものの特異性の高い結果となり、診断に有用である可能性が示された。また Greenberg によれば sIBM 患者血清中には IgG 型抗 NT5C1A 抗体のみでなく、IgA、IgM 型抗体も存在しており、IgG、IgM、IgA 型の 3 つのサブタイプの抗 NT5C1A 抗体測定の前併用により sIBM 診断感度を 76% まで高めることができると報告している⁹⁾。本検討ではこれまでの検討と異なり Cell based assay 法による評価を行った。抗 AQP4 抗体や抗体測定においては Cell based assay 法は ELISA 法に比べ感度が高いことが示されている¹⁰⁾。今後 sIBM の診断に抗 NT5C1A 抗体を用いるためには、各種検査法毎の感度・特異度の比較が重要と考えられる。今回抗 NT5C1A 抗体測定は定性的な評価のみであったため、今後血清希釈による半定量的な抗体価測定を予定している。また本邦 Nishimura らの ELISA 法を用いた検討では、PM 症例、抗 SRP 抗体陽性ミオパチーにおいて抗 NT5C1A 抗体陽性例を多く認めたと報告されており、その特異性についてはさらなる検討が必要であるとしている⁶⁾。Cell based assay 法においても同様の結果となるかどうかを検討するために、抗 SRP 抗体陽性ミオパチーを多く含む、より大規模での検討が必要と考えられる。

2. NT5C1A の局在からの病態推察

NT5C1A は sIBM 骨格筋の筋形質および筋形質膜で凝集するように存在しており、一部では核周囲での凝集や p62 との共局在がみられた。Larman らの報告においても核周囲での

NT5C1A 凝集は確認されており、従来から推察されている sIBM における核変性との関与⁷⁾を疑う所見であるとしている。また縁取り空胞部分の辺縁部分での凝集を認めたとも報告しており、今回明らかとなった p62 との共局在からも NT5C1A が蛋白分解経路に影響を及ぼしていることが推察され、今後より詳細な検討が必要である。NT5C1A 凝集および筋形質膜での高発現線維がタイプ 2 線維に高頻度に一致したという報告はこれまでにない。凝集蛋白は本来の機能を発揮していない可能性があり、NT5C1A 凝集はタイプ 2 線維での核酸代謝に影響を与える可能性があると考えられた。また Sugarman らによれば sIBM 筋線維でみられるアミロイド前駆蛋白凝集はタイプ 2 線維にみられると報告している⁸⁾。アミロイド前駆蛋白と NT5C1A の関連性についても今後の検討が必要である。

3. 抗 NT5C1A 抗体陽性 sIBM の臨床像および病理像

Larman らの報告では 47 例の抗 NT5C1A 抗体陽性 sIBM 患者の年齢、罹病期間、手指屈曲筋力、膝伸展筋力と抗体活動性は相関せず、抗核抗体陽性、抗 Ro 抗体、抗 La 抗体陽性とも関連しなかったとしている⁷⁾。Goyal らによる sIBM 15 例(9 例抗 NT5C1A 抗体陽性)の検討では嚥下障害が有意に高頻度(抗体陽性例 6/9 vs 抗体陰性例 1/6, p 値<0.01)、発症年齢が若い傾向があることが示されており⁹⁾、嚥下障害についての結果は今回の我々の検討とも一致している。より多数例での解析が必要であるが、sIBM 剖検症例での罹患筋毎の抗原量の違い等を検討することが、sIBM の一つの特徴である罹患筋選択性の機序解明に必要であろう。抗体陽性と筋病理像との関連についてはこれまでに検討されていない。今

回我々の検討では抗体陽性例でタイプ 2 線維萎縮が強かった。タイプ 2 線維萎縮は sIBM 特異的な所見ではなく、加齢、ステロイドミオパチー、廃用性筋萎縮、悪液質などでもみられる所見である。しかし Parker らによれば PM、DM 症例と比較して sIBM ではタイプ 2 線維萎縮が強く、蛋白質質量解析では Myosin heavy chain 1 などのタイプ 2 線維の構成蛋白質が減少していると報告している³⁾。このことから sIBM ではタイプ 2 線維萎縮をより増悪させる病態が存在することが推察される。NT5C1A および筋萎縮や蛋白分解経路の双方と関連が報告されている活性型 AMP activated kinase (P-AMPK) の発現量を抗体陽性陰性例で比較したところ抗体陽性例で蛋白発現量が高い傾向がみられた。Kulkarni らは NT5C1A の発現抑制 AMPK を活性化させると報告しており¹⁰⁾、また P-AMPK は筋萎縮を誘導するマイオスタチンの発現を上昇させるとの報告もある¹¹⁾。また AMPK はオートファジーを負に制御する mTOR を抑制することが知られている。こういったことと NT5C1A の機能低下や発現量低下は P-AMPK を介して筋萎縮や蛋白分解経路に関連する可能性があると考えられる。また最近の報告では P-AMPK は筋萎縮性側索硬化症でみられる TDP-43 の異所性局在にも関連するとされており¹²⁾ sIBM でもみられる筋形質内での TDP-43 凝集と NT5C1A との関連についても今後検討が必要である。

E : 結論

抗 NT5C1A 抗体は sIBM 診断において高い特異度を有し、診断に有用である可能性が示された。今後より大規模での検討が本邦でも必要と考えられる。抗 NT5C1A 抗体陽性

sIBM では AMPK の活性化を介して、筋萎縮や蛋白分解経路の障害を生じていることが示唆された。

参考文献

- 1) Larman HB, Salajegheh M, Nazareno R, Lam T, Sauld J, Steen H, Kong SW, Pinkus JL, Amato AA, Elledge SJ, Greenberg SA. Cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoimmunity in sporadic inclusion body myositis. *Ann Neurol*. 2013 Mar; 73(3): 408-18.
- 2) Pluk H, van Hoeve BJ, van Dooren SH, Stammen-Vogelzangs J, van der Heijden A, Schelhaas HJ, Verbeek MM, Badrising UA, Arnardottir S, Gheorghe K, Lundberg IE, Boelens WC, van Engelen BG, Pruijn GJ. Autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in inclusion body myositis. *Ann Neurol*. 2013 Mar; 73(3): 397-407.
- 3) Parker KC, Kong SW, Walsh RJ; Bch, Salajegheh M, Moghadaszadeh B, Amato AA, Nazareno R, Lin YY, Krastins B, Sarracino DA, Beggs AH, Pinkus JL, Greenberg SA. Fast-twitch sarcomeric and glycolytic enzyme protein loss in inclusion body myositis. *Muscle Nerve*. 2009 Jun; 39(6): 739-53.
- 4) Greenberg SA. Cytoplasmic 5'-nucleotidase autoantibodies in inclusion body myositis: Isotypes and diagnostic utility. *Muscle Nerve*. 2014 Oct; 50(4): 488-92
- 5) Waters PJ, McKeon A, Leite MI, Rajasekharan S, Lennon VA, Villalobos A, Palace J, Mandrekar JN, Vincent A, Bar-Or A, Pittock SJ. Serologic diagnosis of

NMO: a multicenter comparison of aquaporin-4-IgG assays. *Neurology*. 2012 Feb 28; 78(9): 665-71

6) Nishimura H, Suzuki S, Noguchi S, Uruha A, Mitsuhashi S, Hayashi Y.K, Nonaka I, Nishino I. The utility of anti-cN1A autoantibody for the diagnosis of sporadic inclusion body myositis. *Neuromuscul Disord*. Volume 24, Issues 9-10, October 2014, Pages 815 19th International Congress of The World Muscle Society

7) Nishii M, Nakano S, Nakamura S, Wate R, Shinde A, Kaneko S, Kusaka H. Myonuclear breakdown in sporadic inclusion body myositis is accompanied by DNA double strand breaks. *Neuromuscul Disord*. 2011 May; 21(5): 345-52

8) Sugarman MC, Kitazawa M, Baker M, Caiozzo VJ, Querfurth HW, LaFerla FM. Pathogenic accumulation of APP in fast twitch muscle of IBM patients and a transgenic model. *Neurobiol Aging*. 2006 Mar; 27(3): 423-32.

9) Goyal N, Pedouim F, Alam U, Enam S, Mozaffar F, Mozaffar T. Clinical patterns in NT5C1A antibody positive sporadic inclusion body myositis patients compared to seronegative patients. *Neurology* April 8, 2014 vol. 82 no. 10 Supplement S26.007

10) Kulkarni SS, Karlsson HK, Szekeres F, Chibalin AV, Krook A, Zierath JR. Suppression of 5'-nucleotidase enzymes promotes AMP-activated protein kinase (AMPK) phosphorylation and metabolism

in human and mouse skeletal muscle. *J Biol Chem*. 2011 Oct 7; 286(40):34567-74.

11) Das AK, Yang QY, Fu X, Liang JF, Duarte MS, Zhu MJ, Trobridge GD, Du M. AMP-activated protein kinase stimulates myostatin expression in C2C12 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Oct 12; 427(1): 36-40.

12) Liu YJ, Ju TC, Chen HM, Jang YS, Lee LM, Lai HL, Tai HC, Fang JM, Lin YL, Tu PH, Chern Y. Activation of AMP-activated protein kinase $\alpha 1$ mediates mislocalization of TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet*. 2015 Feb 1; 24(3): 787-801.

F : 健康危険情報

なし

G : 研究発表

1 : 論文発表

1) Hori H, Yamashita S, Tawara N, Hirahara T, Kawakami K, Nishikami T, Maeda Y, Ando Y. Clinical features of Japanese patients with inclusion body myositis. *J Neurol Sci*. 2014 Nov 15; 346 (1-2) 133-137

2) Yamashita S, Mori A, Nishida Y, Kurisaki R, Tawara N, Nishikami T, Misumi Y, Ueyama H, Imamura S, Higuchi Y, Hashiguchi A, Higuchi I, Morishita S, Yoshimura J, Uchino M, Takashima H, Tsuji S, Ando Y. Clinicopathological features of the first Asian family having vocal cord and pharyngeal weakness with distal myopathy due to a MATR3 mutation. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2014 Sep 4.

[Epub ahead of print]

2 : 学会発表

- 1) Yamashita S, Kawakami K, Nishikami T, Tawara N, Y. Maeda Y. Ando Y. Analyses of the pathogenesis in muscle-specific wild-type TDP-43 transgenic mice. 19th International Congress of The World Muscle Society. Oct 8-11, 2014, Berlin, Germany.
- 2) Tawara N, Yamashita S, Nishikami T, Kawakami K, Tawara A, Hori H, Hirahara T, Maeda Y, Ando Y. World muscle society congress 2014 Cytoplasmic 5'-nucleotidase 1A are aggregated in type 2 fiber in sporadic inclusion body myositis. 19th International Congress of The World Muscle Society. Oct 8-11, 2014, Berlin, Germany.
- 3) Nishikami T, Yamashita S, Tawara N, Mori A, Hori H, Hirahara T, Maeda Y, Ando Y. The first Asian family having vocal cord and pharyngeal weakness with distal myopathy due to a MATR3 mutation. 19th International Congress of The World Muscle Society. Oct 8-11, 2014, Berlin, Germany.
- 4) 山下賢、川上賢祐、西上朋、俵望、安東由喜雄 筋特異的な TDP-43 発現による IBM モデルマウス作製と病態解析 第 55 回日本神経学会学術大会 May 21-24,2014,福岡
- 5) 俵望, 山下賢, 西上朋, 川上賢祐, 前田寧, 安東由喜雄 孤発性封入体筋炎の自己抗原 NT5C1A はタイプ 2 線維に凝集している 第 55 回日本神経学会学術大会 May 21-24,2014,福岡
- 6) 西上朋、山下賢、俵望、森麗、西田泰

- 斗、内野克尚、永利聡仁、栗崎玲一、中西俊人、堀寛子、平原智雄、渡邊聖樹、上山秀嗣、山下太郎、前田寧、安東由喜雄 アジア初の声帯および咽頭麻痺を伴う遠位型ミオパチー (MPD2/ VCPDM) の 1 家系 2 症例に関する多角的検討 第 55 回日本神経学会学術大会 May 21-24,2014,福岡
- 7) 山元雅典、俵望、山下賢、児玉美里、中村ひとみ、西上朋、川上賢祐、安東由喜雄封入体筋炎における Cyldromatosis 蛋白発現の検討 第 55 回日本神経学会学術大会 May 21-24,2014,福岡

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

骨 Paget 病と痙性対麻痺を併発した *VCP* 遺伝子変異による

ミオパチーの 1 例

研究協力者：梶 龍児¹⁾

共同研究者：松井尚子¹⁾、宮本亮介¹⁾、久米広大²⁾、鎌田正紀²⁾、
綾木 孝⁴⁾、和泉唯信¹⁾、西野一三³⁾、川上秀史⁵⁾、

- 1) 徳島大学神経内科
- 2) 香川大学神経内科
- 3) 国立精神神経医療研究センター病院
同神経研究所 疾病研究第一部
- 4) 和歌山県立医科大学神経内科
- 5) 広島大学原爆放射線医科学研究所分子疫学研究分野

A：研究目的

縁取り空胞を伴うミオパチー、骨 Paget 病と前頭側頭型認知症を呈する常染色体優性遺伝性疾患(inclusion body myopathy associated with Paget's disease of bone and frontotemporal dementia：IBMPFD)は多彩な表現型を呈することが知られている。痙性対麻痺が目立つ IBMPFD を経験したので、*VCP* 遺伝子の新たな側面について検討する。

B：研究方法

VCP 遺伝子変異を認めた縁取り空胞を伴うミオパチーの症例を報告する
(倫理面への配慮)
遺伝子診断は書面による同意を得て実施した。

C：研究結果

63 歳男性。58 歳時骨 Paget 病。父親が認知

症。

58 歳頃より、歩行時に足をするようになった。歩行障害は緩徐に進行し、はさみ足歩行になった。63 歳時精査目的で入院。入院時、認知機能は正常 (HDS-R 30/30、MMSE 30/30、FAB17/18)。脳神経系に異常なし。右長母趾伸筋が MMT 4 と低下していたが、その他の筋では筋力低下は認めず。Fasciculation も認めなかった。下肢の腱反射は亢進、両側に足クローヌスを認め、Babinski 徴候は両側で陽性。起立は可能であるが、痙性歩行で、継ぎ足歩行は不能。Romberg 徴候陰性。感覚系と自律神経系には異常なし。血液検査では血清 CK 値は正常。頭部および頸胸椎 MRI に異常なし。四肢 MRI では大腿四頭筋の外側広筋に T2 強調像で高信号域を認めた。前腕手指屈筋群に異常は認めなかった。脳 SPECT では頭頂葉、後部帯状回に血流低下あり。針筋電図

では、僧帽筋、上腕二頭筋に early recruitment あり、大腿四頭筋、前脛骨筋に fibrillation、positive sharp wave、MUP 持続時間延長を認めた。大腿四頭筋より施行した筋生検では、筋線維の大小不同に加え rimmed vacuole が認められた。免疫染色では筋線維内や核で TDP-43 が濃染された。遺伝子検査にて、VCP 遺伝子のミスセンス変異 (R159H) を認めた。

D : 考察

本例は骨 Paget 病、縁取り空胞を伴うミオパチー、痙性対麻痺を呈し VCP 遺伝子変異を認めたため、IBMPFD と診断した。IBMPFD ではミオパチーの頻度が多く、前頭側頭型認知症は 10 年ほど遅れることが報告されている¹⁾。また、VCP 遺伝子異常を伴う IBMPFD の筋病理像では、リンパ球浸潤は乏しく、神経原性変化と縁取り空胞を認めたとする報告が多い。本例では、痙性対麻痺が目立つ以外の臨床像や病理像については既報告と類似していた。VCP は Stumpellin と結合し、Stumpellin は IBMPFD の筋線維に凝集体を形成することが知られている²⁾。本例でも免疫染色により一部の筋線維が Stumpellin でび漫性に染色されていた。Stumpellin は SPG8 の原因遺伝子であり、VCP 遺伝子変異が Stumpellin の機能に影響し、痙性対麻痺優位の臨床像を呈した可能性がある。

文献

- 1) Weihl CC, et al. Neuromuscul Disord 2009
- 2) Clemen CS, et al. Brain 2010

E : 結論

縁取り空胞を伴うミオパチーでは、VCP 遺伝

子変異の検討が重要である。

F : 健康危険情報

特になし

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

特になし

2 : 学会発表

特になし

H : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1 : 特許取得

特になし

2 : 実用新案登録

特になし

3 : その他

「希少難治性筋疾患に関する調査研究」の研究協力として行う
遠位型ミオパチーのQOL維持・向上を目指した
ガイドライン作成の為の研究協力報告書（平成26年度版）

研究協力者：辻 美喜男¹⁾

共同研究者：矢島 寛之²⁾ 小川 順也²⁾ 勝田 若奈²⁾

1) NPO 法人 PADM 遠位型ミオパチー患者会 代表

2) 国立精神神経医療研究センター病院

身体リハビリテーション部 理学療法士

研究要旨

本研究協力は、国内患者数が数百人と言う超希少疾病である遠位型ミオパチーの患者団体と当該疾患における専門家とが手を組み、科学的根拠に基づき、系統的な手法により作成する「遠位型ミオパチーのQOL維持・向上を目指したガイドライン」に向けた取り組みとして、平成26年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

「希少難治性筋疾患に関する調査研究」班（研究代表者：青木正志 東北大学大学院医学系研究科 神経内科教授）への研究協力として行う。

現時点では遠位型ミオパチーに則した福祉用具やリハビリテーションの適切なアプローチを助ける体系的な指導的情報は存在しない。ましてや時間とともに進行・変化する障害状況に対応する術はなく、一般的な福祉行政・福祉機器メーカーの情報と個別の患者・家族らによる知恵と工夫に頼っているのが現状であり、そうした英知が集約されずに闇に葬られたままとなっている。

それに加え、症状の進行都度深刻化する障害への対応が必要であり、進行都度の状況にうまく対応できなかった場合、必要以上の筋肉疲労や事故による怪我、過少な筋肉使用による進行の加速、介護状況・就労環境の不对応・将来への不安などにより、就労機会の喪失・家庭内不和・地域内孤立などが容易に発生する状況にあることは否めない。

これら負の状況を未然に防ぐ為にも、疾患に根差した情報を社会資源として共有し、同じ疾患に苦しむ全世界の患者が利活用できるガイドラインの意義は計り知れず、初年度は医師や患者だけではなく、理学療法士・作業療法士・福祉機器業者と患者レジストリのデータ収集・分析を行う研究班とのコラボレーションにより本研究協力を行うものである。

A. 研究目的

遠位型ミオパチーは国内には代表的なものとして、縁取り空胞型・三好型・眼咽頭遠位型の3つの型がある。縁取り空胞型については、治療法開発として国立精神・神経医療研究センターで研究成果(Nat Med. 2009 Jun;15(6):690-5)があがり、東北大学で2011年から治験(ClinicalTrials.gov: NCT01236898)がスタートしている。しかし、患者数が数百名という超希少疾病であるため、資金的な問題などから思うようには進まない現状がある。そのような状況の

中、治療薬ができるまでの間、患者は少しでも筋肉を残しておきたいと祈るような思いで日々を送っている。

治療法・治療薬の開発、根本治療には科学の進歩と長い時間が必要であり、本研究の究極的な目的はそれまでを繋ぐ遠位型ミオパチー患者のQOL維持・向上である。その為には進行を少しでも遅らせる適切なリハビリテーションや福祉機器の効果的な活用が重要となるが、この病気に詳しい理学療法士等はほとんどいないと言っても過言ではなく、全国に散らばっている患者が