

治験推進のための臨床基盤整備の研究班との連携は、他の稀少疾患の研究推進のモデルにもなる。

E. 結論

筋強直性ジストロフィー患者登録システムを開始した。オンラインシステム稼働に伴い多施設共同による運営を目指す。登録推進のための広報活動を筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班と協力し実施中である。さらに登録システムを基盤とした疫学研究・臨床研究を筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班と協力し準備中である

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Matsumura T, Kimura T, Kokunai Y, et al. A simple questionnaire for screening patients with myotonic dystrophy type 1. *Neurology and Clinical Neuroscience*, 2: 97-103, 2014

2. 学会発表

- 1) 筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー」大阪大学中之島センター 2015年1月12日、大阪
- 2) Matsumura T, Takada H, Kuru S, et al. Development of a registry system in Japan for patients with myotonic dystrophy. *Asian Oceanian Myology Center*, 2015

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

日本人ジスフェルリン異常症の遺伝子変異について

研究分担者 青木 正志¹⁾

研究協力者 高橋 俊明²⁾, 鈴木 直輝¹⁾, 井泉 瑠美子¹⁾, 加藤 昌昭¹⁾, 堅山 真規¹⁾, 割田 仁¹⁾,
島倉 奈緒子¹⁾, 安藤 里紗¹⁾, 舟山 亮³⁾, 長嶋 剛史³⁾, 中山 啓子³⁾, 新堀 哲也⁴⁾, 青木 洋子⁴⁾

研究要旨

当科では、1995 年より三好型遠位型ミオパチーもしくは肢帯型筋ジストロフィー(LGMD2B)の疑われる患者に対する *DYSF* 遺伝子の変異スクリーニングを SSCP 法により行ってきたが(参考文献 1, 2)、発端者 169 例の約 40%で診断が未確定である。本解析の第一の目的は、ターゲットリシーケンス解析により、これら未診断例における診断率の改善を得ることである。また診断例における臨床的特徴について考察する。

A. 研究目的

次世代シーケンサーを用いてターゲットリシーケンス解析を行う。解析対象としては、既知の筋疾患関連遺伝子である 44 遺伝子の検索を行う。また、診断例での臨床的特徴について考察する。

B. 研究方法

次世代シーケンサーを用いてターゲットリシーケンス解析を行う。解析対象としては、既知の筋疾患関連遺伝子である 44 遺伝子の検索を行う(2013 年 2 月時点)。

(倫理面への配慮)

患者からの臨床情報の取得および DNA の採取に関しては「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、最初に東北大学医学部のヒトゲノム委員会および倫理委員会に研究計画書を提出し、承認を得ている。

C. 研究結果

現在までに、20 例のターゲットリシーケンス解析を行った。12 サンプル毎のターゲットリシーケンス解析を行った結果、解析対象とした全標的領域の約 90%以上が、

目標としている最低 Depth 30 以上でカバーされた。

SSCP 法で片アレルにのみ *DYSF* の病的変異を検出していた 9 例中、6 例に病因となりうるホモ接合もしくは複合ヘテロ接合の *DYSF* 遺伝子変異を検出した。全く *DYSF* に変異を検出していなかった 11 例では、*DYSF* には病的変異を認めなかったものの、3 例でその他の筋疾患遺伝子に原因の可能性のある変異を検出した。

c.2997G>T (p.W999C)変異が日本人で最も高頻度に見出された(24.2%)。この変異は肢体型に多く、発症が比較的遅く、つま先立ちが保たれることも見出した。

D. 考察

既に解析した症例で、従来の解析方法で検出できていなかった *DYSF* 遺伝子の変異の検出や、遠位型ミオパチーと類似の臨床・病理像をとる、他の筋関連遺伝子での変異が検出されてきている。今後、サンガー法に相当する結果を得るためにサンプル当たりどの程度のデータを得る必要があるかについては検討が必要である。また、変異の病的意義を考える上では、解析症例の蓄積やデータベース化も重要である。

なお別コホートの症例のエクソーム解析で *titin* 変異を検出し報告しており(文献 3)、今後変異未同定例に対して検討していきたい。

E. 結論

次世代シーケンサーを用いたターゲットリシーケンス解析が筋疾患網羅的スクリーニングとして有用である。今後診断率の向上をめざし、実用的で有用な診断システムとなるよう検討を行う。また、病因変異が同定されなかった症例では新規原因遺伝子同定を目指しエクソーム解析を行う。診断を確実にいき、自然歴の把握や患

1) 東北大学 医学系研究科 神経内科学分野
2) 仙台西多賀病院 神経内科
3) 東北大学 医学系研究科 細胞増殖制御分野
4) 東北大学 医学系研究科 遺伝病学分野

者数把握に努めていく。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 参考論文

高橋俊明ら. 舞踏運動を呈した dysferlin 異常症の 1 例. JMDD 24: 51-54, 2014

2. 学会発表

なし

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

【参考文献】

- 1) Takahashi T, et al. Dysferlin mutations in Japanese Miyoshi myopathy: relationship to phenotype. Neurology, 60:1799-804, 2003
- 2) Takahashi T, et al. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. J Neurol Neurosurg Psychiatry 84:433-40, 2013.
- 3) Izumi R, et al. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. J Hum Genet 58:259-66, 2013.

希少筋疾患の患者登録事業についての検討

研究分担者 森 まどか¹⁾

研究要旨

今後行うべき希少筋疾患の登録事業のあり方について検討する。GNE ミオパチー登録事業を参考に提言を行った。

A. 研究目的

患者登録は希少疾患の治験・治療促進に有用なツールである。GNE ミオパチー登録事業の経験から、dysferlinopathy および 先天性筋無力症について検討した。

B. 研究方法

登録の原資料となるべき疫学面や臨床面での比較検討を行った。希少筋疾患は本邦における疫学データが存在しないため、dysferlinopathy については国立精神・神経医療研究センター(NCNP)における神経内科の患者数を比較に用いた。

(倫理面への配慮)

NCNP の筋疾患患者の後ろ向きカルテ調査については疫学研究として独立行政法人国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

2014 年末現在で GNE ミオパチー患者は 61 名、dysferlinopathy 患者は 48 名であった。なお先天性筋無力症(CMS)については 2 名(一名が NCNP 神経研究所で診断、もう一名は名古屋大学で診断)であった。一方名古屋大学では国内ほとんどの CMS 患者の遺伝子診断を行っているが、同大学での CMS 患者は 13 人であり、我々の把握できる範囲での CMS 患者は 14 名ということになる。GNE ミオパチーは患者数が 300 名程度と考えられており、実際に Remudy で登録されている患者は 160 名ほどであることを考慮すると dysferlinopathy 患者はそれよりやや少なく国内患者 200 名程度、患者登録を行っ

た場合の患者数はそれより 2 割ほど少なく 160 名程度と推察した。CMS についてはさらに少なく、また診断施設が実際には名古屋大学や NCNP 以外はほとんどないと考えられるため 20 人を超えないと予想される。

D. 考察

dysferlinopathy 登録については国内登録として GNE ミオパチー同様に運営できると思われる。日本語でもエントリーできる International dysferlinopathy registry との分業や協力・整合性を考慮しつつ登録事業のあり方を考えたい。一方 CMS に関しては、患者数が非常に少なく個別の登録が成立するかどうか検討する必要があるが、周知度が少なく診断に至らない可能性のある症例が多数存在する可能性があるため、何らかの周知活動を考えるべきであろうと思われる。このように患者数がきわめて少ない疾患も包括できる制度として、病名と確定診断およびその根拠等絞られた項目のみを記載した「希少筋疾患登録」制度のようなあり方も検討を要する。一方で厚生労働省の指定難病事業には dysferlinopathy の一病型である三好型ミオパチー、先天性筋無力症が指定されており、指定難病事業との強調も視野におくべきと考えた。

E. 結論

希少筋疾患の登録を運営するに当たっては、国際協調や包括的な登録制度の作成、指定難病事業との協調を考慮して進めるべきである。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mori-Yoshimura M, Oya Y, Yajima H, Yonemoto N, Kobayashi Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I,

1) 国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科

《 Key Words 》

GNE ミオパチー、先天性筋無力症、dysferlinopathy、患者登録治験促進、国際登録、希少疾病

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 Dis.2014 Oct 11;9:150

2. 学会発表

GNE ミオパチー患者登録 ○森まどかほか 第 55 回
日本神経学会総会 福岡 2014 年 5 月 24 日

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

先天性ミオパチー

研究分担者 林 由起子¹⁾

研究協力者 西野 一三²⁾

研究要旨

臨床病理学的、遺伝的に多彩な疾患群である先天性ミオパチーについて、本邦における各病型頻度を明らかにする事を目的とする。今年度は特に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について検討した。その結果、国際共同研究により、新たな疾患原因遺伝子を見だし、報告した。また、エクソン数が183と巨大なNEB遺伝子の変異解析における問題点を明らかにした。

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。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、本邦における先天性ミオパチー各病型の具体的な頻度を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

国立精神・神経医療研究センター(NCNP)骨格筋レジトリーにおける先天性ミオパチー患者の臨床病理学的解析から、各病型に分類し、遺伝子解析を行うことで、具体的な頻度を明らかにし、また genotype-phenotype correlation を明らかにする。

(倫理面への配慮)

本研究において使用する全てのヒト資料・試料から得られた情報は、いずれも疾患の確定診断のために必要であり、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された資料・試料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する。

C. 研究結果

これまでの研究成果から、先天性ミオパチーはジストロフィノパチーと同程度の発生率である事を明らかにしている。ただし、先天性ミオパチーの中には、ネマリンミオパチー、ミオチューブラーミオパチー、中心核ミオパチー、先天性筋線維タイプ不均等症、セントラルコア病などの他、分類不能のものも 30%程度含まれている。これらの疾患分類は筋病理変化にもとづいたものであるが、近年の遺伝子解析技術の発展で、同じ遺伝子の異常であっても多彩な筋病理変化を示すことが明らかになっている。我々はまず、最も頻度の高いネマリンミオパチーを中心に変異スクリーニングを行っている。このうち国際共同研究成果として、LMOD3 という新規原因遺伝子を明らかにした。この遺伝子の変異例は、著しい筋形成障害を示す超重症のネマリンミオパチーを示し、本邦でも4例の患者を見いだした。一方、183 エクソンからなる超巨大遺伝子、NEBについては次世代型シーケンサーを活用し、変異スクリーニングを行っているが、片方のアレルのみの変化しか見いだされなかったり、疾患原因であるか判断の付きかねる変化である場合もしばしばで有り、症例の集積が重要である事が示唆された。

D. 考察

先天性ミオパチーは幅広い臨床症状と数多くの原因遺伝子の変異による多彩な疾患群である。同じ「ネマリン

1) 東京医科大学 病態生理学分野

2) 国立精神・神経医療研究センター

ミオパチー」と診断されていても、臨床症状は乳児超重症型から成人発症の軽症のものまでさまざまである。また、遺伝子変化が見いだされても、病態と直接関連づけることはしばしば困難である。今後、症例毎の詳細な臨床・病理・遺伝情報を集積し、本邦における先天性ミオパチーの前葉を明らかにしていく必要がある。

E. 結論

先天性ミオパチーは臨床的・病理学的・遺伝学的に多彩な疾患の集合であり、個々の疾患、あるいは原因遺伝子によって分類すると超希少疾病の集合体であるともいえる。現在の分類方法は主に筋病理変化による疾患名によるが、今後、再検討が必要となるかもしれない。超希少疾病の症例の蓄積、臨床病態の解明には、患者登録を進め、1例1例、きめ細やかな情報収集、経過観察が不可欠である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yuen M, Sandaradura SA, Dowling JJ, YK Hayashi, et al. Leiomodin-3 dysfunction results in thin filament disorganization and nemaline myopathy. J Clin Invest. 2015 Jan 2;125(1):456-457.
- 2) Goto M, Okada M, Komaki H, Sugai K, Sasaki M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I, Hayashi YK. A nationwide survey on Marinesco-Sjögren syndrome in Japan. Orphanet J Rare Diseases 9(1):58,2014
- 3) Kajino S, Ishihara K, Goto K, Ishigaki K, Noguchi S, Nonaka I, Osawa M, Nishino I, Hayashi YK. Congenital fiber type disproportion myopathy caused by LMNA mutations. J Neurol Sci 340:94-98,2014
- 4) Miyatake S, Koshimizu E, Hayashi YK, Miya K, Shiina M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saito H, Ogata K, Nishino I, Matsumoto N. Deep sequencing detects very-low-grade somatic mosaicism in the unaffected mother of siblings with nemaline myopathy. Neuromuscul Disord 2014 (in press). Neuromuscul Disord 24(7):642-647,2014
- 5) 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 24(5):380-6,2014

- 6) Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Yonemoto N, Nakamura H, Murata M, Takeda SI, Nishino I, Kimura E. Nationwide patient registry for GNE myopathy in Japan. Orphanet J Rare Dis. 2014 Oct 11;9(1):150.

2. 学会発表

- 1) Yukiko K. Hayashi. Clinical application of the next-generation sequencing technology in diagnosis of limb girdle muscular dystrophy. Symposium on Advance in Neuromuscular Disease. Xi'an, China. 2014.8.22-25 (8.24)
- 2) Yukiko K. Hayashi. Pathological diagnosis of muscle diseases. Symposium on Advance in Neuromuscular Disease. Xi'an, China. 2014.8.22-25 (8.24)
- 3) 林 由起子, 後藤加奈子, 宮武聡子, 興水江里子, 松本直通, 埜中征哉, 西野一三. ネマリンミオパチーの臨床遺伝学的多様性. 第55回日本神経学会学術大会(2014.5.21-24)福岡. 2014年5月21-24日, 福岡
- 4) 林 由起子, 埜中征哉, 宮武聡子, 興水絵里子, 松本直通, 西野一三. 次世代シーケンサーを活用したネマリンミオパチーの遺伝子変異解析. 第56回日本小児神経学会学術集会(2014.5.29-31)浜松. 2014年5月29-31日, 浜松

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

先天性ミオパチーの疫学・自然歴の収集および 治療開発促進を目的としたナショナルレジストリー

研究分担者 大澤 裕¹⁾

研究協力者 砂田 芳秀¹⁾

研究要旨

「先天性ミオパチー」は、骨格筋の先天的な構造異常から、乳児期から筋力・筋緊張の低下 (floppy infant) を呈し、経過は緩徐ながら進行性の経過を示す遺伝性筋疾患群の総称である。治療法の開発が待望されている希少難病で、いわゆる“unmet medical needs”に該当するが、その疫学、自然歴の詳細は不明である。このため一刻も早い「臨床試験のための患者登録 (レジストリー)」の構築が必要となっている。一方、難病助成法に基づく「医療費補助のための患者登録」として「指定難病」制度がある。本年度は、現在進行中の「筋ジストロフィー」の指定難病認定のための診断基準・重症度分類の作成に参加できた。これによって得られた患者登録の問題点に鑑み、今後の「先天性ミオパチー」レジストリーの取るべき戦略について考察する。

A. 研究目的

難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集と治療法開発促進を目的とした全国規模のレジストリーを構築する。分担研究者として、このうち、「先天性ミオパチー」を担当する。

B. 研究方法

1. 「筋ジストロフィー」ファクトシート作成協力

「筋ジストロフィー」を「指定難病」とすべく、国立病院機構刀根山病院松村 剛博士を中心に様々なアプローチで筋ジストロフィーの疫学・自然歴・診断基準・重症度分類作成が進行している。このうち国立病院機構鈴鹿病院臨床研究部久留 聡博士、国立病院機構青森病院高田博仁博士が分担された「肢帯型筋ジストロフィー (LGMD)」の項について、その改訂作業に協力した。

2. 「先天性ミオパチー」レジストリー

疫学・自然歴の収集および治療開始促進を目的とした疾患レジストリー研究班・班会議に出席し、「先天性ミオパチー」レジストリー分担研究者と、その障壁について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は「臨床研究に関する倫理指針」を遵守して施行され、開示すべき COI 関係にある企業等はない。

C. 研究結果

1. 「筋ジストロフィー」指定難病用資料作成

- 1) 診断基準: 様々責任遺伝子が同定されている遺伝性疾患群筋ジストロフィーについて、個々の責任遺伝子毎に診断基準を作成するか、総括的に「筋ジストロフィー」として診断基準を作成するか、が問題となった。難治性疾患の「医療費補助」という観点から、臨床病型や責任遺伝子によらない総括的な診断基準が提唱された。また遺伝子変異が同定されていなし筋ジストロフィー患者の遺伝子検査を、どこまで検討するか、病理診断が諸事情により実施できない筋ジストロフィーの登録についても検討した。
- 2) 疫学: 多くの筋ジストロフィー病型で、全国的な疫学調査が実施されていない実態が明らかとなった。とりわけ LGMD では半数以上の患者の遺伝子変異が未だ同定できていない。このため責任遺伝子による LGMD 病型を、どのように記載すべきか (例: LGMD2A: calpain 3) 等についても問題となった。
- 3) 重症度分類: 世界的に筋疾患の運動機能評価・障害度評価の手法が問題となっている。最終的には I 度: いずれかの骨格筋に筋力低下を認めるが、補助無く階段昇降可能(手すりも用いない)、からの患者登録

1) 川崎医科大学 神経内科学

が可能なシステムとなった。

2. 「先天性ミオパチー」レジストリー戦略構築」

先天性ミオパチーは骨格筋の先天的構造異常により、新生児期ないし乳児期から筋力・筋緊張低下 (floppy infant) を呈する遺伝性疾患群で、経過は緩徐ながら進行性経過を示す。これまではその病理学的特徴から、ネマリンミオパチー、セントラルコア病、マルチミニコア病、ミオチューブラーミオパチー、先天性筋線維不均衡症といった病型分類がされていた。ところが、最近の次世代シーケンサーによる解析手法の発達から、これまで知られていなかった新しい責任遺伝子のハンティングも進行している。一方、同一の既知責任遺伝子が、異なる病理学的異常を示す、例えばRyR変異が従来のセントラルコア病の他、先天性筋線維不均衡症を示すことが明らかとなるなど、未だに病態研究は混沌としている。さらに責任遺伝子変異と重症度・病理像の相関も十分には解明されていない。「先天性ミオパチー」レジストリーの分担研究者と、これらの患者の登録にあたり、必須となる遺伝子解析のコストなどの問題点について確認し、対策を議論した。

D. 結論

「臨床試験のための患者登録」である「レジストリー」は、その疫学・自然歴研究を基盤として、最終的には軽症ないし中等症の患者を対象とした「臨床治験による創薬」を目標とする。一方、「指定難病」は、本来、中等症ないし重症の患者を対象とした「医療費補助のための患者登録」と、本来は患者対象が異なるはずである。ところが、難治性筋疾患では、個々の既知遺伝子改変による疫学・自然歴研究が不十分であること、未だに新しい責任遺伝子が同定されてきていること、などから、軽症から重症までの、全患者を対象とした、「レジストリー」および「指定難病」の同時進行が必須と考えられた。

E. 結論

先天性ミオパチー患者のレジストリーについて、その基盤となる様々な問題点を抽出し、その解決策を検討した。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

Takayama K, Noguchi Y, Aoki S, Takayama S, Yoshida

M, Asari T, Yakushiji F, Nishimatsu S, Ohsawa Y, Itoh F, Negishi Y, Sunada Y, Hayashi Y. Identification of the minimum Peptide from mouse myostatin prodomain for human myostatin inhibition. *J Med Chem.*58(3)1544-1549, 2015

2. 学会発表

- 1) 大澤 裕, 砂田芳秀「筋消耗性疾患に対するマイオスタチン阻害医薬:サルコペニア治療の展望」第 55 回日本神経学会学術大会 2014 年 5 月, 福岡
- 2) 大澤 裕, 深井雄太, 村上龍文, 砂田芳秀「MRL 創傷治癒形質によるデュシェンヌ型筋ジストロフィー改善機構の解析」第 55 回日本神経学会学術大会 2014 年 5 月, 福岡
- 3) Ohsawa Y, Nishimatsu S, Fujino M, Fukai Y, Sunada Y 「 Type I TGF- β receptor kinase inverses myogenesis; implication in caveolin-3-deficient limb-girdle muscular dystrophy 1C 」FASEB Science Research Conferences SKELETAL MUSCLE SATELLITE AND STEM CELLS 2014 年 7 月 Steamboat Springs, Colorado, USA
- 4) 大澤 裕, 砂田芳秀「筋ジストロフィーに対するマイオスタチン阻害ペプチドの開発」第 32 回日本神経治療学会総会 2014 年 11 月, 東京
- 5) 大澤 裕, 砂田芳秀, 深井雄太, 藤野雅広, 西松伸一郎, 高山健太郎, 伊東史子, 林良雄, 土田邦博「筋ジストロフィー関連疾患における TFG- β シグナルの解明と標的医薬の開発」平成 26 年度精神・神経疾患研究開発費 26-8; 西野班班会議 2014 年 12 月, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

発明者: 砂田芳秀、大澤 裕、林良雄、伊東史子、
薬師寺文華、高山健太郎、青木 進、
野口百合

発明の名称: マイオスタチン阻害ペプチド

特許願提出日: 平成 26 年 1 月 31 日

出願番号: 特願 PCT/JP2014/05234

特許出願人: 学校法人東京薬科大学、
学校法人川崎学園

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

先天性筋無力症候群疾患登録システム樹立に向けて

研究分担者 大野 欽司¹⁾

研究要旨

先天性筋無力症候群の疾患登録システム樹立に向けて研究代表者木村らと打ち合わせを行うとともに、英国における筋疾患登録拠点の TREAT-NMD の Professor Hanns Lochmuller (Chair of Experimental Myology, The John Walton Muscular Dystrophy Research Centre, MRC Centre for Neuromuscular Diseases, Institute of Genetic Medicine, Newcastle University, UK) と Professor Ulrike Schara (Paediatric Neurology, University of Essen, Germany) との打ち合わせを開始した。先天性筋無力症候群は世界で 1000 例以下、本邦において 20 例以下しか診断をされておらず orphan diseases の中でも稀な疾患のため国際共同登録システムの樹立が必須であることを確認した。

A. 研究目的

先天性筋無力症候群の疾患登録システム樹立に向けた環境整備を行うことを目的とする。また、本邦における先天性筋無力症候群の診断精度の向上を目的とした次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断の診断体制の整備を行う。

B. 研究方法

過去の自らの分子病態研究成果と関連文献の精読により先天性筋無力症候群の疾患登録システムの入力項目の検討を行い、木村研究代表、Prof. Hanns Lochmuller, Prof. Ulrike Schara と意見のすり合わせを行った。

本邦の先天性筋無力症候群の新規発掘のために、候補遺伝子が類推可能な場合には、候補遺伝子の Sanger sequencing 解析を行った。候補遺伝子が不明の場合には、Otogenetics 社によりに依頼し、Agilent 社 Sure Select V5 により exome capture を行い Illumina HiSeq 2500 により x50 coverage で exome capture resequencing 解析を行った。また、Macrogen 社に依頼し、Illumina HiSeq X によ

り x30 coverage で whole genome resequencing 解析を行った。

次世代シーケンサデータは exome capture resequencing も whole genome resequencing も同一パイプラインにより解析を行った。FastX-toolkit と FastQC により quality check を行い、BWA と BLAT により mapping を行い、Samtools により post-processing を行った。

Samtools と VarScan により variant call を行い、VarScan により filtering を行った。AnnoVar と独自プログラムにより annotation をつけ、CMS 既報告 21 遺伝子ならびに神経筋接合部に高発現の約 100 種類の遺伝子を候補遺伝子として解析を行った。dbSNP, NHLBI ESP, 1000 genome project, HGVD, NCI60, ExAC65000, HGMD, ClinVar, COSMIC に登録をされた SNP のうち minor allelic frequency が高いものを候補原因遺伝子から除外した。

(倫理面への配慮)

本研究による遺伝子診断は名古屋大学医学系研究科生命倫理委員会ならびに遺伝子解析依頼各施設の生命倫理委員会の承認を受けた後に、患者への説明と文書による同意に基づいて行った。

C. 研究結果

先天性筋無力症候群の疾患登録システムのための入力項目の素案を作成した。

本邦の先天性筋無力症候群 7 例の次世代シーケンサ解析を行い、現在までに 3 例において原因遺伝子変異を同定した。2 例は *COLQ* 遺伝子変異による終板アセチルコリンエステラーゼ欠損症であり、1 例は *CHRNE* 遺伝子変異によるスローチャンネル症候群であった。

D. 考察

先天性筋無力症候群の疾患登録システムの樹立により、主治医は、遺伝子解析依頼のための紹介状と疾患登録システムへの登録の 2 種類の文書を作成する必要がある

1) 名古屋大学医学系研究科神経遺伝情報学

◀ Key Words ▶

先天性筋無力症候群、疾患登録システム、TREAT-NMD

あり、主治医に多大な負担を課す問題点が明らかになった。主治医の遺伝子解析依頼のための紹介状と疾患登録システムをリンクさせた取組、ならびに、2段階の疾患登録システムの導入の必要性を議論した。

E. 結論

先天性筋無力症候群の疾患登録システムの樹立に向けたドラフト案の作成を行った。本邦における3例の新規先天性筋無力症候群確定診断を行った。

F. 健康危険情報

ありません

G. 研究発表

1. 論文発表

【Original Articles】

- 1) Inaguma Y, Hamada N, Tabata H, Iwamoto I, Mizuno M, Nishimura YV, Ito H, Morishita R, Suzuki M, Ohno K, Kumagai T, Nagata KI. SIL1, a causative cochaperone gene of Marinesco-Sjogren syndrome, plays an essential role in establishing the architecture of the developing cerebral cortex. *EMBO Mol Med* 2014, 6: 155 - 295.
- 2) Ohkawara B, Cabrera-Serrano M, Nakata T, Milone M, Asai N, Ito K, Ito M, Masuda A, Ito Y, Engel AG, Ohno K. LRP4 third beta-propeller domain mutations cause novel congenital myasthenia by compromising agrin-mediated MuSK signaling in a position-specific manner. *Hum Mol Genet* 2014, 23: 1856-1868.
- 3) Nakayama T, Nakamura H, Oya Y, Kimura T, Imahuku I, Ohno K, Nishino I, Abe K, Matsuura T. Clinical and genetic analysis of the first known Asian family with myotonic dystrophy type 2. *J Hum Genet* 2014, 59: 129-133.
- 4) Kokunai Y*, Nakata T*, Furuta M*, Sakata S, Kimura H, Aiba T, Yoshinaga M, Osaki Y, Nakamori M, Itoh H, Sato T, Kubota T, Kadota K, Shindo K, Mochizuki H, Shimizu W, Horie M, Okamura Y, Ohno K, Takahashi M. A Kir3.4 mutation causes Andersen-Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1. *Neurology* 2014, 82: 1058-1064. *Equal contribution.
- 5) Kobayashi M, Ohno T, Ihara K, Murai A, Kumazawa M, Hoshino H, Iwanaga K, Iwai H, Hamana Y, Ito M, Ohno K, Horio F. Searching for genomic region of high-fat diet-induced type 2 diabetes in mouse

chromosome 2 by analysis of congenic strains. *PLoS ONE* 2014, 9: e96271.

- 6) Yamashita Y*, Matsuura T*, Kurosaki T, Amakusa Y, Kinoshita M, Ibi T, Sahashi K, Ohno K. LDB3 splicing abnormalities are specific to skeletal muscles of patients with myotonic dystrophy type 1 and alter its PKC binding affinity. *Neurobiol Dis* 2014, 69: 200-205. *Equal contribution.
- 7) Nasrin F, Rahman MA, Masuda A, Ohe K, Takeda J, Ohno K. HnRNP C, YB-1 and hnRNP L coordinately enhance skipping of human MUSK exon 10 to generate a Wnt-insensitive MuSK isoform. *Sci Rep* 2014, 4: 6841.
- 8) Azuma Y, Nakata T, Tanaka M, Shen XM, Ito M, Iwata S, Okuno T, Nomura Y, Ando N, Ishigaki K, Ohkawara B, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Sokabe M, Ohno K. Congenital myasthenic syndrome in Japan: Ethnically unique mutations in muscle nicotinic acetylcholine receptor subunits. *Neuromuscular Disorders*, 2015, 25: 60-69.

【Chapters in Books】

- 1) Ohno K, Ohkawara B, Ito M, Engel AG. Molecular Genetics of Congenital Myasthenic Syndromes. *eLS*. John Wiley & Sons, Inc., Chichester, 2014, <http://www.els.net> [doi: 10.1002/9780470015902.a0024314]. (査読有)

【Reviews】

- 1) Ohno K, Ito M, Kawakami Y, Ohtsuka K. Collagen Q is a key player for developing rational therapy for congenital myasthenia and for dissecting the mechanisms of anti-MuSK myasthenia gravis. *J Mol Neurosci* 2014, 53: 359-361. (査読有)
- 2) Rahman MA, Nasrin F, Masuda A, Ohno K. Decoding abnormal splicing code in human diseases. *J Invest Genomics* 2015, 2(1): 00016 (査読有)

2. 学会発表

【Invited Presentations at Scientific Meetings】

- 1) Ohno K Maintenance of the neuromuscular junction and its aberrations in hereditary and autoimmune disorders. Guarda-Symposium 2014 on the Molecular and Cell Biology of the Neuromuscular System, Guarda, Switzerland. Sep 1, 2014

【Presentations at Scientific Meetings】

- 1) Shibata A, Okuno T, Masuda A, Ohno K. P16.49-S - IntSplice: A tool to predict the effect on pre-mRNA

splicing of intronic nucleotide substitutions. European Society of Human Genetics 2014 (Poster), Milan, Lombardy, Italy. May 31-June 3, 2014

- 2) Ohno K, Shibata A, Okuno T, Rahman MA, Azuma Y, Masuda A. IntSplice: A tool to predict aberrant splicing of an SNV at intronic positions -50 to -3. 64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (Poster), San Diego, California, USA. Oct 18-22, 2014
- 3) Bruun GH, Doktor TK, Brøner S, Masuda A, Palhais B, Krainer AR, Ohno K, Andresen BS. Global identification of binding sites for the splicing regulatory factors SRSF5 and hnRNPA1. 64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (Poster), San Diego, California, USA. Oct 18-22, 2014
- 4) Rahman MA, Nasrin F, Masuda A, Ohe K, Takeda J, Ohno K. Alternative splicing of human *MUSK* exon 10 is physiologically regulated by multiple splicing regulatory cis-elements and cognate trans-factors. RNA Biology Meeting, Cold Spring Harbor Asia Conference (Poster), Suzhou, China. Nov 10-14, 2014
- 5) Selcen D, Shen X-M, Ohkawara B, McEvoy K, Ohno K, Engel AG. Congenital myasthenic syndrome (CMS) caused by novel mutation in LRP4. Phenotypic heterogeneity and defects in neuromuscular transmission (NMT) identified in a second kinship. 67th Annual Meeting of the American Academy of Neurology (Poster), Washington DC, USA. Apr 18-25, 2015

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

先天性筋無力症候群の疾患レジストリーにおける 登録項目の検討

研究分担者 山下 賢¹⁾

研究協力者 俵 望¹⁾, 道鬼 つかさ¹⁾, 松尾 圭将¹⁾, 西上 朋¹⁾, 安東 由喜雄¹⁾

研究要旨

先天性筋無力症候群(CMS)は、神経筋接合部分子の先天的な欠損ならびに機能異常により、筋力低下や易疲労性を来す疾患である。本邦においても CMS 症例が遺伝子診断により同定されているが、人種的に本邦独自の変異もしくは de novo 変異と考えられている。本研究の目的は、本邦既報告症例を評価し、CMS の疾患レジストリーに必要な登録項目を選定することである。今回評価しえた 10 症例では、臨床症状に関しては著しく既報告の範疇から逸脱するものは見られなかった。今後の国際共同治験への展開を目指し、海外の CMS レジストリーとの共通項目の設定に加えて、本邦 CMS 症例に特有な症状を検出可能とする登録項目の設定が重要と考えられる。

A. 研究目的

先天性筋無力症候群(CMS)は、神経筋接合部分子の先天的な欠損ならびに機能異常により、筋力低下や易疲労性を来す疾患である。大野らによると、終板アセチルコリン受容体欠損症、スローチャンネル症候群、ファーストチャンネル症候群、ナトリウムチャンネル筋無力症、終板アセチルコリンエステラーゼ欠損症、発作性無呼吸を伴う先天性筋無力症などに大別される。厚生労働省の研究班によると、本邦での患者数は 100 人未満と報告されており、文字通り希少疾病の一つに挙げられる。昨今の分子遺伝学の進歩により、少なくとも 19 の遺伝子異常が同定されてきており、将来的な遺伝子治療や分子標的治療などの根治的治療の実現のためには、患者レジストリーは不可欠と考えられる。本研究では、CMS の疾患レジストリーに必要な登録項目について、過去の本邦の症例報告をもとに検討した。

B. 研究方法

既報告によると、西欧諸国と同様に本邦においても CMS 症例が遺伝子診断により同定されているが、本邦で同定された遺伝子変異の多くは海外で見出されているものとは異なり、人種的に独自の変異もしくは de novo 変異と考えられている。そこで、本邦で報告されている症例を評価し、CMS の疾患レジストリーに必要な登録項目を選定する。

(倫理面への配慮)

本研究における医療情報の収集に当たっては、個人情報特定されないように配慮した。

C. 研究結果

CMS は遺伝子変異によって臨床症状が異なると報告されている。苛原ら(脳と発達 2012)は 5 人の CMS 患者(DOK7 変異 1 例および CHRNE 変異 1 例、COLQ 変異 3 例)における臨床経過、診察所見、電気生理学的所見などを報告しているが、4 例が乳児早期に筋力低下(floppy infant)と運動発達遅滞で発症し、乳児期後期以降は運動発達を認めるようになり、3 例が 1 歳 7 カ月までに、遅い例でも 4 歳時に独歩を獲得している。一方、1 例は 3 歳時に運動不耐で発症していた。これらの症例では全身の筋力低下を 2 例、頸部・四肢に限局した筋力低下を 3 例に認めたが、全例において、幼児期以降に 1 日単位で変動または数日間持続する筋力低下を認めた。COLQ 変異例の臨床像は、既報告例と同様であったが、DOK7 変異例は呼吸不全、運動発達遅滞、眼瞼下垂を伴う重症例であり、CHRNE 変異例は球麻痺、眼瞼運動制限を伴わず、既報告より軽症であった。

石垣ら(脳と発達 2009)は生後 5 カ月に眼瞼下垂で発症し、1 歳 6 カ月時にテンシロンテスト陽性から当初重症

1) 熊本大学大学院 生命科学研究部神経内科学

筋無力症と診断された CMS 症例を報告している。本症例は後に Azuma ら(Neuromusc Disord 2015)によって、CHRND の複合ヘテロ接合性変異を有することが明らかにされている。2 歳頃には走行可能となり、幼児期は他児と比較しても運動発達は問題なかったが、4 歳過ぎから易疲労性を訴えるようになり、徐々に走行困難となっている。症状に日内変動を認め、朝起床時が最も不良で、臭化ピリドスチグミン内服後 1 時間が最も良好で、夕方の増悪はないという特徴がみられた。

Azuma ら(Neuromusc Disord 2015)は、上記症例以外に CMS4 症例を報告しており、CHRNE 変異 3 症例、CHRNB1 変異 1 症例を見出している。CHRNE 変異症例は、1 ヶ月～1 年間で眼瞼下垂、鼻閉塞、吸綴困難などで発症し、テンシロンテスト陽性から当初重症筋無力症と診断されていた。いずれも独歩は獲得したものの、走行や階段昇降は困難である。CHRNB1 変異症例は、幼児期より気道感染を反復しており、5 歳時には歩行が遅く、頻回に転倒する様になった。

D. 考察

本邦の CMS 患者で同定された遺伝子変異の多くは、人種的に独自の変異もしくは de novo 変異と考えられているが、臨床症状に関しては著しく既報告の範疇から逸脱するものは見られなかった。今後の国際共同治験への展開を目指し、海外の CMS レジストリーとの共通項目の設定に加えて、本邦 CMS 症例に特有な症状を検出可能とする登録項目の設定が重要と考えられる。

本研究が計画する CMS 患者登録システムは、臨床試験の対象になるべき成人軽症患者の参加や将来的な研究利用の観点から、新しい難病対策制度による登録事業を補完するものと考えられる。さらに精度の高い詳細な疫学データを収集・解析し、患者の QOL 向上や政策に活用しうる基礎的知見を集積し、将来的な新規治療法開発に寄与する登録体制を整備することで、難治性疾患全般の研究進展と施策に寄与することが期待される。

E. 結論

海外の CMS レジストリーとの共通項目の設定に加えて、本邦 CMS 症例に特有な症状を検出可能とする登録項目の設定が重要と考えられる。

F. 健康危険情報

特記事項無し

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; 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.* 2015; 41 (3) 391-398
- 3) Yamashita S, Sakashita N, Yamashita T, Tawara N, Tasaki M, Kawakami K, Komohara Y, Fujiwara Y, Kamikawa M, Nakagawa T, Hirano T, Maeda Y, Hasegawa M, Takeya M, Ando Y. Concomitant accumulation of α -synuclein and TDP-43 in a patient with corticobasal degeneration. *J. Neurol.*, 2014; 261, 2209-2217

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Cylindromatosis 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

4 例の脊髄小脳変性症 8 型(SCA8)の長期経過と 1 剖検症例の病理解析

研究分担者 古谷 博和¹⁾

研究協力者 森田 ゆかり¹⁾, 大崎 康史¹⁾, 荒畑 創²⁾, 渡邊 暁博²⁾
笹ヶ迫 直一²⁾, 藤井 直樹²⁾, 前田 教寿³⁾, 岩城 徹³⁾

研究要旨

一般的に脊髄小脳変性症 8 型(SCA8)は純粋小脳型で、経過、予後ともに良いとされているが、NHO 大牟田病院で発症 10 年以上経過し、最低 6 年間経過を追っている 4 症例の臨床所見と、1 症例の病理所見を他の脊髄小脳変性症と比較した。

A. 研究目的

6 年以上経過観察している SCA8(4 症例)について臨床経過を調べ、うち 1 例について剖検病理所見を検討した。

B. 研究方法

対象は SCA8(男 2, 女 2, 平均発症年齢 39.5 歳, 平均罹病期間 21.0 年)で、CTG リピート延長は 123 から 197 回。SCA2(1 例), SCA3(2 例), SCA6(3 例), SCA31(1 例), 分類不能の遺伝性 SCA(UC-fSCA)(5 例)を対照とした。ADL については特定疾患申請書を参照した。

(倫理面への配慮)

臨床症状の経過の検討と剖検症例の検討であり、遺伝子解析に関しては大牟田病院の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

SCA8 は純粋小脳症状のみで、長期経過しても末梢神経障害、錐体路徴候などは脳挫傷例を除いて認めなかった。UC-fSCA では 60%にミオクロウズを認めたのに対して SCA8 では全く認めず、歩行障害の進行も UC-fSCA より有意に遅かった。眼振は軽微だが、四肢失調より体幹失調が重い傾向が認められた。197 回の CTG リピ

ートを有する剖検症例では小脳萎縮は顕著で、プリキンエ細胞は殆ど認められず、下オリーブ核と黒質の神経細胞の脱落も著明であった。

D. 考察

SCA8 は他の fSCA に比べて経過も長く予後も良いが、体幹失調が強い傾向があるので、転倒、骨折などを防ぐ事が ADL を保つために重要であると考えられた。また黒質の神経細胞の脱落が著明であったが、パーキンソン症状は認めなかった。これは重篤な体幹失調のために軽微なパーキンソン症状がマスクされている可能性が考えられた。

E. 結論

SCA8 は経過も長く予後も良いが、体幹失調が強い傾向が明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Furuya, H., Arahata, H., Watanabe, A., Ohyagi, Y., Hohjoh, H., Maeda, N., Iwaki, T. and Fujii, N. LONG-TERM CLINICAL OUTCOME OF SCA8 IN JAPANESE. 8TH INTERNAL CONFERENCE ON UNSTABLE MICROSATELLITES AND HUMAN DISEASE. JAN. 18, BUENA VISTA LODGE &

1) 高知大学医学部 神経内科

2) NHO 大牟田病院神経筋センター 神経内科

3) 九州大学医学部 脳研神経病理

ADVENTURE, GUANANCASTE, COSTA RICA,
2015.

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

希少疾患の臨床試験に関する臨床疫学の視点からの考察

研究分担者 渡辺 範雄¹⁾

研究要旨

臨床研究、特に治療介入の効果を検証する研究では、強いエビデンスを創出しうる研究デザインを採用し、研究を遂行すべきである。しかしながら、筋ジストロフィーや多発性硬化症等の希少疾患では、強いデザインの研究を行うのは困難であることが多い。

その要因として、患者数がもともと少なく研究に組み入れることのできる症例が多くはないため十分な症例数のある無作為割り付け対照試験は組みづらいこと、希少疾患ゆえに予後や自然経過に関する知見が不十分でそれゆえに治療介入の研究が難しいことなどが挙げられる。

結果として基礎研究の結果や弱いデザインの臨床研究から効果を類推することが多いが、文献レビューを行って empirical なデータを集めたところ、これらは誤った結論に結び付く頻度が高いことが示された。そのため、希少疾患では研究デザイン、また結果の統計学的処理に置いても、あらたな工夫を用いてなるべく強いデザインの臨床研究を行う必要があることが示された。

A. 研究目的

個人の健康損失による QOL 低下、ひいては治療費や健康損失による社会全体としての生産性の低下など、健康問題や疾患はいつの時代にも取り組むべき重要な課題である。疾患を高頻度に見られる一般疾患と、頻度は大きくはないが疾患をもつ患者や家族に対して大きな負担を強いる希少疾患とに大別し、後者の例を挙げると、Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)が挙げられる。DMD は出生男児 4000 人に 1 人の発生率で、有病率は人口 10 万人当たりでは 2.5~3 人とされるが、進行とともに四肢・脊柱に変形をきたして車いす生活となり、20 歳前後で呼吸・心不全等で死亡することが多いなど、患者・家族に対しての負担は計り知れない。社会をマスとして見た場合の損失は一般疾患に比して大きいとは言えないが、希少疾患は健康政策上重要課題と言える。

ところで臨床研究、特に治療介入の効果を検証する研究では、十分な症例数のある無作為割り付け対照試験(RCT)等の強いエビデンスを創出しうる研究デザインを採用し、研究を遂行すべきである。しかし希少疾患では、強いデザインの研究発表はあまり見られないことが知られている(Kesselheim et al. JAMA 2011;305:2320-6.)。

本研究では、希少疾患で強いデザインの臨床研究が見られない理由について国内外の総説をもとに概観する。また、希少疾患において強いデザインで研究を行う方法、さらには弱いデザインでもより強いエビデンスを創出する工夫について考察する。

B. 研究方法

PubMed 等の文献データベースを用いた検索、ならびにその関連論文を検索し、下記の情報について概観を行った。

- 1) 希少疾患において無作為割り付け対照試験(RCT)等、強いエビデンスを創出しうるデザインで臨床研究を立案・実施する際の問題点
- 2) 基礎研究や弱いエビデンス・デザインの研究においてどこまで真実に近づくことができるのか
- 3) 希少疾患において、弱いエビデンス・デザインの研究において真実に近づくための工夫

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究方法論に関する文献レビューであるため、倫理面への配慮は特に必要なく、万が一ある場合にも一次研究で既になされていると考えられる。また本研究は、個人情報等が明らかになる可能性は皆無である。

C. 研究結果

文献検索により複数の重要な先行研究が見つかった。

1) 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

1. 希少疾患における強い研究デザインで臨床研究を立案・実施する際の問題点

第一に、もともとの症例数が少ないために、研究に十分な数の参加者が集まらないことが挙げられる。また、希少疾患では治療薬を開発したとしても、商業ベースで利益が大きく上がることは難しいため、製薬会社が多数の患者を組み入れる努力を行って臨床研究を行うことは稀である (Kesselheim et al. Clin Pharmacol Ther 2014; 95: 265-8.)。

仮に研究費が潤沢にあるか、または製薬会社が興味を示したとしても、そもそも希少疾患の経過・予後や、予測因子に関して、その希少性ゆえに十分に研究されていることが少ない (De la Paz et al. Adv Exp Med Biol 2010; 686: 17-39.) ため、治療効果の予測がつきにくい。

そして、希少疾患ゆえに標準的治療が定まっておらず、新規介入治療の対照群として何を設定すべきか決定するのも困難を伴う (Gagne et al. BMJ. 2014 4;349: g6802.)。

2. 基礎研究や弱いエビデンス・デザインの研究においてどこまで真実に近づくことができるのか

基礎研究で得られた知見が、のちの RCT の結果との相違を比較したレビュー (Contopoulos-Ioannidis et al. Am J Med. 2003;114(6):477-84.) が同定された。このレビューによると、1979-1983 年に Science・Nature・Cell など影響力の強い基礎研究の医学雑誌に発表され、将来治療的有望とされた 101 個のシーズのうち、27 個に対して少なくとも 1 個の RCT が行われた。19 個が基礎研究の結果を再現し、うち 5 個が適応をとれていて、広く使われているのは 1 つのみだった。つまり影響力の強い医学雑誌に発表された基礎研究であっても、20 年後に実際に臨床に活用されている知見は、101 分の 6、広く使われているものは 101 分の 1 であったことになる。

また臨床研究の結果が、のちのより大規模・強い研究デザインで行われた同テーマの研究の結果との相違を見たレビュー (Ioannidis et al. JAMA. 2005; 294(2): 218-28.) がある。1990-2003 年に NEJM・JAMA・Lancet 等影響力の強い臨床医学雑誌で発表され、2004 年までに 1000 回以上引用されている臨床研究 49 個を見たところ、うち 45 個(観察研究 6、RCT 39)で介入が有効と結論していた。しかしながら、観察研究 5 個を追試したところ、4 個で結果が再現されなかった。また RCT 39 個のうち 29 個に追試がされたが、うち 10 個は追試で結果が再現されなかった。まとめる

と、影響力の強い臨床研究の医学雑誌に掲載された知見であっても、観察研究では 6 分の 1、RCT でも約半分しか追試に耐えうる結果を出せないということになる。

3. 希少疾患において、弱いエビデンス・デザインの研究において真実に近づくための工夫 (Gagne et al. BMJ. 2014 4;349: g6802.)

まず希少疾患で症例が集まりにくいことへの対策として、サンプルサイズを減少させて強いエビデンスを得るための工夫が挙げられる。研究期間を長くすることで関心イベントの頻度が上がりアウトカムとして検出しやすくなるし、また特に危険因子が高い症例に絞ることで総症例数を絞ることができる。さらに関心となる介入方法が複数ある場合には、要因デザインを用いることで、単一の RCT でも統計学的パワーを落とすことなく複数の介入の効果を見ることができる。他にも、アウトカムをカテゴリー化変数ではなく連続変数を使って統計学的パワーを挙げること、臨床試験ネットワークを作って関心ある者が参加しやすやすくすること、研究デザインとして最近提唱されているアダプティブ・デザイン、特にアダプティブ割り付けと sequential 試験デザインを用いることで、少ない症例数において有意な結果をもたらすことが考えられる。

また、RCT で対照群として無治療を用いると、研究への参加者は減少する。それを最小化する方法として、慢性的な状態が継続するか介入がすぐに効果をもたらして持ち越し効果が少ない疾患の場合にはクロスオーバー・デザインを用いること、また 1 症例 RCT デザインでクロスオーバー・デザインを行えば、症例シリーズやその統計学的集積であるメタアナリシスを行える。実際に、オランダでは後者の研究システムが確立し、神経金疾患のエビデンス構築の一助になっている。

また RCT ではなく、観察研究では特に交絡因子を調整して真実の結果に近づく工夫が必要となる。まず、傾向スコアを用いて、介入を受けるか受けないかという選択で生じる交絡因子を最小化する方法がある。次に考えられるのは、介入を受けている期間の前後の介入を受けていない期間を、対照期間として用いる方法である。先ほどのクロスオーバー研究と比較して、時間経過による治療選択という交絡因子が生じる可能性があるが現実的な研究デザインと言える。他に、研究デザインの中でも症例対照研究や、症例レジストリーを用いた前向き研究を行って危険因子や交絡因子を正確に把握するよう努めることで、観察研究の限

界点を減少させる可能性がある。

D. 考察

一般疾患とは異なり、希少疾患には強いデザインの臨床研究を行うための障害があること、だからと言って基礎研究や観察研究の結果を臨床試験と同様に信頼するのは疑陽性を生じる確率が高くなること、また希少疾患の臨床研究でも強いエビデンスを創出するための工夫について言及した。

E. 結論

特に希少疾患の治療においては、無作為割り付け対照試験のみならず観察研究デザインを用いることが現実的と考えられる。研究者は観察研究といえども強いエビデンスを創出するよう今後も研鑽を続けるべきであろう。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe N, Furukawa TA, Horikoshi M, Katsuki F, Narisawa T, Kumachi M, Oe Y, Shinmei I, Noguchi H, Hamazaki K, Matsuoka Y. A mindfulness-based stress management program and treatment with omega-3 fatty acids to maintain a healthy mental state in hospital nurses (Happy Nurse Project): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2015;16(1):36.
- 2) 樫野亘, 渡辺範雄. 臨床試験を日常精神科診療に応用するための臨床試験デザインの知識. *臨床精神医学*. 2014;43(12):1719-1728.
- 3) 伊井俊貴, 渡辺範雄. EBMによる抗うつ薬の評価. In: 村崎光邦, ed. *デュロキセチンのすべて*. 東京: 先端医学社; 2014:44-47.
- 4) Watanabe N, Furukawa TA, Shimodera S, Katsuki F, Fujita H, Sasaki M, Sado M, Perlis ML. Cost-effectiveness of cognitive behavioral therapy for insomnia comorbid with depression: Analysis of a randomized controlled trial. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2014 (in press).

2. 学会発表

- 1) 渡辺範雄. ワークショップ5: WS5-2 原著論文の国際標準フォーマット. Paper presented at: 第27回日

本総合病院精神医学会; 11月28日-11月29日, 2014; つくば国際会議場.

- 2) 渡辺範雄. 治験教育セミナー: CL-2 医療者主導の臨床・トライアル: 計画・実施・終結方法とケーススタディ. Paper presented at: 第24回日本臨床精神神経薬理学会 第44回日本神経精神薬理学会 合同年会; 11月20日-11月22日, 2014; 名古屋国際会議場.
- 3) 渡辺範雄. 教育セミナー: ES3 若手研究者のための統計学講座: 統計モデルの選び方・使い方・伝え方. Paper presented at: 第24回日本臨床精神神経薬理学会 第44回日本神経精神薬理学会 合同年会; 11月20日-11月22日, 2014; 名古屋国際会議場.

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