

厚生労働科学研究委託費  
(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))

委託業務成果報告(総括)

遺伝性ミオパチーの次世代型統合的診断拠点形成

業務主任者 西野 一三 疾病研究第一部 部長

**研究要旨**

国立精神・神経医療研究センターは過去35年以上に亘り、筋病理を中心とする筋疾患診断サービスを提供してきた。その結果、本邦筋生検例の約8割の検体がNCNPに集積している。本研究では、従来の方法では遺伝学的診断が未確定であった遺伝性ミオパチー例(ミトコンドリア病を含む)を対象として、次世代解析装置による網羅的遺伝子解析を行い、すでに世界最高峰レベルにある筋疾患病理診断と組み合わせることで、国内は元より海外までを視野に入れた、より高度な次元の統合的診断拠点へと飛躍させることを目指し、1. 既知遺伝子のハイスループット解析、2. 全エクソーム解析、3. 新規原因遺伝子変異の病原性証明と疾患分子病態解明、4. 病理・画像所見解析、5. 国内外の連携を柱として研究を進めている。

ハイスループット解析については、既知筋疾患原因遺伝子を網羅する4つのパネルを作成し、ターゲットリシーケンス法により既知遺伝子変異をスクリーニングする方法を確立した。今年度研究開始後380例について解析を行い、発端者88例で原因を同定することができた。ミトコンドリア病については、ECHS1変異例を見いだした。

全エクソーム解析は350例で解析が終了している。現在までに60症例で原因遺伝子変異を同定している。この中には、tubular aggregate myopathyの原因遺伝子ORA11の同定、世界第2例目のDAG1変異例同定、ネマリンミオパチーの新規原因遺伝子LMOD3同定などの他、本邦初となるMEGF10やAN05変異例の同定などの成果を上げた。

病原性証明研究としては、-dystroglycanopathyとtubular aggregate myopathyに焦点を当て、全エクソーム解析から得られた変異候補の絞り込みと病原性証明を行う系を立ち上げた。前者については、HAP1細胞を用いた病原性証明の系を確立し、後者については変異を導入したHEK293細胞および患者由来筋管細胞において、細胞内カルシウム動態を評価することで、ORA11優性変異による恒常的SOCE活性化が、Tubular aggregate形成および骨格筋障害の原因であることを明らかにした。

画像・病理所見については、レポジトリーのシステムを構築し、情報蓄積を開始した。また、早期呼吸障害を伴う遺伝性ミオパチーの筋病理所見の再評価を行い、necklace cytoplasmic bodyが感度・特異度ともに高い優れた病理学的マーカーであることが判明した。

国内外の連携については、2014年に提供した筋病理診断は国際的に最高水準と思われる827件であった。凍結筋の総検体数は2014年末で15140検体となり、世界有数の筋レポジトリーとなっている。諸外国との連携については、7月より、タイ人医師2名を、9月より中国人医師1名を、更に3月か

らは韓国人医師2名を受け入れて、筋疾患診断に関する研修ならびに研究に携わっている。また、アウトリーチ活動としては、インドネシア、タイ、マレーシア、台湾、エジプトなどにおいて、臨床病理カンファレンスを開催するとともに、講義や患者診察などを行った。今後このような診断支援活動を継続するには、研究費とは別の形の財政的支援が必要である。

1. 既知遺伝子のハイスループット解析 (三橋里美・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、後藤雄一・国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第二部 部長)

2. 全エクソーム解析 (西野一三・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 部長)

3. 新規原因遺伝子変異の病原性証明と疾患分子病態解明 (野口悟・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)

4. 病理・画像所見解析 (石山昭彦・国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科医師、西野一三・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 部長)

5. 国内外の連携 (西野一三・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 部長)

## A. 研究目的

国立精神・神経医療研究センター (NCNP) は 1978 年以来過去 35 年以上に亘り、筋病理を中心とする筋疾患診断サービスを提供してきた。その結果、本邦筋生検例の約 8 割の検体が NCNP に集積している。原因遺伝子解析についても診断サービスを提供してきたが、これまでは技術的な制限からスポット的なサンガー法による遺伝子診断に終始していた。本申請研究では、従来の方法では遺伝学的診断が未確定であった遺伝性ミオパチー例 (ミトコンドリア病を含む) を対象として、次世代解析装置による網羅的遺伝子解析を行い、すでに世界最高峰レベルにある筋疾患病理診断と組み合わせることで、国内は元より海外までを視野に入れた、より高度な次元の統合的診断拠点へと飛躍させることを目指す。

歴史的に、筋疾患は病理所見に基づいて分類・診断がなされてきたが、今後は、遺伝子型による疾患分類が進み疾患概念自体

のパラダイムシフトが起こると予想される。我々は、次世代遺伝子解析によって得られる遺伝子型と、これまでに蓄積された筋病理、さらには、現在蓄積しつつある画像所見を組み合わせ、遺伝子型・表現型相関の統合的理解を進めて新たな概念の確立に寄与する。国内の連携は元より、海外諸国との連携を視野に入れていく必要性は明らかである。アジア諸国との連携を深めて、国際拠点となるべく基盤形成を進める。

## B. 研究方法

1. 国立精神・神経医療研究センターに筋病理診断および、遺伝子解析の依頼された検体のうち、遺伝的に未診断の遺伝性筋疾患例に対して、既知の全筋疾患遺伝子を網羅する 4 種類の筋疾患遺伝子パネル (筋ジストロフィー (65 遺伝子)、先天性ミオパチー (42 遺伝子)、代謝性ミオパチー (45 遺伝子)、異常タンパク質の凝集や縁取り空胞を特徴とするミオパチー (36 遺伝子)) を作成し、次世代シーケンサー IonPGM を用いて既知遺伝子変異ターゲットリシーケンス解析を行った。対象となる症例を、筋病理診断および臨床診断によって、いずれかのカテゴリーに分類し、解析を行った。

ミトコンドリア病については、これまで患者で報告のある 200 近くの遺伝子に加えて、800 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ように設計した Haloplex® によって関心領域をキャプチャーした上で、次世代シーケンサー MiSeq によりターゲットリシーケンスを行った。特に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複数の呼吸鎖酵素活性低下及びミトコンドリア DNA 由来タンパク質の翻訳活性の低下している 2 検体を選定し解析した。患者 1 は 1 歳 9 ヶ月の男児で Leigh 症候群を呈し、患者 2 は 1 歳 5 ヶ月の女児

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。

## 2. 全エクソーム解析

国立精神・神経医療研究センターに診断依頼された検体のうちで既知遺伝子変異ハイスループット解析を行ってもなお原因遺伝子不明であった83例および、遺伝子診断未知でいずれのカテゴリーにも属さず新規原因遺伝子が疑われる症例を含めた192例を対象とした。全エクソームキャプチャーキットを用いHiSeq1000にてゲノム情報を取得した。既に構築済みの解析パイプラインを通して、候補遺伝子を絞り込み、候補遺伝子変異は、サンガー法で確認した。さらに、これまでに解析を行った400例についても、引き続き原因遺伝子の同定を進めている。

## 3. 新規原因遺伝子変異の病原性証明と疾患分子病態解明

$\alpha$ -dystroglycanopathy 患者20名を対象に全エクソーム解析を行い見いだされた変異候補の $\alpha$ -dystroglycan糖鎖への影響を評価すべく、HAP1細胞(野生型、POMGNT2-KO)(Netherlands Cancer InstituteのDr. Brummelkampより供与)を用いた測定系を構築した。野生型および変異ヒトPOMGNT2 cDNAは、レンチウイルスベクターを用いてHAP1細胞にトランスフェクトさせた。 $\alpha$ -dystroglycanの糖鎖エピトープに対する抗体11H6にてHAP1生細胞を染色し、当該遺伝子変異の $\alpha$ -dystroglycan糖鎖への影響を評価した。また、ヒト野生型および変異myc-POMGNT2 cDNAをHele細胞に導入・発現させ、myc標識タンパク質の細胞内局在を解析した。

Tubular aggregate myopathyについては、見出したORA11変異(Gly98Ser, Leu138Phe)のSOCEへの影響を確認するため、罹患者由来の筋管細胞及び上記変異を有するORA11を過剰発現させたHEK293細胞を用いて、細胞外Ca<sup>2+</sup>濃度変化に伴う細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度変化を測定した。また、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度変化が細胞外からのCa<sup>2+</sup>流入によるものなのか、SRをはじめとする細胞内Ca<sup>2+</sup>貯蔵器

官から放出されたものなのかを見極めるために、Mn<sup>2+</sup> quenching 実験を行った。

## 4. 病理・画像所見解析

骨格筋および脳画像の管理については、国立精神・神経医療研究センター脳病態統合イメージングセンター(IBC; Integrative Brain Imaging Center)で開発したWeb上での画像登録、閲覧が可能なシステム(IBISS; Integrative Brain Imaging Support System)を用いた。これはIBCが独自に開発した臨床放射線画像登録に特化したオンラインサポートシステムで、厳重なセキュリティのもと、研究に必要な画像情報、臨床情報を共有できるオンライン上の仮想空間である。IBISS内での遺伝性ミオパチー画像登録フォームを作成し、2005年1月以降に当センターで精査を行った症例で、遺伝学的未確定なミオパチー症例の骨格筋画像、ミトコンドリアミオパチーの脳画像の登録を行った。

また、本プロジェクトの中で同定された早期呼吸障害を伴う遺伝性ミオパチー(Hereditary myopathy with early respiratory failure: HMERF)14家系17例の筋病理所見の再検討を行った。

## 5. 国内外の連携

国内に向けては、従来より提供している筋疾患診断サービスの提供を継続する。国外に向けては、アジアを中心とする諸外国からの研修医師・技師を受け入れ、筋疾患学の基礎とともに筋疾患研究の最先端を経験させることで、帰国後に当該地域で診断サービスを提供することができるようにするとともに、筋疾患分野で指導的な立場に立てるように支援する。また、専門家がおらず必要とされる地域に積極的に出向くアウトリーチ型の活動も加えることで、国際連携の基盤を形成する。

### (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

1. 既知遺伝子のハイスループット解析  
IonPGMを用いて、380検体の解析を行った。88症例で、病気の原因の可能性のある遺伝子変異を同定した。この中には、新規の変異や、日本人で初めて疾患を同定した症例、報告症例数が非常にまれな症例も含まれていた。原因遺伝子が不明例83症例を含む、192例をHiSeq1000シーケンサーでエクソーム解析中である。

ミトコンドリア病については、患者1でECHS1の、患者2で遺伝子Xの複合ヘテロ接合型変異を見いだした。患者1由来の筋芽細胞では、HCHS1蛋白質の発現が低下していた。患者2では蛋白質Xの発現に変化は見られなかったが、蛋白質X葉酸代謝に参与しており、ミトコンドリアのtRNAの修飾に関する基質の代謝に寄与することから、その基質の不足によってmtDNAの翻訳異常が引き起こされる可能性がある。

### 2. 全エクソーム解析

これまでにエクソーム解析を行った475例中350例で、解析が終了している。このうち、60の症例で病気の原因である可能性のある遺伝子変異を見出すことができた。この中には、1. tubular aggregate myopathy の新規の変異遺伝子 *ORA11* の同定、2. *-dystroglycanopathy* と病理学的に確定された例の中から世界第2例目となる *DAG1* 変異例を同定、3. *LMOD3* 変異がネマリンミオパチーの新たな原因であることを同定、4. *TK2* 変異による筋線維未熟性を伴う先天性ミオパチーの同定、5. 中心核ミオパチーの新規原因遺伝子Xの同定（海外の研究者との共同研究のため遺伝子名は未公表）、6. *LMNA* 変異による核内ロッドを伴う先天性ミオパチーの同定、7. 本邦初の *MEGF10* 先天性ミオパチーの同定、8. 本邦初の *ANOS* 変異の同定、などの成果が含まれ、さらに病因解析を進めている。

解析ソフトウェアを更新し、より信頼性の高い結果が得られることが期待される

GATKv.3.1を用いた解析パイプラインを構築した。解析の省力・省時間化を目指し、GATKv.3.1へのアップデートに加えて、これまでに解析したNCNP内のエクソームデータベースを構築し横断的に解析するシステムを構築した。

### 3. 新規原因遺伝子変異の病原性証明と疾患分子病態解明

*α-dystroglycanopathy* 3名に *POMGNT2* 変異 c.494T>C(p.M165T) 及び c.785C>T (p.P253L) 複合ヘテロ接合変異(1名)、c.785C>T (p.P253L) ホモ接合変異(2名) を見出した。両方の変異は、ともにミスセンス変異であると推定された。また、両変異ともにグリコシルトランスフェラーゼ様ドメインに存在していた。野生型 HAP1 細胞は、ラミニン上で培養することで、*α-dystroglycan* は集積し、11H6 抗体で染色された。一方、*POMGNT2-KO* 細胞では 11H6 抗体での染色は見られなかった。*POMGNT2-KO* 細胞への野生型 *POMGNT2* cDNA の導入により 11H6 抗体陽性となった。一方、p. M165T 及び p.P253L 変異 *POMGNT2* cDNA の導入では、11H6 抗体陰性であった。HeLa 細胞に導入された p. M165T 及び p.P253L 変異 *POMGNT2* は、野生型 *POMGNT2* と同様に、小胞体での局在が見られた。しかしながら、HEK293 細胞で発現させた p.M165T 及び p.P253L 変異 *POMGNT2* は、野生型 *POMGNT2* に比べ、10%以下の比活性しか検出されなかった。

*Tubular aggregate myopathy* については、細胞外に  $Ca^{2+}$  を加えることで、変異 *ORA11* をもつ細胞では有意に細胞内  $Ca^{2+}$  濃度が上昇し、*ORA11* チャネルの特異的阻害剤により抑制されることを見出した。またこの細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇は、細胞内  $Ca^{2+}$  貯蔵器官から放出されたものではなく、細胞外から細胞内へ  $Ca^{2+}$  が異常流入していることによるものであることを明らかにした。以上の結果より、*ORA11* 優性変異による恒常的 SOCE 活性化が、*Tubular aggregate* 形成および骨格筋障害の原因であることが示された。

#### 4. 病理・画像所見解析

遺伝性ミオパチーでのIBISS画像登録にあたっての倫理申請を行い承認を得て、遺伝性ミオパチー画像登録フォームを作成した。今年度は遺伝学的未診断例の遺伝性ミオパチー47例の骨格筋画像と、ミトコンドリアミオパチー12例の脳画像の集積を行った。今後は、次世代遺伝子解析で得られた遺伝子情報をもとに、表現型評価ツールとして筋病理とあわせて骨格筋画像や脳画像所見との相関を解析する。

HMERFについては、筋病理所見を再検討した結果、cytoplasmic bodyが筋線維内でネックレス状に配列する所見(necklace cytoplasmic bodyと命名)が感度82%、特異度99%と極めて優れた筋病理学的マーカーであることが明らかとなった。

#### 5. 国内外の連携

2014年には827件の筋病理診断を行った。諸外国の筋疾患診断拠点では殆どが年間検体数500件程度であり、国際的に最高水準にある筋疾患診断拠点であることが確認された。本邦における年間筋生検数は1000件を超える程度と予想されることから、約8割の検体が国立精神・神経医療研究センターに集まっていることが確認された。診断後の検体はレポジトリとして蓄積されているが、凍結筋の総検体数は2014年末で15140検体となり、世界有数の筋レポジトリとなっている。

諸外国との連携については、7月より、タイ人医師2名を、9月より中国人医師1名を、更に3月からは韓国人医師2名を受け入れて、筋疾患診断に関する研修ならびに研究に携わっている。アウトリーチ活動としては、8月にこれまで筋疾患専門医のいなかったインドネシアを訪問し、ジャカルタのCipto Mangunkusumo 病院において、講義、患者診察、筋生検等を現地神経内科医とともに行った。これが契機となり、3月末には日本神経学会およびインドネシア神経学会の共催でワークショップが開催されることになっている。また、その他、タイ・バンコクのSiriraj病院およびBhumibol Adulyadej病院、マレーシア・クアラルンプールのマラ

ヤ大学、台湾・高雄市の高雄医学大学において、臨床病理カンファレンスを開催するとともに、講義や患者診察などを行った。さらに、筋疾患専門医が殆どいないエジプトに出向き、カイロのEgyptair病院で、現地医師とともに筋疾患患者約150名を2度の訪問で診察し、更に筋生検を行った。加えて、これら地域からの診断支援要請に応えて、筋病理を初めとする筋疾患診断支援を行った。

#### D. 考察

1. 既知遺伝子のハイスループット解析  
遺伝子診断が未知の遺伝性筋疾患に対して、筋疾患遺伝子パネルによる、次世代シーケンサーIonPGMを活用することにより、効率のよい遺伝子診断が可能である。しかし、網羅的変異解析にもかかわらず、未だ70%の症例で、原因遺伝子が判明していない。この原因として、ターゲット領域以外の変異、もしくはリピート、欠失や挿入などの検出が難しい変異である可能性や、遺伝性疾患という臨床診断が間違っている可能性もあるが、新規の筋疾患原因遺伝子による疾患である可能性が高いと考えている。これらの症例に対しては、エクソームシーケンスによる、遺伝情報の蓄積を行うことで、新規の筋疾患原因が明らかとなると考えられる。

ミトコンドリア病については、1例で病因確定を行い投稿論文として報告した。今後ECHS1の欠損とミトコンドリアの翻訳異常、呼吸鎖複合体の活性低下の関連について更に解析を行う予定である。

#### 2. 全エクソーム解析

遺伝子診断が未知の遺伝性筋疾患に対して、筋疾患遺伝子パネルによる、次世代シーケンサーIonPGMによるスクリーニングを行った後、診断未知の筋疾患に対してエクソームシーケンスを行うことで、新規疾患原因遺伝子を見出す方法は、省コスト、省時間を考える上でも有効であると思われる。今後は、変異の病原性についての解析が必要であり、同じ変異を持った症例の蓄積が病原性の証明には大切であることから、今

後さらにエクソームシーケンスによる、遺伝情報の蓄積を行い、新規の筋疾患原因が明らかにしていくことが必要である

### 3. 新規原因遺伝子変異の病原性証明と疾患分子病態解明

HAP1 細胞を用いた変異の病因性の証明方法は、他の遺伝子変異を原因とする□-dystroglycanopathy まで、広く利用することができることが示された。今後は、変異遺伝子補完実験で、HAP1 細胞が発現する□-dystroglycan とラミニンとの結合実験など生化学的解析を行うことで、この方法の有効性を示していきたいと考えている。

これまでORAI1 遺伝子の劣性変異により重症複合型免疫不全症が引き起こされることは知られていたが、今回優性変異により骨格筋疾患を来すという新たな知見を得た。また、ORAI1 と複合体を形成する STIM1 の優性変異でも同様に、SOCE が活性化され Tubular aggregate myopathy を発症することが報告されており、SOCE 活性による細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度変化が骨格筋障害に関与していると推察された。以上の知見は、新規の筋疾患概念を提唱するものであり、細胞内 Ca<sup>2+</sup>動態と骨格筋障害の関連を解明する端緒となり得る。また、Tubular aggregate myopathy の病態がORAI1 チャンネルの機能獲得型変異であることを明らかにし、その特異的阻害剤が有効であるという *in vitro* での実験結果を得たことから、治療法への応用が期待される。

### 4. 病理・画像所見解析

遺伝性ミオパチーの骨格筋画像では、遺伝子型と表現型が明らかな例のなかで、疾患特異性の高い筋罹患分布の特徴が知られており、骨格筋画像における筋選択性として知られている。今後このような遺伝子型・表現型相関を確立するためにはさらに多くの画像登録が必要であり、加えて、他施設からの筋病理診断例のレポジトリ 蓄積にあわせた画像登録が望まれる。画像登録を単施設から複数施設への登録システムへ発展し、筋レポジトリ と関連付けられる画像集積を行うには、撮像条件等の統一など

を検討していく必要がある。

HMERFについては、過去の筋病理標本の再検討の結果、極めて優れた筋病理学的マーカーを同定することができた。筋病理所見は数多くあるものの、高度の疾患特異性を有する所見は数えるほどしかなく、今回の同定は極めて有意義であると考えられる。

### 5. 国内外の連携

国内では筋生検検体の約8割の検体を集めて筋病理診断を中心とする筋疾患診断サービスを行った。診断件数においても診断内容においても世界最高水準のものであることが確認された。

この診断サービスに係る費用は研究の一環として研究費で賄われているが、実態は診療支援である。特に「難病の患者に対する医療等に関する法律」が施行され医療費助成の対象となる疾患が増えてその診断基準が整理されていく中で、多くの筋疾患の診断基準において、商業的サービスのない遺伝子診断や筋病理解析が必須条件となっている現実、事実上、研究者が無償で提供しているサービスが医療制度の根幹を担っていることを明白に示している。加えて、このようなサービス提供は、研究者が夜間や休日などの時間を削って提供しているのが実情であるが、その専門的な知識と技術、労働に対する対価は全く支払われていないのが現実である。このような診断サービスが日本の医療制度を維持するのに必須であることは明白であり、このようないわば「日本の隠れた医療費」に対する早急な財政的対策が求められる。

諸外国との連携については、順調にネットワークを拡大しつつある。特にこれまで専門家が全くいなかったインドネシアとの接点できたことは今後の発展に大きく寄与すると期待される。しかし、依然としてアジア域では、筋疾患専門医が存在しない地域があり、今後そのような地域へのアプローチも積極的に行い、筋疾患学分野での先進国である本邦の責務を果たすことが求められる。

## E. 結論

4 つの既知筋疾患原因遺伝子パネルによるスクリーニング方法を開発し、その有用性を明らかにした。診断未知の筋疾患患者にたいする全エクソーム解析によって、新規遺伝子の発見につながる結果を示した。

-dystroglycanopathy での変異病原性評価システムとして HAP1 細胞を用いる方法を確立した。病理・画像所見のレポジトリを構築するとともに HMERF では necklace cytoplasmic body が感度・特異度ともに高い優れた病理学的マーカーを示した。国内外の連携を推進し、ネットワーク拡大の基盤を形成した。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Endo Y, Noguchi S, Hara Y, Hayashi YK, Motomura K, Miyatake S, Murakami N, Tanaka S, Yamashita S, Kizu R, Bamba M, Goto YI, Matsumoto N, Nonaka I, Nishino I: Dominant mutations in *ORAI1* cause tubular aggregate myopathy with hypocalcemia via constitutive activation of store-operated  $Ca^{2+}$  channels. *Hum Mol Genet.* 2015 Feb 1; 24(3): 637-48.

Dong M, Noguchi S, Endo Y, Hayashi YK, Yoshida S, Nonaka I, Nishino I: DAG1 mutations associated with asymptomatic hyperCKemia and hypoglycosylation of -dystroglycan. *Neurology.* 2015 Jan 20; 84(3): 273-9.

Yuen M, Sandaradura SA, Dowling JJ, Kostyukova AS, Moroz N, Quinlan KG, Lehtokari VL, Ravenscroft G, Todd EJ, Ceyhan-Birsoy O, Gokhin DS, Maluenda J, Lek M, Nolent F, Pappas CT, Novak SM, D'Amico A, Malfatti E, Thomas BP, Gabriel SB, Gupta N, Daly MJ, Ilkovski B, Houweling PJ, Davidson AE, Swanson LC, Brownstein CA, Gupta VA, Medne L, Shannon

P, Martin N, Bick DP, Flisberg A, Holmberg E, Van den Bergh P, Lapunzina P, Waddell LB, Sloboda DD, Bertini E, Chitayat D, Telfer WR, Laquerrière A, Gregorio CC, Ottenheim CA, Bönnemann CG, Pelin K, Beggs AH, Hayashi YK, Romero NB, Laing NG, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, Melki J, Fowler VM, MacArthur DG, North KN, Clarke NF: *Leiomodin-3 dysfunction results in thin filament disorganization and nemaline myopathy.* *J Clin Invest.* 2014 Nov; 124(11): 4693-708.

Miyatake S, Koshimizu E, Hayashi YK, Miya K, Shiina M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu 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 Jul; 24(7): 642-7.

Kawase K, Nishino I, Sugimoto M, Togawa T, Sugiura T, Kouwaki M, Kibe T, Koyama N, Yokochi K: Nemaline myopathy with *KLHL40* mutation presenting as congenital totally locked-in state. *Brain Dev.* [Epub Feb 2015] ahead of print

Puppo F, Dionnet E, Gaillard MC, Gaildrat P, Castro C, Vovan C, Karine B, Bernard R, Attarian S, Goto K, Nishino I, Hayashi YK, Magdinier F, Krahn M, Helmbacher F, Bartoli M, Levy N: Identification of variants in the 4q35 gene *FAT1* in patients with a Facioscapulohumeral dystrophy (FSHD)-like phenotype. *Hum Mutat.* [Epub Jan 2015] ahead of print

Montassir H, Maegaki Y, Murayama K, Yamazaki T, Kohda M, Ohtake A, Iwasa H,

- Yatsuka Y, Okazaki Y, Sugiura C, Nagata I, Toyoshima M, Saito Y, Itoh M, Nishino I, Ohno K: Myocerebrohepatopathy spectrum disorder due to POLG mutations: A clinicopathological report. *Brain Dev.* [Epub Nov 2014] ahead of print
- Uruha A, Hayashi YK, Oya Y, Mori-Yoshimura M, Kanai M, Murata M, Kawamura M, Ogata K, Matsumura T, Suzuki S, Takahashi Y, Kondo T, Kawarabayashi T, Ishii Y, Kokubun N, Yokoi S, Yasuda R, Kira JI, Mitsuhashi S, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Necklace cytoplasmic bodies in hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* [Epub Sep 2014] ahead of print
- Sanmaneechai O, Likasitwattanakul S, Sangruchi T, Nishino I: Ophthalmoplegia in congenital neuromuscular disease with uniform type 1 fiber. *Brain Dev.* [Epub Aug 2014] ahead of print
- Yonekawa T, Nishino I: Ullrich congenital muscular dystrophy: clinicopathological features, natural history and pathomechanism(s). *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 86(3): 280-287, Mar 2015
- Wang CH, Liang WC, Minami N, Nishino I, Jong YJ: Limb-girdle Muscular Dystrophy Type 2A with Mutation in *CAPN3*: The First Report in Taiwan. *Pediatr Neonatol.* 56(1): 62-65, Feb, 2015
- Tanboon J, Hayashi YK, Nishino I, Sangruchi T: Kyphoscoliosis and easy fatigability in a 14-year-old boy. *Neuropathology.* 35(1): 91-93, Feb 2015
- Kawase K, Nishino I, Sugimoto M, Kouwaki M, Koyama N, Yokochi K: Hypoxic ischemic encephalopathy in a case of intranuclear rod myopathy without any prenatal sentinel event. *Brain Dev.* 37(2): 265-269, Feb, 2015
- Falcone S, Roman W, Hnia K, Gache V, Didier N, Laine J, Aurade F, Marty I, Nishino I, Charlet-Berguerand N, Romero NB, Marazzi G, Sassoon D, Laporte J, Gomes ER: N-WASP is required for Amphiphysin-2/BIN1-dependent nuclear positioning and triad organization in skeletal muscle and is involved in the pathophysiology of centronuclear myopathy. *EMBO Mol Med.* 6(11): 1455-1475, Nov, 2014
- Saito H, Tohyama J, Walsh T, Kato M, Kobayashi Y, Lee M, Tsurusaki Y, Miyake N, Goto YI, Nishino I, Ohtake A, King MC, Matsumoto N: A girl with West syndrome and autistic features harboring a de novo TBL1XR1 mutation. *J Hum Genet.* 59(10): 581-583, Oct, 2014
- Fujii T, Hayashi S, Kawamura N, Higuchi MA, Tsugawa J, Ohyagi Y, Hayashi YK, Nishino I, Kira JI: A case of adult-onset reducing body myopathy presenting a novel clinical feature, asymmetrical involvement of the sternocleidomastoid and trapezius muscles. *J Neurol Sci.* 343(1-2): 206-210, Aug, 2014
- Cho A, Hayashi YK, Monma K, Oya Y, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Mutation profile of the *GNE* gene in Japanese patients with distal myopathy with rimmed vacuoles (GNE myopathy). *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 85(8): 912-915, Aug, 2014
- Mukai M, Sugaya K, Ozawa T, Goto Y, Yanagishita A, Matsubara S, Bokuda K, Miyakoshi A, Nakao I. Isolated mitochondrial stroke-like episodes in an elderly patient with MT-ND3 gene mu-



tation. *Neurol Clin Neurosci* (in press)

Sakai C, Yamaguchi S, Sasaki M, Miyamoto Y, Matsushima Y, Goto Y.

ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome. *Hum Mut* 36: 232-239, 2015

Ohnuki Y, Takahashi K, Iijima E, Takahashi W, Suzuki S, Ozaki Y, Kitao R, Mihara M, Ishihara T, Nakamura M, Sawano Y, Goto Y, Izumi S, Kulski J-K, Shiina T, Takizawa S. Multiple deletions in mitochondrial DNA in a patient with progressive external ophthalmoplegia, leukoencephalopathy and hypogonadism. *Inter Med* 53: 1365-1369, 2014

Miyatake S, Koshimizu E, Hayashi YK, Miya K, Shiina M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu 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*. 24(7): 642-647, Jul, 2014

## 2. 学会発表

Endo Y, Noguchi S, Hara Y, Hayashi YK, Motomura K, Murakami N, Tanaka S, Yamashita S, Kizu R, Bamba M, Goto Y, Miyatake S, Matsumoto N, Nonaka I, Nishino I: Dominant mutations in ORAI1 cause tubular aggregate myopathy with hypocalcemia via constitutive activation of store-operated Ca<sup>2+</sup> channels. 19th International Congress of the World Muscle Society, Berlin, Germany (Langenbeck-Virchow-Haus), 10.8, 2014 (10.7-10.11)

Wen-Chen Liang, Wenhua Zhu, Satomi Mitsuhashi, Ichizo Nishino, Yuh-Jyh Jong, An 8-year-old girl with congenital cataracts and motor development delay,

14<sup>th</sup> AOMC ANNUAL SCIENTIFIC MEETING 2015, バンコク, 3.4.2015

Wenhua Zhu, Jantima Tanboo, Takashi Ito Satomi Mitsuhashi, Ichizo Nishino, A 35-year-old man with distal muscle weakness, contractures, and persistent hyperCKemia, 14<sup>th</sup> AOMC ANNUAL SCIENTIFIC MEETING 2015, バンコク, 3.4.2015

Wen-Chen Liang, Wenhua Zhu, Satomi Mitsuhashi, Satoru Noguchi, Ichizo Nishino, A case report of TRAPPC11 disease: a wider clinical spectrum with multiple systemic involvement. The 4<sup>th</sup> Oriental Congress of Neurology, 上海, 3.28.2015

Sakai C, Matsushima Y, Sasaki M, Miyamoto Y, Goto Y: Targeted exome sequencing identified a novel genetic disorder in mitochondrial fatty acid -oxidation. *Euromit* 2014, Tampere, Finland, 6.16, 2014

Matsushima Y, Hatakeyama H, Takeshita E, Kitamura T, Kobayashi K, Yoshinaga H, Goto Y. Leigh-like syndrome associated with calcification of the bilateral basal ganglia caused by compound heterozygous mutations in mitochondrial poly(A) polymerase. *Euromit* 2014, Tampere, Finland, 6.16, 2014

Goto Y: Mitochondrial Disease. *Asian & Oceanian Epilepsy Congress* 2014. Singapore, 8.7, 2014

## 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