

20151006/A

厚生労働科学研究費補助金

(難治性疾患等政策研究事業 (難治性疾患政策研究事業))

希少難治性筋疾患に関する調査研究

平成 27 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 青木 正志

東北大学大学院医学系研究科 神経内科学

平成 28 年 3 月 印刷

目 次

I. 総括研究報告書

- 希少難治性筋疾患に関する調査研究----- 1
東北大学 大学院医学系研究科 神経内科学 青木正志

II. 分担研究報告書

1. 炎症性筋疾患鑑別マーカーの開発----- 7
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 西野一三
2. FHL1 ミオパチーの臨床調査----- 11
東京医科大学病態生理学分野 林由起子
3. 先天性ミオパチーの患者登録システムの構築----- 14
国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科 小牧宏文
4. 本邦における筋チャンネル病
(非ジストロフィー性ミオトニー症候群および周期性四肢麻痺) ----- 19
大阪大学大学院医学系研究科 神経内科 高橋正紀
5. Schwartz-Jampel 症候群の病態解明と調査----- 22
順天堂大学大学院医学研究科 老人性疾患病態治療研究センター 平澤恵理
6. 先天性筋無力症候群----- 25
名古屋大学 医学系研究科 神経遺伝情報学 大野欽司
7. 自己食空胞性ミオパチーの診療ガイドラインの骨子と課題----- 30
公立大学法人奈良県立医科大学 神経内科 杉江和馬

Ⅲ. 協力者研究報告書

1. 特定疾患制度と封入体筋炎-----	35
国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科 森 まどか	
2. 封入体筋炎における Glutathione peroxidase 1/2 陽性封入体-----	37
関西医科大学 神経内科 日下博文	
3. 次世代シーケンサーを用いた封入体筋炎のミトコンドリア異常の検索-----	39
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 樋口逸郎	
4. 中條西村症候群と IBM の臨床像・筋病理像の比較-----	41
和歌山県立医科大学 神経内科 村田顕也	
5. 孤発性封入体筋炎における抗 NT5C1A 抗体の病因論的意義の検討-----	43
熊本大学大学院生命科学研究部 神経内科学分野 山下 賢	
6. 下腿三頭筋エコー輝度の解離により孤発性封入体筋炎と炎症性筋炎とを鑑別できる -----	49
徳島大学神経内科 梶 龍兒	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	51
V. 研究成果に関する刊行物-----	61

班体制

希少難治性筋疾患に関する調査研究

研究代表者	青木 正志	東北大学大学院医学系研究科 神経内科学
研究分担者	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
	林 由起子	東京医科大学病態生理学分野
	小牧 宏文	国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科
	高橋 正紀	大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学
	平澤 恵理	順天堂大学大学院 老人性疾患病態治療研究センター
	大野 欽司	名古屋大学医学系研究科神経遺伝情報学
	杉江 和馬	奈良県立医科大学 神経内科
事務局	鈴木 直輝	東北大学神経内科

I . 総括研究報告書

「希少難治性筋疾患に関する調査研究」

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

研究要旨

平成 21 年度から設立された厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業の研究奨励分野によりこれまで同事業としては対象になっていなかった多くの希少難治性筋疾患の調査研究が開始された。本研究班はこれまでの研究奨励分野での研究成果を元に、希少難治性筋疾患を①周期性四肢麻痺、非ジストロフィー性ミオトニー症候群といった筋チャンネル病や Schwartz-Jampel 症候群などの細胞膜興奮伝達障害による「筋シナプトパチー・チャネロパチー」、②Danon 病や過剰自己貪食を伴う X連鎖性ミオパチーなどの「自己貪食空胞性ミオパチー」、③封入体筋炎、④先天性ミオパチーの 4 群に大別して診断基準の確定および関連学会での承認、診療ガイドラインの作成を行ってきた。また難病情報センターのホームページで一般向けの病気の解説、医療従事者向けの診断・治療指針を掲載した。平成 25 年度より縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（GNE ミオパチー）、眼・咽頭遠位型ミオパチー、三好型ミオパチー、Marinesco-Sjögren 症候群、ベスレムミオパチーに関しても本研究班の守備範囲に組み入れられた。

平成 27 年 1 月からウルリッヒ病、自己貪食空胞性ミオパチー、Schwartz-Jampel 症候群は、小児慢性特定疾患治療研究事業の対象疾患に、さらに遠位型ミオパチー、先天性筋無力症候群、封入体筋炎、ベスレムミオパチーは指定難病とされ、個人調査票の作製に貢献した。これら 5 疾患に対しては診断基準を作成し、全国での患者数の把握、診断ガイドラインの策定を行ってきた。さらに診断基準・ガイドラインの策定や患者数調査にとどまらず、患者検体（DNA、筋生検サンプル、線維芽細胞）を合わせて収集することで、今後の病態研究の基盤整備を行った。診断精度の向上を目的とした遺伝子診断の診断体制の整備も、次世代シーケンサーを用いたスクリーニングを含めて行った。

研究分担者

西野 一三 （独立行政法人 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）
林 由起子 （東京医科大学医学部医学科 病態生理学分野・主任教授）

小牧 宏文 （国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経診療部 医長）
高橋 正紀 （大阪大学大学院医学系研究科 神経内科 講師）
平澤 恵理 （順天堂大学大学院医学研究科 老人性疾患病態治療研究

	センター 准教授)
大野 欽司	(名古屋大学大学院医学系研究科 神経遺伝情報学 教授)
杉江 和馬	(公立大学法人 奈良県立医科大学 神経内科 准教授)

研究協力者	
櫻井 英俊	(京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門)
漆葉 章典	(独立行政法人 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 臨床開発部)
石山 昭彦	(独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経診療部)
大久保真理子	(独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経診療部)
竹下 絵里	(独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター病院 臨床検査部)
米川 貴博	(独立行政法人 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)
伊藤美佳子	(名古屋大学大学院医学系研究科 神経遺伝情報学)
寧 亮	(順天堂大学大学院医学研究科)
野中 里紗	(順天堂大学大学院医学研究科)
木下 正信	(首都大学東京健康福祉学部・教授)
松浦 徹	(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経内科学・准教授)
佐々木良元	(三重大学医学部附属病院 神経内科)
古田 充	(大阪大学医学部附属病院 神経内科・脳卒中科)

森まどか	(国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科・医師)
日下 博文	(関西医科大学 神経内科・教授)
樋口 逸郎	(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・教授)
村田 顕也	(和歌山県立医科大学 神経内科・准教授)
山下 賢	(熊本大学 神経内科・准教授)
梶 龍兒	(徳島大学 神経内科・教授)
織田友理子	(NPO 法人 PADM)

A. 研究目的

本研究班では希少難治性筋疾患として
 (1) 周期性四肢麻痺、非ジストロフィー性ミオトニー症候群といった筋チャンネル病
 (1') 先天性筋無力症候群
 (2) Schwartz-Jampel 症候群
 (3) Danon 病や過剰自己貪食を伴う X 連鎖性ミオパチーなどの「自己貪食空胞性ミオパチー」
 (4) 封入体筋炎
 (5) 先天性ミオパチー
 さらに、平成 25 年度より
 (6) 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (DMRV または GNE ミオパチー)
 (7) 眼・咽頭遠位型ミオパチー
 (8) 三好型ミオパチー
 (9) Marinesco-Sjögren 症候群
 (10) ベスレムミオパチー
 を対象として扱う。

封入体筋炎は骨格筋に縁取り空胞と呼ばれる特徴的な組織変化を生じ炎症細胞浸潤を伴う疾患である。ステロイドや免疫グロブリン大量療法といった免疫学的治療に不応もしくは増悪することもあり、有効な治療法は無い。封入体筋炎の診断基準は 1995 年に Griggs らが提唱したものが改変され使用されているが多発筋炎との病理学的相違が問題になる例も多く、現行基準は見直しが必要である。また診断マーカーや有病率の評価なども求められている。また三好型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチーについても未確定診断例が多く存在する。

ベスレムミオパチーとウルリッヒ型先天性筋ジストロフィーは、VI 型コラーゲンをコードする COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異によって発症する。平成 22 年度「ベスレ

ムミオパチーとその類縁疾患の実態調査」研究班（西野班）が、1978-2004年の国立精神・神経医療研究センター（当施設）の筋病理および遺伝子診断実績に基づいて、ウルリッヒ型先天性筋ジストロフィーの患者頻度0.4-0.8（10万対）、ベスレムミオパチーは疑い例を含めたとしてもウルリッヒ型先天性筋ジストロフィーの1/10程度であることを明らかにした。一方、英国のウルリッヒ型先天性筋ジストロフィー、ベスレムミオパチーの患者頻度はそれぞれ0.13（10万対）、0.77（10万対）と報告されていることから、本邦の実際のベスレムミオパチーの患者数はもっと多いと考えられる。つまり、ベスレムミオパチーの患者のなかには、肢帯型筋ジストロフィーとしてフォローされていたり、筋力低下が軽度で未受診となっている例があると考えられ、ベスレムミオパチー症例の掘り起しが必要である。本研究では、これまでに確保されたベスレムミオパチー例に加え、当施設の凍結生検筋レポジトリーにおいて、臨床像、VI型コラーゲン免疫染色、COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異スクリーニングから新たに確保された症例も含め、ベスレムミオパチー症例の掘り起しに役立つ臨床情報を明らかにすることを目的としてきている。

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーは GNE 遺伝子の劣性変異により発症する疾患であり、最近では GNE ミオパチーと呼ばれていることが推奨されている。これまでに、本邦にはおよそ 200-300 人の患者が存在することが推定されることを明らかにしてきた。本疾患においては、既にシアル酸補充療法の第 II 相臨床試験が海外で行われており、平成 27 年度末には本邦でも東北大学および全国の計 5 施設で第 II/III 相試験が開始される。この臨床試験を成功させるためにも、引き続き新たな患者の同定が必要である。

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。これまでに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、先天性ミオパチーの各病型頻度、病因、及び臨床管理上の問題点を明らかにし、診断基準の作成を行うことを目的とする。先天性筋疾患の骨格筋画像では筋ごとに障害の程度が異なる筋選択性があることが報告されているが、病型または進行の程度により必ずしも一様なパターンを示さない。臨床所見、検査所見、筋病理所見、分子遺伝学的解析の特徴を統合させ、診断基準、ガイドラインを作成するため、診断に際し多くの施設で実施可能なこの骨格筋画像に着目し、

画像データを病型ごとに収集し、解析を行い、臨床、検査、病理、遺伝学的情報との統合をすすめる必要がある。

Marinesco-Sjögren 症候群は、小脳失調、精神発達遅滞、先天性白内障、ミオパチーを特徴とする乳幼児期発症の難治性疾患である。常染色体劣性遺伝形式をとり、その原因遺伝子 SIL1 が同定されている。我々の先行研究から、Marinesco-Sjögren 症候群は本邦での患者数が、50 人以下であることが推測される、きわめて希少な疾患であることが明らかとなった。加えて、乳幼児期に発症するも生命予後に直接関わる合併症が少ないことが示唆された。本研究では、超希少疾病で、かつ経過の長い Marinesco-Sjögren 症候群の臨床的特徴をとらえ、診断基準を作成し、学会承認を目指すことを目的とする。

細胞外マトリックスタンパク質・パールカンをコードする HSPG2 の遺伝子変異によるパールカン機能部分欠損は良性筋疾患 **Schwartz-Jampel 症候群**を惹起する。平澤等が、米国で診断した邦人例の他、本邦で遺伝子変異が確定をした Schwartz-Jampel 症候群はまだなく、潜在的な罹患者の存在が想定される。本研究の目的は、本邦における Schwartz-Jampel 症候群の遺伝子診断を確立し、その分子病態を明らかにすることである。

骨格筋の電氣的興奮・収縮などに不可欠なイオンチャネルの遺伝子異常が周期性四肢麻痺、ミオトニーなどの疾患の原因となることが判明した。これらは「チャネル病」と総称される疾患に含まれる。これら骨格筋チャネル病は、疾患として気づかれていない軽症例から、筋萎縮・筋力低下を呈する重症例まである。さらに、専門医であっても経験することが稀で、診断・治療などに困難を伴うことが多い。我々の 21 年度の調査から、遺伝子診断施行率が低く確定診断例が非常に少ないこと、臨床徴候（特にミオトニー症候群）に対する認識が低く見逃されている可能性のあることが浮き彫りになった。そこで、診断確定症例を増やし、臨床情報・電気生理検査所見を蓄積することにより、より精度の高い診断基準・検査指針の策定につなげることを目的とした。また、特に原因となる遺伝子異常が同定されないことの多い低カリウム性周期性四肢麻痺について、次世代シーケンサーによる網羅的解析を精力的に行い、原因遺伝子を同定することも目的とした。さらに先天性筋無力症候群に関しても対象疾患としている。

自己貪食空胞性ミオパチーは、筋鞘膜の性質を有する特異な自己貪食空胞 (AVSF) を伴う筋疾患で、代表疾患として Danon 病や過剰自己貪食を伴う X 連鎖性ミオパチー (XMEA)

がある。病態や発症機序は未解明なため、疾患概念確立に向け診断基準作成を試みた。また自己貪食空胞性ミオパチーの全国実態調査を行い、臨床的および筋病理学的特徴を見出した。

B. 研究方法

封入体筋炎については新たな診断基準に基づき患者登録、患者検体の集積およびそれを利用した解析研究を行う。本研究代表者・青木が研究を分担する「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係研究分野）拠点(代表 松原洋一)」、および、本申請研究分担者・林が研究を分担する「同・一般研究班(代表 西野一三)」と共同して次世代シーケンサーによる解析を行う。また疾患バイオマーカーについて、病理学的マーカー (Glutathione peroxidase, mitochondria)、血清マーカーとしての cN1A 抗体、生理検査マーカーとしての超音波についても検証も行う。三好型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチーについても診断基準を確定する。三好型ミオパチーについては次世代シーケンサーを用いた診断も追及する。

ベスレムミオパチーについては当施設凍結生検筋レポジトリにおいて、ベスレムミオパチーと考えられる例を抽出し、西野班で報告した例も加えて臨床情報を解析した。抽出基準は、西野班において作成されたベスレムミオパチーの診断基準における A-a.常染色体優性遺伝の家族歴があり、B-b.VI型コラーゲン免疫染色異常または C-a.COL6A1, COL6A2, COL6A3 遺伝子変異を有する例とした。

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーについては患者血液または骨格筋よりゲノム DNA を抽出し、サンガー法により全エクソンおよびエクソン・イントロン境界領域のシーケンシング決定を行った。全国での患者数を PADM 患者会などの協力により集計し、平成 27 年度末からの N アセチルノイラミン酸の第 2/3 相試験開始に向けて準備している。

(独)国立精神・神経医療研究センター (NCNP)骨格筋レポジトリ約 13,000 検体のデータを分析し、先天性ミオパチーの各病型頻度を推計する。先天性ミオパチーは乳幼児期早期に発症する遺伝性筋疾患で、筋病理所見から複数の病型に分類される。しかし、近年は遺伝子結果に基づいた疾患名称が用いられることもあり分類自体が混沌とし、そのため診断基準の作成は困難なのが現状である。その中で疾患概要として、先天性ミオパチーに必要かつ十分な診断条件とは何か、について検討し診断基準作成を行った。登録システムについても整備を行なった。

先行研究で見いだした **Marinesco-Sjögren 症候群** 36 名の臨床情報をもとに、その具体的な臨床経過、症状、合併症などを分析し、また、文献的知見も加味し、**Marinesco-Sjögren 症候群**の臨床的特徴を明らかにすることによって、診断基準および重症度分類の作成をめざす。

先天性筋無力症候群に関しては、平成 25 年度までに作成した診断基準の検証・改定を行い、先天性筋無力症候群の指定難病への登録に向けて、臨床調査個人票案 (新規・継続) を作成するとともに、難病指定医向けテキストを作成し、難病情報センターウェブページ の原稿を作成した。本邦の先天性筋無力症候群を発掘するためにエキソームシーケンシング・全ゲノムシーケンシング・サンガーシーケンシング解析を行い、平成 26 年度に新たに 3 症例の診断を行った。

Schwartz-Jampel 症候群に関しては臨床診断・遺伝子診断方法を確立し、本邦における発症者を掌握し、その臨床的特徴、経過などを調査した。

全国から提供された筋チャンネル病(周期性四肢麻痺、非ジストロフィー性ミオトニー症候群など)疑いの症例について、既知の原因遺伝子 (SCN4A, CACNA1S, CLCN1, KCNJ2, KCNJ18) についてサンガー法によるシーケンシング解析を施行した。骨格筋チャンネル病の重症度分類の策定および診断確定のための適切な指針が重要である。なかでも周期性四肢麻痺は発作性疾患のため、症度分類が困難であるが、本年度われわれは 3 段階 (軽・中等・重症) の分類を提案しその有用性を示した。QOL の調査も行なった。

国立精神・神経医療研究センターで管理する、海外例を含む自己貪食空胞性ミオパチー患者の臨床病理学的特徴をもとに診断基準を作成した。全国 2,617 の関連施設 (神経内科、循環器科、小児科) に実態調査を行い、臨床的特徴や合併症、治療法を明らかにした。また、新規を含めた自己貪食空胞性ミオパチー患者の生検筋の筋病理学的解析を行った。

(倫理面への配慮)

研究分担・協力施設において、患者からの文書での十分なインフォームド・コンセントを得る。

患者からの血液検体は連結可能匿名化を行った後、外部委託施設に送付し、DNA 抽出および血清分離を行う。処理された検体は国立精神・神経医療研究センター等に送り、個人情報管理者により、送付してきた施設を含まない通し番号を付与され、ゲノム DNA として保管される。バックアップ施設 (東北大学など) にも検体を分けて保存する。各研究協力

施設において、個人情報管理者を置き、連結可能匿名化で用いた匿名符号の管理について責任を持つものとする。

臨床調査票は主治医が記載し、血液検体と結び付けられる形で連結可能匿名化を行い、研究統括施設に送られ、個人情報管理者により検体と同一の通し番号（施設情報が含まれない）を付与され、臨床データセンターに送付、LANに接続されていないコンピュータに入力し保存する。このコンピュータのログインにはパスワードを設定し、研究統括施設の個人情報管理者が管理する。臨床調査票の原本は鍵の掛るロッカーに保存する。臨床調査票による臨床情報収集は原則として経時的（1年毎）に行い、臨床像の進行・治療応答性に関する情報も蓄積する。

正常対象として筋疾患に罹患しておらず患者と血縁関係のない人（患者の配偶者など）から文書で十分なインフォームド・コンセントを得た後、採血しDNA抽出および血清分離を行う。正常対象については採血した施設で検体を連結不可能匿名化する。筋生検については疾患対象となるが、同様にインフォームド・コンセントを得た上で病態の比較検討をする。

封入体筋炎に関しては東北大学で臨床研究につき平成23年に倫理審査委員会の承認が得られている。ほかの分担研究施設に関しても各々の施設で承認済みである。

また骨格筋画像において得られた情報も、「疫学調査研究に関する倫理指針」に準じて行われ、本研究では個別のインフォームド・コンセントを得ることは計画していないが、インフォームド・コンセントを得ずに本研究を実施可能とする根拠は、収集するMRI画像情報は過去に診断や経過観察など診療のために得られた診療録情報の一部であり、本研究のために新たに患者から資料や情報収集することはなく、疫学研究の倫理指針（平成19年8月16日全部改正）の「第3 インフォームド・コンセント等 1 研究対象者からインフォームド・コンセントを受ける手続等」の「(2) 観察研究を行う場合 [2] 人体から採取された資料を用いない場合 イ 既存資料のみを用いる観察研究の場合」に該当することにあたり、同倫理委員会でも承認が得られている。

C. 研究結果

対象疾患である(1)周期性四肢麻痺、非ジストロフィー性ミオトニー症候群といった筋チャンネル病、(1')先天性筋無力症候群、(2)Schwartz-Jampel症候群、(3)Danon病や過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチーなどの「自己貪食空胞性ミオパチー」、(4)

封入体筋炎、(5)先天性ミオパチー、(6)縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー(GNEミオパチー)、(7)眼・咽頭遠位型ミオパチー、(8)三好型ミオパチー、(9)

Marinesco-Sjögren症候群、(10)ベスレムミオパチーのそれぞれについて、診断基準・ガイドラインの作製を行っている。

また、難病情報センターホームページに上記、2, 3, 4, 6-8, 10の疾患に関して一般向けの病気の解説、医療従事者向けの診断・治療指針を掲載した。また、平成27年1月からウルリッヒ病、自己貪食空胞性ミオパチー、Schwartz-Jampel症候群は、小児慢性特定疾患治療研究事業の対象疾患に、さらに遠位型ミオパチー、先天性筋無力症候群、封入体筋炎、ベスレムミオパチーは指定難病とされることになり、個人調査票の作製に貢献した。診断基準についての学会承認についても、後発の5疾患について2015年度に日本神経学会の承認を得ている。指定難病の書式についても改訂に際し、協力している。

各疾患における診断精度向上の試みについての記述は、各研究分担者の報告書に譲る。また封入体筋炎に関しては、班形成の歴史的な流れがあるため、研究協力者が各々の進展状況を別記、報告している。この中には診断マーカーとして有用な可能性のあるcN1Aについての報告もあり、論文等にもまとめていく予定である。今後多施設での検討結果が待たれるところである。

D. 考察

診断基準の作成については封入体筋炎をはじめとした各対象領域で作成することができた。診断ガイドラインに関しては、全国調査等を通じてその妥当性について検討を続ける。バイオマーカーについても有用性について議論を続けることができた。指定難病制度が大きく改定されたが、認定基準や実際の運用上、患者にメリットが乏しく登録症例数が実態を反映していないという問題点も浮き彫りになっている。三好型ミオパチーに関しては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次世代シーケンサーを用いた検討で検出されてきている。

ベスレムミオパチーは班による診断基準には、筋鞘膜特異的欠損や部分欠損を含めている。VI型コラーゲン免疫染色がベスレムミオパチーの診断に役立つと考えられる。

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーは本邦には少なくとも200名以上の患者が確かに存在することが明らかとなっている。平成27年

度末から治験が開始され、本研究班による成果も治験の運用に役立っている。

先天性ミオパチーの診断に際しての検査選択、所見解釈については診断を行う医療者側の主観が入り、診断・情報精度もそれに左右される可能性が残る。各病型の患者情報収集や病態解明も視野に入れたアプローチや解析を求める際、診断・情報の精度管理は解決すべき課題である。引き続き登録を進めていく。

Marinesco-Sjögren 症候群に関しては臨床報告など、可及的多くの情報を収集し、診断基準の根拠を明確にしていく必要がある。

Schwartz-Jampel 症候群については原因遺伝子が明らかになったが、効果的対症療法、根治療法が確立しておらず患者調査が進んでいない。全身の合併症リスクを調査して注意を喚起する必要がある。

チャネル病の診断指針 (ガイドライン) 策定のための検討として、神経生理学的検査、とくに Fournier らによるショートおよびロングエクササイズテストにもとづく骨格筋チャネル病の神経生理学的分類の有用性を検討したが、その特異度は低い可能性が示された。QOL 調査により現状の問題点も明らかになった。

自己貪食空胞性ミオパチーのうち乳児型自己貪食空胞性ミオパチーと先天性自己貪食空胞性ミオパチーでは VMA21 変異を認め、XMEA のアレレル病であることを明らかにした。確定診断には、臨床症状に加えて、筋病理所見、遺伝子解析結果をもとに行う必要がある。現状では根本治療はなく、心筋症や不整脈への対症療法が主体となる。今回、診療ガイドライン策定に向けて、現状で最適と考えられる診断および治療法について検討し、ガイドラインの骨子を作成した。多くの自己貪食空胞性ミオパチー患者でミオパチー症状は軽症である一方、Danon 病の心筋症は予後決定因子でありその診断および治療は重要である。

E. 結論

今後も継続して前向き調査での病態解明や患者数把握が必要である。同時に診断基準の精度についても検証していく。さらに患者血清・筋サンプルを用いた病態解明を行っていく。公費負担を含めた社会的支援も重要であり、指定難病制度の実際の運用にも協力していく。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

Izumi R, Niihori T, Takahashi T, Suzuki N, Tateyama M, Watanabe C, Sugie K, Nakanishi H, Sobue G, Kato M, Warita H, Aoki Y, Aoki M. Genetic profile for suspected dysferlinopathy identified by targeted next-generation sequencing. *Neurology Genetics* 2015;1:e36; doi: 10.1212/NXG.0000000000000036

Izumi R, Warita H, Niihori T, Takahashi T, Tateyama M, Suzuki N, Nishiyama A, Shirota M, Funayama R, Nakayama K, Mitsushashi S, Nishino I, Aoki Y, Aoki M. A mutation in hnRNPA1 causes isolated inclusion body myopathy in two families with multisystem proteinopathy. *Neurology Genetics* MS ID#: NG/2015/000729

*各分担者および協力者の研究発表についてはそれぞれの項目に譲る。

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

Ⅱ. 分担研究報告書

炎症性筋疾患鑑別マーカーの開発

研究分担者：西野一三^{1) 2)}

共同研究者：漆葉章典^{1) 2)}、西村洋昭^{1) 2)}、野口悟^{1) 2)}、三橋里美^{1) 2)}、林由起子^{1) 2) *}、佐藤和貴郎³⁾、山村隆³⁾

- 1) 国立研究開発法人 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
- 2) 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター メディカル・ゲノムセンター ゲノム診療開発部
- 3) 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 免疫研究部

* 現・東京医科大学病態生理学分野

研究要旨

炎症性筋疾患は抗炎症・免疫修飾治療が有効であることが多く、その鑑別は重要であるが、炎症性筋疾患と非炎症性筋疾患の識別は容易でない場合も多い。そのため炎症性筋疾患を鑑別するバイオマーカーが求められている。本研究では、①炎症性筋疾患と非炎症性筋疾患を鑑別するマーカーを同定すること、②近年、封入体筋炎患者で同定された抗 cytosolic 5'-nucleotidase 1A (cN1A) 抗体の診断マーカーとしての有用性を明らかにすることを目的とする。

①炎症性筋疾患患者 100 名および遺伝性筋疾患患者 50 名のサイトカイン血漿濃度を網羅的に測定した。IP-10 と eotaxin は各炎症性筋疾患群において遺伝性筋疾患群より有意に高値を示した。ROC 解析では IP-10 が炎症性筋疾患を識別するマーカーとしてより適していることが示唆され、IP-10 の感度は 91%、特異度は 90%であった。IP-10 血漿濃度が炎症性筋疾患を識別する優れたバイオマーカーとなり得ることが示された。

②封入体筋炎患者 34 名、皮膚筋炎患者 22 名、抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチー患者 35 名、GNE ミオパチー患者 15 名の血漿で ELISA 法にて抗 cN1A 抗体を測定した。抗 cN1A 抗体は封入体筋炎では 35% (12/34) で陽性であり、先行研究での陽性率と同等であった。皮膚筋炎、GNE ミオパチーにおいて陽性例は見られなかったものの、抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチーでは 20% (7/35) で陽性であった。抗 cN1A 抗体は封入体筋炎に対して感度が低く、特異性も不十分であり、診断マーカーとしての有用性は低いと考えられた。

A：研究目的

炎症性筋疾患は抗炎症・免疫修飾治療が有効であることが多く、その鑑別は重要であるが、炎症性筋疾患と非炎症性筋疾患の識別は、実際には筋生検などの諸検査を行ってもなお、容易でない場合がしばしばある。そのため炎症性筋疾患を鑑別するバイオマーカーが臨床現場において求められている。

本研究では、①炎症性筋疾患と非炎症性筋疾患を鑑別するマーカーを同定すること、②近年、封入体筋炎患者で同定された抗 cytosolic 5'-nucleotidase 1A (cN1A) 抗体の診断マーカーとしての有用性を明らかにすることを目的とする。

B：研究方法

①炎症性筋疾患患者 100 名（多発筋炎、皮膚筋炎、抗合成酵素症候群、免疫介在性壊死性ミオパチー、封入体筋炎）および遺伝性筋疾患患者 50 名（デュシェンヌ／ベッカー型筋ジストロフィー、肢帯型筋ジストロフィー、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー、GNE ミオパチー）の 27 種のサイトカイン血漿濃度を測定した。

②封入体筋炎患者 34 名、皮膚筋炎患者 22 名、抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチー患者 35 名、GNE ミオパチー患者 15 名の血漿で、ELISA 法を用いて抗 cN1A 抗体を測定した。先行研究にならい健常対照の平均値+3SD をカットオフ値とした（Larman, et al. Ann Neurol 2013, Pluk et al. Ann Neurol 2013）。

（倫理面への配慮）

本研究で用いる全ての検体ならびに臨床情報は全例採取時に国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認された「診断と検体の研究使用に関する承諾書」をもとにインフ

ォームド・コンセントされており、「神経・筋疾患の病態解明と治療法開発」を目的とした研究への使用が許可されている。

C：研究結果

①IP-10 と eotaxin は各炎症性筋疾患患者群において遺伝性筋疾患患者群より有意に高値を示した ($p<0.01$)。ROC 曲線の曲線下面積は IP-10 では 0.96 ($p<0.01$)、eotaxin では 0.88 ($p<0.01$)であり、IP-10 が炎症性筋疾患を識別するマーカーとしてより適していることが示唆された。IP-10 のカットオフ値を正診率が最高（91%）となる 650 pg/mL に設定したとき、感度は 91%、特異度は 90%であった。

②抗 cN1A 抗体は封入体筋炎では 35%（34 名中 12 名）で陽性であった。これは先行研究での陽性率と同等であった。皮膚筋炎、GNE ミオパチーにおいて陽性例は見られなかったものの、抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチーでは 20%（35 名中 7 名）で陽性であった。尚、健常対照の平均値+3SD というカットオフ値は、正診率の最高値を示した（78%）。封入体筋炎患者群あるいは抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチー患者群の中で、抗 cN1A 抗体の有無は臨床病理学的特徴に影響しなかった。

D：考察

①IP-10 血漿濃度は、炎症性筋疾患と非炎症性筋疾患の大別には有用なマーカーとなり得ることが示された。これは今後の診療において極めて有用性の高い知見になると考えられる。

しかし本研究にはいくつかの課題が残る。まず後天性非炎症性筋疾患（内分泌異常に伴うミオパチーや中毒性ミオパチーなど）は含

まれておらず、そうした疾患で IP-10 がどのような値を示すのかは明らかにできていない。次に、各症例の治療内容など、いくつか考慮できていない交絡因子がある。すでにステロイドなどの治療を受けている患者検体では、IP-10 値は下がると推察されるが、本研究の炎症性筋疾患群にはすでに治療を受けている例が含まれている。そのため感度を過小評価している可能性がある。こうした課題に取り組む追加調査が今後必要である。

②抗 cN1A 抗体は、アメリカおよびオランダの研究グループによって封入体筋炎患者において発見された自己抗体である。両グループの報告でも診断応用の目的では感度の低さが問題となっていたが、特異度の高さが強調されていた。しかしその後、オランダの同じグループから封入体筋炎以外の自己免疫疾患患者（シェーグレン症候群や全身性エリテマトーデス）で抗 cN1A 抗体が検出され、疾患特異性にも疑問が出始めてきた（Herbert, et al. *Ann Rheum Dis* 2015）。今回の我々の検討で、封入体筋炎以外の筋疾患においても、抗 cN1A 抗体が封入体筋炎と遜色ない頻度で検出されることが明らかとなった。抗 cN1A 抗体の診断目的での測定は、相当慎重に行うべきであると考えられる。

また抗 cN1A 抗体が特定の臨床的特徴を来すのかは、臨床的に重要な関心事である。本研究で、封入体筋炎の抗 cN1A 抗体陽性例と陰性例の臨床および病理学的特徴を比較したが、両者に有意な差異は認められなかった。これは抗 SRP 抗体陽性壊死性ミオパチーにおいても同様であった。一方、最近、封入体筋炎において抗 cN1A 抗体は嚙下障害や重度の下肢筋力低下などに影響するとして報告が出た（Goyal, et al. *JNNP* 2015）。その報告は

限られた症例数での検討に基づいたものであり、解釈には注意が要るが、本研究での結果とは一致しないものであり、さらなる検証と議論が必要である。

E : 結論

①IP-10 血漿濃度は炎症性筋疾患の鑑別マーカーとなる。

②抗 cN1A 抗体の封入体筋炎診断マーカーとしての有用性は低いと考えられる。

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

Uruha A, Noguchi S, Sato W, Nishimura H, Mitsuhashi S, Yamamura T, Nishino I. Plasma IP-10 level distinguishes inflammatory myopathy. *Neurology* 85: 293-294, 2015

Uruha A, Noguchi S, Hayashi YK, Tsuburaya RS, Yonekawa T, Nonaka I, Nishino I. Hepatitis C virus infection in inclusion body myositis: A case-control study. *Neurology* 86: 211-7, 2016

Furuta A, Kikuchi H, Fujita H, Yamada D, Fujiwara Y, Kabuta T, Nishino I, Wada K, Uchiyama Y: Property of Lysosomal Storage Disease Associated with Midbrain Pathology in the Central Nervous System of *Lamp-2* -Deficient Mice. *Am J Pathol.* 185(6): 1713-1723,

Jun, 2015

Suzuki S, Nishikawa A, Kuwana M, Nishimura H, Watanabe Y, Nakahara J, Hayashi YK, Suzuki N, Nishino I: Inflammatory myopathy with anti-signal recognition particle antibodies: case series of 100 patients. *Orphanet J Rare Dis.* 10(1): 61, May 2015 [Epub May 2015]

Nishino I, Carrillo-Carrasco N, Argov Z: GNE myopathy: current update and future therapy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 86(4): 385-392, Apr, 2015

2 : 学会発表

Uruha A, Noguchi S, Sato W, Nishimura H, Mitsuhashi S, Yamamura T, Nishino I: Plasma IP-10 level distinguishes inflammatory myopathy. 20th International Congress of the World Muscle Society, Brighton, UK (Brighton Dome), 10.2, 2015 (9.30-10.4)

漆葉章典, 野口 悟, 三橋里美, 西村洋昭, 後藤加奈子, 西野一三 : Plasma IP-10 level distinguishes inflammatory myopathy. 第7回筋炎ワークショップ, 新宿 (京王プラザホテル), 9.12, 2015

漆葉章典, 野口 悟, 佐藤和貴郎, 西村洋昭, 三橋里美, 山村 隆, 西野一三 : 血漿 IP-10 で炎症性筋疾患と非炎症性筋疾患を鑑別できる. 第一回日本筋学会学術集会, 小平 (国立精神・神経医療研究センター), 8.8, 2015

Uruha A, Noguchi S, Mitsuhashi S, Sato W, Yamamura T, Nishimura H, Nishino I: Plasma IP-10 level distinguishes inflammatory myopathy. 第56回日本神経学会学術大会, 新潟(朱鷺メッセ[新潟コンベンションセンター]), 5.22,2015 (5.20-5.23)

H : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1 : 特許取得

炎症性筋疾患鑑別マーカー及びそれを用いた炎症性筋疾患と非炎症性筋疾患の鑑別方法.
(出願中. 特願 2015-031517)

2 : 実用新案登録

なし

3 : その他

なし

FHL1 ミオパチーの臨床調査

研究分担者：林 由起子¹⁾

共同研究者：西野 一三²⁾

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神経研究所疾病研究第一部

研究要旨

臨床的にきわめて多彩な症状を呈する FHL1 ミオパチーについて、症例の集積を行った。その結果、11 家系 21 例に *FHL1* 変異が見いだされ、うち 8 例で追跡調査も可能であった。臨床症状は多彩だが、3 型に分類することが可能であった。進行性に呼吸障害を示す例が多く、早期に診断し、慎重に経過観察をしていくことが重要な疾患であることが明らかとなった。筋生検による還元小体の検出は診断上きわめて有用であった。

A：研究目的

先天性ミオパチーの 1 疾患として分類されている還元小体ミオパチー(RBM)は *FHL1* 遺伝子変異による疾患である。*FHL1* 変異は RBM の他にも X 染色体性優勢の肩甲下腿型ミオパチー、体幹筋障害性ミオパチー、強直性脊椎症候群(RSS)、Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィー(EDMD)の原因となることが報告され、FHL1 ミオパチーと総称されている。

本研究では、本邦における FHL1 ミオパチーの臨床的・病理学的・分子遺伝学的特徴を明らかにすることを目的とした。

B：研究方法

これまでに臨床的・筋病理学的に RBM、

肩甲帯優位の筋障害、RSS, EDMD と診断された症例について *FHL1* 変異解析を行い、有変異例について、臨床調査を行い、その解析を行った。

(倫理面への配慮)

本調査研究は、東京医科大学医学倫理委員会で承認を受けて行っている。本研究で用いた臨床・病理学的データはすべて連結可能匿名化し、解析を行った。

C：研究結果

11 家系 21 例の FHL1 ミオパチーを見だし、うち 5 家系 8 人について二次調査が可能であった。いずれも *FHL1* 第 2 LIM ドメインの Cys 残基の変化が認めら

れた。臨床症状は、乳幼児期に発症し急激に進行する早期重症型、若年発症で20歳までに歩行不能となる小児型、18歳以降に発症し比較的進行の緩やかな遅発型の3群に分けることが可能であった。早期重症型はすべて女性例であり、若年型は全例男性であった。筋障害は左右差を示すことが多く、頸部筋力低下、呼吸不全の頻度が高いという特徴があった。また rigid spine や関節拘縮の頻度も高かった。心障害が認められる例も少数存在した。遅発型も含めた10検体の筋病理組織標本のうち9例で還元小体が見いだされ、診断に有用であると考えられた。

D : 考察

FHL1 ミオパチーの患者数は少ないが、臨床的に多様であることから、診断に至っていない症例の存在も推測され、今後の臨床調査が重要であると考えられた。RBM はこれまで先天性ミオパチーに分類されてきたが、還元小体は成人例にも認められることから、疾患区分の見直しも考慮する必要があると考えられた。

E : 結論

FHL1 ミオパチーの臨床症状は非常に多彩であるが、3型に分類することが可能であった。急速に呼吸不全が進行する場合があり、定期的な経過観察が重要であると考えられた。還元小体の存在は診断に有用であり、筋生検は診断の一助として重要であると考えられた。

F : 健康危険情報

本疾患は進行に伴い呼吸不全を来すこ

と、また、不整脈や心不全などの心障害も合併しうることから、定期的な経過観察が必須である。

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

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, Mitsushashi S, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I. Necklace cytoplasmic bodies in hereditary myopathy with early respiratory failure. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 86(5):483-489, 2015.

Suzuki S, Nishikawa A, Kuwana M, Nishimura H, Watanabe Y, Nakahara J, Hayashi YK, Suzuki N, Nishino I. Inflammatory myopathy with anti-signal recognition particle antibodies: case series of 100 patients. Orphanet Journal of Rare Diseases 13;10:61, 2015

Nishikawa A, Mori-Yoshimura M, Segawa K, Hayashi YK, Takahashi T, Saito Y, Nonaka I, Krahn M, Levy N, Shimizu J, Kimura E, Goto J, Yonemoto N, Aoki M, Nishino I, Oya Y, Murata M. Respiratory and cardiac function in Japanese patients with dysferlinopathy. Muscle Nerve 53:394-401, 2016

2 : 学会発表

YK Hayashi. Myopathy with prominent contractures. 14th Asian and Oceanian Myology Center Annual Scientific Meeting, Shangri-La Hotel, Bangkok, Thailand March 1-4 (2), 2015

林由起子、西野一三. FHL1 ミオパチーの臨床病理学的解析. 日本人類遺伝学会第60回大会、2015年10月14-17日（発表16日）、東京

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

先天性ミオパチーの患者登録システムの構築

研究分担者： 小牧 宏文¹⁾

共同研究者： 石山 昭彦¹⁾

1) 国立精神・神経医療研究センター 病院 小児神経科

研究要旨

先天性ミオパチーは希少疾病であるため、自然歴を含む臨床研究を行う際や、将来的に治験等が行われる際にも、参加可能な患者を集めること自体が課題となる。このような臨床研究や治験を実施する基礎を構築する目的で、かつ国際的な登録システムと協調し参画していくため、本邦での先天性ミオパチーの登録システムを構築することとした。

対象は先天性ミオパチーの診断がされた患者で、基本的には臨床症状、筋病理や遺伝子での診断に矛盾しないと判断できる例とした。また、筋病理または遺伝子診断を行ったが診断根拠が得られなかった例や、これら検査は未実施だが臨床診断として矛盾ない例も含め対象として登録することとし、診断根拠にもとづき3つのレベル分け（階層付）を行うことにした。このシステムに登録し症例蓄積を行い、また、定期的に臨床情報を更新することで、先天性ミオパチー内の病型分布のほか、診断過程の現状や、疾患自然歴を知ることが可能となる。また、将来的に予想される治験への参加候補者数の把握を視野に入れることも可能となる。本年度は、先天性ミオパチーの患者登録のための倫理申請を行い、システム構築を行い登録体制を整えた。次年度より登録開始予定である。

A：研究目的

先天性ミオパチーは、出生時または乳幼児期早期より全身性の筋力低下、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。診断には、臨床症状や診察で先天性ミオパチーが疑わしい場合、筋生検による病理診断が行われる。これまで診断は筋病理所見にもとづき行われていたが、近年では遺伝子で診断が行われる例もある。

また、次世代シーケンサーの普及により、遺伝学的に未解明だった新規遺伝子変異例も見つかってきている。現時点では先天性ミオパチーの大半に有効性が認められた治療法はないが、分子病態解明に伴い、今後は治療法開発が重要な課題になってくる。

先天性ミオパチー自体はもともと患者数が非常に少ない希少疾病であるが、病型ごとの患者数となると、その数はさらに少なくなる。病型ごとで自然歴調査を行うにしても、また