

骨格筋チャネル病の調査研究

研究分担者：高橋 正紀¹⁾

共同研究者：久保田 智哉¹⁾、加藤 和人²⁾、佐々木 良元³⁾

1. 大阪大学大学院医学系研究科 機能診断科学
2. 大阪大学大学院医学系研究科 医の倫理と公共政策学
3. 桑名市総合医療センター 脳神経内科

研究要旨

骨格筋チャネル病（非ジストロフィー性ミオトニー症候群および遺伝性周期性四肢麻痺）について、研究班による診断の質保証のもとで、衛生検査所で遺伝学的検査が施行できる体制を確立した。また、臨床病態概念が広がりつつある Na チャネル異常症について、新生児期に喉頭痙攣を来した症例を見出し、チャネルの機能解析を合わせて臨床病態を明らかにした。臨床神経生理検査について、日本人標準値の作成に取り組んだ。

A：研究目的

骨格筋チャネル病は、低カリウム性周期性四肢麻痺、高カリウム性周期性四肢麻痺、先天性パラミオトニー、Na チャネルミオトニー、先天性ミオトニー、Andersen-Tawil 症候群など多くの疾患が含まれ、原因遺伝子も *SCN4A*, *CACNA1S*, *CLCN1*, *KCNJ2*, *KCNJ5* など複数ある。近年になり、骨格筋型ナトリウムチャネル α サブユニットをコードする *SCN4A* 遺伝子の変異が新生児喉頭痙攣の原因であることや、乳児突然死症候群の中にも含まれていることが示されている。さらに、ホモ接合性変異により発症するミオパチーや筋無力症候群が報告されてきており、骨格筋チャネル病の臨床病態は広がりを見せている。そのため、患者の同定と正確な診断のための遺伝学

的検査の体制の構築はますます重要になってきている。

遺伝子解析は大阪大および三重大においてゲノム研究として従来から行ってきたが、解析を依頼する（患者検体を提供する）医療機関でも倫理審査が必要であったうえに、医療法の改正により「研究の結果であり診療に供するものではない」と明確化されることとなり、将来の保険診療も見据えた検査体制の整備が求められている。

また、臨床的には、exercise test などやや特殊な神経生理検査が鑑別・原因遺伝子推定に有用とされる。しかしながら long exercise test (LET) の正常人のデータに人種間差があることが報告されている。日本人の既報では、正常コントロール 20 名にて 40 分の複合

筋活動電位(CMAP)は基準の $97.3 \pm 5.2\%$ となり、基準 CMAP 振幅の 20%の低下を陽性と判定することが提唱されている。一方で、海外の報告では、基準 CMAP 振幅は 88.4 ~ 78.4%の低下を認めており、基準 CMAP 振幅の 30%以上の低下または経過中で認めた最大 CMAP 振幅の 40%以上の低下で陽性とするなど人種間差を認める。

本年度は、非典型例の骨格筋チャンネル病の臨床病態を明らかにすること、遺伝学的検査のアクセスが容易で診療に供することのできる遺伝学的検査の体制を整備すること、臨床神経生理検査の標準化を行うことを目的とした。

B：研究方法

大阪大学および三重大学では全国の医療機関と共同研究で患者検体を受け入れ、サンガーまたはアンブリコンシーケンスにより遺伝学的解析を行っているが、その中の非典型的症例を中心に、培養細胞やツメガエル卵母細胞での発現系を用いた電気生理学的機能解析を行った結果と臨床病態との関連について検討した。

遺伝学的検査の体制整備については、衛生検査所でもあるかずさ DNA 研究所と、遺伝学的検査のための検索対象範囲、検査結果の解釈についての体制について、協議を行った。

人種差の報告されている LET について日本人の正常値の確立するため、健常な日本人成人 20 名を目標に LET を施行した。

(倫理面への配慮)

遺伝子に関わる研究については大阪大学ヒトゲノム研究審査委員会にて承認済みである。同意を文書にて得て、研究への参加は患者の

自由意思に基づくこと、同意の撤回が自由にできること、匿名化を行い個人情報保護に最大限の配慮をすることなど「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」などを遵守し行った。

臨床神経生理検査については、大阪大学医学部附属病院 観察研究倫理審査委員会での承認を得たのちに、研究協力者に文書で十分に説明し、同意を文書で取得して行った。

C：研究結果

新生児期に喉頭痙攣を来した E1702K 変異を、同じ領域の疾患変異(T1700_E1703del、E1702del)と比較検討したところ、速い不活性化の障害の程度が最も強く、症状との関連が裏付けられた。

既知の病原遺伝子変異 G144A と未報告の新規変異 V296F を有する Andersen-Tawil 症候群の症例を経験した。その病原性について検討したところ、既知の病原遺伝子変異 G144A のもたらすチャンネル機能変化が強いものの、V296F もチャンネル機能の低下を示した。

かずさ DNA 研究所と、効率的な遺伝学的解析のためのパネル構築につき協議を行った。非ジストロフィー性ミオトニー症候群、遺伝性周期性四肢麻痺に加え、反復発作性運動失調症や家族性片麻痺製片頭痛の解析も行えるパネルを作成することとした。また、検査結果報告時には、主治医がエキスパートパネルに代わる診断の品質管理を担保できるように、われわれ研究班が検査結果の解釈に協力する体制をとり、解釈の質を確保することとし、2019年8月13日よりかずさ DNA 研究所にて検体の受付を開始した。

LET について日本人の正常値の確立するた

め、健常な日本人成人 10 名で施行した。結論を出すにはさらなる例数の蓄積が必要であるが、欧米での LET の陽性基準は 30-40% とは、若干異なる可能性があるかもしれない。

D：考察

今年度の最も特筆すべき成果は、臨床に供することのできる遺伝学的検査の体制が整備できたことである。特に、診断の品質管理を担保できるように、われわれ研究班が検査結果の解釈に協力する体制を構築できた。今後、保険適応となり、いっそう患者の同定と正確な診断になることが望まれる。

また、遺伝学的検査に加え、その前提となる臨床神経生理検査についても日本人標準値の作成に取り組んだ。もともとアジア人男性において甲状腺機能亢進症による二次性の低カリウム性周期性四肢麻痺が多いことと合わせると、さらに例数を増やし正常日本人での反応を明らかにすることは、遺伝性周期性四肢麻痺の診断だけでなく、甲状腺中毒性周期性四肢麻痺の臨床病態解明のヒントにもなるかもしれない。

E：結論

骨格筋チャネル病（非ジストロフィー性ミオトニー症候群および遺伝性周期性四肢麻痺）について、研究班による診断の質保証のもとで、衛生検査所での遺伝学的検査として施行できる体制を確立した。また、臨床病態概念が広がりつつある Na チャネル異常症について、新生児期に喉頭痙攣を来した症例を見出し、チャネルの機能解析を合わせて臨床病態を明らかにした。臨床神経生理検査の標準化のため、日本人標準値の作成のための取り組みを始めた。

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

Nakaza M, Kitamura Y, Furuta M, Kubota T, Sasaki R, Takahashi MP. Analysis of the genetic background associated with sporadic periodic paralysis in Japanese patients. *J Neurol Sci.* 2020 in press

Horie R, Kubota T, Koh J, Tanaka R, Nakamura Y, Sasaki R, Ito H, Takahashi MP. EF hand-like motif mutations of Nav1.4 C-terminus cause myotonic syndrome by impairing fast inactivation. *Muscle Nerve.* 2020 in press

Kurokawa M, Torio M, Ohkubo K, Tocan V, Ohyama N, Toda N, Ishii K, Nishiyama K, Mushimoto Y, Sakamoto R, Nakaza M, Horie R, Kubota T, Takahashi MP, Sakai Y, Nomura M, Ohga S. The expanding phenotype of hypokalemic periodic paralysis in a Japanese family with p.Val876Glu mutation in CACNA1S. *Mol Genet Genomic Med.* 2020 Feb 27:e1175.

Fukumura S, Yamauchi K, Kawanabe A, Yamamoto A, Nakaza M, Kubota T, Kato S, Sasaki R, Okamura Y, Takahashi MP. Functional analysis of a double-point mutation in the KCNJ2 gene identified in a family with Andersen-Tawil syndrome. *J*

Neurol Sci. 2019 Dec 15; 407:116521.

Nagamatsu S, Osaki Y, Morita Y, Miyamoto Y, Mori I, Kubota T, Takahashi MP, Furushima T, Furuya H. Transient thyrotoxicosis-aggravated attacks of paralysis in a patient with hereditary hypokalemic periodic paralysis type 2. Neurology and Clinical Neuroscience 2019 7(6): 354-356.

久保田智哉、木村 卓、高橋正紀 指定難病最前線 遺伝性周期性四肢麻痺 新薬と臨床 2019, 68(11)1474-1478.

2 : 学会発表

佐々木良元、古田充、久保田智哉、高橋正紀 本邦における筋チャンネル病の遺伝学的特徴 日本神経学会 第 60 回日本神経学会学術大会 大阪 2019 年 5 月 24 日

堀江里歩、高真守、田中里江子、中村優一郎、佐々木良元、久保田智哉、伊東秀文、高橋正紀 先天性パラミオトニーにともなう 3 種の C 端に位置する変異ナトリウムチャンネルの機能解析 日本筋学会 第 5 回学術集会 2019 年 8 月 2 日 東京

菱田 藍、池田達也、石井隆之、高橋義秋、濱 真奈美、久保田智哉、高橋正紀、菅野 尚 SCN4A 遺伝子変異による低カリウム性周期性四肢麻痺の 1 例。日本内分泌学会 第 19 回 四国支部学術集会 2019 年 9 月 14 日 高知

高橋正紀、久保田智哉、佐々木良元 本邦の

骨格筋チャンネル病の遺伝子変異の特徴 人類遺伝学会第 64 回大会 2019 年 11 月 6 日 長崎

磯野萌子、濱川菜桜、古結敦士、山崎千里、久保田智哉、岩本和真、真鍋史朗、武田理宏、松村泰志、秀道広、高橋正紀、加藤和人. ICT を利用した患者参画型の医学研究における交流の場の構築. 第 7 回日本難病医療ネットワーク学会学術集会 2019 年 11 月 15-16 日 福岡

Horie R, Kubota T, Koh J, Tanaka R, Nakamura Y, Sasaki R Ito H, Takahashi MP. Myotonic mutations of Nav1.4 located at EF hand-like motif in C-terminus impair fast inactivation. The 64th Annual Meeting of the Biophysical Society, Feb 2020 SanDiego USA

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