

骨格筋チャネル病の調査研究

研究協力者：高橋 正紀¹⁾

共同研究者：仲座 真希¹⁾、北村 友梨¹⁾、森 樹貴¹⁾、山内 亨祐¹⁾、
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、診療に供することのできる遺伝学的検査が施行できる体制を確立した。本邦のチャネル病では、原因遺伝子やその変異の頻度が欧米と異なることが示された。また、本邦に多い孤発性周期性四肢麻痺にも遺伝的素因が存在することが示された。患者 QOL データなどを継続的に収集することが可能で双方向のコミュニケーションを目指す Rudy Japan は、新たな病像や問題点を得るのに有用である可能性がある。

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、指定難病では遺伝性周期性四肢麻痺と非ジストロフィー性ミオトニー症候群とに大別される。

臨床症状のみから、これら疾患を鑑別することは、しばしば困難である。exercise test といったルーチンには施行しない神経生理検査が鑑別診断・原因遺伝子推定に有用とされ

るが、まだまだ周知されておらず、検査法の標準化も望まれている。

周期性四肢麻痺と臨床診断される患者の中に、家族歴を認めず、原因となる変異が既知原因遺伝子に存在しない例(孤発性周期性四肢麻痺(SPP))が多数存在しており、臨床上の課題である。

筋チャネル病は、進行性の ADL 障害をきたし難く、一部では発作時のみの症状であることなどから、一般に良性の疾患と考えられている。そのため、本邦では診断が未確定の患者が多いうえに、疾患が患者 QOL に与える

影響が十分に評価されていない。

本研究では本症の診断を向上させることおよび本症患者の実態を解明することを目的とした。そこで、診断の向上のために、臨床神経生理検査の日本人標準値の作成、診療に供することのできる遺伝学的検査体制の整備を行うことを目指した。また、患者の実態を明らかにするために、診断確定例を対象に、臨床的あるいは遺伝的特徴を解析し、Patient-reported outcome(PRO)などを用いた患者 QOL 調査を継続的に行った。

B：研究方法

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。

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。

大阪大学と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プリコンシークエンスにより遺伝学的解析を行っている。2016 年末までに集積している症例について臨床的・遺伝的特徴について後方視的解析を行った。

アジア人 TPP を対象とした複数の研究で報告され、*KCNJ2* 遺伝子近傍に存在する計 9 つの疾患感受性 SNP について、日本人の SPP 54 例を対象に多型の頻度について検討し、データベース上の一般日本人の集団と比較した。

オックスフォード大学で構築された、新たなタイプの双方向の患者レジストリ Rudy を元に、オックスフォード大、大阪大学 医の倫理と公共政策学、大阪大学医学部附属病院 医療情報部の協力のもと、日本語版である

Rudy Japan の運用を進めた。

(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行えること、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。QOL 調査、レジストリ、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

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。さらなる例数の蓄積が必要であるが、欧米での LET の陽性基準の 30-40% とは、若干異なる可能性があるかもしれない。

かずさ DNA 研究所と協議し、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。

2016 年末までに 105 家系の確定診断例を集積した。そのうち低カリウム生周期性四肢麻痺 (HypoPP) は計 28 家系、その内訳は

CACNA1S 遺伝子変異による HypoPP1 が 16 家系、SCN4A 遺伝子変異による HypoPP2 が 12 家系であった。欧米での HypoPP は、ほとんどが HypoPP1 であり、HypoPP2 は全体の 10% 程度にとどまると言われていることから、本邦では HypoPP2 症例が相対的に多い傾向があった。また、欧米での SPP 頻度は全 HypoPP の 20 - 30% といわれているが、本邦の SPP は 43 例 (61%) と欧米で言われている数字より多い傾向にあることがわかった。

SPP の症例について、既報の 9 つの TPP 疾患感受性 SNV の全てについて、そのアレル頻度を検討したところ、有意にリスクアレル頻度が高いことが確認された。本邦の SPP 発症にも遺伝的背景が存在することが示唆された。

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。

骨格筋チャンネル病を対象に、ダイナミックコンセントを特徴とする Rudy Japan を、平成 29 年 12 月 1 日に正式運用を開始した。同時期より、Web を通じた患者フォーラムを定期的開催する試みを進めた。平成 31 年 3 月末時点で仮登録を含め、総数 35 名の登録患者で順調に増加し、15 名の患者について半年に 1 回 PRO を用いた患者 QOL 調査を開始している。

D: 考察

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。

近年になり、骨格筋型ナトリウムチャンネル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、骨格筋チャン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。また、新生児期に喉頭痙攣を来した症例の臨床病態を明らかにした意義も高い。

骨格筋チャンネル病を対象に、Rudy Japan の正式運用を開始し、Web を通じた患者フォーラムを定期的開催する試みを進め、順調に登録患者が増えてきている。また、現在、英国でも筋チャンネル病を対象とした Rudy の運用が計画されており、共同研究を計画中である。本邦と英国との比較を通じて、国や文化などの違いと疾患の問題点との関連などを検討する貴重な情報を得られることが見込まれる。

E: 結論

骨格筋チャンネル病 (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、診療に供することのできる遺伝学的検査が施行できる体制を確立した。本邦のチャンネル病では、原因遺伝子やその変異の頻度が欧米と異なることが示された。また、本邦に多い孤発性周期性四肢麻痺にも遺伝的素因が存在することが示された。患者 QOL データな

どを継続的に収集することが可能で双方向のコミュニケーションを目指す Rudy Japan は、新たな病像や問題点を得るのに有用である可能性がある。

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

Zhu W, Eto M, Mitsuhashi S, Takata K, Beck G, Sumi-Akamaru H, Mochizuki H, Sakoda S, Takahashi MP, Nishino I. GNE myopathy caused by a synonymous mutation leading to aberrant mRNA splicing. *Neuromuscul Disord.* 2018 Feb;28(2):154-157.

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.

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.

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.

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

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

2：学会発表

久保田智哉、渡辺大祐、國分則人、古田充、穀内洋介、阿部達哉、高橋正紀、遺伝性低カリウム性周期性四肢麻痺の発症機序とチャネル内電位感受性ドメインの電荷との関連について 第3回日本筋学会学術集会 2017年8月4日 東京

北村友梨、仲座真希、古田充、久保田智哉、佐々木良元、高橋正紀、日本人における弧発性周期性四肢麻痺の疾患感受性一塩基多型の解析 第12回日本臨床検査学教育学会

2017年8月24日 埼玉

Kubota T, Watanabe D, Kokubun N, Furuta M, Kokunai Y, Abe T, Takahashi MP.

Arginine-to-lysine mutations in the voltage sensor are associated with hypokalemic periodic paralysis The XXIII World Congress of Neurology 2017年9月19日 京都

久保田 智哉、Ana M. Correa、Francisco Bezanilla、高橋 正紀 電位依存性ナトリウムチャネルの電位感受性メカニズムについて 第47回日本臨床神経生理学学会学術大会 2017年11月29日 横浜

Nakaza M, Kubota T, Vicart S, Watanabe D, Kokubun N, Furuta M, Sternberg D, Kokunai Y, Abe T, Fontaine B, Takahashi MP. Hypokalemic periodic paralysis cases with substitutions from arginine to Lysine in the voltage sensor. The 62nd Biophysical Society meeting 2018 San Francisco, 2018年2月21日

高橋 正紀、仲座 真希、北村 友梨、古田 充、久保田 智哉、佐々木 良元 Analysis of genetic background for sporadic periodic paralysis in Japanese. 第59回日本神経学会学術大会 札幌 2018年5月26日

Kokunai Y, Sasaki R, Nakaza M, Kubota T, Takahashi MP. Novel insights into the pathomechanism of periodic paralysis and myotonic disorders. The 11th Japanese-French Workshop "New insights

in personalized medicine for neuromuscular diseases: from basic to applied myology" 2018.06.14, Tokyo

仲座真希、久保田智哉、佐々木良元、高橋正紀 本邦における筋チャンネル病の遺伝的特徴と患者 QOL について 日本筋学会第4回学術集会 2018年8月10-11日 岡山

Tomoya Kubota, Ryogen Sasaki, Masanori P. Takahashi Skeletal muscle channelopathy in Japan. Channelopathy 2018 (Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago) Jun 24, 2018 – Jun 26, 2018.

山内亨祐、福村忍、川鍋陽、山本晃代、仲座真希、久保田智哉、加藤辰輔、佐々木良元、岡村康司、高橋正紀 遺伝学的検査により同定された Andersen-Tawil 症候群家計における新規遺伝子変異 V296F とその機能解析 第48回日本臨床神経生理学学会学術大会 2018年11月8-10日 東京

濱川菜桜、古結敦士、山崎千里、磯野萌子、久保田智哉、高橋正紀、真鍋史郎、武田理宏、松村泰志、今村幸恵、岩本和真、秀道広、加藤和人 ICT を利用した患者参画型の医学研究の実践 第6回難病ネットワーク学会 岡山 2018年11月16日

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

3. その他

仲座真希、高橋正紀 先天性ミオトニー（日
本語訳） Gene review Japan,
[http://grj.umin.jp/grj/mytonia-congenita.ht
m](http://grj.umin.jp/grj/mytonia-congenita.htm) 2019年1月18日

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