

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)

希少難治性筋疾患に関する調査研究

平成 25 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 26 年 3 月 印刷

目 次

・ 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	

・ 分担研究報告書

1. ベスレムミオパチーの臨床病理学的特徴 GNE ミオパチーの遺伝子変異・表現型解析-----	33
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. 先天性ミオパチー -----	37
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 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	
3. Marinesco-Sjögren 症候群 -----	47
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	
4. 周期性四肢麻痺の新規原因遺伝子探索 -----	52
大阪大学 大学院医学系研究科 神経内科 高橋正紀	
5. Schwartz-Jampel 症候群の病態分子機構 -----	57
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. 本邦における終板アセチルコリンエステラーゼ欠損症の分子病態-----	60
名古屋大学 医学系研究科 神経遺伝情報学 大野欽司	
7. 日本国内における Danon 病患者の臨床病理学および遺伝学的検討 -----	64
公立大学法人奈良県立医科大学 神経内科 杉江和馬	
・ 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	69
・ 研究成果に関する刊行物-----	81

「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 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 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」、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」ならびに 封入体筋炎の 3 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。さらにはこれらによる新たな患者登録、患者検体の集積およびそれを利用した解析研究、治療法の開発を行った。またこれまでに研究奨励分野に取り上げられなかった 先天性ミオパチーについても全国調査による本邦における患者数の把握などを行った。さらに平成 25 年にはベスレムミオパチー、ウルリッヒ型先天性筋ジストロフィー、三好型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチー、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（DMRV）に関しても対象疾患とし、疾患の把握につとめた。

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・部長）
林 由起子（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）
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 医長）
高橋 正紀（大阪大学 大学院医学系研究科 神経内科 助教）
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 講師）

研究協力者

清水 玲子（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 臨床研究支援部 流動研究員）
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 小児神経科 医師）
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・助教）
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)
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 神経内科・准教授)
村田顕也	(和歌山県立医科大学 神経内科・講師)
山下賢	(熊本大学 神経内科・助教)
梶 龍兒	(徳島大学 神経内科・教授)

A. 研究目的

本研究班では希少難治性筋疾患として封入体筋炎、三好型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチー、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー(DMRV)、ベスレムミオパチー(BS)、ウルリッヒ型先天性筋ジストロフィー(UCMD)、先天性ミオパチー(CM)、マリネスコシェーグレン症候群(MSS)、シュワルツ・ヤンペル症候群(SJS)、シナプトパチー、筋チャネル病、自己貪食性ミオパチー(AVM)を対象として扱う。

封入体筋炎(IBM)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**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(BM)とウルリッヒ

型先天性筋ジストロフィー(UCMD)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、UCMDの患者頻度0.4-0.8(10万対)、BMは疑い例を含めたとしてもUCMDの1/10程度であることを明らかにした。一方、英国のUCMD、BM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BMの患者数はもっと多いと考えられる。つまり、BM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、BM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BM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、BM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する。

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー

(DMRV)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相臨床試験が海外で行われており、近い将来、本邦でも第相試験が開始されると期待されている。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。

Marinesco-Sjögren 症候群(MSS)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、MSS 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 MSS 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(SJS)**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 SJS 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 SJS 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「チャンネル病」と総称される疾患に含まれる。これら **骨格筋チャンネル病**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。

自己貪食空胞性ミオパチー (AVM)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 AVM 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。**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ーにおいて、BM 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 BM 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。

線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ス決定を行った。

(独)国立精神・神経医療研究センター (NCNP)骨格筋レポジトリー約 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。また先天性ミオパチーの中で最も頻度が高いことが判明したネマリンミオパチーについて、既知原因遺伝子すべてに対しターゲットシーケンス法を用いて、変異スクリーニングを行い、診断確定を進める。また原因の明らかでない例は、次世代型シーケンサーを用いたエクソーム解析により新規疾患候補遺伝子の探索を進める。さらに全国施設の協力を仰ぎ多数の画像症例のデータ収集を行うため、(独)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が独自に開発・提供する、画像情報を統合的に Web 上で閲覧することが可能なオンラインサポートシステム IBISS (Integrative Brain Imaging Support System)を用いた。骨格筋画像登録にあたり、倫理委員会での承認後、臨床、検査、病理、遺伝学的な所見を記入

するデータシートの作成を行った。このシステムを用い2005年1月から2013年10月までに当センターで精査が行われた症例のうち、筋病理または遺伝学的な解析により疾患名が確定した49例の画像登録を行った。各症例を病型ごとに分類し、下肢骨格筋画像の解析が可能であったMRI 38例、CT 41例の画像の登録を行った。罹患筋の選択性と筋障害の程度の解析には、萎縮・脂肪変性なしと、50%未満および50%以上の萎縮・変性ありの3群に分けて分類を行い、各病型で6割以上の症例で萎縮・変性を認める筋を、筋選択性として採用した。また、データシートのうち、診断年齢、血清CK値、側弯症の有無を抽出し、これらとあわせて病型間での特徴の相違を検討した。

先行研究で見いだしたMSS36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、MSSの臨床的特徴を明らかにすることによって、診断基準作成をめざす。

SJSを疑う1症例の初代線維芽細胞をドメイン特異的抗体で染色し、細胞外局在を確認した。Agilent社SureSelect Human All Exon kit V4を用いてエクソン領域のDNAを濃縮し、ABI SOLiD4 シークエンサーにてエキソームリシークエンシング解析を行った。パールカンのドメインIIIの2nd laminin type Bをcloningし細胞外分泌シグナルをつなげて、変異パールカンの細胞外分泌能を解析した。

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クエンス解析を施行した。新規変異の場合には、培養細胞(HEK293)に変異チャンネルを発現させ、パッチクランプ法でチャンネルの電位依存性などの機能に異常が生じているかどうかを確認することとした。またこれまでの症例の蓄積を元に診断基準の改訂をおこない、日本神経学会の評価を受けた。さらに既知の原因遺伝子に変異を認めない周期性四肢麻痺症例のうち5例を選び、次世代シークエンサーによる全エクソーム解析を行い、原因遺伝子を同定することを試みた。具体的には、SureSelect Human All Exon v.2 (Agilent)でゲノムDNAから全エクソームを濃縮し、ライブラリを調整した後、SOLiD4システムで配列情報を取得した。162のイオンチャンネル遺伝子を疾患原因候補として解析した。疾患変異の可能性のある変異チャンネルをツメガエル卵母細胞へRNAを注入し発現させ、チャンネル電流を二

電極膜電位固定法にて解析し、チャンネル機能の異常が認められるかどうか検討した。

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AVM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AVM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

全国調査やそれに基づき作成したIBMの診断基準を確定した。日本神経学会・日本小児神経学会等に対してこれらの診断基準を提出して学会診断基準として承認を受けた。これらの成果により臨床的には疾患の認知度を高め、正確な診断に至る症例が増えたと考えられ、また将来臨床試験を行う際に適切な症例を選択することが可能となるため、その意義は高い。**三好型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチー**の診断基準も策定した。三好型ミオパチー症例のうち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。

BMについては6家系、30例を解析した。家系1には8例の患者があり、うち2例では生検筋VI型コラーゲン免疫染色はSSCDと診断されていた。この家系の1例では、genomic DNAを用いたCOL6A1, COL6A2, COL6A3 遺伝子変異解析が実施されたが、変異は見出されなかった。

家系2には3例の患者があり、うち1例ではVI型コラーゲン免疫染色は正常であったが、COL6A2 遺伝子に c.1861G>A (p.Asp621Asn)ヘテロ接合性変異が見出された。

家系3には4例の患者があり、うち2例ではVI型コラーゲン免疫染色は正常であったが、3例ではCOL6A1 遺伝子に IVS14DS,G-A,+1 ヘテロ接合性変異が見出

された。

家系4には9例の患者があり、うち1例ではVI型コラーゲン免疫染色はSSCDと診断されていた。この家系の5例では、COL6A1 遺伝子に c.956A>G (p.Lys319Arg)ヘテロ接合性変異が見出された。

家系5には3例の患者があり、うち1例ではVI型コラーゲン免疫染色はSSCDと診断されており、COL6A1 遺伝子に c.428+1G>Tヘテロ接合性変異が見出されている。家系6には3例の患者があり、うち1例ではVI型コラーゲン免疫染色はSSCDと診断されていた。この家系の1例では、COL6A1, COL6A2, COL6A3 遺伝子に変異は見出されなかった。

これら家系の臨床症状は発症年齢は3-43歳まで分布したが、大部分の例は就学前から小学校であった。初発症状は、近位筋の筋力低下や足関節尖足位拘縮であった。思春期頃までに関節拘縮を認め、好発部位は手指関節、肘関節、足関節であった。9/30例でアキレス腱延長術の既往があり、年齢は6-17歳であった。1例は43歳で独歩不能となったが、35、45、53、54、69歳で独歩可能であった。1家系では側弯症がみられた。関節過伸展や人工呼吸器導入例はなかった。

DMRVについては通算212名の患者でGNE 遺伝子変異を同定した。424アレルのうちミスセンス変異が402アレル(94.8%)を占めていた。この中では、p.V572L 変異が205アレル(48.3%)を占め、最多であった。次に多かったのは、p.D176V 変異で95アレル(22.4%)を占めていた。

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**の頻度が筋ジストロフィーの中で最も頻度の高いデュシェンヌ型筋ジストロフィーと同程度であることを明らかにした。なかでも、ネマリンミオパチーの頻度が最も高く、約4分の1を占め、次いで先天性筋線維タイプ不均等症の順であったが、分類不能のものが約30%を占めていた。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180例について、既知疾患原因遺伝子すべてについて変異スクリーニングを行った。その結果、本邦患者ではACTA1 変異が最も多く、ついでNEB 変異例であった。また、次世代シーケンサーを用いた国際共同研究によって、乳児重症型ネマリンミオパチーの新規疾患原因遺伝子(KLHL40, KLHL41)を見だし、報告した。このうち、KLHL40 変異例は本邦で頻度が高く、創始者効果の存在が示唆された。

先天性ミオパチーのうちセントラルコア

病では筋の選択性が明瞭であり、症例間での相違も少なかった。また大腿直筋が腫大する所見を全例に認めるなど特徴的な所見も認め、進行した例でもその特徴を保っていた。ネマリンミオパチー、中心核ミオパチー、先天性筋線維タイプ不均等症では、筋選択性として病型内で一様でないものの、各病型とも数種類に細分類が可能で、原因遺伝子との関連が考えられた。血清 CK 値はいずれの病型でも正常下限から低値であるが、病型間ではほぼ近似していた。側弯症は各病型で 28-67% といずれの病型でも認めていた。

MSS36 人を、SIL1 変異例、SIL1 変異なし例、遺伝子解析未施行例に分け、SIL1 変異例を中心にその臨床的特徴を検討し、重要項目を抽出した。また、SIL1 変異なし例、遺伝子解析未実施例についてもその頻度を算出した。パールカンドメイン特異的抗体による初代線維芽細胞染色ではドメイン I, IV, V に対する特異的抗体により細胞外パールカンが染色されたが、ドメイン III に対する抗体では染色されなかった。エキソームリシーケンシング解析でドメイン III の 2nd laminin type B に p.Leu1088Pro ヘテロ変異を認め、サンガー法にて確認を行った。Leu1088 はオポッサムを除く哺乳類で高度に保存されていた。ドメイン III の 2nd laminin type B に細胞外分泌シグナルを付加し HEK293 細胞に発現をさせたところ、細胞内にも培養液中にも組み換えパールカンの発現を認めた。p.Leu1088Pro を導入したところ細胞内の組み換えパールカンの発現が減弱した。この変異組み換えパールカンの細胞外分泌を全く認めなかった。プロテアーゼ阻害剤 MG132 を加えたところ変異組み換えパールカンの細胞内発現が正常化し変異組み換えパールカンがプロテアーゼによって分解をされていることが示唆された。もう一方のアレルにも遺伝子変異が存在することが想定をされるために、エキソームリシーケンシング断片を、BWA にて再度 mapping を行い、unmapped reads を BLAT で mapping を行い、stringency を下げて SNV コールを行ったが、もう一方の変異は同定できなかった。また、網羅的な RT-PCR でもエクソンレベルの large InDel を同定できなかった。

約 30 例の筋チャンネル病患者の遺伝子解析を施行し、貴重な症例がいくつも見出された。たとえば、トムゼン型先天性筋強直症（優性遺伝性）の家系において、CLCN1 複合ヘテロ変異の患者というまれなケースが見出され、臨床病態の理解が深まった。また、SCN4A, CLCN1 の両方に新規変異が見

出された、非ジストロフィー性ミオトニー症候群も見出し、Na チャネル機能の解析の結果 SCN4A の変異は多型が疑われた。なお、情報交換を行いながら研究協力者の三重大学 佐々木良元助教のもとでも 30 例弱の遺伝子解析を遂行し、変異の一覧についてホームページの情報を改訂した。さらに症例の蓄積を元に診断基準の改訂をおこない、日本神経学会の評価を受けた。

Andersen-Tawil 症候群類似の心電図異常と周期性四肢麻痺を示す患者において、次世代シーケンサによる解析を行ったところ、KCNJ5 遺伝子にミスセンス変異を同定した。このチャンネルを Andersen-Tawil 症候群の原因である Kir2.1 チャネルと共発現させるとヘテロマーを形成し、Kir2.1 電流の抑制することが示されているが、変異チャンネルではより強い抑制が観察された。また、国立循環器病研究センター、滋賀医科大学の遺伝性不整脈の研究グループの協力で、不整脈と周期性四肢麻痺を呈する別の家系でも異常を認めたことから、このチャンネル遺伝子は、Andersen-Tawil 症候群のあらたな原因遺伝子であることが示された。

さらに筋強直性ジストロフィー患者由来 iPS 細胞を樹立し、病態研究・治療薬スクリーニングにむけての準備を開始した。2014 年 1 月に、周期性四肢麻痺、筋強直性ジストロフィーについて、患者検体を国立精神神経医療研究センターに提供し、作製予定である。

全国実態調査から、AVM 患者 41 例を確認した (Danon 病 13 家系 28 例 (男性 16 例、女性 12 例)、XMEA1 家系 3 例、乳児型 AVM 2 例、成人型 AVM 1 例、先天性 AVM 1 家系 7 例)。Danon 病の発症年齢は男性 10 代、女性 30 代で、死亡年齢は男性 20 代、女性 40 代であった。ミオパチーと肥大型心筋症を示し、死因は心不全であった。β ブロッカーを中心とした投薬加療がほとんどの症例で行われ、ペースメーカー埋込 6 例、心臓移植 1 例で施行されていた。一方、XMEA と先天性 AVM はミオパチーのみで心筋障害は稀であった。AVM 患者すべての生検筋で特徴的な AVSF がみられた。筋細胞膜の重層化は、Danon 病以外の病型で認めた。Danon 病では LAMP-2 変異を、XMEA では VMA21 変異を示した。乳児型 AVM と先天性 AVM では VMA21 変異を認め、XMEA のアレル病であることを明らかにした。さらに、既知の病型に該当しない AVM 例を見出し、このうち 10 例 (男性 5 例、女性 5 例) では LAMP-2 遺伝子および VMA21 遺伝子の変異を認めなかった。

策定済みの診断基準を成果物として別に添付する。

D. 考察

診断基準の作成については IBM 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。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検出されてきている。

BM は、幼少期に発症する例が多いが、成人発症例の報告もある。緩徐に進行する近位筋優位の筋力低下と筋萎縮、比較的早期に関節拘縮（手指、肘、足関節）が認められることが特徴である。今回確保された BM30 例のうち、病歴上アキレス腱延長術の既往が 9 例にあり（年齢 6 - 17 歳）、うち 4 例はそれぞれ 12、35、43、53 歳まで歩行可能が確認された。本症の関節拘縮は、筋力低下よりも早期に顕在化し、特に足関節の尖足位拘縮は BM を疑う特徴的な症状である。BM は通常 COL6A1, COL6A2, COL6A3 遺伝子のヘテロ接合性変異により発症する優性遺伝形式をとる。一般に生検筋の VI 型コラーゲン免疫染色では異常がなく、培養線維芽細胞において VI 型コラーゲン発現低下がみられることがあるとされている。しかし、本研究では、2 家系で VI 型コラーゲン染色パターンは正常であったが、ほかの 4 家系で実施された VI 型コラーゲン染色はすべて SSCD であった。欧米の BM 診断基準においては、一般に生検筋の VI 型コラーゲン染色性は保たれるとされているが、西野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 BM 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た。これまでの報告と同様、p.V572L 変異が最も高頻度であった。これまでの報告で p.V572L 変異がどちらかという重症の表現型と相関していることを明らかにしてきたが、これは欧米の患者に比して、本邦患者が重症である傾向があることの理由の一つかも知れない。

先天性ミオパチーのネマリンミオパチーについて既知原因遺伝子の網羅的変異スクリーニングを行ったにも関わらず、60%以

上の患者で変異が見いだされなかったことから、未知の疾患原因遺伝子が複数存在することが示唆され、今後の課題となった。また、NEB 変異は、海外ではネマリンミオパチーの約半数を占めるとの報告もあるが、今回我々のスクリーニング結果では多くても 10 数パーセントである。また、変異が 1 つのみしか見いだされない例が多いことから、検出方法の見直しなどが今後必要となると考えられる。

先天性ミオパチーの病型により、骨格筋画像の有用性が非常に高い病型とそれのみでは鑑別診断に不十分な病型が存在した。単一遺伝子が原因である病型では明瞭な筋選択性を認めるが、複数の原因遺伝子を認める病型ではそのパターンも複数認めており、遺伝子ごとでの関連性が示唆された。しかし全例で遺伝子解析が実施されているわけではなく、因果関係を証明するには至っていない。また診断基準作成にあたっては、その他の臨床所見、検査所見との組み合わせる必要があると考えられるが、血清 CK 値や側弯症の所見の有無は先天性ミオパチーとしての診断としては重要であるものの、病型分類にあたっての鑑別における有用性は低いと考える。ほかに有用な可能性のある項目を再考する必要がある。

現時点では単施設での解析にとどまるが、IBISS のオンラインシステムを用い、複数施設、多数の症例蓄積へと発展し、先天性ミオパチーの骨格筋画像データベースを確立し、臨床、検査、病理、遺伝学的情報との統合を行っていくことが求められる。

MSS 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。

SJS については本邦で初めて診断した新規遺伝子変異を同定し、機能解析によりパルカンの分泌の障害を実証した。

両年度で 50 例以上のチャネル病の遺伝子解析を行い、新規変異を含む遺伝子異常を同定した。全国にはまだまだまだ確定診断のできていない患者が存在することが予想される。今後、効率的な遺伝子解析、未知の変異・原因遺伝子の同定を行うことが求められる。

低カリウム性周期性四肢麻痺では欧米に比して既知の変異が認められる割合が低かったことから、班員である名古屋大学神経情報遺伝学の大野欽司教授と次世代シーケンサによる解析を行った。その結果、Andersen-Tawil 症候群のあらたな原因遺伝子を見出すことが出来た。G タンパク共役型の Kir3.x チャネルが骨格筋において、内向き整流電流の調整という生理機能を有し

ていることが示唆された。

また、新規変異のチャンネルについては多型でなく、疾患変異であり症状を説明しうるか、チャンネル機能の解析、コンピューターシミュレーションまで行い、厳密に検証してきた。これは、遺伝子解析のみに終わらず、チャンネル病の病態解明に重要であるといえる。また、臨床的意義だけでなく、基礎研究では明らかにしえない、予想外の部位のイオンチャンネルの機能も明らかにできる可能性がある。

AVM の遺伝子解析にて、Danon 病では LAMP-2 遺伝子変異を、XMEA、乳児型 AVM、先天性 AVM では VMA21 遺伝子変異を認めたことから、AVM はライソゾームの機能異常に伴う疾患であることがより明瞭となった。また、既知の病型に該当しない AVM 例を見出し、このうち 10 例（男性 5 例、女性 5 例）では LAMP-2 遺伝子および VMA21 遺伝子の変異を認めなかった。この 10 例の臨床情報の検討では、発症年齢や臨床症状は様々で、病理学的検討では XMEA に類似した所見を呈する女性例が 4 例あった。10 例の AVM は原因遺伝子未知の新たな AVM と考えられ、今後、AVM の臨床病型の分類に再検討が必要と考えられた。

今後の展望について

IBM、三好型ミオパチー、眼咽頭型ミオパチーに関しては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。同時に診断基準やガイドラインの精度についても検証していく。

肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）としてフォローされていた例のなかで、手指や肘、足関節に関節拘縮を認める例や常染色体優性遺伝の家族歴を有する例を中心として次世代シーケンサーを用いたターゲットリシーケンスによって新たな BM 患者の掘り起こしを行う。

DMRV については更に患者を同定する。患者登録システム Remudy での患者登録が既に始まっており、Remudy と連携することにより、近い将来本邦で実施される第相臨床試験がスムーズに実施できるようにする。

先天性ミオパチーのうち、ネマリンミオパチー以外の病型についての病因解明は今後の課題である。今後も良好な国際協力体制を維持しながら、さらなる先天性ミオパチーの病因・病態に関する研究をすすめていく必要がある。また、その結果を踏まえ、診断基準の作成を行っていく必要がある。先天性ミオパチーを含む神経・筋疾患に関

する骨格筋画像のデータベースのウェブ登録システムを全国的に普及、確立し登録を進めていく。複数施設による多くの症例の収集、蓄積を中心として、病型ごとに、臨床所見、検査所見、骨格筋画像解析、筋病理解析、分子細胞生物学的解析との関連性を検討し診断基準の作成へと繋げる。

SJS に関してはもう一方のアレルの遺伝子変異を同定する目的で、エキソームリシーケンシング断片を用いた CNV 解析ツールの開発を現在行っている。

チャンネル病は国立循環器病研究センターや滋賀医科大学循環器内科などといった世界を代表する遺伝性不整脈（心臓のチャンネル病）の研究グループとの共同研究体制が出来たことから、今後ますます診断・治療法を含めた幅広い領域で研究の発展が期待される。また、Consortium for Clinical Investigations of Neurological Channelopathies へ参画し、国際共同研究・治験に貢献することも検討している。また、周期性失調症といった脳のチャンネル病の診断・解析についても着手し成果が上がっており、今後ますますの発展が期待される。

AVM は超稀少疾患で治療法が確立していないため、疫学調査解析を踏まえて治療を含めた診療ガイドラインの策定と実態把握が必要である。今後、現状行われている治療実態を詳細に検討して、予後決定因子である心筋症に重点を置いた治療指針作成に向けて取り組む。また既知の病型に該当しない AVM 症例の臨床病理学のおよび遺伝学的解析を行う。疫学調査から AVM の自然歴を明らかにして、実地臨床医が活用できるように治療を含めた診療ガイドラインの作成を目指す。

4) 研究内容の効率性について

希少難治性筋疾患は多くが稀少疾患であるため n 数の関係から統計学的な処理を行うことが難しい場合が多く、特殊なアプローチを必要とする。これらの希少難治性疾患を包括的に扱うことにより効率的に診断・治療の指針を策定することができる。

BM では遺伝子診断ならびに病理診断を行いつつ、アンケート調査を実施し有用なデータが得られたことから、研究は効率的に実施されたと考える。得られたデータは今後、患者同定ならびに経過観察を行っていく際に貴重な参考資料となると考えられる。

DMRV については、システムティックに遺伝子診断を行い新たな患者を効率よく同定できたと考えられる。200 名を超す患者を有する国は日本しかなく、国際的にも有用

なデータを提供するものである。

先天性ミオパチーは NCNP の骨格筋レポジットリーを活用することにより、効率的に試料と情報の収集が可能となり、また、国際共同研究により、効率的に新規疾患原因遺伝子を同定することが可能となった。本邦における大規模変異スクリーニングは国際共同研究において重要な知見を多く提示することが出来た。

SJS は本邦における存在が疑われていた希少疾患であり、本邦初例の解析は有意義であったと自負する。大野らが次世代シーケンサによるチャンネル病の網羅的解析のシステムを構築したことから、新規遺伝子の探索を含む、遺伝的解析が効率的に行うことができるようになった。

AVM は超希少な疾患であるため、国内患者数は限られていることから、患者の臨床情報の収集や患者検体での病理学的解析は効率的に行えたと考えられる。

6 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。さらにモデルマウスの開発や患者血清・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必要と考える。

BM は、幼少期に発症する例が多い。比較的早期に関節拘縮（手指、肘、足関節）が認められる。足関節の尖足位拘縮は BM を疑う特徴的な症状である。VI 型コラーゲン免疫染色が BM の診断に役立つと考えられる。

本邦には少なくとも 212 名の DMRV 患者が存在する。p.V572L 変異が本邦患者のアレルの約半数を占める。

本邦における**先天性ミオパチー**の病型頻度、ならびにネマリンミオパチーの病因と臨床症状についてその特徴と問題点を明らかにした。

MSS の診断基準作成のための基本項目を抽出した。今後、文献情報も加味し、ブラッシュアップしていく。

SJS の一例において新規ミスセンス変異を同定し、機能解析を行った。本邦においても SJS が存在することを明らかにした。

本邦における**骨格筋チャンネル病**の遺伝子解析を積極的に行い、未報告の新規変異についてはチャンネル機能の解析まで行い疾患変異であること確定した。診断未確定患者が多く存在することから、今後はさらに効率的な遺伝子解析の体制が求められる。また、周期性四肢麻痺の次世代シーケンサを用いた解析を行い、新規原因遺伝子の同

定という特筆すべき成果があった。

AVM の臨床病理学および遺伝学的解析を行い、世界で初めて診断基準を作成した。本邦で初めての AVM 患者の実態を調査し、新規を含め AVM 患者 41 例を確認した。各臨床病型により重症度や発症年齢、生命予後は大きく異なっていた。今後、AVM の診療ガイドライン作成を目指す。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Aoki M, Suzuki N. [Sporadic inclusion body myositis in Japan]. *Nihon Rinsho*. 2012 ;70: 895-906.
2. 林 由起子. Myofibrillar myopathy. *臨床神経学* 2013;53(11):1105-1108.
3. 西川敦子, 森まどか, 岡本智子, 大矢寧, 中田智彦, 大野欽司, 村田美穂「顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーと診断されていた3,4ジアミノピリジン有効の DOK7 遺伝子変異による先天性筋無力症候群の26歳女性例」*臨床神経 in press*
4. 大野欽司「RNA異常と神経疾患」*Annual Review神経*2012 :97-103, 2012 (Review).
5. 大野欽司「先天性筋無力症候群」*Clinical Neuroscience* 30 (6): 685-687, 2012 (Review).
6. 佐々木良元, 高橋正紀, 穀内洋介, 平山正昭, 衣斐達, 富本秀和, 望月秀樹, 佐橋功骨格筋型塩化物イオンチャンネル遺伝子 (CLCN1) の複合ヘテロ接合体変異で重症化したThomsen病 *臨床神経学* 2013;53:316-319
7. 久保田智哉 高橋正紀 骨格筋チャンネル病の最新知見—ミオトニー症候群と周期性四肢麻痺を中心に— *医学のあゆみ* 2013; 245(9):732-739.
8. 高橋正紀 周期性四肢麻痺 今日の診断指針2014年版 印刷中
9. 杉江和馬. ライソゾーム病: ダノン病. 先天代謝異常症候群 (第2版) - 病因・病態研究, 診断・治療の進歩 - . 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.20, pp588-593, 2012 .
10. 杉江和馬. 顔面肩甲上腕型筋ジストロ

フィーの骨格筋障害の分布・難病と在宅ケア. 17(10):53-55, 2012.

11. 杉江和馬. ライソゾーム膜の異常: ダノン病. 神経症候群III (第2版) - その他の神経疾患を含めて - . 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.28、(印刷中) .

海外論文

1. Suzuki N, Aoki M, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I. Increase in number of sporadic inclusion body myositis (sIBM) in Japan. *J Neurol*. 2012 ;259:554-6.
2. Takahashi T, Aoki M, Suzuki N, Tateyama M, Yaginuma C, Sato H, Hayasaka M, Sugawara H, Ito M, Abe-Kondo E, Shimakura N, Ibi T, Kuru S, Wakiyama T, Sobue G, Fujii N, Saito T, Matsumura T, Funakawa I, Mukai E, Kawanami T, Morita M, Yamazaki M, Hasegawa T, Shimizu J, Tsuji S, Kuzuhara S, Tanaka H, Yoshioka M, Konno H, Onodera H, Itoyama Y. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84:433-40.
3. Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum Genet* 2013;58:259-266.
4. Mori-Yoshimura M, Oya Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M: Respiratory dysfunction in patients severely affected by GNE myopathy (distal myopathy with rimmed vacuoles). *Neuromuscul Disord*.23(1): 84-88, Jan, 2013
5. Nalini A, Gayathri N, Nishino I, Hayashi YK: GNE myopathy in India. *Neurol India*. 61(4): 371-374, Jul-Aug, 2013
6. Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I: Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 84(9): 982-988, Sep, 2013
7. 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*. [Epub 2013 Sep]
8. Ravenscroft G, et al. Mutations in *KLHL40* Are a Frequent Cause of Severe Autosomal-Recessive Nemaline Myopathy. *Am J Hum Genet*. 93(1):6-18,2013.
9. Motoki T, et al. Fatal hepatic hemorrhage by peliosis hepatis in X-linked myotubular myopathy: A case report. *Neuro muscul Disord*. 23(11):917-921,2013
10. Takeuchi F, Yonemoto N, Nakamura H, Shimizu R, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Nishino I, Kawai M, Kimura E, Takeda S. Prednisolone improves walking in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients. *J Neurol*. In press.
11. Nakamura H, Kimura E, Mori-Yoshimura M, Komaki H, Matsuda Y, Goto K, Hayashi YK, Nishino I, Takeda SI, Kawai M. Characteristics of Japanese Duchenne and Becker muscular dystrophy patients in a novel Japanese national registry of muscular dystrophy (Remudy). *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:60.
12. Goto M, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto YI. MELAS phenotype associated with m.3302A>G mutation in mitochondrial tRNA^{Leu}(UUR) gene. *Brain Dev*. In press.
13. Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I. Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013; 84:982-8.
14. Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K. Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction. *Hum Mutat*. 2013; 34:997-1004.
15. Yonekawa T, Komaki H, Saito Y, Takashima H, Sasaki M. Congenital hypom

- yelinating neuropathy attributable to a de novo p.Asp61Asn mutation of the myelin protein zero gene. *Pediatr Neurol.* 2013; 48:59-62.
16. Kawabata T, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Hayashi YK, Nishino I, Momomura M, Kizawa T, Imagawa T, Yokota S. A pediatric patient with myopathy associated with antibodies to a signal recognition particle. *Brain Dev.* 2012;34:877-80.
 17. Hattori A, Komaki H, Kawatani M, Sakuma H, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I. A novel mutation in the LMNA gene causes congenital muscular dystrophy with dropped head and brain involvement. *Neuromuscul Disord.* 2012;22:149-51.
 18. Sukigara S, Liang WC, Komaki H, Fukuda T, Miyamoto T, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Hayashi YK, Sugie H, Sasaki M, Nishino I. Muscle glycogen storage disease 0 presenting recurrent syncope with weakness and myalgia. *Neuromuscul Disord.* 2012;22:162-5.
 19. Yoshinaga H, Sakoda S, Good JM, Takahashi MP, Kubota T, Arikawa-Hirasawa E, Nakata T, Ohno K, Kitamura T, Kobayashi K, and Ohtsuka Y: A novel mutation in SCN4A causes severe myotonia and school-age-onset paralytic episodes. *Journal of the Neurological Sciences* Apr 15;315(1-2):15-9 2012
 20. Inomata T, Ebihara N, Funaki T, Matsuda A, Watanabe Y, Ning L, Xu Z, Murakami A, Arikawa-Hirasawa E: Perlecan-Deficient Mutation Impairs Corneal Epithelial Structure, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* Mar 9;53(3):1277-84., 2012
 21. Ishijima M, Suzuki N, Hozumi K, Matsunobu T, Kosaki K, Kaneko H, Hassell JR, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y. Perlecan modulates VEGF signaling and is essential for vascularization in endochondral bone formation. *Matrix Biol.* 2012 Mar 7. May;31(4):234-45 2012. Epub ahead of print
 22. Suzuki N, Fukushi M, Kosaki K, Doyle AD, de Vega S, Yoshizaki K, Akazawa C, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y. Teneurin-4 is a novel regulator of oligodendrocyte differentiation and myelination of small-diameter axons in the CNS. *J Neurosci.* Aug 22;32(34):11586-99. 2012
 23. Futami I, Ishijima M, Kaneko H, Tsujikawa K, Ichikawa-Tomikawa N, Sadatsuki R, Muneta T, Arikawa-Hirasawa E, Sekiya I, Kaneko K. Isolation and Characterization of Multipotential Mesenchymal Cells from the Mouse Synovium. *PLoS ONE* 7(9): e45517 1-12
 24. Douet V, Arikawa-Hirasawa E, Mercier F. Fractone-heparan sulfates mediate BMP-7 inhibition of cell proliferation in the adult subventricular zone. *Neurosci Lett.* 2012 Oct 24;528(2):120-5. 2012. Epub 2012 Sep 7.
 25. Douet V, Arikawa-Hirasawa E, Mercier F. Fractone-heparan sulfates mediate FGF-2 stimulation of cell proliferation in the adult subventricular zone. *Cell Proliferation* 2013 Apr;46(2):137-45.
 26. Nakazawa N, Miyahara K, Okawada M, Yamataka A, Suzuki R, Akazawa C, Tomikawa-Ichikawa N, Arikawa-Hirasawa E. Laminin-1 promotes enteric nervous system development in mouse embryo. *Pediatr Surg Int.* 2013 Aug 24. [Epub ahead of print] Laminin-1 promotes enteric nervous system development in mouse embryo. *Pediatr Surg Int.* 2013 Nov;29(11):1205-8.
 27. Suzuki N, Numakawa T, Joshua Cho J, de Vega S, Mizuniwa C, Sekimoto K, Adachi N, Kunugi N, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y, Akazawa C. Teneurin-4 promotes cellular protrusion formation and neurite outgrowth through focal adhesion kinase signaling in press. *The FASEB Journal* fj.13-241034. Published online Dec 16, 2013.
 28. Furuya N, Ikeda S, Sato S, Soma S, Ezaki J, Oliva JA Trejo, Takeda-Ezaki M, Fujimura T, Arikawa-Hirasawa E, Tada N, Komatsu M, Tanaka K, Kominami E, Hattori N and Ueno T, PARK2/Parkin-mediated mitochondrial clearance contributes to the proteasome 2 activation during slow-twitch muscle atrophy via NFE2L1 nuclear translocation. *Autophagy* in press
 29. Kerever A, Mercier F, Nonaka R, de Vega S, Oda Y, Zalc B, Okada Y, Hattori N, Yamada Y, Arikawa-Hirasawa E, Perlecan is required for FGF-2 signaling in the neural stem cell niche. *Stem*

- m Cell Research in press
30. Masuda A, Andersen HS, Doktor TK, Okamoto T, Ito M, Andresen BS, Ohno K. CUGBP1 and MBNL1 preferentially bind to 3' UTRs and facilitate mRNA decay. *Sci Rep* 2012, 2: 209.
 31. Ito M, Suzuki Y, Okada T, Fukudome T, Yoshimura T, Masuda A, Takeda S, Krejci E, Ohno K. Protein-anchoring strategy for delivering acetylcholinesterase to the neuromuscular junction. *Mol Ther* 2012, 20: 1384-1392.
 32. Yamashita Y*, Matsuura T*, Shinmi J, Amakusa Y, Masuda A, Ito M, Kinoshita M, Furuya H, Abe K, Ibi T, Sahashi K, Ohno K. Four parameters increase the sensitivity and specificity of the exon array analysis and disclose twenty-five novel aberrantly spliced exons in myotonic dystrophy. *J Hum Genet* 2012, 57: 368-374. *Equal contribution.
 33. Ohno K, Ito M, and Engel AG. Congenital Myasthenic Syndromes – Molecular Bases of Congenital Defects of Proteins at the Neuromuscular Junction – Neuromuscular Disorders. InTech, Rijeka, 2012, pp175-200. (Review article)
 34. Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K. Mutations in the c-terminal domain of colq in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-Musk interaction. *Hum Mutat* 2013, 34: 997-1004.
 35. Rahman MA, Masuda A, Ohe K, Ito M, Hutchinson DO, Mayeda A, Engel AG, Ohno K. hnRNP L and hnRNP L antagonistically modulate PTB-mediated splicing suppression of CHRNA1 pre-mRNA. *Sci Rep* 2013, 3: 2931.
 36. Ohno K, Ito M, Kawakami Y, Krejci E, Engel AG. Specific binding of collagen Q to the neuromuscular junction is exploited to cure congenital myasthenia and to explore bases of myasthenia gravis. *Chem Biol Interact*, 2013, 203: pp 335-340. (Review article)
 37. 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 β -propeller domain mutations cause novel congenital myasthenia by compromising agrin-mediated musk signaling in a position-specific manner. *Hum Mol Genet* 2013: in press.
 38. Ohno K, Ito M, Kawakami Y. 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*, 2013, in press. (Review article)
 39. Yoshinaga Y, Sakoda S-I, Good JM, Takahashi MP, Kubota T, Arikawa-Hirasawa E, Nakata T, Ohno K, Kitamura T, Kobayashi K, Ohtsuka Y. A novel mutation in *SCN4A* causes severe myotonia and school-age-onset paralytic episodes. *J Neurol Sci*. 2012 315(1-2):15-9.
 40. Kokunai Y, Goto K, Kubota T, Fukuoka T, Sakoda S, Ibi T, Doyu M, Mochizuki H, Sahashi K, Takahashi MP. A sodium channel myotonia due to a novel *SCN4A* mutation accompanied by acquired autoimmune myasthenia gravis. *Neurosci Lett*. 2012 519(1):67-72.
 41. 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 MP. A Kir3.4 mutation causes Andersen–Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1. *Neurology* (in press)
 42. Sugie K, Hayashi YK, Goto K, Nishino I, Ueno S. Unusual presentation: Unilateral arm and contralateral leg amyotrophy in FSHD. *Neurology*. 79(5): e46, 2012.
 43. Sugie K, Tonomura Y, Ueno S. Characterization of dermatomyositis with coexistence of anti-Jo-1 and anti-SRP antibodies. *Intern Med*. 51(7): 799-802, 2012.
- ## 2. 学会発表
1. Nishino I: The Japanese large cohort. The Third GNE myopathy (HIBM) consortium meeting, Burlingame, USA (San Francisco Marriott Airport Waterfront Hotel), 9.30, 2013 (9.29-9.30)
 2. Nishino I: Metabolic Diseases in Muscle. 12th Asian and Oceanian Congress on Child Neurology (AOCCN) 2013, Riyadh, Saudi Arabia (King Faisal Conference Hall), 9.16, 2013 (9.14-9.18)
 3. Uruha A, Noguchi S, Hayashi YK,

- Nishino I: High prevalence of hepatitis C virus infection in a Japanese inclusion body myositis cohort. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.3, 2013 (10.1-10.5)
4. Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Noguchi S, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I: Natural history of Ullrich congenital muscular dystrophy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.2, 2013 (10.1-10.5)
 5. Hayashi YK, et al. Mutation screening of a large cohort of nemaline myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA, 10.2, 2013
 6. Hayashi YK, et al. FHL1 Myopathies in Japan. 199th ENMC International Workshop, Naarden, The Netherlands, 6.8, 2013
 7. Ishiyama A, Hayashi Y, Kajino S, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Congenital fiber type disproportion with myofibrillar disorganization and altered internal nuclei is caused by RYR1 mutation. The 11th annual scientific meeting of the Asian Oceanian mycology Center. Kyoto, June 6-8, 2012.
 8. Ishiyama A, Hayashi YK, Kajino S, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I. Congenital fiber type disproportion with myofibrillar disorganization and altered internal nuclei is caused by RYR1 mutation. 17th international world muscular society congress. Perth, Oct 9-13, 2012.
 9. de Vega S, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y Fbln7-d3, a fragment of the ECM protein fibulin-7, a potential inhibitor of Angiogenesis 45th JSDB- 64th JS CB Meeting Kobe Japan 2012
 10. Kerever A, Mercier F, Oda Y and Arikawa-Hirasawa E, Perlecan is necessary for the maintenance of CD133 expressing neural stem cells in the subventricular zone. ISSCR 10th Annual Meeting, June 13-16 2013 Yokohama Japan
 11. Mercier F, Vanessa Douet , Arikawa-Hirasawa E, Heparan sulfate connective tissue niche for the regulation of stem cell proliferation in the adult brain. ISSCR 10th Annual Meeting, June 13-16 2013 Yokohama Japan
 12. Nakazawa N, Miyahara K, Okawada M, Liu Y, Akazawa C, Yamataka A, Arikawa-Hirasawa E, Laminin-1 promotes neuronal development in mouse embryonic gut. XXVth International Symposium on Paediatric Surgical Research 21st-22nd September 2012 London UK
 13. Arikawa-Hirasawa E,, Douet V, Alarcon VB, Kerver A, Mercier F, Fractone niche for neuroepithelial and neural stem cell proliferation: From early brain development to adult subventricular zone Society for Neuroscience annual meeting 2013 San Diego CA USA
 14. Kerver A , Yamada Y, Nonaka R, Mercier F, Arikawa-Hirasawa E,. Age-related alteration of extracellular matrix in the subventricular zone of the lateral ventricles. Society for Neuroscience annual meeting 2013 San Diego CA USA
 15. Ito M, Suzuki Y, Okada T, Fukudome T, Yoshimura T, Masuda A, Takeda S, Krejci E, Ohno K. Protein-anchoring therapy for delivering acetylcholinesterase to the neuromuscular junction. The 11th International Meeting on Cholinesterases (Poster), Kazan, Russia. Jun 4-9, 2012
 16. Kinoshita M, Kokunai Y, Kubota T, Takahashi M, Sasaki R, Ohno K, Hirose K
 17. EMG findings at non-myotonia and myotonia states in patients with Na channelopathies. The 11th Annual Scientific Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center (Poster), Kyoto, Japan. Jun 7-8, 2012.
 18. Kinoshita M, Morita S, Ohno K, Hirose K. In myotonic dystrophy type 1 Peroxiredoxin-2 of RBC membrane protein was reduced, compared with a normal subject. The 11th Annual Scientific Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center (Poster), Kyoto, Japan. Jun 7-8, 2012
 19. Masuda A, Andersen HS, Doktor TK, Okamoto T, Ito I, Andresen BS, Ohno K. Global analysis of RNA-binding sites of CUGBP1 and MBNL1 reveal their

- preferential binding to 3' UTRs to regulate mRNA stability. The 11th Annual Scientific Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center (Poster), Kyoto, Japan. Jun 7-8, 2012
20. Ohkawara B, Fuse Y, Nakashima H, Ohno K. Functional characterization of G FPT1 during myogenesis and NMJ formation. The 11th Annual Scientific Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center (Poster), Kyoto, Japan. Jun 7-8, 2012
 21. Rahman MA, Ohe K, Masuda A, Ito M, Hutchinson DO, Engel AG, Ohno K. Mutation in congenital myasthenic syndrome reveals opposite splicing regulatory effects of hnRNPs L and LL. 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Poster), Nagoya, Japan. Sep 18-21, 2012
 22. Shibata A, Masuda A, Ohno K. A comprehensive and efficient algorithm to predict splicing consequences of intronic nucleotide substitutions in the human genome. 62nd Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (Poster), San Francisco, USA. Nov 6, 2012
 23. Ohkawara B, Nakata T, Ito Y, Engel AG, Ohno K. Mutations in LRP4 compromise agrin-mediated acetylcholine receptor clustering. 36th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Poster), Kyoto, Japan Jun 22, 2013
 24. Ohkawara B, Cabrera M, Nakata T, Shen X, Ito Y, Engel AG, Ohno K. Mutations in LRP4 in congenital myasthenia reveal position-specific regulations of agrin and Wnt signaling of LRP4. 43rd Annual Meeting, Society for Neuroscience (Poster), San Diego, California, USA. Nov 13, 2013
 25. Kokunai Y, Nakamori M, Kubota T, Mochizuki H, Takahashi MP, Nakata T, Ohno K, Sakata S, Okamura Y, Kimura H, Itoh H, Horie M, Osaki Y, Shindo K. Exome sequencing analysis reveals a mutation of Kir3.4 in a patient with Andersen-Tawil syndrome. 18th International Congress of The World Muscle Society Asilomar, CA USA. Oct 3, 2013
 26. Sugie K, Hayashi YK, Goto K, Eura N, Nonaka I, Nishino I, Ueno S. A neuroimaging study of asymmetric skeletal muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center, Kyoto, Japan, June 7-8, 2012. Sugie K, Komaki H, Kaneda D, Kurashige T, Kimura A, Matsumoto M, Ueno S, Nishino I. A nationwide survey of autophagic vacuolar myopathies characterized by autophagic vacuoles with sarcolemmal features (AVSF) in Japan. The 17th International Congress of World Muscle Society, Perth, Australia, Oct 11-15, 2012.
 27. Sugie K, Eura N, Kobayashi Y, Sawa N, Ueno S. Clinicopathological and neuroradiological features of myopathy associated with antibodies to signal recognition particle (SRP). The 12th European Congress of Internal Medicine, Prague, Czech, Oct 2-5, 2013.

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

封入体筋炎 (Inclusion Body Myositis : IBM) 診断基準

診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴

- a. 他の部位に比して大腿四頭筋または手指屈筋 (特に深指屈筋) が侵される進行性の筋力低下および筋萎縮
 - b. 筋力低下は数ヶ月以上の経過で緩徐に進行する
- *多くは発症後 5 年前後で日常生活に支障をきたす。数週間で歩行不能などの急性の経過はとらない。
- c. 発症年齢は 40 歳以上
 - d. 安静時の血清 CK 値は 2,000 IU/L を越えない

(以下は参考所見)

- ・嚥下障害が見られる
- ・針筋電図では筋原性運動単位電位の混入、PSW/Fibrillation/CRD、早期動員の存在

B. 筋生検所見

筋内鞘への単核球浸潤を伴っており、かつ以下の所見を認める

- a. 縁取り空胞を伴う筋線維
- b. 非壊死線維への単核球の侵入や単核球による包囲

(以下は参考所見)

- ・筋線維の壊死・再生
- ・免疫染色が可能なら非壊死線維への単核細胞浸潤は主に CD8 陽性 T 細胞
- ・形態学的に正常な筋線維における MHC class 発現
- ・筋線維内のユビキチン陽性封入体とアミロイド沈着
- ・過剰リン酸化 tau, p62/SQSTM1, TDP43 陽性封入体の存在
- ・COX 染色陰性の筋線維：年齢に比して高頻度
- ・(電子顕微鏡にて) 核や細胞質における 15-18 nm のフィラメント状封入体の存在

合併しうる病態

HIV, HTLV-I, C 型肝炎ウイルス感染症

除外すべき疾患

- ・縁取り空胞を伴う筋疾患* (咽頭型筋ジストロフィー・縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー・多発筋炎を含む)
- ・他の炎症性筋疾患 (多発筋炎・皮膚筋炎)
- ・筋萎縮性側索硬化症などの運動ニューロン病

* Myofibrillar myopathy (FHL1, Desmin, Filamin-C, Myotilin, BAG3, ZASP, Plectin 変異例) や Becker 型筋ジストロフィーも縁取り空胞が出現しうるので鑑別として念頭に入れる。特に家族性の場合には検討を要する。

診断カテゴリー：診断には筋生検の施行が必須である

Definite A の a-d および B の a,b の全てを満たすもの

Probable A の a-d および B の a,b のうち、いずれか 5 項目を満たすもの

Possible A の a-d のみ満たすもの (筋生検で B の a,b のいずれもみられないもの)

注

- ・封入体筋炎の診断基準は国際的に議論がなされており、歴史的にいくつもの診断基準が提案されている。本診断基準は専門医のみならず、内科医一般に広く IBM の存在を知ってもらうことを目指し、より簡便で偽陰性の少ない項目を診断基準項目として重視した
- ・免疫染色の各項目に関しては感度・特異度が評価未確定であり参考所見とした
- ・ヘテロな疾患群であることを念頭におき、臨床治験の際は最新の知見を考慮して組入れを行う必要がある

三好型ミオパチー (MIM# 254130, Miyoshi myopathy, Distal dysferlinopathy) 診断基準

診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴

- a. 常染色体劣性遺伝または孤発性
- b. 進行性の筋力低下および筋萎縮：下肢後面特に腓腹筋が侵される
- c. 歩行可能な時期に血清 CK 値が異常高値 (1,000IU/L 以上)を示す

(以下は参考所見)

- ・発症年齢は 30 歳までに多い
- ・進行すれば近位筋の筋力低下が出現する
- ・針筋電図で筋原性変化

B. dysferlin の評価

- a. dysferlin 欠損 (骨格筋免疫染色またはウェスタンブロット解析)
- b. *DYSF* (dysferlin) 遺伝子のホモ接合型または複合ヘテロ接合型変異

(以下は参考所見)

- ・CD14 陽性リンパ球のウェスタンブロット解析で dysferlin 欠損

除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・遠位筋を侵し得る他の筋疾患 (他の遠位型ミオパチーを含む)
- ・神経原性疾患

病理学的鑑別

- ・他の筋ジストロフィー
- ・多発筋炎

診断カテゴリー

確実例 A+B を満たす例

疑い例 A を満たすが、B が施行されていない例

眼咽頭遠位型ミオパチー (Oculopharyngodistal myopathy) 診断基準

診断に有用な特徴

- A. 臨床的特徴 (a-c は必須、d-f は参考所見)
 - a. 眼瞼下垂を呈する
 - b. 前脛骨筋の筋力低下・筋萎縮を呈する
(以下は参考所見)
 - ・緩徐進行性である
 - ・外眼筋麻痺、嚙下・構音障害を呈する
 - ・常染色体遺伝の家族歴を認めることがある
- B. 一般的検査 (a は必須)
 - a. 血清 CK 値は正常から軽度高値 (1,000 IU/L 以下)
(以下は参考所見)
 - ・針筋電図で筋原性変化 (fibrillation potential や高振幅 MUP が認められることがある)
- C. 筋生検所見
 - a. 縁取り空胞を伴う筋線維の存在

除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・遠位筋を侵し得る他の筋疾患 (他の遠位型ミオパチーを含む)
- ・眼咽頭型筋ジストロフィー (OPMD)

病理学的鑑別

- ・縁取り空胞を来す他のミオパチー

診断カテゴリー

確実例 A + B + C を満たすもの

疑い例 A + B であるが、C を満たさないもの

その他の遠位型ミオパチー診断基準

その他の遠位型ミオパチーは原因遺伝子の同定されていないものを含めて、各種の報告がある。ここでは、比較的疾患概念が確立しつつあるものを挙げるが、今後、疾患概念や分類が変わりうる可能性もある。また、先天性ミオパチーなどの疾患では、遠位筋を侵し、遠位型ミオパチーの臨床型をとりうることに注意が必要である。

Distal anterior compartment myopathy (DACM): ジスフェルリン欠損による。臨床経過は三好型に似るが、下腿前面の筋肉が好んで侵される。 AR、 *DYSF*

Non-dysferlin distal muscular dystrophy*: AR、 *ANO5/TMEM16E*

Welander distal myopathy*: 40代以降に発症し、手指伸筋の筋力低下を示す。 AD、 2p13

Tibial muscular dystrophy (TMD)*: 前脛骨筋の筋力低下を示す。 AD、 *TTN*

Early-onset distal myopathy*: 小児発症で前脛骨筋・手指伸筋群および頸部屈筋群の筋力低下を示す。 AD、 *MYH7*

Distal myopathy with *CAV3* mutation: 若年発症で手内筋の筋力低下を示し、腓腹筋肥大を呈することがある。 AD、 *CAV3*

Vocal cord and pharyngeal dysfunction with distal myopathy (VCPDM)*: 声帯および咽頭筋力低下を示す AD、 *MATR3*

Distal *VCP* (valosin containing protein)-mutated myopathy*: パジエット病と前頭側頭型認知症を伴う。 AD、 *VCP*

Distal nebulin (*NEB*) myopathy*: 小児から若年成人発症で前脛骨筋の筋力低下を示す。 AR、 *NEB*
筋原線維性ミオパチー (myofibrillar myopathy): 通常 AD

その他

AD: 常染色体優性遺伝、 AR: 常染色体劣性遺伝、 *: 本邦で患者未同定

ベスレムミオパチー (MIM# 158810, Bethlem myopathy) 診断基準

診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴

- a. 常染色体優性遺伝または孤発性 (希に常染色体劣性遺伝の例がある)
- b. 主に小児期発症 (通常 2 歳から 5 歳) (希に成人発症例がある)
- c. 緩徐進行性の体幹・四肢近位筋優位の筋力低下および筋萎縮
- d. 早期からの関節屈曲拘縮 (第 II ~ V 指指節間関節、肘関節、足関節)

(以下は参考所見)

- ・ 50 歳以降に歩行不能となる例が多い
- ・ 斜頸をしばしば合併する
- ・ 血清 CK 値は正常から軽度高値 (1,500 IU/L 以下)
- ・ 針筋電図で筋原性変化
- ・ 心筋症や不整脈などの心合併症を欠く

B. 筋生検所見 (参考所見)

- a. 筋内鞘間質増生を伴う慢性筋原性変化
- b. 免疫染色で Collagen VI 異常 (筋鞘膜特異的欠損や部分欠損など) を認めることがある

C. 遺伝学的検査

- a. *COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* 遺伝子のヘテロ接合型変異 (まれにホモ接合型または複合ヘテロ接合型変異のことがある)

除外すべき疾患

- ・ 早期より関節拘縮を来す筋疾患 (Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィーなど)

診断カテゴリー

確実例 A + C を満たすもの

疑い例 A + B を満たすもの

ウルリッヒ病 (MIM# 254090, Ullrich disease, Congenital atonic-sclerotic muscular dystrophy) 診断基準

診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴

- a. 常染色体劣性遺伝または孤発性
- b. 生下時または乳児期発症
- c. 緩徐進行性の全般性筋力・筋緊張低下および筋萎縮
- d. 近位関節拘縮（脊柱側弯・後弯、股関節・肘関節屈曲拘縮）（詳細に見ないと分からない程度のこともある）
- d. 遠位関節過伸展（手関節、指節間関節、足関節、趾節間関節）

（以下は参考所見）

- ・しばしば認める臨床所見としては以下のようなものがある

先天性股関節脱臼

斜頸

皮膚過伸展

皮膚ケロイド形成

顔面筋罹患

踵骨突出

呼吸筋力低下

- ・血清 CK 値は正常から軽度高値（1,500 IU/L 以下）
- ・針筋電図で筋原性変化
- ・心筋症や不整脈などの心合併症を欠く

B. 筋生検所見

- a. 筋内鞘間質増生を伴う慢性筋原性変化
- b. 免疫染色で Collagen VI の完全欠損、筋鞘膜特異的欠損、または部分欠損

C. 遺伝学的検査

- a. *COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* 遺伝子のホモ接合型または複合ヘテロ接合型変異、またはヘテロ接合型変異

除外すべき疾患

- ・早期より関節拘縮を来す筋疾患（Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィーなど）

診断カテゴリー

確実例 A + B + C を満たすもの

疑い例 A + B を満たすもの

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (MIM# 600737, Distal myopathy with rimmed vacuoles: DMRV)

診断基準

診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴

- a. 常染色体劣性遺伝または孤発性
- b. 進行性の筋力低下および筋萎縮：前脛骨筋や大腿屈筋群、大内転筋が侵されるが大腿四頭筋は多くは保たれる（以下は参考所見）
 - ・発症年齢は 15 歳から 40 歳までが多い
 - ・5~20 年の経過で歩行不能となることが多い
 - ・血清 CK 値は正常から軽度高値（1,500IU/L 以下）
 - ・針筋電図で筋原性変化（fibrillation potential や高振幅 MUP が認められることがある）

B. 筋生検所見（a は必須、b-f は参考所見）

- a. 縁取り空胞を伴う筋線維

（以下は参考所見）

- ・通常強い炎症反応を伴わない
- ・筋線維内のβ-アミロイド沈着
- ・筋線維内のユビキチン陽性封入体
- ・筋線維内のリン酸化タウ
- ・(電子顕微鏡にて) 核または細胞質内の 15-20 nm のフィラメント状封入体(tubulofilamentous inclusions)の存在

C. 遺伝学的検査

- a. *GNE* 遺伝子のホモ接合型または複合ヘテロ接合型変異

除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・遠位筋を侵し得る他の筋疾患（他の遠位型ミオパチーを含む）
- ・神経原性疾患

病理学的鑑別

- ・縁取り空胞を来す他のミオパチー

診断カテゴリー

確実例 A または B の少なくとも一方を満たし、かつ C を満たすもの

疑い例 A + B を満たすもの

Schwartz-Jampel 病 1 型診断基準

ほぼ确实

を認める

确实

に加え、 または を認める。

顔面を含むミオトニーを認める。 1) あるいは 2) 。

1) 臨床的にミオトニー現象 (筋強直現象) を認める。

眼輪筋の収縮による眼裂狭小を認める。

口輪筋の収縮による口を尖らせた表情をとる。

2) 針筋電図で針筋電図で連続的な自発性活動電位を認める。

低振幅で漸減がなく長く持続する特異なミオトニー放電である。

下記の何れかの骨格異常を認める。

低身長

大関節の屈曲拘縮

小胸郭

脊椎の後わん

扁平椎、骨端、骨幹端異形成

筋生検の免疫染色等でパールカンタンパク質の欠損を認める。

(参考：筋病理所見は筋線維の大小不同、内核増生等非特異的なミオパチー様所見をとる。

径の大小不同は主にタイプ 1 線維に認められる。)

パールカン遺伝子に変異を認める。

参考事項

・ 発症は幼少期。多くは 3 歳位までに気付かれる。

・ 時に下記の小奇形を合併する。

小眼球

小顎症

耳介低位

毛髪線低位

Schwartz-Jampel 症候群は、1997年に Giedion らにより臨床型から 1A、1B、2 型に分類されていた。1A と 1B は重症度によって分類されていたが、明確な区分は難しい。筋症状と骨、軟骨異常を合併し、乳児期致死を呈する 2 型は、現在では leukemia inhibitory factor receptor (LIFR) 遺伝子変異に起因する Stuve-Wiedemann 症候群と同一の疾患とされている。

骨格筋チャネル病とその関連疾患に関する診断基準

- 1) 遺伝性低カリウム性周期性四肢麻痺
- 2) 遺伝性高カリウム（正カリウム）性周期性四肢麻痺
- 3) 〔非ジストロフィー性〕ミオトニー症候群

平成 25 年度 厚生労働省難治性疾患克服研究事業
希少難治性筋疾患に関する調査研究班

（平成 25 年 4 月 15 日 日本神経学会承認）

1) 遺伝性低カリウム性周期性四肢麻痺

ほぼ确实

をみとめること (の項目を一部しか満たさない場合、 を認めること)

确实

に加え あるいは を認めること (の項目を一部しか満たさない場合、 を認めること)

以下のすべての特徴を持つ麻痺 (筋力低下) 発作を呈する

意識は清明

発作時血清カリウム濃度が著明な低値を示す

呼吸筋・嚥下筋は侵されない

発作持続は数時間から 1 日程度

発作は夜間から早朝に出現することが多い

激しい運動後の休息、高炭水化物食あるいはストレスが誘因となった発作がある

発症は 5 歳から 20 歳

発作間欠期には、筋力低下や CK 上昇を認めない

針筋電図でミオトニー放電を認めない

発作間欠期に Prolonged exercise test (運動試験) で振幅の漸減現象を認める (注 1)
(麻痺発作時の臨床的観察ができていない場合には有用)

常染色体性優性遺伝の家族歴がある

骨格筋型 Ca あるいは Na チャネル サブユニットの遺伝子に本疾患特異的な変異を認める (注 2)

除外診断 二次性低カリウム性周期性四肢麻痺の原因となる下記疾患の鑑別が必須

甲状腺機能亢進症

アルコール多飲

K 排泄性の利尿剤 カンゾウ (甘草) の服用

原発性アルドステロン症、Bartter 症候群、腎細尿管性アシドーシス

慢性下痢・嘔吐

参考事項

- 女性は男性に比べ症状が軽いことが多く、遺伝歴が見逃されることがある
- 発作からの回復期にはむしろ血清カリウム値が一時的に高値を示すことがある
- 高カリウム性周期性四肢麻痺に比べ麻痺発作の程度は重く、持続も長い
- 発作間欠期には筋力低下を認めないが一部に進行性に軽度の筋力低下を示すことがある
- 筋生検は診断のために必要ではないが、空胞、tubular aggregate を認めることがある
- 特殊なタイプとして低カリウム性周期性四肢麻痺に不整脈、骨格変形を合併する Andersen-Tawil 症候群がある (原因遺伝子は、内向き整流カリウムチャンネル)

注 1 Prolonged exercise test について

典型的な麻痺発作が確認出来ない症例では、Prolonged exercise testによる麻痺の再現が有用である。長時間運動負荷 (15 - 45 秒ごとに 3 - 4 秒の短い休息を入れながら、2 - 5 分間の負荷) 後に最初は 1 - 2 分毎、その後は 5 分毎に、30 - 45 分にわたって CMAP を記録する。一般に 40% 以上の CMAP 振幅・面積の低下がある場合異常と判定されるが、人種差が指摘されており注意を要する (臨床神経生理学 2001; 29: 221-7, Ann Neurol 2004; 56: 650-661 など参照)

注 2 本疾患特異的な変異

骨格筋型 Na チャネル サブユニットの遺伝子の変異によっては、低カリウム性周期性四肢麻痺のみならず高カリウム性周期性四肢麻痺、先天性筋無力症候群などの原因ともなる。

2) 遺伝性高カリウム(正カリウム)性周期性四肢麻痺

ほぼ确实

を認める(の項目を一部しか満たさない場合、 を認めること)

确实

に加え あるいは を認めること(の項目を一部しか満たさない場合、 を認めること)

以下のすべての特徴を持つ麻痺(筋力低下)発作を呈す

意識は清明

発作時血清カリウム濃度が高値あるいは正常を示す

呼吸筋・嚥下筋は侵されない

発作持続は数10分から数時間程度

寒冷、果物など高カリウム食の摂取、空腹あるいは安静(不動)が誘因となった発作がある

発症は15歳まで

発作間欠期には通常筋力低下を認めない

ミオトニーを認める 1)あるいは2)

1) 臨床的にミオトニー現象(筋強直現象)を認める

(具体例)

眼瞼の強収縮後に弛緩遅延がみられる(lid lag)

手指を強く握った後に弛緩遅延が認められる(把握ミオトニー)

診察用ハンマーで母指球や舌などを叩くと筋収縮が見られる(叩打ミオトニー)

なお、ミオトニーの程度は、軽い筋のこわばり程度で気づきにくいものもある

繰り返しでの増悪(パラミオトニー)、寒冷での悪化を認めることがある

2) 針筋電図でミオトニー放電を認める

発作間欠期に Prolonged exercise test(運動試験)で振幅の漸減現象を認める(注1)

(麻痺発作時の臨床的観察ができていない場合には有用)

常染色体性優性遺伝の家族歴がある

骨格筋型 Na チャネルの サブユニットの遺伝子に本疾患特異的な変異を認める(注2)

除外診断 二次性高カリウム性周期性四肢麻痺の原因(K保持性の利尿薬、アジソン病、腎不全など)および他のミオトニーを呈する疾患(筋強直性ジストロフィーや先天性ミオトニーなど)

参考事項

- 先天性パラミオトニー、カリウム惹起性ミオトニー(Na チャネルミオトニー)と症状がオーバーラップする疾患である。それぞれの特徴・鑑別などについては別紙参考。
- 発作時に筋痛を伴うことがある
- 発作からの回復期にはむしろ血清カリウム値が一時的に低値を示すことがある
- 低カリウム性周期性四肢麻痺に比べ麻痺発作の程度は軽く、持続も短い
- 発作間欠期には筋力低下を認めないが CK 上昇は認めることがある。一部に進行性に軽度の筋力低下を示すことがある
- 筋生検は診断のために必要ではないが、空胞、tubular aggregate を認めることがある

注1 Prolonged exercise test について

典型的な麻痺発作が確認出来ない症例では、Prolonged exercise test による麻痺の再現が有用である。長時間運動負荷(15-45秒ごとに3-4秒の短い休息を入れながら、2-5分間の負荷)後に最初は1-2分毎、その後は5分毎に、30-45分にわたってCMAPを記録する。一般に40%以上のCMAP振幅・面積の低下がある場合異常と判定されるが、人種差が指摘されており注意を要する(臨床神経生理学 2001; 29: 221-7、Ann Neurol 2004; 56: 650-661 など参照)

注2 本疾患特異的な変異

骨格筋型 Na チャネル サブユニットの遺伝子の変異によっては、高カリウム性周期性四肢麻痺のみならず低カリウム性周期性四肢麻痺、先天性筋無力症候群などの原因ともなる。

3【非ジストロフィー性）ミオトニー症候群

先天性ミオトニー、先天性パラミオトニー、カリウム惹起性ミオトニー(Na チャネルミオトニー)などが含まれる。先天性パラミオトニー、カリウム惹起性ミオトニー(Na チャネルミオトニー)などは高カリウム性周期性四肢麻痺とオーバーラップする疾患である。各病型を分けるのに有用な特徴などについては別紙参考。

ほぼ确实

を認める

确实

に加え、あるいは を認める

ミオトニーを認める 1)あるいは2)

1) 臨床的にミオトニー現象(筋強直現象)を認める

(具体例)

眼瞼の強収縮後に弛緩遅延がみられる(lid lag)

手指を強く握った後に弛緩遅延が認められる(把握ミオトニー)

診察用ハンマーで母指球や舌などを叩くと筋収縮が見られる(叩打ミオトニー)

なお、ミオトニーの程度は、痛みや呼吸障害をきたすような重篤なものから、軽い筋のこわばり程度で気づきにくいものまでさまざまである

繰り返しの増悪(パラミオトニー)、寒冷での悪化を認めることがある(特に先天性パラミオトニー)

繰り返して改善することがある(warm up 現象)

2) 針筋電図でミオトニー放電を認める

発症は10歳以下

病初期には筋力低下・筋萎縮を認めない。

常染色体性優性あるいは劣性遺伝の家族歴がある

骨格筋型 Na チャネルの サブユニットあるいは Cl チャネル遺伝子に本疾患特異的な変異を認める(注1)

除外診断

筋強直性ジストロフィー

Shwartz-Jampel 症候群

Issacs 症候群(neuromyotonia)

糖原病2型(Pompe病)

参考事項

➤ 特に、先天性パラミオトニーは高カリウム性周期性四肢麻痺とオーバーラップする疾患であり、一過性の麻痺発作を呈することがある

➤ 筋肥大(ヘラクレス様体型)を認めることがある。

➤ カリウム惹起性ミオトニー(Na チャネルミオトニー)は、非常に強いミオトニーを呈する myotonia permanens、症状の変動する myotonia fluctans などに細分されることがある

➤ 一部に進行性に軽度の筋力低下を示すことがある

➤ Short exercise test は原因遺伝子が Na か Cl チャネルかの推定に有用とされる(注2)

注1 本疾患特異的な変異

骨格筋型 Na チャネル サブユニットの遺伝子の変異によっては、高カリウム性周期性四肢麻痺、低カリウム性周期性四肢麻痺、先天性筋無力症候群などの原因ともなる。

注2 short exercise test

short exercise test は短時間運動負荷5-12秒後に1分間にわたって10秒ごとに複合筋活動電位(CMAP)を記録する。これを続けて3回施行するのが通常である(repeated short exercise test)さらにcooling 下でのshort exercise test や臨床症状を加えることで原因遺伝子の候補推定がある程度可能と報告されている。

(臨床神経生理学2001; 29: 221-7、Ann Neurol 2006; 60: 356-365、Ann Neurol 2011; 69: 328-40 など参照)

骨格筋チャンネル病の各病型比較

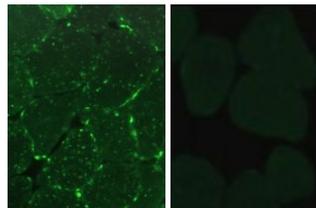
		先天性ミオトニー		カリウム惹起性ミオトニー (Naチャンネルミオトニー) PAM	先天性パラミオトニー - PMC	高カリウム性周期性 四肢麻痺 HyperPP	低カリウム性周期性 四肢麻痺 HypoPP
		Thomsen	Becker				
原因遺伝子		CLCN1		SCN4A			CACNA1S SCN4A
遺伝様式		AD	AR	AD			AD
発症年齢		数～10歳	数～20歳	0～10歳	数～10歳	数～10歳	5～20歳
麻痺発作	有無	なし	±	なし	あり	あり	あり
	発作時間		一過性		数十分～数時間	数十分～数時間	数時間～数日
臨床的ミオトニー	程度	軽度～中等度	中等度～重度	動揺性～重度まで さまざま	軽度～中等度	中等度	なし
	眼瞼	あり		あり	あり	あり～±	なし
麻痺またはミオトニーの誘因		安静		運動、 カリウム摂取	運動、寒冷	運動、寒冷、 カリウム摂取	炭水化物、運動後の 安静、ストレス
ミオトニーに対する影響	くりかえし運動	改善 (warm-up現象)		なし	悪化 (paramyotonia)	?	
	寒冷	なし		はっきりしない	増悪	増悪	
筋肥大		軽度	中等度	軽度～中等度	±	±	なし

1. ダノン病 診断基準

(MIM # 300257, Danon disease, LAMP-2 deficiency)

診断に有用な特徴

- A. 臨床的特徴 (男性は a, b 必須、女性は a 必須、c-g は参考所見)
- a. 肥大型または拡張型心筋症
 - b. 進行性の筋力低下および筋萎縮 または 高CK血症
(以下は参考所見)
 - c. X連鎖性優性遺伝または孤発性
 - d. 発症年齢は、男性は 10 歳代から、女性は 30 歳代からが多い
 - e. 知的遅滞を伴うことが多い。
 - f. 血清CK値は、正常から軽度高値(1,000IU/L以下)
 - g. 針筋電図で筋原性変化(fibrillation potentialや高振幅MUP)が認められることがある
- B. 筋生検所見 (a, b は必須、c, d は参考所見)
- a. 自己貪食空胞を伴う筋線維
 - b. 空胞膜上でのアセチルコリンエステラーゼ活性
(骨格筋での組織化学染色)
(以下は参考所見)
 - c. 空胞膜上での筋鞘膜蛋白(ジストロフィン、サルコグリカン、ラミニン 2、カベオリン-3 など)発現
(骨格筋での免疫組織化学染色)
 - d. (電子顕微鏡にて) 自己貪食空胞周囲の基底膜の存在
- C. LAMP-2 の評価 (a または b)
- a. LAMP-2 欠損 (免疫組織化学またはウェスタンブロット解析)
但し、女性例ではLAMP-2低下
 - b. LAMP-2 遺伝子変異



正常

患者

除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・他のミオパチーや筋ジストロフィーなどの筋疾患
- ・他の原因の確定している心筋症

病理学的鑑別

- ・自己貪食空胞を来す他のミオパチー: 糖原病 2 型(ポンペ病)、過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー、封入体筋炎など

診断カテゴリー

確実例 A または B の少なくとも一方を満たし、かつ C を満たすもの

疑い例 A + B を満たすもの

家族内に確実例があり、かつ C を満たすもの

2. 過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー 診断基準

(MIM # 310440, X-linked Myopathy with excessive autophagy: XMEA)

診断に有用な特徴

- A. 臨床的特徴 (a-c は必須、d-h は参考所見)
- a. 緩徐進行性の筋力低下および筋萎縮
 - b. 肥大型あるいは拡張型心筋症を伴わない
 - c. 男性
- (以下は参考所見)
- d. X連鎖性遺伝または孤発性
 - e. 発症は幼児期
 - f. 心筋障害や知能低下は伴わない
 - g. 血清CK値は、正常から中等度高値(1,500IU/L以下)
 - h. 針筋電図で筋原性変化(fibrillation potentialや高振幅MUP)が認められることがある
- B. 筋生検所見 (a,b は必須、c-fは参考所見)
- a. 自己貪食空胞を伴う筋線維
 - b. 空胞膜上でのアセチルコリンエステラーゼ活性の上昇 (骨格筋での組織化学染色)
- (以下は参考所見)
- c. 空胞膜上での筋鞘膜蛋白(ジストロフィン、サルコグリカン、ラミニン 2、カベオリン-3 など)発現 (骨格筋での免疫組織化学染色)
 - d. 筋鞘膜への補体C5b-9の沈着 (骨格筋での免疫組織化学染色)
 - e. 筋線維の基底膜の重層化 (電子顕微鏡)
 - f. 自己貪食空胞膜上の基底膜 (電子顕微鏡)
- C. 遺伝子解析
- a. VMA21 遺伝子変異

除外すべき疾患

臨床的鑑別

・他のミオパチーや筋ジストロフィーなどの筋疾患

病理学的鑑別

・自己貪食空胞を来す他のミオパチー: 糖原病 2 型(ポンペ病)、ダノン病、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー、封入体筋炎など

診断カテゴリー

確実例 A または B の少なくとも一方を満たし、かつ C を満たすもの

疑い例 A + B を満たすもの

保因者 C を満たす女性例

1. Danon 病 診断基準

(MIM# 300257, Danon disease, LAMP-2 deficiency)

診断に有用な特徴

- A. 臨床的特徴 (男性は a, b 必須、女性は a 必須、c-g は参考所見)
- a. 肥大型または拡張型心筋症
 - b. 進行性の筋力低下および筋萎縮
(以下は参考所見)
 - c. X連鎖性優性遺伝または孤発性
 - d. 発症年齢は、男性は 10 歳代から、女性は 30 歳代からが多い
 - e. 知的遅滞を伴うことが多い。
 - f. 血清 CK 値は、正常から軽度高値 (1,000 IU/L 以下)
 - g. 針筋電図で筋原性変化 (fibrillation potential や高振幅 MUP) が認められることがある
- B. 筋生検所見 (a, b は必須、c, d は参考所見)
- a. 自己貪食空胞を伴う筋線維
 - b. 空胞膜上でのアセチルコリンエステラーゼ活性
(骨格筋での組織化学染色)
(以下は参考所見)
 - c. 空胞膜上での筋鞘膜蛋白(ジストロフィン、サルコグリカン、ラミニン 2、カベオリン-3 など)発現
(骨格筋での免疫組織化学染色)
 - d. (電子顕微鏡にて) 自己貪食空胞周囲の基底膜の存在
- C. LAMP-2 の評価 (a または b)
- a. LAMP-2 欠損 (免疫組織化学染色またはウェスタンブロット解析)
 - b. LAMP-2 遺伝子変異

除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・他のミオパチーや筋ジストロフィーなどの筋疾患
- ・神経原性疾患
- ・他の原因の確定している心筋症 病理

学的鑑別

- ・自己貪食空胞を来す他のミオパチー

● 診断カテゴリー

確実例 A または B の少なくとも一方を満たし、かつ C を満たすもの
疑い例 A+B を満たすもの

2. 過剰自己貪食を伴う X連鎖性ミオパチー 診断基準

(MIM# 310440, X-linked Myopathy with excessive autophagy: XMEA)

- 診断に有用な特徴

A. 臨床的特徴 (a は必須、b-f は参考所見)

- 緩徐進行性の筋力低下および筋萎縮
(以下は参考所見)
- X連鎖性遺伝または孤発性
- 発症は幼児期
- 心筋障害や知能低下は伴わない
- 血清 CK 値は、正常から中等度高値 (1,500 IU/L 以下)
- 針筋電図で筋原性変化 (fibrillation potential や高振幅 MUP) が認められることがある

B. 筋生検所見 (a,b は必須、c-f は参考所見)

- 自己貪食空胞を伴う筋線維
- 空胞膜上でのアセチルコリンエステラーゼ活性の上昇 (骨格筋での組織化学染色)
(以下は参考所見)
- 空胞膜上での筋鞘膜蛋白 (ジストロフィン、サルコグリカン、ラミニン 2、カベオリン-3 など) 発現
(骨格筋での免疫組織化学染色)
- 筋鞘膜への補体 C5b-9 の沈着 (骨格筋での免疫組織化学染色)
- 筋線維の基底膜の重層化 (電子顕微鏡)
- 自己貪食空胞膜上の基底膜 (電子顕微鏡)

C. 遺伝子解析

- VM A21 遺伝子変異

- 除外すべき疾患

臨床的鑑別

- ・他のミオパチーや筋ジストロフィーなどの筋疾患
- ・神経原性疾患 病理学

的鑑別

- ・自己貪食空胞を来す他のミオパチー

- 診断カテゴリー

確実例 A または B の少なくとも一方を満たし、かつ C を満たすもの 疑

い例 A + B を満たすもの

自己食食空胞性ミオパチー（ダノン病、過剰自己食食を伴う X 連鎖性ミオパチー）の診断基準での改訂項目

ダノン病 診断基準

1) LAMP-2 の評価について

1. 免疫組織化学

「染色」の語を削除（**C-a**）

2. 女性例

女性例については「欠損または低下」に変更（**C-a**）

2) 診断カテゴリーについて

1. **A-b** の記載に「高 CK 血症」を追加（**A-b**）

2. 家族内に確実例がある場合、心筋症と高 **CK** 血症があれば（**A** を満たす）疑い例」とする

（**診断カテゴリー**）

3) 免疫組織化学に関して

参照画像を添付（**C-a**）

4) 神経原性疾患について

鑑別疾患として必要性が乏しいと判断し「神経原性疾患」を削除（**除外すべき疾患**）

5) 除外すべき疾患の病理学的鑑別について

具体的に疾患名を記載（**診断カテゴリー**）

過剰自己食食を伴う X 連鎖性ミオパチー 診断基準

1) 女性保因者について

女性は保因者であって、本疾患の罹患は男性に限るため、男性例であることを診断項目に追記（**A-c**）
診断において、「保因者」のカテゴリーを追加（**診断カテゴリー**）

2) 臨床的特徴の心筋障害について

心筋症を呈さないことを診断項目に追記（**A-b**）

3) 神経原性疾患について

鑑別疾患として必要性が乏しいと判断し「神経原性疾患」を削除（**除外すべき疾患**）

4) 除外すべき疾患の病理学的鑑別について

具体的に疾患名を記載（**除外すべき疾患**）

ベスレムミオパチーの臨床病理学的特徴 GNE ミオパチーの遺伝子変異・表現型解析

研究分担者：氏名 西野 一三¹⁾

共同研究者：氏名 米川 貴博¹⁾、漆葉 章典¹⁾

1) (独) 国立精神・神経医療研究センター

研究要旨

ベスレムミオパチー (BM) は未診断例が多いと考えられる。国立精神・神経医療研究センターの凍結生検筋レポジトリーにおいて、西野班において作成した BM 診断基準 A-a. 常染色体優性遺伝の家族歴があること、B-b.VI 型コラーゲン免疫染色異常があること、又は C-a.COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異を有することを満たす例を抽出し、BM 症例の掘り起しに役立つ臨床病理情報を明らかにすることを目的とし研究を行った。

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (GNE ミオパチー) については、本邦には 200-300 人の患者が存在すると推定されることを報告してきたが、本研究では、引き続き新たな患者を同定すること、遺伝学的に診断が確定している患者実数の把握と遺伝子型と表現型相関を明らかにすることを目的として研究を行った。

BM6 家系 30 名の患者の臨床、骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色、COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異について解析した。ヘテロ接合性変異が 5 家系に認められた。BM 例の多くは幼少期に発症する。比較的早期に関節拘縮 (手指、肘、足関節) が認められる。アキレス腱延長術の既往が 9 名にあり (手術時年齢 6-17 歳)、うち 4 例はそれぞれ 12、35、43、53 歳まで歩行可能であった。骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は、4 家系からの生検筋で SSCD であった。

本邦には少なくとも 212 名の GNE ミオパチー患者が存在する。424 アレルのうち、ミスセンス変異が 402 アレル (94.8%) を占め、p.V572L 変異が 205 アレル (48.3%) と最多であり、重症の表現型と相関する傾向にあった。次に、p.D176V 変異が 95 アレル (22.4%) を占め多かった。

足関節の尖足位拘縮は、BM を疑う特徴的な症状であるとともに、筋力低下よりも早期に顕在化する。欧米の BM 診断基準では、骨格筋 VI 型コラーゲン染色性は保たれるとされているが、本研究結果は、BM の初代患者、或いは未診断家系の掘り起しに骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色が役立つことを示している。

p.V572L 変異が本邦 GNE ミオパチー患者のアレルの約半数を占め、重症の表現型と関連する。これは、欧米の患者に比し、本邦患者が重症である傾向と対応する。

A : 研究目的

1) ベスレムミオパチー

ベスレムミオパチー (BM) とウルリッヒ型先天性筋ジストロフィー (UCMD) 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、UCMD の患者頻度 0.4-0.8（10 万対）BM は疑い例を含めたとしても UCMD の 1/10 程度になることを報告した。しかし、最近英国における UCMD、BM の患者頻度がそれぞれ 0.13（10 万対）0.77（10 万対）と報告されたことから、本邦の BM の患者数はもっと多いと考えられる。つまり、BM の患者のなかには、肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）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予想され、BM 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 BM 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、BM 症例の掘り起しに役立つ臨床病理情報を明らかにすることを目的とした。

2) 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（DMRV）は、GNE 遺伝子の劣性変異により発症する疾患である。最近では、GNE ミオパチーと呼ばれることが推奨されている。本疾患においては、既にシアル酸補充療法の第 相臨床試験が海外で行われており、近い将来、本邦でも第 相試験が開始されると期待されている。

これまでに、本邦には 200-300 人の患者が存在すると推定されることを報告してきた。本研究では、引き続き新たな患者を同定すること、遺伝学的に診断が確定している患者実数の把握と遺伝子変異型と表現型相関を明らかにすることを目的とした。

B：研究方法

1) ベスレムミオパチー

当施設凍結生検筋レポジトリーから BM 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。抽出の際に用いた基準は、西野班において作成した BM 診断基準であり、具体的には A-a. 常染色体優性遺伝の家族歴があること、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こととした。

2) GNE ミオパチー

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ス決定を行った。

当施設凍結生検筋レポジトリーにおける患者臨床情報に基づいて遺伝子型と表現型の相関を解析した。

（倫理面への配慮）

本申請研究において使用するすべてのヒト検体は、生検時に当施設倫理委員会で承認を受けた「診断と検体の研究使用に関する承諾書」を用いてインフォームド・コンセントを得ており、「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検体使用が認可されている。また、臨床情報を扱う際には、連結可能匿名化された既存の情報のみを扱う。遺伝子解析は「ヒトゲノム解析研究に関する共通指針」を遵守した上で施行される。解析情報を使用するにあたっては匿名化した上で使用する。

C：研究結果

1) ベスレムミオパチー

[6 家系、30 名の内分け]

家系 1 には 8 名の患者がおり、2 名で骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は筋線維膜特異的欠損（SSCD）であった。この家系の 1 名では、genomic DNA を用いた COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異解析で、COL6A2 遺伝子に c.1053+1G>A 変異が見出された。

家系 2 には 3 名の患者がおり、1 名では骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は正常であり、COL6A2 遺伝子に c.1861G>A (p.Asp621Asn) ヘテロ接合性変異が見出された。

家系 3 には 4 名の患者がおり、2 名で骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は正常であったが、3 名では COL6A1 遺伝子に IVS14DS,G-A,+1 ヘテロ接合性変異が見出された。

家系 4 には 9 名の患者がおり、1 名では

骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は SSCD であった。5 名に *COL6A1* 遺伝子に c.956A>G (p.Lys319Arg) ヘテロ接合性変異が見出された。

家系 5 には 3 名の患者があり、1 名では骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は SSCD であり、*COL6A1* 遺伝子に c.428+1G>T ヘテロ接合性変異が見出された。

家系 6 には 3 名の患者があり、2 名では骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は SSCD であった。この家系の 1 名では、genomic DNA を用いた *COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* 遺伝子解析で変異は見出されなかった。

[臨床症状]

発症年齢は 3-43 歳まで分布したが、大部分の例は就学前から小学校であった。初発症状は、近位筋の筋力低下や足関節尖足位拘縮であった。思春期頃までに関節拘縮を認め、好発部位は手指関節、肘関節、足関節であった。

9/30 名でアキレス腱延長術の既往があり、年齢は 6 - 17 歳であった。

1 名は 43 歳で独歩不能となったが、35、45、53、54、69 歳で独歩可能であった。1 家系では側弯症がみられた。関節過伸展や人工呼吸器導入例はなかった。

2) GNE ミオパチー

212 名の患者で *GNE* 遺伝子変異を同定した。424 アレルのうち、ミスセンス変異が 402 アレル (94.8%) を占めていた。この中では、p.V572L 変異が 205 アレル (48.3%) を占め最多であり、また p.V572L 変異がどちらかという重症の表現型と関連していた。次に、p.D176V 変異が 95 アレル (22.4%) を占め多かった。

D : 考察

1) ベスレムミオパチー

BM は、幼少期に発症する例が多いが、成人発症例の報告もある。緩徐に進行する近位筋優位の筋力低下と筋萎縮、比較的早期に関節拘縮 (手指、肘、足関節) が認められることが特徴である。

本研究で対象とした BM30 例のうち、病歴上アキレス腱延長術の既往が 9 例にあり (年齢 6 - 17 歳) うち 4 例はそれぞれ 12、

35、43、53 歳まで歩行可能であることが確認された。これは、本症の足関節尖足位拘縮は、筋力低下よりも早期に顕在化し、BM を疑う特徴的な症状であることを示している。

BM は、*COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* 遺伝子のヘテロ接合性変異により発症し、優性遺伝形式をとる。UCMD も同様に大分の症例はヘテロ接合性変異によって発症するが、本症の変異は *de novo* である。BM では UCMD と異なり、骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色で異常がないとされている。しかし、本研究で解析対象とした 6 家系のうち、2 家系では VI 型コラーゲン染色パターンは正常であったものの、4 家系ですべて SSCD であった。欧米の BM 診断基準には、骨格筋 VI 型コラーゲン染色性は保たれるとされているが、西野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。骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色は、BM の初代患者、或いは家系内の未診断例の掘り起しに役立つと考えられる。

BM と UCMD は、それぞれが軽症、重症の両端となる VI 型コラーゲン関連ミオパチースペクトラムを成している。つまり、両疾患に本質的な違いはなく、ヘテロ接合性変異が継代されるか否かだけが違いと言ってもよいだろう。

2) GNE ミオパチー

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た。これまでの報告と同様に p.V572L 変異が最も高頻度であった。また、p.V572L 変異がどちらかという重症の表現型と関連していることを明らかにした。これは、欧米の患者に比して、本邦患者が重症である傾向があることの理由の一つかも知れない。

E : 結論

BM は、幼少期に発症する例が多い。比較的早期に関節拘縮 (手指、肘、足関節) が認められる。足関節の尖足位拘縮は BM を疑う特徴的な症状である。VI 型コラーゲン免疫染色で SSCD をみることもあり、BM の診断に役立つと考えられる。

本邦には少なくとも 212 名の DMRV 患者

が存在する。p.V572L 変異が本邦患者のアレルの約半数を占め、重症の表現型と関連する。

F：健康危険情報

なし

G：研究発表

1：論文発表

Mori-Yoshimura M, Oya Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M: Respiratory dysfunction in patients severely affected by GNE myopathy (distal myopathy with rimmed vacuoles). *Neuromuscul Disord.*23(1): 84-88, 2013

Nalini A, Gayathri N, Nishino I, Hayashi YK: GNE myopathy in India. *Neurol India.* 61(4): 371-374, 2013

Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I: Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 84(9): 982-988, 2013

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.* [Epub 2013 Sep]

Murakami N, Hayashi YK, Oto Y, Shiraishi M, Itabashi H, Kudo K, Nishino I, Nonaka I, Nagai T: Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood. *Neuromuscul Disord.* 23(5): 441-444, 2013 [Epub 2013 Mar]

2：学会発表

Nishino I: Metabolic Diseases in Muscle. 12th Asian and Oceanian Congress on Child Neurology (AOCCN) 2013, Riyadh, Saudi Arabia (King Faisal Conference Hall), 9.16, 2013 (9.14-9.18)

Nishino I: Congenital Muscular Dystrophies. 12th Asian and Oceanian Congress on Child Neurology (AOCCN) 2013, Riyadh, Saudi Arabia (King Faisal Conference Hall), 9.16, 2013 (9.14-9.18)

Nishino I: The Japanese large cohort. The Third GNE myopathy (HIBM) consortium meeting, Burlingame, USA (San Francisco Marriott Airport Waterfront Hotel), 9.30, 2013 (9.29-9.30)

Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Noguchi S, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I: Natural history of Ullrich congenital muscular dystrophy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.2, 2013 (10.1-10.5)

Uruha A, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I: High prevalence of hepatitis C virus infection in a Japanese inclusion body myositis cohort. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.3, 2013 (10.1-10.5)

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

研究分担者：林由起子¹⁾²⁾³⁾

共同研究者：西野一三²⁾³⁾

- 1) 東京医科大学神経生理学
- 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
- 3) 同トランスレーショナルメディカルセンター臨床開発部

研究要旨

先天性ミオパチーは乳児期早期より筋力低下を示す遺伝性筋疾患で、筋病理所見により病型分類されている。我々は(独)国立精神・神経医療研究センター(NCNP)骨格筋レポジトリーを活用し、本邦における先天性ミオパチーの各病型頻度を推計した。その中で最も頻度の高いネマリンミオパチーについて既知原因遺伝子について網羅的に変異スクリーニングを行った。その結果、本邦では *ACTA1* 変異例が最も多く、その74%が乳児重症型を呈すること、一方で成人発症の良性型も存在することが明らかとなった。また、国際共同研究により、ネマリンミオパチーの新規原因遺伝子として *KLHL40*, *KLHL41* を見いだした。

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。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。

B：研究方法

- 1) 先天性ミオパチーの各疾患病型の頻度の推定

(独)国立精神・神経医療研究センター(NCNP)骨格筋レポジトリー約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。

- 2) 先天性ミオパチーの原因遺伝子の同定

先天性ミオパチーの中で最も頻度が高いことが判明したネマリンミオパチーに

ついて、既知原因遺伝子すべてに対しターゲットシーケンス法を用いて、変異スクリーニングを行い、診断確定を進める。また原因の明らかでない例は、次世代型シーケンサーを用いたエクソーム解析により新規疾患候補遺伝子の探索を進める。

(倫理面への配慮)

本研究において使用した全てのヒト検体は、確定診断のために病理学的、生化学的、免疫学的ならびに遺伝子レベルの解析が必要であり、かつ患者および家族もこれを希望し、その理解を得た上で採取された組織であり、かつ、NCNP 倫理委員会で平成 13 年 7 月 19 日に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した(平成 21 年 6 月 8 日承認)。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した。

C: 研究結果

1) 病型頻度の推定

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頻度が筋ジストロフィーの中で最も頻度の高いデュシェンヌ型筋ジストロフィーと同程度であることを明らかにした。なかでも、ネマリンミオパチーの頻度が最も高く、約 4 分の 1 を占め、次いで先天性筋線維タイプ不均等症の順であったが、分類不能のものが約 30% を占めていた。

2) 遺伝子変異解析

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 180 例について、既知疾患原因遺伝子すべてについて変異スクリーニングを行った。その結果、本邦患者では *ACTA1* 変異が最も多く、ついで *NEB* 変異例であった。また、次世代シーケンサーを用いた国際共同研究によって、乳児重症型ネマリンミオパチーの新規疾患原因遺伝子 (*KLHL40*, *KLHL41*) を見だし、報告した。このうち、*KLHL40* 変異例は本邦で頻度が高く、創始者効果の存在が示唆された。

D: 考察

ネマリンミオパチーについて既知原因遺伝子の網羅的変異スクリーニングを行ったにも関わらず、60% 以上の患者で変異が見いだされなかったことから、未知の疾患原因遺伝子が複数存在することが示唆され、今後の課題となった。また、*NEB* 変異は、海外ではネマリンミオパチーの約半数を占めるとの報告もあるが、今回我々のスクリーニング結果では多くても 10 数パーセントである。また、変異が 1 つのみしか見いだされない例が多いことから、検出方法の見直しなどが今後必要となると考えられる。

E: 結論

本邦における先天性ミオパチーの病型頻度、ならびにネマリンミオパチーの病因と臨床症状についてその特徴と問題点を明らかにした。

F: 健康危険情報

とくになし

G : 研究発表

1 : 論文発表

- Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar MA, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Yau KS, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJ, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH. Identification of KLHL41 Mutations Implicates BTB-Kelch-Mediated Ubiquitination as an Alternate Pathway to Myofibrillar Disruption in Nemaline Myopathy. *Am J Hum Genet.* 93(6): 1108-1117, 2013
- Motoki T, Fukuda M, Nakano T, Matsukage S, Fukui A, Akiyoshi S, Hayashi YK, Ishii E, Nishino I: Fatal hepatic hemorrhage by peliosis hepatis in X-linked myotubular myopathy: A case report. *Neuromuscul Disord.* 23(11): 917-921, 2013
- Matsuura T, Kurosaki T, Omote Y, Minami N, Hayashi YK, Nishino I, Abe K: Exome sequencing as a diagnostic tool to identify a causal mutation in genetically highly heterogeneous limb-girdle muscular dystrophy. *J Hum Genet.* 58(8): 564-565, 2013
- Liang WC, Hayashi YK, Ogawa M, Wang CH, Huang WT, Nishino I, JongYJ: Limb-girdle muscular dystrophy type 2I is not rare in Taiwan. *Neuromuscul Disord.* 23(8): 675-681, 2013
- Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, Miyake N, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Osaka H, Yamashita S, Ohya T, Sakamoto Y, Koshimizu E, Imamura S, Yamashita M, Ogata K, Shiina M, Bryson-Richardson RJ, Vaz R, Ceyhan O, Brownstein CA, Swanson LC, Monnot S, Romero NB, Amthor H, Kresoje N, Sivadorai P, Kiraly-Borri C, Haliloglu G, Talim B, Orhan D, Kale G, Charles AK, Fabian VA, Davis MR, Lammens M, Sewry CA, Manzur A, Muntoni F, Clarke NF, North KN, Bertini E, Nevo Y, Willichowski E, Silberg IE, Topaloglu H, Beggs AH, Allcock RJ, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Laing NG: Mutations in KLHL40 Are a Frequent Cause of Severe Autosomal-Recessive Nemaline Myopathy. *Am J Hum. Genet* 93(1):6-18,2013.
- Murakami N, Hayashi YK, Oto Y, Shiraishi M, Itabashi H, Kudo K, Nishino I, Nonaka I, Nagai T: Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood. *Neuromuscul Disord.* 23(5): 441-444, 2013
- 須藤 章, 林由起子, 佐野仁美, 川村信明, 西野一三, 埜中征哉: *ACTA1* 遺伝子変異を有する重症乳児型ネマリン

ミオパチーの兄弟例 . 脳と発達 . 45(6):452-456,2013

- 猪狩龍佑, 和田 学, 佐藤裕康, 林由起子, 西野一三, 加藤丈夫: 運動ニューロン疾患の臨床像を呈し、VCP 遺伝子変異が明らかになった inclusion body myopathy with Paget's disease of bone and frontotemporal dementia (IBMPFD) の 1 例 . 臨床神経学 . 53(6): 458-464, 2013
- 上山 勉, 仙石鍊平, 佐々木正之, 林由起子, 西野一三, 持尾聰一郎, 井口保之: 認知症を併発した valosin-containing protein 遺伝子の新規変異によるミオパチーの進行例 . 臨床神経学 . 53(6): 465-469, 2013

2 : 学会発表

- Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar M, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJN, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH: Genetic Analysis and new gene discovery in nemaline myopathy. American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting. Boston, MA, USA, 10.22-10.26, 2013.
- Endo Y, Motomura K, Hayashi YK, Noguchi S, Nonaka I, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Nishino I: Exome analysis on tubular aggregate myopathy.

American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting, Boston, USA (Boston Convention & Exhibition Center), 10.22-10.26, 2013

- Hayashi YK, Goto K, Noguchi S, Matsumoto N, Laing N, North K, Clark N, Nonaka I, Nishino I: Mutation screening of a large cohort of nemaline myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA, 10.1-10.5,2013
- Behin A, Laforet P, Malfatti E, Pellegrini N, Hayashi YK, Carlier RY, Orlikowski D, DiMauro S, Nishino I, Romero N: Megaconial myopathy presenting as a progressive limb-girdle myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 110.1-10.5,2013
- Nascimento A, Jou C, Ortez C, Hayashi YK, Nishino I, Olive M, Ferrer I, Colomer J, Paco S, Jimenez-Mallebrera C: Megaconial congenital muscular dystrophy in two children with mutations in the CHKB Gene. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5,2013
- Hamanaka K, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I: Useful differential diagnostic markers between congenital myotonic dystrophy and

- X-linked myotubular myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5,2013
- Dastgir J, Rutkowski A, Alvarez R, Cossette S, Yan K, Hoffmann R, Sewry C, Hayashi YK, Moore SA, Goebel H, Bonnemann C, Lawlor MW: Common data elements for muscle biopsy reporting. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5,2013
 - Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar M, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJN, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH: Whole exome sequencing identifies *KLHL41* mutations as a cause of autosomal-recessive nemaline myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society. Asilomar Conference Grounds, CA, USA . 10.1-10.5,2013
 - Hayashi YK, et al. FHL1 Myopathies in Japan. 199th ENMC International Workshop, Naarden, The Netherlands, 6.8, 2013
 - 林 由起子, 宮武 聡子, 輿水 江里子, 松本 直通, 野口 悟, 西野 一三. ネマリンミオパチーの遺伝子変異解析. 日本人類遺伝学会, 仙台, 11.20-11.23, 2013.
 - 宮武 聡子, 輿水 江里子, 林 由起子, Gianina Ravenscroft³, 三宅 紀子, 土井 宏, 鶴崎 美德, 才津 浩智, 小坂 仁, 山下 純正, 大宅 喬, 増澤 祐子, 今村 伸太郎, 山下 倫明, 椎名 政昭, 緒方 一博, 西野 一三, Nigel Laing, 松本 直通. ネマリンミオパチーの新規原因遺伝子 *KLHL40* の同定. 日本人類遺伝学会, 仙台, 11.20-11.23, 2013.
 - 林由起子, 本村和嗣, 後藤加奈子, 野口 悟, 宮武聡子, 輿水江里子, 松本直通, 西野一三: ネマリンミオパチーの臨床遺伝学的解析. 第 54 回日本神経学会学術大会, 東京, 5.29-6.1, 2013
 - 西野一三. Tubular aggregates を伴う遺伝型筋疾患の原因遺伝子. 第 54 回日本神経学会学術大会 東京, 5.29-6.1, 2013
 - Endo Y, Hayashi YK, Komaki H, Nonaka I, Nishino I: Whole Exome Sequencing Analysis on hereditary muscle disease with tubular aggregates. 第 55 回日本小児神経学会学術集会, 大分, 5.30-6.1, 2013
 - 西野一三: 遺伝性筋疾患診断の網羅的遺伝子解析. 第 116 回日本小児科学会学術集会, 広島市 (広島市文化交流会館), 4.19-4.21,2013
- 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（臨床医学的研究）

研究分担者：小牧 宏文

共同研究者：石山 昭彦

（独）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乳児期早期に発症する遺伝性筋疾患で、筋病理学所見から複数の病型に分類されている。病理学的な診断が基本となるが、骨格筋画像では病型ごとに筋障害の分布・程度が異なる筋選択性も報告されている。本研究では、本邦における先天性ミオパチーの病型頻度・臨床的特徴を明らかにすることを目的とし、診断基準作成を視野に入れている。先天性ミオパチーの臨床的特徴を明らかにし、診断基準を作成するにあたり、骨格筋画像をもとにしたデータベース化をはかり複数施設からの登録を可能とするためのオンライン画像登録システムの体制整備を行った。そのシステムを用い、今年度は単施設から56例の骨格筋画像を臨床所見、検査所見とあわせて登録し、各病型でのデータシート作成を行った。

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幾つかの病型に分類されている。病型が複数にわたり臨床症状が病型ごとに異なること、また病型毎に複数の原因遺伝子が知られており、さらには原因不明である例も多いため、診断基準やガイドラインの作成は困難を極める。本研究では、先天性ミオパチーの各病型の頻度、診断・臨床管理上の問題点を明らかにし、先天性ミオパチー各病型の診断基準の作成を行うことを目的としている。

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判断が困難な例も存在する。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骨格筋画像に着目し画像データを病型ごとに収集し、臨床、検査、病理、遺伝学的情報と併せて解析を行う。

B：研究方法

全国施設の協力をあおぎ多数の画像症例のデータ収集を行うため、（独）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が独自に開発・提供する、画像情報を統合的に Web 上で閲覧可能なオンラインサポートシステム IBISS (Integrative Brain Imaging Support System)を用いた。骨格筋画像登録にあたり、倫理委員会での承認後、臨床、検査、病理、遺伝学的な所見を記入するデータシートの作成を行った。

このシステムを用い 2005 年 1 月から 2013 年 12 月までに当センターで精査が行われた症例のうち、筋病理学または遺伝学的な解析により疾患名が確定した 56 例の画像登録を行った。各症例を病型ごとに分類し下肢骨格筋画像の解析が可能であった MRI 画像 45 例、CT 画像 48 例の画像登録を行った。罹患筋の選択性及び筋障害の程度の解析は、萎縮・脂肪変性なしと、50%未満または 50%以上萎縮・変性ありの 3 群に分けて分類を行い、各病型で 6 割以上の症例で萎縮・変性を認める筋を、筋障害の選択性部位として採用した。これによる画像ごとでの筋選択性のデータシートを作成し、また診断年齢、血清 CK 値、側弯症の有無をもあわせて登録し、病型間での特徴を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究において使用するすべてのヒト検体から得られた情報はいずれも疾患の確定診断のために筋病理、生化学、免疫学的ならびに遺伝子レベルでの解析が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した組織(生検・剖検筋、皮膚、血球など)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「ヒトゲノム解析研究に関する共通指針」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。

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。

また、本研究で得られた研究成果はすべて公開する。

C: 研究結果

先天性ミオパチーの確定診断がなされた 56 例(MRI 画像 45 例、CT 画像 48 例)の画像登録を行いオンラインでの参照システムを確立した。この登録データを用いた解析により、セントラルコア病、DNM2 変異が確定している中心核ミオパチー等では筋選択性が明瞭であり、画像上での症例間の相違も少な

かった。またセントラルコア病では大腿直筋が腫大する所見を全例に認める等、特徴的な所見も認め進行した例でもその所見を保っていた。ネマリンミオパチー、先天性筋線維タイプ不均等症では、筋選択性として病型内で一様でないものの、各病型とも数種類への細分類が可能で原因遺伝子との関連性が示唆された。血清CK値はいずれの病型でも正常下限から低値であり、病型間での比較もほぼ近似していた。側弯症は各病型で28~67%といずれの病型でも認めていた。

D：考察

先天性ミオパチーの病型によって、骨格筋画像の筋選択性の所見の有用性が高い病型、そのみでは鑑別診断に不十分な病型が存在した。単一遺伝子が原因である病型では明瞭な筋選択性を認め、複数の原因遺伝子を認める病型ではそのパターンも複数認めており、遺伝子ごとでの関連性が示唆された。全例で遺伝子解析が実施されているわけではなく、因果関係を証明するに至っていないが、将来的に診断のためのツールとして正確なデータベースの役割を担う可能性を考慮すると、これらの症例の遺伝子解析は必須である。実際の診断基準作成にあたっては、その他の臨床所見、検査所見との組み合わせが必要であると考えられるが、血清CK値や側弯症の有無は先天性ミオパチーとしての診断に重要であるものの、病型分類にあたっての鑑別での有用性は低い。骨格筋画像所見と臨床、検査所見のいずれの組み合わせが、先天性ミオパチーの診断、病型分類に適切か今後、更なる検討をすすめる必要がある。

骨格筋画像登録は、現時点では単施設での登録・解析にとどまるがオンラインシステム

の利点を用いることで複数施設での症例蓄積を行い、先天性ミオパチー骨格筋画像データベース確立を行い、臨床、検査、病理、遺伝学的情報との統合を行っていくことが、適正な診断基準作成へと結びつくものと考えられる。

E：結論

先天性ミオパチーの骨格筋画像 Web 登録によるインフラ整備を行い、骨格筋画像を主体にしたデータベースとして単施設での画像登録、解析を行った。筋病理所見、分子遺伝学的な基礎医学分野での病態解析との連携をはかりつつ、臨床的な視点から先天性ミオパチーの骨格筋画像所見の有用性を明らかにし、診断基準作成や診断ツールとして活用されることが期待される。

F：健康危険情報

とくになし

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

Takeuchi F, Yonemoto N, Nakamura H, Shimizu R, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Nishino I, Kawai M, Kimura E, Takeda S. Prednisolone improves walking in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients. J Neurol. In press.

Nakamura H, Kimura E, Mori-Yoshimura M, Komaki H, Matsuda Y, Goto K, Hayashi YK, Nishino I, Takeda SI, Kawai M. Characteristics of Japanese Duchenne and Becker muscular dystrophy patients in a novel Japanese national registry of

muscular dystrophy (Remudy). Orphanet J Rare Dis. 2013;8:60.

Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I. Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013; 84:982-8.

Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K. Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction. Hum Mutat. 2013; 34:997-1004.

Yonekawa T, Komaki H, Saito Y, Takashima H, Sasaki M. Congenital hypomyelinating neuropathy attributable to a de novo p.Asp61Asn mutation of the myelin protein zero gene. Pediatr Neurol. 2013; 48:59-62.

2 : 学会発表

石山昭彦、小牧宏文、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、佐々木征行：福山型先天性筋ジストロフィーにおける骨格筋画像。第 55 回日本小児神経学会総会、大分、5/29-6/1.2013

青木雄介、小牧宏文、石山昭彦、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、佐々木征行：Duchenne 型筋ジストロフィーにおける脳梗塞発症の危険因子に関する検討。第 55 回日

本小児神経学会総会、大分、5/29-6/1.2013

青木雄介、小牧宏文、竹下絵里、石山昭彦、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、林由起子、西野一三、佐々木征行：中枢神経病変を認めない、フクチン遺伝子変異による先天性筋ジストロフィーの一例。第 59 回日本小児神経学会関東地方会、神奈川、9/21.2013

米川貴博、小牧宏文、齋藤祐子、大矢寧、石山昭彦、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、西野一三、橋口昭大、高嶋博、佐々木征行：MPZ 遺伝子の p.Asp61Asn ヘテロ接合性変異は先天性髄鞘形成不全性ニューロパチーと Charcot-Marie-Tooth type 1 の原因となる。第 54 回日本神経病理学会総会。東京、4/24-4/26.2013

仲村貞郎、石山昭彦、米川貴博、小牧宏文、齋藤貴志、齋藤義朗、中川栄二、須貝研司、佐々木征行：脊髄性筋萎縮症における末梢神経伝導検査の検討。第 43 回日本臨床神経生理学会学術大会。高知、11/7-11/9.2013

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

Marinesco-Sjögren 症候群

研究分担者：林由起子¹⁾²⁾

共同研究者：小牧宏文³⁾、西野一三²⁾

- 1) 東京医科大学神生理学
- 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
- 3) 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

Marinesco-Sjögren 症候群(MSS)は、中枢神経障害、白内障、ミオパチーを呈する疾患である。常染色体劣性遺伝形式をとり、*SIL1* 遺伝子変異による。我々の先行研究から、MSS は本邦での患者数が 50 人以下と推測されている超希少疾病である。本研究では、先行研究で見いだした本邦 MSS 36 名について、*SIL1* 有変異例、*SIL1* 変異なし例、遺伝子解析未施行例に分け、その臨床的特徴を検討し、重要項目を抽出し、診断基準のたたき台を作成した。今後文献的知見も加味し、MSS の臨床的特徴を明らかにすることによって、診断基準をブラッシュアップし、学会承認へとつなげていく必要がある。

A：研究目的

Marinesco-Sjögren 症候群(MSS)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、MSS 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、発症は乳幼児期と早期であるが、生命予後に直接関わる合併症が少なく、比較的良好な経過を撮ることが示唆された。本研究で

は、超希少疾病で、かつ経過の長い MSS 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。

B：研究方法

先行研究で見いだした MSS 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、MSS の臨床的特徴を明らかにすることによって、診断基準作成をめざす。

（倫理面への配慮）

本研究において使用した全てのヒト検体は、確定診断のために病理学的、生化

学的、免疫学的ならびに遺伝子レベルの解析が必要であり、かつ患者および家族もこれを希望し、その了解を得た上で採取された組織であり、かつ、NCNP 倫理委員会で平成 13 年 7 月 19 日に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した(平成 21 年 6 月 8 日承認)。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した。

C : 研究結果

MSS36 人を、*SIL1* 有変異例、*SIL1* 変異のない例、遺伝子解析未施行例に分け、まず、*SIL1* 有変異例を中心にその臨床的特徴を検討し、重要項目を抽出した。また、*SIL1* 変異のない例、遺伝子解析未実施例についても、各項目について、その頻度を算出した。

D : 考察

MSS の患者数は極めて少なく、より、詳細な臨床症状を把握するために、今後、臨床報告例など、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。

E : 結論

MSS の診断基準作成のための基本項目を抽出し、たたき台を作成した。今後、文献情報も加味し、ブラッシュアップして、学会承認へとつなげていく。

F : 健康危険情報

とくになし

G : 研究発表

1 : 論文発表

- Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar MA, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Yau KS, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJ, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH. Identification of KLHL41 Mutations Implicates BTB-Kelch-Mediated Ubiquitination as an Alternate Pathway to Myofibrillar Disruption in Nemaline Myopathy. *Am J Hum Genet.* 93(6): 1108-1117, 2013
- Motoki T, Fukuda M, Nakano T, Matsukage S, Fukui A, Akiyoshi S, Hayashi YK, Ishii E, Nishino I: Fatal hepatic hemorrhage by peliosis hepatis in X-linked myotubular myopathy: A case report. *Neuromuscul Disord.* 23(11): 917-921, 2013
- Matsuura T, Kurosaki T, Omote Y, Minami N, Hayashi YK, Nishino I, Abe K: Exome sequencing as a diagnostic tool to identify a causal mutation in genetically highly heterogeneous limb-girdle muscular dystrophy. *J Hum Genet.* 58(8): 564-565, 2013
- Liang WC, Hayashi YK, Ogawa M, Wang CH, Huang WT, Nishino I, JongYJ:.

- Limb-girdle muscular dystrophy type 2I is not rare in Taiwan. *Neuromuscul Disord.* 23(8): 675-681, 2013
- Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, Miyake N, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Osaka H, Yamashita S, Ohya T, Sakamoto Y, Koshimizu E, Imamura S, Yamashita M, Ogata K, Shiina M, Bryson-Richardson RJ, Vaz R, Ceyhan O, Brownstein CA, Swanson LC, Monnot S, Romero NB, Amthor H, Kresoje N, Sivadorai P, Kiraly-Borri C, Haliloglu G, Talim B, Orhan D, Kale G, Charles AK, Fabian VA, Davis MR, Lammens M, Sewry CA, Manzur A, Muntoni F, Clarke NF, North KN, Bertini E, Nevo Y, Willichowski E, Silberg IE, Topaloglu H, Beggs AH, Allcock RJ, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Laing NG: Mutations in KLHL40 Are a Frequent Cause of Severe Autosomal-Recessive Nemaline Myopathy. *Am J Hum. Genet* 93(1):6-18,2013.
 - Murakami N, Hayashi YK, Oto Y, Shiraishi M, Itabashi H, Kudo K, Nishino I, Nonaka I, Nagai T: Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood. *Neuromuscul Disord.* 23(5): 441-444, 2013
 - 須藤 章, 林由起子, 佐野仁美, 川村信明, 西野一三, 埜中征哉: *ACTA1* 遺伝子変異を有する重症乳児型ネマリンミオパチーの兄弟例. *脳と発達.* 45(6):452-456,2013
 - 猪狩龍佑, 和田 学, 佐藤裕康, 林由起子, 西野一三, 加藤丈夫: 運動ニューロン疾患の臨床像を呈し、VCP 遺伝子変異が明らかになった inclusion body myopathy with Paget's disease of bone and frontotemporal dementia (IBMPFD) の1例. *臨床神経学.* 53(6): 458-464, 2013
 - 上山 勉, 仙石錬平, 佐々木正之, 林由起子, 西野一三, 持尾聰一郎, 井口保之: 認知症を併発した valosin-containing protein 遺伝子の新規変異によるミオパチーの進行例. *臨床神経学.* 53(6): 465-469, 2013
- ## 2 : 学会発表
- Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar M, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJN, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH: Genetic Analysis and new gene discovery in nemaline myopathy. American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting. Boston, MA, USA, 10.22-10.26, 2013.
 - Endo Y, Motomura K, Hayashi YK, Noguchi S, Nonaka I, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Nishino I: Exome analysis

- on tubular aggregate myopathy. American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting, Boston, USA (Boston Convention & Exhibition Center), 10.22-10.26, 2013
- Hayashi YK, Goto K, Noguchi S, Matsumoto N, Laing N, North K, Clark N, Nonaka I, Nishino I: Mutation screening of a large cohort of nemaline myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomar, USA, 10.1-10.5,2013
 - Behin A, Laforet P, Malfatti E, Pellegrini N, Hayashi YK, Carlier RY, Orlikowski D, DiMauro S, Nishino I, Romero N: Megaconial myopathy presenting as a progressive limb-girdle myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomar, USA (Asilomar Conference Grounds), 110.1-10.5,2013
 - Nascimento A, Jou C, Ortez C, Hayashi YK, Nishino I, Olive M, Ferrer I, Colomer J, Paco S, Jimenez-Mallebrera C: Megaconial congenital muscular dystrophy in two children with mutations in the CHKB Gene. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomar, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5,2013
 - Hamanaka K, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I: Useful differential diagnostic markers between congenital myotonic dystrophy and X-linked myotubular myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomar, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5,2013
 - Dastgir J, Rutkowski A, Alvarez R, Cossette S, Yan K, Hoffmann R, Sewry C, Hayashi YK, Moore SA, Goebel H, Bonnemann C, Lawlor MW: Common data elements for muscle biopsy reporting. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomar, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.1-10.5,2013
 - Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar M, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJN, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH: Whole exome sequencing identifies *KLHL41* mutations as a cause of autosomal-recessive nemaline myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society. Asilomar Conference Grounds, CA, USA . 10.1-10.5,2013
 - Hayashi YK, et al. FHL1 Myopathies in Japan. 199th ENMC International Workshop, Naarden, The Netherlands, 6.8, 2013
 - 林 由起子, 宮武 聡子, 輿水 江里子,

松本 直通,野口 悟,西野 一三.ネマリンミオパチーの遺伝子変異解析.日本人類遺伝学会,仙台,11.20-11.23,2013.

- 宮武 聡子,輿水 江里子,林 由起子, Gianina Ravenscroft³,三宅 紀子,土井 宏,鶴崎 美德,才津 浩智,小坂 仁,山下 純正,大宅 喬,増澤 祐子,今村 伸太郎,山下 倫明,椎名 政昭,緒方 一博,西野 一三, Nigel Laing, 松本 直通.ネマリンミオパチーの新規原因遺伝子 KLHL40 の同定.日本人類遺伝学会,仙台,11.20-11.23,2013.
- 林由起子,本村和嗣,後藤加奈子,野口 悟,宮武聡子,輿水江里子,松本直通,西野一三:ネマリンミオパチーの臨床遺伝学的解析.第54回日本神経学会学術大会,東京,5.29-6.1,2013
- 西野一三.Tubular aggregatesを伴う遺伝型筋疾患の原因遺伝子.第54回日本神経学会学術大会 東京,5.29-6.1,2013
- Endo Y, Hayashi YK, Komaki H, Nonaka I, Nishino I: Whole Exome Sequencing Analysis on hereditary muscle disease with tubular aggregates. 第55回日本小児神経学会学術集会,大分,5.30-6.1,2013
- 西野一三:遺伝性筋疾患診断の網羅的遺伝子解析.第116回日本小児科学会学術集会,広島市(広島市文化交流会館),4.19-4.21,2013

2: 実用新案登録

なし

3: その他

なし

H: 知的所有権の取得状況(予定を含む)

1: 特許取得

なし

周期性四肢麻痺の新規原因遺伝子探索

研究分担者：高橋 正紀¹⁾

共同研究者：古田 充¹⁾、中田 智彦²⁾、穀内 洋介¹⁾、坂田 宗平³⁾、
木村 紘美⁴⁾、伊藤 英樹⁴⁾、相庭武司⁵⁾、吉永正夫⁶⁾、
中森 雅之¹⁾、久保田 智哉¹⁾、進藤 克郎⁷⁾、清水 渉⁸⁾、
堀江 稔⁴⁾、岡村 康司³⁾、望月 秀樹¹⁾、大野 欽司²⁾

- 1) 大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学
- 2) 名古屋大学大学院 医学系研究科 神経遺伝情報学
- 3) 大阪大学大学院 医学系研究科 統合生理学
- 4) 滋賀医科大学 呼吸循環器内科学
- 5) 国立循環器病医療研究センター 不整脈科
- 6) 国立病院機構 鹿児島医療センター 小児科
- 7) 倉敷中央病院 神経内科
- 8) 日本医科大学 循環器内科

研究要旨

骨格筋チャンネル病の診断向上には、診断確定症例の臨床情報・検査所見蓄積が重要である。全国から依頼され遺伝子解析を行っているが、臨床診断が周期性四肢麻痺とされている症例の半数以上では、原因となる遺伝子異常が同定されない。そこで、次世代シーケンサによる解析を行ったところ、Kir3.4 サブユニットをコードする *KCNJ5* 遺伝子の変異を 1 例で同定した。さらに心臓のチャンネル病の研究者らと協力し、さらに 1 例の患者を見出した。Kir3.4 サブユニットは通常 G タンパク共役型内向き整流性 K チャネルを構成するが、ツメガエル卵母細胞を用いた電気生理学的解析により、G タンパク共役型ではない通常の内向き整流性 K 電流を抑制するという新たな生理作用が見出され、骨格筋の病態（麻痺）に関与することが示された。

A：研究目的

周期性四肢麻痺の原因遺伝子として、骨格筋型 Na および Ca チャネルのほかに、内向き整流性 K チャネルサブユニット (Kir2.1,

Kir2.6) をコードする *KCNJ2* や *KCNJ18* が同定されている。なかでも *KCNJ2* の変異は、周期性四肢麻痺・不整脈・骨格奇形の 3 徴を呈する Andersen-Tawil 症候群 (ATS) の原因となる。

われわれは周期性四肢麻痺をはじめとする骨格筋チャンネル病の遺伝子診断を行っているが、これらに変異を認めない例も多いことから、新規原因遺伝子の同定を試みた。

なおその他に本年度も昨年度に引き続き、診断確定のための遺伝子解析、診断基準の整備、再生医療実現拠点ネットワークプログラム共同研究拠点への患者検体の提供なども継続して行った。それらの詳細については、平成 24-25 年度総合報告書を参照されたい。

B：研究方法

低 K 性周期性四肢麻痺発作と心電図上 QU 延長、U 波を認め、優性遺伝と思われる不整脈の家族歴があり、ATS を疑った。既知原因遺伝子には病的変異を認めなかった。SureSelect Human All Exon v.2 でゲノムから全エクソームを濃縮、ライブラリ調整し、SOLiD4 システムで配列情報を取得した。162 のイオンチャンネル関連遺伝子を候補として解析した。Immunoblotting によって Kir3.4 タンパクが心筋・骨格筋においても発現しているかどうかを検討した。

アフリカツメガエル卵母細胞に Kir2.1, Kir3.4 の野生型あるいは変異型 cRNA を注入し、内向き整流性電流を二電極膜電位固定法で解析した。

(倫理面への配慮)

患者の遺伝子に関わる研究、患者情報・組織を用いた研究については、それぞれ大阪大学ヒトゲノム研究審査委員会、大阪大学医学部・医学部附属病院倫理委員会にて承認済みである(下記一覧)。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、連結可能匿

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。

承認状況

「神経・筋チャンネル病の遺伝子解析」 大阪大学研究倫理審査委員会 平成 16 年初版承認、2012 年 4 月 3 日最新版承認

「本邦における筋チャンネル病の実態に関する研究」 大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会 2009 年 8 月 13 日承認

C：研究結果

低 K 性周期性四肢麻痺発作と心電図上 QU 延長、U 波を認め、優性遺伝と思われる不整脈の家族歴があり、ATS を疑った。既知原因遺伝子には病的変異を認めなかった。

エクソームキャプチャーの後、次世代シーケンサで解析し、162 のイオンチャンネル関連遺伝子を候補として検討したところ、G タンパク共役型内向き整流性 K チャンネルを構成する Kir3.4 サブユニットをコードする *KCNJ5* にミスセンス変異 (p.G387R) を認めた。

Kir3.4 タンパクが心筋・骨格筋においても発現していることを Immunoblotting によって確認した。ツメガエル卵母細胞に cRNA を注入しチャンネル電流を解析したところ、Kir2.1 との共発現では Kir3.4 は内向き整流電流を抑制し、変異タンパクでより強い抑制を認めた。

さらに、本邦における 3 つの ATS コホート (国立循環器病医療研究センター、滋賀医科大学、国立病院機構鹿児島医療センター)において *KCNJ2* に変異のない 21 例の ATS のゲノムを解析したところ 1 例に *KCNJ5* の変異を見出した。

D : 考察

Kir3.4 サブユニットをコードする *KCNJ5* の変異はQT延長症候群の原因として報告されていた。しかしながら、Kir3.4 サブユニットはKir3.x ファミリーと4量体を形成しG蛋白共役型の内向き整流性Kチャンネルを構成し、心臓においては心副交感神経刺激による心拍低下を来すIK_{ACh}電流を担っていることから、なぜQT延長症候群を呈するかは疑問であった。さらに、周期性四肢麻痺を呈したという報告はこれまでなかった。今回我々の見出した、変異Kir3.4サブユニットによるKir2.1電流の抑制という結果は、ATSがKir2.1をコードする*KCNJ2*の変異により生じることが知られていることとあわせ、QT延長症候群および周期性四肢麻痺という病態をうまく説明できる。

いっぽう近年*KCNJ5*の変異は原発性アルドステロン症の原因であることが報告されている。興味深いことに我々の見出したもう1例の*KCNJ5*の変異の患者は、心電図異常が見出された2年後に原発性アルドステロン症を発症している。原発性アルドステロン症は二次性の低カリウム性周期性四肢麻痺の原因であることも知られており、*KCNJ5*疾患は原発性アルドステロン症、QT延長、周期性四肢麻痺などいくつかの症状をオーバーラップし呈する可能性がある。

E : 結論

*KCNJ5*はATSの新たな原因遺伝子と考えられた。Kir2.1に対する抑制作用は心臓・骨格筋両者の病態をうまく説明できる。また、Kir2.Xの電流量の調整というKir3.4の骨格筋における新たな生理作用が示唆された。また本研究を通じて、心臓のチャンネル病の研究者と共

同研究体制が構築されたことは、今後の研究の発展につながると考えられる。

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

Oana K, Oma Y, Suo S, Takahashi MP, Nishino I, Takeda S, Ishiura S. Manumycin A corrects aberrant splicing of *Clcn1* in myotonic dystrophy type 1 (DM1) mice. *Sci Rep.* 2013;3:2142..

Koebis M, Kiyatake T, Yamaura H, Nagano K, Higashihara M, Sonoo M, Hayashi Y, Negishi Y, Endo-Takahashi Y, Yanagihara D, Matsuda R, Takahashi MP, Nishino I, Ishiura S. Ultrasound-enhanced delivery of Morpholino with Bubble liposomes ameliorates the myotonia of myotonic dystrophy model mice. *Sci Rep.* 2013 3: 2242.

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 MP. A Kir3.4 mutation causes Andersen-Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1. *Neurology* 印刷中

佐々木良元、高橋正紀、穀内洋介、平山正昭、衣斐 達、富本秀和、望月秀樹、佐橋 功 骨

格筋型塩化物イオンチャネル遺伝子
(CLCN1)の複合ヘテロ接合体変異で重症化
した Thomsen 病 臨床神経学 2013;53(4):
316-319

久保田智哉 高橋正紀 骨格筋チャネル病の
最新知見 ミオトニー症候群と周期性四肢麻
痺を中心に 医学のあゆみ 2013;245(9):
732-739.

高橋正紀 周期性四肢麻痺 今日の診断指針
2014 年版 印刷中

2 : 学会発表

穀内洋介、紀 嘉浩、Moy Li、伊藤英樹、中
森雅之、木村 卓、松村 剛、藤村晴俊、貫名
信行、堀江 稔、石浦章一、Maurice Swanson、
望月秀樹、佐古田三郎、井本敬二、Nicolas
Charlet-Berguerand、高橋正紀 Na チャネル
のスパライジング異常が筋強直性ジストロ
フィーの心臓伝導障害に関与する.第 54 回日
本神経学会学術大会 2013 年 05 月 29 日 東
京国際フォーラム

中森雅之、Charles Thornton、高橋正紀、望
月秀樹 トリプレットリピート病におけるリ
ピート長の制御. 第 54 回日本神経学会学術大
会 2013 年 05 月 30 日 東京国際フォーラ
ム

高橋正紀、穀内洋介、中田智彦、坂田宗平、
大崎裕亮、中森雅之、木村紘美、伊藤英樹、
久保田智哉、進藤克郎、望月秀樹、堀江 稔、
岡村康司、大野欽司 不整脈を伴う低カリウ
ム性周期性四肢麻痺の新規原因遺伝子同定と
チャネル機能解析. 第 54 回日本神経学会学

術大会 2013 年 05 月 30 日 東京国際フォ
ーラム

中森雅之、Charles Thornton、高橋正紀、望
月秀樹 トリプレットリピート病におけるリ
ピート長伸長機構の解明と制御 日本人類遺
伝学会 第 58 回大会 仙台 2013 年 11 月
21 日

高橋正紀、穀内洋介、中田智彦、坂田宗平、
中森雅之、木村紘美、伊藤英樹、古田 充、久
保田智哉、進藤克郎、堀江 稔、岡村康司、望
月秀樹、大野欽司 エクソーム解析による
Andersen-Tawil 症候群の新規原因遺伝子同
定と変異チャネル機能の電気生理学的解析
日本人類遺伝学会 第 58 回大会 仙台
2013 年 11 月 23 日

木村康義、三原雅史、古田充、中森雅之、奥
野龍禎、高橋正紀、大野欽司、望月秀樹
CNCNA1A 新規変異を認めた反復発作性運
動失調症 2 型の 1 例 第 99 回日本神経学会
近畿地方会 平成 25 年 12 月 21 日(土)

Kokunai Y, Nakamori M, Kubota T,
Mochizuki H, Takahashi MP, Nakata T,
Ohno K, Sakata S, Okamura Y, Kimura H,
Itoh H, Horie M, Osaki Y, Shindo K.
Exome sequencing analysis reveals a
mutation of Kir3.4 in a patient with
Andersen-Tawil syndrome. 18th
International Congress of The World
Muscle Society Asilomar, CA USA 2013 年
10 月 3 日

Nakamori M, Hamanaka K, Furuta M,

Mochizuki H, Hayashi Y, Nishino I,
Takahashi MP. Phenotype-genotype
correlation in congenital myotonic
dystrophy. 9th International Myotonic
Dystrophy Consortium Meeting, Donostia
San Sebastian, Spain 2013 年 10 月 17 日

Kokunai Y, Itoh H, Kino Y, Li M, Nakamori
M, Kimura T, Matsumura T, Fujimura H,
Nukina N, Mochizuki H, Sakoda S, Horie M,
Ishiura S, Imoto K, Swanson MS, Charlet
Berguerand N, Takahashi MP. Altered
splicing of cardiac sodium channel might be
responsible for cardiac conduction defects
in myotonic dystrophy. 9th International
Myotonic Dystrophy Consortium Meeting,
Donostia San Sebastian, Spain 2013 年 10
月 17 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

Schwartz-Jampel 症候群の病態分子機構

研究分担者：平澤恵理⁽¹⁾

共同研究者：野中里紗⁽¹⁾，寧亮⁽¹⁾大野欽司⁽²⁾

(1) 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

(2) 名古屋大学大学院医学系研究科

研究要旨

SJS の原因遺伝子が初めて解ったが、効果的対症療法、根治療法が確立しておらず、かつ筋、骨格の症状から ADL を著しく障害する難治性疾患である。

本邦で遺伝子変異確定はまだ、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(SJS)の遺伝子診断は確立しておらず、潜在的な罹患者の存在が想定される。本邦における SJS の遺伝子診断を確立し、その分子病態を明らかにするための基礎研究を推進する。

A：研究目的

軟骨異栄養性筋強直症（Schwartz-Jampel 症候群, SJS）はパールカン欠損疾患であり（*Nature Genetics*,2001, *Am.J.Hum Genet* .2002）筋の自発持続収縮によるミオトニアと骨格病変を主症状とする。申請者らは、生体におけるパールカンの機能解明のため、遺伝子改変動物を作成し、軟骨発生にパールカンが必須であることを示し（*Nature Genetics*1999, &2001）、アセチルコリンエステラーゼを神経筋接合部に局在させる必須分子であることを示した（*Nature Neuroscience* 2002）。これらの研究成果により、SJS の原因遺伝子が初めて明らかになった。効果的対症療法、根治療法が確立しておらず、かつ筋、骨格の症状から ADL を著しく障害する難治性疾患である。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 SJS 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 SJS 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。

B：研究方法

1999 年までに精神・神経センター（NCNP）筋バンクに臨床診断 SJS として登録された 4 中 2 例はパールカン遺伝子変異が検出された。その後、パールカン遺伝子（*HSPG2*）は巨大遺伝子であるので（mRNA で 14294 bp）生検筋を使ったパールカン免疫染色で除外診断してきた。本邦症例を中心に診断システムの構築を目指すため、症例の蓄積が重要である。候補例には、臨床診断・電気生理学検査、必要であれば筋生検を行う。遺伝子変異解析は大野、タンパク質解析は平澤が行

うことにしている。SJS を疑う 1 症例の

初代線維芽細胞をドメイン特異的抗体で染色し、細胞外局在を確認した。Agilent 社 SureSelect Human All Exon kit V4 を用いてエクソン領域の DNA を濃縮し、ABI SOLiD4 シークエンサにてエキソームリシークエンシング解析を行った。パールカンのドメイン III の 2nd laminin type B を cloning し細胞外分泌シグナルをつなげて、変異パールカンの細胞外分泌能を解析した。

(倫理面への配慮)

遺伝子変異解析は順天堂大学および名古屋大学の生命倫理委員会の承認を得てヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)に従い解析する。治療研究を開始する場合には、「臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)」に則り、順天堂大学及び名古屋大学の倫理委員会の承認を得た後に進める。

組み換え DNA 実験と動物実験は順天堂大学及び名古屋大学の承認を得ている。動物実験は、カルタヘナ法、ならびに、順天堂大学の動物実験委員会の承認を得て動物実験指針を遵守して研究を進める。

C: 研究結果

パールカンドメイン特異的抗体による初代線維芽細胞染色ではドメイン I, IV, V に対する特異的抗体により細胞外パールカンが染色されたが、ドメイン III に対する抗体では染色されなかった。エキソームリシークエンシング解析でドメイン III の 2nd laminin type B に p.Leu1088Pro ヘテロ変異を認め、サンガー法にて確認を行った。Leu1088 はオボッサムを除く哺乳類で高度に保存されていた。ドメイン III の 2nd laminin type B に細胞外分泌シグナルを付加し HEK293 細胞に発現をさせたところ、細胞内にも培養液中にも組み換えパールカンの発現を認めた。p.Leu1088Pro を導入したところ細胞内の組み換えパールカンの発現が減弱した。この変異組み換えパールカンの細胞外分泌を全く認めなかった。プロテアーゼ阻害剤 MG132 を加えたところ変

異組み換えパールカンの細胞内発現が正常化し変異組み換えパールカンがプロテアーゼによって分解をされていることが示唆された。

もう一方のアレルにも遺伝子変異が存在することが想定をされるために、エキソームリシークエンシング断片を、BWA にて再度 mapping を行い、unmapped reads を BLAT で mapping を行い、stringency を下げて SNV コールを行ったが、もう一方の変異は同定できなかった。また、網羅的な RT-PCR でもエクソンレベルの large InDel を同定できなかった。

D: 考察

本邦で初めて診断した新規遺伝子変異を同定し、機能解析によりパールカンの分泌の障害を実証した。遺伝子診断は可能になったが、現状では、臨床、電気生理、及びタンパク質レベルの解析を併せ診断することが必要と考えられた。依然、患者数は少なく、さらなる症例発掘と診断基準の充実が必須である。報告例の多いフランスとの情報交換も重要と思われた。病態解析及び治療研究にはモデルマウスを使用して進めることが適正と思われた。さらに、マウス解析の結果より、全身合併症の注意点も警告して行きたい。

E: 結論

SJS の一例において新規ミスセンス変異を同定し、機能解析を行った。本邦においても SJS の診断を確立する必要せいがある。

F: 健康危険情報

特になし。

G: 研究発表

1: 論文発表

論文発表

- 1 Ning R de Vega S, Kurihara H, Ichikawa-Tomikawa N, Xu Z, Nonaka R, Yamada Y, Miner J, Arikawa-Hirasawa E. Laminin $\alpha 1$ regulates age-related mesangial cell proliferation and mesangial matrix accumulation through the TGF β pathway. *Am J Pathol* in press.
- 2 de Vega S, Suzuki N, Nonaka R, Sasaki T, Forcinito P, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y. A C-terminal fragment of

- 3 fibulin-7 interacts with endothelial cells and inhibits their tube formation in culture. *Arch Biochem Biophys* in press.
- 4 Furuya N, Ikeda SI, Sato S, Soma S, Ezaki J, Trejo JA, Takeda-Ezaki M, Fujimura T, Arikawa-Hirasawa E, Tada N, Komatsu M, Tanaka K, Kominami E, Hattori N, Ueno T. PARK2/Parkin-mediated mitochondrial clearance contributes to proteasome activation during slow-twitch muscle atrophy via NFE2L1 nuclear translocation. *Autophagy* in press.
- 5 Suzuki N, Numakawa T, Joshua Chou J, de Vega, S, Mizuniwa C, Sekimoto K, Adachi N, Kunugi N, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y, Akazawa C. Teneurin-4 promotes cellular protrusion formation and neurite outgrowth through focal adhesion kinase signaling. *FASEB J* in press.
- 6 Kerever A, Mercier F, Nonaka R, de Vega S, Oda Y, Zalc B, Okada Y, Hattori N, Yamada Y, Arikawa-Hirasawa E. Perlecan is required for FGF-2 signaling in the neural stem cell niche. *Stem Cell Res* 2013, 12: 492-505.
- 7 Nakazawa N, Miyahara K, Okawada M, Yamataka A, Suzuki R, Akazawa C, Tomikawa-Ichikawa N, Arikawa-Hirasawa E. Laminin-1 promotes enteric nervous system development in mouse embryo. *Pediatr Surg Int* 2013, 29: 1205-1208.
- 8 Douet V, Arikawa-Hirasawa E, Mercier F. Fractone-heparan sulfates mediate FGF-2 stimulation of cell proliferation in the adult subventricular zone. *Cell Proliferation* *Cell Prolif* 2013, 46: 137-145.

2 : 学会発表

1. Kerever A, Mercier F, Oda Y and Arikawa-Hirasawa E, Perlecan is necessary for the maintenance of CD133 expressing neural stem cells in the subventricular zone. **ISSCR** 10th Annual Meeting, June 13-16 2013 Yokohama Japan
2. Mercier F, Vanessa Douet, Arikawa-Hirasawa E, Heparan sulfate connective tissue niche for the regulation of stem cell proliferation in the adult brain. **ISSCR** 10th Annual Meeting, June 13-16 2013 Yokohama Japan
3. Nakazawa N, Miyahara K, Okawada M, Liu Y, Akazawa C, Yamataka A, Arikawa-Hirasawa E, Laminin-1 promotes neuronal development in mouse embryonic gut. XXVth International Symposium on Paediatric Surgical Research 21st-22nd September 2012 London UK
4. Arikawa-Hirasawa E, Douet V, Alarcon VB, Kerver A, Mercier F, Fractone niche for neuroepithelial and neural stem cell proliferation: From early brain development to adult subventricular zone. Society for **Neuroscience** annual **meeting 2013** San Diego CA USA
5. Kerver A, Yamada Y, Nonaka R, Mercier F, Arikawa-Hirasawa E. Age-related alteration of extracellular matrix in the subventricular zone of the lateral ventricles. Society for **Neuroscience** annual **meeting 2013** San Diego CA 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

本邦における終板アセチルコリンエステラーゼ欠損症の分子病態

研究分担者：大野欽司¹⁾

共同研究者：中田智彦¹⁾、伊藤美佳子¹⁾、東慶輝¹⁾、大塚健司¹⁾
小牧宏文²⁾、奥村彰久³⁾、白石一浩⁴⁾

- 1) 名古屋大学大学院医学系研究科・神経遺伝情報学
- 2) 国立精神・神経医療研究センター病院・小児神経科
- 3) 順天堂大学医学部小児科
- 4) 国立病院機構宇多野病院小児神経科

研究要旨

本邦終板アセチルコリンエステラーゼ欠損症(endplate AChE deficiency, EAD)3例で同定をした5種類のCOLQ遺伝子変異の解析を行った。AChE分画解析にて2変異(p.R227X, p.V322D)は非対称性AChE分子を作ることができなかった。C末端ドメインの3変異(p.C444Y, p.D447H, p.R452C)はColQのMuSKへの結合を阻害することを明らかにするとともに、変異ColQはColqノックアウトマウス神経筋接合部に係留ができないことを明らかにした。

A：研究目的

終板アセチルコリンエステラーゼ欠損症(endplate AChE deficiency, EAD)は、AChEを終板基底膜に係留をするcollagen QをコードするCOLQ遺伝子の変異によって起きる。本研究の目的は、本邦EAD3症例で同定をした5種類のCOLQ遺伝子変異の分子病態を明らかにすることである。

B：研究方法

(i) COS細胞にヒトACHE遺伝子とヒトCOLQ遺伝子を発現させシヨ糖濃度勾配超遠心によりAChE分子を分画した。(ii) Colqノックアウトマウス筋切片に精製非対称型AChEをオーバーレイし、AChEの神経筋接合部への係留を調べた。(iii) プレートに精製

MuSKを吸着させ精製非対称型AChEをオーバーレイし、AChE活性を測定した。(iv) Colqノックアウトマウスの前脛骨筋に正常COLQならびに変異COLQを*in vivo* electroporationにて導入し、神経筋接合部におけるAChEの発現を調べた。(v) AAV8-COLQ-p.Asp447HisをColqノックアウトマウス尾静脈より導入し神経筋接合部におけるAChEの発現を調べた。

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学医学系研究科、国立精神・神経医療研究センター、順天堂大学医学部、国立病院機構宇多野病院の生命倫理委員会の承認を得た後、患者のインフォームドコンセントを得た上で、関係倫理指針に則り行

った。

C：研究結果

3名のEAD患者において同定をした5種類のCOLQ変異のうち collagen domain の truncation mutations (p.Arg227X)と missense mutation (p.Val322Asp)は、シヨ糖濃度勾配超遠心によるAChE分子分画解析にて正常の非対称性AChE分子を作ることができないことが判明した。p.Cys444Tyr, p.Asp447His, p.Arg452Cysの3種類のCOLQミスセンス変異はいずれもColQ C末端ドメインに存在する。Colqノックアウトマウス筋切片への精製変異非対称型AChEをオーバーレイする *in vitro* overlay 解析にて、3種類のいずれのミスセンス変異も神経筋接合部に係留できなかった。プレートに精製MuSKを吸着させ精製変異非対称型AChEをオーバーレイする *in vitro* plate-binding assayでも3種類のいずれのミスセンス変異もMuSKに結合をできなかった。Colqノックアウトマウスの前脛骨筋に正常COLQを *in vivo* electroporationにて導入したところ、AChEの神経筋接合部における発現を認めた。一方、変異COLQの *in vivo* electroporationではAChEの神経筋接合部における発現を認めなかった。同様に、正常AAV8-COLQのColqノックアウトマウス尾静脈注射にて、すべての神経筋接合部にAChEの発現を認め、運動機能の顕著な改善を認めた。一方、AAV8-COLQ-p.Asp447HisのColqノックアウトマウス尾静脈注射では神経筋接合部におけるAChEの発現を認めず、マウス運動機能改善も認めなかった。

D：考察

ColQ C末端ドメインが筋終板細胞膜のMuSKに結合をすることが2004年に報告を

された(Cartaud et al. *J. Cell Biol.*, 165: 505-515, 2004)が、本研究まで追試は行われていなかった。本研究によりColQ-MuSK結合を検証するとともに、ColQ C末端ドメインの遺伝子変異の分子機構を初めて明らかにすることができた。

E：結論

本邦EADにおけるCOLQ変異の解析にて、ColQ C-terminal domainはMuSKと結合し、変異がColQとMuSKとの結合能を阻害することによりEADを発症することが明らかにした。

F：健康危険情報

特記事項なし。

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

(Original Article)

1. Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K. Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction. *Hum Mutat* 2013, 34: 997-1004.
2. Selcen D, Shen XM, Milone M, Brengman J, Ohno K, Deymeer F, Finkel R, Rowin J, Engel AG. Gfpt1-myasthenia: Clinical, structural, and electrophysiologic heterogeneity. *Neurology* 2013, 81: 370-378.
3. Rahman MA, Masuda A, Ohe K, Ito M, Hutchinson DO, Mayeda A, Engel AG, Ohno K. HnRNP L and hnRNP LL antagonistically modulate PTB-mediated splicing suppression of *CHRNA1* pre-mRNA. *Sci Rep* 2013, 3: 2931.
4. Matsuura T, Nakayama T, Nakamura H, Ohya Y, Kimura T, Imahuku I, Ohno K, Nishino I, Abe K. Clinical and genetic analysis of the first known Asian family with myotonic dystrophy type 2. *J Hum Genet*, in press.
5. 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 β -propeller domain mutations cause novel congenital myasthenia by compromising agrin-mediated MuSK signaling in a position-specific manner. *Hum Mol Genet*, in press.
- 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 MP. A mutation of Kir3.4 is responsible for Andersen-Tawil syndrome by dominant negative effect on Kir2.1. *Neurology*, in press. *Equal contribution.
 - Selcen D, Shen X-M, Milone M, Brengman J, Ohno K, McQuillen M, Deymeer F, Finkel R, Rowin J, Engel AG Investigation of 11 patients with GFPT1-myasthenia reveals clinical, structural, and electrophysiologic heterogeneity
65th American Academy of Neurology (Platform), San Diego, California, USA
Mar 16-23, 2013
 - Ohkawara B, Cabrera M, Nakata T, Milone M, Ito Y, Engel AG, Ohno K Mutations in the third β -propeller domain of LRP4 in congenital myasthenia compromise agrin-mediated MuSK signaling in a position-specific manner
36th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Poster), Kyoto, Japan
Jun 22, 2013

(Reviews and Book Chapters)

- Ohno K, Ito M, Kawakami Y, Krejci E, Engel AG. Specific binding of collagen Q to the neuromuscular junction is exploited to cure congenital myasthenia and to explore bases of myasthenia gravis. *Chem Biol Interact*, 2013, 203: pp 335-340. (査読有)
- Ohe K, Masuda A, Ohno K. Chapter 2: Intronic and exonic nucleotide variations that affect RNA splicing in humans. *Genomics I - Humans, Animals and Plants*. ISBN: 978-1-477554-91-3. iConcept Press, Hong Kong, 2013. (査読有)
- Ohno K, Ito M, Kawakami Y. 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*, Springer, New York, 2013, DOI 10.1007/s12031-013-0170-x, 3 pages (査読有)
- Ohno K, Ohkawara B, Ito M, Engel AG. Molecular Genetics of Congenital Myasthenic Syndromes. eLS. John Wiley & Sons, Inc., Manuscript ID: A24314.R1, in press. (査読有)
- Nakashima H, Ohkawara B, Imagama S, Ito Z, Ishiguro N, Ohno K R-spondin2 is crucial for neuromuscular junction formation
43rd Annual Meeting, Society for Neuroscience (Poster), San Diego, California, USA
Nov 13, 2013
- Ohkawara B, Cabrera M, Nakata T, Shen X, Ito Y, Engel AG, Ohno K Mutations in LRP4 in congenital myasthenia reveal position-specific regulations of agrin and Wnt signaling of LPR4
43rd Annual Meeting, Society for Neuroscience (Poster), San Diego, California, USA
Nov 13, 2013

(Invited Presentation)

- Ohno K
RNA diseases caused by defects in cis-acting elements and trans-acting factors
"Danish-Japanese joint seminar on aberrant RNA splicing in neuromuscular disease",
Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Southern Denmark (SDU), Odense, Denmark
Mar 7, 2013
- Ohno K, Ito M, Kawakami Y, Ohtsuka K, Krejci E.
Collagen Q is a key player for developing

2 : 学会発表

(Poster Presentation)

- Nasrin F, Rahman MA, Ohe K, Masuda A, Ohno K
Alternative RNA splicing regulating the molecular architecture of NMJ
5th NAGOYA Global Retreat (Poster),
Nagoya, Japan
Feb 2, 2013

rational therapy for congenital myasthenia
and for causing anti-MuSK myasthenia
gravis
XIV International Symposium on
Cholinergic Mechanisms, Hangzhou, China
May 5-9, 2013

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

特記事項なし。

日本国内における Danon 病患者の臨床病理学的および遺伝学的検討

研究分担者 杉江 和馬¹⁾²⁾
研究協力者 江浦 信之¹⁾ 上野 聡¹⁾ 西野 一三²⁾

1) 奈良県立医科大学 神経内科
2) 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部

研究要旨

Danon病は稀少な自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）の代表疾患で、ライソゾーム関連膜蛋白2型（LAMP2）の原発性欠損により引き起こされる。病態や発症機序は未解明な部分が多い。今回、全国実態調査を行い、臨床の特徴や合併症、治療状況を明らかにした。集計結果から、Danon病13家系28例（男性16例、女性12例）を確認した。Danon病はX連鎖性優性遺伝で、発症年齢は男性10代、女性30代で、死亡年齢は男性20代、女性40代であった。男性患者ではミオパチー、知的遅滞、心筋症を3主徴とするが、女性では心筋症のみを呈した。男女とも死因は心不全であった。心電図ではWPW症候群が高頻度にみられた。ブロッカーを中心とした投薬加療は多くの症例で行われ、ペースメーカー埋込 6例、心臓移植 1例で施行された。生検筋で筋鞘膜の性質を有する特異な自己貪食空胞（AVSF）がみられた。遺伝子解析では全例でLAMP-2変異を示し、発端者の約1/2がde novo変異であった。本研究で、新規を含めDanon病患者 28例を確認し、本邦で初めてDanon病患者の実態を明らかにした。心筋症は予後を規定する重要な因子であった。今後、Danon病の診療ガイドライン作成を目指す。

A. 研究目的

Danon病は、原因遺伝子としてライソゾーム関連膜蛋白2型（lysosome-associated membrane protein-2: LAMP-2）が2000年に初めて発見され（Nishino I, et al. Nature, 2000）さらに、われわれにより世界に先駆けて初めて臨床病型について報告された（Sugie K, et al. Neurology, 2002）。筋病理学的に筋鞘膜の性質を有する極めて特異な自己貪食空胞（AVSF: autophagic vacuoles with sarco-

lemmal features）を特徴とする稀少な筋疾患である。

この疾患特異性の高いAVSFを有する筋疾患をわれわれは自己貪食空胞性ミオパチー（AVM）として、臨床病態について研究してきた。AVMのもう一つの代表疾患であるXMEA（過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー: X-linked myopathy with excessive autophagy）は、近年、原因遺伝子としてライソゾーム内蛋白であるVMA21が同定さ

れた。その他、AVSFは、乳児型AVM、多臓器障害を伴う成人型AVM (Kaneda D, Sugie K, et al. Neurology, 2003)、X連鎖性先天性AVM (Yan C, Sugie K, et al. Neurology, 2005) にも認められる。

われわれは、平成21年度に、厚生労働科学研究費補助金「自己貪食空胞性ミオパチー研究」班 (研究代表者 杉江和馬) の研究助成を得て、Danon病、XMEAを含めたAVMの診断基準を世界で初めて作成した。平成22 - 23年度は、われわれが作成した診断基準を踏まえて、専門医や関連施設を通じて全国でのAVM患者の実態について疫学調査を行った。

平成24年度、本研究班において、AVMの全国調査の集計結果を精査し、本疾患の臨床的特徴について解析した。今回、平成25年度は、Danon病の新規患者を見出し、本邦でのDanon病患者の臨床的および筋病理学的、遺伝学的特徴を解析した。

B. 研究方法

平成21年度にAVM研究班で作成したDanon病の診断基準を踏まえ、平成22 - 24年度に日本神経学会 (735施設)、日本循環器学会 (1,265施設)、日本小児神経学会 (479施設)、日本小児循環器学会 (138施設) の合計 2,617の各学会の専門医施設に本邦での実態調査を行い、Danon病が疑われる一部の症例では、ダイレクトシーケンス法によるLAMP-2遺伝子解析を実施した。その集計結果を整理し、臨床的特徴や合併症について見出した。今年度は、新規患者を含め、臨床情報の整理と生検筋での筋病理学的特徴を解析した。

(倫理面への配慮)

AVM患者において行われた筋病理学的解析、遺伝子解析および臨床病態解析は、臨床研究および遺伝子研究に関する倫理指針、さらに当該研究施設で定めた倫理規程を遵守して、同施設倫理委員会で承認された説明書を用いて、臨床情報および生検筋の研究利用について十分な説明の上、所定の同意書に署名をしていただいて、研究を遂行した。

C. 研究結果

全国47都道府県の合計2,617施設のうち、1,409施設から回答を得た (回収率 54%)。全アンケートを集計した結果、Danon病は、12家系27例を確認した。今年度に新たに15歳女性患者1家系1例を見出し、本邦でのDanon病患者は、13家系28例 (男性患者16例、女性患者12例) となった。

Danon病はX連鎖性優性遺伝で、男性患者ではミオパチー、知的遅滞、心筋症を3主徴とするが、女性では心筋症のみを呈した。男性患者13例を集計した結果、ミオパチーと心筋症は全例に認められ、知的遅滞は6例 (46%) にみられた。心筋症のうち、肥大型心筋症が 10例 (77%)、拡張型が 2例 (15%)、混合型が 1例 (8%) であった。心電図ではWPW症候群が高頻度に見られ、その他異常Q波、AVブロックを認めた。合併症として、網膜症や肝腫大、低身長、pes cavusを呈する患者がみられた。発症年齢は男性10代、女性30代で、平均死亡年齢は男性20代、女性40代で、死因は心不全であった。治療として、βブロッカーを中心とした投薬加療が多く、6例でペースメーカー埋込、1例で根治療法である心臓移植が施行され

ていた。遺伝子解析ではLAMP-2変異を示し、発端者の約1/2がde novo変異であった。

筋病理学的解析から、AVMの診断に生検筋での特徴的な自己貪食空胞：AVSFの筋病理所見は必要不可欠である。また、AVMのもう一つの重要な所見として、筋細胞膜の重層化が挙げられる。但し、本所見はDanon病では認めることはなく、Danon病以外のXMEAや先天性AVMなどで特徴的に認めることから、Danon病と他の臨床病型を区別する重要な所見と考えられる。

D. 考察

Danon病は超希少な筋疾患で、これまで病態や病因について未解明で、本邦でのDanon病患者の実態についても不明であった。このため、平成21年度に、Danon病の疾患概念の確立のため、われわれは世界で初めて診断基準を作成した。そして、平成22 - 24年度に、本邦での実態を明らかにするため、本診断基準を踏まえて、専門医や関連施設を通じて本邦での初めての疫学調査を行い、患者数や臨床症状の多様性の実態把握に努めた。今年度は、新たなDanon病患者を見出し、集計結果を精査した。

Danon病の診断基準を確立し、治療法の開発を目指すことは、今後のDanon病患者の診療において大きな意義がある。正確な診断と現状で最適な治療を行うために、各臨床病型の詳細な分類や診断基準項目の選定を行い、感度・特異度のより高い診断基準の確立は必要不可欠である。今年度、当研究班において、Danon病の診断基準を再精査し、一部修正を行った。

今回明らかとなった現在施行されている治療法について再検討を行い、将来の治療

法開発に向けての研究が必要である。そして、現状で最適な治療法を確立して診療ガイドライン策定が求められる。さらに、共通する分子病態の解明から根本治療への手掛かりを発見し、治療への道筋の構築を目指す。加えて、超稀少疾患といえる本疾患の病態解析や今後の治験の実現を考えるためには、日本国内の連携のみならず、海外と連携した臨床遺伝学的検討とデータベース構築が必要である。

E. 結論

Danon病の臨床病理学および遺伝学的解析を行い、世界で初めて診断基準を作成した。本邦で初めてDanon病患者の実態を調査し、新規を含め患者28例を確認した。心筋症は予後を規定する重要な因子であった。Danon病は超稀少疾患であり、今後、診療ガイドライン作成を目指す。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

一の臨床病理学的検討．第 54 回日本
神経学会総会、東京、2013 年 5 月．

1. 論文発表

- 1) Sato T, Hayashi YK, Oya Y, Kondo T, Sugie K, Kaneda D, Houzen H, Yabe I, Sasaki H, Noguchi S, Nonaka I, Osawa M, Nishino I. DNAJB6 myopathy in an Asian cohort and cytoplasmic/nuclear inclusions. *Neuromuscul Disord*, 2013; 23(3): 269-276.
- 2) Kataoka H, Saeki K, Kobayashi Y, Kiriyama T, Sugie K, Ueno S. Predictors of outcomes in acyclovir-treated limbic encephalitis. *J Infect*, 2013; 66(2): 201-205.
- 3) 杉江和馬．ライソゾーム膜の異常：ダノン病．神経症候群 III（第 2 版） - その他の神経疾患を含めて - ．日本臨床 2014 年．（印刷中）

2. 学会発表

- 1) Sugie K, Eura N, Kobayashi Y, Sawa N, Ueno S. Clinicopathological and neuroradiological features of myopathy associated with antibodies to signal recognition particle (SRP). The 12th European Congress of Internal Medicine, Prague, Czech, October 2-5, 2013.
- 2) 杉江和馬、江浦信之、小林恭代、澤 信宏、形岡博史、上野 聡．抗 SRP 抗体陽性ミオパチーの臨床病理学のおよび神経放射線学的検討．第 54 回日本神経学会総会、東京、2013 年 5 月．
- 3) 江浦信之、杉江和馬、小林信彦、正畠良悟、桐山敬生、上野 聡．モルフェア（限局性強皮症）を伴ったミオパチ

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Mori-Yoshimura M, Oya Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M	Respiratory dysfunction in patients severely affected by GNE myopathy (distal myopathy with rimmed vacuoles).	Neuromuscul Disord	23(1)	84-88	2013
Nalini A, Gayathri N, Nishino I, Hayashi YK	GNE myopathy in India.	Neurol India	61(4)	371-374	2013
Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I	Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy.	J Neurol Neurosurg Psychiatry.	84(9)	982-988	2013
Cho A, Hayashi YK, Monma K, Oya Y, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I	Mutation profile of the <i>GNE</i> gene in Japanese patients with distal myopathy with rimmed vacuoles (GNE myopathy).	J Neurol Neurosurg Psychiatry.	[Epub]		2013
Murakami N, Hayashi YK, Oto Y, Shiraishi M, Itabashi H, Kudo K, Nishino I, Nonaka I, Nagai T	Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood.	Neuromuscul Disord.	23(5)	441-444	2013

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Gupta VA, et al.	Identification of KLHL41 Mutations Implicates BTB-Kelch-Mediated Ubiquitination as an Alternate Pathway to Myofibrillar Disruption in Nemaline Myopathy.	Am J Hum Genet	93・6	1108-1117	2013
Motoki T, et al.	Fatal hepatic hemorrhage by peliosis hepatis in X-linked myotubular myopathy: A case report.	Neuromuscul Disord	23・11	917-921	2013
Matsuura T, et al.	Exome sequencing as a diagnostic tool to identify a causal mutation in genetically highly heterogeneous limb-girdle muscular dystrophy.	J Hum Genet	58・8	546-565	2013
Liang WC, et al.	Limb-girdle muscular dystrophy type 2I is not rare in Taiwan.	Neuromuscul Disord.	23・8	675-681	2013
Ravenscroft G, et al.	Mutations in KLHL40 Are a Frequent Cause of Severe Autosomal-Recessive Nemaline Myopathy.	Am J Hum Genet	93・1	6-18	2013
Murakami N, et al.	Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood.	Neuromuscul Disord	23・5	441-444	2013

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
須藤 章、他	<i>ACTA1</i> 遺伝子変異を有する重症乳児型ネマリンミオパチーの兄弟例 .	脳と発達	45・6	452-456	2013
林 由起子	Myofibrillar myopathy	臨床神経学	53・11	1105-1108	2013
Nakamura H, Kimura E, Mori-Yoshimura M, Komaki H, Matsuda Y, Goto K, Hayashi YK, Nishino I, Takeda SI, Kawai M.	Characteristics of Japanese Duchenne and Becker muscular dystrophy patients in a novel Japanese national registry of muscular dystrophy (Remudy).	Orphanet J Rare Dis.	8(1)	60	2013
Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I.	Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy.	J Neurol Neurosurg Psychiatry.	84	982-988	2013

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K.	Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction.	Hum Mutat.	34	997-1004	2013
Yonekawa T, Komaki H, Saito Y, Takashima H, Sasaki M.	Congenital hypomyelinating neuropathy attributable to a de novo p.Asp61Asn mutation of the myelin protein zero gene.	Pediatr Neurol.	48	59-62	2013
Takeuchi F, Yonemoto N, Nakamura H, Shimizu R, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Nishino I, Kawai M, Kimura E, Takeda S.	Prednisolone improves walking in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients.	J Neurol.	In press		

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
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 MP.	A Kir3.4 mutation causes Andersen–Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1.	Neurology	印刷中		2014
Koebis M, Kiyatake T, Yamaura H, Nagano K, Higashihara M, Sonoo M, Hayashi Y, Negishi Y, Endo-Takahashi Y, Yanagihara D, Matsuda R, Takahashi MP, Nishino I, Ishiura S.	Ultrasound-enhanced delivery of Morpholino with Bubble liposomes ameliorates the myotonia of myotonic dystrophy model mice.	Sci Rep.	3	2242	2013
Oana K, Oma Y, Suo S, Takahashi MP, Nishino I, Takeda S, Ishiura S.	Manumycin A corrects aberrant splicing of Clcn1 in myotonic dystrophy type 1 (DM1) mice.	Sci Rep.	3	2142	2013
久保田智哉、高橋正紀	骨格筋チャネル病の最新知見—ミオトニー症候群と周期性四肢麻痺を中心に	医学のあゆみ	245・9	732-739	2013
高橋正紀	周期性四肢麻痺	今日の診断指針	印刷中		

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Ning R de Vega S, Kurihara H, Ichikawa-Tomikawa N, Xu Z, Nonaka R, Yamada Y, Miner J, Arikawa-Hirasawa E.	Laminin $\alpha 1$ regulates age-related mesangial cell proliferation and mesangial matrix accumulation through the TGF β pathway.	Am J Pathol	in press.		2013
Furuya N, Ikeda SI, Sato S, Soma S, Ezaki J, Trejo JA, Takeda-Ezaki M, Fujimura T, Arikawa-Hirasawa E, Tada N, Komatsu M, Tanaka K, Kominami E, Hattori N, Ueno T.	PARK2/Parkin-mediated mitochondrial clearance contributes to proteasome activation during slow-twitch muscle atrophy via NFE2L1 nuclear translocation.	Autophagy	in press.		2013
Kerever A, Mercier F, Nonaka R, de Vega S, Oda Y, Zalc B, Okada Y, Hattori N, Yamada Y, Arikawa-Hirasawa,	Perlecan is required for FGF-2 signaling in the neural stem cell niche.	Stem Cell Res	121	492-505	2013

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Douet V, Arikawa-Hirasawa E, Mercier F	Fractone-heparan sulfates mediate FGF-2 stimulation of cell proliferation in the adult subventricular zone	Cell Prolif	46	137-145	2013
Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K.	Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction	Hum Mutat	34	997-1004	2013
Selcen D, Shen XM, Milone M, Brengman J, Ohno K, Deymeer F, Finkel R, Rowin J, Engel AG.	Gfpt1-myasthenia: Clinical, structural, and electrophysiologic heterogeneity	Neurology	81	370-378	2013
Fujioka Y, Ishigaki S, Masuda A, Iguchi Y, Udagawa T, Watanabe H, Katsuno M, Ohno K, Sobue G.	FUS-regulated region- and cell-type-specific transcriptome is associated with cell selectivity in ALS/FTLD	Sci Rep	3	2388	2013

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Rahman MA, Masuda A, Ohe K, Ito M, Hutchinson DO, Mayeda A, Engel AG, Ohno K.	HnRNP L and hnRNP LL antagonistically modulate PTB-mediated splicing suppression of CHRNA1 pre-mRNA	Sci Rep	3	2931	2013
Ohno K, Ito M, Kawakami Y, Krejci E, Engel AG.	Specific binding of collagen Q to the neuromuscular junction is exploited to cure congenital myasthenia and to explore bases of myasthenia gravis	Chem Biol Interact	203	pp 335-340 (査読有)	2013
Ohno K, Ito M, Kawakami Y.	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, Springer, New York		DOI 10.1007 /s12031 -013-01 70-x, 3 pages (査読有)	2013
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 β -propeller domain mutations cause novel congenital myasthenia by compromising agrin-mediated MuSK signaling in a position-specific manner	Hum Mol Genet		in press	
Ohno K, Ohkawara B, Ito M, Engel AG.	Molecular Genetics of Congenital Myasthenic Syndromes	eLS. John Wiley & Sons, Inc.		in press (査読有)	

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Sato T, Hayashi YK, Oya Y, Kondo T, Sugie K, Kaneda D, Houzen H, Yabe I, Sasaki H, Noguchi S, Nonaka I, Osawa M, Nishino I.	DNAJB6 myopathy in an Asian cohort and cytoplasmic/nuclear inclusions.	Neuromuscul Disord.	23(3)	269-276	2013
Kataoka H, Saeki K, Kobayashi Y, Kiriyaama T, Sugie K, Ueno S.	Predictors of outcomes in acyclovir-treated limbic encephalitis.	J Infect	66(2)	201-205	2013
杉江和馬 .	ライソゾーム膜の異常：ダノン病 . 神経症候群 III (第 2 版) - その他の神経疾患を含めて - .	別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ	28	印刷中	2014
Yamashita S, Kimura E, Tawara N, et al.	Optineurin is potentially associated with TDP-43 and involved in the pathogenesis of inclusion body myositis.	Neuropathol Appl Neurobiol.	39 (4)	406-416	2013
Uchino M, Yamashita S, Uchino K, et al.	Muscle biopsy findings predictive of malignancy in rare infiltrative dermatomyositis.	Clin Neurol Neurosurg.	115 (5)	603-606	2013

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Tanaka A, Woltjen K, Miyake K, et al.	Efficient and Reproducible Myogenic Differentiation from Human iPS Cells: Prospects for Modeling Miyoshi Myopathy In Vitro.	PLoS One	8 (4)	e61540	2013
Mori-Yoshimura M, Momma K, Suzuki N, et al.	Heterozygous UDP-GlcNAc 2-epimerase and N-acetylmannosamine kinase domain mutations in the GNE gene result in a less severe GNE myopathy phenotype compared to homozygous N-acetylmannosamine kinase domain mutations	Journal of the Neurological Sciences	318(1-2)	100-105	2012
Nakamura S, Kaneko S, Shinde A, Morita J, Fujita K, Nakano S, Kusaka H.	Prednisolone-sparing effect of cyclosporin A therapy for very elderly patients with myasthenia gravis.	Neuromuscul Disord.	23(2)	176-179	2013
Nakamura M, Kaneko S, Ito H, Jiang S, Fujita K, Wate R, Nakano S, Fujisawa J, Kusaka H.	Activation of transforming growth factor- β /Smad signaling reduces aggregate formation of mislocalized TAR DNA-binding protein-43.	Neurodegener Dis.	11(4)	182-193	2013

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
中野 智	先天性ミオトニー	今日の神経疾患治療指針 第2版 水澤英洋、鈴木側宏、梶龍兒 他編集	医学書院、東京	786-788	2013
中野 智	11. 筋疾患	わかりやすい内科学 第4版 井村裕夫 他編集	文光堂、東京	646-653	2014