

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 24 年度～25 年度 総合研究報告書

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

・ 総合研究報告書

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

(資料) 診断基準

・ 分担研究報告書

1. HCV 感染に合併した封入体筋炎の臨床・病理学的検討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・表現型相関

-----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 -----39

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

3. 先天性ミオパチー (臨床医学的研究) -----46

国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科 小牧 宏文

4. 筋チャネル病の遺伝子解析および病態解析 -----51

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 -----58

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 -----63

名古屋大学 医学系研究科 神経遺伝情報学 大野欽司

7. 自己貪食空胞性ミオパチーの診断基準確立と診療ガイドライン作成のための研究

-----68

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 -----73

・ 研究成果に関する刊行物 -----95

「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

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）
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）

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「チャネル病」と総称される疾患に含まれる。これら **骨格筋チャネル病**は、疾患として気づかれていない軽症例から、筋萎縮・筋力低下を呈する重症例までである。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ニ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

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、疫学研究的倫理指針(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 チャン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。

線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、機能解析によりパー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 の骨格筋レポジトリ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. 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, Wakayama 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. *Neuromuscul 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 hypomyelinating 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 associat

- ed 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 with 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 A, 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 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 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 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 s

- 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, Asilomar, 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 myology 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 GFPT1 during myogenesis and NMJ formation. The 11th Annual Scientific Meeting

- ing 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.

G. 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* (眼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、歴史的にいくつか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、嚥下・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

ほぼ確実に

を認める

確実に

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、内在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チャンネル 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チャンネル 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)発作を呈する

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)

繰り返しの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

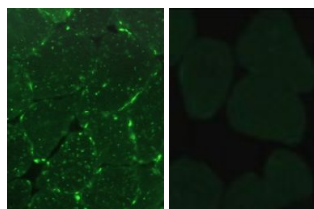
		先天性ミオトニー		カリウム惹起性ミオトニー (Na チャネルミオトニー) PAM	先天性パラミオトニー - PMC	高カリウム性周期性四肢麻痺 HyperPP	低カリウム性周期性四肢麻痺 HypoPP
		Thomsen	Becker				
原因遺伝子		CLCN1		SCN4A			CACNA1S SCN4A
遺伝様式		AD	AR	AD			AD
発症年齢		数～10歳	数～20歳	0～10歳	数～10歳	数～10歳	5～20歳
麻痺発作	有無	なし	±	なし	あり	あり	あり
	発作時間		一過性		数十分～数時間	数十分～数時間	数時間～数日
臨床的ミオトニー	程度	軽度～中等度	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

(M IM # 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)
- 肥大型または拡張型心筋症
 - 進行性の筋力低下および筋萎縮
(以下は参考所見)
 - X連鎖性優性遺伝または孤発性
 - 発症年齢は、男性は 10 歳代から、女性は 30 歳代からが多い
 - 知的遅滞を伴うことが多い。
 - 血清 CK 値は、正常から軽度高値 (1,000 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, d 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
(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)
 - (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)
- 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)
 - 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

自己貪食空胞性ミオパチー（ダノン病、過剰自己貪食を伴う 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**）

過剰自己貪食を伴う 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**）

HCV 感染に合併した封入体筋炎の臨床・病理学的検討 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・表現型相関

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

封入体筋炎 (IBM) は C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染に合併することがある。国立精神・神経医療研究センター (当施設) 凍結生検筋レポジトリーにおいて、IBM 例に占める HCV 既感染例の割合や、既感染 IBM と非感染 IBM の臨床・病理学的差異を明らかにするため研究を行った。ベスレムミオパチー (BM) は未診断例が多いと考えられる。当施設凍結生検筋レポジトリーにおいて、西野班 BM 診断基準を満たす BM 例を抽出し、未診断例の掘り起しに役立つ臨床病理情報を明らかにするため研究を行った。縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (GNE ミオパチー) 患者は、本邦に 200-300 人存在すると推定される。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ため研究を行った。

IBM と病理学的に診断した 137 例中 33 例 (24.1%) が HCV 抗体陽性であった (HCV 既感染群)。既感染群と非感染群との間に臨床・病理学的な差はなかった。BM6 家系 30 名の臨床情報、骨格筋 VI 型コラーゲン免疫染色、COL6A1、COL6A2、COL6A3 遺伝子変異を解析した。BM 例の多くは幼少期に発症し、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。免疫染色は 4 家系で SSCD であった。ヘテロ接合性変異が 5 家系に認められた。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。

IBM 例に占める HCV 既感染率は、同齢の本邦一般人口や多発筋炎患者の既感染率より有意に高い。足関節の尖足位拘縮は、BM を疑う特徴的症状であるとともに、筋力低下よりも早期に顕在化する。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。p.V572L 変異は本邦 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。このことは、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) 封入体筋炎

封入体筋炎（IBM）がC型肝炎ウイルス（HCV）感染症に合併することは本邦ではよく知られているが、実態は十分に把握されていない。本研究では、封入体筋炎患者におけるHCV感染頻度や、HCV既感染IBM患者の臨床・病理学的特徴を明らかにすることを目的とした。

2) 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。

3) 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) IBM

2002年5月から2012年4月に当施設凍結生検筋レポジトリーに登録された症例から、単核球による非壊死線維への侵入と縁取り空胞を呈するものをIBM症例として抽出した。臨床情報に基づいてHCV既感染、非感染例に分け、2群間で男女比、IBM発症年齢、CK値、凍結筋標本の1切片あたりの縁取り空胞を有する筋線維数の割合、赤色ばら線維数の割合を比較した。

2) 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。

3) 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) IBM

当施設凍結生検筋レポジトリ登録症例から 137 例の IBM を抽出した。137 例中 33 例(24.1%)が HCV 抗体陽性であった(既感染群)。抗体陰性は 104 例であった(非感染群)。

男女比は、既感染群 1:0.8、非感染群 1:0.7 であり、両群間に差はなかった。平均発症年齢は、既感染群 66.6 ± 8.0 歳、非感染群が 64.1 ± 8.6 歳で、両群間に差はなかった。CK 値は、既感染群中央値 404(範囲 84-3085) IU/L、非感染群中央値 495(96-2400) IU/L であり、非感染群で高い傾向があった ($p=0.056$)。

縁取り空胞を有する筋線維数の割合は、既感染群 1.6 (0.2-8.1) %、非感染群 2.2 (0.2-23.6) % であり、両群間に有意な差はなかった。赤色ぼろ線維数の割合も、既感染群 0.5 (0.1-5.7) %、非感染群で 0.4 (0-4.8) % とほぼ同等であった ($p=0.058$)。

HCV 感染症に対するインターフェロン治療後に IBM を発症したとする病歴記載が 5 例あった。

2) ベスレムミオパチー

[6 家系、30 名の内分け]

家系 1 には 8 名の患者があり、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 名の患者があり、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 名の患者があり、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 名の患者があり、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。

3) 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相関していた。次に、p.D176V 変異が 95 アレル(22.4%)を占め多かった。

D：考察

1) IBM

IBM 症例に占める HCV 抗体陽性率 24.1%は、本邦一般人口の HCV 既感染率 3.4% (60 代、2000 年時点、厚生労働省・C

型肝炎について、一般的な Q&A 改訂第 6 版) に比し高頻度であった。また、当施設凍結生検筋レポジトリーにおいて同時期に登録された多発筋炎同齡患者の HCV 既感染率 (3.7%、2 / 54 例) に比し有意に高い割合であった ($p < 0.01$)。

解析した限りにおいて、HCV 既感染群と非感染群との間に臨床・病理学的な差異は認められなかった。これは、HCV が HCV 非感染 IBM と異なる特殊な病態を生じさせているのではなく、IBM 病態の誘発因子として作用している可能性を示唆している。また、この結果は IBM の基礎研究のなかで、HCV を何らかの形で実験ツールとして活用できる可能性を想起させる。

インターフェロン治療後に IBM を発症した 5 例は注目すべきである。病歴に記載されていない場合もあると思われる。このような症例の実数把握とともに、インターフェロン治療が真に IBM 発症の危険因子であるか否かを検討する必要がある。

さらに、本研究において解析した臨床情報では患者の診断後の経過は不明である。HCV 既感染群と非感染群の間に進行速度や治療反応性などの違いがないかも明らかにする必要がある。

2) 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。

3) 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相関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理由の一つかも知れない。

E: 結論

IBM 患者における HCV 既感染率は 24.1% と高い。解析した限りにおいて、HCV 既感染群と非感染群との間に臨床・病理学的な差異は認められなかった。

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 をみることがあり、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

Ramachandran N, Munteanu I, Wang P, Ruggieri A, Rilstone JJ, Israelian N, Naranian T, Paroutis P, Guo R, Ren ZP, Nishino I, Chabrol B, Pellissier JF, Minetti C, Udd B, Fardeau M, Taylor CS, Mahuran DJ, Kissel JT, Kalimo H, Levy N, Manolson MF, Ackerley CA, Minassian BA: VMA21 deficiency prevents vacuolar ATPase assembly and causes autophagic vacuolar myopathy. *Acta Neuropathol.* [Epub 2013 Jan] 125(3): 439-457, 2013

Furuta A, Wakabayashi K, Haratake J, Kikuchi H, Kabuta T, Mori F, Tokonami F, Katsumi Y, Tanioka F, Uchiyama Y, Nishino I, Wada K: Lysosomal storage and advanced senescence in the brain of LAMP-2 deficient Danon Disease. *Acta Neuropathol.* [Epub 2012 Dec] 125(3): 459-461, 2013

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, Asilomar, 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の頻度、病因、診断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臨床病理学的解析
全国の病院から筋病理診断を依頼されたヒト凍結骨格筋組織約1万3千検体を有する(独)国立精神・神経医療研究センター(NCNP)骨格筋レポジトリに保存されている先天性ミオパチー症例について、病型の明らかである先天性ミオパチーと分類不能の先天性ミオパチー患者各々の数を明らかにすることにより、本邦における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「ヒトゲノム解析研究に関する共通指針」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) 先天性ミオパチーの病型頻度

NCNP 骨格筋レポジトリー約 13,000 検体のデータを分析し、各病型頻度を推計した。その結果、先天性ミオパチー全体の数は Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) とほぼ同数であった。ネマリンミ

オパチーが最も多く 26% を占め、次いで中心核ミオパチー、先天性筋線維タイプ不均等症、セントラルコア病の順で、分類不能のものも 31% 認められた。

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

先天性ミオパチーは、DMD とほぼ同じ患者数そんざいし、比較的頻度の高い筋疾患である事が明らかとなった。そのうち最も頻度の高いネマリンミオパチーについては、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

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, Jong YJ: 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
- Keduka E, Hayashi YK, Shalaby S, Mitsuhashi H, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: *In Vivo* Characterization of Mutant Myotilins. *Am J Pathol.* 180(4): 1570-1580, Apr, 2012.
 - Tsuburaya RS, Monma K, Oya Y, Nakayama T, Fukuda T, Sugie H, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Acid phosphatase-positive globular inclusions is a good diagnostic marker for two patients with adult-onset Pompe disease lacking disease specific pathology. *Neuromuscul Disord.* 22(5): 389-393, May, 2012.
 - Suzuki S, Hayashi YK, Kuwana M, Tsuburaya R, Suzuki N, Nishino I: Myopathy associated with antibodies to signal recognition particle: disease progression and neurological outcome. *Arch Neurol.* 69(6): 2012
 - 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, 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
 - Kajino S, Hayashi YK, Ishigaki K, Nonaka I, Osawa M, Nishino I: Fiber type disproportion caused by LMNA mutations. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
 - Noju A, Suzuki M, Ogata K, Yatabe K, Honma Y, Ishihara T, Hayashi YK, Nishino I, Nonaka I, Tamura T, Kawai M: Adult-onset centronuclear myopathy with dynamin 2 (DNM2)

- mutation. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
- Takata M, Suzuki M, Ogata K, Yatabe K, Shigeyama T, Honma Y, Hayashi YK, Nishino I, Nonaka I, Tamura T, Kawai M: Myopathy with tubular aggregates associated with miosis and ophthalmoplegia: a new disease? The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
 - Ishiyama A, Hayashi YK, Kajino S, Komaki H, 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 Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
 - Endo Y, Komaki H, Sasaki M, Nonaka I, Hayashi YK, Nishino I: Familial cases of progressive muscle weakness with rigid spine syndrome. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
 - Uruha A, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: A 19-year old lady with progressive muscle weakness and atrophy. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center. Kyoto, 6.6-6.8, 2012
 - Hayashi YK: Japanese family phenotypes. NEMALINE MYOPATHY SATELLITE WORKSHOP. Perth, Australia, 10.14, 2012
 - 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 Congress of the World Muscle Society. Perth, Australia, 10.9-10.13, 2012
 - Kajino S, Hayashi YK, Ishigaki K, Nonaka I, Osawa M, Nishino I: Fiber type disproportion caused by LMNA mutations. 17th International Congress of the World Muscle Society. Perth, Australia, 10.9-10.13, 2012
 - 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
 - 岡崎哲也，小牧宏文，石山昭彦，鋤柄小百合，藤井克則，齋藤貴志，斎藤義朗，中川栄二，須貝研司，佐々木征行，林由起子，西野一三：幼児期発症の遠位型ミオパチーの2例 . 第54回日本小児神経学会総会，札幌，5.18，2012
 - 梶野幸子，林由起子，石垣景子，埜中征哉，大澤真木子，西野一三：筋線維タイプ不均等症を呈する LMNA 遺伝子変異例の検討 . 第 54 回日本小児神経学会総会，札幌，5.18，2012

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、単施設から 56 例の骨格筋画像を臨床、検査所見とあわせて登録し、各病型の骨格筋画像データシート作成を行った。複数施設からの症例蓄積へと発展させ、臨床的特徴をより明確とし診断基準作成へとすすめ、臨床管理上での問題点を明らかにしていく。

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。病型が複数にわたり病型ごとに臨床症状が異なること、病型ごとに複数の原因遺伝子の存在が知られており、さらに原因不明である例も多いため、診断基準やガイドライン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、診断や臨床管理上での問題点を明らかにし、診断基準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の選択性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。診断基準作成を目指すにあたり、より客観的な評価法・所見である骨格筋画像に着目し、臨床所見、検査所見、筋病理所見、分子遺伝学的解析との統合から、診断基準作成にあたり必要かつ適正な項目を検討していく。

B：研究方法

全国の診療施設の協力をあおぎ多数の画像症例や臨床情報データの収集を行うため、

(独)国立精神・神経医療研究センターの脳病態統合イメージングセンターが開発・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、倫理委員会への申請を行い、承認を得たうえで登録システムを確立した。骨格筋画像登録とともに、臨床、検査、病理、分子遺伝学的解析結果などを記入するデータシート作成を行った。

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。罹患筋の選択性と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で承認された所定の承諾書を用いて、患者あるいはその親権者から遺伝子解析を含む研究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参考ツールとしての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、病型分類に適切かは、更なる

検討をすすめる必要がある。

骨格筋画像の登録は、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、適正な診断基準の作成への有用な手がかりになると考える。

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.

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.* 2013 Apr 9. [Epub ahead of print]

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.

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.

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.

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.

2 : 学会発表

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.

Akihiko Ishiyama; Yukiko Hayashi;

Sachiko Kajino; Hirofumi Komaki; Takashi Saito; Yoshiaki Saito; Eiji Nakagawa; Kenji Sugai; Masayuki Sasaki; Satoru Noguchi, Ikuya Nonaka; Ichizo Nishino: 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.

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

筋チャンネル病の遺伝子解析および病態解析

研究分担者：高橋 正紀¹⁾

共同研究者：古田 充¹⁾、穀内洋介¹⁾、久保田智哉¹⁾、中森雅之¹⁾、
松浦 徹²⁾、木下正信³⁾、佐々木良元⁴⁾、大野欽司⁵⁾、

1) 大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学

2) 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 脳神経内科学

3) 首都大学東京 健康福祉学部

4) 三重大学医学部附属病院 神経内科

5) 名古屋大学大学院 医学系研究科 神経遺伝情報学

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。全国から依頼された症例について遺伝子解析を行った。未報告の変異については、真に疾患変異であることを証明し病態を理解するため、チャンネル機能の電気生理学的解析を行い、コンピューターシミュレーションにより症状との関連を検討した。さらに、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ことから、周期性四肢麻痺について、次世代シーケンサによる解析を行い、新規原因遺伝子（Kir3.4 サブユニットをコードする *KCNJ5* 遺伝子）を同定した。また、iPS 細胞を用いた病態研究・治療薬スクリーニングを目指すため、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に、患者検体を提供した。

A：研究目的

骨格筋の電氣的興奮・収縮などに不可欠なイオンチャン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。

iPS細胞を用いた病態研究・治療薬スクリーニングを目指すため、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「疾患特異的 iPS 細胞を活用した筋骨格系難病研究」班に、患者検体を提供し、疾患特異的 iPS 細胞樹立を行うことも目的とした。

B：研究方法

遺伝子および電気生理による診断確定

全国から共同研究として依頼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) についてサンガシーケンサ解析を施行した。報告のない変異が見つかった場合には、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した。

新たな原因遺伝子の探索

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、次世代シーケンサによるエクソーム解析を行い、原因遺伝子の同定を試みた。具体的には、Sure Select 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 (大野欽司班員による)。

見出された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。

疾患特異的 iPS 細胞樹立のための試料提供

低カリウム性周期性四肢麻痺および筋チャンネル病の関連疾患である筋強直性ジストロフィーについて、患者由来線維芽細胞から iPS 細胞の樹立を、国立精神神経医療研究センター 神経研究所 荒木敏之部長のもとで行った。

(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

「筋疾患患者からの人工多能性幹細胞(iPS 細

胞)樹立とそれを用いた病態解析・治療探索」 大阪大学医学部倫理審査委員会 2011年9月5日承認

「神経疾患患者からの iPS 細胞の樹立とそれを用いた疾患解析に関する研究」 大阪大学医学部倫理審査委員会 2012年4月25日承認

C: 研究結果

遺伝子診断および診断基準改訂

平成 24-25 年度の 2 年間の間に、大阪大学のみに 30 例以上の遺伝子解析を行った。

CLCN1 複合ヘテロ変異により重症化したトムゼン型先天性筋強直症（優性遺伝性）や *SCN4A*, *CLCN1* の両方に新規変異が見出された、高カリウム性周期性四肢麻痺疑い例、その他新規変異など、貴重な症例が多く見出された。研究協力者の三重大学 佐々木良元助教のもとでも遺伝子解析を行い、情報交換するとともに、両者の遺伝子変異リストを Web へ公開するなど、情報発信に努めた。

さらに、前身の「筋チャンネル病および関連疾患の診断・治療指針作成および新規治療法開発に向けた基盤整備のための研究班」によって作成された診断基準の改訂を行い、日本神経学会の承認を得た（2013年4月15日）。この診断基準も Web へ公開し、情報発信に努めた。

新たな原因遺伝子の探索

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HORT における *KCNJ2* 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。

疾患特異的 iPS 細胞樹立のための試料提供

低カリウム性周期性四肢麻痺および筋強直性ジストロフィーについて、患者由来線維芽細胞から iPS 細胞の樹立を、国立精神神経医療研究センター 神経研究所 荒木敏之部長のもとで行った。すでに分化細胞を用いた RNA などの解析を開始している。

D: 考察

チャン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。

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、*KCNJ5* は周期性四肢麻痺の新たな原因遺伝子と考えられた。Andersen-Tawil 症候群の原因遺伝子が構成する 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。

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「疾患特異的 iPS 細胞を活用した筋骨格系難病研究」班との連携が進んでいくことも特筆すべき成果であると考えられる。今後、薬剤スクリーニング系等の構築に活用することが期待される。

E : 結論

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、一部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が、その過程で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。また、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との共同により、今後の創薬研究につながる疾患特異的 iPS 細胞の樹立に寄与することができた。

F : 健康危険情報

なし

G : 研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

1 : 論文発表

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.

Suenaga K, Lee KY, Nakamori M, Tatsumi Y, Takahashi MP, Fujimura H, Jinnai K, Yoshikawa H, Du H, Ares M Jr, Swanson MS, Kimura T. Muscleblind-like 1 knockout mice reveal novel splicing defects in the myotonic dystrophy brain. *PLoS One.* 2012;7(3):e33218.

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.

Charizanis K, Lee K-Y, Batra R, Goodwin M, Zhang C, Yuan Y, Shiue L, Cline M, Scotti MM, Xia G, Kumar A, Ashizawa T, Brent Clark H, Kimura T, Takahashi MP, Fujimura H, Jinnai K, Yoshikawa H, Gomes-Pereira M, Gourdon G, Sakai N, Nishino S, Ares Jr M, Darnell RB, Swanson M. Muscleblind-like 2 mediated alternative splicing in the developing brain and dysregulation in myotonic dystrophy. *Neuron* 2012; 75(3):437-50.

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(4): 316-319

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.

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

(シンポジウム・招待講演)

Takahashi MP. Molecular mechanisms in myotonic syndromes. June 7, 2012, L'Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire (IGBMC)-CNRS UMR 7104 - Inserm U 964 Illkirch フランス

Takahashi MP. RNA mis-splicing in myotonic disorders. The 9th Japanese-French Symposium for ' muscular dystrophy ' Sep 7, 2012 東京

(一般発表)

穀内 洋介, 紀 嘉浩, Li Moyi, 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, 井本 敬二, 石浦 章一, Maurice Swanson, 佐古田 三郎, 高橋 正紀, 望月 秀樹 筋強直性ジストロフィーにおける心筋型 Na チャネルのスプライシング異常と心伝導障害 第 53 回日本神経学会学術大会 2012 年 5 月 24 日 東京 (東京国際フォーラム)

末永 浩一, 木村 卓, Kuang-Yung Lee, 中森 雅之, 高橋 正紀, 藤村 晴俊, 陣内 研二, 久保 秀司, 玉置(橋本) 知子, Manuel Ares, Maurice Swanson, 芳川 浩男 筋強直性ジストロフィー症における中枢神経スプライシング異常およびその分子機序の解明 第 53 回日本神経学会学術大会 2012 年 5 月 25 日 東京 (東京国際フォーラム)

佐々木良元, 高橋正紀, 穀内洋介, 平山正昭,

衣斐 達, 佐橋 功, 富本秀和 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トムゼン病 第 53 回日本神経学会学術大会 2012 年 5 月 25 日 東京 (東京国際フォーラム)

高谷将悟, 森田ゆかり, 大崎康史, 土居義典, 瀬尾宏美, 穀内洋介, 高橋正紀 家族性低カリウム性周期性四肢麻痺 2 型の 1 例 第 106 回日本内科学会四国地方会 2012 年 6 月 2 日

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シ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)

Freyermuth F, Thibault C, Alunni V, Auboeuf D, Zimmer T, Takahashi M, Charlet-Berguerand N. SCN5A splicing alteration in heart of myotonic dystrophy patients. 7th International Conference on Unstable Microsatellites & Human Disease. June 9-14, 2012, Mont Ste Odile, Strasbourg フランス

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：大野欽次⁽²⁾野中里紗⁽¹⁾，寧亮⁽¹⁾

(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

本研究の目的は、細胞外マトリックス分子パールカン欠損による軟骨異栄養性筋強直症（Schwartz-Jampel 症候群, SJS）の臨床診断・遺伝子診断方法を確立し、更に分子病態解明と画期的治療に向けた基礎研究へ繋ぐことである。SJS は原因遺伝子が明らかになったが、効果的対症療法、根治療法が確立しておらず、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。さらに、モデルマウスを使って、全身の合併症リスクを調査して注意を喚起する。

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。本研究の目的は、細

胞外マトリックス分子パールカン欠損による SJS の臨床診断・遺伝子診断サービスを提供し、更に分子病態解明と画期的治療に向けた基礎研究へ繋ぐことである。パールカン欠損証明による確定診断を行っているのは、現状では、パリ大学 Nicole 博士と本邦申請者のグループであり、特に本邦での症例の発掘、診断、病態解明は不十分である。他のミオトニア症候群同様、抗てんかん薬・抗不整脈薬による対症療法が行なわれるが、経験例では効果少なく、治療の適正化が急がれる。SCN4A 変異による myotonia permanents と SJS の臨床症状、電気生理学所見が似ており鑑別を要す。これまでに文献上、抗てんかん薬等が著効した例では、パールカンの遺伝子変異が示されておらず、Na チャネルの変異例であった可能性もある。現在診断システム自

体が確立されていないため、患者数の把握すら不詳である。パールカンの部分欠損に起因する SJS は、同じパールカン欠損疾患である致死性軟骨異栄養症 dyssegmental dysplasia, Silverman- Handmaker type (DDSH)に比べ、SJS は良性の経過を取り、天寿を全うしうる筋疾患であるため、全身合併症の理解と予防が重要と考えられる。ミオトニア以外の臨床症状が診断、診療における重要検討事項となる。筋症状と並ぶ心血管系のリスクについてマウスモデルによる検討し、広報する必要がある。分担研究者らは、パールカンを欠損するマウス大動脈が約 15% の頻度で大動脈解離を発症する知見を得ている（未発表データ）。

B：研究方法

SJS 症例の発掘・同定 我が国での診断方法の確立と分子病態解明（平澤、大野）

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、筋生検は必要に応じ行なう。

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。

動物モデルマウスによる病態解析（平澤、寧、野中）

パールカンを軟骨特異的に発現させて生存可能としたレスキューマウス（*HSPG2^{-/-} Tg*）と同腹の野生型対照マウス（*HSPG2^{+/+} Tg*）を解析した。両表現系から胸部大動脈を摘出し、肉眼的健常部分から大動脈リングを作製し、大動脈張力試験を用いて、パールカン欠損の大動脈組織の収縮・弛緩機能の検討を行った。内皮非依存性弛緩作用は、ニトロプルシドナトリウムの添加により、内皮細胞依存性弛緩作用はアセチルコリンの添加により検討を行った。摘出した両表現型マウスの胸部大動脈組織における内皮マーカータンパク質（vWF）と NO 合成酵素（eNOS）の RNA 発現を real-time PCR 法を用いて解析した。

（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

SJS 症例の発掘・同定 我が国での診断方法の確立（平澤、大野）

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をされていた。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。

動物モデルマウスによる病態解析・(平澤、寧、野中)

大動脈張力試験より内皮細胞の機能を検討した結果、パールカン欠損の大動脈において、内皮非依存性弛緩作用には変化が認められなかったが、内皮細胞依存性弛緩作用に有意な低下が認められた。更

に、RNA 発現の解析より、vWF の発現に有意な差は認められなかったが、eNOS の RNA 発現が有意に低下している事が認められた。これらの実験結果から、内皮細胞における弛緩作用の低下は、eNOS 発現の低下を介した NO 遊離低下によることが示唆された。以上のことより、大動脈においてパールカンは、eNOS 発現を調節し、内皮依存性の血管拡張に関与すると考えられた。

D：考察

次世代シーケンサーによる解析を行い、過去に遺伝子変異が判明しなかった症例も診断が可能になった。しかし、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 が存在することを明らかにした。

・パールカン欠損大動脈を使った薬理的、分子生物学的解析より、大動脈においてパールカンは、eNOS 発現を調節し、内皮依存性の血管拡張に関与すると考えられた。SJS 患者の大血管イベントリスクについて注意を喚起する必要がある。

F：健康危険情報

特になし

G：研究発表

1：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 fibulin-7 interacts with endothelial cells and inhibits their tube formation in culture. *Arch Biochem Biophys* in press.
- 3 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.
- 4 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.
- 5 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.
- 6 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.
- 7 Douet V, [Arikawa-Hirasawa E](#), Mercier F. Fractone-heparan sulfates mediate FGF-2 stimulation of cell proliferation in the adult subventricular zone. *Cell Prolif* 2013, 46: 137-145.
- 8 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, 528: 120-125.
- 9 Futami I, Ishijima M, Kaneko H, Tsuji 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* 2012, 7: e45517.
- 10 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* 2012, 32: 11586-11599.
- 11 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, 31: 234-245.
- 12 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*, 2012, 53: 1277-1284.
- 13 ○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. *J Neurol Sci* 2012, 315: 15-19.
- 14 Mercier F, Arikawa-Hirasawa E: Heparan
sulfate niche for cell proliferation in the
adult brain. *Neurosci Lett* 2012, 510:
67-72.
- 15 Ichikawa-Tomikawa N, Ogawa J, Douet V,
Xu Z, Kamikubo Y, Sakurai, T, Kohsaka S,
Chiba H, Hattori H, Yamada Y, and
Arikawa-Hirasawa E. Laminin $\alpha 1$ is
essential for mouse cerebellar development.
Matrix Biol 2012, 31: 17-28.

2 : 学会発表

1. Risa Nonaka, Takafumi Iesaki, Susana
de Vega, Yoshihiko Yamada, Eri
Arikawa-Hirasawa. Role of perlecan, a
heparan sulfate proteoglycan, in
aortic endothelial cell activity in response
to arterial tension in vitro 35th MBSJ Dec
11 – 14th, 2012 Fukuoka Japan
3. Kerever A, De Vega S, Nonaka R, Mercier
F, Oda Y and Arikawa-Hirasawa E Perlecan
is an essential component of the neurogenic
niche.

4. Ning L, Kurihara H, Ichikawa-Tomikawa
N, Yamada Y, and Arikawa-Hirasawa E
Laminin $\alpha 1$ deficiency causes abnormal
increase in mesangial cell proliferation and
matrix production 35th MBSJ Dec 11 -14th,
2012 Fukuoka Japan

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

本邦の終板アセチルコリンエステラーゼ欠損症(endplate AChE deficiency, EAD)の3例において、AChEを終板基底膜に係留をするcollagen Q (ColQ)をコードするCOLQ遺伝子変異に5種類の変異を同定し、機能解析にて2変異(p.R227X, p.V322D)は非対称性AChE分子を作ることができず、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症例の分子遺伝学的基盤を明らかにすることである。

B：研究方法

(i) 患者血液より単離をしたDNAを用いてSanger法によりCOLQ遺伝子のすべてのエクソンならびに両側イントロン領域の塩基配列決定を行った。(ii) 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。(iii) 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。(iv) 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。(v) 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。(vi) 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5種類のCOLQ遺伝子変異を同定した。5種類の変異のうち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3例のEADにおいて5種類のCOLQ変異を同定した。変異ColQ分子の解析にて、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を明らかにした。

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. 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.
2. Yoshinaga H, Sakoda S, Good J M, Takahashi M P, 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, 315:15-19.
3. Matsuura T, Minami N, Arahata H, Ohno K, Abe K, Hayashi YK, Nishino I. Myotonic dystrophy type 2 is rare in the Japanese population. *J Hum Genet* 2012, 57:219-220.
4. 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.
5. Kurosaki T, Ueda S, Ishida T, Abe K, Ohno K, Matsuura T. The unstable CCTG repeat responsible for myotonic dystrophy type 2

- originates from an AluSx element insertion into an early primate genome. PLOS ONE 2012, 7: e38379.
6. 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.
 7. Ishigaki S, Masuda A, Fujioka Y, Iguchi Y, Katsuno M, Shibata A, Urano F, Sobue G, Ohno K. Position-dependent FUS-RNA interactions regulate alternative splicing events and transcriptions. *Sci Rep* 2012, 2: 529.
 8. Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraiishi 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 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.
- (Reviews and Book Chapters)**
1. Engel AG, Shen X-M, Ohno K, and Sine SM. Chapter 8: Congenital myasthenic syndromes. *Myasthenia gravis and myasthenic disorders* 2nd ed. Ed. by Engel AG. Contemporary Neurology Series. Series Ed. by Gilman S. Oxford University Press, New York, 2012, pp173-230.
 2. 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. (査読有)
 3. 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)
 4. 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)
 5. 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)
 6. 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)
- 2 : 学会発表 (Poster Presentation)**
1. 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
2. Kinoshita M, Kokunai Y, Kubota T, Takahashi M, Sasaki R, Ohno K, Hirose K
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
 3. 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
 4. 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
 5. Ohkawara B, Fuse Y, Nakashima H, Ohno K
Functional characterization of GFPT1 during myogenesis and NMJ formation
The 11th Annual Scientific Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center (Poster), Kyoto, Japan
Jun 7-8, 2012
 6. 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
 7. 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
 8. 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
 9. 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
 10. Nakashima H, Ohkawara B, Imagama S, Ito Z, Ishiguro N, Ohno K
R-spondin2 is crucial for neuromuscular junction formation
3rd Annual Meeting, Society for Neuroscience (Poster), San Diego, California, USA
Nov 13, 2013
 11. 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)**
1. 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
 2. Ohno K
Specific binding of collagen Q to the neuromuscular junction is exploited to cure

congenital myasthenia and to explore bases of myasthenia gravis

11th International Meeting on Cholinesterases, Kazan, Russia
Jun 4-9, 2012

3. Ohno K

Congenital defects of neuromuscular signal transduction

3rd Berlin Summer School for Myology, Berlin, Germany
Jun 18-22, 2012

4. Ohno K

Molecular bases and therapeutic intervention of neuromuscular transmission defects

Ninth French-Japanese Workshop on Muscular Dystrophies, Tokyo, Japan
Sep 7, 2012

5. Ohno K, Ito M, Kawakami Y, Ohtsuka K, Krejci E.

Collagen Q is a key player for developing 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。

自己貪食空胞性ミオパチーの 診断基準確立と診療ガイドライン作成のための研究

研究分担者 杉江 和馬¹⁾²⁾
研究協力者 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

自己貪食空胞性ミオパチー(AVM)は、筋細胞内の特異な自己貪食空胞(AVSF)を特徴とする稀な筋疾患である。Danon病や過剰自己貪食を伴うX連鎖性ミオパチー(XMEA)が含まれるが、いずれも病態には未解明の部分が多い。実態を把握するため、国内の関連施設に対し、実態調査を行った。集計した結果、AVM患者全体では41例と大変稀少であった。AVM患者の約70%がDanon病であった。Danon病患者は13家系28例で、XMEA患者1家系3例、先天性AVM患者1家系7例、乳児型AVM患者2例、成人型AVM患者1例であった。Danon病の発症年齢は男性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。治療として、根治療法である心臓移植が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。また、AVM患者における筋病理学的解析と、LAMP-2、VMA21の遺伝学的検討を行った。臨床病型により重症度や発症年齢、合併症、生命予後は大きく異なる。AVMは超稀少疾患であるため、今回の実態調査解析から、診断基準の確立と診療ガイドライン作成、治療法確立のための病態解明が必要である。

A. 研究目的

自己貪食空胞性ミオパチー(AVM)は、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 sarcolemmal features)を有する稀少な筋疾患である。

代表疾患であるDanon病は、2000年に初めて原因遺伝子としてlysosome-associated membrane protein-2(LAMP-2)が発見され(Nishino I, et al. Nature, 2000)、さらにわれわれが世界に先駆け初めてDanon病の臨床病型について報告した(Sugie K, et al.

Neurology, 2002)。もう一つの代表疾患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。共通して認める自己貪食空胞: 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

一の疾患概念確立と診断基準作成のための研究」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 - 25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。また、AVMの新規患者を見出した。さらに、病態解明と根本治療開発を目指し、診療ガイドライン作成のための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。

B. 研究方法

平成21年度にAVM研究班で作成した診断基準を踏まえ、平成22 - 23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AVMの実態調査を行った。Danon病、XMEAが疑われる一部の症例では、ダイレクトシークエンス法によるLAMP-2遺伝子、VMA21遺伝子解析を実施した。平成24 - 25年度は、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。また、新規患者を含めたAVM患者の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、13家系28例、XMEA患者は、1家系3例、X連鎖性先天性AVM患者は 1家系7例、乳児型AVM患者は 2例、成人型AVM患者は 1例を確認した。また、糖原病での自己貪食空胞やrimmed vacuoleとは異なる自己貪食空胞を有する、原因不明のAVM患者が 20例以上見出された。

本邦でのDanon病は、今年度新たに見出した15歳女性患者1例を含めた28例のうち、男性患者16例、女性患者12例であった。男性患者13例の臨床症状について集計した結果、ミオパチーと心筋症は13例中13例

（100%）に認められ、知的遅滞は13例中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。他の合併症として、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。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。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。

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。診断基準項目への病理学的所見導入のため、生検筋でのAVSFの組織化学的、免疫組織化学的、電顕的特徴について解析した。また、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。これは、Danon病以外で認め

ることから、Danon病と他の臨床病型を区別する所見と考えられる。

遺伝子解析にて、Danon病ではLAMP-2遺伝子変異を、XMEAではVMA21遺伝子変異を各々認めた。さらに、乳児型AVMと先天性AVMではVMA21遺伝子変異を認め、XMEAのアレル病であることを明らかにした。以上から、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り、将来的には、AVMの臨床病型の分類に再検討が必要である。

表 自己貪食空胞性ミオパチーの臨床的特徴

	Danon病		XMEA	乳児型AVM	先天性AVM	成人型AVM
	男性	女性				
遺伝	XD	XD	XR	XR?	XR	ARorXR?
発症年齢	10代	30代	10代	新生児	乳幼児	40代
ミオパチー	+	-	+	+	+	+
心筋症	+	+	-	±	-	+
知的遅滞	+	-	-	+	+	+
合併症	時に肝障害 網膜症		-	-	-	多臓器障害
自己貪食空胞	+	+	+	+	+	+
空胞壁でのACHE発現	+	+	+	+	+	+
空胞壁での筋線粒体病変(AMSF)	+	+	+	+	+	+
基底膜の異常化	-	-	+	+	+	+
原因遺伝子	LAMP-2		VM A21	VMA21	VMA21	?

D. 考察

自己貪食空胞性ミオパチー (AVM) 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AVM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、AVMの疾患概念の確立のため、われわれは世界で初めて本疾患の診断基準を作成した。そして、平成22 - 23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、集計結果を精査し、AVM患者全体では40例と大変稀少であった。また、AVM患者の約半数がDanon病であった。

AVM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AVM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。当研究班において、AVMの診断基準を再検討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必要である。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

これまで、自己貪食空胞性ミオパチー (AVM) の臨床病態について臨床病理学および遺伝学的解析を行い、本邦で初めてAVM患者の全国実態調査を行った。AVMは超稀少疾患であり、各臨床病型により重症度や発症年齢、合併症、生命予後は大きく異なっていた。今後、治療を含めた診療ガイドラインの作成と治療法確立のための病態解明が必要である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) [Sugie K](#), Hayashi YK, Goto K, Nishino I, Ueno S. Unusual presentation: Unilateral arm and contralateral leg amyotrophy in FSHD. *Neurology*, 2012; 79(5): e46.
- 2) [Sugie K](#), Tonomura Y, Ueno S.

Characterization of dermatomyositis with coexistence of anti-Jo-1 and anti-SRP antibodies. Intern Med, 2012; 51(7): 799-802.

- 3) Sugie K, Umehara F, Kataoka H, Kumazawa A, Ueno S. Chronic severe axonal polyneuropathy associated with hyperthyroidism and multivitamin deficiency. Neuro Endocrinol Lett, 2012; 33(8): 757-760.
- 4) 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)
- 5) 杉江和馬 .ライソゾーム病:ダノン病 . 先天代謝異常症候群 - 病因病態研究、診断・治療の進歩 - .日本臨床 2012年 . No. 20: 588-592.
- 6) 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.

2.学会発表

- 1) 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.
- 2) Eura N, Sugie K, Kiriyaama T, Kataoka H, Ueno S. Neuroradiological evaluation of dysphagia as a manifestation of dermatomyositis. The 11th Annual Meeting of the Asian and Oceanian Myology Center, Kyoto, Japan, June 7-8, 2012.
- 3) 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, October 11-15, 2012.

- 4) 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.
- 5) 杉江和馬, 木村彰方, 小牧宏文, 金田大太, 倉重毅志, 松本昌泰, 上野 聡, 西野一三 .自己貪食空胞性ミオパチーの全国実態調査による解析 . 第53回日本神経学会学術集会、東京、2012年5月 .
- 6) 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 .

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, Yamamura 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-Hiras awa 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	997-100 4	2013
Selcen D, Shen XM, Milone M, Brenngman 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
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

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, 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
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

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	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
Rumiko Izumi, Tetsuya Niihori, Yoko Aoki1, Naoki Suzuki, Masaaki Kato, Hitoshi Warita, Toshiaki Takahashi, Maki Tateyama, Takeshi Nagashima, Ryo Funayama, Koji Abe, Keiko Nakayama, Masashi Aoki and Yoichi Matsubara	Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure	Journal of Human Genetics		1-8	2013
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
Ken-ya Murata, Ken Kouda, Fumihiro Tajima, Tomoyoshi Kondo	Balloon Dilation in Sporadic Inclusion Body Myositis Patients with Dysphagia	Clinical Medicine Insights		1-7	2013
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.		In press	2013

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Uchino M, Yamashita S, Uchino K, et al.	Muscle biopsy findings predictive of malignancy in rare infiltrative dermatomyositis.	Clin Neurol Neurosurg.		In press	2013
Ramachandran N, Munteanu I, Wang P, Ruggieri A, Rilstone JJ, Israelian N, Naranian T, Paroutis P,Guo R, Ren ZP, Nishino I, Chabrol B, Pellissier JF, Minetti C, Udd B, Fardeau M, Tailor CS,Mahuran DJ, Kissel JT, Kalimo H,Levy N, Manolson MF, Ackerley CA, Minassian BA	VMA21 deficiency Prevents vacuolar ATPase assembly and Causes autophagic vacuolar myopathy.	Acta Neuropatho l.		Epub ahead of print	
Furuta A, Wakabayashi K, Haratake J, Kikuchi H, Kabuta T, Mori F, Tokonami F, Katsumi Y, Tanioka F, Uchiyama Y, Nishino I, Wada K	Lysosomal storage and advanced senescence in the brain of LAMP-2 deficient Danon Disease.	Acta Neuropatho l.		Epub ahead of print	

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Neumann M, Valori CF, Ansorge O, Kretzschmar HA, Munoz DG, Kusaka H, Yokota O, Ishihara K, Ang LC, Bilbao JM, Mackenzie IR.	Transportin 1 accumulates specifically with FET proteins but no other transportin cargos in FTLD-FUS and is absent in FUS inclusions in ALS with FUS mutations.	Acta neuropathol ologica	124(5)	705-716	2012
Nakamura S, Nakano S, Nishii M, Kaneko S, Kusaka H.	Localization of O-GlcNAc-modified proteins in neuromuscular diseases.	Medical molecular morphology	45(2)	86-90	2012
中野 智, 日下 博文	「封入体筋炎における核遺残 物を含んだ空胞」特集 細胞 の分子構造と機能—核以外の 細胞小器官 8. 膜小胞と封入 体	生体の科学	63:53 4-535		2012
Inamori Y, Higuchi I, Inoue T, Sakiyama Y, Hashiguchi A, Higashi K, Shiraishi T, Okubo R, Arimura K, Mitsuyama Y, Takashima H.	Inclusion body myositis coexisting with hypertrophic cardiomyopathy: an autopsy study.	Neuromuscu lar Disorders	22	747-754	2012
Uchino M, Yamashita S, Uchino K, et al.	Long-term outcome of polymyositis treated with high single-dose alternate-day prednisolone therapy.	Eur Neurol.	68(2)	117-21	2012
高松直子、寺澤 由佳、酒井和香、 宮本亮介、宮城 愛、島谷佳光、 佐藤健太、松井 尚子、 和泉唯信、梶龍 兒	筋超音波所見を契機として確 定診断できたサルコイドーシ スの一例	Neurosonol ogy	25(1)	13-16	2012

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Keduka E, <u>Hayashi YK</u> , Shalaby S, Mitsuhashi H, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I	<i>In Vivo</i> Characterization of Mutant Myotilins.	Am J Pathol.	180・4	1570-1580	2012
Tsuburaya RS, Monma K, Oya Y, Nakayama T, Fukuda T, Sugie H, <u>Hayashi YK</u> , Nonaka I, Nishino I	Acid phosphatase-positive globular inclusions is a good diagnostic marker for two patients with adult-onset Pompe disease lacking disease specific pathology.	Neuromuscul Disord.	22・5	389-393	2012
Suzuki S, <u>Hayashi YK</u> , Kuwana M, Tsuburaya R, Suzuki N, Nishino I	Myopathy associated with antibodies to signal recognition particle: disease progression and neurological outcome.	Arch Neurol.	69・6	728-732	2012
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.	315・1-2	15-19	2012
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.	519・1	67-72	2012

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Muneaki Ishijima , Nobuharu Suzuki, Kentaro Hozumi, Tomoya Matsunobu, Keisuke Kosaki , Haruka Kaneko, JohnR. Hassell,Eri Arikawa-Hiras awa , Yoshihiko Yamada ,	Perlecan modulates VEGF signaling and is essential for vascularization in endochondral bone formation	Matrix Biology	12138	In Press (1-5)	2012
Harumi Yoshinaga , Shunichi Sakoda, Jean-Marc Good, Masanori P. Takahashi , Tomoya Kubota , Eri Arikawa-Hiras awa , Tomohiko Nakata, Kinji Ohno , Tetsuro Kitamura, Katsuhiko Kobayashi, Yoko Ohtsuka	A novel mutation in SCN4A causes severe myotonia and school-age-onset paralytic episodes	Journal of the Neurologica l Sciences	12138	In Press (1-5)	2012

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Takenori Inomata, Nobuyuki, Ebihara, Toshinari Funaki, Akira Matsuda, Yasuo Watanabe, Liang Ning, Zhuo Xu, Akira Murakami, and Eri Arikawa-Hirasawa,	Perlecan-Deficient Mutation Impairs Corneal Epithelial Structure	IOVS	Vol.53, No. 3	1277-1284	2012
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	<i>Sci Rep</i>	2	209	2012
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	<i>Mol Ther</i>	20	1384-1392	2012
Ishigaki S, Masuda A, Fujioka Y, Iguchi Y, Katsuno M, Shibata A, Urano F, Sobue G, <u>Ohno K.</u>	Position-dependent fus-rna interactions regulate alternative splicing events and transcriptions	<i>Sci Rep</i>	2	529	2012
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

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
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
杉江和馬 .	ライソゾーム病：ダノン病 . 先天代謝異常症候群 - 病因・ 病態研究、診断・治療の進歩 - .	日本臨床	20	588-592	2012
Momma K, Noguchi S, Malicdan MC, Hayashi YK, Minami N, Kamakura K, Nonaka I, Nishino I	Rimmed vacuoles in Becker muscular dystrophy have similar features with inclusion myopathies.	PLoS One.	7(12)	e52002	2012
Komagamine T, Kawai M, Kokubun N, Miyatake S, Ogata K, Hayashi YK, Nishino I, Hirata K	Selective muscle involvement in a family affected by a second LIM domain mutation of fhl1: An imaging study using computed tomography.	J Neurol Sci.	318(2012)	163-167	2012
Mori-Yoshimura M, Monma K, Suzuki N, Aoki M, Kumamoto T, Tanaka K, Tomimitsu H, Nakano S, Sonoo M, Shimizu J, Sugie K, Nakamura H, Oya Y, Hayashi YK, Malicdan MC, Noguchi S, Murata M, Nishino I	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.	J Neurol Sci.	318(2012):	100-105	2012

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Nakamura M, Kaneko S, Ito H, Jiang S, Fujita K, Wate R, Nakano S, Fujisawa JI, Kusaka H.	Activation of Transforming Growth Factor-β/Smad Signaling Reduces Aggregate Formation of Mislocalized TAR DNA-Binding Protein-43.	Neuro-degenerative diseases	:Jul 10. [Epub ahead of print]		2012
Nakamura S, Kaneko S, Shinde A, Morita JI, Fujita K, Nakano S, Kusaka H.	Prednisolone-sparing effect of cyclosporin A therapy for very elderly patients with myasthenia gravis.	Neuromuscular disorders : NMD	:Dec 10. [Epub ahead of print]		2012
Nakamura M, Kaneko S, Wate R, Asayama S, Nakamura Y, Fujita K, Ito H, Kusaka H.	Regionally different immunoreactivity for Smurf2 and pSmad2/3 in TDP-43-positive inclusions of amyotrophic lateral sclerosis.	Neuropathology and applied neurobiology	:Mar 21. [Epub ahead of print]		2012
Yamashita S, Mori A, Sakaguchi H, et al.	Sporadic juvenile amyotrophic lateral sclerosis caused by mutant FUS/TLS: possible association of mental retardation with this mutation.	J Neurol.	259(6)	1039-44	2012
Yamashita S, Sakaguchi H, Mori A, et al.	Significant CMAP decrement by repetitive nerve stimulation is more frequent in median than ulnar nerves of patients with amyotrophic lateral sclerosis.	Muscle Nerve	45(3)	426-8	2012
小牧宏文	小児の診療手技 100 筋生検	小児科診療	75	276-278	2012

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
小牧宏文	症候・疾患と検査・診断 神経筋疾患の診断	小児神経学の進歩	41	69-77	2012
石山昭彦, 小牧宏文	小児慢性疾患の生活指導 - 最新の知見から - 10.神経・筋疾患 2) 先天性ミオパチー	小児科臨床	65巻4号	839-846	2012
石山昭彦, 藤義朗	先天性筋ジストロフィー	小児内科	44巻増刊号	794-795	2012
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	印刷中		
Yoshinaga H, Sakoda S, Good J M, Takahashi M P, Kubota T, Arikawa-Hirasawa E, Nakata T, Ohno K, Kitamura T, Kobayashi K, Ohtsuka Y.	A novel mutation in <i>SCN4A</i> causes severe myotonia and school-age-onset paralytic episodes	<i>J Neurol Sci</i>	315	15-19	2012
Matsuura T, Minami N, Arahata H, Ohno K, Abe K, Hayashi YK, Nishino I.	Myotonic dystrophy type 2 is rare in the Japanese population	<i>J Hum Genet</i>	57	219-220	2012

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
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	<i>J Hum Genet</i>	57	368-374	2012
Yamamoto R, Matsushita M, Kitoh H, Masuda A, Ito M, Katagiri T, Kawai T, Ishiguro N, Ohno K.	Clinically applicable antianginal agents suppress osteoblastic transformation of myogenic cells and heterotopic ossifications in mice	<i>J Bone Miner Metab</i>	31	26-33	2012
Ohe K, Masuda A, Ohno K.	Intronic and exonic nucleotide variations that affect rna splicing in humans	<i>Introduction to Sequence and Genome Analysis.</i> iConcept Press, Hong Kong		in press	2012

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, Monma K, Suzuki N, Aoki M, Kumamoto T, Tanaka K, Tomimitsu H, Nakano S, Sonoo M, Shimizu J, Sugie K, Nakamura H, Oya Y, Hayashi YK, Malicdan MC, Noguchi S, Murata M, Nishino I.	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.	J Neurol Sci	318(1-2)	100-105	2012
Sawa N, Kataoka H, Sugie K, Kawahara M, Horikawa H, Kusunoki S, Ueno S.	Clinical analysis and outcomes of amyotrophic lateral sclerosis with demyelinating polyneuropathy.	Amyotroph Lateral Scler	13(1)	125-31	2012
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