

遠位型ミオパチーの実態解明、および、診療の手引きの作成・改訂

研究分担者：西野 一三¹⁾

共同研究者：小笠原 真志²⁾、斎藤 良彦¹⁾、吉岡 和香子¹⁾、
森 まどか³⁾、大矢 寧³⁾、野口 悟¹⁾、飯田 有俊²⁾、
石山 昭彦⁴⁾

1. 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究一部
2. 国立精神・神経医療研究センター メディカルゲノムセンター
3. 国立精神・神経医療研究センター病院脳神経内科
4. 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

GNE ミオパチー、および、眼咽頭遠位型ミオパチーの実態を解明し、診療の手引きを改訂する

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実態を解明し、診療の手引きを作成する

A：研究目的

GNE ミオパチーは本邦に 400 人程度、眼咽頭遠位型ミオパチー(OPDM)はさらにその数分の一程度と推察される超稀少疾患である。これらの疾患ではその希少性からいわゆるエビデンスに基づいたガイドライン作成は困難である一方、臨床現場での蓄積が乏しくなることから、担当する医療機関/医療者にとって診療への助言の需要は切実であった。そのためこれらの疾患について、診療の手引きを作成した。

GNE ミオパチーの合併症に関する実態は不明である。さらに、本症は生殖年齢に発症

することが多いことより妊娠を希望する女性が少なくないが、本症合併妊娠・出産については症例報告が数例あるのみである。よって、全身合併症および、妊娠・出産合併症について、Remudy 登録患者へ調査を行い、国内での実態を把握することを目的とする。また、GNE ミオパチーの遺伝学的診断はほとんどを疾病研究第一部が担っていることより、遺伝プロファイルの作成、遺伝型・表現型相関、ホモ接合体の患者が極端に少ない p.D207V バリエントについて遺伝学的特徴を解明することを目的とした。

OPDM は 2019 年に LRP12 遺伝子の

5'UTR 領域にある CGG 繰り返し配列の異常伸長によって発症することが報告された。

LRP12 遺伝子異常によって発症する OPDM (OPDM_LRP12)の臨床・病理学的特徴を明らかにすることを旨とした。また、依然として遺伝学的に確定診断のつかない OPDM が一定数存在するため、未解明の OPDM の原因遺伝子を同定することも目的とした。

次に、ベスレムミオパチー (BM)・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* の遺伝子変異によって生じる筋疾患である。診断の手引き作成の基礎資料とすべく、mutation profile および BM・UCMD の遺伝学的特徴を明らかにする事を旨とした。

B : 研究方法

1. GNE ミオパチーと疾病研究第一部で遺伝学的に診断した日本人例について、各バリエントの遺伝学的特徴を RNA seq、WGS、シアル酸濃度測定を行い、解析した。また、Remudy 登録情報を用いて遺伝型・表現型相関解析を行った。
2. 神経筋患者登録 (Remudy) に本登録されている日本人 GNE ミオパチー患者 202 名を対象に全身合併症、メンタルヘルス合併症、妊娠経験者へ分娩経過や産科的合併症に関するアンケートを実施・解析した。
(倫理面への配慮) 上記研究は国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承諾を受けて行った。
3. 中国との共同研究で全ゲノム解析、long-read whole-genome sequencing (LRS)、連鎖解析、repeat-primed

polymerase chain reaction (RP-PCR)、フラグメント解析を行い、OPDM の新規遺伝子を検討した。

4. 神経核内封入体病の原因遺伝子である NOTCH2NLC 遺伝子の 5'UTR 領域にある CGG 繰り返し配列が OPDM (OPDM_NOTCH2NLC)と関連があるか検討した。
5. OPDM_LRP12 患者の臨床病理学的検討のために、主治医へのアンケートと筋病理の再評価、骨格筋画像の解析を行った。
6. 1976 年から 2020 年までに臨床症状、筋病理所見より BM またはウルリッヒ型先天性筋ジストロフィーが疑われた 130 例を対象とした。遺伝子解析はエクソームシーケンス、ターゲットリシーケンスまたは cDNA の解析後にサンガーシーケンスにより、*COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* のバリエントを検索した。対象例の臨床症状、筋病理所見、変異情報を検討した。
(倫理面への配慮)

C : 研究結果

1. 日本人 334 家系 357 名の遺伝プロファイルを作成した。未報告バリエントは 11 つあった。日本人患者で 2 番目に頻度が高い c.620A>T(p.D207V)について解析した。本バリエントのホモ接合体は計算上は国内に 219 名いると推定されるが、ホモ接合体は 3 名しか確認できておらず、また 78 歳で筋症状のない健康なホモ接合体がみつかった。RNAseq で患者筋に GNE の発現異常や構造異常はなかった。患者の内の 1 名と健康なホモ接合体の GNE 領域は、イントロン領域も含めて同一であり、発症を規定する因子は GNE 遺伝子では

説明困難なことが分かった。また、同バリエーションを有する複合ヘテロ接合体は発症や車椅子開始年齢が遅く、同バリエーションは軽症型バリエーションと考えられた。

2. 日本人 GNE ミオパチー患者の 62.3% (126/202 名)より回答があった。全身合併症では、睡眠時無呼吸症候群および特発性血小板減少症が 10.9%および 4.1%、と高かった。結果について論文投稿中である。また、女性患者 120 名の内、60.0%が妊娠・出産の質問項目に回答した。内、61.1%(44 名)に平均 1.8 回の妊娠経験があった。切迫流産、前期破水、補助を要する分娩は 26.9%と一般日本人集団より高い傾向にあったが、頻度が高い重篤な妊娠・新生児合併症はなく、9 割以上は正期産だった。産後の新規発症者の報告はこれまでなかったが、本調査では産後 1 年以内の新規発症者が 6 名いた。また、発症後妊娠において、産後進行が早まったと自覚した人が 19%いた。
3. 中国との共同研究で、OPDM 患者の一部は GIPC1 遺伝子の 5' UTR 領域の GGC リピートの異常伸長によって発症することを同定した。OPDM もしくは眼咽頭型筋ジストロフィー(OPMD)が疑われた日本人患者 194 家系の中に OPDM_GIPC1 の患者家系が 7 家系いることを解明した。
4. 我々は OPDM と診断された患者の中から NOTCH2NLC に CGG リピート配列の伸長を持つ患者がいなかスクリーニングを行った。OPDM もしくは眼咽頭型筋ジストロフィー(OPMD)が疑われた日本人患者 201 家系の中から 7 家系で NOTCH2NLC 遺伝子の CGG リピート配列の伸長を認めた。7 人の患者全例で眼瞼

下垂、眼球運動障害、構音障害、筋力低下を認めた。全例の筋病理で rimmed vacuoles を認めた。また全例で抗 p62 抗体、抗 SUMO1 抗体、抗 ubiquitin 抗体で染色される核内封入体を骨格筋の核に認めた。7 例の患者全員でさらに中枢・抹消神経障害を認めた。

5. OPDM もしくは眼咽頭型筋ジストロフィー(OPMD)が疑われた日本人患者 201 家系の中から 59 家系において LRP12 遺伝子の CGG リピート配列の伸長を認めた。97%の症例で眼瞼下垂と構音障害や嚥下障害などの球症状を認めた。骨格筋画像ではヒラメ筋と腓腹筋内側頭が最も障害されていた。遺伝学的に確定診断された OPDM の中で LRP12 は 78%を占め、本邦で最も頻度が高い。
6. COL6A1、COL6A2、COL6A3 の変異は、それぞれ 60、48 例、22 例に認めた。両アレルにバリエーションを持つものは COL6A1 に 4 例、COL6A2 に 8 例、COL6A3 に 5 例であった。片側変異 113 例での変異は、ミスセンス: 75 (うちトリプルヘリカルドメインのグリシン置換: 51)、スプライシング: 45、in-frame 小欠失 49、エクソン単位の欠失: 4 であった。それらのトリプルヘリカルドメインの変異では共通して免疫染色における筋線維膜特異的欠損 (sarcolemma specific collagen VI deficiency: SSCD) が見られた。スプライシング変異のうち 5 例は、COL6A1 のイントロン 11 において 72bp の pseudoexon が出現する変異であった。

D : 考察

1. 国内推定患者数 400 名の GNE ミオパチ

一において、357名の情報を用いた遺伝プロファイルが明らかになった。また、p.D207Vはホモ接合体では発症しないことが多い軽症型バリエーションと考えられ、遺伝カウンセリングの際は念頭に置く必要がある。

2. GNE ミオパチーは特発性血小板減少症・睡眠時無呼吸症候群を併しやすいく、定期的な血液検査や睡眠評価の重要性が示唆された。また、本症合併妊娠は概ね良好な経過だが、切迫流産を念頭に置く必要がある。出産1年以内の新規発症者の報告はこれまでなかったが、今回の調査では6名おり、また本症合併妊娠の約5人に1人は産後進行が早まったと自覚していた。出産がGNE ミオパチーに影響する可能性があり、より大規模な解析が今後期待される。これらの結果は、改訂版として診療の手引きに反映する予定である。
3. 我々の研究で伸長したリピートがどの遺伝子にあるかに関わらず、CGGリピートの伸長そのものがOPDMの発症に不可欠であることを強く示唆している。
4. 我々の症例は眼咽頭遠位型ミオパチーと神経核内封入体病のそれぞれの臨床病理学的特徴を有しており、これら2つが異なる疾患なのではなく、一つの神経筋変性疾患の幅広いスペクトラム上にあることを示唆している。皮膚生検で核内封入体を認めたことも、上記の仮説を支持する。
5. 臨床的に15%の患者に誤嚥性肺炎が認められ、8%で呼吸器が必要であった。12%で心合併症（心房細動や心筋症）を認め、8%で神経学的異常を認めた。上記の通り

OPDM_LRP12の患者の多くは筋症状のみであり、OPDM_LRP12は事実上、筋外症状を伴わない遠位型ミオパチーであると考えられた。

6. BM・UCMDへの免疫染色でSSCDを認めることは変異のほとんどを占めるトリプルヘリカルドメインの変異を示唆するため、免疫染色は変異の検索の際に有用である。また、スプライシング変異やエクソンの欠失の割合が多いため、cDNA解析がとても有効であった。

E: 結論

1. 日本人GNE ミオパチーの遺伝プロファイルを作成し、p.D207Vの特徴を解析した。
2. 本邦におけるGNE ミオパチーの全身合併症・妊娠経過の実態を明らかにした。
3. GIPC1遺伝子の5'UTR領域のCGG繰り返し配列の異常伸長によってOPDMを発症する。
4. NOTCH2NLC遺伝子の5'UTR領域のCGG繰り返し配列の異常伸長によって神経障害を伴うOPDMを発症する。
5. LRP12遺伝子の5'UTR領域のCGG繰り返し配列の異常伸長によって発症するOPDMは本邦の遺伝学的に確定診断されたOPDMの約8割を占め最も多い。
6. BM・UCMDの9割以上が片側変異により発症する孤発例であり、変異は非常に多様である。

F: 健康危険情報

なし

G: 研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

1 : 論文発表

1. Yoshioka W, Miyasaka N, Okubo R, Shimizu R, Takahashi Y, Oda Y, Nishino I, Nakamura H, Mori-Yoshimura M: Pregnancy in GNE myopathy patients: a nationwide repository survey in Japan. Orphanet J Rare Dis. 15(1):245. Sep, 2020.
2. Ogasawara, M, Iida, A, Kumutpongpanich, T, Ozaki, A, Oya, Y, Konishi, H, Nakamura, A, Abe, R, Takai, H, Hanajima, R, Doi, H, Tanaka, F, Nakamura, H, Nonaka, I, Wang, Z, Hayashi, S, Noguchi, S, Nishino, I: CGG expansion in NOTCH2NLC is associated with oculopharyngodistal myopathy with neurological manifestations. Acta Neuropathol Commun. 8 (1): 204. 2020
3. Deng, J, Yu, J, Li, P, Luan, X, Cao, L, Zhao, J, Yu, M, Zhang, W, Lv, H, Xie, Z, Meng, L, Zheng, Y, Zhao, Y, Gang, Q, Wang, Q, Liu, J, Zhu, M, Guo, X, Su, Y, Liang, Y, Liang, F, Hayashi, T, Maeda, M. H, Sato, T, Ura, S, Oya, Y, Ogasawara, M, Iida, A, Nishino, I, Zhou, C, Yan, C, Yuan, Y, Hong, D, Wang, Z: Expansion of GGC Repeat in GIPC1 Is Associated with Oculopharyngodistal Myopathy. Am J Hum Genet. 106 (6) 793-804. 2020

2 : 学会発表

1. 吉岡和香子, 宮坂尚幸, 清水玲子, 織田友理子, 高橋祐二, 西野一三, 中村治雅, 森まどか: Remudy 登録 GNE ミオパチー患者における全身合併症、および、妊娠・出産の実態調査. 第6回日本筋学会学術集会 (Web), 2020 (12.18-12.20) Poster 森まどか, 吉岡和香子, 吉田寿美子, 高橋祐二, 西野一三, 中村治雅: GNE ミオパチーと精神疾患. 第117回日本内科学会講演 (東京国際フォーラム), 千代田区, 2020(8.7-8.9)
4. 森まどか, 吉岡和香子, 吉田寿美子, 高橋祐二, 西野一三, 中村治雅: GNE ミオパチーのメンタルヘルスについてのアンケート調査. 第6回 筋ジストロフィーの CNS 障害研究会. 港区 (フクラシア浜松町), 12.1, 2019.

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