

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
希少難治性筋疾患に関する調査研究班 分担研究報告書

遠位型ミオパチーおよびベスレムミオパチー・ウルリッヒ先天性筋

ジストロフィーの実態解明

研究分担者：西野 一三¹⁾

共同研究者：斎藤良彦¹⁾、江浦信之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。

以下、10 ポイント

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とともに、日本人患者の画像学的特徴をまとめることを目的とした。

OPDM は *LRP12* 遺伝子、*GIPC1* 遺伝子、*NOTCH2NLC* 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。昨年度は、*LRP12* 遺伝子異常による OPDM (OPDM_ *LRP12*) の国内多数例解析を、*NOTCH2NLC* 遺伝子異常による神経症状を合併した OPDM 例の報告を行った。本年度は CGG 繰り返し配列伸長が OPDM の病態を引き起こすメカニズムを解明することを目的とし、ロングリードシーケンスを用いたリピート配列の解析を目的とした。また、いまだ多数例での解析がない OPDM 患者の骨格筋画像の特徴を明らかにすることを目的とした。

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目指した。

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、RNA seq、WGS、シアル酸濃度測定、構造解析を行った。
2. GNE ミオパチーと診断された 66 名の CT 画像 ・ MRI 画像より、各筋の Modified Mercuri score をまとめた。
3. 当施設で遺伝学的に未診断である OPDM 症例を対象に、OPDM の原因遺伝子として中国より新たに報告された *RILPL1* における CGG リピート伸長を有する症例を検索した。

4. 当施設で、*LRP12*、*GIPC1*、*NOTCH2NLC* 異常による OPDM と診断した 54 症例の骨格筋 CT ・ MRI 画像を用いて、体幹 ・ 下肢筋の脂肪置換の程度を Modified Mercuri Score で測定し、統計学的に解析した。
5. ロングリードシーケンスを用いて、OPDM 患者の *LRP12*、*GIPC1*、*NOTCH2NLC* におけるリピート配列を解析した。
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 UCMD が疑われた 130 家系 147 症例を対象とした。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* のバリエーションを検索した。対象例の臨床症状、筋病理所見、変異情報を検討した。

C : 研究結果

1. 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。本バリエーションを有するホモ接合体患者は 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。一般日本人集団でのアレル頻度より、ホモ接合体の大半は発症しないと考えられた。発症した 3 名へのハプロタイプ解析 ・ CNV 解析 ・ RNAseq では GNE 遺伝子を含めシアル酸代謝経路の遺伝子に異常はなかった。一方、本バリエーションのシアリル化は軽度に低下していた。構造解析より、本バリエーションは活性部位には関わっておらず、酵素間の基質の受け渡しやオリゴマー化が部分的に障害され

ていることが分かり、結果をまとめ、論文報告した。

2. GNE ミオパチー患者の Modified Merguli score は、発症 5 年以下では、GA より GE・GI が高い例が 94.1%、GC より TA が高い例が 69.6%であり、腰部脊柱筋で外側が内側より罹患している例が 100%であった。発症 6-15 年以内は 77.8%肩甲下筋が棘下筋と比し脂肪置換されており、上記が GNE ミオパチーの典型的な画像所見と考えられた。
3. 159 例の遺伝学的に未診断な OPDM コホートにおいて、*RILPL1* における CGG リピート伸長を有する症例は認めず、これを論文報告した。
4. OPDM では原因遺伝子間に共通して腓腹筋内側頭、ヒラメ筋が早期に障害され前脛骨筋、長趾伸筋がそれに次いだ。OPMD と比較すると、大内転筋や中殿筋・小殿筋が相対的に保たれていた。
5. OPDM 患者における CGG リピートの長さ、および配列は患者間・患者内で多様性に富んでいた。
6. *COL6A1*、*COL6A2*、*COL6A3* の変異は、それぞれ 72、51 例、24 例に認められた。両アレルにバリエーションを持つものは *COL6A1* に 1 例、*COL6A2* に 9 例、*COL6A3* に 1 例であった。片側変異 136 例での変異は、ミスセンス: 80 (うちトリプルヘリカルドメインのグリシン置換: 70)、スプライシング: 45、in-frame 小欠失 7、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 6 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. GNE ミオパチーの c.620A>T(p.D207V)バリエーションでは活性部位が保たれており、オリゴマー化を修飾する等低分子化合物で治療可能な可能性が示唆された。また、本バリエーションのホモ接合体は、GNE 遺伝子領域は同一であり、環境因子等によるオリゴマー化の程度の差で発症の有無が異なると考えられた。
2. GNE ミオパチーは下垂足が典型的初発症状とされているが、4 分の 1 の症例では下腿前面が後面より保たれており、下垂足を呈さない症例でも GNE ミオパチーを鑑別に挙げる重要性が示唆された。
3. *RILPL1* 異常による OPDM は当施設のコホートではみられず、本邦においては極めて稀である可能性が示唆された。
4. OPDM の自然歴を反映した骨格筋画像の特徴を明らかにしたことは、診断の一助となるだけでなく、予後予測やリハビリテーション、さらには将来の治療における有用な指標になると考えられる。
5. OPDM 患者の CGG リピート配列の多様性は、RAN 翻訳を介した均一なアミノ酸生成による細胞毒性や RNA 毒性といった既存の病態仮説以外の病態の存在を示唆する。
6. BM・UCSD 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、BM では THD 以外の割合

が比較的多く、IHC normal 例も一定数存在していた。検出されたバリエントが THD 外に位置し、かつこれまで報告がないバリエントの場合では、その解釈については非常に難しい場合があり大きな課題といえる。BM 診断数が著しく少なく、未診断の BM が多く存在する可能性が考えられる。

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 ミオパチーの典型的画像所見を明らかにした。
3. 本邦における OPDM の骨格筋画像の特徴を明らかにした。
4. 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。BM については未診断例が多く存在する可能性があり、その中でも THD 外、IHC normal の例がいることがわかり、その様な診断困難な例が存在し、大きな課題となっている。

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, Iida A, Sonehara K, Yamamoto K, Oya Y, Mori-Yoshimura M, Kurashige T, Okubo M, Ogawa M, Matsuda F, Higasa K, Hayashi S,

Nakamura H, Sekijima M, Okada Y, Noguchi S, Nishino I: Multidimensional analyses of the pathomechanism caused by the non-catalytic GNE variant, c.620A>T, in patients with GNE myopathy. *Sci Rep.* 12(1):21806. Dec, 2022

2. Eura N, Iida A, Ogasawara M, Hayashi S, Noguchi S, Nishino I. RILPL1-related OPDM is absent in a Japanese cohort. *Am J Hum Genet.* 2022 Nov 3;109(11):2088-2089.
3. Ogasawara M, Eura N, Iida A, Kumutpongpanich T, Minami N, Nonaka I, Hayashi S, Noguchi S, Nishino I. Intranuclear inclusions in muscle biopsy can differentiate oculopharyngodistal myopathy and oculopharyngeal muscular dystrophy. *Acta Neuropathol Commun.* 2022 Dec 7;10(1):176.

2 : 学会発表

1. Yoshioka W, Yamamoto K, Hayashi S, Sekijima M, Nishino I, Noguchi S: Screening of small molecules for activation of GNE protein carrying non-catalytic site mutation based on molecular docking simulation. 27th International Congress of the World Muscle Society (Halifax Convention Centre), Halifax, Canada, 10.14, 2022 (10.11-10.15) Poster
2. Yoshioka W, Iida A, Sonehara K, Yamamoto K, Oya Y, Mori-Yoshimura M, Kurashige T, Okubo M, Ogawa M,

- Matsuda F, Higasa K, Hayashi S, Nakamura H, Sekijima M, Okada Y, Nishino I, Noguchi S: Multi-dimensional analyses of the pathomechanism of GNE myopathy with non-catalytic site variant, GNE: c.620A>T. MYOLOGY 2022 (Nice Acropolis Congress Center), Nice, France, 9.14, 2022(9.12-9.15) poster
3. Eura N, Ogasawara M, Hayashi S, Noguchi S, Nishino I: Intra-myonuclear inclusions differentiate oculopharyngeal muscular dystrophy from oculopharyngodistal myopathy. MYOLOGY 2022 (Nice Acropolis Congress Center), Nice, France, 9.14, 2022(9.12-9.15) poster
 4. Eura N, Noguchi S, Hayashi S, Nishino I: CRISPR/Cas9-targeted long read sequence reveals the allelic microheterogeneity in oculopharyngodistal myopathy. 27th International Congress of the World Muscle Society (Halifax Convention Centre), Halifax, Canada, 10.14, 2022 (10.11-10.15) Poster
 5. Eura N, Ogasawara M, Hayashi S, Noguchi S, Nishino I: Frequent intra-myonuclear inclusions is a distinctive finding of oculopharyngeal muscular dystrophy. 63rd Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology, Tokyo, Japan, 2022 (5.18-5.21) Oral
 6. Eura N, Ogasawara M, Hayashi S, Nishino I: Intra-nuclear inclusions can differentiate between oculopharyngeal muscular dystrophy and oculopharyngodistal myopathy. 第63回日本神経病理学会総会学術研究会, 京都, 2022 (6.24-6.26) Oral
- H** : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)
- 1 : 特許取得
 - 2 : 実用新案登録
 - 3 : その他

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
希少難治性筋疾患に関する調査研究班 分担研究報告書

マリネスコ-シェーグレン症候群

研究分担者：氏名 林 由起子

東京医科大学病態生理学分野

研究要旨

マリネスコ-シェーグレン症候群(MSS)は、小脳失調、知的障害、先天性白内障、ミオパチーを臨床的特徴とする希少難病である。今年度は、全国調査、ならびに2回の患者追跡調査で得られた患者情報を総括し、白内障、脳画像上小脳萎縮、筋生検実施例における小児期縁取り空胞の存在など高頻度で認められる症状や軽症例の存在も踏まえ、診断基準との照らし合わせを行った。

A：研究目的

マリネスコ-シェーグレン症候群(MSS)は、先天性白内障、小脳失調、知的障害、ミオパチーを臨床的特徴とする希少難病である。常染色体劣性の遺伝形式をとり、原因遺伝子 *SIL1* が同定されている。我々は平成23年度難治性疾患政策研究事業で実施したMSS患者全国調査、ならびに平成28年度、令和2年度に本研究班で実施した患者追跡調査によって、MSSの長期経過についての情報を得ることが出来た。

今年度は、MSSの期経過を踏まえた臨床情報をまとめ、現在の診断基準と照らし合わせ、修正案を作成することを目的とした。また、新たに診断された症例についての情報共有も行った。

B：研究方法

平成23年度に本事業において実施したMSS患者全国調査に基づき、平成28年度と令和2年度に患者追跡調査を実施することで得られた長期経過情報をまとめ、MSSの長期経過についての検討を行い、現在の診断基準と照らし合わせた。また、新たに1例の新規患者が見出され、臨床情報を共有した。

（倫理面への配慮）

本研究は、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、東京医科大学医学倫理委員会で承認を受けて行っている。研究を実施するに当たり、個人情報に十分配慮の上、解析を行った。

C : 研究結果

新規に登録された 1 名を加えた *SILI* 変異を有する MSS 患者計 27 例の臨床情報をまとめた。その結果、新規症例は比較的典型的な臨床経過を示し、本邦で最も多い *SILI* c.936dupG (p.L313fsx39) をホモ接合性に有していた。同変異は 47/54 chromosome (87%) となった。MSS の臨床症状の 4 主徴のうち、

- 1) 全例で乳幼児期に何らかの症状を呈する、
- 2) 白内障の出現は学齢期前に 100% 発症し、両側急速進行性で早期に手術が必須となる。
- 3) 画像上小脳萎縮は 100% 認められるが、小脳症状は緩徐進行性
- 4) 知的障害は軽度から中等度のことが多く、認められない場合もある。
- 5) ミオパチーも緩徐進行性で 30 歳頃までに車椅子が必要となることが多いが、寝たきりにはなりにくい。筋生検を施行した場合、100% に縁取り空胞を認める
- 6) 50~60 歳代でも呼吸機能、心機能障害をきたしにくい、比較的予後良好の疾患である
- 7) 成人期以降も知的障害や筋力低下の認められない軽症例の存在もある

ことが明らかとなった。

D : 考察

新たな症例が見出され、本邦における common mutation の頻度がさらに増加した。MSS の長期経過や軽症例の存在を踏まえ、今後、診断基準の見直しを検討していく必要があると考える。

E : 結論

MSS は超希少疾病であるが、研究班の存続により少しずつ症例の蓄積が可能となる。MSS は経過の長い難治性疾患であり、今後も、定期的に追跡調査を実施していく必要がある。今後は、非典型軽症例の存在も加味した診断基準の見直しが必要である。

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

なし

2 : 学会発表

なし

H : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1 : 特許取得

なし

2 : 実用新案登録

なし

3 : その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

希少難治性筋疾患に関する調査研究班 分担研究報告書

先天性ミオパチーの患者登録システムの構築

研究分担者：小牧宏文¹⁾

共同研究者：本橋裕子¹⁾、中村治雅²⁾

1) 国立精神・神経医療研究センター 病院 脳神経小児科

2) 国立精神・神経医療研究センター病院臨床研究・教育研修部門臨床研究支援部

研究要旨

先天性ミオパチーは、希少疾病であるため自然歴を含む臨床研究を行うことや、治験に際して参加出来る患者を集めること自体に困難が生じる。将来的に、このような臨床研究や治験を実施する基礎を構築する目的で、かつ国際的な登録システムと歩調をあわせ参画していくため、本邦における先天性ミオパチーを含む先天性筋疾患患者登録システムを構築し、平成28年9月から登録開始した。対象患者は、筋力低下を含めた臨床症状が、筋病理や遺伝子診断、または臨床診断が先天性ミオパチーとして矛盾しないと判断できる例とした。確定診断にあたっては筋病理または遺伝子診断のいずれが行われている方が好ましいが、臨床診断として矛盾しない例も含めることで本邦での診断の現状を知り、また治験への参加者数の確保をも視野に入れて候補患者を広く把握できるように配慮した。登録数は緩徐ではあるが増加し、令和4年12月時点で先天性筋疾患としては77名、先天性ミオパチーとしては33名の登録があった。登録症例のデータをパイロット的に解析したところ、人工呼吸器や胃瘻増設をしている疾患の特徴が評価可能であった。また、遺伝学的解析が台頭したことによって、病理学的検討が行われていない症例が増加していることが分かり、本登録システムにおける登録手順を再整備した。本登録システムが今後果たすべき役割と課題について検討していく必要がある。

A：研究目的

先天性ミオパチーは、出生時または乳幼児期早期より全身性の筋力低下、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。診断には、臨床症状や

診察で先天性ミオパチーが疑わしい場合、筋生検による病理診断が行われる。これまで診断は筋病理所見にもとづき行われていたが、近年では遺伝子で診断が行われる例もある。また、次世代シーケンサーの普及により、遺伝学的に未解明だった新規遺伝子変異例も

見つかってきている。現時点では先天性ミオパチーの大半に有効性が認められた治療法はないが、分子病態解明に伴い、今後は治療法開発が重要な課題になってくる。

先天性ミオパチー自体はもともと患者数が非常に少ない希少疾病であるが、病型ごとの患者数となると、その数はさらに少なくなる。病型ごとで自然歴調査を行うにしても、また仮に新規治療や治験が可能になったとしても、参加出来る患者が極めて少ないと考えられ、短期間で対象患者をリクルートすることには困難が予想される。また希少疾患ではあるが、先天性ミオパチーよりは頻度の高い疾患である Duchenne 型筋ジストロフィーの新規臨床試験においてそうであったように、治療に対する有効性を含む臨床評価をどのように行うべきかについても十分に確立しているとは言い難いのが現状である。これらの課題を克服するため、先天性ミオパチーを含む先天性筋疾患では、国際的登録システム CMDIR (congenital muscle disease international registry.

<https://www.cmdir.org/>) といったレジストリが構築されつつある。このような背景から、本邦でも将来的に CMDIR ネットワークへの参画、システムとの協調を見据え、また新規治療開発や治験をも視野に入れた候補患者数の把握や、自然歴調査を含む臨床研究の発展のためにも、本邦における先天性ミオパチーの患者登録システムを構築し、発展させる必要があるため、本研究を行った。

B : 研究方法

対象は筋病理や遺伝子の診断、または臨床診断等で診断された先天性ミオパチー全病型の例とした。先天性ミオパチーの病型には、

代表的なものに、ネマリンミオパチー、セントラルコア病/マルチコア病、ミオチューブラーミオパチー、中心核病、先天性筋線維タイプ不均等症、先天性全タイプ 1 線維ミオパチー、タイプ 1 線維優位を示す先天性ミオパチー、非特異的所見 (congenital myopathy without specific morphologic features, minimal change myopathy 等) といったものがあるが、これらの診断名は基本的に筋病理所見にもとづいた診断名である。そのため診断には本来、筋生検が必須である。しかし近年では、新規遺伝子を含め多くの原因遺伝子が見つかってきており、「原因遺伝子」関連ミオパチーといった診断名で呼ばれることもある。そのため対象患者には筋病理または遺伝子診断いずれかが行われている方が好ましい。基本的に登録対象としては、筋力低下を含めた先天性ミオパチー特有の臨床症状を認め、筋病理や遺伝子診断のいずれかで確認された例とした。そのうえで、これらの筋病理や遺伝子検査を実施したにも関わらず、確定診断の根拠が得られなかった例や、これらの検査は未実施であるが、臨床診断として矛盾しない例も登録対象に含めた。臨床情報データは定期的に更新予定であるが、データ更新時 (または随時申し出があれば)、追加検査や追加解析で結果が得られた場合は適宜変更可能とした。

登録臨床情報は以下の通りである。

《臨床情報》

患者記入 : 氏名、生年月日、住所、電話番号、メールアドレス、連絡方法、患者会等の参加の有無

主治医記入 : 記入日、受診されている病院のカルテ番号、家族歴、診断名、併存疾患、遺

伝子診断施行施設、握力、初発症状、車いす使用状況、歩行状況、呼吸機能低下の有無、人工呼吸器使用の有無、心機能、CK、身長・体重、患者様御本人の同意能力、記入担当医所属施設、記入担当医氏名

(倫理面への配慮)

本研究では、人体から採取された試料は用いず、日常診療のなかで行われている診察所見、検査所見といった患者情報のみを用いる。本研究の患者情報の収集は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成29年2月28日一部改正)に該当し、その規定に従い、「自由意思にもとづく文書による同意(インフォームド・コンセント)を受け、試料・情報の提供を受ける」こととする。

また、個人情報の保護に関する措置として、患者情報登録部門に個人情報(プライバシー)保護管理責任者を定めるとともに個人情報保護にかかる体制の整備、資料の保存及び利用等に関する措置を行う。

上記目的、方法にもとづいて倫理申請を行い、登録体制の整備・構築を整え、平成28年9月より登録開始とした。

令和4年12月までに登録されたデータを用いて、パイロット的に解析した。

C: 研究結果

令和4年12月時点で先天性筋疾患としては77名、先天性ミオパチーとしては33名(0-60歳)の登録があった。協力施設数は51であり、協力医師数は75名であった。全国都道府県において、登録依頼のない地域も散見された。

先天性ミオパチー33名のうち、ネマリンミオパチ

ーが最も患者数が多く(9名)、ついでミオチューブラーミオパチー(8名)、セントラルコア病(4名)であった。ネマリンミオパチーとミオチューブラーミオパチーは人工呼吸器や経管・胃瘻栄養が必要となる割合が高く、セントラルコア病では全例、これらの医療デバイスは不要であった。

登録患者の中で、遺伝子のバリエーションのみが同定されているが筋病理の検討がされておらず、先天性ミオパチーの中でも、どの疾患として扱うべきかに迷う症例が4例存在していた。

D: 考察

Duchenne型筋ジストロフィーをはじめ分子治療の臨床試験が活発に行われている筋ジストロフィーでは、ヨーロッパ/北米の一部でTREAT-NMDという国際的ネットワークがある。本邦でもTREAT-NMDに参加し、患者登録システム「Remudy」(Registry of Muscular Dystrophy)を運用することで新規治療の早期実施に大きな役割を果たしてきた。これまで本邦ではDuchenne型筋ジストロフィーに次いで、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー、福山型先天性筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィーで同様の登録システムが構築され患者登録がすすんできた。とくにDuchenne型筋ジストロフィーでは病態にもとづいた新規治療法が開発され、治験として取り組まれ、自然歴研究等にも貢献してきた功績がある。このようななか、先天性ミオパチーでも新規治療法の開発や治験実施、自然歴調査等を含む臨床研究の必要性が生じてくると考えられ、また、疾患に関わる患者会や家族会などの支援団体からの期待も高まる場所である。また、ミオチューブラーミオパチーに対する遺伝子治療薬の臨床試験が実施されている(NCT03199469)。将来的

な展望を視野に入れると、これらの基礎として、本登録システムは重要な位置を占めるものと考えられる。

課題としては、本事業発足から約4年が経過しているが、先天性筋疾患としては77名、先天性ミオパチーとしては33名のみ登録に留まっている点である。本登録の目的が本邦の診断の現状を知ることにも目的としているため、疫学調査としての網羅性を強化するために、一般的な広報活動とともに、筋生検または遺伝子解析で確定診断されなかった例も登録対象者であることを、登録対象者となる可能性のある患者に周知を行っていくことも今後実施すべきことであると考えられた。

遺伝学的解析が台頭したことによって、病理学的検討が行われていない症例が増加していることが分かり、本登録システムにおける登録手順を再整備した。すなわち、以前は診断根拠（遺伝学的解析、病理診断、臨床診断等）をもとに3段階のレベルに振り分け（階層付け）していたが、この作業を省略した。本登録システムのデータを扱う研究者の疾患定義づけを優先させ、研究の自由度を高める事を目的とした手順省略である。

今回の3年間の総括として、本事業の目標の確認と見直しを行なった。事業の目標は先天性ミオパチーを有する患者の治療法開発と診療・生活の質の向上を目指すことである。その目標を達成するために、本事業が行うべき具体的事項としては臨床試験・治療・疾患に関する情報提供、患者コミュニティー構築支援、臨床試験患者リクルート、患者数・自然歴把握、製薬への投資誘致、一般市民への情報公開と考えた。これらを踏まえ、今後も事業を継続していく。

E: 結論

先天性ミオパチーは疾患が多岐にわたり、また現時点では病態に即した治療法がない。そのため、治験や臨床研究等の目的に応じた利用が可能なシステムが、これらの研究発展には必要であり、それを可能としたのが今回の先天性筋疾患の患者登録システムである。登録データの見直しや、遺伝子検査の台頭など時代にアップデートしていき、登録システムが果たすべき役割を実行していきたい。

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) Saito Y, Baba S, Komaki H, Nishino I. A 7-year-old female with hypotonia and scoliosis. *Brain Pathol*. 2022 Nov;32(6):e13076.

2) Neto OLA, Medne L, Donkervoort S, ... Komaki H, et al. MLIP causes recessive myopathy with rhabdomyolysis, myalgia and baseline elevated serum creatine kinase. *Brain*. 2021 Oct 22;144(9):2722-2731.

3) Awano H, Saito Y, Shimizu M, ... Komaki H, et al. FKRP mutations cause congenital muscular dystrophy 1C and limb-girdle muscular dystrophy 2I in Asian patients. *J Clin Neurosci*. 2021 Oct;92:215-221.

4) Saito Y, Nishikawa A, Iida A, ... Komaki

H, et al. ADSSL1 myopathy is the most common nemaline myopathy in Japan with variable clinical features. Neurology. 2020 Sep 15;95(11):e1500-e1511.

2 : 実用新案登録

なし

3 : その他

なし

2 : 学会発表

なし

H : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1 : 特許取得

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
希少難治性筋疾患に関する調査研究班 分担研究報告書

骨格筋チャンネル病の調査研究

研究分担者：高橋正紀¹⁾

共同研究者：久保田智哉¹⁾、丹羽良輔¹⁾、瀬川和樹¹⁾、児島来未¹⁾、
仲座真紀¹⁾、堀江里歩¹⁾、芝野真紀¹⁾、Stephen C. Cannon²⁾、佐々
木良元³⁾、加藤和人⁴⁾、

- 1) 大阪大学大学院医学系研究科 生体病態情報科学 臨床神経生理学
- 2) Department of Physiology, David Geffen School of Medicine,
University of California, Los Angeles
- 3) 鈴鹿医療科学大学 看護学部
- 4) 大阪大学大学院医学系研究科 医の倫理と公共政策学

研究要旨

筋チャンネル病は、骨格筋に発現するイオンチャンネル遺伝子の異常により起こる希少難治性筋疾患である。中でも低カリウム性周期性四肢麻痺（HypoPP）は、CACNA1S 遺伝子と SCN4A 遺伝子の二つが原因遺伝子として知られる。昨年度までの研究により、本邦の筋チャンネル病における遺伝子変異の多様性について報告してきた。筋チャンネル病の広がりや複雑性が増す中で、筋チャンネル病の診療の手引き第2版が日本神経学会にて承認された。さらに疾患感受性一塩基多型の解析を通じて、周期性四肢麻痺に共通する遺伝学的背景が潜在する可能性を示した。2022年度より、筋チャンネル病の遺伝子解析が保険収載されるようになった。ダイナミックコンセントの概念を実装したレジストリーである Rudy Japan の構築を進めてきており、2023年度は Rudy Japan に登録された筋チャンネル病患者を対象に、2018年から2021年のQOLデータを集積し、解析を行った。RUDY Japan に登録された24名の骨格筋チャンネル病参加者より回答を得て、経時的なQOLの推移を得られた。また、あらたに新規変異による本邦の筋チャンネル病症例の臨床像と病態を明らかにした。本邦の筋チャンネル病は、多様な表現型をもつため、更なる実態調査把握が重要である。今後も、筋チャンネル病の表現型の多様性に注目した実態把握調査を進めることが重要である。

A : 研究目的

筋チャンネル病は、骨格筋に発現するイオンチャンネル遺伝子の異常により起こる希少難治性筋疾患である。昨年度までに、本邦の筋チャンネル病における遺伝子変異の多様性について報告した。筋チャンネル病の広がりと複雑性が増す中で、筋チャンネル病の診療の手引き第2版が日本神経学会にて承認された。2022年度より、筋チャンネル病の遺伝子解析が保険収載されるようになり、本邦における筋チャンネル病の臨床診療環境の改善が得られつつある中で、患者 QOL の評価は重要な課題である。本研究では、ダイナミックコンセントの概念を実装したレジストリーである Rudy Japan の構築を進めてきており、2023年度は Rudy Japan に登録された筋チャンネル病患者を対象に、2018年から2021年の QOL データを集積し、解析を行った。

B : 研究方法

Rudy Japan に登録された筋チャンネル病患者を対象に、2018年から2021年の QOL データを集積し、解析を行った。また、本邦の筋チャンネル病で非典型的な臨床症状を呈する症例について情報収集を行った。

（倫理面への配慮）

患者の遺伝子に関わる研究については大阪大学ヒトゲノム研究審査委員会にて承認済みである。同意を文書にて得て、研究への参加は患者の自由意思に基づくこと、同意の撤回が自由にできること、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。

Rudy Japan における患者登録、QOL 調査研究については、大阪大学医学部附属病院・観察研究倫理審査委員会にて承認済みであ

る。同意を文書にて得て、研究への参加は患者の自由意思に基づくこと、同意の撤回が自由にできること、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「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」などを遵守し行った。

C : 研究結果

RUDY Japan に 2017 年 12 月から 2021 年 12 月までに登録された 24 名の骨格筋チャンネル病患者より回答を得た。全体の患者背景は次の通りである。男性 11 名 (45.8%)、女性 13 名 (54.2%)、年代別では、20 代 1 名 (4.2%)、30 代 8 名 (33.3%)、40 代 10 名 (41.7%)、50 代 4 名 (16.7%)、60 代 1 名 (4.2%) であった。病型別では先天性ミオトニー 11 名 (45.8%)、ナトリウムチャンネルミオトニー 2 名 (8.3%)、先天性パラミオトニー 4 名 (16.7%)、高カリウム性周期性四肢麻痺 1 名 (4.2%)、低カリウム性周期性四肢麻痺 5 名 (20.8%)、Andersen-Tawil 症候群 1 名 (4.2%) であった。取得したデータは、バーセル指数、エプワース眠気尺度、QOL 尺度 (EQ-5D-5L)、神経筋疾患患者 QOL (INQOL)、筋強直の分布と重症度、健康関連 QOL 尺度 (SF36 v2)、周期性四肢麻痺重症度である。現在、中間解析での特徴として、エプワース眠気尺度において、ナトリウムチャンネル異常症の方が、クロライドチャンネル異常症よりも眠気が強い傾向はあった（ナトリウムチャンネル異常症：6.6±3.3、クロライドチャンネル異常症：4.8±2.9）が、睡眠時無呼吸症候群など病的な眠気と判定される点数（11 点）には至らなかった。また、各病型における経時的な変化を視覚化できた。

本邦の筋チャンネル病症例の中で、気温上昇に

より症状が増悪する高カリウム性周期性四肢麻痺の家系を見出した。SCN4A 遺伝子にヘテロ接合性ミスセンス変異（c.2375T>G、p.Val1792Gly）を認め、骨格筋ナトリウムチャネルの細胞質側のインナーポア変異であることが分かった。

D : 考察

Rudy Japan によるデータ収集により、筋チャネル病の経時的な QOL 変化を捉えることができた。このような同一参加者の経時的変化を見たデータは、他にはなく貴重である。今後、病型ごとや年齢ごとにみたサブ解析をすることで、筋チャネル病の QOL に影響を与える因子の抽出を目指す。筋チャネル病の眠気については、今までに研究されたことがなく、貴重なデータである。原因は不明であるが、一つの仮説としてはエネルギーの代謝による影響が考えられる。筋チャネル病の一部は、筋細胞膜の過興奮によってエネルギー代謝が通常よりも亢進していることが PET など捉えられる報告もある。過剰なエネルギー代謝と、疲労や眠気との関連などは今後検討が望まれる。

筋チャネル病の非典型的な症例の報告は蓄積されてきており、広がりを見せている。本研究で新たに見出した症例も、新しい高カリウム性周期性四肢麻痺の原因遺伝子のホットスポットを示唆しうる症例であり、今後も希少な一例一例の蓄積が重要である。

E : 結論

本邦の筋チャネル病は、多様な表現型をもつため、更なる実態調査把握が重要である。今後も、筋チャネル病の表現型の多様性に注目した実態把握調査を進めることが重要である。

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. Segawa K, Nishiyama M, Mori I, Kubota T, Takahashi MP. Hyperkalemic periodic paralysis associated with a novel missense variant located in the inner pore of Nav1.4. *Brain Dev.* 2023 Apr;45(4):205-211.
2. Shibano M, Kubota T, Kokubun N, Miyaji Y, Kuriki H, Ito Y, Hamanoue H, Takahashi MP. Periodic paralysis due to cumulative effects of rare variants in SCN4A with small functional alterations. *Muscle Nerve.* 2022; 66(6):757-761.
3. Baba K, Fukuda T, Furuta M, Tada S, Imai A, Asano Y, Sugie H, Takahashi MP, Mochizuki H. A mild clinical phenotype with myopathic and hemolytic forms of phosphoglycerate kinase deficiency (PGK Osaka): A case report and literature review. *Intern Med.* 2022; 61(23):3589-3594.
4. 久保田智哉、高橋正紀. 筋チャネル病・周期性四肢麻痺. *Clinical Neuroscience.* 2023;41(2).244-247.

2 : 学会発表

1. 瀬川和樹、西山将広、森樹貴、久保田智哉、高橋正紀. Nav1.4 ポアドメインの新規ミスセンス変異による高カリウム性

別紙 1 分担研究報告書（見本）

* ページ数は適宜増やしてください

周期性四肢麻痺家系の病態解析。（口演）第 52 回日本臨床神経生理学会 学術大会. 京都. 2022 年 12 月 26 日.

2. Yamamoto R, Yamauchi K, Takahashi S, Fukumoto A, Yamamoto M, Takahashi MP, Homma K, Kubota T. Cy3-based membrane protein targeting assay for quantitative evaluation of membrane expression efficacy of ion channels.

（ポスター発表）第 100 回日本生理学会学術大会. 京都. 2023 年 3 月 15 日.

3. Kubota T. Functional analysis of voltage-gated ion channels with voltage sensor mutations in

channelopathies. (シンポジウム口演). 第 100 回日本生理学会学術大会. 京都. 2023 年 3 月 15 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

Schwartz-Jampel 症候群の診断、診療方法向上のための調査研究

研究分担者：氏名 平澤恵理¹⁾

共同研究者：氏名 山下由莉¹⁾、中田智史²⁾

- 1) 順天堂大学大学院医学研究科 老化・疾患生体制御学
- 2) 順天堂大学大学院スポーツ健康科学科 女性スポーツセンター

研究要旨

Schwartz-Jampel 症候群 (SJS) の難病対策向上を目的とし、多診療科連携を行うことで、パールカン遺伝子変異例の情報交換および症例蓄積を継続した。パールカン遺伝子欠損疾患スペクトラムとしての連続性を検証するとともに、分子学的診断および治療法の検討を行った。

A：研究目的

Schwartz-Jampel 症候群 (SJS)、軟骨異栄養性筋強直症は、パールカン遺伝子 (*HSPG2*) 変異により生じるパールカン機能部分欠損疾患である。筋、骨軟骨病変を主症状とするが、未だ効果的対症療法、根治療法が確立しておらず、ADL を著しく障害する難治性疾患である。分担研究者らを含むこれまでの国内外の研究により、SJS の病態と原因遺伝子との関連が明らかになりつつある。本研究の目的は、SJS の分子病態解明と画期的治療に向けた基礎研究の成果を活用するため、臨床診断・遺伝子診断を必要とする対象を調査することである。

B：研究方法

これまでに診断の手引き発行をはじめとする広報活動を行うとともに、診療領域を超えた症例の発掘、調査、診断、蓄積を進めてきた。特に、椎体の分節異常の特徴から分節性致死性軟骨異栄養症 *dyssegmental dysplasia (DD)* と診断されている症例から *HSPG2* 遺伝子変異をもつ患者が発掘されたことをうけ (関東連合産科婦人科学会誌, 53 : 647-653, 2016)、全国の産婦人科、整形外科医との連携を強化した。これにより集積された症例情報から予想されるパールカン欠損疾患スペクトラムの観点を加え、更なる症例集積を進めるとともに、病態および有効的な治療法を検証した。結果の一部は患者細胞

を使った *in vitro* の検証によって確認した。
(倫理面への配慮)

Schwartz-Jampel 症候群調査に関しては、医学部倫理委員会の承認を得ている。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進めている。

C : 研究結果

診療領域を超えた疾患の広報活動、情報交換により、パールカン遺伝子変異をもつ症例として SJS1 例の診療依頼、Dyssegmental dysplasia5 例の情報提供があった。

Dyssegmental dysplasia と診断されている症例はいずれも明確な筋症状の記載がなく、筋電図も行われていなかった。このため、SJS の診断基準を満たしていなかった。臨床データ解析を行うとともに、*in vitro* 系による分子学的診断方法の確立可能性を検証した。また、ミオトニアの治療法に関する過去文献の見直しでは、カルバマゼピンを中心とする抗てんかん薬、抗不整脈薬、ボツリヌス毒素、手術による対応が試みられていたが、遺伝子診断に基づいた有効性の検証はいまだ不十分な状況と考えられた。

D : 考察

希少性疾患であることから、診断・治療両面において、更なる臨床データ解析とともに、パールカン遺伝子変異に基づく分子学的検証が必要と考えられた。また、SJS は ADL が障害される一方、生命予後は保たれることから、合併症リスクに関しても情報共有することが必要であると考えられた。

E : 結論

本調査研究班を通じ、パールカン遺伝子変異

例の情報提供が行われる体制が整備されつつある。パールカン欠損疾患スペクトラムの観点から、引き続き多診療科・多施設連携を行うとともに、海外施設を含む情報交換の体制を拡充する必要があると考えられる。

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

- Yamashita Y, Nakada S, Nakamura K, Sakurai H, Ohno K, Goto T, Mabuchi Y, Akazawa C, Hattori N, Arikawa-Hirasawa E. Evaluations of human-induced pluripotent stem cells derived from a patient with Schwartz-Jampel syndrome revealed distinct hyperexcitability in the skeletal muscles. *Biomedicines*. 2023, 11(3), 814.
- Nakada S, Yamashita Y, Akiba S, Shima T, Arikawa-Hirasawa E. Myocyte Culture with Decellularized Skeletal Muscle Sheet with Observable Interaction with the Extracellular Matrix *Bioengineering (Basel)*. 2022 Jul 12;9(7):309.
- Tsuji Y, Kerever A, Furukawa T, Kamagata K, Saito Y, Aoki S, Hata J, Okano H, Kobayashi K, Okada T, Miya K, Keino-Masu K, Masu M, Arikawa-Hirasawa E. Diffusion magnetic resonance tractography-based evaluation of commissural fiber abnormalities in a heparan sulfate

- endosulfatase-deficient mouse brain.
Magnetic Resonance Imaging.
2022;88:123-31.
- Hayashiji N, Kawahara G, Xu X,
Fukuda T, Kerever A, Gu J, Hayashi Y,
Arikawa-Hirasawa E. α -1,6-
Fucosyltransferase Is Essential for
Myogenesis in Zebrafish. Cells.
2022;12:144.
 - Arikawa-Hirasawa E. Impact of the
heparan sulfate proteoglycan perlecan
on human disease and health. Am J
Physiol Cell Physiol. 2022; 322(6).

2 : 学会発表

- 中田智史、中村京子、山下由莉、平澤(有
川)恵理. アセチルコリン誘発性細胞内カ
ルシウム動態におけるパールカンの役割.
第7回日本筋学会学術集会 2022年12月
11日-12日
- Yuri Yamashita, Satoshi Nakada,

Aurelien Kerever , Nobutaka Hattori,
Eri Hirasawa. Dynamic changes in
sulfation induced by mechanical stress
in skeletal muscle. 第63回日本神経学
会学術大会 2022年5月18日-21日
(5/21)

-

H : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1 : 特許取得

発明者: 中田智史、平澤恵理、山下由莉、特願
2022-023837 【発明の名称】ヒト筋疾患モデ
ル筋組織、提出日:令和4年2月18日

2 : 実用新案登録

特記事項なし

3 : その他

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
希少難治性筋疾患に関する調査研究班 分担研究報告書

先天性筋無力症候群

研究分担者：大野欽司¹⁾

1) 名古屋大学医学系研究科神経遺伝情報学

研究要旨

先天性筋無力症候群に関して、2016年8月31日に開始した神経筋疾患患者登録 Remudy と協調して本邦における 61 例の先天性筋無力症候群疑いの解析を行い 31 例において原因遺伝子を同定してきた。PURA が新規原因遺伝子として海外から報告され合計 35 の原因遺伝子が同定されてきた。昨年度の素案にさらに 85 報を加えた 439 報の参考文献を引用し 52 ページからなる「先天性筋無力症候群の診療の手引き」案を作成し 2023 年 3 月の段階で日本神経学会の承認を待っている。さらに、この診療の手引きを英訳し公表した (Ohno K *et al.* *Int J Mol Sci* 24: 3730, 2023)。2020 年度公開したミスセンス変異解析ツール InMeRF と 2021 年度公開したイントロン 3' 末端変異解析ツール IntSplice2 のウェブサービスの運用を引き続き行なった。

A：研究目的

本研究の目的は、本邦における先天性筋無力症候群の新規同定と、先天性筋無力症候群の診断基準の策定・臨床調査個人票の更新・難病指定医向けテキストの作成により、今後の病態研究への基盤整備を担うことである。また、診断精度の向上を目的とした遺伝子診断の診断体制の整備を行う。

B：研究方法

過去の自らの分子病態研究成果と論文精読により CMS の分子病態を探り、難病情報センターホームページの情報の正確さ即時性の確認を行った。

本邦の先天性筋無力症候群の新規発掘のために、令和 4 年度は 1 例の新規 whole exome sequencing (WES) トリオ解析を行った。次世代シーケンサデータは FastX-toolkit と FastQC により quality check を行い、BWA と

BLAT により mapping を行い、Samtools により post-processing を行なった。Samtools と VarScan により variant call を行い、VarScan により filtering を行なった。AnnoVar と独自プログラムにより annotation をつけ、CMS 既報告 34 遺伝子ならびに神経筋接合部に高発現の約 100 種類の遺伝子を候補遺伝子として解析を行った。dbSNP, NHLBI ESP, 1000 genome project, HGVD, NCI60, ExAC65000, HGMD, ClinVar, COSMIC, ExAC に登録をされた SNV のうち minor allelic frequency が高いものを候補原因遺伝子から除外した。

Human Gene Mutation Database (HGMD) Pro に含まれるミスセンス SNV と dbSNP の minor allelic frequency > 0.01 の SNV を弁別する 2020 年度作成した random forest model (InMeRF) と、2021 年度作成したイントロン 3' 末端変異解析ツール

IntSplice2 を用いて同定した SNVs の病原性の解析を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究による遺伝子診断は名古屋大学医学系研究科生命倫理委員会の生命倫理委員会の承認を受けた後に、患者への説明と文書による同意に基づいて行った。

C : 研究結果

難病情報センターホームページに掲載された一般向けの病気の解説、医療従事者向けの診断・治療指針の情報の正確さ即時性の確認を行った。

神経筋疾患患者登録 Remudy の先天性筋無力症候群のレジストリーへの登録を行うべく、1例の新規 CMS 疑い症例の WES トリオ解析を行った。ならびに過去の CMS 症例の whole genome sequencing (WGS)解析を行った。

ミスセンス SNV の病原性予測ツール InMeRF (<https://www.med.nagoya-u.ac.jp/neurogenetics/InMeRF/>) (2020 年度ウェブツール公開)とイントロン 3'末端の病原性変異解析ツール IntSplice2 (<https://www.med.nagoya-u.ac.jp/neurogenetics/IntSplice2/>) (2021 年度ウェブツール公開)の運用を引き続き行なった。

昨年度、354 報の参考文献を引用し、英語総説にもないレベルの詳細な病態機構と診療指針を網羅した「先天性筋無力症候群の診療の手引き」案を作成した。今年度は、2022 年に発表された論文などさらに 85 報を追加して 439 報の参考文献を引用した「先天性筋無力症候群の診療の手引き」案を作成し 2023 年 3 月の段階で日本神経学会の承認を待っている。診療の手引き案では先天性筋無力症候群に新たな 1 病態を追加し以下の 14

種類の病態に分類し、それぞれの病態に関する詳細な解説を行なった。

1. 終板アセチルコリン受容体(AChR)欠損症 (*CHRNA1*, *CHRN1*, *CHRND*, *CHRNE*, *RAPSN*)
2. Escobar 症候群(*CHRNA1*)と致死的多発性翼状片症候群・胎児無動変形シークエンス (*CHRNA1*, *CHRND*, *MUSK*, *RAPSN*, *DOK7*, *SLC18A3*)
3. スローチャンネル症候群(SCCMS)・ファーストチャンネル症候群(FCCMS) (*CHRNA1*, *CHRN1*, *CHRND*, *CHRNE*)
4. 終板アセチルコリンエステラーゼ欠損症(*COLQ*)とシナプス間隙の構造分子欠損による先天性筋無力症候群(*LAMB2*, *COL13A1*)
5. 骨格筋ナトリウムチャンネル筋無力症候群(*SCN4A*)
6. 神経筋接合部シグナル分子欠損による先天性筋無力症候群(*AGRN*, *MUSK*, *LRP4*, *DOK7*)
7. 骨格筋構造タンパク質欠損による先天性筋無力症候群(*PLEO*)
8. 神経終末アセチルコリンリサイクル機構欠損による先天性筋無力症候群 (*CHAT*, *SLC18A3*, *SLC5A7*, *PREPL*)
9. 先天性 Lambert-Eaton 筋無力症候群 (*SYT2*, *SNAP25*, *UNC13A*, *VAMP1*, *RPH3A*, *LAMA5*)
10. 糖化酵素欠損による先天性筋無力症候群 (*GFPT1*, *DPAGT1*, *ALG2*, *ALG14*, *GMPPB*)
11. 神経終末形成障害による先天性筋無力症候群(*MYO9A*, *SLC25A1*)
12. 核膜ラミン関連タンパク 1 欠損による先

天性筋無力症候群(*TOR1AIP1*)

13. クロマチンリモデリング酵素欠損による先天性筋無力症候群(*CHD8*)

14. *PURA* 症候群における先天性筋無力症候群(*PURA*)

D: 考察

研究者らが行ってきた先天性筋無力症候群の分子病態研究成果を反映して難病情報センターホームページの先天性筋無力症候群の情報の正確さ即時性を確認した。網羅的な先天性筋無力症候群の診療の手引き案を作成した。機械学習法によるミスセンス SNV の病原性予測ツール InMeRF とイントロン3'末端の病原性変異解析ツール IntSplice2 は先天性筋無力症候群のみならず各種遺伝性疾患の病原遺伝子変異の解析に有用であることが期待されウェブサービスプログラムの運用を続ける。

E: 結論

先天性筋無力症候群の新規患者同定・病態解明に供するべく情報提供を継続する。

F: 健康危険情報

ありません。

G: 研究発表

1: 論文発表

1. Koike H, Nishida Y, Shinomura T, Ohkawara B, Ohno K, Zhuo Lisheng, Kimata K, Ushida T, Imagama S. Possible repositioning of an oral anti-osteoporotic drug, Ipriflavone, for treatment of inflammatory arthritis via inhibitory activity of KIAA1199, a novel potent hyaluronidase. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 4089
2. Nishiwaki H, Ito M, Hamaguchi T, Maeda T, Kashihara K, Tsuboi Y, Ueyama J, Yoshida T, Hanada H, Takeuchi I, Katsuno M, Hirayama M, Ohno K. Short chain fatty acids-producing and mucin-degrading intestinal bacteria predict the progression of early Parkinson's disease. *npj Parkinsons Dis* 2022, 8: 65.
3. Toda T, Ito M, Takeda J, Masuda A, Mino H, Hattori N, Mohri K, Ohno K. Extremely low-frequency pulses of faint magnetic field induce mitophagy to rejuvenate mitochondria. *Commun Biol* 2022, 5: 453.
4. Ito K, Nishida Y, Hamada S, Shimizu K, Sakai T, Ohkawara B, Alman BA, Enomoto A, Ikuta K, Koike H, Zhang J, Ohno K, Imagama S. Efficacy of auranofin as an inhibitor of desmoid progression. *Sci Rep* 12: 11918, 2022.
5. Gibo N, Hamaguchi T, Miki Y, Yamamura T, Nakaguro M, Ito M, Nakamura M, Kawashima H, Hirayama M, Hirooka Y, Wakabayashi K, Ohno K. Examination of abnormal alpha-synuclein aggregates in the enteric neural plexus in patients with ulcerative colitis. *J Gastrointest Liver Dis* 2022, 31: 290-300.
6. Nishiwaki H, Ueyama J, Kashihara K, Ito M, Hamaguchi T, Maeda T, Tsuboi Y, Katsuno M, Hirayama M, Ohno K. Gut microbiota in dementia with Lewy bodies. *npj Parkinsons Dis* 2022, 8: 169.
7. Ueyama J, Hayashi M, Hirayama M, Nishiwaki H, Ito M, Saito I, Tsuboi Y, Isobe T, Ohno K. Effects of pesticide intake on gut microbiota and metabolites in healthy adults. *Int. J Environ Res Public Health* 2022, 20: 213.
8. Mishima K, Okabe YT, Mizuno M, Ohno K, Kitoh H, Imagama S. Efficacy of soluble lansoprazole-impregnated beta-tricalcium phosphate for bone regeneration. *Sci Rep* 2022, 12: 20550.
9. Kamiya Y, Matsushita M, Mishima K, Ohkawara B, Michigami T, Imagama S, Ohno K, Kitoh H. Meclozine ameliorates bone mineralization and growth plate structure in a mouse model of X-linked hypophosphatemia. *Exp Ther Med* 2023, 25: 39.
10. Zhang S, Ohkawara B, Ito M, Huang Z, Zhao F, Nakata T, Takeuchi T, Sakurai H, Komaki H, Kamon M, Araki T, and Ohno K. A mutation in DOK7 in congenital myasthenic syndrome forms aggresome in cultured cells, and reduces DOK7 expression and MuSK phosphorylation in patient-derived iPS cells. *Hum Mol Genet* in press.
11. Shen XM, Nakata T, Mizuno S, Imoto I, Selcen D, Ohno K, Engel AG. Impaired gating of γ - and ϵ -AChR respectively causes

- Escobar syndrome and fast channel myasthenia. *Ann Clin Transl Neurol in press*.
12. Yamashita Y, Nakada S, Nakamura K, Sakurai H, Ohno K, Goto T, Mabuchi Y, Akazawa C, Hattori N, Arikawa-Hirasawa E. Evaluation of Human-Induced Pluripotent Stem Cells Derived from a Patient with Schwartz–Jampel Syndrome Revealed Distinct Hyperexcitability in the Skeletal Muscles. *Biomedicines*, 2023, 11: 814.
 13. Fuse Y, Nishiwaki H, Imaizumi T, Nagata Y, Ohno K, Saito R. Machine learning models predict delayed hyponatremia post-transsphenoidal surgery using clinically available features. *Pituitary, in press*
 14. Hirayama M, Ohno K. Reply to the Letter to the Editor “The microbiota in Parkinson's disease: ranking the risk of heart disease”. *Ann Nutr Metab* 2022; 78: 119-120.
 15. LeBaron TW, Sharpe R, Ohno K. Electrolyzed Reduced Water: Review I. Molecular hydrogen is the Exclusive Agent Responsible for the Therapeutic Effects. *Int J Mol Sci* 2022; 23(23): 14750.
 16. LeBaron TW, Sharpe R, Ohno K. Electrolyzed Reduced Water: Review II. Safety Concerns and Effectiveness as a Source of Hydrogen Water. *Int J Mol Sci* 2022; 23(23): 14508.
 17. Ohno K, Ohkawara B, Shen X-M, Selcen D, Engel AG. Clinical and pathologic features of congenital myasthenic syndromes caused by 35 genes – a comprehensive review. *Int J Mol Sci* 2023; 24: 3730.
 18. LeBaron TW, Ohno K, Hancock JT. The On/off History of Hydrogen in Medicine: Will the interest persist this time around? *Oxygen* 2023, 3: 143-162.
 19. Hirayama M, Ohno K. Gut Microbiota Changes and Parkinson's Disease: What Do We Know, Which Avenues Ahead. Gut Microbiota in Aging and Chronic Diseases Ed. by Francesco Marotta *Healthy Ageing and Longevity 17* Editor-in-Chief: Suresh I. S. Rattan. Springer Nature, Switzerland, 2023, pp. 257-278.
- 2 : 学会発表
- 招待講演
1. 大野欽司
「先天性筋無力症候群アップデートと神経筋接合部の構築を誘導する新規分泌因子」
第 63 回日本神経学会総会、東京(東京国際フォーラム)、2022 年 5 月 18 日～21 日
 2. Ohno K
Three newly identified molecules that facilitate the formation of neuromuscular junction
XIIIth International Symposium on Cholinergic Mechanisms
Dubrovnik, Croatia (hybrid)
May 8-12, 2022
 3. Ohno K
Updates on congenital myasthenic syndromes
20th Asian Oceanian Myology Center Meeting
Jakarta, Indonesia (online)
July 9-12, 2022
- 学会発表
1. 小林道雄, 澤石由記夫, 大野欽司, 豊島至
サルブタモールが有効だった DOK-7 変異による先天性筋無力症候群の姉弟例
第 40 回日本神経治療学会、郡山 2022 年 11 月 2 日～4 日
 2. Kinoshita M, Hara W, Yoshida N, Miyachi A, Yamamoto M, Oji S, Fukaura H, Kaida K, Ohno K.
Painful muscle spasm with marked hypercreatine kinase (CK) level after more than twenty weeks of four pregnant women with myotonic dystrophy type 1 (DM1) and a pregnant woman with paramyotonia congenita (PMC).
13th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting, Osaka, Japan
June 22-25, 2022
 3. Shen XM, Nakata T, Mizuno S, Imoto I, Spilsbury PR, Swoboda KJ, Al-Mateen M, Selcen D, Ohno K, Engel AG.
Novel mutations at equivalent position in E-loops of AChR γ - and ϵ -subunits result in Escobar and congenital myasthenic syndrome respectively.
147th American Neurology Association Annual Meeting, Chicago, IL
Oct 22-25, 2022
 4. Farshadyeganeh P, Nazim M, Ohkawara B, Masuda A, Ito M, Takeda J, Ohe K, Ohno K.
Interactions between muscle glucose homeostasis and neuromuscular signal transduction – Lessons learned from lack of a muscle-specific long isoform of GFPT1 –

別紙1 分担研究報告書

European Human Genetics Conference 2022
(Platform), Vienna, Austria
Jun 11-14, 2022

なし

3 : その他

なし

H : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1 : 特許取得

なし

2 : 実用新案登録

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
希少難治性筋疾患に関する調査研究班 分担研究報告書

Danon 病の本邦での実態と病態解明に関する研究

研究分担者：杉江 和馬¹⁾

共同研究者：西森裕佳子¹⁾、山岡美奈子¹⁾、山中 愛¹⁾、清水宏紀¹⁾、
塩田 智¹⁾、七浦仁紀¹⁾、江浦信之¹⁾、森英一朗²⁾、
西野一三³⁾

- 1) 奈良県立医科大学 脳神経内科
- 2) 奈良県立医科大学 未来基礎医学
- 3) 国立精神・神経医療研究センター 疾病研究第一部

研究要旨

Danon 病は LAMP-2 の原発性欠損によりオートファジー異常を来す稀な疾患である。本邦での 2017 年全国調査以降に新規に見出された症例を加え、本邦での実態を明らかにした。2017 年以降、新規例として 6 家系 8 例（男性 6 例、女性 2 例）が見出され、本邦として 26 家系 47 例（男性 23 例、女性 24 例）となった。心筋症は全例で呈したが、LAMP-2 遺伝子のエクソン 9b に変異を有する症例では明らかに軽症であった。以上より、Danon 病症状の軽減とエクソン 9b 変異の関与が示唆された。

また、LAMP-2 欠損では相分離因子である G3BP1 を介してオートファジーの重要因子 mTORC1 の制御への関与が知られているが機序は不明である。オートファジーと相分離が多様な疾患発症に関与することを踏まえ、オートファジーでの LAMP-2 複合体の形成機序の解明を目指したところ、LAMP-2 と G3BP1 の直接的な相互作用は確認できなかった。しかし、LAMP-2 複合体には他因子の関与が示唆され、オートファジー制御に関与する LAMP-2 複合体構成因子の存在を指摘できた。今後引き続き、オートファジーにおける LAMP-2 の機能解明に向け研究を進める。

A : 研究目的

自己食空胞性ミオパチー (AVM) は、
原発性のライソゾーム機能異常からオートフ
ァジー機構の異常をきたす筋疾患で、筋鞘膜
の性質を有する特異な自己食空胞
(AVSF) を特徴とする。AVM のうち、

Danon 病は LAMP-2 (lysosome-associated
membrane protein type 2) の原発性欠損により
発症する稀な筋疾患である。今回、2017 年
の全国調査以降、新規に見出された症例を加
え、Danon 病の遺伝子型と表現型について明
らかにする。

また、LAMP-2 は、G3BP1 (Ras GTPase-activating protein-binding proteins 1) を介して、オートファジーの重要因子 mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1) の制御への関与が知られているが機序は不明である。オートファジーと相分離の多様な疾患発症への関与を踏まえ、本研究でオートファジーでの LAMP-2 複合体の形成機序の解明を目指す。

B : 研究方法

Danon病の特徴を見出すため、2017年全国調査以降に、新規に国立・精神神経医療研究センター (NCNP) で見出された例と本邦で報告された例を加え、本邦での実態を明らかにした。

また、プルダウンアッセイや共免疫沈降法を用いて、LAMP-2複合体の構成因子の分子間相互作用を生化学的に評価した。近接依存性標識法でLAMP-2の相互作用因子の分析も行った。

(倫理面への配慮)

Danon病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いただいて研究を遂行した。

C : 研究結果

2017年以降、新規例としてNCNPで4家系4例、本邦での論文報告で2家系4例、計6家系8例(男性6例、女性2例)が見出さ

れ、本邦として26家系47例(男性24例、女性24例)となった。4家系で新規の遺伝子変異を認めた。心筋症は全例で呈したが、LAMP-2 遺伝子のエクソン 9b に変異を有する症例では軽症であった。

一方、LAMP-2 と G3BP1 の直接的な相互作用は確認できず、LAMP-2 複合体には他因子の関与が示唆された。近接依存性標識法により細胞内で LAMP-2 に近接するビオチン化蛋白が確認でき、オートファジー制御に関する複合体構成因子が含まれる可能性がある。

D : 考察

AVM のうち、Danon 病は、男女ともに致死性心筋症による心不全や突然死が死因となる X 連鎖性顕性遺伝性筋疾患である。男性では 20 歳前後、女性では 30 歳前後に心臓移植を要する病態となる。今回、6 家系 8 例 (男性 6 例、女性 2 例) の新規症例を見出した。2 家系でエクソン 9b に変異を有し、男性患者の心筋障害はきわめて軽症であった。過去の本邦のエクソン 9b 変異例でも心筋症は軽度であった。エクソン 9 は 9a, 9b, 9c のサブタイプがあり、各々 LAMP-2A, 2B, 2C のアイソフォームを形成する。LAMP-2B が LAMP-2 の生体内での機能上重要とされるが、9b 変異が臨床症状の軽減と関与することとの機序は不明である。今後 LAMP-2B の機能を詳細に解明することで明らかにしていきたい。

基礎的研究においては、近年、オートファジーと相分離の多様な疾患発症への関与が報告され、この点を踏まえ、本研究でオートファジーでの LAMP-2 複合体の形成機序の解明を目指した。結果からは、相分離因子である

G3BP1 と LAMP-2 の直接的な相互作用は確認できなかったが、オートファジー制御に関与する LAMP-2 複合体構成因子の存在を指摘できた。今後は、さらなる病態解明に向けて、LAMP-2 の発現解析や相分離制御とオートファジーの関連について研究を進めていく予定である。

E : 結論

本研究では、本邦の Danon 病患者として 26 家系 47 例を見出し、エクソン 9b 変異による症状軽減への関与が示唆された。また、オートファジー制御に関与する LAMP-2 複合体構成因子の存在を指摘できた。引き続き、オートファジーにおける LAMP-2 の機能解明に向け研究を進める。

F : 健康危険情報

該当なし

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) Shiota T, Nagata R, Kikuchi S, Nanaura H, Matsubayashi M, Nakanishi M, Kobashigawa S, Isozumi N, Kiriyama T, Nagayama K, **Sugie K**, Yamashiro Y, Mori E. C9orf72-Derived Proline:Arginine Poly-Dipeptides Modulate Cytoskeleton and Mechanical Stress Response. *Front Cell Dev Biol.* 2022; 10: 750829.
- 2) Shiota T, Eura N, Hasegawa A, Kiriyama T, **Sugie K**. Pathological features of inflammatory myopathy as a

manifestation of chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Neuropathology.* 2022; 42(4): 309-314.

- 3) Mano T, Soyama S, **Sugie K**. Improvement in Tongue Pressure Precedes Improvement in Dysphagia in Dermatomyositis. *Clin Pract.* 2022; 12(5): 797-802.
- 4) **杉江和馬**. 筋病理から見た筋炎. *皮膚科.* 2023; 3(1): 40-48.
- 5) **杉江和馬**. 自己食空胞性ミオパチー: ダノン病とその類縁疾患. *医学のあゆみ.* 2022; 283(10): 951-957.
- 6) **杉江和馬**. ステロイド・IVIg で筋力回復が不良な皮膚筋炎・壊死性筋症難治性の皮膚筋炎・壊死性筋症. *Brain and Nerve.* 2022; 74(5): 537-544.

2 : 学会発表

- 1) Yamanaka A, Eura N, Shiota T, Yamaoka M, Nishimori Y, Iguchi N, Ozaki M, Nanaura H, Iwasa N, Kiriyama T, Izumi T, Kataoka H, **Sugie K**. Clinicopathological characteristics of 105 patients with idiopathic inflammatory myopathy based on muscle specific antibodies, The 27th International Hybrid Annual Congress of the World Muscle Society, Halifax, Nova Scotia, Canada, October 11-15, 2022.
- 2) **Sugie K**. Autophagy dysfunction in skeletal myopathies: Inclusion body myositis and Danon disease. 第 63 回日本神経学会学術大会、東京、2022 年 5 月.

- 3) 山中愛、江浦信之、西森裕佳子、塩田智、七浦仁紀、桐山敬生、泉哲石、形岡博史、杉江和馬。免疫介在性壊死性ミオパチーに関連する3抗体間での臨床病理学的差異。第63回日本神経学会学術大会、東京、2022年5月。
- 4) 尾崎麻希、眞野智生、山本佳史、井口直彦、岩佐直毅、太田浩世、室繁郎、杉江和馬。自覚する筋症状を認めない抗ARS抗体陽性間質性肺炎患者における針筋電図所見の検討。第63回日本神経学会学術大会、東京、

2022年5月。

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

シェーグレン症候群合併封入体筋炎症例の臨床病理学的解析

研究分担者：山下 賢^{1) 2)}

共同研究者：俵 望³⁾

- 1) 熊本大学大学院生命科学研究部脳神経内科学
- 2) 国際医療福祉大学成田病院脳神経内科
- 3) NHO 熊本再春医療センター脳神経内科

研究要旨

近年、シェーグレン症候群（SjS）と封入体筋炎（sIBM）は高頻度に合併し、SjS は sIBM の診断とは無関係に抗 cN1A 抗体と関連することが報告された。また SjS と sIBM を合併する 8 例中 7 例で抗 cN1A 抗体が陽性であったが、いずれの患者も免疫療法に持続的な応答は示さなかったとの報告もある。本研究の目的は、SjS および sIBM、抗 cN1A 抗体の関連性を明らかにすることによって、sIBM の診断および治療反応性における抗 cN1A 抗体の意義を解明することである。抗 cN1A 抗体の臨床研究に登録された 570 症例のうち、2011 年 ENMC IBM 診断基準を満たした 365 例に関して、SjS 合併および非合併例の臨床的特徴を比較した。診断基準を満たした 365 名のうち、27 名（7.4%）が生検と血清検査により SjS と診断されたのに対し、338 名は SjS の合併が否定もしくは十分な評価が行われていなかった。SjS 合併例では有意に女性が多く（ $p<0.0001$ ）、BMI が低く（ $p=0.0003$ ）、握力の左右差の絶対値が小さく（ $p=0.0345$ ）、CK が低値（ $p=0.001$ ）であった。一方、抗 cN1A 抗体陽性頻度に有意差なく、ステロイドやIVIg の治療頻度や有効性も有意差はみられなかった。すなわち抗 cN1A 抗体と SjS に明確な関連性は示されなかった。SjS 合併および非合併例の間で、抗 cN1A 抗体陽性の頻度に有意差はみられず、抗 cN1A 抗体の診断的意義は同等と考えられる。SjS 合併例の治療反応性は明確ではなく、さらなる前向きの評価が必要である。

A：研究目的

封入体筋炎（sIBM）は、高齢者に好発する炎症性筋疾患であり、遠位および近位筋の緩徐進行性の筋力低下と筋萎縮を特徴とする。本疾患に特異的な診断マーカーはなく、有効

な治療法は確立していないが、一部の症例では免疫療法に対する反応がみられることから、治療反応性に基づく層別化は重要と考える。

近年、シェーグレン症候群（SjS）と sIBM

は高頻度に合併し、SjS は sIBM の診断とは無関係に抗細胞質 5'-ヌクレオチダーゼ 1A (cN1A) 抗体と関連している可能性が示された (Levy *et al.*, 2022)。

本研究の目的は、SjS および sIBM、抗 cN1A 抗体の関連性を明らかにすることによって、sIBM の診断および治療反応性における抗 cN1A 抗体の意義を解明することである。

B : 研究方法

本研究では、2015 年 6 月から 2022 年 3 月までに臨床的に sIBM が疑われた連続 570 名を対象とした。抗 cN1A 抗体は、血清サンプルを用いてセルベースアッセイ法により定性的に評価した。そのうち、2011 年欧州神経筋センター (ENMC) 基準により、clinicopathologically defined、clinically defined、または possible sIBM に分類された患者について、以下の指標で臨床特性を評価した。すなわち診察時および発症時の年齢、女性比率、罹病期間、肥満度 (BMI)、初期症状、嚥下障害の有無、筋力低下分布 (膝伸展筋力<股屈曲筋力、深指屈曲筋力<肩外転筋力)、握力左右差の絶対値、血清クレアチンキナーゼ (CK) 値、抗 C 型肝炎ウイルス (HCV) と抗成人 T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) 抗体の有無、2016 年 ACR/EULAR 分類基準に基づくシェーグレン症候群 (SjS) の合併、肺機能検査 (%肺活量、%強制肺活量)、心機能検査 (駆出率、%左室内径短縮率)、封入体筋炎機能評価スケールスコア、ステロイドおよび免疫グロブリン静注療法 (IVIg) の使用および有効性を評価した。治療効果は、主治医の判断により、CK の低下または MRC 筋力スコアの

1 以上の改善と定義した。

(倫理面への配慮)

研究目的のための血清、筋肉サンプルおよび臨床記録の使用については、ヘルシンキ宣言に従って、すべての参加者から書面によるインフォームドコンセントを得た。本研究は、熊本大学病院の倫理委員会 (No.937 および No.1124) により承認された。

C : 研究結果

2011 年 ENMC IBM 診断基準を満たした 365 名のうち、27 名 (7.4%) が生検と血清学的検査に基づいて SjS と診断されたのに対し、338 名は SjS の合併が否定もしくは十分に検索されていなかった。SjS 合併群と非合併群の臨床特性を比較したところ、SjS 合併群では、女性比率 ($p<0.0001$ 、カイ二乗検定)、BMI ($p=0.0003$ 、カイ二乗検定)、握力左右差の絶対値 ($p=0.0345$ 、カイ二乗検定)、CK ($p=0.001$ 、カイ二乗検定) に有意差が見られ、おそらく女性優位であることを反映した。さらに、cN1A 抗体陽性患者の割合は、SjS を合併群と非合併群の間で同様であった。さらに、ステロイドまたは IVIg の使用頻度、ステロイドまたは IVIg の有効性は、両群間で同様であった。

D : 考察

抗 cN1A 抗体は sIBM に唯一見出されている自己抗体である。抗 cN1A 抗体陽性患者と陰性患者を比較すると、陽性患者では球麻痺や顔面筋障害、呼吸筋障害などの運動機能障害がより強くみられた (Goyal *et al.*, 2016)。より大規模な症例の解析では、本抗体陽性患者は生存期間が短く、発症時に上肢近位筋の筋力低下を呈する頻度が低く、病理学的にチト

クローム酸化酵素欠損線維の頻度が高いことが明らかにされた(Lilleker *et al.*, 2017)。われわれの筋病理学的解析では、本抗体陽性患者ではタイプ II 筋線維優位の筋萎縮が顕著であった。精度の高い完全長ヒト組換え蛋白を用いた addressable laser bead

immunoassay (ALBIA) 法による測定では、IBM 患者の 48.8%が抗 NT5C1A 抗体陽性であり、IBM に対する本抗体の感度、特異度、陽性適中率、陰性適中率は、それぞれ 0.49、0.92、0.29、0.96 であった(Amlani *et al.*, 2019)。一方、疾患対照群および健常対照群の両方で低頻度であった。単変量解析では筋力低下が強い IBM 患者は本抗体が陽性である可能性が高かったが、多変量解析では有意ではなかった。種々の測定法による解析を総合すると、IBM 患者における本抗体の感度は 32-76%程度であるが、特異度は 87-100%と高く、診断への有用性が期待されている

一方、最近の報告では、本抗体陽性患者の臨床的特徴は高齢で発症することや、病理学的に高度の炎症性変化を呈することにとどまる。さらに SjS や全身性エリテマトーデス、皮膚筋炎、免疫介在性壊死性ミオパチー、若年性筋炎においても検出されることが報告されており、とくに筋炎患者において SjS と sIBM は高頻度に合併し、sIBM の診断とは無関係に抗 cN1A 抗体と関連することが示され、SjS を有する筋炎患者において sIBM の診断を目的とする抗 cN1A 抗体測定の意義は限定的と考えられている(Levy *et al.*, 2022)。SjS と sIBM を合併する 8 例中 7 例で抗 cN1A 抗体が陽性であったが、いずれの患者も免疫抑制療法に持続的な応答は示さなかった(Chung *et al.*, 2021)。また本抗体は

若年性筋炎に比較的高頻度に検出され、sIBM に関わらず、呼吸器症状が強く、入院回数が多く、より多くの薬剤を必要とするなど筋炎の重症度に影響する可能性も示された(Yeker *et al.*, 2018)。すなわち本抗体と臨床症状との関連性は依然議論の余地がある。しかし本研究結果では、cN1A 抗体と SjS の間に有意な関連は認めず、SjS 合併および非合併例で、抗 cN1A 抗体の診断的意義は同様と考えられる。

E: 結論

抗 cN1A 抗体と SjS に明確な関連性は示されなかった。SjS 合併および非合併例の間で、抗 cN1A 抗体陽性の頻度に有意差はみられず、抗 cN1A 抗体の診断的意義は同様と考えられる。SjS 合併例の治療反応性は明確ではなく、さらなる前向きの評価が必要である。

参考文献

- Levy D, Nespola B, Giannini M, et al. Significance of Sjogren's syndrome and anti-cN1A antibody in myositis patients. *Rheumatology (Oxford)* (2022) 61:756-63.
- Goyal NA, Cash TM, Alam U, et al. Seropositivity for NT5c1A antibody in sporadic inclusion body myositis predicts more severe motor, bulbar and respiratory involvement. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (2016) 87:373-8.
- Lilleker JB, Rietveld A, Pye SR, et al. Cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoantibody profile and clinical characteristics in inclusion body myositis. *Ann Rheum Dis* (2017) 76:862-8.
- Amlani A, Choi MY, Tarnopolsky M, et al. Anti-NT5c1A Autoantibodies as Biomarkers

in Inclusion Body Myositis. Front Immunol (2019) 10:745.

Chung SH, Bent EI, Weiss MD, Gardner GC. Sporadic inclusion body myositis and primary Sjogren's syndrome: an overlooked diagnosis. Clin Rheumatol (2021) 40:4089-94.

Yeker RM, Pinal-Fernandez I, Kishi T, et al. Anti-NT5C1A autoantibodies are associated with more severe disease in patients with juvenile myositis. Ann Rheum Dis (2018) 77:714-9.

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. Matsui N., Takahara M., Yamazaki H., Takamatsu N., Osaki Y., Kaji R., Nishino I., Yamashita S., Izumi Y. Case of anti-NT5c1A antibody-seropositive inclusion body myositis associated with severe dysphagia and prominent forearm weakness. Neurol Clin Neurosci. (2023) 11:46-48.
2. Yamasaki Y., Mukaino A., Yamashita S., Takeuchi Y., Tawara N., Yoshida R., Honda Y., Yamashita T., Kakimoto A., Ueyama H., Ando Y. Macroglossia in rapidly progressive inclusion body

myositis. Neuropathology (2023) in press.

3. Yamashita S., Nagatoshi A., Takeuchi Y., Nishino I., Ueda M. Myopathic changes caused by protein aggregates in adult-onset spinal muscular atrophy. Neuropathology (2023) in press.

2 : 学会発表

1. Yamashita S., Tawara N., Hara K. Localization of cN1A on sarcoplasmic membrane in myofibers of inclusion body myositis. 第63回日本神経学会総会, May 19, 2022, 東京 (口演)
2. 太田怜子、漆葉章典、中島大輔、森島亮、長岡詩子、菅谷慶三、長尾雅裕、宮本和人、松原四郎、小森隆司、中田安浩、山下賢、高橋一司. 横突棘筋と大内転筋にアクセントのある罹患筋分布を示した封入体筋炎の一例. 第63回日本神経病理学会総会, June 25, 2022, 京都 (ポスター)

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

Ⅲ. 協力者研究報書

嚥下障害型の封入体筋炎の臨床的特徴

研究分担者：森まどか¹⁾

共同研究者：平賢一郎¹⁾，山本敏之¹⁾，大矢寧¹⁾，西野一三^{2, 3)}，
高橋祐二¹⁾

- 1) 国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科診療部
- 2) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾患研究第一部
- 3) 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

研究要旨

IBM（封入体筋炎）はしばしば嚥下障害が目立つ臨床型が存在することは知られていた。しかし、その臨床型の特徴は明らかではなかった。本検討の目的は、嚥下障害型 IBM の臨床的特徴を示すことである。45 例の IBM に対して、診断時に行った MRI 検査について脂肪浸潤（T1 強調像）及び炎症所見（STIR）を定量した。嚥下造影で観察される CPB（cricopharyngeal bar）のある IBM（IBM-CPB(+)）と CPB のない IBM（IBM-CPB(-)）とで比較した。結果は、IBM-CPB(+)は IBM-CPB(-)と比較して、診断時の年齢が高く、頻繁な窒息感を伴う嚥下困難感、膝伸展の筋力が高かった。MRI 定量所見として、T1 強調像における脂肪浸潤を示す IntraMAT（intramuscular adipose tissue）は、IBM-CPB(+)で有意に低値を示した。具体的に、rectus femoris (2.6% vs 10.3%, $p < 0.05$), vastus lateralis (27.8% vs 57.1%, $p < 0.01$), vastus intermedius (17.6% vs 43.5%, $p < 0.01$), vastus medialis (14.1% vs 39.1%, $p < 0.01$), deltoid (5.5% vs 18.7%, $p < 0.05$), biceps (6.6% vs 21.1%, $p < 0.001$), 及び triceps (12.9% vs 33.0%, $p < 0.05$)であった。炎症所見（STIR）は両群で有意差は認めなかった。嚥下障害型 IBM の特徴は、診断時の年齢が高く、膝伸展の筋力が強く、四肢で脂肪浸潤が少ないことである。これは、IBM の表現型の多様性を示唆しており、特に高齢者の嚥下障害の鑑別に

以下、10 ポイント

A : 研究目的

私たちはこれまで、CPB (cricopharyngeal bar) が IBM (封入体筋炎) の 3 分の 1 で観察され、CPB は誤嚥性肺炎を伴った予後不良因子であることを示した。それゆえ、CPB のある IBM はサブタイプではないかと仮説を立てた。本検討では、嚥下造影 (VF) で観察される CPB (cricopharyngeal bar) のある IBM (IBM-CPB(+)) と CPB のない IBM (IBM-CPB(-)) とで比較を行い、臨床的特徴を明らかにすることを目的とした。

B : 研究方法

後方視的な横断研究において、2010 年 12 月から 2020 年 3 月までの期間で、当科診断例 IBM は 45 例 (clinico-pathologically defined IBM, ENMC 2013) について調べた。

診断時に行った MRI 検査は大腿または上肢であった。MRI について定量的に解析を行うために、ImageJ を用いた。各筋を手動でセグメントした。脂肪浸潤について T1 強調像から IntraMAT (intramuscular adipose tissue) を定量した。標準的な VF で、CPB を確認した。

(倫理面への配慮) 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に則り行った。

C : 研究結果

IBM-CPB(+)) は IBM-CPB(-)) と比較して、診断時の年齢が高く、頻繁な窒息感を伴う嚥下困難感、膝伸展の筋力が高かった。

IntraMAT は、IBM-CPB(+)) で有意に低値を示した。具体的に、rectus femoris (2.6% vs 10.3%, $p < 0.05$), vastus lateralis (27.8% vs 57.1%, $p < 0.01$), vastus intermedius

(17.6% vs 43.5%, $p < 0.01$), vastus medialis (14.1% vs 39.1%, $p < 0.01$), deltoid (5.5% vs 18.7%, $p < 0.05$), biceps (6.6% vs 21.1%, $p < 0.001$), 及び triceps (12.9% vs 33.0%, $p < 0.05$) であった。

炎症所見 (STIR) は両群で有意差は認めなかった。

IBM-CPB(+)) における IntraMAT は、罹病期間 ($r = 0.59$, $p = 0.02$) 及び IBMFRS の下肢項目 ($r = -0.53$, $p = 0.03$) と関連した。

IBM-CPB(-)) における IntraMAT は、罹病期間 ($r = 0.64$, $p < 0.001$), 6 分間歩行 ($r = -0.53$, $p < 0.05$), IBMFRS ($r = -0.53$, $p < 0.01$), IBMFRS の下肢項目 ($r = -0.45$, $p < 0.05$), 膝伸展 ($r = -0.55$, $p < 0.05$) と関連した。

D : 考察

本検討から、IBM の臨床型の多様性が示された。嚥下障害型 IBM は四肢での脂肪浸潤が目立たず、特に IBM で感度の高い大腿四頭筋での脂肪浸潤所見が目立たないことから、誤診される可能性がある。高齢者の嚥下障害の鑑別に IBM を常に念頭に入れる必要がある。

CPB は輪状咽頭筋の著名な線維化を示し、上部食道アカラシアを伴う。本検討から、IBM-CPB(+)) は IBM-CPB(-)) と比較して、四肢で脂肪浸潤が少なかったことから、嚥下障害型 IBM (IBM-CPB(+)) は非嚥下障害型 IBM (四肢型, IBM-CPB(-)) と病変の広がり方に違いがあるかもしれない。

脂肪浸潤については Dixon 法を用いた定量が報告され、IBM における脂肪浸潤と各種臨床項目とで関連することが知られる。今回の私たちの定量法でも同様の再現性が得ら

別紙1 分担研究報告書（見本）

* ページ数は適宜増やしてください

れ、本検討で行った IntraMAT の定量は信頼できる解析と考えられた。

E：結論

嚥下障害型 IBM の特徴は、診断時の年齢が高く、膝伸展の筋力が強く、四肢で脂肪浸潤が少ないことである。これは、IBM の表現型の多様性を示唆しており、特に高齢者の嚥下障害の鑑別に IBM を含めるべきである。

F：健康危険情報

特になし。

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

Kenichiro Taira, Madoka Mori-Yoshimura, Toshiyuki Yamamoto, Yasushi Oya ,Ichizo Nishino, Yuji Takahashi. Clinical characteristics of dysphagic inclusion body myositis. *Neuromuscul Disord.* 2023

Feb;33(2):133-138.

2：学会発表

Kenichiro Taira, Madoka Mori-Yoshimura, Toshiyuki Yamamoto, Yasushi Oya ,Ichizo Nishino, Yuji Takahashi. Less fatty infiltration of the quadriceps muscles in dysphagic inclusion body myositis (P15-13.006). American Academy of Neurology (AAN) 74th Annual Meeting.

May 03, 2022; 98 (18 Supplement).

WEDNESDAY, APRIL 6, Seattle, USA.

H：知的所有権の取得状況（予定を含む）

1：特許取得

なし

2：実用新案登録

なし

3：その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
希少難治性筋疾患に関する調査研究班 分担研究報告書

封入体筋炎における GDF-15 とサイトカインに関する研究

研究分担者：橋口昭大¹⁾

共同研究者：穂原貴裕¹⁾、吉村明子²⁾、平松有¹⁾、岡本裕嗣³⁾
高嶋博²⁾

- 1) 鹿児島大学病院 脳・神経センター 脳神経内科
- 2) 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 脳神経内科・老年病学
- 3) 鹿児島大学医学部保健学科理学療法学専攻 基礎理学療法講座

研究要旨

封入体筋炎(IBM)におけるサイトカインとミトコンドリアが関連する病態について研究した。封入体筋炎の診断技術の向上に寄与できる可能性を探るため封入体筋炎を含む筋疾患において様々なサイトカインの解析およびミトコンドリア病のバイオマーカーとされる GDF-15 との相関について解析した。

A：研究目的

過去の本研究班で IBM 患者にはミトコンドリア DNA の多重欠失がみられ、ミトコンドリア病のバイオマーカーと言われる GDF-15 (growth/differentiation factor 15) は IBM において発症早期から他の炎症性筋疾患と比較して高い傾向があることを報告した。IBM を含めた炎症性筋疾患において GDF-15 とインターロイキンらサイトカインとの関連を解析し診断の一助になりうるかどうか検討する。現在進行形の研究でありその途中経過を報告する。

B：研究方法

それぞれ筋病理検査にて確定診断のついた孤発性封入体筋炎 (IBM) 4 例、皮膚筋炎 (DM) 2 例、自己免疫介在性壊死性筋症 (IMNM) 2 例、ミトコンドリアミオパチー (MM) 4 例の患者の血清から GDF-15 および IL, IFN, EGF, TNF, VEGF らを測定し解析する。また、マイトカイン測定の前準備実験を開始した。

(倫理面への配慮)

筋生検実施時に病理解析、組織検体の保存および関連する解析 (遺伝子解析を除く) の同意を書面で得ている。個人情報保護法に基づき個人情報は厳格に管理している。

C：研究結果

IBM および MM の GDF-15 は DM, IMNM のそれより高い傾向があった。炎症性サイトカインに関しては MM 以外で高い傾向はあったが特異的な特徴は見出せていない。

D：考察

今回は前準備実験が主体で症例数が少なく炎症性サイトカインに一定の見解は得られなかったが、サイトカイン及びマイトカインの測定系は確立できており、今後症例数を増やした解析を検討している。

E：結論

GDF-15 と各種サイトカインとの関連を解析したが、明らかな関連性は見出せていない。今後、それぞれの症例を増やしてサイトカインに加えてマイトカインの測定を予定している。IBM における GDF-15、サイトカイン、マイトカインとの関連を明らかにしていく。

F：健康危険情報

なし

G：研究発表

1：論文発表

なし

2：学会発表

なし

H：知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1：特許取得

なし

2：実用新案登録

なし

3：その他

なし

当院における IBM 患者のまとめ

研究分担者：梶 龍児¹⁾

共同研究者：松井尚子¹⁾、山崎博輝²⁾、高松直子²⁾、山下賢³⁾、
西野一三⁴⁾、和泉唯信²⁾

- 1) 国立大学法人徳島大学 臨床神経科学分野
- 2) 徳島大学病院 脳神経内科
- 3) 学校法人国際医療福祉大学 成田病院 脳神経内科
- 4) 国立精神・神経医療研究センター 疾病研究部第一部

研究要旨

IBM の筋超音波所見での深指屈筋 (FDP) / 尺側手根屈筋 (FCU)、腓腹筋 (GC) / ヒラメ筋 (Sol) のエコー輝度差は、長期経過により消失する可能性があり、重症度評価の一助となる可能性がある。また、著明な嚥下障害をきたした抗 NT5C1A 抗体陽性例を経験したので、あわせて報告する。

A : 研究目的

封入体筋炎 (IBM) では、筋超音波検査で深指屈筋 (FDP) / 尺側手根屈筋 (FCU) ならびに腓腹筋 (GC) / ヒラメ筋 (Sol) のエコー輝度の明暗差 (以下輝度差) がみられ補助診断に有用であると報告されている。今回、IBM に特徴的な筋超音波所見の特徴が長期経過によりいかに変化するかを調査した。また、著明な嚥下障害をきたした抗 NT5C1A 抗体陽性例を経験したので、あわせて報告する。

B : 研究方法

2011 年 12 月から 2017 年 12 月までに、当院にて筋生検にて IBM と診断 (clinicopathologically defined IBM, ENMC 2013) し、かつ診断時に筋超音波検査を施行し、現在も通院中である 6 名を対象とした。発症時年齢は 58-65 歳、発症から診断までは 2-12 年、発症から 7-17 年まで追跡した。筋の輝度は Heckmatt の score を用い、FDP と FCU ならびに GC と Sol の score の差があれば筋輝度差あり、score が同等の場合は筋輝度差なしとした。

C : 研究結果

(1) 筋超音波所見の長期経過：診断時には全例で FDP/FCU、GC/So1 の輝度差がみられた。

FCU、So1 の輝度上昇は発症から7年以降で見られはじめるが輝度差は持続した。発症から10年以上経過した2例において11年でFDP/FCUに、17年でGC/So1に輝度差の消失がみられた。GCとSo1の筋輝度差が消失した時点のIBMFRSの歩行項目は1と0であり、重度の歩行機能障害を反映していると考えた。

(2) 85歳女性。美容師で82歳時ハサミを使いづらくなった。82歳より嚥下困難が出現。神経学的に著明な嚥下障害と、両前腕屈筋群の筋力低下ならびに筋萎縮を認めたが、下肢の筋力は正常であった。筋生検の結果、縁取り空胞は目立たないものの、非壊死性線維内部へのリンパ球浸潤があり、IBMと診断した。その後抗NT5C1A抗体が陽性と判明した。抗NT5C1A抗体陽性例では嚥下障害に加えて、前腕屈筋と大腿四頭筋の筋力解離と関連している可能性がある。

D : 考察

本邦のIBMの調査 (Suzuki N, et al. Orphanet J Rare Dis 2019) では、上肢では7.2年で洗顔不能に、下肢では7.3-13.7年で車椅子・電動車椅子が必要になると報告されているが、今回示したFCU、So1のエコー輝度上昇がみられはじめる時期と概ね合致する。

E : 結論

IBMの筋超音波所見でのFDP/FCU、GC/So1の輝度差は長期経過により消失する可能性があり、IBM患者の重症度評価の一助となる可能

性がある。抗NT5C1A抗体陽性例の臨床像は今後のさらなる症例の蓄積が待たれる。

F : 健康危険情報

なし

G : 研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

1 : 論文発表

Naoko Matsui, Mika Takahara, Hiroki Yamazaki, Naoko Takamatsu, Yusuke Osaki, Ryuji Kaji, Ichizo Nishino, Satoshi Yamashita, Yuishin Izumi
A case of anti-NT5c1A antibody-seropositive inclusion body myositis associated with severe dysphagia and prominent forearm weakness
Neurol Clin Neurosci 2023;11:46-48

2 : 学会発表

なし

H : 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1 : 特許取得

なし

2 : 実用新案登録

なし

3 : その他