

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 ミオパチーは特発性血小板減少症・睡眠時無呼吸症候群を合併しやすいこと、定期的な血液検査や睡眠評価の重要性が示唆された。
3. 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。
4. INI は、OPMD では筋核に、NOTCH2NLC 異常による OPDM では間質に、CGG リピート病である OPDM では皮膚にみられた。この相違は、原因遺伝子やリピートモチーフ、リピート部位 (coding region/non-coding region) に由来している可能性があり、INI リピート伸長と疾患形成メカニズムとの関係性を示

唆する重要な所見であると考えられた。

5. 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。
6. 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、さらには将来の治験における有用な指標になると考えられる。
7. 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。
8. 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。検出されたバリエーションが THD 外に位置し、かつこれまで報告がないバリエーションの場合では、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. OPDM の筋病理、皮膚病理における特徴を核内封入体の観点から明らかにした。
4. 本邦において RILPL1 異常による OPDM

は極めてまれであることが示唆された。

5. 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。
6. OPDM 患者における CGG リピートの長さ・配列は多様性に富むことを明らかにした。
7. 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、その中にも 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, Shimizu R, Takahashi Y, Oda Y, Yoshida S, Ishihara N, Nishino I, Nakamura H, Mori-Yoshimura M: Extra-muscular manifestations in GNE myopathy patients: A nationwide repository questionnaire survey in Japan. *Clin Neurol Neurosurg.* 2021 Nov 25;212:107057.
2. Yoshioka W, Noguchi S, Mori-Yoshimura M, Nishino I: Advances in understanding of the natural history, mechanism, extra-muscular manifestations and treatment of GNE myopathy. *Neurol Clin Neurosci.* 2022:00:000-000. [Online ahead of print]
3. Ogasawara M, Eura N, Nagaoka U, Sato T, Arahata H, Hayashi T, Okamoto T, Takahashi Y, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Nakamura A, Shimazaki R, Sano T, Kumutpongpanich T, Minami N, Hayashi S, Noguchi S, Iida A, Takao M, Nishino I. Intranuclear inclusions in skin biopsies are not limited to neuronal intranuclear inclusion disease but can also be seen in oculopharyngodistal myopathy. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2022 Apr;48(3):e12787.
4. 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
5. Inoue M, Saito Y, Yonekawa T, Ogawa M, Iida A, Nishino I, Noguchi S. Causative variant profile of collagen VI-related dystrophy in Japan. *Orphanet J Rare Dis.* 2021 Jun 24;16(1):284.

6. Mori-Yoshimura M, Kimura A, Tsuru A, Yajima H, Segawa K, Mizuno K, Oya Y, Noguchi S, Nishino I, Takahashi Y: Assessment of thrombocytopenia, sleep apnea, and cardiac involvement in GNE myopathy patients. *Muscle Nerve*. 65(3):284-290. Mar, 2022
 7. Yoshioka W, Noguchi S, Mori-Yoshimura M, Nishino I: Advances in understanding of the natural history, mechanism, extra-muscular manifestations and treatment of GNE myopathy. *Neurol Clin Neurosci*. 2022; 10(6):289-297.
 8. 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
 9. 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.
 10. 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.
 11. Eura N, Ogasawara M, Nishino I. Recent topics of oculopharyngodistal myopathy. *Neurol Clin Neurosci*. 2022; 00: 1- 6.
- 2 : 学会発表
1. Yoshioka W, Sonehara K, Iida A, Oya Y, Kurashige T, Okubo M, Ogawa M, Matsuda F, Higasa K, Mori-Yoshimura M, Nakamura H, Hayashi S, Okada Y, Noguchi S, Nishino I: GNE pathogenic variant p.D207V rarely leads to myopathy in homozygotes; GNE might not be the only pathogenic determinant of GNE myopathy. 26th International Congress of the World Muscle Society, Prague (Online), 9.23, 2021(9.20-9.24) Oral. Elsevier for Best Oral Presentation.
 2. Yoshioka W, Miyasaka N, Shimizu R, Takahashi Y, Oda Y, Yoshida S, Ishihara N, Nishino I, Nakamura H, Mori-Yoshimura M: Complications and pregnancy in GNE myopathy patients: A nationwide repository survey in Japan. 第 62 回日本神経学会学術大会 (国立京都国際会館), 京都市, 5.19, 2021 (5.19-5.22) Oral
 3. 江浦信之, 小笠原真志, 林晋一郎, 野口 悟, 西野一三. 核内封入体によって眼咽頭型筋ジストロフィーと眼咽頭遠位型ミオパチーは鑑別しうる 第 7 回日本筋学会学術集会(京都大学

- 百周年時計台記念館) , 京都市,
(12.11, 2021)
4. 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. Elsevier Runner-up
awards.
5. 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
- 6.
- 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

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。本研究では、平成23年度に実施した全国調査、ならびに平成28年度の患者追跡調査に引き続き、令和2年度に再度、追跡調査を実施した。その結果、新たに1例のMSS患者が追加され、本邦の*SILI*変異を有するMSS27例の長期経過を明らかにすることができた。今後、本研究成果に基づいた診断基準の見直しが必要と考えられた。

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*SILI*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年度に実施した患者追跡調査によって、MSSの臨床経過についての情報を得ることが出来た。

本研究班では、新規患者登録を進めるとともに、再度、患者追跡調査を実施し、MSSの長期経過を明らかにすることを目的とした。

B：研究方法

平成23年度に本事業において実施したMSS患者全国調査をもとに平成28年度実施した患者追跡調査で臨床情報の得られている、あるいは得られる可能性のある患者、ならびに本研究班で新たに判明した患者の主治医に対し、平成28年度追跡調査で実施したものと同一質問用紙に追記する形で追跡調査を実施し、MSSの長期経過についての検討を行った。

（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、*SIL1* 変異を有する MSS 患者計 27 例の長期臨床情報をまとめた。その結果、24/27 例 (88.8%) が *SIL1* c.936dupG (p.L313fsx39) を有していることが明らかとなった。

また、*SIL1* 変異を有する MSS 患者計 27 例の臨床情報をまとめた結果、MSS の臨床症状の4主徴のうち、1) 白内障の出現は出生後1~6歳であり、両側急速進行性で早期に手術が必須となる。出生時あるいは新生児期に発症する「先天性白内障」よりも成長につれて発症・進行する「発達白内障」という用語の方が適していると考えられた。2) 小脳症状は緩徐進行性で、画像上小脳萎縮は100%認められ、診断価値が高い。3) 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。4) 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、という特徴が明らかとなった。また、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ことも明らかとなった。

さらに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明らかとなった。

D: 考察

症例の蓄積に伴い、MSS の長期経過や軽症例の存在が明らかとなった。この結果を踏まえ、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 は経過の長い超希少難治性疾患であり、長期的に患者登録を継続する必要性がある。

また、今回の追跡調査により60歳代の患者情報も得ることができ、長期経過を明らかにすることが可能となった。今後も、定期的に追跡調査を実施していく必要がある。また、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

- Ono H, Suzuki N, Kanno S, Kawahara G, Izumi R, Takahashi T, Kitajima Y, Osana S, Nakamura N, Akiyama T, Ikeda K, Shijo T, Mitsuzawa S, Nagatomi R, Araki N, Yasui A, Warita H, Hayashi YK, Miyake K, Aoki M. AMPK complex activation promotes sarcolemmal repair in dysferlinopathy. *Mol Ther* 2020;28:1133-1153.
- Ueta Y, Akiba Y, Yamazaki J, Okubo Y, Taguchi T, Terashi H, Hayashi YK, Aizawa H. Cerebral infarction and myalgia in a 75-year-old man with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Intern Med* 2020; 59: 3089-3092.

2: 学会発表

- YK Hayashi. Long-term prognosis of Marinesco-Sjögren syndrome (MSS). 第66回日本人類遺伝学会 2021.10.14 パシフィック横浜 (ハイブリッド)

- 林由起子. 多様性に見る骨格筋研究の魅力. 第 23 回日本骨粗鬆症学会・第 39 回日本骨代謝学会学術集会 合同シンポジウム
2021. 10. 8 神戸 (ハイブリッド)
- 林由起子: 成人でみられる先天性ミオパチーの診断と治療へのアプローチ. 第 61 回日本神経学会学術大会 シンポジウム
2020. 8. 31-9. 2 (8/31) 岡山 (オンライン)

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 総合研究報告書
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験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する。

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名のみの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な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。

E: 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.

なし

3 : その他

なし

2 : 学会発表

なし

F : 知的所有権の取得状況

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 総合研究報告書
分担研究報告書

骨格筋チャネル病の調査研究

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：令和2年度から4年度の3年間にわたり、本邦における骨格筋チャネル病の調査研究を通じて、本邦の疫学、遺伝学的背景に関する考察、QOLに関するデータの収集を行うとともに、非典型的な表現型を示した骨格筋チャネル病の症例解析の蓄積を行った。本邦における筋チャネル病の全体像を捉えることができつつある一方で、その多彩な表現型の広がりを示す貴重な症例群の存在が明らかとなった。特に生下時から強い症状を呈する症例については、小児神経専門医などとの連携も重要であることが示唆された。最新の知見を追記した診療の手引きの第二版の作成（日本神経学会承認）に加え、令和4年度より「非ジストロフィー性ミオトニー症候群」と「家族性周期性四肢麻痺」の遺伝子検査が保険収載になったことにより、筋チャネル病の診療の充実が図られつつある。生命を脅かされる可能性の低い疾患と考えられていた筋チャネル病には、生下時からの症状で生命の危険にさらされる症例があることや、QOL調査を通じて筋チャネル病のアンメットニーズが明らかにされたことで、本邦の筋チャネル病の継続的な調査研究の重要性が明らかとなった。

A：研究目的

筋チャネル病は、骨格筋に発現するイオンチャ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。本邦での筋チャネル病におけ

る遺伝子変異の多様性やそのQOLについて、過去には体系的調査はされていなかった。本研究は、本邦の筋チャネル病の実態を把握することを目的とし、①本邦の筋チャネ

ル病の疫学調査、②本邦の筋チャンネル病患者の QOL について質問紙票を用いた方法と、研究への患者参画を実現した Rudy Japan と呼ばれるレジストリを用いた方法の二種類による調査、③本邦の筋チャンネル病、特に周期性四肢麻痺に共通する遺伝学的背景に関する調査、④本邦における非典型的な表現型を呈する筋チャンネル病症例の解析調査、の大きく 4 つの調査を行った。調査を進める中で、本邦と海外での筋チャンネル病に関する最新知見を追記した⑤筋チャンネル病・診療の手引き第 2 版の作成を行った。

B：研究方法

①本邦の疫学調査について：本邦で 1996 年 4 月より 2016 年 12 月末までに遺伝子検査を実施されてきた症例を集計した。

②本邦の筋チャンネル病患者の QOL 調査：上記①の疫学調査のうち、同意を得られた 41 例に対して、質問紙による QOL 評価を行った。ダイナミックコンセントの概念を実装した患者参加型患者レジストリーである Rudy Japan を 2017 年以来運用し、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。

③本邦の周期性四肢麻痺に共通する遺伝学的背景に関する調査：①の疫学研究での遺伝子解析によって変異を同定しえなかった 43 例の孤発性周期性四肢麻痺 (SPP) について、既報の疾患感受性一塩基多型 (SNV) の有無について検討した。さらに、SPP で共通して見られた疾患感受性 SNV について、家族性低カリウム性周期性四肢麻痺 (HypoPP) 確定診断例を対象として解析を行い、SPP の疾患感受性 SNV が、臨床表現型に与えて

いる影響について検討した。

④本邦における非典型的な表現型を呈する筋チャンネル病症例の解析調査：本調査研究の中で見出した、非典型的な表現型や遺伝子変化を呈した個々の症例について、臨床像と病態について検討を行った。

⑤筋チャンネル病診療の手引きの改訂：海外の文献を調査し新しい知見を収集するとともに、循環器内科医にも参画を依頼し、第二版の改訂作業を進めた。

(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

①本邦の疫学調査について：本邦において 105 例の遺伝子確定された家系を同定し、海外英文誌に報告した (論文発表 3)。欧米の報告に比べて、常染色体顕性遺伝性の先天性ミオトニーの割合が多く (67%)、その変異

も本邦特有のものを多く認めた。また、*SCN4A* 遺伝子変異による低カリウム性周期性四肢麻痺 (HypoPP) の割合が多かった (43%)。

②本邦の筋チャンネル病患者の QOL 調査：質問紙票による QOL 調査では、QOL に与える影響について、筋力低下、疲労、ミオトニーが主たる因子である傾向が見られた。一方、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 では、骨格筋チャンネル病患者の登録を進めてきており、その取り組みを海外英文誌に報告した

(論文発表 1)。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参加者より得た QOL 回答データを抽出し、解析を行った。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。今後、質問紙票による QOL 調査と、Rudy Japan での QOL 調査の比較検証を進める予定である。

③本邦の周期性四肢麻痺に共通する遺伝学的背景に関する調査：遺伝子確定に至らなかった 43 例の孤発性周期性四肢麻痺 (SPP) について、既報の 9 つの疾患感受性 SNV について解析をしたところ、9 つすべてが疾患感受性を示した。このことは、遺伝学的解析でも変異を同定できない SPP において、共通する遺伝学的背景が潜在する可能性を示し、海外英文誌に報告した (論文発表 4)。一方、筋チャンネル病の症状は多彩で、同一変異をもつ患者間でも、表現型が異なることが多い。原因遺伝子内の変異以外にも、他の遺伝因子や環境因子など複数の因子が表現型を修飾していると考えられ、上記疾患感受性 SNV がその修飾因子である可能性を検証する目的で、低カリウム性周期性四肢麻痺

(HypoPP) 確定診断例 27 例 (HypoPP1(CACNA1S 変異)17 例、HypoPP2 (SCN4A 変異) 10 例) を対象として、rs312732、rs312707 および rs723498 の 3 つの SNV について解析を行った。その結果、HypoPP2 において、rs312732 のリスクアレル頻度は有意に高かったが、発症年齢や重症度との関連を示唆するデータは得られなかった。

④本邦における非典型的な表現型を呈する筋チャンネル病症例の解析調査：また、本邦での希少な症例として、従来の病

態仮説に基づかない HypoPP 例 (論文発表 2)、新生児期に強いミオトニーを呈する症例 (論文発表 5)、複数の変異をもつことで表現型が変化する周期性四肢麻痺 (論文発表 10)、温熱で悪化する高カリウム性周期性四肢麻痺 (HyperPP) 例 (論文発表 12) の臨床像と病態メカニズムの解明を行った。

⑤筋チャンネル病診療の手引きの改訂：④で得られた本邦での非典型症例の情報も含めて、「筋チャンネル病 診療の手引き」を改訂した (第二版)。編集協力者として、滋賀医科大学アジア疫学研究センター・堀江稔特任教授にも参画頂き、Andersen-Tawil 症候群における心合併症についての知見を追記した。筋チャンネル病診療の手引き第二版は、日本神経学会の学会承認を得た。

D：考察

本邦の筋チャンネル病 105 例の遺伝子確定家系の調査研究から、欧米の筋チャンネル病の患者と、病型の割合、遺伝子変異の種類に相違がみられることが明らかとなった。本邦での調査研究を継続し、データを集積することが重要である。

質問紙による QOL 調査において、筋力低下、疲労、ミオトニーといった、QOL に与える影響が大きい臨床症状を見いだした。

Rudy Japan によるデータ収集により、筋チャンネル病の経時的な 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、筋チャンネル病の QOL に影響を与える因子の抽出を目指す。筋チャン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。筋チャンネル病の一部は、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。また、質問紙で得られた QOL データと、Rudy Japan で集積した QOL データとの比較検討は今後の重要な課題である。

遺伝子変異の同定できない周期性四肢麻痺例も多く、孤発性周期性四肢麻痺 (SPP) と呼ばれる一群の病態については、未だ不明である。SPP の疾患感受性 SNV は、その解明のヒントとなりうる。HypoPP 全体に対する HypoPP2 の割合は、欧米に比べて本邦で多いことが、本研究班の過去の研究で明らかになったが、その HypoPP2 と SPP の疾患感受性 SNV とが、高い相関にあることは興味深い。今後、家系解析などを通じて、浸透率に対する影響など検証を進める必要がある。

これら疾患感受性 SNV では発症年齢や重症度に対する寄与は明らかではなかったが、患者の臨床症状や重症度に影響を与える因子の探索は、今後も重要な研究課題である。そのためにも個々の症例の詳細な解析の重要性は増している。特に、生下時や乳幼児期から強い症状を呈し、存命に危機が生じる症例の蓄積は重要である (論文発表 5)。海外でも乳幼児突然死症候群の一部に筋チャンネル病症例が混在している可能性が示唆されており、今後、小児神経専門医との連携は特に重要な点と考えられる。また、複数の変異をもつことで表現型が変化する周期性四肢麻痺の病態解析により、effect size の比較的小さい遺伝子変化の重畳により、発症する筋チャネ

ル病の存在が示唆された (論文発表 10)。このような “oligogenic disorder” という考え方は遺伝性不整脈疾患などを中心に徐々に広がってきており、従来「一塩基多型」と考えられてきた遺伝子変化の一部が疾患修飾因子である可能性についても、今後検証すべき研究課題と考えられる。

E : 結論

筋チャンネル病は、臨床的な広がりをもつ疾患であることが判明してきており、今後も本邦での調査研究の継続が必要である。

E : 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. Hamakawa N, Kogetsu A, Isono M, Yamasaki C, Manabe S, Takeda T, Iwamoto K, Kubota T, Barrett J, Gray N, Turner A, Teare H, Imamura Y, Yamamoto BA, Kaye J, Hide M, Takahashi MP, Matsumura Y, Javaid MK, Kato K. The practice of active patient involvement in rare disease research using ICT: experiences and lessons from the RUDY JAPAN project. *Res Involv Engagem.* 2021 Feb 1;7(1):9. doi:10.1186/s40900-021-00253-6. PMID: 33526087; PMCID: PMC7852111.
2. Kubota T, Wu F, Vicart S, Nakaza M, Sternberg D, Watanabe D, Furuta M, Kokunai Y, Abe T, Kokubun N, Fontaine B, Cannon SC, Takahashi MP. Hypokalaemic periodic paralysis with a charge-retaining substitution in the voltage sensor. *Brain Commun.* 2020 Jul 16;2(2): fcaa103. doi: 10.1093/braincomms/fcaa103. PMID: 33005891; PMCID: PMC7519726.
3. Sasaki R, Nakaza M, Furuta M, Fujino H, Kubota T, Takahashi MP. Mutation spectrum and health status in skeletal muscle channelopathies in Japan. *Neuromuscul Disord.* 2020 Jul;30(7):546-553. doi: 10.1016/j.nmd.2020.06.001. Epub 2020 Jun 7. PMID: 32660787.
4. Nakaza M, Kitamura Y, Furuta M, Kubota T, Sasaki R, Takahashi MP. Analysis of the genetic background associated with sporadic periodic paralysis in Japanese patients. *J Neurol Sci.* 2020 May 15;412:116795. doi: 10.1016/j.jns.2020.116795. Epub 2020 Mar 24. PMID: 32234253.
5. Horie R, Kubota T, Koh J, Tanaka R, Nakamura Y, Sasaki R, Ito H, Takahashi MP. EF hand-like motif mutations of Nav1.4 C-terminus cause myotonic syndrome by impairing fast inactivation. *Muscle Nerve.* 2020 Jun;61(6):808-814. doi: 10.1002/mus.26849. Epub 2020 Mar 17. PMID: 32129495.
6. Kurokawa M, Torio M, Ohkubo K, Tocan V, Ohyama N, Toda N, Ishii K, Nishiyama K, Mushimoto Y, Sakamoto R, Nakaza M, Horie R, Kubota T, Takahashi MP, Sakai Y, Nomura M, Ohga S. The expanding phenotype of

- hypokalemic periodic paralysis in a Japanese family with p.Val876Glu mutation in CACNA1S. *Mol Genet Genomic Med.* 2020 Apr;8(4):e1175. doi: 10.1002/mgg3.1175. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32104981; PMCID: PMC7196457.
7. Kubota T, Hama M, Sugiura Y, Takahashi Y, Ishikawa K, Mizusawa H, Takahashi MP. A nationwide survey of episodic ataxia in Japan. *Neurology and Clinical Neuroscience.* 2021;9:443–451.
 8. Kubota T, Nabatame S, Sato R, Hama M, Nishiike U, Mochizuki H, Takahashi MP, Takeshima T. Hemiplegic migraine type 2 caused by a novel variant within the P-type ATPase motif in ATP1A2 concomitant with a CACNA1A variant. *Brain Dev.* 2021 Oct;43(9):952-957.
 9. Kumutpongpanich T, Ogasawara M, Ozaki A, Ishiura H, Tsuji S, Minami N, Hayashi S, Noguchi S, Iida A, Nishino I; OPDM_LRP12 Study Group, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Ono K, Shimizu T, Kawata A, Shimohama S, Toyooka K, Endo K, Toru S, Sasaki O, Isahaya K, Takahashi MP, Iwasa K, Kira JI, Yamamoto T, Kawamoto M, Hamano T, Sugie K, Eura N, Shiota T, Koide M, Sekiya K, Kishi H, Hideyama T, Kawai S, Yanagimoto S, Sato H, Arahata H, Murayama S, Saito K, Hara H, Kanda T, Yaguchi H, Imai N, Kawagashira Y, Sanada M, Obara K, Kaido M, Furuta M, Kurashige T, Hara W, Kuzume D, Yamamoto M, Tsugawa J, Kishida H, Ishizuka N, Morimoto K, Tsuji Y, Tsuneyama A, Matsuno A, Sasaki R, Tamakoshi D, Abe E, Yamada S, Uzawa A. Clinicopathologic Features of Oculopharyngodistal Myopathy With LRP12 CGG Repeat Expansions Compared With Other Oculopharyngodistal Myopathy Subtypes. *JAMA Neurol.* 2021; 78(7): 853-863.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 久保田智哉、高橋正紀。筋チャネル病の新たな病態 生体の科学 2021;72(6): 555-559.

14. 高橋正紀 周期性四肢麻痺 「今日の治療指針 2022 年版 - 私はこう治療している」 福井次矢・高木誠・小室一成総編集 2022 : 1023.
15. 筋チャンネル病、遠位型ミオパチー 高橋正紀 青木正志 「脳神経内科診断ハンドブック」下畑享良編 2021:489 - 498.
16. 久保田智哉、高橋正紀. 筋チャンネル病・周期性四肢麻痺. *Clinical Neuroscience*. 2023;41(2).244-247.

2 : 学会発表

1. 芝野真紀、久保田 智哉、國分則人、栗城 紘子、伊藤 譲、浜之上 はるか、高橋正紀 SCN4A 遺伝子の追加変異による周期性四肢麻痺の高 K 性から低 K 性へのスイッチ 第 6 回日本筋学会学術集会. 2020 年 12 月 18 日～12 月 20 日 (Web 開催)
2. 芝野真紀、久保田 智哉、國分則人、宮地 洋輔、栗城 紘子、伊藤 譲、浜之上 はるか、高橋 正紀。周期性四肢麻痺患者で同定された変異 Nav1.4 の電気生理学的解析 第 7 回日本筋学会学術集会. 2021 年 12 月 11 日～12 月 12 日 (Web 開催)
3. 佐藤 瑠香、高橋 里枝、山本 理紗、山内 亨祐、高橋 正紀、本間 和明、久保田 智哉。低カリウム性周期性四肢麻痺モデル細胞の確立 第 7 回日本筋学会学術集会. 2021 年 12 月 11 日～12 月 12 日 (Web 開催)
4. 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.

5. 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.
6. 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.

F : 知的所有権の取得状況

1 : 特許取得

なし

2 : 実用新案登録

なし

3 : その他

久保田智哉、高橋正紀 周期性四肢麻痺 脳科学辞典 <https://bsd.neuroinf.jp/wiki/> (2021)

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。症例数が少ないが、調査は進んでいる。

以下、10 ポイント

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)

C : 研究結果

本研究班のネットワークからの臨床問い合わせに応じて診療を行う例もでてきた。海外からの紹介もあった。

D : 考察

SJS は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を調査し、共有することが重要考えられた。

E : 結論

SJS は幼少期から ADL が強く障害される一方、生命予後は保たれることから、これまで十分報告されていない合併症リスクについても情報共有することが必要である。

E : 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 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 hyper-excitability 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).
- Nonaka R, Iesaki T, Kerever A, Arikawa-Hirasawa E Increased Risk of Aortic Dissection with Perlecan Deficiency. *Int J Mol Sci*. 2021 23(1):315.
- Kerever A, Nagahara F, Keino-Masu K, Masu M, van Kuppevelt TH, Vivès RR,

Arikawa-Hirasawa E Regulation of fractone heparan sulfate composition in young and aged subventricular zone neurogenic niches.

Glycobiology. 2021 31(11):1531-1542.

- Nakada S, Yamashita Y, Machida S, Miyagoe-Suzuki Y, Arikawa-Hirasawa E. Perlecan Facilitates Neuronal Nitric Oxide Synthase Delocalization in Denervation-Induced Muscle Atrophy. *Cells*. 2020 9(11):2524.

2 : 学会発表

1. 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(京都大学) 京都府, 2021 (12.11-12.12)
2. 中田智史、秋葉星哉、山下由莉、櫻井英俊、平澤恵理：骨格筋結合組織を利用した新規培養方法の確立。第53回日本結合組織学会(順天堂大学本郷・お茶の水キャンパス), 東京都, 2021 (6.26-6.27)
3. 松田ひより、白崎駿、山下由莉、中田智史、中村京子、櫻井英俊、平澤恵理：iPS細胞由来筋細胞を用いたパールカンの筋収縮への役割の解明。第53回日本結合組織学会(順天堂大学本郷・お茶の水キャンパス), 東京都, 2021 (6.26-6.27)
4. 山下由莉：パールカン欠損がもたらす骨格筋代謝の変化(シンポジウム) 第53回日本結合組織学会(順天堂大学本郷・お茶の水キャンパス), 東京都, 2021 (6.26-6.27)
5. 平澤 恵理：筋疾患特異的iPS細胞を使った治療効果検証系の構築 第62回日本神経学会シンポジウム10「筋疾患の治療開

発を推進する基礎・臨床の両輪」(国立京都国際会館), 京都府, 2021 (5.19-5.22)

6. 力学的負荷減弱時の骨格筋メカノトランスダクションにおける基底膜分子 Perlecan の役割 第43回日本分子生物学会 フォーラム：骨格筋細胞研究がリードする新しい健康科学の分子生物学新基軸 第43回日本分子生物学会 12月3日 横浜 神奈川 (ZOOM 開催)
7. 企画シンポジウム「細胞外マトリックスの情報とその読取りメカニズムによる細胞機能の制御と破綻」骨格筋メカノトランスダクション制御機構における細胞外マトリックスによる関与 第93回日本生化学会での企画シンポジウム 2020年9月14日 横浜 (ZOOM 開催)
8. 大野竜暉、オレリアン・ケレベール、平澤(有川)恵理 神経幹細胞分化におけるコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの役割 第61回日本神経学会学術大会 岡山 2020年9月2日
9. 田中貴大, オレリアン・ケレベール, 鈴木佑治, 加藤可那, 齋藤文仁, 鈴木秀典, 平澤恵理 三次元画像解析による自閉症モデルマウスの錐体細胞スパインでの形態異常 第61回日本神経学会学術大会岡山 2020年9月2日
10. Aurelien Kerever Fumina Nagahara Kazuko Keino-Masu Masayuki Masu Toin van Kuppervelt Eri Arikawa-Hirasawa The heparan sulfate composition of fractone changes with aging and is modified by endsulfatases in the subventricular zone neurogenic niche 第52回日本結合組織学会 名古屋 2020年9月19日

(ZOOM 開催)

11. 加藤可那、鈴木佑治、オレリアン・ケレ
ベール 平澤(有川)恵理 脱細胞脳組織
上で3次元培養した OLP6 と産生される
コンドロイチン硫酸の免疫染色パターン
第52回日本結合組織学会 名古屋
2020年9月19日 (ZOOM 開催)
12. 中田智史、山下由莉、赤澤智宏、馬淵
洋、平澤(有川)恵理 SJS モデルマウス
由来初代筋管細胞培養を用いた疾患神経
筋接合部モデル構築 第6回 日本筋学
会 12月19日 (ZOOM 開催)

発明者 中田智史,山下由莉、平澤恵理

特許権者 順天堂大学

2：実用新案登録

3：その他

<指針・ガイドライン>

1. 「シュワルツ・ヤンペル症候群」診断の
手引き(日本神経学会承認)
2. 難病情報センター病気の解説「シュワル
ツ・ヤンペル症候群」

(<https://www.nanbyou.or.jp/entry/3958>)

F：知的所有権の取得状況

1：特許取得

<特許>

1. 出願番号 特願 2022-023837
発明の名称 ヒト筋疾患モデル筋組織
出願日 令和4年2月18日
審査請求 請求中

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。本研究期間において *TOR1AIP1*, *CHD8*, *PURA* が新たな原因遺伝子として報告され合計 35 の原因遺伝子が同定されてきた。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)。ミスセンス変異解析ツール InMeRF とイントロン 3' 末端変異解析ツール IntSplice2 の論文を公表しウェブサービスの運用を開始した。

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、研究期間中に 5 例の新規症例の whole exome sequencing (WES)、ならびに whole genome sequencing (WGS) 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 を行った。Samtools と VarScan により variant call を行い、VarScan により filtering を行った。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、5 例の新規 CMS 疑い症例の WES 解析・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) の運用を開始した。

研究期間中の 2020, 2021, 2022 年に発表されたそれぞれ 30, 20, 30 報の最新の論文を含み 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・胎児無動変形シーケンス (*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*)

さらに、この診療の手引き案の英文総説を執筆し公表した(Ohno K et al. *Int J Mol Sci* 24: 3730, 2023)。

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開始した。

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行ってきた継続する。

F : 健康危険情報

ありません。

G : 研究発表

1 : 論文発表

1. Huang K, Masuda A, Chen G, Bushra S, Kamon M, Araki T, Kinoshita M, Ohkawara B, Ito M, Ohno K. Inhibition of cyclooxygenase-1 by nonsteroidal anti-inflammatory drugs demethylates MeR2 enhancer and promotes Mbnl1 transcription in myogenic cells. *Sci Rep* 2020, 10: 2558.
2. Nakazawa Y, Hara Y, Oka Y, Komine O, van den Heuvel D, Guo C, Daigaku Y, Isono M, He Y, Shimada M, Kato K, Jia N, Hashimoto S, Kotani Y, Miyoshi Y, Tanaka M, Sobue A, Mitsutake N, Suganami T, Masuda A, Ohno K, Nakada S, Mashimo T, Yamanaka K, Luijsterburg MS, Ogi T. Ubiquitination of DNA Damage-Stalled RNAPII Promotes Transcription-Coupled Repair. *Cell* 2020, 180: 1228-1244 e24.
3. Masuda A, Kawachi T, Takeda JI, Ohkawara B, Ito M, Ohno K. tRIP-seq reveals repression of premature polyadenylation by co-transcriptional FUS-U1 snRNP assembly. *EMBO Rep* 2020, 21: e49890.
4. Ohkawara B, Shen X, Selcen D, Nazim M, Bril V, Tarnopolsky MA, Brady L, Fukami S, Amato AA, Yis U, Ohno K, Engel AG. Congenital myasthenic syndrome-associated agrin variants affect clustering of acetylcholine receptors in a domain-specific manner. *JCI Insight* 2020, 5(7):e132023.
5. Nishiwaki H, Ito M, Ishida T, Hamaguchi T, Maeda T, Kashihara K, Tsuboi Y, Ueyama J, Shimamura T, Mori H, Kurokawa K, Katsuno M, Hirayama M, Ohno K. Meta-Analysis of Gut Dysbiosis in Parkinson's Disease. *Mov Disord* 2020, 35(9): 1626-1635.
6. Takeda J, Nanatsue K, Yamagishi R, Ito M, Haga N, Hirata H, Ogi, Ohno K. InMeRF: prediction of pathogenicity of missense variants by individual modeling for each amino acid substitution. *NAR Genomics and Bioinformatics* 2020, 2(2): lqaa038.
7. Ohkawara B*, Kobayakawa A*, Kanbara S, Hattori T, Kubota S, Ito M, Masuda A, Takigawa M, Lyons KM, Ishiguro N, Ohno K. CTGF/CCN2 facilitates LRP4-mediated formation of the embryonic neuromuscular junction. *EMBO Rep* 2020, 2020: e48462. *Equal contribution
8. Kanbara S, Ohkawara B, Nakashima H, Ohta K, Koshimizu H, Inoue T, Tomita H, Ito M, Masuda A, Ishiguro N, Imagama S, Ohno K. Zonisamide ameliorates progression of cervical spondylotic myelopathy in a rat model. *Sci Rep* 2020, 10: 13138.
9. Huang K, Li J, Ito M, Takeda J-I, Ohkawara B, Ogi T, Masuda A, Ohno K. Gene Expression Profile at the Motor Endplate of the Neuromuscular Junction of Fast-Twitch Muscle. *Front Mol Neurosci* 2020, 13: 154.
10. Nishiwaki H, Hamaguchi T, Ito M, Ishida T, Maeda T, Kashihara K, Tsuboi Y, Ueyama J, Shimamura T, Mori H, Kurokawa K, Katsuno M, Hirayama M, Ohno K. Rapid-Eye-Movement Sleep Behavior Disorder Exhibits Similar but Distinct Gut Dysbiosis Compared to Parkinson's Disease. *mSystems* 2020, 5(6): e00797-20.
11. Takeuchi A, Takahashi Y, Iida K, Hosokawa M, Irie K, Ito M, Brown JB, Ohno K, Nakashima K, Hagiwara M. Identification of Qk as a Glial Precursor Cell Marker that

- Governs the Fate Specification of Neural Stem Cells to a Glial Cell Lineage Stem. *Stem Cell Rep* 2020, 15: 883-897.
12. Abe K, Hirayama M, Ohno K, Shimamura T. Hierarchical non-negative matrix factorization using clinical information for microbial communities. *BMC Genomics* 2021, 22: 104.
 13. Tawara N, Yamashita S, Takamatsu K, Yamasaki Y, Mukaino A, Nakane S, Farshadyeganeh P, Ohno K, Ando Y. Efficacy of salbutamol monotherapy in slow-channel congenital myasthenic syndrome caused by a novel mutation in *CHRND*. *Muscle Nerve* 2021, 63: E30-E32.
 14. Inoue T, Ohkawara B, Bushra S, Kanbara S, Nakashima H, Koshimizu H, Tomita H, Ito M, Masuda A, Ishiguro N, Imagama S, Ohno K. Zonisamide upregulates neuregulin-1 expression and enhances acetylcholine receptor clustering at the in vitro neuromuscular junction. *Neuropharmacology* 2021, 195: 108637.
 15. Takeda J*, Fukami S*, Tamura A, Shibata A, Ohno K. Intsplice2: Prediction of the splicing effects of intronic single-nucleotide variants using lightGBM modeling. *Front Genet* 2021, 12: 701076. *Equal contributions.
 16. Kawachi T, Masuda A, Yamashita Y, Takeda J, Ohkawara B, Ito M, Ohno K. Regulated splicing of large exons is linked to phase-separation of vertebrate transcription factors. *EMBO J* 2021, 40(22): e107485.
 17. Sakaguchi T, Miyamoto K, Ohkawara B, Kisimoto Y, Ishizuka S, Hiraiwa H, Imagama S, Ishiguro N, Ohno K. Promethazine downregulates Wnt/ β -catenin signaling and increases biomechanical forces of injured Achilles tendon in early stage of healing. *Am J Sport Med* 2022, 50: 1317-27.
 18. Takemoto G, Matsushita M, Okamoto T, Ito T, Matsuura Y, Takashima C, Chen-Yoshikawa TF, Ebi H, Imagama S, Kitoh H, Ohno K, Hosono Y. Meclozine attenuates the mark pathway in mammalian chondrocytes and ameliorates fgf2-induced bone hyperossification in larval zebrafish. *Front Cell Dev Biol* 2021, 9: 694018.
 19. Kawamura Y, Hida T, Ohkawara B, Matsushita M, Kobayashi T, Ishizuka S, Hiraiwa H, Tanaka S, Tsushima M, Nakashima H, Ito K, Imagama S, Ito M, Masuda A, Ishiguro N, Ohno K. Meclozine ameliorates skeletal muscle pathology and increases muscle forces in mdx mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2022, 592: 87-92.
 20. 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
 21. 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.
 22. 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.
 23. 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.
 24. 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.
 25. 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.
 26. 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.
 27. 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.
 28. 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.
29. 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 aggregates in cultured cells, and reduces DOK7 expression and MuSK phosphorylation in patient-derived iPSCs. *Hum Mol Genet* in press.
 30. 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.
 31. 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.
 32. 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
 33. Ohkawara B, Ito M, Ohno K. Secreted signaling molecules at the neuromuscular junction in physiology and pathology. *Int J Mol Sci* 2021, 22: 2455. (review)
 34. Masuda A, Kawachi T, Ohno K. Rapidly growing protein-centric technologies to extensively identify protein-RNA interactions: Application to the analysis of co-transcriptional RNA processing. *Int J Mol Sci* 2021, 22: 5312. (review)
 35. 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. (review)
 36. 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. (review)
 37. 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. (review)
 38. 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. (review)
 39. 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. (review)
 40. 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. (review)
- 2 : 学会発表**
- 招待講演**
1. 大野欽司
「リウマチ医のための神経筋接合部病態・骨格筋病態の最新知見」
第64回日本リウマチ学会(オンライン)、2020年8月17日
 1. 大野欽司
「先天性筋無力症候群」
久留米大学小児科学セミナー(オンライン)、2021年7月30日
 2. 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
 3. Ohno K
Three newly identified molecules that facilitate the formation of neuromuscular junction
XIIth International Symposium on Cholinergic Mechanisms
Dubrovnik, Croatia (hybrid)
May 8-12, 2022
 4. 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. 伊藤美佳子、Kun Huang、大野欽司
「速筋の神経筋接合部終板における網羅的遺伝子発現解析」
第7回日本筋学会学術集会、京都大学、

- 2021年12月11日～12日
2. 増田章男、岡本喬明、大野欽司
「RNA 結合タンパク Matr3 が形成する核内顆粒による遺伝子発現制御」
第7回日本筋学会学術集会、京都大学、
2021年12月11日～12日
 3. Joudaki A, Takeda J, Masuda A, Ohno K
Prediction of the splicing effects of SNVs affecting the first nucleotide G of an exon
European Human Genetics Conference 2021 (Poster), Virtual Conference
Aug 28-31, 2021
 4. Farshadyeganeh P, Ohkawara B, Kamon M, Araki T, Komaki H, Ohno K
Functional analysis of mutations in a glycosylation enzyme gene, GFPT1, underlying limb-girdle congenital myasthenic syndromes (CMS)
European Human Genetics Conference 2021 (Poster), Virtual Conference
Aug 28-31, 2021
 5. Bushra S, Lin Y, Joudaki A, Masuda A, Ohno K.
The suppressive role for the splicing regulator, PTBP1, in the production of neuron-specific agrin isoform
American Society of Human Genetics 2021(Poster), Virtual Meeting
Oct 18-22, 2021
 6. 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
 7. Kinoshita M, Hara W, Yoshida N, Miyauchi A, Yamamoto M, Oji S, Fukaura H, Kaida K, Ohno K.
Painful muscle spasm with marked hypercreatinine 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
 8. 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

9. 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 –
European Human Genetics Conference 2022 (Platform), Vienna, Austria
Jun 11-14, 2022

H：知的所有権の取得状況

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 総合研究報告書
分担研究報告書

自己貪食空胞性ミオパチー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

特異な筋鞘膜の性質を有する自己貪食空胞（AVSF）は、Danon 病や XMEA など限られた疾患でのみ認められ、私たちは新しい疾患概念として「AVSF ミオパチー」を提唱する。本邦の AVSF ミオパチー患者の筋病理では、全病型の AVSF の空胞膜で概ね全ての筋鞘膜蛋白と AChE 活性を認め、疾患特異性の高い自己貪食空胞であった。AVSF ミオパチーは原発性のライソゾーム機能不全により発症すると考えられた。

Danon 病では、前回の全国調査以降の新規症例を加えて遺伝子型・表現型の相関解析を実施した。これまでに 26 家系 47 例を見出し、軽症 3 例では *LAMP-2* 遺伝子の選択的スプライシングされたエクソン 9b にヘミ接合変異を有しており、Danon 病症状の軽減とエクソン 9b 変異の関与が示唆された。

LAMP-2 欠損では相分離因子 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* 複合体の形成機序を解析したが、*LAMP-2* と G3BP1 の直接的な相互作用は確認できなかった。*LAMP-2* 複合体への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。今後オートファジーでの *LAMP-2* の機能解明に向け研究を進める。

A : 研究目的

自己貪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来す筋疾患で、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。AVSF は疾患特異性が高く、Danon 病や過剰自己食を伴う X 連鎖性ミオパチー (XMEA) を含むサブグループを区別する。私たちは、このサブグループを新しい疾患概念として「AVSF ミオパチー」と提唱する。しかし、AVSF ミオパチーの特徴は十分確立していない。そこで、今回、AVM の 2017 年の全国実態調査結果の解析から、AVSF ミオパチーの臨床病理学的特徴を明らかにすることを目指した。Danon 病においては、2017 年の全国調査以降の新規症例を見出して、遺伝子型・表現型の相関を明らかにすることを目指した。

また、LAMP-2 欠損では G3BP1 (Ras GTPase-activating protein-binding proteins 1) を介した mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1) のオートファジー制御シグナルに異常をきたすことが知られているが、その機序は明らかでない。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、本研究でオートファジーでの LAMP-2 複合体の形成機序とその制御破綻について解明する。

B : 研究方法

AVSF ミオパチーの特徴を見出すため、2011 年と 2017 年の本邦の実態調査で得られた AVSF ミオパチーの日本人患者の臨床病理学的および遺伝学的特徴について解析を行った。併せて、Danon 病においては 2017 年の全国調査以降に新規に見出された日本人患者を対象に臨床病理学的および遺伝学的特徴について解析を行った。そして、遺伝子型・表現型の相関

について検討を実施した。

また、LAMP-2 複合体の構成因子の分子間相互作用の生化学的評価を行うため、LAMP-2B フラグメントのコンストラクトを設計し、大腸菌 BL21(DE) 株で誘導発現し目的蛋白質を精製した。さらに、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)

自己食空胞性ミオパチー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られた倫理規程を遵守して、同施設倫理委員会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

本邦での実態調査において、AVSF ミオパチーとして、LAMP-2 遺伝子変異を有する Danon 病患者 20 家系 39 例 (男性 17 例、女性 22 例)、VMA21 遺伝子変異を有する XMEA 患者 4 家系 12 例、多臓器障害を伴う成人発症 AVM 1 例、無症候の女性 1 例を見出した。Danon 病患者は全例心筋症を呈し、20 例中 19 例 (95%) が心不全で死亡した。XMEA 患者では心筋症は認めず、死亡した 9 例全例が呼吸不全であった。

AVSF ミオパチーの筋病理では、AVSF の空胞膜で概ね全ての筋鞘膜蛋白と AChE 活性を認めた。空胞膜に沿った基底膜の重層化は

XMEAや成人型AVM、無症候女性で見出した。この特異な空胞膜構造は、Pompe病の自己食空胞や縁取り空胞では認めなかった。

2017年以降、Danon病の新規例として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与する複合体構成因子が含まれる可能性があった。

D：考察

2010年、2017年に実施したAVSFミオパチーの全国調査では、Danon病20家系、XMEA4家系を見出した。Danon病、XMEAは、いずれもライソゾーム関連蛋白が原因遺伝子となっており、AVSFミオパチーはライソゾームの原発性機能異常による疾患と考えられる。Danon病とXMEA以外に、私たちは、多臓器障害を伴う成人発症例、無症候女性例を見出した。現在、これらは原因遺伝子の不明な病型であるが、今後ライソゾームとの関連を解明する研究結果が待たれる。

AVSFは、筋病理学的にAVSFミオパチーの生検筋では筋線維内に多数認められ、電顕的解析では空胞壁は二重膜構造を示した。AVSFは二次的に形成された筋鞘膜様構造によって囲まれたオートライソゾームと考えられた。そして、AVSFは疾患特異性の高い自

己食空胞であり、AVSFミオパチーを区別する。

今後は、AVMであるAVSFミオパチーの疾患概念を確立した上で、自然歴や臨床病型の再分類、遺伝子診断データベースを含めたレジストリーの構築を目指す必要がある。

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

遺伝学的に診断可能な Danon 病と XMEA の存在を考慮すると、AVSF ミオパチーは希少難治性筋疾患で、原発性のライソゾーム機能不全により発症すると考えられる。今回の所見から AVSF ミオパチーは Danon 病や XMEA 以外にも、さらに多くの臨床病型を含んでいる可能性が考えられる。

さらに、これまでの本研究において、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) **Sugie K**, Nishino I. Lysosomal Membrane Disorders: LAMP-2 Deficiency. Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease (6th Edition, Elsevier), 2020: 567-574.
- 2) Eura N, Matsui TK, Luginbühl J, Matsubayashi M, Nanaura H, Shiota T, Kinugawa K, Iguchi N, Kiriya T, Zheng C, Kouno T, Lan YJ, Kongpracha P, Wiriyasermkul P, Sakaguchi YM, Nagata R, Komeda T, Morikawa N, Kitayoshi F, Jong M, Kobashigawa S, Nakanishi M, Hasegawa M, Saito Y,

- Shiromizu T, Nishimura Y, Kasai T, Takeda M, Kobayashi H, Inagaki Y, Tanaka Y, Makinodan M, Kishimoto T, Kuniyasu H, Nagamori S, Muotri AR, Shin JW, **Sugie K**, Mori E. Brainstem Organoids From Human Pluripotent Stem Cells. *Front Neurosci.* 2020; 14: 538.
- 3) Izumi T, Nanaura H, Iguchi N, Ozaki M, **Sugie K**. Low Serum Eicosapentaenoic Acid Levels in Cryptogenic Stroke with Active Cancer. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2020; 29: 104892.
 - 4) Kurashige T, Takahashi T, Nagano Y, **Sugie K**, Maruyama H. Krebs von den Lungen 6 decreased in the serum and muscle of GNE myopathy patients. *Neuropathology.* 2021; 41: 29-36.
 - 5) Ayaki T, Murata K, Kanazawa N, Uruha A, Ohmura K, **Sugie K**, Kasagi S, Li F, Mori M, Nakajima R, Sasai T, Nishino I, Satoshi U, Makoto U, Fukumi F, Ito H, Takahashi R. Myositis with sarcoplasmic inclusions in Nakajo-Nishimura syndrome: a genetic inflammatory myopathy. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2020; 46: 579-587.
 - 6) Kataoka H, Sawada Y, Shimozato N, Inatomi S, Yoshiji H, **Sugie K**. Levodopa-responsive retrocollis on the background of choreic dyskinesia. *Int J Neurosci.* 2020; 130: 461-463.
 - 7) Kataoka H, **Sugie K**. Serum adiponectin levels between patients with Parkinson's disease and those with PSP. *Neurol Sci.* 2020; 41: 1125-1131.

- 8) **杉江和馬**. 筋サルコイドーシス. *Brain and Nerve*. 2020; 72: 863-870.
- 9) **杉江和馬**. シュワルツ・ヤンペル症候群. *新薬と臨床*. 2020; 70: 201-204.
- 10) **Sugie K**. Autophagy dysfunction in skeletal myopathies: Inclusion body myositis and Danon disease. *Autophagy Dysfunction in Alzheimer's Disease and Dementia (Elsevier)*, 2022, In press.
- 11) **Sugie K**. Autophagic vacuolar myopathy: Danon disease and related myopathies. *Neurol Clin Neurosci*. 2022, Online ahead of print.
- 12) **Sugie K**. Editorial commentary: Highlighting the ray of hope in Danon disease research after 40 years. *Trends Cardiovasc Med*. 2021, Online ahead of print.
- 13) Nanaura H, Kawamukai H, Fujiwara A, Uehara T, Aiba Y, Nakanishi M, Shiota T, Hibino M, Wiriyasermkul P, Kikuchi S, Nagata R, Matsubayashi M, Shinkai Y, Niwa T, Mannen T, Morikawa N, Iguchi N, Kiriyama T, Morishima K, Inoue R, Sugiyama M, Oda T, Kodera N, Toma-Fukai S, Sato M, Taguchi H, Nagamori S, Shoji O, Ishimori K, Matsumura H, **Sugie K**, Saio T, Yoshizawa T, Mori E. C9orf72-derived arginine-rich poly-dipeptides impede phase modifiers. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 5301.
- 14) Yasui T, Nagaoka U, Oya Y, Uruha A, Karashima J, Funai A, Miyamoto K, Matsubara S, Sugaya K, Takahashi K, Inoue M, Okubo M, **Sugie K**, Nishino I. Mild form of Danon disease: two case reports. *Neuromuscul Disord*. 2021; 31(11): 1207-1211.
- 15) Iwasa N, Matsui TK, Iguchi N, Kinugawa K, Morikawa N, Sakaguchi YM, Shiota T, Kobashigawa S, Nakanishi M, Matsubayashi M, Nagata R, Kikuchi S, Tanaka T, Eura N, Kiriyama T, Izumi T, Saito K, Kataoka H, Saito Y, Kimura W, Wanaka A, Nishimura Y, Mori E, **Sugie K**. Gene Expression Profiles of Human Cerebral Organoids Identify PPAR Pathway and PKM2 as Key Markers for Oxygen-Glucose Deprivation and Reoxygenation. *Front Cell Neurosci*. 2021; 15: 605030.
- 16) **杉江和馬**. 先天性ミオパチー. *脳神経内科学レビュー (総合医学社)*. 2022; 309-314.
- 17) **杉江和馬**. 希少性筋疾患. *脳神経内科診断ハンドブック (中外医学社)*. 2021; 501-509.
- 18) **杉江和馬**. 筋疾患. *臨床遺伝学成人領域 (診断と治療社)*. 2021; 29-42.
- 19) **杉江和馬**. 進化する筋疾患診療の最前線. *BIO Clinica*. 2021; 36(9): 826-827.
- 20) **杉江和馬**. オートファジー関連筋疾患の新展開: ポンペ病とダノン病. *BIO Clinica*. 2021; 36(9): 848-852.
- 21) **杉江和馬**. COVID-19 と筋障害. *脳神経内科*. 2021; 95(3): 342-350.
- 22) **杉江和馬**. 自己食空胞性ミオパチー. *新薬と臨床*. 2021; 70(6): 681-687.
- 23) 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.
- 24) 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.
- 25) Mano T, Soyama S, **Sugie K**. Improvement in Tongue Pressure Precedes Improvement in Dysphagia in Dermatomyositis. *Clin Pract.* 2022; 12(5): 797-802.
- 26) **杉江和馬**. 筋病理から見た筋炎. *皮膚科.* 2023; 3(1): 40-48.
- 27) **杉江和馬**. 自己貪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.
- 28) **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.
- new clinical entity. The 25th International Annual Virtual Congress of the World Muscle Society (WMS2020), September 28-October 2, 2020.
- 2) Eura N, Yamanaka A, Shiota T, Nishimori Y, Iguchi N, Ozaki M, Nanaura H, Iwasa N, Kiriyama T, Izumi T, Kataoka H, **Sugie K**. Analysis of treatment and outcome of 81 patients with idiopathic inflammatory myopathy. The 25th International Annual Virtual Congress of the World Muscle Society (WMS2020), September 28-October 2, 2020.
- 3) **杉江和馬**. オートファジー関連筋疾患: Danon 病の診療最前線. 第 61 回日本神経学会学術大会、岡山、2020 年 8 月.
- 4) **杉江和馬**、小牧宏文、倉重毅志、大熊彩、江浦信之、塩田 智、井口直彦、松井 健、阿部達哉、形岡博史、森英一朗、埜中征哉、西野一三. 過剰自己貪食を伴う X 連鎖性ミオパチー (XMEA) の全国実態調査. 第 61 回日本神経学会学術大会、岡山、2020 年 8 月.
- 5) 安井利夫、長岡詩子、漆葉章典、辛島淳、船井明日香、菅谷慶三、宮本和人、磯崎英治、大矢 寧、井上道雄、大久保真理子、**杉江和馬**、西野一三. 軽度の表現型を呈した Danon 病患者 3 例の検討. 第 61 回日本神経学会学術大会、岡山、2020 年 8 月.
- 6) **Sugie K**, Komaki H, Kurashige T, Ohkuma A, Eura N, Shiota T, Iguchi N, Nanaura H, Mori E, Abe T, Nonaka I, Nishino I. A nationwide survey on X-

2 : 学会発表

- 1) **Sugie K**, Komaki H, Kurashige T, Kaneda D, Eura N, Shiota T, Nishimori Y, Iguchi N, Nanaura H, Kiriyama T, Mori E, Nonaka I, Nishino I. Autophagic vacuolar myopathy with AVSF (AVSF myopathy) including Danon disease and XMEA: A

- linked myopathy with excessive autophagy (XMEA) in Japan. The 16th International Congress on Neuromuscular diseases (ICNMD2021), May 21-22&28-19, 2021, Virtual, Worldwide.
- 7) Yamanaka A, Eura N, Yamaoka M, Ozaki M, Shiota T, Nanaura H, **Sugie K.** Clinicopathological characteristics of anti-TIF1 γ antibody-positive dermatomyositis. The 26th International Annual Virtual Congress of the World Muscle Society (WMS2021), September 20-24, 2021.
- 8) Eura N, Mano T, Yamanaka A, Nishimori Y, Shiota T, Nanaura H, **Sugie K.** Exploring the mechanism of myogenic and neurogenic changes on electromyography by quantifying muscle pathology in sporadic inclusion body myositis. The 26th International Annual Virtual Congress of the World Muscle Society (WMS2021), September 20-24, 2021.
- 9) Yamanaka A, Eura N, Shiota T, Yamaoka M, Nishimori Y, Iguchi N, Ozaki M, Nanaura H, Kiriyama T, **Sugie K.** The importance of comprehensive assessment by pathological findings and myositis-specific autoantibodies in the management of idiopathic inflammatory myopathies. The 19th Asian-Oceanian Myology Center Meeting (AOMC2021), June 10-11, Busan, Korea, 2021.
- 10) Eura N, Ogasawara M, Yamanaka A, Nishimori Y, Shiota T, Nishino I, **Sugie K.** Clinicopathological features of three oculopharyngodistal myopathy (OPDM) patients with CGG expansion in LRP12 gene. The 19th Asian-Oceanian Myology Center Meeting (AOMC2021), June 10-11, Busan, Korea, 2021.
- 11) Yamanaka A, Eura N, Shiota T, Yamaoka M, Nishimori Y, Iguchi N, Ozaki M, Nanaura H, Kiriyama T, **Sugie K.** Reconsideration of idiopathic inflammatory myopathy classification based on the pathological findings and myositis-specific autoantibodies. The 17th Asian Oceanian Congress of Neurology (AOCN2021), April 1-4, 2021.
- 12) Eura N, Yamanaka A, Nishimori Y, Shiota T, Iguchi N, Ozaki M, Nanaura H, Iwasa N, Kiriyama T, Izumi T, Kataoka H, **Sugie K.** A comprehensive analysis of immunotherapy and outcome of 89 patients with idiopathic inflammatory myopathy. The 17th Asian Oceanian Congress of Neurology (AOCN2021), April 1-4, 2021.
- 13) **Sugie K.**, Komaki H, Kurashige T, Eura N, Shiota T, Yamanaka A, Nishimori Y, Iguchi N, Nanaura H, Kiriyama T, Kataoka H, Mori E, Nonaka I, Nishino I. AVSF myopathy: A new clinical entity of autophagic vacuolar myopathy with AVSF such as Danon disease. 第 62 回日本神経学会学術大会、京都、2021 年 5 月。
- 14) Eura N, Mano T, Yamanaka A, Shiota T, Nanaura H, **Sugie K.** Exploring myogenic and neurogenic changes by quantifying muscle pathology in inclusion body myositis. 第 62 回日本神経学会学術大会、京都、2021 年 5 月。
- 15) 森英一朗、**杉江和馬.** Low-complexity

ドメインの破綻が ALS-FTD をきたす。シンポジウム「液-液相分離の新展開」。第 62 回日本神経学会学術大会、京都、2021 年 5 月。

- 16) 山中 愛、江浦信之、山岡美奈子、尾崎麻希、塩田 智、七浦仁紀、杉江和馬。抗 TIF1 γ 抗体陽性皮膚筋炎の臨床病理学的検討。第 62 回日本神経学会学術大会、京都、2021 年 5 月。
- 17) Yamanaka A, Eura N, Shiota T, Yamaoka M, Nishimori Y, Iguchi N, Ozaki M, Nanaura H, Iwasa N, Kiriya 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.
- 18) 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。

- 19) 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。
- 20) 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

封入体筋炎における抗 cN1A 抗体の病態的役割

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

封入体筋炎（sIBM）は、高齢者に好発する難治性筋疾患である。本患者血清中に細胞質 5'-ヌクレオチダーゼ 1A（cN1A）に対する自己抗体の存在が報告されたが、本抗体の病原性は不明である。本研究では、自己抗体の有無による sIBM 患者の臨床的特徴の違い、および cN1A ペプチドの能動免疫により自己抗体の病原性について検討した。臨床的に sIBM が疑われた患者血清 570 検体について、セルベースアッセイ法により抗 cN1A 抗体の有無を評価し、抗体陽性群と陰性群の間で臨床的特徴を比較した。また、野生型 C57BL/6 マウスに組換えマウス cN1A ペプチドを能動免疫した場合とコントロールペプチドを接種した場合の臨床病理学的変化を比較した。連続 570 人の患者のうち、365 人が sIBM と診断された。そのうち、201 例（55.1%）が抗 cN1A 抗体陽性であった。抗 cN1A 抗体陽性患者では、手指屈曲筋力低下の頻度、握力の左右差の絶対値に有意差が認められた。また、ペプチドを接種した全群で内在核を有する筋線維数が増加し、非壊死線維への CD8 陽性 T 細胞の包囲や侵入、p62 や LC3 陽性凝集体が認められた。本結果は、抗 cN1A 抗体が sIBM の臨床特徴の修飾因子であることを示唆した。cN1A ペプチドの能動免疫により sIBM の臨床病理学的特徴が再現されたことから、本マウスモデルは、sIBM の病態を解明し、新たな治療法開発に有用なツールとなることが期待される。

A：研究目的

封入体筋炎（sIBM）は、50 歳以上の患者で最も多い炎症性筋疾患であり、本邦でもその患者数は増加傾向にある。本症は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

徴とするが、有効な治療法はなく、本質的な病態の理解と疾患モデルの確立は喫緊の課題である。sIBM の病態には変性と炎症が関与すると考えられてきたが、依然として不明である。今日までに免疫異常、タンパク分解障

害、ミトコンドリア機能異常などの関与が推測されている。免疫異常に関しては、Salajeghehらは初めてsIBM患者の血漿および血清サンプルから自己抗体の存在を明らかにした(Salajegheh *et al.*, 2011)。さらに2013年、自己抗体の標的抗原が細胞質5'-ヌクレオチダーゼ1A (cN1A) であると報告された。Larmanらは、ドットプロットアッセイによるsIBM診断において、抗cN1A抗体の反応性が中程度の場合の感度と特異性はそれぞれ70%と92%、高反応の場合は34%と98%と報告した(Larman *et al.*, 2013)。Plukらは、免疫沈降法を用いて、sIBM患者の血清サンプルの33%に抗cN1A抗体があることを証明した(Pluk *et al.*, 2013)。

また病因的意義に関しては、本抗体陽性患者の免疫グロブリンG (IgG) をC57BL/6マウスの腹腔内に接種する受動免疫を行なったところ、筋線維にp62陽性凝集体とマクロファージの浸潤が認められた(Tawara *et al.*, 2017)。これらの結果は、sIBMの筋変性におけるcN1A抗体の病原性の可能性を示唆した。本研究は、抗cN1A抗体陽性および陰性患者の臨床病理学的特徴を比較するとともに、野生型マウスにcN1Aペプチドを能動免疫して臨床病理学的変化を評価し、抗cN1A抗体の病因的役割と自己抗体が誘発する免疫変化を立証することが目的である。

B: 研究方法

1) 患者とデータ収集

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。

2) cN1A ペプチドによるマウスの能動免疫

2ヶ月齢の雌性C57BL/6マウスを、コントロールおよび組換えマウスcN1Aペプチド-1、ペプチド-3、ペプチド-5の4群 (1群5匹) に割り付けた。ペプチド-1、ペプチド-3、ペプチド-5の抗原ペプチド200 μ gと完全フロイントアジュバント (CFA : M. tuberculosis 400 μ g+不完全フロイントアジュバント 100 μ l) を、第1週目に各マウスの足底と尾部にそれぞれ注入した。同時に、各マウスに350ngの百日咳毒素を腹腔内注射した。対照群のマウスには、CFAおよび百日咳毒素を注射した。各マウスは、2、3、4週目に各ペプチド (ペプチド-1、3、5) 200 μ g およびCFA200 μ l (対照群はCFAの

み)を注射した。すべてのマウスは6週目に安楽死の上、病理解析を行なった。

3) 臨床病理学的解析

マウスの運動能力は、トレッドミル試験 (LE8710 ; Panlab Harvard Apparatus, Barcelona, Spain) で分析した。骨格筋凍結切片は一般的な病理染色とともに、以下の一次抗体を用いて免疫染色を行なった。一次抗体 : 抗 CD8 (1:1,000 希釈、Abcam)、抗 MHC クラス I (1 : 100 希釈、Abcam)、マウス抗 p62/SQSTM1 (1 : 250 希釈、Medical & Biological Laboratories)、マウス抗 LC3 (1:1,000 希釈、Medical & Biological Laboratories) 抗体

(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。すべての動物実験は、熊本大学倫理委員会の承認 (番号 A2021-005) を受け、熊本大学の関連ガイドラインおよび規則に従って実施された。

C : 研究結果

1) 抗 cN1A 抗体陽性患者における上肢遠位優位の筋力低下

対象となった 570 例のうち 365 例が 2011 年 ENMC 基準により、clinicopathologically defined、clinically defined、または possible sIBM を満たした。365 人のうち、201 人

(55.1%) が抗 cN1A 抗体陽性、164 人が陰性であった。抗体陽性例では、深指屈曲筋力 < 肩外転筋力の頻度 ($p = 0.0389$ 、カイ二乗検定)、握力左右差の絶対値 ($p = 0.0097$ 、カ

イ二乗検定)、歩行障害による発症頻度 ($p = 0.0395$ 、カイ二乗検定) に有意差が見られ、抗体陽性例は上肢遠位筋優位の筋力低下を呈することが示された。主治医がステロイド療法が有効と判断した割合は、抗体陽性群で高かった ($p = 0.0025$ 、カイ二乗検定)。肺機能や重症度などの他の指標は、両群間に有意差はみられなかった。

2) SjS の合併は抗 cN1A 抗体と関連しない

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。したがって、今回の観察では、cN1A 自己抗体と SjS の間に有意な関連は認めなかった。

3) cN1A ペプチド接種マウスの運動能力の減少

cN1A ペプチドの能動免疫が運動機能へ及ぼす影響を調べるため、トレッドミル試験による運動能力を調査した。ペプチド-1 注射マウスおよび対照群と比較して、ペプチド-3 およびペプチド-5 注射マウスの運動活性が有意に低下した。

4) cN1A ペプチド接種マウスにおける炎症

性細胞浸潤と内在核線維の増加

抗 cN1A 抗体の病原性を確認するため、cN1A ペプチドを接種したマウスの組織学的変化を検討した。ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色では、cN1A ペプチドを接種したマウスでは、筋線維径の変化と非壊死線維を包囲・浸潤した単核球みられた一方、CFA のみを投与したマウスでは、筋組織像は正常だった。ゴモリトリクローム変法では、縁取り空胞 (RV) は認められなかった。内在核線維数は、ペプチドを接種した群で有意に増加した。次に免疫学的変化を評価したところ、すべてのペプチド注射マウスにおいて CD8 陽性 T 細胞の浸潤が高頻度に観察された。MHC-I の発現は、ペプチド接種群では筋膜上に発現亢進したが、コントロール群ではみられなかった。さらに変性変化を評価したところ、p62 の免疫反応性はペプチド-1 接種マウスでは筋線維がびまん性に染色され、ペプチド-3 と 5 の接種マウスでは点状に染色され、対照マウスでは微弱なシグナルしか観察されなかった。LC3 の免疫反応性は、ペプチド-3 および 5 接種マウスでは、ドット状のパターンを示した。

D : 考察

抗 cN1A 抗体陽性患者では、手指屈曲障害が優位な筋力低下、左右握力間の絶対差に有意差があることが明らかになった。cN1A ペプチドの能動免疫により、トレッドミル試験による運動能力の低下が引き起こされ、内在核線維、非壊死線維への CD8 陽性 T 細胞の包囲や侵入、p62 や LC3 凝集体形成が確認された。

2013 年以降、抗 cN1A 抗体と関連する臨床的特徴が明らかにされつつある。少数患者を

対象とした初期の研究では、本抗体陽性患者では起立が遅く、MRC 筋力スコアが低く、努力肺活量が低く、車椅子や歩行器の使用頻度が高く、嚥下障害や顔面筋罹患が多いことが示された(Goyal *et al.*, 2016)。さらに、311 例の大規模な解析では、上肢近位筋の筋力低下を示す患者の頻度が低く、顔面筋の罹患頻度が高く、チトクローム酸化酵素欠損線維の頻度が高く、生存期間が短縮するという予後への影響が見られた(Lilleker *et al.*, 2017)。一方、若年性筋炎患者では比較的高い頻度で本抗体が陽性となり、抗体陽性例では呼吸器症状がより重く、頻繁に入院して多剤治療を要する(Yeker *et al.*, 2018)。本研究は、患者数が 365 人と比較的多く、抗体陽性例から得られた明確な臨床的特徴が、自己抗体の病因的意義を支持する可能性がある。

抗 cN1A 自己抗体の病原性については、依然として議論の余地がある。我々の以前の研究では、抗 cN1A 抗体陽性患者由来の IgG を受動免疫すると、マクロファージの浸潤を伴う p62 の筋肉内凝集が誘導されたが、CD8 陽性 T 細胞は誘導されなかった。さらに体重変化やロータロッド試験などで測定した運動機能に有意差は認められなかった。すなわち受動免疫モデルと患者間の類似性は変性面の組織変化に限られていた。一方、能動免疫モデルは、RV、TDP-43 の核外局在、アミロイド沈着、ミトコンドリア異常は見られないものの、患者と臨床的にも組織学的にもかなりの類似性を持つ。今回作成した能動免疫モデルは、少なくとも sIBM の炎症と変性の両方の病態を再現しており、sIBM の病態の解明や治療開発に有用なツールとして期待される。

E : 結論

抗 cN1A 抗体陽性患者は、手指屈曲優位の筋力低下を伴うことが多く、本抗体が sIBM の臨床病理学的特徴の修飾因子となる可能性が示された。また、cN1A ペプチドの能動免疫により sIBM の炎症および変性面の特徴が再現され、抗 cN1A 抗体が病態メカニズムにおいて重要な役割を果たすことが示唆された。本モデルは、sIBM の病態を解明し、新たな治療戦略の開発に有用である。

参考文献

Salajegheh M, Lam T, Greenberg SA. Autoantibodies against a 43 KDa muscle protein in inclusion body myositis. PLoS One (2011) 6:e20266.

Larman HB, Salajegheh M, Nazareno R, et al. Cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoimmunity in sporadic inclusion body myositis. Ann Neurol (2013) 73:408-18.

Pluk H, van Hoeve BJ, van Dooren SH, et al. Autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in inclusion body myositis. Ann Neurol (2013) 73:397-407.

Tawara N, Yamashita S, Zhang X, et al. Pathomechanisms of anti-cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoantibodies in sporadic inclusion body myositis. Ann Neurol (2017) 81:512-25.

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.

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.

E : 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. Nakahara K., Ikeda T., Takamatsu K., Tawara N., Hara K., Enokida Y., Tanoue N., Narita S., Fujii A., Yamanouchi Y., Morinaga J., Yamashita S. A randomized phase 2 trial of antibiotic prophylaxis versus no intervention for muscle biopsy in department of neurology. Acta Med. Okayama (2020) 74:261-264.
2. Shimazaki R., Uruha A., Kimura H., Nagaoka U., Kawazoe T., Yamashita S., Komori T., Miyamoto K., Matsubara S., Sugaya K., Nagao M., Isozaki E. Rimmed vacuoles in myositis associated with anti-mitochondrial antibody. J. Clin. Neurol. (2020) 16:510-512.
3. Oyama M., Ohnuki Y., Inoue M., Uruha A., Yamashita S., Yutani S., Tanboon J., Nakahara J., Suzuki S., Shiina T., Nishino I., Suzuki S. HLA-DRB1 allele and autoantibody profiles in Japanese patients with inclusion

- body myositis. *PLoS One* (2020) 15:e0237890.
4. Hara K., Nozaki K., Matsuo Y., Tawara N., [Yamashita S.](#) Biological significance of target fibers in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* (2020) 91:1241-1242.
 5. Amato AA., Hanna MG., Machado PM., Badrising UA., Chinoy H., Benveniste O., Karanam AK., Wu M., Tankó LB., Schubert-Tennigkeit AA., Papanicolaou DA., Lloyd TE., Needham M., Liang C., Reardon KA., de Visser M., Ascherman DP., Barohn RJ., Dimachkie MM., Miller JAL., Kissel JT., Oskarsson B., Joyce NC., den Bergh PV., Baets J., De Bleeker JL., Karam C., David WS., Mirabella M., Nations SP., Jung HH., Pegoraro E., Maggi L., Rodolico C., Filosto M., Shaibani AI., Sivakumar K., Goyal NA., Mori-Yoshimura M., [Yamashita S.](#), Suzuki N., Aoki M., Katsuno M., Morihata H., Murata K., Nodera H., Nishino I., Romano CD., Williams VSL., Vissing J., Auberson LZ., the RESILIENT Study Extension Group. Efficacy and safety of bimagrumab in sporadic inclusion body myositis: Long-term extension of RESILIENT. *Neurology* (2021) 96:e1595-e1607.
 6. Tawara N., [Yamashita S.](#), Takamatsu K., Yamasaki Y., Mukaino A., Nakane S., Farshadyeganeh P., Ohno K., Ando Y. Efficacy of salbutamol monotherapy in slow-channel congenital myasthenic syndrome caused by a novel mutation in CHRND. *Muscle Nerve* (2021) 63:E30-E32.
 7. [Yamashita S.](#) Recent Progress in Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. *J. Clin. Med.* (2021) 10:1375.
 8. Tawara N., [Yamashita S.](#), Nagatoshi C., Nakajima M., Ichimura Y., Okiyama N., Ando Y. Anti-NXP2 antibody-positive dermatomyositis with aortic thrombus in normal aortic wall. *Rheumatology (Oxford)* (2021) 60:e159-e161.
 9. Kumai Y., Miyamoto T., Matsubara K., Satoh C., [Yamashita S.](#), Orita Y. Swallowing dysfunction in myasthenia gravis patients examined with high-resolution manometry. *Auris Nasus Larynx* (2021) 48:1135-1139.
 10. Tawara N., Nakane S., Kudo N., Kosaka T., Takamatsu K., Wada K., Kobayashi A., [Yamashita S.](#), Funagura N., Inoue T., Ando Y. Binocular hemianopia caused by bilateral optic perineuritis due to sarcoidosis. *eNeurologicalSci.* (2021) 24:100354.
 11. 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.
 12. Yamasaki Y., Mukaino A., [Yamashita S.](#)

- 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.
13. 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. 山下賢. ALS に対する医療ケアの進歩と在宅診療 (招待講演). 第 2 回日本在宅医療連合学会大会, Jun 27, 2020, 名古屋 (オンライン講演)
2. Yamashita S., Mukaino A., Yamasaki Y., Hara K., Tawara N., Kakimoto A., Ueyama H. Clinical features of inclusion body myositis associated with Sjögren's syndrome. 第 61 回日本神経学会総会, Aug 31-Sep 2, 2020, 岡山 (口演)
3. Hara K., Yamashita S., Nozaki K., Matsuo Y., Tawara N. Clinicopathological investigation of target fiber in amyotrophic lateral sclerosis. 第 61 回日本神経学会総会, Aug 31-Sep 2, 2020, 岡山 (ポスター)
4. 向野晃弘、山下賢、山崎義宗、竹内陽介、俵望、吉田遼司、本田由美、山下太郎、柿本麻子、上山秀嗣、安東由喜雄、植田光晴. シェーグレン症候群を合併した封入体筋炎における免疫治療有効性因子の臨床的探索 (ワークショップ). 第 32 回日本神経免疫学会学術集会, Oct 1, 2020, 金沢 (口演)
5. 山下賢、俵望、高松孝太郎、山崎義宗、向野晃弘、中根俊成、大野欽司. 新規 CHRND 遺伝子変異を有するスローチャンネル症候群に対するサルブタモール単剤投与の有効性. 第 38 回日本神経治療学会学術集会, Oct 29, 2020, 東京 (口演)
6. 大山宗徳、大貫優子、井上道雄、漆葉章典、山下賢、湯谷佐知子、Jantima Tanboon、中原仁、鈴木進悟、椎名隆、西野一三、鈴木重明. 封入体筋炎と HLA-DRB1*01:01 の関連. 第 38 回日本神経治療学会学術集会, Oct 28-30, 2020, 東京 (口演)
7. 山下賢. 多系統蛋白質症から解き明かす神経筋変性疾患の多様性. 第 25 回日本難病看護学会・第 8 回日本難病医療ネットワーク学会合同学術集会, Nov 20-21, 2020, web (教育講演)
8. 山下賢. 多系統蛋白質症における前頭側頭型認知症. 第 39 回日本認知症学会学術集会, Nov 26-28, 2020, 名古屋 web (シンポジウム)
9. Yamashita S., Hara K., Tawara N., Ueda M. Clinical features of inclusion body myositis associated with HTLV-I infection. 第 62 回日本神経学会総会, May 19-22, 2021, 京都 (口演)
10. 山下賢. 封入体筋炎を取り巻く免疫学的病態. 第 39 回日本神経免疫学会学術集会, Oct 21-22, 2021, web (シンポジウム)
11. 山下賢. ALS に対する新規治療. 第 39 回日本神経治療学会学術集会, Oct 28-

29, 2021, 三重 web (シンポジウム)

12. 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)
13. 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)

F : 知的所有権の取得状況

1 : 特許取得

なし

2 : 実用新案登録

なし

3 : その他

なし

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

【論文】

発表者名	論文タイトル名	発表誌	巻・号	ページ	出版年
Suzuki N, Mori-Yoshimura M, Katsuno M, Takahashi MP, Yamashita S, Oya Y, Hashizume A, Yamada S, Nakamori M, Izumi R, Kato M, Warita H, Tateyama M, Kuroda H, Asada R, Yamaguchi T, Nishino I, Aoki M.	Phase II/III Study of Aceneuramic Acid Administration for GNE Myopathy in Japan.	J Neuromuscular Dis.	In press		2023
Takahashi T, Li Y, Chen W, Nyasha MR, Ogawa K, Suzuki K, Koide M, Hagiwara Y, Itoi E, Aizawa T, Tsuchiya M, Suzuki N, Aoki M, Kanzaki M.	RSPO3 is a novel contraction-inducible factor identified in an "in vitro exercise model" using primary human myotubes.	Sci Rep.	12	14291	2022
Ishigakii K, Ikeda R, Suzuki J, Hirano-Kawamoto A, Ohta J, Kato K, Izumi R, Suzuki N, Aoki M, Kawase T, Katori Y.	Patulous Eustachian Tube Patients With Oculopharyngeal Muscular Dystrophy.	Otol Neurotol.	43	e442-e445	2022
Kawamura Y, Hida T, Ohkawara B, Matsushita M, Kobayashi T, Ishizuka S, Hiraiwa H, Tanaka S, Tsushima M, Nakashima H, Ito K, Imagama S, Ito M, Masuda A, Ishiguro N, Ohno K.	Meclozine ameliorates skeletal muscle pathology and increases muscle forces in mdx mice	Biochem Biophys Res Commun	592	87-92	2022
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	2022
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.	109(11)	2088-2089	2022
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	Acta Neuropathol Commun.	10(1)	176	2022

	dystrophy.				
Hasegawa T, Ito M, Hasegawa S, Teranishi M, Takeda K, Negishi S, Nishiwaki H, Takeda J, LeBaron TW, Ohno K.	Molecular hydrogen enhances proliferation of cancer cells that exhibit potent mitochondrial unfolded protein response	Int J Mol Sci	23(5)	2888	2022
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	5(1)	453	2022
○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 aggregates in cultured cells, and reduces DOK7 expression and MuSK phosphorylation in patient-derived iPS cells	Hum Mol Genet		in press.	
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	25	39	2023
○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.	
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	11(3)	814	2023
○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	24	3730	2023
Kenichiro Taira, Madoka Mori-Yoshimura, Toshiyuki Yamamoto, Yasushi Oya ,Ichizo Nishino, Yuji Takahashi.	Clinical characteristics of dysphagic inclusion body myositis.	Neuromuscul Disord.	33(2)	133-138.	2023