

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：遺伝性ミオパチーの次世代型統合的診断拠点形成

2. 研究開発代表者： 西野一三（国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所  
疾病研究第一部 部長）

3. 研究開発の成果

・全エクソーム解析・・・既知の原因遺伝子スクリーニングにより見出された原因遺伝子変異不明の症例に対して、全エクソーム解析（H27年度1年間で542件）を行い、当センターでの次世代シーケンサー導入開始からの解析件数は計1023エクソームとなった。これらのエクソームデータから得られた全検体の全バリエーション情報を効率よく検索すべく、エクソームデータベースを構築した。全エクソーム解析実施例の中から共同研究により、新規のX染色体連鎖性ミオパチーの原因遺伝子Xに変異をもつ症例2例、ネマリンミオパチーの原因遺伝子Yに変異をもつ症例4例見出した（投稿準備中）。さらにLMNA変異による新規フェノタイプを4症例に見出した（投稿準備中）。本邦初となる遺伝子変異を持つ症例を複数見出すと共に（MEGF10, TK2, ACAD9, SPEG等）（投稿中もしくは投稿準備中）、FSHD2の新規修飾遺伝子を報告した（van den Boogaard et al. 2016 AJHG）。これらの他にも、新規の原因遺伝子である可能性のある遺伝子について、機能解析をすすめている。さらに、今年度はエクソームデータベースの検索システムを新規に構築するとともに、リファレンスエクソームデータベースの追加などを行い、さらなる充実を図った。来年度はさらに効率よくエクソーム解析を行うことが可能となる。

・機能解析・・・tubular aggregate myopathy患者においてこれまでに見いだされているGFPT1遺伝子変異について、tubular aggregateを引き起こすメカニズムを解析した。患者細胞では、ORAI1変異をもつ患者細胞のように細胞外からのカルシウムの流入が観察され、GFPT1変異をもつミオパチーにおいても、ストア作動性チャンネルを介した細胞外からのカルシウム流入が起こっているものと考えられた。また、 $\alpha$ -dystroglycanopathy患者に見出された7種類のISPD変異について、HAP1細胞における $\alpha$ -dystroglycanの糖鎖回復を指標に変異原性を調べ病原性を確定しつつある。

・既知遺伝子のハイスループット解析・・・遺伝子診断が未知の遺伝性筋疾患に対して、臨床症状・筋病理診断をもとに、筋疾患遺伝子を、筋ジストロフィー(MD)、先天性ミオパチー・先天性筋無力症(CMP)、筋原線維性ミオパチー他タンパク凝集やRimmed vacuoleを特徴とするミオパチー(MFM)、代謝性ミオパチー(MM)の4つのカテゴリーに分け、遺伝子パネルを作成、それぞれIonPGMシーケンサーで網羅的に解析を行った。これまで、この4種類のいずれかのパネルで、895症例で解析を終えており、それぞれ確定診断に至った症例の比率は、MD:48%、CMP:34%、MFM:10%、MM:51%であった。更に、GNEミオパチーやジストロフィノパチー患者において、一塩基置換や微小欠失・挿入が見つからなかった患者で、構造変化による変異が疑われたため、Depth of Coverage解析により、大規模欠失や重複変異を見いだす系を構築した。

・ミトコンドリア病・・・MiSeqを用いた全エクソーム解析を行い、4例について候補原因遺伝子を同定している。現在、病原性についての確認作業を進めている。

・筋病理・骨格筋画像解析・・・遺伝性ミオパチー画像登録フォーム、臨床情報登録フォームを作成し、遺伝性ミオパチー300例の骨格筋画像と、ミトコンドリアミオパチー20例の脳画像の集積を行った。

・国内外の連携・・・中国・韓国からの留学生を受け入れ、研修中である。タイ、台湾、エジプト、ベトナムなどでアウトリーチ型の診断支援活動を行い、国際的ネットワーク形成に向けた基盤形成に努めた。