国立研究開発法人日本医療研究開発機構
障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野

筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究

(15dk0310043h0002)

平成 27 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 松村 剛

平成 28 (2016)年 5 月

総括研究報告書

障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野(15dk0310043h0002)

筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究

研究開発代表者：松村　剛　(国立病院機構刀根山病院神経内科)

当研究班は、新規治療の開発が進みつつある筋強直性ジストロフィー(Dystrophia myotonica: DM)において､治験を推進するために必要な臨床基盤の整備を目的に活動している｡希少疾病における治験成功には、正確な診断と機能障害・合併症等を含む臨床データの集積や治験実施可能調査・円滑なリクルートのための患者登録、現在可能な best practicable care の実践などが必要である。DM は骨格筋以外にも中枢神経を含む多臓器が冒される疾患で、症状の自覚が乏しく未受診例が多い、受けている医療にばらつきが多いなど課題が多い。こうした背景も踏まえ、諸機関とも連携の上患者登録の推進と登録データ分析、アウトリーチ活動、プロジェクト・個別研究、指定難病関連作業を実施している。

①患者登録推進

「難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした 疾患レジストリー研究」と協力し、ジストロフィン異常症等で実績のある Remudy のシステムを利用し、大阪大学を事務局として 2014 年 10 月から登録を開始している。2016 年 3 月までに 445 名の患者が登録している。登録患者の増加に伴い登録データの分析を行い、学会・研究会などで随時発表を行っている。

②アウトリーチ活動(ホームページ、Remudy 通信、市民公開講座、学会･論文発表等)

a. ホームページ(http://dmctg.jp/)は 2014 年 12 月から運用を開始した。2015 年度には妊娠･出産や麻酔に関する注意事項などコンテンツの充実を図った。ホームページの管理は患者グループに委託し、ジョブモデルとしても重要な役割を示している。

b. Remudy 通信は、患者登録いただいた患者様に送付されるミニコミ誌で、患者登録開始に伴い毎号 DM に関わる記事を掲載、プロジェクト研究の案内なども実施している。

c. 市民公開講座は 2015 年度に新潟、東京、札幌、福岡、高知で開催した。高知を除き Web 中継を行い来場困難な人も視聴可能とした。他機関・患者会との連携により、青森、広島、秋田、和歌山でも講演を行った。一部の会は新聞記事にも掲載され未受診の患者にも情報を届けることが出来た。こうした活動を通じてサポートグループ設立の動きが出て､一般社団法人日本筋ジストロフィー協会に筋強直性ジストロフィー分科会が出来たほか、2016 年 3 月には NPO 法人筋強直性ジストロフィー患者会が発足した。

③ 筋ジストロフィー指定難病関連作業

筋ジストロフィー指定難病関連作業として､難病情報センターホームページコンテンツ作成、臨床調査個人票の更新などを行った。

④ プロジェクト研究

標準医療確立に向けたエビデンス構築を目的に、a.呼吸管理の効果と阻害因子についての分析、b.経時的心電図分析による致死性不整脈予測因子の分析とデバイス治療適応の検討、c. 持続血糖測定による詳細な血糖変動の検索と DPP4 阻害治療の有効性検討、d.中枢神経障害の神経心理学的分析の臨床研究を実施している。現在までに a は 174 例、b は 390 例、c は 40 例、d は 40 例程度のデータを収集している。ひき続きデータ収集を行い 2016 年度中に解析・公表予定である。また、先天性筋強直性ジストロフィー患者の医療管理における課題を明らかにする目的で、産婦人科・小児科を対象とした全国規模アンケート調査を実施中で、2015 年度に一次調査を実施、2016 年度に二次調査を実施予定である。

⑤個別研究

難治性疾患の治験において、patient reported outcome (PRO)が重視されてきていることを踏まえ、神経筋疾患の標準的指標の 1 つである Individual Neuromuscular Disease Quality of Life UK 版 ver 2.0 の日本語版作成を行った。患者登録の Web 運用・ホームページでの情報発信等の課題を明らかにするため、Web 利用状況調査、Web 上の Q&A サイト分析を行った。神経筋疾患の腎機能障害について後方視的検討を行い DM で疾患特異的な腎機能障害が存在することを報告した。

（報告様式４）

【課題管理番号】15dk0310043h0002
平成 ２８年 ５月 ２８日

平 成 ２ ７ 年 度　委 託 研 究 開 発 成 果 報 告 書

国立研究開発法人日本医療研究開発機構　殿

（契約者）
機関名　：　国立病院機構刀根山病院
所属 役職　：　院長
氏　名　：　佐古田　三郎　㊞

事　業　名	障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名	筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
研究開発担当者 所属 役職 氏名	国立病院機構刀根山病院神経内科部長　松村　剛

上記研究開発に関する成果の報告書を委託研究開発契約書第１７条（※）の規定に基づき別添の通り提出します。

（※）「研究開発代表者若しくは研究開発分担者が国立研究機関等の所属の場合には第１６条」

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		国立病院機構刀根山病院
研究開発担当者	所属 役職	神経内科部長
	氏名	松村　剛
実施期間		平成　27　年　4　月　1　日　～　平成　28　年　3　月　31 日

Ⅰ．研究開発目的及び内容

筋強直性ジストロフィー(Dystrophia myotonica: DM)では、基礎研究の進歩により新規治療薬の開発・既存市販薬で本症に有効性が期待される薬剤の発見などが進んでいる。このため、治療法開発を臨床に展開するための臨床基盤整備の必要性が高くなっている。一方で、本症は骨格筋以外にも中枢神経を含む全身の多臓器に障害を来す疾患で、症状の自覚に乏しいため未診断例・受診中断例が多い。また、全身管理の標準治療が確立されておらず医療の内容にバラツキが大きいなどの問題がある。こうしたことは、治験を成功させるための阻害要因となる。本研究では、患者登録など治験推進のための基盤整備に加え、受療動態改善、標準的医療確立のための疫学・臨床研究を実施する。具体的には、患者登録の運用とアウトリーチ活動、プロジェクト・個別研究、指定難病関連作業を実施している。

Ⅱ．実施内容

１．研究開発の概要

①患者登録推進

DM の患者登録は、「難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした 疾患レジストリー研究」と協力し、既にジストロフィン異常症等で実績のある Remudy のシステムを利用し、大阪大学を事務局として 2014 年 10 月から運用を開始している。2016 年 3 月までに 445 名の患者が登録している。登録患者の増加に伴い登録データの分析を行い、学会・研究会などで随時発表を行っている。Web システムを用い、全国の専門家が curation を分担することで事務局の負担軽減を図ることを予定しているが、運用開始の遅れにより 2016 年度にずれ込む予定となっている。

②アウトリーチ活動

ホームページ、Remudy 通信、市民公開講座、学会・研究会・論文発表などを通じて積極的なアウトリーチ活動を実施している。

a. ホームページ(http://dmctg.jp/)は信頼できる臨床情報、治療開発の現状、班の活動状況等を広く発信する目的で 2014 年 12 月から運用を開始した。2015 年度はリクエストや Web の Q&A サイト分析結果なども参考に、妊娠･出産や麻酔に関する注意事項、診断された方へのメッセージ、日常に役立つヒント集(和訳)などコンテンツの充実を図った。ホームページの管理は患者グループに委託し、ジョブモデルとしても重要な役割を示している。

b. Remudy 通信は、患者登録いただいた患者に送付されるミニコミ誌で、患者登録開始に伴い毎号 DM に関わる記事を掲載、プロジェクト研究の案内なども実施している。

c. 市民公開講座は、新規治療薬開発の現状、定期的受診・検査・治療の必要性、治験・臨床研究への協力の重要性などを直接届けること、地域の専門機関と連携して実施することで医療者側のインセンティブ向上・専門機関への患者リクルート促進などを目的に各地で開催している。症状の自覚が乏しく、医療機関を受診していない患者が多いこと、指定難病に入ったことから関係者にも理解を広める必要があることなどから、face to face で情報が伝えられ、個別相談にも応じられる機会は重要である。2015 年度は研究班として新潟(2015 年 5 月 24 日：じょいあす新潟会館)、東京(2015 年 7 月 19 日：国立病院機構本部)、札幌(2015 年 10 月 4 日：札幌国際ビル)、福岡(2016 年 1 月 17 日：福岡県中小企業振興センター)、高知(2016 年 3 月 26 日：高知市文化プラザかるぽーと)で実施した。班の市民公開講座では、高知を除き Web 中継を実施し来場できない方も視聴可能としたところ、毎回 100 名以上のアクセスを得た。また、他機関・患者会等とも連携して、青森(2015 年 6 月 27 日：国立病院機構青森病院主催、青森県観光物産館アスパム)、広島(2015 年 7 月 12 日：ミオパチーの会オリーブ主催、広島市南区地域福祉センター)、秋田(2015 年 11 月 15 日：国立病院機構あきた病院主催、国立病院機構あきた病院)、和歌山(2015 年 12 月 20 日：和歌山県筋疾患相談会：和歌山県勤労福祉会館プラザホープ)でも行った。東京、札幌、秋田等では新聞記事の掲載を得て病院を受診していない患者にも情報を届けることが出来た。

これらの活動を通じて、患者側にもピアサポートグループ形成の動きが出て、一般社団法人日本筋ジストロフィー協会に筋強直性ジストロフィー文科会が出来たほか、2016 年 3 月には NPO 法人筋強直性ジストロフィー患者会が全国規模で発足した。これに対しても、医療情報提供など支援を行った。

③ 筋ジストロフィー指定難病関連作業

筋ジストロフィー指定難病関連作業として、難病情報センターホームページコンテンツ作成、臨床調査個人票の更新などを行った

④ プロジェクト研究

標準医療確立に向けたエビデンス構築を目的に以下の 5 つの研究を遂行中である。

a. 呼吸管理の効果と阻害因子についての分析

DM 患者では肺活量低下以前から低酸素血症が存在し、睡眠時無呼吸が頻発するなど他の神経筋疾患に無い特徴を有する。低酸素血症に対する自覚症状が乏しく呼吸管理のコンプライアンスが不良で、呼吸管理の有効性・適切な管理についてのデータは乏しかった。欧米では呼吸器装着率が低いため、本邦でエビデンス構築の必要性が高い。われわれは療養介護病棟入院患者データベースを分析し、呼吸器装着患者は非装着患者より 2 年程度生命予後が改善していることを確認したが、Duchenne 型筋ジストロフィーなどと比べ有効性が低かった。追加調査により呼吸管理効果の阻害要因と対策を検討する。これまでに 174 例のデータを収集し解析中である(データ収集継続中)。

b. 経時的心電図分析による致死性不整脈予測因子の分析とデバイス治療適応の検討

DM では心伝導障害・洞不全症候群が存在しており、本症における突然死の原因としてこれらによる不整脈が挙げられている。海外では PQ>240msec や QRS>140msec など心電図異常のある患者に積極的にデバイス治療を行い、心イベントや総死亡が改善したとする報告があるが、本邦ではデバイス治療は登録患者の 2%台と少ない。一方で、本邦で欧米より突然死が高頻度とのデータは無く、致死性不整脈の予測因子を明らかに出来れば、より適切なデバイス治療が可能になると期待される。本研究では DM の心電図を後方視的に経時的変化を解析し、遺伝子変異や合併症との関連を検索、致死性不整

脈の予測因子やペースメーカー・除細動器の適応を提唱する。これまでに 390 例程度のデータを収集し解析中である(データ収集継続中)。

c. 持続血糖測定による詳細な血糖変動の検索と DPP4 阻害治療の有効性検討

DM ではインスリン感受性低下による耐糖能障害が知られているが、筋萎縮や運動機能障害も加わり複雑な病態を呈する。登録データ分析でもインスリン治療を含む様々な治療がなされていたが、内服薬では DPP4 阻害薬が最も多かった。これまで、DM では α glucosidase 阻害剤やチアゾリン誘導体、ビグアナイドのデータは報告されているものの、DPP4 阻害薬についてのエビデンスは無い。本研究では、持続血糖測定器を用い詳細な血糖変動を明らかにすることで、本症の耐糖能障害の特徴を明らかにし、栄養・投薬管理の基礎的データを提供すると共に、DPP4 阻害治療の有効性を評価する。これまで 40 名程度のデータを収集したが、治療対象者のデータが不足しているため Remudy 通信や国立病院機構、筋ジストロフィー臨床試験ネットワークなどを通じた情報提供でリクルートを行っている。

d. 中枢神経障害の神経心理学的分析

DM では MRI による白質病変の存在、特有の性格や認知症の存在など中枢神経障害が知られており、この問題は治療に対するコンプライアンスにも影響を及ぼしている。本症の中枢神経障害の詳細は不明なため、本研究では複数の神経心理学的検査を用いて DM の認知機能障害の特徴を明らかにし、認知行動療法など QOL・受療改善に向けた対策を考察する。これまでに 40 名程度のデータを収集し現在解析中である。

中枢神経障害には、基礎科学者、医師、心理士、言語聴覚士、教育関係者など多職種が関連しているが、職域を超えた情報共有と協働が研究促進に重要であることから、**「筋ジストロフィーのエビデンス創出を目的とした臨床研究と体制整備」班と共催で 2014 年度から「筋ジストロフィーの CNS 障害研究会」を実施している。2015 年度は 2016 年 1 月 9 日に東京大学弥生講堂にて実施した。**

e. 先天性筋強直性ジストロフィー患者管理アンケート調査

DM1 の重症度や発症年齢は幅広く、最重症例には妊娠異常や新生児期から重篤な症状を呈する先天性患者がある。先天性児の多くは女性患者の妊娠により発生し、母体・患児双方に高度な医療ケアを要するが、軽症の女性患者では自身の疾患に気付いていないために対応が後手に回る事例が多い。出産時のリドトリンによる横紋筋融解症など医療行為によるトラブルも有り、適切な対応の構築が必要である。先天性児管理についての問題点を明らかにするため、全国の産婦人科施設、NICU 施設にアンケート調査を行う。2016 年 1 月に一次調査を行い、現在二次調査の準備中である。

⑤ 個別研究

a. Individual Neuromuscular Disease Quality of Life (INQoL) UK 版 ver 2.0 日本語版作成

治験においては、筋力や運動機能、検査データなどの客観的評価に加え、患者自身の主観的評価(patient reported outcome: PRO)の重要性が認識されつつある。神経筋疾患の標準的 PRO 指標の 1 つにイギリスで作成された INQoL がある。国際的に共通の PRO が使用できることは、国際共同治験に参加する上で重要な条件の一つとなる。われわれは、版権を持つ MR Rose & King's College Hospital NHO Foundation と連絡の上、標準的手法に基づいて日本語版を作成。10 名程度の患者で validation check を行い、正式な日本語版として登録した。

b. Web 利用状況調査

われわれは患者登録の Web 運用を計画しているが、筋ジストロフィー患者における Web 利用状況は不明である。このため Web 利用状況やどのような支援が必要か明らかにするため班員施設においてアン

ケート調査を行った。この結果、デュシェンヌ型に比べ、DM では Web 利用頻度が乏しく、適切な支援が必要なことが分かった。

c. Q&A サイト分析

アウトリーチ活動においては、情報発信ソースによりアクセスする人や求められるニーズが異なることがあり、ニーズを踏まえた情報発信が重要である。Q&A サイトとして、Yahoo 知恵袋、AskDoctors, JustAnswer、発言小町を対象に、2010-2014 年に「筋強直性ジストロフィー」をキーワードに検索してヒットした 35 の質問を分析した。質問のタイミングとして病気の疑いや診断直後の患者が多く、結婚・出産に関わる質問もあったが、受診中の患者による治療内容の質問は少なかった。ホームページコンテンツに作成においても、参考としている。

d. 神経筋疾患における腎機能障害

神経筋疾患では筋萎縮のためクレアチニンが低値となり腎機能障害が見過ごされやすい。骨格筋量の影響を受けない cystatin C を用いて神経筋疾患患者 586 例の腎機能を後方視的に評価した。DM では他疾患に比べ cystatin C が高値を示し、CTG リピート数との関連が示されたことから、疾患特異的なメカニズムの存在が示唆された。剖検例での検索では、40 歳代の患者でも糸球体硬化像が目立つことから、白内障や禿頭などと同様な加齢性変化の早期発現が示唆された。

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（１）研究開発代表者　所属　：独立行政法人国立病院機構刀根山病院

研究開発代表者　役職　氏名：神経内科部長　松村　剛

分担研究開発課題名（実施内容）：研究統括、アウトリーチ活動

①研究開発成果の内容

１．患者登録推進・Web システムを用いた登録システム運用：

2014 年 10 月の登録開始後 2016 年 3 月末までに 445 名の登録を得た。登録データを用いた本症の疫学的研究や遺伝学的状況、医療の内容の解析を行い学会等で報告している。Web システム運用への移行を進めつつあり、運用開始後全国の専門医が curation 作業を分担するシステム運用を確立する予定である。

２．アウトリーチ活動：

a. ホームページ：本症の信頼できる臨床情報・最新の医学情報提供、研究班活動内容広報を目的に 2014 年 12 月から研究班ホームーページを開設、順次内容を充実させている。

b. Remudy 通信：登録された患者に対して、Remudy 通信が定期配信されており、その中に DM のコンテンツを掲載し情報発信を行っている。また、実施中の研究を紹介するチラシを同封するなどリクルートにも活用している。

c. 市民公開講座：2015 年度は研究班主催で新潟、東京、札幌、福岡、高知で実施したほか、患者会や他医療機関・行政との協力の下で青森、東京(日本筋ジストロフィー協会)、広島(オリーブの会)、秋田、和歌山でも公開講座・講演を行った。このような活動の中で、患者様からサポートグループを立ち上げたいとの動きが出て、2016 年 3 月に NPO 法人筋強直性ジストロフィー患者会が設立、一般社団法人日本筋ジストロフィー協会においても筋強直性ジストロフィー分科会が設立された。これに対しても医療情報提供など支援を行った。

d. 学会・研究会：患者登録、および登録データ解析の内容について国内外の学会･研究会で発表した(AOMC, IDMC, 日本神経学会、日本神経治療学会、日本人類遺伝学会、日本難病医療ネットワーク学会、筋ジストロフィー医療研究会 etc.)。個別研究成果として、Q&A サイト分析結果について学会･研究会で報告、本症の腎機能障害についても国内外の学会で発表を行い現在論文投稿中である。

３． プロジェクト研究

4 つのプロジェクト研究に参加、を 1 つについて支援を実施した。

a. 呼吸管理の効果と阻害因子についての分析

プロトコル検討などに参加、58 例のデータ提供を行った。

b. 経時的心電図分析による致死性不整脈予測因子の分析とデバイス治療適応の検討

プロトコル作成に参加、140 例のデータ提供を行った。

c. 持続血糖測定による詳細な血糖変動の検索と DPP4 阻害治療の有効性検討

プロトコル作成に参加、観察研究を 13 例で実施した。

d. 中枢神経障害の神経心理学的分析

プロトコル作成に参加、大阪大学人間科学部と共同で 10 例程度のデータ収集に協力した。

「筋ジストロフィーのエビデンス創出を目的とした臨床研究と体制整備」班と共催で 2016 年 1 月 9 日に東京大学弥生講堂にて「筋ジストロフィーの CNS 障害研究会」を実施した。

e. 先天性筋強直性ジストロフィー患者管理アンケート調査

アンケート作成に協力、一次アンケート配送など事務作業を担当した。

４． 個別研究

a. INQoL UK 版 ver 2.0 日本語版作成

大阪大学と共同で、版権を持つ MR Rose & King's College Hospital NHO Foundation と連絡の上、標準的手法に基いて日本語版を作成。10 名程度の患者で validation check を行い、正式な日本語版として登録した。

b. Web 利用状況調査

当院では 22 名でアンケート調査を行った。

c. Q&A サイト分析

アウトリーチ活動においては、情報発信ソースによりアクセスする人や求められるニーズが異なることがあり、ニーズを踏まえた情報発信が重要である。Q&A サイトとして、Yahoo 知恵袋、AskDoctors、JustAnswer、発言小町を対象に、2010-2014 年に「筋強直性ジストロフィー」をキーワードに検索してヒットした 35 の質問を分析した。質問のタイミングとして病気の疑いや診断直後の患者が多く、結婚・出産に関わる質問もあったが、受診中の患者による治療内容の質問は少なかった。ホームページコンテンツに作成においても、参考としている。

d. 神経筋疾患における腎機能障害

神経筋疾患では筋萎縮のためクレアチニンが低値となり腎機能障害が見過ごされやすい。骨格筋量の影響を受けない cystatin C を用いて神経筋疾患患者 586 例の腎機能を後方視的に評価した。DM では他疾患に比べ cystatin C が高値を示し、CTG リピート数との関連が示されたことから、疾患特異的なメカニズムの存在が示唆された。剖検例での検索では、40 歳代の患者でも糸球体硬化像が目立つことから、白内障や禿頭などと同様な加齢性変化の早期発現が示唆された。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

１．患者登録

Web システム運用の開始を 2015 年度に予定していたが、まだ出来ていない。登録自体は当初の見込みより順調に進んでおり、3 年間で 500 名の初期目標は達成可能と思われる。患者団体や各地の医療機関等とも協力し出来るだけ幅広い患者の登録を引き続き進めていく予定である。登録数の増加に伴い、データ解析の結果を随時公表すると共に、二次調査や臨床研究の推進につなげていく。

２．アウトリーチ活動

HP のコンテンツ充実、Remudy 通信へのコンテンツ提供、市民公開講座など精力的に実施している。Web 中継や新聞への記事掲載、地域専門医療機関との連携などより効果的な運用に工夫しながら、進めていく予定である。

３．プロジェクト研究

後方視的研究である「呼吸管理の効果と阻害因子についての分析」、「経時的心電図分析による致死性不整脈予測因子の分析とデバイス治療適応の検討」については、既に各々170 例、390 例のデータを収集しており順調に推移している。前方視的研究である「持続血糖測定による詳細な血糖変動の検索と DPP4 阻害治療の有効性検討」、「神経心理学的特徴の解明」でも各々40 例のデータを収集したが、前者では介入例の不足があり、Remudy や NHO、MDCTN などを通じた広報を行っている。

４．指定難病作業

厚労省、難病情報センターからの指示に基づき作業を行った。

（2）研究開発分担者　所属　：

研究開発分担者　役職　氏名：

分担研究開発課題名（実施内容）:

①研究開発成果の内容

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

３．成果の外部への発表

（1）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
筋ジストロフィーにおける中枢神経障害の重要性	松村　剛	Brain and Nerve	2016 年 2 月	国内

筋ジストロフィーUp to date 心筋・呼吸筋障害	松村　剛	Clinical Neuroscience	2016 年 3 月	国内
筋ジストロフィーの継続的医療・教育を巡る課題と展望－神経内科の立場から－	松村　剛	医療	In press	国内
拡張型心筋症を景気に診断された肢帯型筋ジストロフィー2M の 1 例	松井未紗、遠藤卓行、松村　剛、斉藤利雄、藤村晴俊	臨床神経学	2015 年 8 月	国内
ジストロフィン異常症(Ducuenne 型/Becker 型筋ジストロフィー)の母親，女性患者が有する問題	石崎雅俊、上山秀嗣、小林道雄、足立克仁、松村剛、木村　円	難病と在宅ケア	2015 年 12 月	国内
Splicing misregulation of SCN5A contributes to cardiac conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy	Freyermuth F, Rau F, Kokunai Y, Linke T, Sellier C, Nakamori M, et al.	Nature Communications	In press	国外
How physicians support mothers of children with Duchenne muscular dystrophy?	Fujino H, Saito T, Matsumura T, Shibata S, Iwata Y, Fujimura H, Shinnno S, Imura O	Journal of Child Neurology	2015 年 10 月	国外
Safety of a Pandemic Influenza Vaccine and the Immune Response in Patients with Duchenne Muscular Dystrophy.	Saito T, Ohfuji S, Matsumura T, Saito T, Maeda K, Maeda A, Fukushima W, Fujimura H, Sakoda S, Hirota Y	Intern Med	2015 年 10 月	国外

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Development of a registry system in Japan for patients with myotonic dystrophy(ポスター)	Matsumura T, Takada H, Kuru S, Ogata K, Ishigaki K, Komaki H, Nakamori M, Takeda S, Takahashi MP, Kimura E	Asian Oceanean Myology Center	2015 年 3 月	国外

筋ジストロフィー長期の医療と教育－神経内科の立場から－(口頭)	松村　剛	医学会総会	2015 年 4 月	国内
Japanese current clinical status of Duchenne muscular dystrophy(ポスター)	Matsumura T, Komaki H, Kawai M	日本神経学会	2015 年 5 月	国内
Renal dysfunction is common in myotonic dystrophy(ポスター)	Matsumura T, Saito T, Matsui M, Mori C, Saito T, Yamadera M, Endo T, Iyama A, Toyooka K, Inoue M, Fujimura H, Sakoda S	International Myotonic Dystrophy Consortium	2015 年 6 月	国外
神経筋疾患における腎機能障害(口頭)	松村　剛	日本筋学会	2015 年 8 月	国内
筋強直性ジストロフィー患者登録－分業スタイルによるナショナルレジストリー運用－(ポスター)	松村　剛、高田博仁、尾方克久、久留　聡、高橋俊明、木村　隆、石垣景子、小牧宏文、武田伸一、中森雅之、高橋正紀、木村　円	国立病院総合医学会	2015 年 10 月	国内
神経筋疾患における腎機能障害(口頭)	松村　剛、齊藤利雄、藤村晴俊、佐古田三郎	筋ジストロフィー医療研究会	2015 年 10 月	国内
指定難病の括りについて(口頭)	松村　剛	筋ジストロフィー医療研究会	2015 年 10 月	国内
Renal dysfunction is common in myotonic dystrophy(ポスター)	Tsuyoshi Matsumura, Toshio Saito, Harutoshi Fujimura, Saburo Sakoda	World Congress of Neurology	2015 年 11 月	国外
神経筋疾患における腎機能障害(口頭)	松村　剛、齊藤利雄、藤村晴俊、佐古田三郎	筋ジストロフィーのエビデンス創出を目的とした臨床研究と体制整備	2015 年 11 月	国内
筋強直性ジストロフィー患者登録－分業スタイルによるナショナルレジストリー運用－(ポスター)	松村　剛、高田博仁、尾方克久、久留　聡、高橋俊明、木村　隆、石垣景子、小牧宏文、武田伸	日本難病医療ネットワーク学会	2015 年 11 月	国内

	一、中森雅之、高橋正紀、木村　円			

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等)	発表した時期	国内・外の別
障害者対策総合研究委託事業「筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究」活動報告	松村　剛	日本筋ジストロフィー協会全国大会	2015 年 5 月	国内
臨床研究・治験への協力のお願い	松村　剛	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@新潟」	2015 年 5 月	国内
筋ジストロフィーの治療	松村　剛	青森県筋ジストロフィー市民公開講座 in 青森市	2015 年 6 月	国内
知っておきたい筋強直性ジストロフィー@広島	松村　剛	ミオパチー（筋疾患）の会オリーブ難病医療講演会(広島市)	2015 年 7 月	国内
研究班の活動と臨床研究・治験への協力お願い	松村　剛	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@東京」	2015 年 7 月	国内
筋疾患関連の指定難病	松村　剛	大阪北部神経筋難病医療ネットワーク会議	2015 年 9 月	国内
指定難病で医療が受けやすくなりました	松村　剛	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@札幌」	2015 年 10 月	国内
治療開発の現状と患者登録	松村　剛	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい	2015 年 10 月	国内

		筋強直性ジストロフィー@札幌」		
みんなで変えよう筋強直性ジストロフィーの医療	松村　剛	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@秋田」	2015 年 11 月	国内
筋ジストロフィー最近の話題	松村　剛	和歌山県筋疾患相談会	2015 年 12 月	国内
患者登録･臨床研究への協力のお願い	松村　剛	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@福岡」	2016 年 1 月	国内
色々ある合併症～定期受診は健康管理の第一歩～	松村　剛	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@高知」	2016 年 3 月	国内
合併症管理について	松村　剛	筋強直性ジストロフィーの最新事情	2016 年 3 月	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

INQoL 日本語版作成

ワークショップ、班会議筋ジストロフィーのＣＮＳ障害研究会

筋強直性ジストロフィー市民公開講座(新潟、東京、札幌、秋田、福岡、高知)

和歌山県筋疾患相談会　講演・医療相談

青森県筋ジストロフィー市民公開講座　講演

ミオパチー(筋疾患)の会オリーブ難病医療講演会(広島市)　講演
大阪北部神経筋医療ネットワーク会議　講演
日本筋ジストロフィー協会全国大会　活動報告
筋強直性ジストロフィー患者会(DM-family)設立支援

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

BRAIN and NERVE 68 (2) : 109-118, 2016

筋疾患における中枢神経系障害の重要性

松村　剛*

人工呼吸管理や心筋保護治療などにより，デュシェンヌ型筋ジストロフィーなど多数の筋疾患では生命予後が改善したが，社会参加や自己実現を図るうえで知的障害や発達障害などの中枢神経障害が課題となっている。筋強直性ジストロフィーでは，特有の性格・認知障害が受療行動に影響し，医療効果を阻害する要因の1つとなっている。中枢神経障害の理解と患者視点からの医療提供は，筋疾患の予後とQOL向上の重要なキーとなる。

KEY WORDS 筋ジストロフィー，集学的医療，中枢神経障害，QOL，患者の評価による治療効果

Ⅰ．今なぜ中枢神経障害なのか

一部の筋疾患に重篤な中枢神経障害を伴うことは，これまでも知られていた。代表例としては，福山型先天性筋ジストロフィー（Fukuyama congenital muscular dystrophy：FCMD）をはじめとするαジストログリカン（α-dystroglycan）異常症における脳奇形・知的発達障害・てんかんなど，ミトコンドリア脳筋症における卒中様症状やミオクローヌス，運動失調，知能障害などがある。それ以外にもデュシェンヌ型筋ジストロフィー（Duchenne muscular dystrophy：DMD）や筋強直性ジストロフィー（myotonic dystrophy：DM），中心核ミオパチーなどに中枢神経障害が存在することは知られていたものの，医療的介入の対象として意識されることは乏しかった。

筋ジストロフィーの医療課題は時代とともに変遷してきた。代表的疾患であるDMDでは，1970年代までの平均死亡年齢は20歳未満で，呼吸不全・呼吸器感染による死亡が多数を占めた。この当時の最重要課題は生命予後の改善であった。1980年代に導入された人工呼吸管理は呼吸不全死を激減させ，心不全（心筋障害）が最大の死因となったが，1990年代から導入された心筋保護治療（ACE阻害薬やβ遮断薬など）が一定の効果をもたらしつつある。これらの結果DMD患者の平均死亡年齢は30歳を超え，今では50代の患者もみられるようになった[1]（Fig. 1）。

社会的変化の影響も大きい。ノーマライゼーション思想の普及により，地域における学校教育が保証されたこと，携帯型医療機器の開発や医療保険制度の改革により在宅人工呼吸療法が可能となったこと，在宅医療・介護サービスが充実したことなどで，軽症者だけでなく医療ケアを要する患者でも在宅で生活できるようになった[2]。

DMDが青年期以後も社会で生活できる病気になったことで，就労を含む社会参加・自己実現が新たな課題となっている。Fig. 2にマズローの人間の欲求の5段階を示した。これまでの医療は生命維持，安全・安楽の獲得を主眼とし，社会環境の変化は患者の生活の場を施設（病院）から在宅へ移行させ愛情（所属）の欲求をある程度満たしてきた。今後はより高位の欲求への

独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科（〒560-8552　大阪府豊中市刀根山5-1-1）
*［連絡先］tmatsumura-toneyama@umin.org

1881-6069/16/紙：¥800/電子：¥1,200/論文/JCOPY

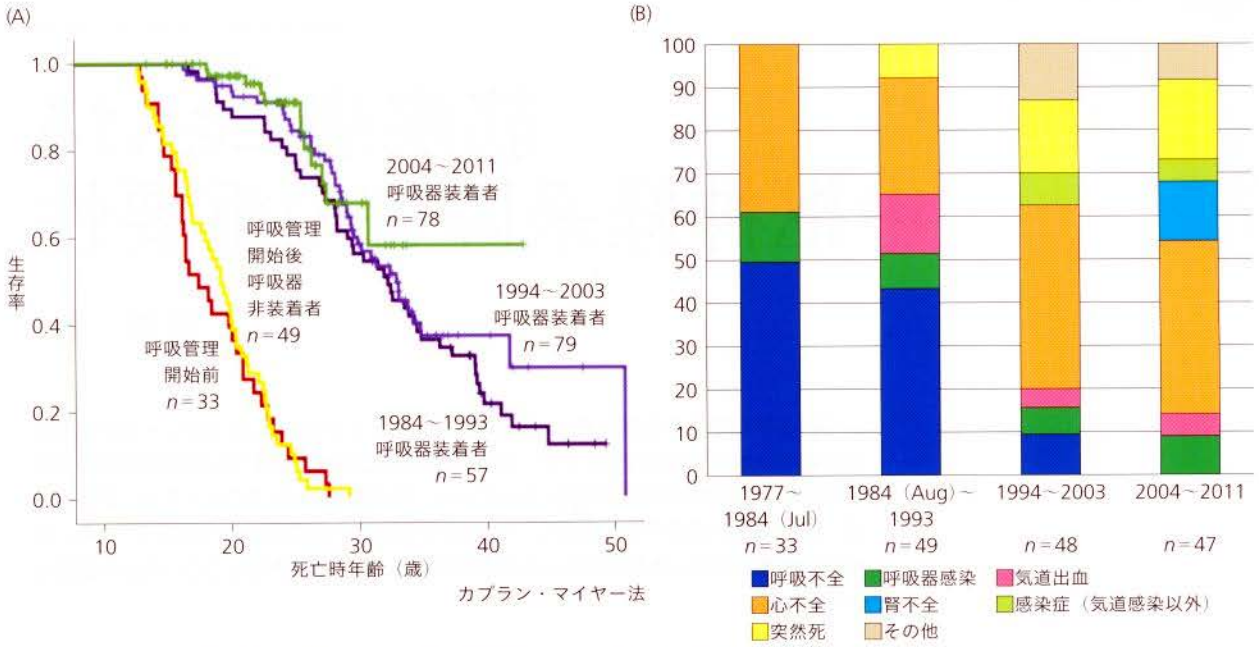


Fig. 1　刀根山病院におけるデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）患者の生命予後および死因の推移

A：呼吸管理別 DMD 患者生存曲線推移。赤線：呼吸管理開始前患者，黄線：呼吸管理開始後呼吸器非装着者，紺線：1984～1993 年呼吸器装着者，青線：1994～2003 年呼吸器装着者，緑線：2004～2011 年呼吸器装着者。当院で DMD の人工呼吸管理を開始したのは 1984 年 8 月である。呼吸器非装着者の 50％生存年齢は 20 歳前後で 30 歳までに全員が死亡したが，呼吸器装着者の 50％生存年齢は 30 歳以上で，50 歳以上の患者もみられる。**B**：DMD 患者死因推移。人工呼吸管理導入前の死因は呼吸不全・呼吸器感染が 60％以上を占めていた。1980 年代は気管切開による呼吸管理が主体で生活範囲も床上に限られたため呼吸管理を選択せずに亡くなった患者も多かった。脊椎胸郭変形のため気管動脈瘻による気道出血で亡くなる患者も多かった。1990 年代に非侵襲的呼吸管理が導入され，携帯型人工呼吸器が普及し，在宅人工呼吸療法が可能になるなど，呼吸管理による生活制限が低下したことで DMD 患者のほぼ全員が呼吸器管理を選択するようになった。これにより呼吸不全死は激減し，心不全が主要な死因となった。1990 年代の心筋保護治療の進歩により，心不全死が減少，低循環状態が長期化するため腎不全による死亡が増加。また，呼吸管理長期化による気道クリアランス低下のため呼吸器感染死が漸増。在宅患者の増加により突然死も増加している。

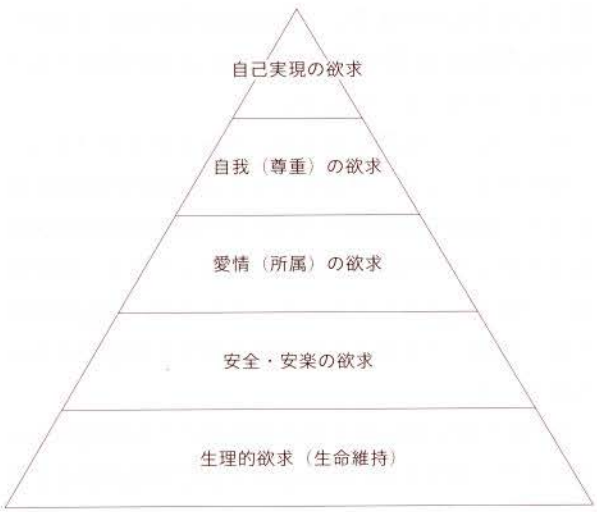


Fig. 2　マズローの人間の欲求の 5 段階

対応が求められる時代となっている。このためには，患者の身体条件を踏まえ特性や才能を活かした社会参加・就労の工夫，社会と患者を仲介するインキュベータの育成などに加え，患者自身のコミュニケーション能力や社会適応能力の涵養が重要である。この点において中枢神経障害への理解と，適切な支援の構築が重要となる。

一方，別の代表的な筋ジストロフィーである DM は，患者数は最多であるが，DMD と比べて生命予後の改善が乏しい。この要因には，DM が全身の合併症を伴う疾患であることも挙げられるが，未受診例・受診中断例が多いなど必要な医療を十分に受けていないことが大きい。これには，自覚症状・病識の乏しさや認知機能障害が一定の影響を及ぼしており，望ましい受療行動への変容には，中枢神経障害への理解と適切なアプローチが欠かせない。

別の側面からも中枢神経障害の重要性が認識されつつある。近年，筋ジストロフィーに対しては新規治療薬の開発が臨床段階を迎えつつあり，一部の疾患では治験が行われている。治験を適切に実施するには，患者自身が自己の病気・病状，治験の内容と意義を理解することが必須である。また，治験への参加は精神的・肉体的負担も大きいため，参加者の神経心理学的特徴を踏まえたサポートも重要となる。治験薬の有効性評価の面でも，運動機能や検査データなどの客観的評価に加えて，患者の評価による治療効果（patient-reported outcome）などを含む臨床的有用性の証明が重視

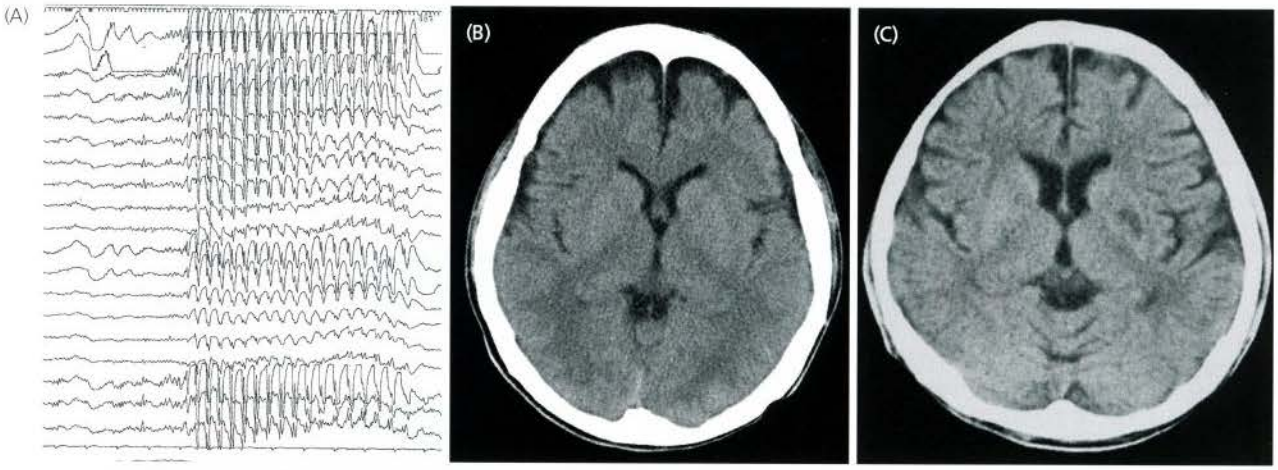


Fig. 3　刀根山病院でみられたデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）患者の脳波・画像異常
A：脳波異常例，**B**：脳萎縮例，**C**：脳血管障害例。

されてきている[3]。さらには，一部の薬剤は中枢神経にも影響を与える可能性があり[4]，客観的治療効果/副作用判定の面からも鋭敏な疾患特異的中枢神経機能評価法が求められている。

このように，筋ジストロフィー医療が新たなステージに到達するには，中枢神経障害への理解と対策が不可欠で，関心も徐々に高まりつつある。本稿では，代表的疾患であるジストロフィン異常症（DMD/ベッカー型など）と DM について，その一端を示したい。

Ⅱ．ジストロフィン異常症における中枢神経障害

ジストロフィン異常症に精神発達障害が合併することについては，Duchenne の原著[5]においても触れられている。日常診療においても，診察中に視線を合わせてくれない患者や，語りかけてもしゃべってくれない患者，落ち着きがなく診察室の道具を触りまくる患者，細かいことにこだわり続ける患者などを頻繁に経験する。介護場面では，体の位置や服の調整などにミリ単位の細かい要求をする患者，介護者が多忙なときに後回し可能な要求をしつこく訴える患者なども多く，扱いにくい患者として敬遠される原因ともなる。

これらは社会的認知障害を示唆するものであるが，DMD では 1/3 程度の患者が知能指数（intelligence quotient：IQ）で低値を示し，平均値は一般平均より 1SD 程度低い。言語性 IQ が動作性 IQ に比べ低い傾向が若年者で強く，成長に伴い言語性 IQ は上昇し動作性 IQ が低下すること，複雑な言語情報処理の困難が強いことなど[6–13]が知られている。また，自閉症（autism spectrum disorders：ASD）[11,13–15]や広汎性発達障害（attention deficit hyperactivity disorder：ADHD）[12,13,15]が一般より多いこと，表情認知障害[16]，強迫性神経障害[14]，孤立/不安感[12]などもみられることがわかってきた。これ以外にも，てんかん・痙攣[11,17,18]や脳波異常（Fig. 3A）[6,19]の頻度が高いこと，脳の萎縮が進行性にみられること（Fig. 3B）[19,20]，脳血管障害（Fig. 3C）の報告[20–22]がみられることなどが知られている。ジストロフィン異常症のモデルマウスにおいても，記憶能力の低下[23–26]やすくみ，探索行動減少などの行動異常[26–28]がみられることから，ジストロフィン異常が中枢神経障害に関与していることが示唆される。

ジストロフィン遺伝子は 79 個のエクソンを有する巨大な遺伝子で，骨格筋では細胞膜の内側に存在し，N 末側で細胞内骨格であるアクチンと結合，C 末端側でサルコグリカンや β ジストログリカンなどと結合して，ジストロフィン・糖蛋白複合体（dystrophin-glycoprotein complex：DGC）を形成し，ラミニンを介して細胞外の基底膜に結合する。ジストロフィンにはいくつかのアイソフォームが存在するが，中枢神経には全長ジストロフィン（Dp427）に加えて，Dp140，Dp71，Dp40 のショートアイソフォームの発現が確認されている（Fig. 4）。ジストロフィンの中枢神経における機能には未解明な点が多いが，いくつかの重要な機能が明らかになりつつある。モデルマウスではシナプス形態異常がみられ[26,29]，Dp427 は抑制性神経のシナプス後膜におけるガンマアミノ酪酸（gamma-aminobutyric acid：GABA）受容体のクラスタリングに関与し[28,30–32]，情緒障害や発達障害との関連が示唆されている。また，ショートアイソフォームもおかされる 3′ 末端側の遺伝子変異を持つ患者では知的障害の頻度が高いことが知られている

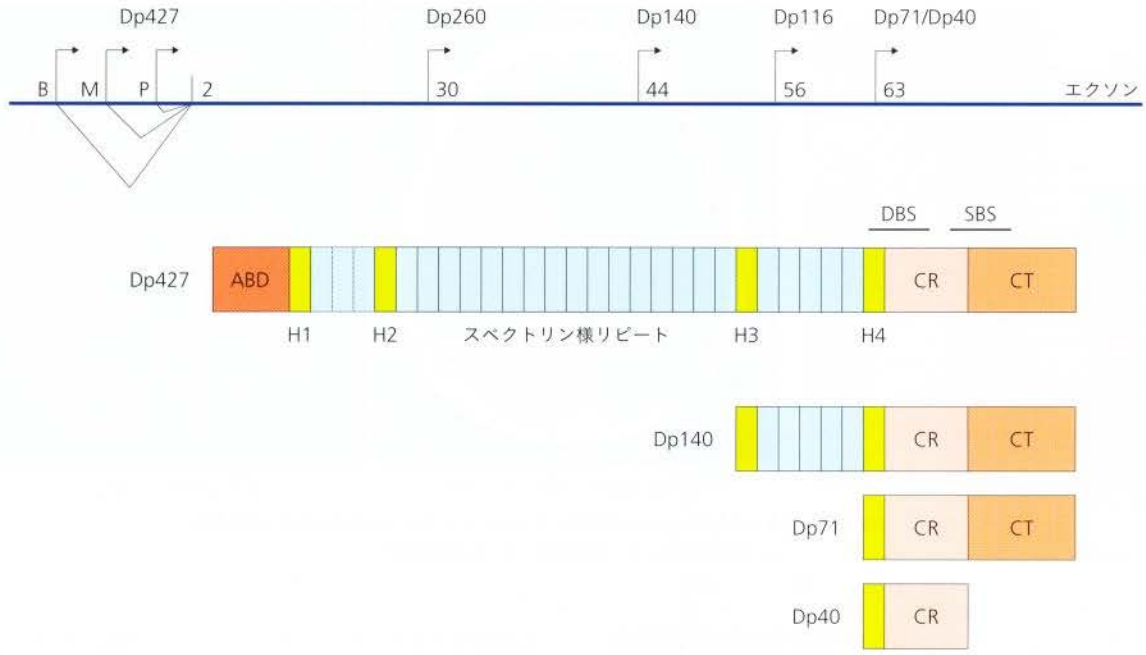


Fig. 4　中枢神経系に発現する主なジストロフィンのアイソフォーム

〔略語〕B：脳型プロモーター，M：筋型プロモーター，P：小脳プルキンエ細胞型プロモーター，ABD：アクチン結合ドメイン，CR：高システイン領域，CT：カルボキシ末端領域，DBS：βジストログリカン結合部位，SBS：シントロフィン・ジストロブレビン結合部位，H：ヒンジ領域

が[9,11,13,33]，Dp71 は興奮性神経のシナプス後膜におけるグルタミン酸受容体に関与すること，Dp71 欠損マウスでは新規探索的行動の減少や記憶障害などがみられること[26]から知的障害などとの関連が示唆されている。また，mdx マウスで海馬のニコチン性アセチルコリン受容体神経の機能異常を示した報告[34,35]もある。ニューロン以外では，血管周囲のアストログリア終足では Dp71 がαジスロトブレビン 1 やα1 シントロフィン，β1 シントロフィン，ジストログリカンなどと複合体を形成し脳血管関門維持に関与しており[36,37]，これらの複合体はアクアポリン 4 とも結合していることから[38,39]，痙攣などとの関連も示唆されている。

脳血管障害については，ジストロフィンの直接的関与を示す報告はなく，心不全や不整脈との関連が示唆されるほか[20,22]，ジストロフィン異常症における凝固・線溶系の亢進との関連[40,41]も示唆されている。

DMD 患者の生命予後は，呼吸管理や心筋保護治療をはじめとした集学的医療によって改善し，生活の場も病院から地域へ拡大した。このため，DMD 患者の子育て・教育の主要な課題には，両親・患者の疾患受容を支援し[42,43]，良好な mentality と最善の身体状況を維持するとともに，成人後に充実した生活を送るための環境整備と社会適応能力獲得，才能の育成がある。中枢神経障害についての理解を深めていくことは，このような QOL（quality of life）向上に向けた支援を考えるうえで重要となる。また，支援者側が社会的認知障害についての理解を深めることで，良好な関係構築の促進やスタッフの燃え尽き症候群予防に寄与すると期待される。

新規治療薬の治験においても適切な心理支援が不可欠で，中枢神経障害への治療効果の評価も重要な課題である。CT（computed tomography）/MRI（magnetic resonance imaging）[44,45]，SPECT（single photon emission computed tomography）/PET（positron emission tomography）[46]に加え，鋭敏な QOL 尺度[47]，病態を反映した機能画像や電気生理学的検査法などを開発するうえでも，中枢神経障害の病態解明が重要である。

Ⅲ．筋強直性ジストロフィーにおける中枢神経障害

DM は筋ジストロフィーの中では最も有病率が高い疾患で，筋強直現象（myotonia）と特徴的な筋障害分布を示すとともに，多彩な合併症を伴うことを特徴とする（Fig. 5）。これまでに 2 つの責任遺伝子が同定されており，19 番染色体に存在するミオトニンプロテインキナーゼ（*DMPK*）の 3′非翻訳領域の CTG 繰返し配列延長によって生じる 1 型（DM1）と 3 番染色体に存在する *CNBP* の第 1 イントロン内の CCTG 繰返し配列延長によって生じる 2 型（DM2）が存在する。DM2 の有病率は人種・国による差が大きく，本邦では数家系が報告されているのみである。このため，本稿にお

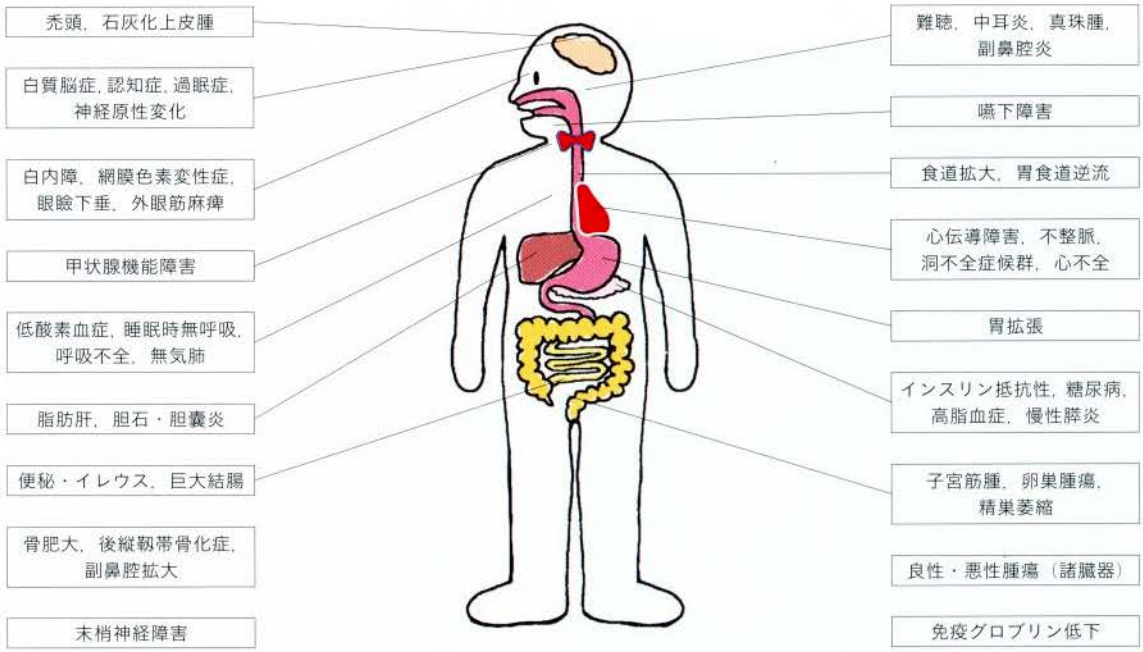


Fig. 5　筋強直性ジストロフィーで多くみられる全身合併症

いてはDM1を中心に記載する。

DMを特徴づける症状の1つは独特な性格で，Steinert[48]の報告で既に記載されている。これは，無欲/無気力，うつ的，回避的，依存的，強迫的，受動攻撃的，自閉的[49-56]のほか，偏執的，統合失調症的など[51,54,55,57]と表されることもある。知的障害，認知症や注意障害，視空間認知障害，遂行機能障害，表情認知障害など[50,53,54,57-61]もあり，前頭側頭葉機能の障害が強いこと[52,60]が知られている。これらの症状は重症度[53,56]や教育レベル[55,56]，CTG繰返し配列[53-56,58,59]とも相関し，進行すること[60]が指摘されている。また，本症においては肺活量が正常範囲のときから低酸素血症が存在し，睡眠時無呼吸症候群や日中過眠が高頻度に合併する。この原因として，呼吸筋の筋力低下・筋強直などの末梢の要因に加え，中枢性の呼吸調節障害が存在することが示されている[62,63]。

画像検査においては，MRI/CTで脳萎縮・脳室拡大，白質異常信号，皮質萎縮，脳梁萎縮など[50,57,61,64-66]が知られており（Fig. 6A），白質病変と知的機能や表情認知障害の関連[61,64,66]が指摘されている。MRIでは脳容積画像による脳萎縮評価[65]，拡張テンソル画像による白質異常[66]や安静時機能的MRIによる機能的結合障害[57]，MRS（magnetic resonance spectroscopy）によるNアセチルアスパラギン酸減少やグルタミン酸作動性システムの異常[67]など新しい技術を用いた報告も出ている。SPECT/PETでは前頭葉優位の血流・代謝低下が報告[52,68]されている。電気生理学的には事象関連電位/誘発電位/電磁気トモグラフィーの異常[58,69-72]が，病理学的には白質ミエリン変性[50]，核内封入体（foci）[73]，神経原性変化[74-76]，過酸化脂質蓄積[76]，顆粒空胞変性[77]などが報告されている（Fig. 6B）。

DMの病態は複雑で未解明な点が多いが，RNAの調節障害や有害な機能獲得が生じることがわかってきた。変異RNAは核内凝集を生じfociを形成し，MBNL（muscleblind-like）1/2やCELF（CUG binding protein, elav-like family）などRNA調節因子が抑制・活性化されることで，さまざまな遺伝子のスプライシング異常が生じる[73]（Fig. 7）。DMの中枢神経では，Tau[73,78-80]，N-methyl-D-asparate receptor 1（NMDAR1）[73]，amyloid precursor protein（APP）[73]など認知症関連遺伝子のスプライシング異常が報告されており，髄液中のこれらの蛋白が中枢神経障害のバイオマーカーとなる可能性も指摘されている[81,82]。それ以外にも多数の遺伝子のスプライシング異常が報告[83-85]されており，スプライシング異常には臓器特異性があり，作用するMBNLやCELFの種類も異なることも示されている[79,80,83-85]。このほかにも，延長した繰返し配列部では開始コドンと無関係の両方向性の翻訳［repeat-associated non-ATG initiated（RAN）translation］が存在することが報告[86]されており，CTG繰返し配列からはポリグルタミンを含むポリアミノ酸が生成されることも示されている。このように，DMの中枢神経障害には，少なくともtauopathy, spliceopathy, RNAopathyの3つの要素が関連している。さらに，糖尿病や高脂血症，内分泌障害，低

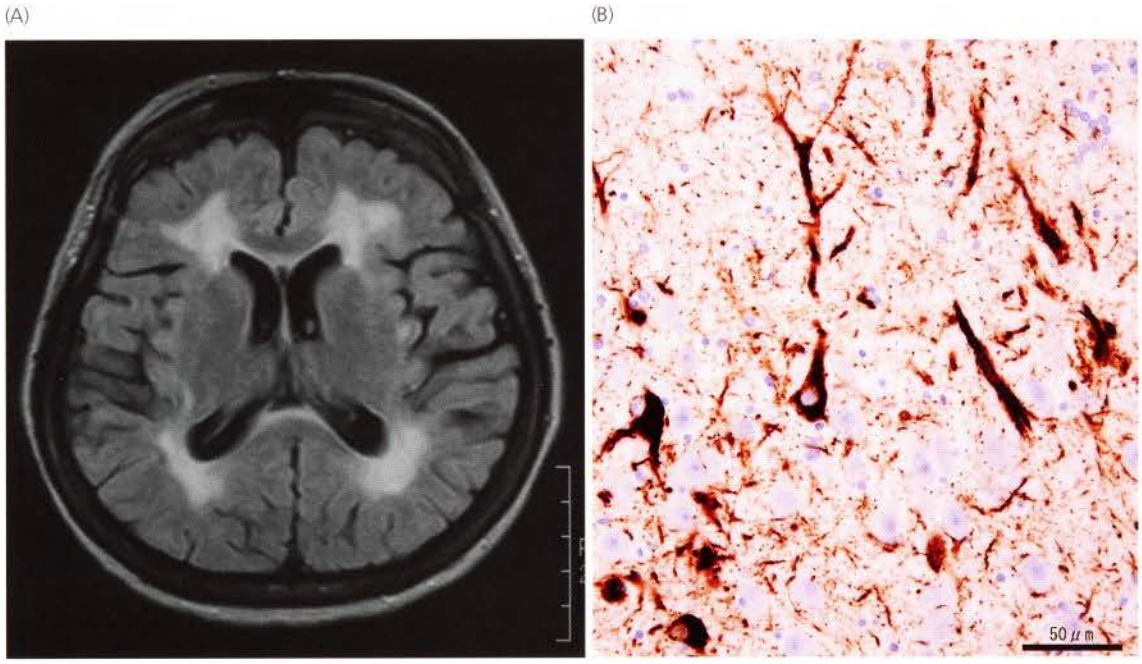


Fig. 6　筋強直性ジストロフィーの画像および剖検脳所見
A：38 歳女性，MRI FLAIR 画像，**B**：剖検脳，海馬タウ染色。

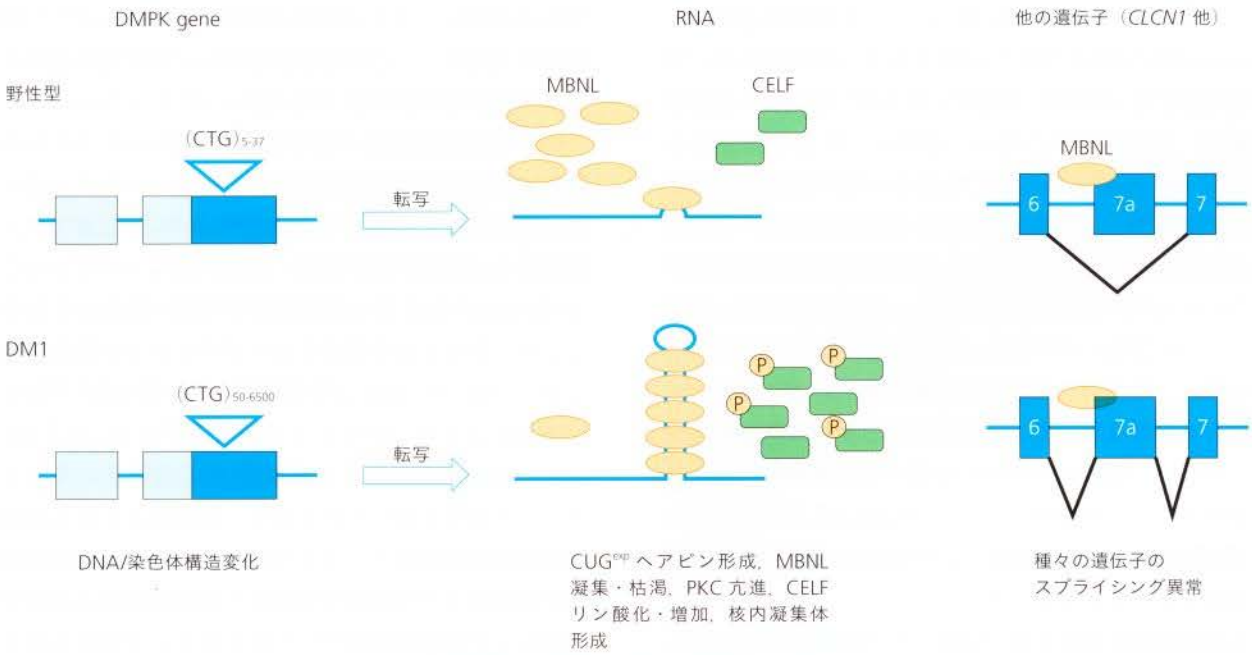


Fig. 7　筋強直性ジストロフィー（DM）発症メカニズムイメージ
DM の発症メカニズムは複雑であるが，代表的なものとして以下のようなものが挙げられている。①CTG 繰返し配列の著明な延長により DNA/染色体の構造が変化し遺伝子発現に変化を生じる。②変異 mRNA の細胞質への移送が障害され，核内凝集体（foci）を形成する。③mRNA の CUG 繰返し配列はヘアピン構造をとり，ここに MBNL が凝集するため MBNL が減少する。④繰返し配列の延長は PKC 活性を亢進させ，CELF の増加/リン酸化促進をもたらす。⑤MBNL や CELF の変化によりさまざまな遺伝子のスプライシング調節障害が生じる。
〔略語〕DMPK：筋強直性ジストロフィープロテインキナーゼ，MBNL：muscleblind-like，CELF：CUG binding protein，elav-like family，DM1：筋強直性ジストロフィー 1 型，PKC：プロテインキナーゼ C

酸素血症を含む全身の合併症がこれらを修飾していると考えられる。

これまでのところ，DM においては DMD などと比べて生命予後の改善が乏しい。DM は多彩な合併症を有し，突然死も多いため，専門科（神経内科/小児神経科）を核とした集学的医療の重要性が高い。しかし，現実には病識や自覚症状に乏しいために受療に消極的な態度を示す患者が多く，合併症でさまざまな科を受診し

ても専門科を受診しない患者も多い[87]。常染色体優性遺伝形式の疾患であるため，家族内に複数の患者が存在し介護力不足が深刻な事例も多いが，社会的サービスの利用も不十分な場合が多いなど，可能な処置を受けていない問題が大きい。

現在，DMでも新規治療の開発が進みつつあるが，標準的医療がなされていないと治験にも支障が生じかねない。受療行動の変容には，医療の必要性の理解に加え，医療への期待感向上，効果が実感できる医療の提供，経済的負担軽減などいくつもの課題がある。新規治療開発が進みつつある現状や指定難病への移行は医療への期待感向上や経済的負担軽減に寄与することが期待される。しかし，継続的な受療維持には，効果が実感できる医療の提供が必要である。この点において，医療者と患者側の重視する医療ニーズにはズレがあり，考慮すべき課題と思われる。

医療者側は生命・身体的健康維持を重視し，低酸素血症・睡眠時無呼吸，不整脈，嚥下障害，耐糖能障害などの検査・治療を最優先事項としがちだが，これらに対する患者の自覚症状は乏しく，むしろ治療を苦痛と感じる患者も少なくない。一方，患者自身が悩んでいる症状としては，痛み，疲労（感），移動困難・バランス低下，日中傾眠，周囲からの無理解・孤立感などが強い[88-92]が，こうした症状に対する医療者側の関心は十分とは言えない。患者の苦痛に配慮した医療提供は，良好な医師患者関係構築や受療継続維持をもたらし，QOL向上や生命予後改善・健康維持にも貢献すると考える。このためには，薬物やリハビリテーション，認知行動療法，社会的支援導入など多職種連携によるサポートが重要[92,93]であろう。

おわりに

これまでの筋ジストロフィー医療は，生命予後の改善と生活範囲の拡大を目指してきた。DMDをはじめとする多くの疾患はこの恩恵を受けたが，社会参加・自己実現の達成に中枢神経障害への理解が重要となっている。一方，DMにおいては，医療効果の恩恵を受けるためにも中枢神経障害への理解が重要となっている。患者を中心とした医療の実現には，中枢神経障害を理解したうえでのアプローチが欠かせない。筋ジストロフィーの中枢神経障害の病態はまだ不明な点が多い。しかし，遺伝的背景が明確で環境的要素も比較的均質な筋ジストロフィーで得られる知見は，遺伝的要素と環境要素が複雑に絡む一般の発達障害や認知症の理解を進めるうえでも貴重なデータとなると思われる。

中枢神経障害に対しては，これまで基礎科学者，臨床医，心理専門職，教育関係者などが別々に取り組んでいたが，相互の知見を交換し協力することで，研究とその成果の還元が促進されると考える。この目的のため，われわれは2013年から「筋ジストロフィーの中枢神経障害に関する研究会」を立ち上げている。中枢神経障害への理解とアプローチが進むことで，筋ジストロフィー医療がさらに発展することを期待する。

文献

1) 松村　剛, 齊藤利雄, 藤村晴俊, 神野　進, 佐古田三郎: Duchenne muscular dystrophy 患者の経時的死因分析. 臨床神経 **51**: 743-750, 2011
2) 松村　剛: Duchenne 型筋ジストロフィー診療の変遷. 神経内科 **79**: 157-164, 2013
3) U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluations and Research (CDER): Duchenne Muscular Dystrophy and Related Dystrophinopathies: developing drugs for treatment. Guidance for Industry. 2015
4) Sato Y, Yamauchi A, Urano M, Kondo E, Saito K: Corticosteroid therapy for duchenne muscular dystrophy: improvement of psychomotor function. Pediatr Neurol **50**: 31-37, 2014
5) Duchenne GB: Studies on pseudohypertrophic muscular paralysis or myosclerotic paralysis. Arch Neurol **19**: 629-636, 1968
6) Kozicka A, Prot J, Wasilewski R: Mental retardation in patients with Duchenne progressive muscular dystrophy. J Neurol Sci **14**: 209-213, 1971
7) 板東智子, 川井尚臣, 足立克仁, 井伊邦雄: Duchenne 型筋ジストロフィー症における知能障害の臨床的ならびに病理組織学的研究 ── 高度知能障害例を中心として. 臨床神経 **27**: 692-701, 1987
8) Hinton VJ, De Vivo DC, Nereo NE, Goldstein E, Stern Y: Poor verbal working memory across intellectual level in boys with Duchenne dystrophy. Neurology **54**: 2127-2132, 2000
9) Felisari G, Martinelli Boneschi F, Bardoni A, Sironi M, Comi GP, et al: Loss of Dp140 dystrophin isoform and intellectual impairment in Duchenne dystrophy. Neurology **55**: 559-564, 2000
10) Cotton SM, Voudouris NJ, Greenwood KM: Association between intellectual functioning and age in children and young adults with Duchenne muscular dystrophy: further results from a meta-analysis. Dev Med Child Neurol **47**: 257-265, 2005
11) 中村有里, 宮崎良樹, 熊谷俊幸, 鈴木淑子, 三浦清邦: ジストロフィノパチーの多様な中枢神経症状について ── 臨床的および遺伝子学的検討. 脳と発達 **40**: 10-14, 2008
12) Pane M, Lombardo ME, Alfieri P, D'Amico A, Bianco F, et al: Attention deficit hyperactivity disorder and cognitive function in

Duchenne muscular dystrophy: phenotype-genotype correlation. J Pediatr **161**: 705–709, 2012
13) Banihani R, Smile S, Yoon G, Dupuis A, Mosleh M, et al: Cognitive and neurobehavioral profile in boys with Duchenne muscular dystrophy. J Child Neurol **30**: 1472–1482, 2015
14) Wu JY, Kuban KC, Allred E, Shapiro F, Darras BT: Association of Duchenne muscular dystrophy with autism spectrum disorder. J Child Neurol **20**: 790–795, 2005
15) Hendriksen JG, Vles JS: Neuropsychiatric disorders in males with Duchenne muscular dystrophy: frequency rate of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD), autism spectrum disorder, and obsessive-compulsive disorder. J Child Neurol **23**: 477–481, 2008
16) Hinton VJ, Fee RJ, De Vivo DC, Goldstein E: Poor facial affect recognition among boys with duchenne muscular dystrophy. J Autism Dev Disord **37**: 1925–1933, 2007
17) Goodwin F, Muntoni F, Dubowitz V: Epilepsy in Duchenne and Becker muscular dystrophies. Eur J Paediatr Neurol **1**: 115–119, 1997
18) Pane M, Messina S, Bruno C, D'Amico A, Villanova M, et al: Duchenne muscular dystrophy and epilepsy. Neuromuscul Disord **23**: 313–315, 2013
19) Yoshioka M, Okuno T, Honda Y, Nakano Y: Central nervous system involvement in progressive muscular dystrophy. Arch Dis Child **55**: 589–594, 1980
20) 小長谷正明, 酒井素子, 久留　聡, 加藤隆士, 安間文彦, 他: 筋ジストロフィーの頭部 CT の検討 ── とくに脳血管障害と心機能障害の関連性について. 脳神経 **51**: 621–626, 1999
21) Matsuishi T, Yano E, Terasawa K, Nonaka I, Ishihara O, et al: Basilar artery occlusion in a case of Duchenne muscular dystrophy. Brain Dev **4**: 379–384, 1982
22) 池庭千鶴, 酒井素子, 木村正剛, 若山忠士, 久留　聡, 他: 拡張型心筋症と脳梗塞を合併した Duchenne 型筋ジストロフィーの 2 症例. 脳神経 **58**: 250–255, 2006
23) Muntoni F, Mateddu A, Serra G: Passive avoidance behaviour deficit in the mdx mouse. Neuromuscul Disord **1**: 121–123, 1991
24) Vaillend C, Rendon A, Misslin R, Ungerer A: Influence of dystrophin-gene mutation on mdx mouse behavior. I. Retention deficits at long delays in spontaneous alternation and bar-pressing tasks. Behav Genet **25**: 569–579, 1995
25) Vaillend C, Billard JM, Laroche S: Impaired long-term spatial and recognition memory and enhanced CA1 hippocampal LTP in the dystrophin-deficient Dmd (mdx) mouse. Neurobiol Dis **17**: 10–20, 2004
26) Daoud F, Candelario-Martínez A, Billard JM, Avital A, Khelfaoui M, et al: Role of mental retardation-associated dystrophin-gene product Dp71 in excitatory synapse organization, synaptic plasticity and behavioral functions. PLOS ONE. **4**: e6574, 2008
27) Vaillend C, Ungerer A: Behavioral characterization of mdx3cv mice deficient in C-terminal dystrophins. Neuromuscul Disord **9**: 296–304, 1999
28) Sekiguchi M, Zushida K, Yoshida M, Maekawa M, Kamichi S, et al: A deficit of brain dystrophin impairs specific amygdala GABAergic transmission and enhances defensive behaviour in mice. Brain **132**: 124–135, 2009
29) Miranda R, Sébrié C, Degrouard J, Gillet B, Jaillard D, et al: Reorganization of inhibitory synapses and increased PSD length of perforated excitatory synapses in hippocampal area CA1 of dystrophin-deficient mdx mice. Cereb Cortex **19**: 876–888, 2009
30) Knuesel I, Mastrocola M, Zuellig RA, Bornhauser B, Schaub MC, et al: Short communication: altered synaptic clustering of $GABA_A$ receptors in mice lacking dystrophin (mdx mice). Eur J Neurosci **11**: 4457–4462, 1999
31) Lévi S, Grady RM, Henry MD, Campbell KP, Sanes JR, et al: Dystroglycan is selectively associated with inhibitory GABAergic synapses but is dispensable for their differentiation. J Neurosci **22**: 4274–4285, 2002
32) Brünig I, Suter A, Knuesel I, Lüscher B, Fritschy JM: GABAergic terminals are required for postsynaptic clustering of dystrophin but not of GABA (A) receptors and gephyrin. J Neurosci **22**: 4805–4813, 2002
33) Moizard MP, Toutain A, Fournier D, Berret F, Raynaud M, et al: Severe cognitive impairment in DMD: obvious clinical indication for Dp71 isoform point mutation screening. Eur J Hum Genet **8**: 552–556, 2000
34) Ghedini PC, Avellar MC, De Lima TC, Lima-Landman MT, Lapa AJ, et al: Quantitative changes of nicotinic receptors in the hippocampus of dystrophin-deficient mice. Brain Res **1483**: 96–104, 2012
35) Parames SF, Coletta-Yudice ED, Nogueira FM, Nering de Sousa MB, Hayashi MA, et al: Altered acetylcholine release in the hippocampus of dystrophin-deficient mice. Neuroscience **269**: 173–183, 2014
36) Blake DJ, Hawkes R, Benson MA, Beesley PW: Different dystrophin-like complexes are expressed in neurons and glia. J Cell Biol **147**: 645–658, 1999
37) Haenggi T, Soontornmalai A, Schaub MC, Fritschy JM: The role of utrophin and Dp71 for assembly of different dystrophin-associated protein complexes (DPCS) in the choroid plexus and microvasculature of the brain. Neuroscience **129**: 403–413, 2004
38) Eid T, Lee TS, Thomas MJ, Amiry-Moghaddam M, Bjørnsen LP, et al: Loss of perivascular aquaporin 4 may underlie deficient water and K+ homeostasis in the human epileptogenic hippocampus. Proc Natl Acad Sci U S A **102**: 1193–1198, 2005
39) Medici V, Frassoni C, Tassi L, Spreafico R, Garbelli R: Aquaporin 4 expression in control and epileptic human cerebral cortex. Brain Res **1367**: 330–339, 2011
40) Saito T, Takenaka M, Miyai I, Yamamoto Y, Matsumura T, et al: Coagulation and fibrinolysis disorder in muscular dystrophy. Muscle Nerve **24**: 399–402, 2001
41) Saito T, Yamamoto Y, Matsumura T, Nozaki S, Fujimura H, et al: Coagulation system activated in Duchenne muscular dystrophy patients with cardiac dysfunction. Brain Dev **27**: 415–418, 2005
42) 藤野陽生, 齊藤利雄, 井村　修, 松村　剛, 神野　進: Duchenne 型筋ジストロフィー児への病気の説明に関する調査. 脳と発達 **45**: 11–16, 2013

43) Fujino H, Saito T, Matsumura T, Shibata S, Iwata Y, et al: How physicians support mothers of children with Duchenne muscular dystrophy. J Child Neurol **30**: 1287–1294, 2015
44) Lv SY, Zou QH, Cui JL, Zhao N, Hu J, et al: Decreased gray matter concentration and local synchronization of spontaneous activity in the motor cortex in Duchenne muscular dystrophy. AJNR Am J Neuroradiol **32**: 2196–2200, 2011
45) Doorenweerd N, Straathof CS, Dumas EM, Spitali P, Ginjaar IB, et al: Reduced cerebral gray matter and altered white matter in boys with Duchenne muscular dystrophy. Ann Neurol **76**: 403–411, 2014
46) Lee JS, Pfund Z, Juhász C, Behen ME, Muzik O, et al: Altered regional brain glucose metabolism in Duchenne muscular dystrophy: a pet study. Muscle Nerve **26**: 506–512, 2002
47) 川井　充, 小野美千代, 谷田部可奈, 尾方克久, 岡橋里美, 他: 介入の効果判定のための筋ジストロフィー QOL 評価尺度 MDQoL-60 の基準関連妥当性の検討. 臨床神経 **46**: 989, 2006
48) Steinert H: Myopathologische Beiträge 1. Über das klinische und anatomische Bild des Muskelschwunds der Myotoniker. Dtsch Z Nervenheilkd **37**: 58–104, 1909
49) Duveneck MJ, Portwood MM, Wicks JJ, Lieberman JS: Depression in myotonic muscular dystrophy. Arch Phys Med Rehabil **67**: 875–877, 1986
50) Abe K, Fujimura H, Toyooka K, Yorifuji S, Nishikawa Y, et al: Involvement of the central nervous system in myotonic dystrophy. J Neurol Sci **127**: 179–195, 1994
51) Delaporte C: Personality patterns in patients with myotonic dystrophy. Arch Neurol **55**: 635–640, 1998
52) Meola G, Sansone V, Perani D, Scarone S, Cappa S, et al: Executive dysfunction and avoidant personality trait in myotonic dystrophy type 1 (DM-1) and in proximal myotonic myopathy (PROMM/DM-2). Neuromuscul Disord **13**: 813–821, 2003
53) Ekström AB, Hakenäs-Plate L, Samuelsson L, Tulinius M, Wentz E: Autism spectrum conditions in myotonic dystrophy type 1: a study on 57 individuals with congenital and childhood forms. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet **147B**: 918–926, 2008
54) Sistiaga A, Urreta I, Jodar M, Cobo AM, Emparanza J, et al: Cognitive/personality pattern and triplet expansion size in adult myotonic dystrophy type 1 (DM1): CTG repeats, cognition and personality in DM1. Psychol Med **40**: 487–495, 2010
55) Peric S, Sreckov M, Basta I, Lavrnic D, Vujnic M, et al: Dependent and paranoid personality patterns in myotonic dystrophy type 1. Acta Neurol Scand **129**: 219–225, 2014
56) Bertrand JA, Jean S, Laberge L, Gagnon C, Mathieu J, et al: Psychological characteristics of patients with myotonic dystrophy type 1. Acta Neurol Scand **132**: 49–58, 2015
57) Serra L, Silvestri G, Petrucci A, Basile B, Masciullo M, et al: Abnormal functional brain connectivity and personality traits in myotonic dystrophy type 1. JAMA Neurol **71**: 603–611, 2014
58) Perini GI, Menegazzo E, Ermani M, Zara M, Gemma A, et al: Cognitive impairment and (CTG)n expansion in myotonic dystrophy patients. Biol Psychiatry **46**: 425–431, 1999
59) Winblad S, Hellström P, Lindberg C, Hansen S: Facial emotion recognition in myotonic dystrophy type 1 correlates with CTG repeat expansion. J Neurol Neurosurg Psychiatry **77**: 219–223, 2006
60) Modoni A, Silvestri G, Vita MG, Quaranta D, Tonali PA, et al: Cognitive impairment in myotonic dystrophy type 1 (DM1): a longitudinal follow-up study. J Neurol **255**: 1737–1742, 2008
61) Kobayakawa M, Tsuruya N, Takeda A, Suzuki A, Kawamura M: Facial emotion recognition and cerebral white matter lesions in myotonic dystrophy type 1. J Neurol Sci **290**: 48–51, 2010
62) Zifko UA, Hahn AF, Remtulla H, George CF, Wihlidal W, et al: Central and peripheral respiratory electrophysiological studies in myotonic dystrophy. Brain **119**: 1911–1922, 1996
63) Carroll JE, Zwillich CW, Weil JV: Ventilatory response in myotonic dystrophy. Neurology **27**: 1125–1128, 1977
64) Abe K, Fujimura H, Soga F: The fluid-attenuated inversion-recovery pulse sequence in assessment of central nervous system involvement in myotonic dystrophy. Neuroradiology **40**: 32–35, 1998
65) Antonini G, Mainero C, Romano A, Giubilei F, CeschinV, et al: Cerebral atrophy in myotonic dystrophy: a voxel based morphometric study. J Neurol Neurosurg Psychiatry **75**: 1611–1613, 2004
66) Wozniak JR, Mueller BA, Bell CJ, Muetzel RL, Lim KO, et al: Diffusion tensor imaging reveals widespread white matter abnormalities in children and adolescents with myotonic dystrophy type 1. J Neurol **260**: 1122–1131, 2013
67) Takado Y, Terajima K, Ohkubo M, Okamoto K, Shimohata T, et al: Diffuse brain abnormalities in myotonic dystrophy type 1 detected by 3.0 T proton magnetic resonance spectroscopy. Eur Neurol **73**: 247–256, 2015
68) Romeo V, Pegoraro E, Squarzanti F, Sorarù G, Ferrati C, et al: Retrospective study on PET-SPECT imaging in a large cohort of myotonic dystrophy type 1 patients. Neurol Sci **31**: 757–763, 2010
69) Hanafusa H, Motomura N, Asaba H, Sakai T, Kawamura H: Event-related potentials (P300) in myotonic dystrophy. Acta Neurol Scand **80**: 111–113, 1989
70) Mochizuki H, Hanajima R, Kowa H, Motoyoshi Y, Ashida H, et al: Somatosensory evoked potential recovery in myotonic dystrophy. Clin Neurophysiol **112**: 793–799, 2001
71) Arakawa K, Tomi H, Tobimatsu S, Kira J: Middle latency auditory-evoked potentials in myotonic dystrophy: relation to the size of the CTG trinucleotide repeat and intelligent quotient. J Neurol Sci **207**: 31–36, 2003
72) Tanaka H, Arai M, Harada M, Hozumi A, Hirata K: Cognition and event-related potentials in adult-onset non-demented myotonic dystrophy type 1. Clin Neurophysiol **123**: 261–269, 2012
73) Jiang H, Mankodi A, Swanson MS, Moxley RT, Thornton CA: Myotonic dystrophy type 1 is associated with nuclear foci of mutant RNA, sequestration of muscleblind proteins and deregulated alternative splicing in neurons. Hum Mol Genet **13**: 3079–3088, 2004
74) Yoshimura N, Otake M, Igarashi K, Matsunaga M, Takebe K, et al: Topography of Alzheimer's neurofibrillary change distribution in myotonic dystrophy. Clin Neuropathol **9**: 234–239, 1990
75) Vermersch P, Sergeant N, Ruchoux MM, Hofmann-Radvanyi H, Wattez A, et al: Specific tau variants in the brains of patients

with myotonic dystrophy. Neurology **47**: 711–717, 1996
76) Oyamada R, Hayashi M, Katoh Y, Tsuchiya K, Mizutani T, et al: Neurofibrillary tangles and deposition of oxidative products in the brain in cases of myotonic dystrophy. Neuropathology **26**: 107–114, 2006
77) Nakamori M, Takahashi T, Yamazaki Y, Kurashige T, Yamawaki T, et al: Cyclin-dependent kinase 5 immunoreactivity for granulovacuolar degeneration. Neuroreport **23**: 867–872, 2012
78) Leroy O, Dhaenens CM, Schraen-Maschke S, Belarbi K, Delacourte A, et al: ETR-3 represses Tau exons 2/3 inclusion, a splicing event abnormally enhanced in myotonic dystrophy type I. J Neurosci Res **84**: 852–859, 2006
79) Leroy O, Wang J, Maurage CA, Parent M, Cooper T, et al: Brain-specific change in alternative splicing of Tau exon 6 in myotonic dystrophy type 1. Biochim Biophys Acta **1762**: 460–467, 2006
80) Dhaenens CM, Tran H, Frandemiche ML, Carpentier C, Schraen-Maschke S, et al: Mis-splicing of Tau exon 10 in myotonic dystrophy type 1 is reproduced by overexpression of CELF2 but not by MBNL1 silencing. Biochim Biophys Acta **1812**: 732–742, 2011
81) Winblad S, Månsson JE, Blennow K, Jensen C, Samuelsson L, et al: Cerebrospinal fluid tau and amyloid beta42 protein in patients with myotonic dystrophy type 1. Eur J Neurol **15**: 947–952, 2008
82) Peric S, Mandic-Stojmenovic G, Markovic I, Stefanova E, Ilic V, et al: Cerebrospinal fluid biomarkers of neurodegeneration in patients with juvenile and classic myotonic dystrophy type 1. Eur J Neurol **21**: 231–237, 2014
83) Suenaga K, Lee KY, Nakamori M, Tatsumi Y, Takahashi MP, et al: Muscleblind-like 1 knockout mice reveal novel splicing defects in the myotonic dystrophy brain. PLOS ONE. **7**: e33218, 2012
84) Charizanis K, Lee KY, Batra R, Goodwin M, Zhang C, et al: Muscleblind-like 2-mediated alternative splicing in the developing brain and dysregulation in myotonic dystrophy. Neuron **75**: 437–450, 2012
85) Goodwin M, Mohan A, Batra R, Lee KY, Charizanis K, et al: MBNL sequestration by toxic RNAs and RNA misprocessing in the myotonic dystrophy brain. Cell Rep **12**: 1159–1168, 2015
86) Zu T, Gibbens B, Doty NS, Gomes-Pereira M, Huguet A, et al: Non-ATG-initiated translation directed by microsatellite expansions. Proc Natl Acad Sci U S A **108**: 260–265, 2011
87) 松村　剛, 木村　卓, 穀内洋介, 久保田智哉, 高橋正紀, 他: 大阪府下筋強直性ジストロフィー患者の受療動向調査. 臨床神経 **51**: 677–682, 2011
88) Timman R, Tibben A, Wintzen AR: Myotonic dystrophy: the burden for patients and their partners. J Rehabil Med **42**: 823–830, 2010
89) Cup EH, Kinébanian A, Satink T, Pieterse AJ, Hendricks HT, et al: Living with myotonic dystrophy; what can be learned from couples? A qualitative study. BMC Neurol **11**: 86, 2011
90) Heatwole C, Bode R, Johnson N, Quinn C, Martens W, et al: Patient-reported impact of symptoms in myotonic dystrophy type 1 (PRISM-1). Neurology **79**: 348–357, 2012
91) Smith AE, McMullen K, Jensen MP, Carter GT, Molton IR: Symptom burden in persons with myotonic and facioscapulohumeral muscular dystrophy. Am J Phys Med Rehabil **93**: 387–395, 2014
92) Gagnon C, Chouinard MC, Laberge L, Veillette S, Bégin P, et al: Health supervision and anticipatory guidance in adult myotonic dystrophy type 1. Neuromuscul Disord **20**: 847–851, 2010
93) van Engelen B; OPTIMISTIC Consortium: Cognitive behaviour therapy plus aerobic exercise training to increase activity in patients with myotonic dystrophy type 1 (DM1) compared to usual care (OPTIMISTIC): study protocol for randomized controlled trial. Trials **16**: 224, 2015

BRAIN and NERVE 68 (2): 109–118, 2016 Topics

Title

Clinical Importance of Central Nervous System Dysfunction in Myopathy

Author

Tsuyoshi Matsumura

Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital, 5–1–1 Toneyama, Toyonaka, Osaka 560–8552, Japan

E-mail: tmatsumura-toneyama@umin.org

Abstract

Multidisciplinary treatments including mechanical ventilation and cardioprotective therapy have improved life expectancy in many neuromuscular disorders such as Duchenne muscular dystrophy. For these patients, central nervous system disturbances such as intellectual and/or developmental disability can hinder social activities and communications. In myotonic dystrophy, the personality and/or cognitive dysfunction affects medical consultation behavior and decreases the efficacy of medical treatments. Understanding central nervous system disturbances in myopathies and providing care keeping in mind the patient burden are critical for improving prognosis and quality of life.

Key words: muscular dystrophy, multidisciplinary treatment, central nervous system disturbance, quality of life, patient-reported outcome

呼吸・心筋障害

松村　剛

呼吸・心筋障害の病態

筋ジストロフィー(muscular dystrophy: MD)では，骨格筋の障害により運動機能のみならず呼吸や嚥下機能も障害される．さらに，多くの疾患では心筋も障害され，呼吸・心筋障害は，MD の生命予後を規定する大きな要因である．呼吸・心筋障害は疾患による特徴があり，呼吸障害では，デュシェンヌ型筋ジストロフィー(Duchenne muscular dystrophy: DMD)や先天性筋ジストロフィー(congenital muscular dystrophy: CMD)等では呼吸筋力低下による肺胞低換気が主体だが，筋強直性ジストロフィー(myotonic dystrophy: DM)等では呼吸調節障害により初期から低酸素血症や睡眠時無呼吸症候群が見られる．心筋障害も，DMD 等ではポンプ機能低下による心不全が主体だが，DM やエメリー・ドライフス型(Emery-Dreifuss muscular dystrophy: EDMD)等では心伝導障害や洞不全症候群が高頻度で，突然死が一定の割合を占める．

MD ではこれら一次性の問題に加え，二次性の問題にも注意が必要である．呼吸機能障害は嚥下障害をともないやすく，咳嗽力低下と誤嚥リスクも増加する．脊椎胸郭変形の強い症例では不均等換気や体位制限等も加わって気道クリアランス維持が困難となり，無気肺形成や呼吸器感染，ブラ・ブレブ，気胸などの二次性肺障害リスクが高くなる(図 1)．また，MD では凝固亢進状態や四肢の不動化が存在するため，血栓症についても注意が必要である[1]．

呼吸・心筋障害のモニタリング

MD では呼吸・心筋障害の進行が緩徐なこと，運動負荷が低いことから，呼吸・心不全は潜在性に進行する．肺活量は運動機能と相関するが，呼吸調節障害は運動機能とは関連しない．また，心不全は運動機能が保たれている症例で前景に立つことがある．このため，発症初期からの定期的モニタリングが重要である．必須評価項目には，肺活量，咳のピークフロー，就寝時の酸素飽和度(可能なら経皮 or 呼気終末炭酸ガス分圧，図 2)，心電図，心エコー，ホルター心電図，胸部単純 X 線写真，血液検査(ナトリウム利尿ペプチド等)がある[2]．

まつむら つよし　国立病院機構刀根山病院神経内科部長
0289-0585/13/￥500/論文/JCOPY

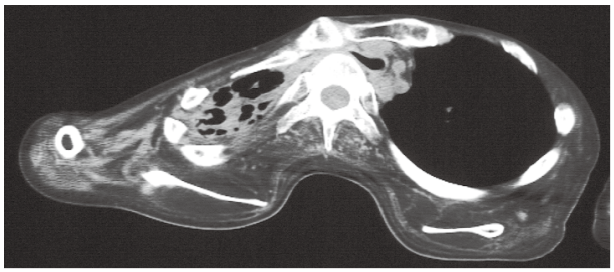


図 1　胸郭変形例における二次性肺障害
24 歳 DMD 症例．脊椎胸郭変形のため主気管支が偏位し動脈により圧排されている．右胸郭変形のために右肺の換気が不良で無気肺を生じている．

呼吸障害への対応

人工呼吸管理の普及は生命予後を大きく変化させた[3](図 3)．現在は，マスクを用いた非侵襲的陽圧換気(non-invasive positive pressure ventilation: NIV)を第一選択とし，自覚症状，酸素飽和度低下，炭酸ガス分圧上昇，体重減少などを参考に，本人・家族と相談して導入を決定する．患者の理解と協力は NIV 成功に必須で，適切なマスクの選択と装着，気道クリアランスと胸郭コンプライアンス維持，適切な呼吸器設定とリークコントロール等も要点となる[2]．呼吸器装着は通常就寝時から開始し，進行にともない日中の装着時間を増やしていく．この場合，食後など酸素需要の増加するタイミングに合わせて装着することが望ましい．装着時間が長くなると皮膚障害が生じやすくなるため，皮膚ケアや複数のマスクを用いた圧迫部位の分散などに留意する．気道確保が困難な症例等では気管切開も考慮するが，脊椎胸郭変形が強い患者では，胸郭入口部で気管が動脈により圧排され気管動脈瘻のリスクが高いため，切開前に頸部 CT を撮影し適切な位置での造設・カニューレ選択に留意する[2,4]．MD の呼吸管理は数十年に及ぶため，二次性肺障害の予防が重要で，%肺活量 40%以下，ピークフロー 270 L/分以下，呼吸器感染反復等を参考に呼吸理学療法を導入する．在宅人工呼吸療法患者では排痰補助装置が保険適応となっており，積極的な導入を考慮する．多くの患者は呼吸器装着後も在宅で生活するため，安全な移

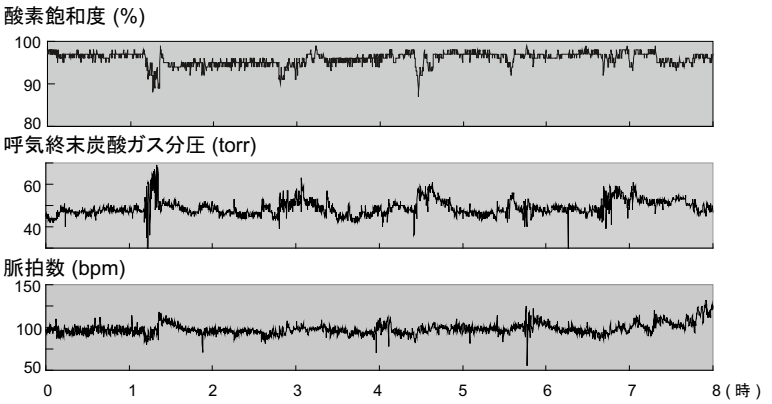


図 2　就寝時酸素飽和度および呼気終末炭酸ガス分圧モニタリング
16 歳 DMD 症例．日中の血液ガス所見は正常で自覚症状は認めないが，就寝時には周期的な酸素飽和度低下，呼気終末炭酸ガス分圧上昇が出現している．

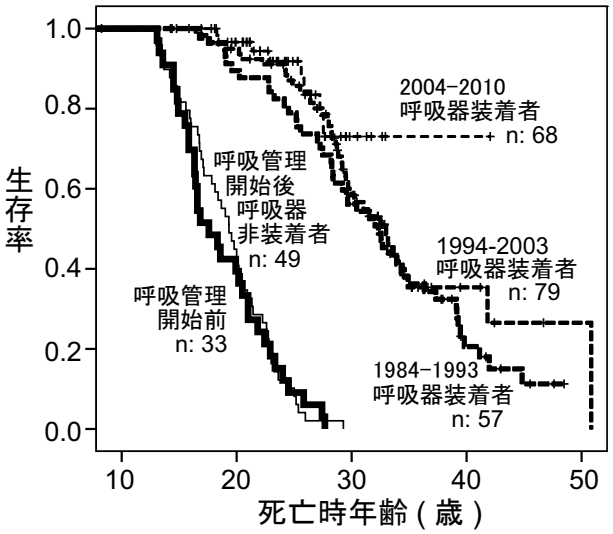


図 3　DMD 患者生存曲線推移(松村ら[3]より改変)
当院では 1984 年に人工呼吸管理を導入した．呼吸器装着者は非装着者に比べ明らかな生命予後の変化が見られる．NIV および携帯型人工呼吸器の普及で呼吸管理による生活制限が低下すると，ほぼ全例が人工呼吸管理を選択するようになった．

動方法，急変時や災害時の対応等の指導が QOL 維持やリスクマネジメントの上で重要である[2]．

心筋障害への対応

心臓のポンプ障害に対しては有効な代償手段はなく，ACE 阻害剤/アンギオテンシン受容体遮断薬やβ遮断薬など心筋保護薬を中心とした治療を行う[2,5~7]．規則正しい生活，感染の予防，体重コントロール等の生活指導を行う[2]．多くの患者は食事・水分摂取量が少なく，脱水等から腎不全を生じることもある[8]ため，塩分制限や水分制限，利尿剤は必要な場合のみ行う．精神的安定も重要で，専門的心理サポートや緩和処置も考慮する．不整脈については，一般的な治療指針に基づいて治療を行うが，抗不整脈剤は心機能抑制リスクがあるため慎重に検討する．呼吸機能が低下すると呼吸運動負荷が増大し，低酸素血症は心不全・不整脈の増悪因子にもなるため，心筋障害患者では呼吸管理を積極的に考慮する．カテーテルアブレーション，ペースメーカーや植込型除細動器等が適応となる場合もあり，DM ではデバイス治療による突然死の予防効果も報告されている[9]ため，必要に応じ専門科に相談する．

むすび

DMD 等では人工呼吸管理，心筋保護治療により生命予後が大きく改善した．しかし，これを支えているのは多職種による集学的ケアであり，慎重な観察と定期的モニタリングにより予防的に対応する前方視的ケアが重要である．現在，MD では新規治療薬の開発が進んでおり，運動機能の維持・改善が期待されているが，呼吸・循環への負荷が増大するリスクもあり，常にこれらに目を配る必要がある．

文　献

1) Saito T, Yamamoto Y, Matsumura T, et al. Coagulation system activated in Duchenne muscular dystrophy patients with cardiac dysfunction. Brain Dev. 2005；27：415–8.
2) 日本神経学会，小児神経学会，国立精神・神経医療研究センター，監修. デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン 2014. 南江堂；2014.
3) 松村 剛，齊藤利雄，藤村晴俊，他．Duchenne muscular dystrophy 患者の経時的死因分析．臨床神経学．2011；51：743–50.
4) Saito T, Sawabata N, Matsumura T, et al. Tracheo–arterial fistula in tracheostomy patients with Duchenne muscular dystrophy. Brain Dev. 2006；28：223–7.
5) Matsumura T, Tamura T, Kuru S, et al. Carvedilol can prevent cardiac events in Duchenne muscular dystrophy. Intern Med. 2010；49：1357–63.
6) Matsumura T. Beta–blockers in children with Duchenne cardiomyopathy. Rev Recent Clin Trials. 2014；9；76–81.
7) 田村拓久，澁谷統壽，飯田光男，他．Duchenne 型筋ジストロフィー患者の慢性心機能障害に対するカプトリル治療の臨床評価．臨床医薬．1996；12：3635–46.
8) 松村 剛，齊藤利雄，藤村晴俊，他．Duchenne 型筋ジストロフィー進行例では腎機能障害が多い．臨床神経学．2012；52：211–7.
9) Wahbi K, Meune C, Porcher R, et al. Electrophysiological study with prophylactic pacing and survival in adults with myotonic dystrophy and conduction system disease. JAMA. 2012；307：1292–301.

短　報

拡張型心筋症を契機に診断された肢帯型筋ジストロフィー2Mの1例

松井　未紗[1)*]　遠藤　卓行[1)]　松村　剛[1)]
齊藤　利雄[1)]　藤村　晴俊[1)]

要旨：症例は24歳男性．6歳時にBecker型筋ジストロフィーをうたがわれたが医療機関への受診は中断していた．23歳時に拡張型心筋症を発症し，筋生検と遺伝子検査で肢帯型筋ジストロフィー2Mと診断した．近年，肢帯型筋ジストロフィーの表現型を呈するfukutinopathyが報告され，骨格筋障害が軽微で心筋症が前景に立つ例が多く，重篤な心不全で発症することもある．筋ジストロフィーの責任遺伝子の多くは心筋症の責任遺伝子でもあり，筋ジストロフィー患者では骨格筋症状の軽重にかかわらず定期的な心肺機能検査が必要である．

（臨床神経 2015;55:585-588）
Key words：肢帯型筋ジストロフィー2M，拡張型心筋症，fukutinopathy，α-dystroglycan，高creatine kinase血症

はじめに

本邦の先天性筋ジストロフィーは，福山型先天性筋ジストロフィー（Fukuyama congenital muscular dystrophy; FCMD）が大半を占める．近年FCMDの原因遺伝子産物であるfukutinの変異により，骨格筋症状が軽微で中枢神経症状を有さず，心機能障害を合併する肢帯型筋ジストロフィー（limb-girdle muscular dystrophy; LGMD）2M（muscular dystrophy-dystroglycanopathy, typeC, 4; MDDGC4）の症例が報告されている[1)]．

今回，小児期に筋ジストロフィーの診断を受けたが医療機関への受診を中断し，拡張型心筋症の発症後に診断されたLGMD2Mの症例を経験した．

症　例

症例：24歳男性

入院目的：拡張型心筋症・高creatine kinase（CK）血症の精査．

既往歴：3歳時 アトピー性皮膚炎．

家族歴：特記なし．

現病歴：幼少期より運動は苦手だが日常生活に支障はなかった．4歳時に高CK血症を指摘され，6歳時に某大学病院で筋生検によりBecker型筋ジストロフィーの可能性を指摘されたが（詳細不明），以後は通院を中断していた．走るのは遅く体育は苦手であったが筋力低下の自覚はなくマラソンもできていた．大学へは自転車で1時間かけて通学していた．職業上立ち仕事にも従事しており日常生活に支障を感じることはなかった．23歳時に突然発症の呼吸困難で近医を受診し，拡張型心筋症による心不全と診断された．CK 1,000 IU/l前後と高値で，Becker型筋ジストロフィーをうたがわれたが，multiplex ligation-dependent probe amplification（MLPA）法でdystrophin遺伝子にエクソン単位の欠失・重複をみとめなかったため，原疾患の精査目的で当院を紹介受診した．

入院時現症：身長173.5 cm．体重58 kg．脈拍77回/分で不整なく，血圧が82/52 mmHgと低い以外は一般身体所見に異常はなかった．神経学的所見は，意識清明，脳神経系に異常なく，四肢近位筋にMMT 5−程度の筋力低下をみとめた．感覚系に異常なく，腱反射は正常で，起立・歩行は異常なかった．

検査所見：血液検査ではCK 343 IU/l，ミオグロビン73 ng/ml，BNP（brain natriuretic peptide）263 pg/ml，hANP（human artrial natriuretic peptide）54.6 pg/mlと高値である以外は異常なかった．胸部レントゲンでは心拡大（CTR = 56%），左第4弓の突出をみとめた．心電図は脈拍68回/分の洞調律で著変なかった．心エコーでは左室拡張末期径87 mmと拡大，駆出率6%と左室機能の高度低下を示していた（Fig. 1）．ホルター心電図では心室性期外収縮が1,951回（総拍数97,162回）と頻発し，最大で6連発もみとめた．

入院後経過：経過より，Becker型をふくむ各種筋ジストロフィーの鑑別が必要と考え，左上腕二頭筋より筋生検を施行した．一般組織検査では軽度の筋線維大小不同と中心核増多など，軽微な非特異的筋原性変化のみであった．免疫染色でα-dystoglycan（αDG）の染色をみとめなかった（Fig. 2）ことからfukutinopathyをうたがい*FKTN*遺伝子検査をおこなったところ，3 kb挿入変異とミスセンス点変異（c. 536 G>C, p.

*Corresponding author: 独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科〔〒560-8552　大阪府豊中市刀根山5丁目1番1号〕
[1)] 独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科
（Received November 25, 2014; Accepted March 23, 2015; Published online in J-STAGE on June 6, 2015）
doi: 10.5692/clinicalneurol.cn-000686

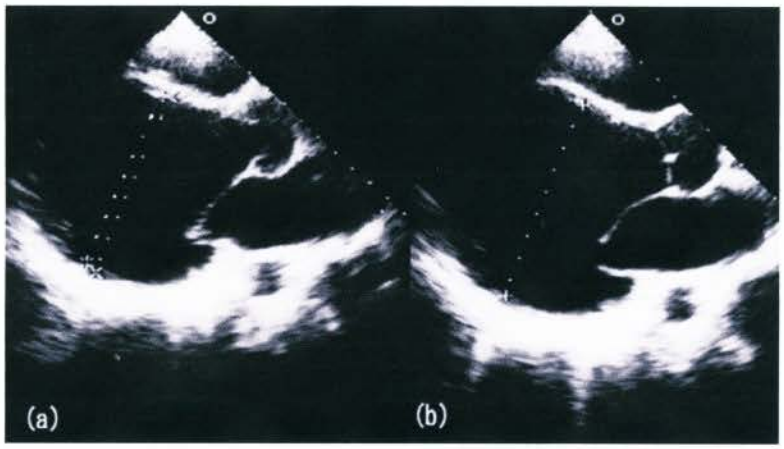


Fig. 1　Echocardiography of the patient.
(a) endodiastolic. (b) endosystolic. (Left ventricular end-diastolic dimension: LVDd 87 mm, Left ventricular end-systolic dimension: LVDs 85 mm, Left ventricular ejection fraction: LVEF 6%, Left ventricular fractional shortening: LVFS 3%) Echocardiography showed systolic dysfunction with ventricular dilation. Ventricular hypertrophy was not observed.

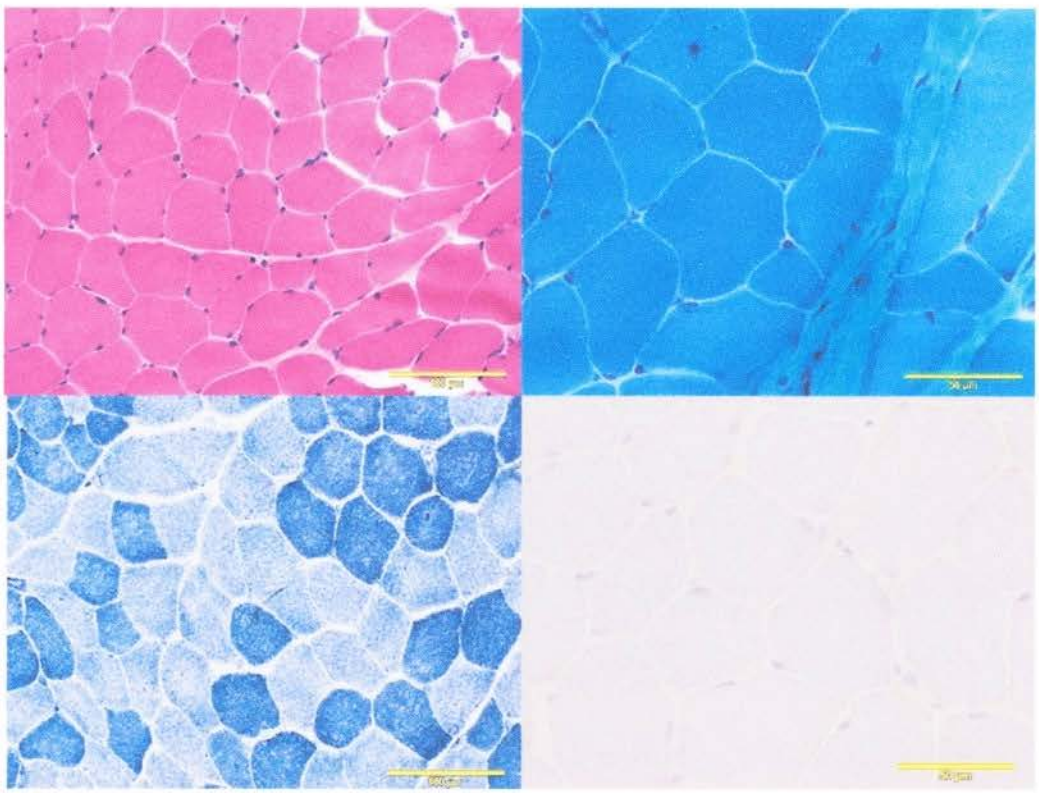


Fig. 2　Histology of biopsied muscle of the patient.
(a) Hematoxyline and eosin staining showed mild variation in fiber size. Necrotic and regenerating fibers or lymphocyte infiltrations were not seen. (b) On modified Gomori trichrome staining, neither rimmed vacuoles, Nemaline bodies or ragged red fibers were seen. Fibers with internal nuclei were increased. (c) NADH staining showed well organized intermyofibrillar networks. (d) Immunohistochemical staining, using a monoclonal antibody VIA4-1 that recognizes heavily-glycosylated form of α-dystroglycan, showed negative sarcolemmal staining.

Arg 179 Thr）のヘテロ接合をみとめ，LGMD2M と診断した．心不全症状は安定していたため投薬治療，心保護的な生活指導をおこない，退院となった．

考　察

α-dystroglycanopathies は αDG の糖鎖修飾異常により生じる疾患群で，本邦では fukutin 遺伝子への 3 kb 挿入による FCMD がほとんどだが，同遺伝子の変異で LGMD の表現型を呈する LGMD2M 症例が近年報告された[1)-5)]．

本邦では同胞例をふくむ 6 例の報告があり[1)]，いずれも 3 kb 挿入とミスセンスのヘテロ接合である．中枢神経や眼合併症はなく，筋力低下は軽度で，10 代以降の発症で拡張型心筋症を呈していた[1)]．

海外ではミスセンスのヘテロ接合の 7 例の報告がある．小児期以前の発症で本邦例より運動機能障害が強く，心機能は保たれる症例が多いが，四肢筋力低下を呈さず拡張型心筋症で発症した家族例の報告もある[2)-5)]．FCMD に比し，LGMD2M で骨格筋よりも心筋が強く侵される例が多い原因は明らかでない．

説明の一つとして，スポーツなど過剰な運動による心負荷[1)]があげられる．筋ジストロフィーの責任遺伝子の多く（dystrophin, sarcoglycan, desmin, lamin A/C, caveolin 3, telethonin, titin など）は心筋症の責任遺伝子でもあり，心筋症が前景に立つことがある[6)7)]．とくに，Becker 型筋ジストロフィーでは，歩行可能な患者に心血管イベントが多いとの報告があり，運動能力が保たれるほど心負荷がかかり心機能障害が増悪する可能性が考えられる[8)]．*FKTN* の変異は拡張型心筋症患者 172 人中 2 人にあり高 CK 血症を示すのみであったとの報告[9)]もあり拡張型心筋症の原因遺伝子として重要である．本症例も，自転車通学など負担の大きな生活をしており，心筋の過剰使用が背景として考えられた．

他の説明として，組織特異的な αDG 糖修飾の可能性があげられる．FCMD は糖鎖修飾異常により αDG の分子量が低下しているが[10)]，Murakami らによると，6 例の LGMD2M の骨格筋では αDG の分子量が FCMD より大きかったものの，心筋では 1 例の LGMD2M と FCMD と分子量に差はなかった．これは，fukutin 遺伝子の変異の影響が，骨格筋と心筋でことなる可能性を示唆する[1)]．

骨格筋症状が軽微な症例は，定期的な診察・検査がなされないことが多く，本例も小児期に筋ジストロフィーと診断されたが受診は中断されていた．筋ジストロフィーをうたがわれる患者では，定期的に胸部レントゲン・心電図や心エコー・ホルター心電図などをおこない，早期から生活指導や治療をおこなっていくことが重要である．

謝辞：ご指導・ご校閲いただきました刀根山病院院長 佐古田三郎先生，病理組織学検査・遺伝子検査を施行いただきました国立精神・神経医療研究センター疾病研究第一部長 西野一三先生に深謝いたします．

※本論文に関連し，開示すべき COI 状態にある企業，組織，団体はいずれも有りません．

文　献

1) Murakami T, Hayashi YK, Noguchi S, et al. Fukutin gene mutations cause dilated cardiomyopathy with minimal muscle weakness. Ann Neurol 2006;60:597-602.
2) Godfrey C, Escolar D, Brockington M, et al. Fukutin gene mutations in steroid-responsive limb girdle muscular dystrophy. Ann Neorol 2006;60:603-610.
3) Puckett RL, Moore SA, Winder TL, et al. Further evidence of Fukutin mutations as a cause of childhood onset limb-girdle muscular dystrophy without mental retardation. Neuromuscul Disord 2009;19:352-356.
4) Vuillaumier-Barrot S, Quijano-Roy S, Bouchet-Seraphin C, et al. Four Caucasian patients with mutations in the fukutin gene and variable clinical phenotype. Neuromscul Disord 2009;19:182-188.
5) Riisager M, Duno M, Hansen FJ, et al. A new mutation of the fukutin gene causing late-onset limb girdle muscular dystrophy. Neuromuscul Disord 2013;23:562-567.
6) Burkett EL, Hershberger RE. Clinical and genetic issues in familial dilated cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 2005;45:969-981.
7) Hermans MC, Pinto YM, Merkies IS, et al. Heredity muscular dystrophies and the heart. Neuromuscul Disord 2010;20:479-492.
8) Arimura T, Hayashi YK, Murakami T, et al. Mutational analysis of fukutin gene in dilated cardiomyopathy and hypertrophic cardiamyopathy. Circ J 2009;73:158-161.
9) Nigro G, Comi LI, Politano L, et al. Evaluation of the cardiomyopathy in Becker muscular dystrophy. Muscle Nerve 1995;18:283-291.
10) Hayashi YK, Ogawa M, Tagawa K, et al. Selective deficiency of α-dystroglycan in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. Neurology 2001;57:115-121.

Abstract

A case of limb-girdle muscular dystrophy 2M diagnosed by the occurence of dilated cardiomyopathy

Misa Matsui, M.D.[1], Takuyuki Endo, M.D., Ph.D.[1], Tsuyoshi Matsumura, M.D., Ph.D.[1], Toshio Saito, M.D., Ph.D.[1] and Harutoshi Fujimura, M.D., Ph.D.[1]

[1]Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital

We report a 24-year-old Japanese man initially suspected to have Becker's muscular dystrophy at the age of 6 years, because of a high level of creatine kinase in serum, though he discontinued visiting the hospital. At the age of 23, he was admitted to the hospital for severe dilated cardiomyopathy, and subsequently diagnosed with limb-girdle muscular dystrophy2M (LGMD2M) based on muscle biopsy and gene analysis. It was recently reported that some patients with fukutinopathy develop LGMD. Most of the cases reported in Japan showed mild skeletal muscle involvement despite serious cardiomyopathy, which may sometimes the initial symptom of the disease. Since muscular dystrophy patients can develop severe cardiac failure, irrespective of the severity of skeletal muscle involvement, regular examinations of cardiopulmonary function are necessary.

(Rinsho Shinkeigaku (Clin Neurol) 2015;55:585-588)

Key words: limb-girdle muscular dystrophy 2M, dilated cardiomyopathy, fukutinopathy, α-dystroglycan, high serum cretine kinase

ジストロフィン異常症 (Duchenne 型 /Becker 型 筋ジストロフィー) の母親，女性患者が有する問題

国立病院機構熊本再春荘病院　神経内科　石崎 雅俊、上山 秀嗣
国立病院機構あきた病院　神経内科　小林 道雄
国立病院機構徳島病院　神経内科　足立 克仁
国立病院機構刀根山病院　神経内科　松村 剛
国立精神・神経医療研究センター　木村 円

はじめに

近年，様々な治療とケアの進歩に伴い，Duchenne 型 /Becker 型 (DMD/BMD) 筋ジストロフィー患者さんの生命予後が改善し，成人後も長期間社会生活を送ることが可能となってきました．一方，介護の長期化により，介護者である両親の健康問題が在宅療養維持のネックとなる例が増えてきており，特に主介護者であるお母様方の健康管理，心理的支援は家族・患者双方の QOL に重要であると考えられます．

DMD/BMD 筋ジストロフィーは X 染色体連鎖の遺伝形式であり，患者さんの母親を含めた女性家族員において，ジストロフィン遺伝子異常を有する可能性があります．ジストロフィン遺伝子異常を有する女性※ は，一部骨格筋症状や心筋症を呈することが報告されており，本邦で長年「DMD 患者の母親検診」を積極的に取り組んできた NHO 徳島病院からの報告[1)2)] では，変異保有者 28 名中 23 名に骨格筋障害，18 名に心筋障害 (心エコー異常もしくは血清 BNP 値高値) を有しておりました．また，上記に述べたような長期化した介護負担などを考えると，遺伝子変異の有無に関わらず，母親の健康管理は極めて重要な課題と考えられます．

しかし，患者さんの母親や女性変異保有者に関する報告は少なく，自然歴，臨床症状，受けている治療や福祉サービス，問題点などほとんど明らかにされていないのが現状です．その結果，逆に正確な情報を得られる機会が少ないため，(1) 患者さんの母親は全て変異保有者と誤解される (2) 女性の変異保有者は発症しないと誤解され，適切な健康管理を受けられない　などの不利益をうけていると考えられます．

以上のような問題に対して，国立・精神神経医療研究センター研究開発費による筋ジストロフィー臨床研究班（Remudy 木村班）[3)] が，現在行っております取り組みと今後の展開について述べたいと思います．

※＝一般には「保因者 (carrier)」と言われ，無症状の保因者は「非発症保因者」または単に「保因者」，症状が現れた保因者は「発症保因者 (manifesting carrier)」と呼ばれます．

方　法

遺伝性疾患に対する調査は，心理的ケア体制を整えた上で慎重に行っていく必要があります．　まず，わたしたちは全国的な調査を行う前に，お母様方，女性患者さんの調査における問題点や注意すべき点を検討するために，下記の調査を行いました．

NHO 熊本再春荘病院，NHO あきた病院の 2 施設において，DMD 患者さんのお母様方に対し，医師との対面形式にて，症状の有無，受療状況，遺伝的知識などについてアンケート調査を行いました．

本調査では，NHO 熊本再春荘病院，NHO あきた病院の倫理委員会にて承認を得ております．

結　果

DMD 患者 22 名の母親にアンケート調査を行いました．母親の平均年齢 56.1 ± 7.7 歳．患者の平均年齢 29.4 ± 8.6 歳 (16 ～ 48 歳) であり，患者の 22.7 % が在宅療養，77.2 % が長期入院中でありました．

(1) 身体管理，受療状況について：54.5 % が定期的に医療機関を受診されていました．医療機関受診，定期的検診共にうけていない方は 14.3 % でした．DMD 患者の母親として，定期受診していた例は

ありませんでした.「現在の健康状態が良い，概ね良い」と 59 % が回答されました．自覚症状として筋痛，筋力低下をみとめた例が 14.3 % でした (図 1).

(2) 心理的状態について：「現在の生活に満足，概ね満足」と 86.4 % が回答されました . 一方，68.2 % が「将来について不安がある」と回答され，その理由として，自身の健康，患者の将来，経済的な面などが挙げられました．68.1 % が「しばしば，または , 時に遺伝的疾患である点に関して悩んだことがある」と回答されました (図 2).

(3) 遺伝的知識，遺伝子検査について：85.7 % が「母親が遺伝子異常を有する可能性があることを知っている」と回答されましたが，一方 , 54.5 % が「女性でも症状が出現する可能性があることを知らない」と回答されました.「遺伝カウンセリングをうけたことがある」との回答が 22.7 % , 今後，遺伝カウンセリングをうけた上で，自身が「遺伝子検査を希望する」と 22.7 % が回答されました (図 3).

(4) このような母親の調査を行うことに対して，77.3 % が「賛成」，18.2 % が「賛成でも反対でもない」，4.5 % が「よくわからない」と回答されました．自由記載では，「このような調査はとても大切だと思う」,「自分のことより娘の出産や妊娠のことの方が気になる」「子供や家族の前で話せないことが話せてよかった」などの肯定的意見が多数でしたが，「今後検診をして自分が保因者とわかるのが怖い」,「診断されて間もないときはこのような調査は精神的に負担になると思う」といった意見がみられました (図 4).

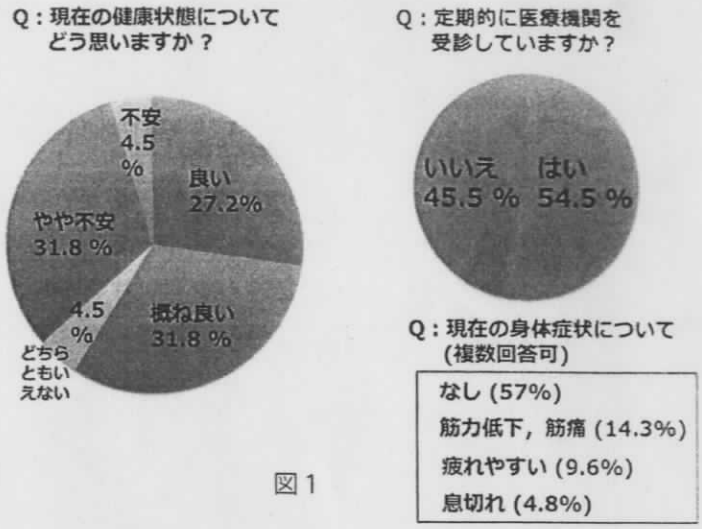


図 1

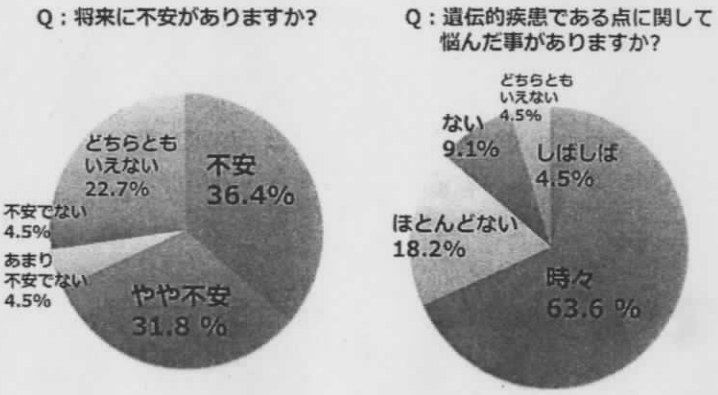


図 2

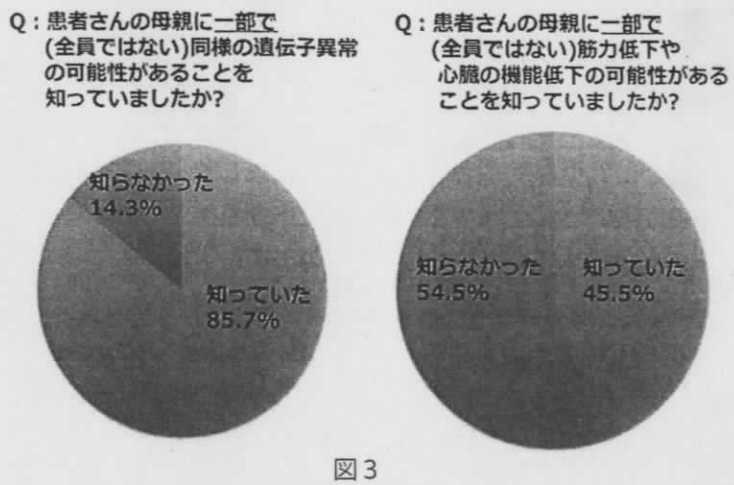


図 3

考　察

「デュシェンヌ型筋ジストロフィーガイドライン 2014」[4] では，一部のジストロフィン遺伝子変異保有者において骨格筋症状を呈し，さらに心機能は骨格筋症状と無関係に低下しうるので , 定期的な心機能評価が望ましいと述べられています. その発症頻度は報告によって異なりますが，骨格筋症状は 15 ～ 26 %[5][6]，心筋症は 8 ～ 18 %[1][5] と稀ではないとされております．また妊娠や出産を契機に筋力低下が増悪した例[7] も報告されております．このようなジストロフィン異常症と診断された女性の発症頻度や臨床像の報告

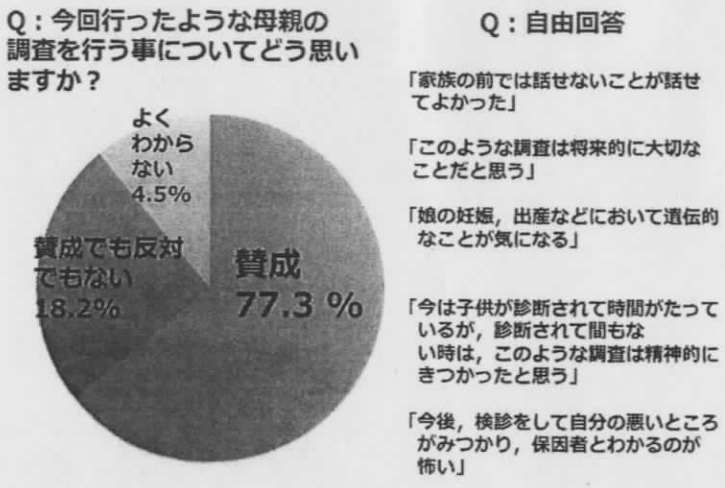


図4

は散見されますが，今回のようなDMD患者の母親（ジストロフィン遺伝子異常に関わらない）に関する調査報告はほとんどみられておりません．

今回のお母様方へのアンケート結果では，女性の家族がジストロフィン遺伝子異常を有する可能性についてはほとんどの方が知っておられましたが，発症する可能性については半数以上の方がご存じなく，病気についての正確な情報の提供が必要と考えられました．また筋力低下や心疾患加療中の方は一部みられましたが，DMD患者の母親として定期的フォローされていた例はなく，患者側だけでなく，医療者側にも発症リスクについての認識が不足している可能性が示唆されました．遺伝子検査や遺伝カウンセリングについては，今後も希望しないと回答した例が多数でありました．これは，調査対象者の平均年齢が56歳と高いために遺伝子検査の必要性を感じにくくなっていることや遺伝子異常が判明することに対する不安感などが考えられました．一方で娘（患者の姉妹）の妊娠・出産に不安を感じるという声も聞かれ、対象を若い世代の母親にも拡げることも大切だと考えました．今後，母親の調査を行うことに対する意見として，肯定的な意見がほとんどであり，アンケート自体が心理的負担の軽減になっていた例もみられました．この結果は，前もって調査の目的を説明した上での医師と対面調査である要素が大きかったと考えられました．さらに患者さん（お子さん）のほとんどが入院患者で，診断を受けて長期間経過した進行例であることから，精神的負担が少なく，否定的意見がでにくい可能性も考えられました．

また医療者側への調査として，本研究班にて「全国遺伝子医療部門連絡会議に加盟する施設に対して，DMD/BMD患者の母親もしくは女性の家族に対する対応状況に関してアンケート調査」を施行しました（同研究班，小林ら，投稿準備中）．その結果，母親に対する遺伝相談，カウンセリング内容として，母親・保因者の発症リスクについて13％，定期検診について39％が「説明していない」と回答がありました．これは，アンケート調査対象施設が大学病院中心であり，お子さんの診断を受けて間もない時期における事例が多いため，母親の心理的負担を考慮した結果と考えられました．しかし，患者さんの病状進行とともに定期的なフォロー先が変わることが多いため，医療者間同士が連携を取りながら，母親自身への健康管理を含めた生活指導やカウンセリングを継続的に行うことが望ましいと考えられます．今後，母親の調査を行うことに対する意見としましては，「とても重要な取り組みだが，心理的要素，社会的立場に配慮し不利益を被らないよう小児科，神経内科，遺伝相談など連携をとって慎重に行うべき」との意見を多くいただきました．今後，全国的な調査を行うにあたり，在宅で介護されている方，診断を受けて間もない方など様々な背景の母親が対象となる可能性があり，心理的負担に配慮し，アンケート方法や質問内容など慎重に検討する必要があると思われます．

さいごに、Duchenne型/Becker型筋ジストロフィー患者さんのお母様方へ

わたしたちは，今後も母親全体の心理支援・健康管理の問題について取り組み，調査を継続していく所存です．その調査の中で，遺伝子変異保有者のリスクについても明らかにし，男性のDMD/BMD患者さんと同様に適切な医療や福祉サービスをうけることができるように，サポートしていきたいと考えております．また遺伝子変異をもたないDMD/BMD患者さんの母親においても，社会的認知や心理・健康管理の支援を促進できればと思います．そうした活動を通じ，患者さんだけでなく，ご家族のQOLも高め，在宅生活がより維持しやすくなることを期待しております．

平成27年7月から筋ジストロフィーが国の指定難病に加えられ，男性だけでなく，女性のジストロフィン異常症患者さんも診断基準，重症度基準を満たせば認定可能となりました．さらに，本研究班の運用する筋ジストロフィー登録システム (Remudy, http://www.remudy.jp) においても，女性の患者さんで遺伝子検査や筋生検にて診断に至った方は登録できる方向で検討がすすんでおります．

以上のような情報の認知度はまだ充分ではなく，女性の発症リスク，健康管理の必要性，指定難病の対象となり得ることなど，一般 (患者・家族)，医療関係者，保健師，難病相談員等への周知活動が重要であり，本研究班でも推進していきたいと考えております．

今後もアンケート調査などご協力いただくことがあるかと思いますが，何卒よろしくお願い致します．なにかご不明な点や聞きたいことがございましたら，下記までご連絡いただければと思います．

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター ＴＭＣ 神経・筋疾患患者登録センター (Remudy) 患者情報登録部門，電話・FAX：042-346-2309, E-mail：remudy@ncnp.go.jp

謝辞　今回の調査に関して快く情報提供にご協力してくださった全ての患者さんとそのご家族，遺伝子医療部加盟施設の医療スタッフの方々に感謝致します．

文　献

1) 足立克仁：Duchenne 型筋ジストロフィー女性保因者の症状発現．～骨格筋，心筋と中枢神経系～．医療 60:603-609, 2006.
2) 足立克仁，岩瀬　俊，赤池雅史ら：Duchenne 型筋ジストロフィー女性保因者における心臓 MRI ガドリニウム遅延造影と下腿筋 CT. 医療 67:63-60, 2013.
3) 木村 円，石埼雅俊，小林道雄，足立克仁 et al.：平成 26 年度精神・神経疾患研究開発費「国際協調に基づく臨床研究基盤としての神経筋疾患ナショナルレジストリーの活用と希少な難治性疾患への展開を目指した研究」研究報告書，in press, 2015.
4) 監修：日本神経学会，日本小児神経学会，国立精神・神経医療研究センター：デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン 2014. 南江堂，2014
5) Politano L, Nigro V, Nigro G, et al. Development of cardiomyopathy in female carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophies. JAMA 275:1335-1338, 1996.
6) Grain L, Dortina-Borja M, Forfar C, et al. Cardiac abnormalities and skeletal muscle weakness in carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophies and controls. Neuromuscul Disord 11:186-191, 2001.
7) Hori H, Maeda Y, Ishizaki M, et al. A carrier with de novo mutation in the dystrophin gene whose myopathic symptoms became seriously progressive after pregnancy and delively. Muscle Nerve:doi: 10.1002/mus.24744, 2015.

新刊紹介

Q＆A 高齢者施設・事業所の法律相談 介護現場の 76 問

介護事業法務研究会／編

適切な事業運営と紛争予防に不可欠で事業者と利用者をつなぐ一冊。

介護施設・高齢者住宅の事業者側に立ち、「開業時のトラブル」「利用者とのトラブル」「従業員とのトラブル」「親族とのトラブル」「M＆A、倒産等の問題」「介護現場での成年後見の問題」などの法的対処をＱ＆Ａで解説している。とくに関心の高まっている介護事故については、44 判例を引用し詳解している。

◆編集：介護事業法務研究会（執筆者一覧）

弁護士・税理士	谷林　一憲
弁護士	西原　和彦
弁護士	三好　吉安
弁護士・税理士	橋森　正樹
弁護士	川本　真聖
社会保険労務士	上村　和也
司法書士	三輪紗季子

◆判型：A5 判、496 頁
◆発刊年月：2015 年 6 月
◆定価：4,752 円 (税込)
◆ ISBN ナンバー：978-4-8178-4232-9

Journal of Child Neurology
1-8
© The Author(s) 2015
Reprints and permission:
sagepub.com/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/0883073814558334
jcn.sagepub.com
SAGE

How Physicians Support Mothers of Children with Duchenne Muscular Dystrophy

Haruo Fujino, MA[1], Toshio Saito, MD, PhD[2,3], Tsuyoshi Matsumura, MD, PhD[3], Saki Shibata, MA[1], Yuko Iwata, MA[1], Harutoshi Fujimura, MD, PhD[3], Susumu Shinno, MD, PhD[3,4], and Osamu Imura, PhD[1]

Abstract

Communicating about Duchenne muscular dystrophy and its prognosis can be difficult for affected children and their family. We focused on how physicians provide support to the mothers of children with Duchenne muscular dystrophy who have difficulty communicating about the condition with their child. The eligible participants were certified child neurologists of the Japanese Society of Child Neurology. Participants responded to questionnaires consisting of free descriptions of a vignette of a child with Duchenne muscular dystrophy and a mother. We analyzed 263 responses of the participants. We found 4 themes on advising mothers, involving encouraging communication, family autonomy, supporting family, and considering the child's concerns. These results provide a better understanding of the communication between physicians and family members who need help sharing information with a child with Duchenne muscular dystrophy. These findings will assist clinical practitioners in supporting families and the affected children throughout the course of their illness.

Keywords

Duchenne muscular dystrophy, physicians, mothers, communication, qualitative study

Received July 05, 2014. Received revised August 30, 2014. Accepted for publication September 26, 2014.

In recent years, the circumstances of patients with Duchenne muscular dystrophy have undoubtedly improved. Despite this progress, Duchenne muscular dystrophy is still a severe disease causing a significant burden to patients as well as their families. The lives of parents with a child with Duchenne muscular dystrophy are profoundly affected, and they generally suffer from high levels of stress.[1]

Duchenne muscular dystrophy is a recessive X-linked progressive muscular disease, which is caused by a mutation in the gene responsible for dystrophin production.[2] Duchenne muscular dystrophy occurs primarily in boys. Boys with Duchenne muscular dystrophy have progressive loss of muscle function and weakness, resulting in a loss of ambulation and deterioration of respiratory and cardiac functions. Clinical management and care for Duchenne muscular dystrophy has improved in the past few decades because of corticosteroid treatment, noninvasive mechanical ventilation, and cardioprotective medications, resulting in prolonged life expectancies.[3-6]

It is a difficult process for the affected child and its family to receive the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy and communicate about the child's prognosis. Although pharmacologic interventions and corticosteroid therapy have been reported as effective in slowing the decline of muscle strength and function in Duchenne muscular dystrophy,[2,7,8] there are no curative treatments in existence. Informing a family of the life-limiting condition of their child can be one of the most difficult and stressful events for a physician to experience.[9] Emotional responses of physicians could have consequences on how the diagnosis process progresses. In addition, the manner in which the condition is explained and communicated by medical professionals has an impact on the parents and child. Generally, one of the recommended communication styles is explaining the condition and providing information on the course of the disease at a level that is comprehensible to both the child and family.

[1] Graduate School of Human Sciences, Osaka University, Suita, Osaka, Japan
[2] Division of Child Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital, Toyonaka, Osaka, Japan
[3] Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital, Toyonaka, Osaka, Japan
[4] Shinno Clinic, Nara, Japan

Corresponding Author:
Osamu Imura, PhD, Graduate School of Human Sciences, Osaka University, 1-2 Yamadaoka, Suita, Osaka, Japan.
Email: osamui@hus.osaka-u.ac.jp

Downloaded from jcn.sagepub.com by guest on January 6, 2015

Although there is a great deal of research on disease communication for major pediatric diseases such as childhood cancer,[10,11] Duchenne muscular dystrophy differs in both prognosis and therapeutic potential. There are few studies focusing on communication between physicians and the families of children with Duchenne muscular dystrophy.[12]

This study aimed to explore how physicians explain the diagnosis and support families with a child with Duchenne muscular dystrophy. The original study was designed to reveal physicians' attitudes and examine how they dealt with the difficulties inherent in explaining the condition to affected children. This article focuses on how physicians deal with and support mothers who ask for advice on explaining the condition to their children.

Methods

Participants

We obtained permission to mail survey questionnaires to board-certified child neurologists of the Japanese Society of Child Neurology. The eligible members of certified child neurologists were 1,022 physicians, the same number of participants as in our previous study.[12]

Thirteen participants were not eligible because their addresses were unknown. The final sample consisted of 1,009 pediatric neurologists in the Japanese Society. This survey was conducted between August 2010 and February 2011.

Procedure

We developed the questionnaires based on a review of the literature and an exchange of opinions among clinical psychologists (HF, OI) and experienced physicians (TS, TM, HF, SS) with experience in pediatric neurology and muscular dystrophy. The main part of the questionnaire consisted of free descriptions regarding a case vignette, which addressed how physicians deal with and support mothers who ask for advice on explaining Duchenne muscular dystrophy to their children. Additionally, it included domain items of physician's views about important factors in explaining the condition and their attitudes towards doing so. Details of the study methodology were reported elsewhere.[12]

This study was approved by the research ethics committee of the National Hospital Organization Toneyama National Hospital.

Case Vignette

A hypothetical case depicting a mother who needs help in dealing with her child's needs was constructed for this qualitative study. A detailed description of the case is as follows:

An 11-year-old boy who was diagnosed with Duchenne muscular dystrophy at the age of 18 months is now in the fifth grade at elementary school. The boy started using a wheelchair in fourth grade because he had begun to experience difficulty in standing and walking at that time. For several years, the boy has gone to the physician about twice per year. No signs of mental retardation have been observed. According to his mother, the boy had a class at school in which pupils thought about "living." This class prompted him to vaguely think of the future and learn more about his disease. Although he had already been informed about his needs in daily life, and he knew his disease was a muscular disorder, the future or his prognosis had not been discussed at home. The mother did not know how to explain this to him and had come to the physician for a consultation.

We asked for an open-ended question about how to deal with the mother in this situation.

Analysis

Qualitative data were analyzed using the thematic analysis approach. Thematic analysis is a method of identifying and analyzing the themes within qualitative data.

The responses of the free descriptions were carefully read several times to identify themes and subthemes from the physicians' viewpoints on how to deal with and support the mothers. These processes resulted in the categorization of specific subthemes. Two researchers (HF, OI)—male, certified clinical psychologists—with experience of psychological research in the field of muscular dystrophy extracted the themes, and disagreements were discussed until consensus was reached. Once the themes were identified, the responses were reviewed again, and the frequencies of the themes were calculated. A qualitative research software package was not used for the collating and coding. Consolidated criteria for reporting qualitative studies (COREQ) checklist was used as a reporting framework.[13]

Additionally, we performed χ^2 test, using SPSS Statistics 21.0 software (SPSS Japan Inc., Tokyo, Japan), to assess the difference in the approach by age.

Results

We received 311 replies (30.9%). Within the 311 replies, 263 were included for the analysis of the free description of the case vignette. Twenty-two were excluded because of no experience in the specialty field of muscular dystrophy. Twenty-six were excluded because answers for free description were missing. The majority of the participants were men (70.7%), with a mean age of 50.6 years. They had been working in pediatric neurology for a mean of 20.4 years and in the specialty field of muscular dystrophy for a mean of 13.4 years. Table 1 describes the demographic information of participants.

Four key themes were identified through thematic analysis and each theme contained several subthemes. There are no significant differences in frequencies of the themes and subthemes by age of the physicians. Themes and subthemes are summarized in Table 2 and the details are described below.

Help With Communication

Explanation from the physician. The most common response was telling the mother that the primary physician would or could explain the nature of the condition to the child. In the case vignette, the mother asked the physician for advice because of her difficulty in explaining the condition. Telling the mother that the physician is able to explain the condition would provide support in such cases.

> It is about time to directly tell the child about the disease in detail and how to handle it in life. However, since telling

Downloaded from jcn.sagepub.com by guest on January 6, 2015

Table 1. Demographic Information of Participants

	n		
Gender			
Male	186		
Female	77		
Age group			
35-39	37		
40-49	80		
50-59	109		
≥60	37		
Workplace[a]			
Public hospital	82		
University hospital	77		
Private hospital	59		
Clinic	45		
National Hospital Organization	24		
	Mean	SD	Range
Age	50.6	9.1	35–86
Years working in pediatric neurology	20.4	8.9	1–55
Years working in muscular dystrophy	13.4	10.4	1–55

Abbreviation: SD, standard deviation.
[a]Some of the participants' responses included 2 or more locations.

> everything at once would confuse the child, the physician should talk to the child directly on several occasions. (P55)
>
> This child is 11 years old with no mental disability. So, if the child wants to know about the disease, the truth should be given accurately. I would tell the mother that the child's doctor could explain it to the child directly. Although the child might be bewildered at the time, the child would understand it better in the future. (P56)

Physicians take an active role in facilitating communication among family members and physicians. They thought it was better to have the primary care physician properly tell the child about the disease.

Suggests talking to the child because of his growth. According to the developmental stage of the child, how he views himself, and what he wishes to know about himself, the physicians encouraged the mother to provide an explanation and talk with her child.

> The child has reached the age of getting interested in his own things and of needing to prepare for positively confronting the disease. After telling the child the name of the disease, we should provide support so that the child can cope with what needs to be done from now on, particularly respiratory rehabilitation and cardiac management, on the child's own initiative. (P17)
>
> I would tell them that considering both the child's age and psychological state, it was the right time to start giving an objective explanation about the disease. As the child's doctor, I would help the child learn about the disease, while taking into account the parents' wishes. (P66)
>
> This must be properly discussed sooner or later, and if the child wants to know about the disease now, then it may be a good time. (P22)

Physicians referred to the growth of the child and the child's desire to know, and decided it was appropriate to talk about the disease with the child at that time. In addition, their perspective was that the child's desire to know was related to his growth.

No need for an explanation. A small number of the physicians thought it was not necessary to tell the prognosis and the future given the age and the developmental level of the child.

> I do not think it is necessary for the mother to explain about respiratory failure or heart failure, which could occur in the near future. Isn't it better to talk to the child after the child becomes more aware? (P35)
>
> I would not tell the [child of his] prognosis until the condition becomes more advanced. We are not supposed to let him lose hope at this point." (P242)

The intention of the physicians in withholding the prognosis from the child was to allow them to maintain hope for the future. It is believed that being aware of the life-limiting nature of the disease could have a negative impact on the child's adjustment.

Do not hide the facts. Parents of a child with an intractable disease often have trouble disclosing the facts of the disease, which could lead them to hide the nature of the disease from the child. Despite the difficulties in disclosing the facts, a small number of physicians emphasized the need to explain the facts.

> I would suggest honestly talking to the child about the disease and the mother's views of life and death. In so doing, it is not necessary to choose words so that the child can understand, but rather, to be honest. (P34)
>
> The disease is gradually progressing, and the child shows no mental retardation. Since the child wants to know more about the disease, hiding it would jeopardize the relationship between the child and his parents as well as the medical staff. (P53)

Concealing the facts from affected children might give them an unrealistic image of the disease and set them up to have difficulties in accepting the facts of the disease and the natural course of the disease progression. Therefore, physicians thought they should not conceal the facts from the child, even though they did not tell the child "everything."

Family's Autonomy

Confirm the family's intentions. The family's intentions affect the process of disclosure and communication about the condition. Parents might have different ideas about conveying the details of the condition. Physicians affirmed their attitudes and encouraged them to discuss the decision within the family.

Downloaded from jcn.sagepub.com by guest on January 6, 2015

Table 2. Key Themes of the Physicians' Responses

Theme	*n*	Content
Help with communication		
Explanation from the physician	94	The doctor takes on the role of disclosing the information to the affected child or tells the mother that he/she can talk to the child.
Suggests talking to the child because of his growth	81	The physician suggests talking to the affected child since he is growing and wishes to learn more about the disease.
No need for an explanation	21	The physician says to the mother that she should not explain what does not need to be explained at that time.
Do not hide the facts	11	Even though you do not need to tell everything, you should not hide the facts about the disease or lie to the child.
Family's autonomy		
Confirm the family's intentions	57	Have a discussion with the family of the affected child and determine what to do.
Help the parents understand the disease better	25	The physician provides an explanation to the parents to enhance their understanding of Duchenne muscular dystrophy.
Talk about what the mother understands	24	Suggest that the mother should tell the affected child what she knows about the disease.
The family cares about and supports the affected child	11	Tell the child that his family cares about and supports him.
Support for the family		
Support resources and patients' associations	32	Refer the family to patients' associations, family associations, and counseling.
Support for the mother's emotional responses	16	Support the mother as she experiences confusion and emotional responses.
Consideration of the child's concerns		
Talk to the affected child according to his level of understanding	26	Think about the child patient's current age, understanding, and emotional state.
Listen to the child's concerns	23	Talk to the child while asking about his concerns and what he wants to know.

> I would tell the patient's family to discuss and decide whether or not to talk about the disease including the prognosis and whether or not the doctor should be the one to do it. (P70)

> As I would like to explain about the disease and follow-up plans for the child, please set up a counseling (genetic) opportunity, or have a discussion about it between the parents. (P15)

To help parents be more autonomous in explaining the disease to the child, physicians encouraged parents to think about how they would explain the disease and they provided encouragement to them while they made their decision. Physicians also expressed a desire to respect the parents' decision.

Help the parents understand the disease better. Physicians offered to provide information about the disease so the parents could obtain a better understanding of the condition.

> The doctor should talk specifically about the symptoms, general prognosis, and treatments (steroid, respiratory, cardiovascular) so that the parents can first understand the medical condition. (P90)

> Discuss with the mother, check her level of understanding, and answer her questions to enhance her understanding. (P174)

The mother's comprehension has an impact when she talks with the family about the child's condition. Some parents do not completely understand the nature and prognosis of the disease so physicians try to teach them so they are knowledgeable about the disease.

Talk about what the mother understands. Physicians also suggested that the mother should tell the affected child what she knows about the disease when her child has reached a certain age.

> Since the child has reached the age of being able to understand about "living" and "life," I'd like to suggest telling the child the information deemed necessary in a straightforward manner. (P211)

Moreover, some physicians thought the child should be able to understand his disease by that time and suggested the mother try to talk to the child little by little about what she understood.

The family cares for and supports the affected child. Some physicians emphasized that the parents should tell the child that the parents would always provide care and support for the child. When informing the child of the nature of the disease, parents should make sure to let the child know that his family will always be there for him and care about him. When the child is given information about the challenges of the disease, the family should understand the child's response, provide support to him, and anticipate that he will react with shock.

Support for the Family

Support resources and patients' associations. Another recommendation was that mothers be provided information about patients' associations and psychological counseling as support resources for the child and mother.

Downloaded from jcn.sagepub.com by guest on January 6, 2015

> "Please try to provide accurate information about the disease, incorporating its positive aspects and helpful stories of other patients with the same disorder. In addition, how about hearing stories of families who have actually talked to their child patients?" (P40)

> I would suggest that the mother referred to support resources such as patients' associations and genetic counseling, and providing an opportunity for the patient, the patient's mother, and doctor to discuss the disease. (P112)

Parents with considerable experience of having a child with Duchenne muscular dystrophy could perhaps serve as role models for parents with less experience. Physicians related that sharing information among families of different ages could provide support to younger families.

Support the mother's emotional responses. Physicians also focused on the emotional responses of the mother, including worry, anxiety, and confusion.

> Check on the mother's concerns first and learn what she is most worried about. (P138)

> Ask the mother what she understands and how she is feeling. Provide support for the mother and ask her wishes. (P139)

As the disease progresses, parents often repeatedly experience feelings of sorrow, loss, and guilt. Looking at the mother's emotional responses can help the physician encourage her to express her emotional distress, which might lead to her being able to construct a supportive relationship with the physician.

Consideration for the Child's Concerns

Talk to the affected child according to his level of understanding. When telling the child about his condition, physicians and the family should consider his age, understanding, and psychological state.

> It is important to give information to the child gradually, based on his level of understanding. (P79)

> When answering the child's questions, devise ways of explaining the disease according to his comprehension of the words being used and with the use of good judgment. (P151)

Physicians believed the child's cognitive development and psychological state should be considered in deciding how and what to tell.

Listen to the child's concerns. One of the recommendations was to listen to the child's concerns to figure out their needs and ease their anxiety.

> Go on with the discussion slowly after fully understanding the child's knowledge and concerns, and also giving careful consideration to his personality. (P210)

> Start by asking the affected child what he wants to know and is concerned about. Then, discuss that with him, explain whenever possible, and respond to him with affection if there is anything unknown. (P291)

Physicians also stated that supporting resources are needed to assist in providing support for the emotional response of the child. They recommended confirming whether the child is able to get support from family members, schoolteachers, and friends.

Discussion

This study focused on how physicians dealt with and supported mothers of patients with Duchenne muscular dystrophy who asked for advice on explaining the disease to their children. For physicians, tailoring the explanation of the diagnosis and prognosis for the level of comprehension for the child and the family can be a challenging task.[14]

Because of the progressive nature of the disease, there should be a gradual approach to the process of disclosure and the explanation of Duchenne muscular dystrophy. Each time the disease progresses (eg, use of wheelchair, loss of ambulation, or decline of respiratory function), physicians provide the child and the family with relevant information for that level of functional impairment. In case the child has not been informed about the fundamental nature of the disease, sessions where the child knows about severe prognosis can be a difficult moment for parents. In this study, physicians' attitudes towards parents' needs were found to consist of 4 themes. They were not affected by age of the physicians, suggesting that other factors determine the approaches to those kinds of families.

Help With Communication

The first was "help with communication." Having the responsibility to tell their child with Duchenne muscular dystrophy about the disease and its genetic nature could be a burden for mothers. As the child grows, mothers have more opportunities to talk about the child's future and the nature of the child's illness. However, mothers of children with Duchenne muscular dystrophy are often reluctant to talk about the condition.[15] The physician told the mothers that he or she is willing to tell the child about the disease, which might ease the mother's distress and facilitate communication about the disease. Additionally, talking about the growth of the child can work supportively, alleviating her pain and difficulties. These experiences could facilitate open conversation about the difficult condition between the child and family. Parents of children with severe chronic genetic diseases, like Duchenne muscular dystrophy, tend to think that because the children experience the effects of the condition in their everyday life, they know what is going on.[16] Usually, there are difficulties in communicating a genetic condition with an affected child; however, communications between parents and affected children cultivate shared understanding and knowledge. Six fact sheet could a useful tool to

Downloaded from jcn.sagepub.com by guest on January 6, 2015

encourage the autonomy of young patients, managing their care and making decisions about their health interventions.[17] This is particularly important in transition process.

Family's Autonomy

The second theme identified was "family's autonomy." Autonomy in parents and patients is an essential part in advancing the process of sharing information about the disease. Physicians recommended that the mother obtain more information and tell the affected child what she understands. They also emphasized the role of the family in supporting and caring for the affected child. These attitudes support the parents' capacity to manage difficult conditions. In our previous study, pediatric neurologists agreed that parents' understanding and acceptance of the condition were critical for explaining the condition.[12]

In a previous study conducted in the United Kingdom, about a half of the parents of children with Duchenne muscular dystrophy did not tell the diagnosis to the child because of the life-limiting nature of the disease.[18] It can be a very difficult problem when the parents are not prepared to communicate about the disease to the child. Therefore, medical professionals or counselors could help prepare them and provide support while they decide on how to talk with the child. Medical staff are considered to have an important role in facilitating such communication and thus improving family adjustment.[14] However, some children prefer that the parents discuss the condition in a less formal way, and this may reduce anxiety in the children.[19]

Although parents think it is critical that they talk about their child's condition with him, many desire to delay such a talk until the progression of the disease seems more imminent. In other words, there is a tendency for parents to avoid reality to limit their distress.[15,16] The family history of Duchenne muscular dystrophy also affects the process.[20]

Support for the Family

"Support for the family" was the third theme identified. Caring for a child with Duchenne muscular dystrophy is emotionally difficult for parents. As the disease progresses, parents often feel strong emotions, such as feelings of sorrow, loss, guilt, anxiety, depression, and frustration,[1,18,21,22,] whereas parents of patients with muscular dystrophy could have positive consequences from caregiving, despite practical difficulties.[23] Support resources from outside of the family have been found to be important in parents' adjustment and coping with Duchenne muscular dystrophy.[24] As such, physicians should refer the parents to support groups and recommend that they participate with the child. Peer groups can be a vital source of support for families and children[25]; however, parents and affected children can have ambivalent feelings toward support groups.[26] By going to a group and meeting older children and families, they have to confront the progressive nature of the disease; thus, some parents experience strong negative feelings about attending these groups. This is a very difficult problem, as feeling connected to other people is a very important contributor to psychological adjustment.[27]

Consideration for the Child's Concerns

Patients with Duchenne muscular dystrophy experience repeated losses during adolescence as they develop and establish their own self-concepts. The disease influences their psychological adjustment and personality development; therefore, some of them may seek psychological support, whether consciously or unconsciously, during a difficult time. Although parents and physicians sometimes have difficulties in facing the emotional responses of the child when informing him of the disease and its life-limiting nature, communicating about the condition with medical professionals could help patients and their families hope for more out of life.[28]

Limitations

Several limitations should be noted in the present study. Response rate was low in this study. Because all certified child neurologists do not engage in the specialty field of muscular dystrophy, the proportion of responders of our research seemed reasonable. All the responders included in current study had experience of practice in the field of muscular dystrophy. This study was a questionnaire survey, which employed a case vignette to investigate how physicians would deal with and support mothers who ask for advice on explaining the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy to their children affected by it. Generally, the process of supporting families of children with Duchenne muscular dystrophy begins at the child's diagnosis and continues as the disease progresses, with continuous interactions between the physician and family. Further research is needed to investigate the actual roles of physicians and the interactions with the families during the disease progression. Participants of this study were Japanese physicians with experience of practice in the field of muscular dystrophy; therefore, their responses were naturally affected by the conditions of medical care in their specific region and cultural background.[29] Experience of practice in the field of other pediatric and neurologic disorders may also contribute to their approaches. However, several themes were similar to those found in a previous study examining the experience of genetic counselors in another setting and region[30]; thus, it suggested that the important themes of the current study could apply in other countries and cultures. Novel treatments, such as exon skipping therapy, are being developed, and these will lead to more effective interventions for improving muscle strength and functioning in Duchenne muscular dystrophy patients.[31,32] The perception of Duchenne muscular dystrophy could change with the development of efficacious treatment, which may affect the disclosure process between parents and affected children.

Downloaded from jcn.sagepub.com by guest on January 6, 2015

Conclusion

Despite these limitations, to our knowledge, this is the first study that has examined physicians' recommendations to mothers of children with Duchenne muscular dystrophy regarding the disclosure of information about the condition to their child. Although there is no single or best way to deal with the difficulties the parents of children with Duchenne muscular dystrophy face, keeping these key themes in mind could aid physicians in their clinical practice. Further studies are required to establish helpful guidance for physicians on suitable ways to disclose information about the diagnosis and prognosis of Duchenne muscular dystrophy to parents and their children.

Acknowledgments

This study was supported by the Committee of Collaborative Study Support, Japanese Society of Child Neurology (No. 10-03). We thank the board-certified child neurologist of the Japanese Society of Child Neurology for their participation in this research.

Author Contributions

HFujin, TS, TM, HFujim, SShin, and OI designed the study and wrote the protocol. SShib and YI contributed to data collection and interpretation of data. HFujin and OI conducted qualitative analysis. HF wrote the first draft of the manuscript. All authors contributed to and have approved the final manuscript.

Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The authors disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship, and/or publication of this article: This study was supported in part by research grants from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT) KAKENHI [22530738-Grant-in-Aid for Scientific Research (C)]. The funders had no role in the study design, data collection and analyses, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Ethical Approval

This study had ethical approval from the research ethics committee of the National Hospital Organization Toneyama National Hospital.

References

1. Nereo NE, Fee RJ, Hinton VJ. Parental stress in mothers of boys with Duchenne muscular dystrophy. *J Pediatr Psychol*. 2003;28: 473-484.
2. Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol*. 2010;9:77-93.
3. Eagle M, Baudouin SV, Chandler C, et al. Survival in Duchenne muscular dystrophy: improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. *Neuromuscul Disord*. 2002;12:926-929.
4. Ishikawa Y, Miura T, Aoyagi T, et al. Duchenne muscular dystrophy: survival by cardio-respiratory interventions. *Neuromuscul Disord*. 2011;21:47-51.
5. Mizuno T, Komaki H, Sasaki M, et al. Efficacy and tolerance of gastrostomy feeding in Japanese muscular dystrophy patients. *Brain Dev*. 2012;34:756-762.
6. Sato Y, Yamauchi A, Urano M, et al. Corticosteroid therapy for Duchenne muscular dystrophy: improvement of psychomotor function. *Pediatr Neurol*. 2014;50:31-37.
7. Manzur AY, Kuntzer T, Pike M, et al. Glucocorticoid corticosteroids for Duchenne muscular dystrophy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;:CD003725.
8. Moxley RT, 3rd, Ashwal S, Pandya S, et al. Practice parameter: corticosteroid treatment of Duchenne dystrophy: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2005;64:13-20.
9. Fallowfield L, Ford S, Lewis S. No news is not good news: information preferences of patients with cancer. *Psychooncology*. 1995;4:197-202.
10. Murray SA, Kendall M, Boyd K, et al. Archetypal trajectories of social, psychological, and spiritual wellbeing and distress in family care givers of patients with lung cancer: secondary analysis of serial qualitative interviews. *BMJ*. 2010;340:c2581.
11. Patterson JM, Holm KE, Gurney JG. The impact of childhood cancer on the family: a qualitative analysis of strains, resources, and coping behaviors. *Psychooncology*. 2004;13:390-407.
12. Fujino H, Saito T, Imura O, et al. Survey for assessing how Duchenne muscular dystrophy is explained to children with the disorder [in Japanese]. *No To Hattatsu*. 2013;45:11-16.
13. Tong A, Sainsbury P, Craig J. Consolidated criteria for reporting qualitative research (COREQ): a 32-item checklist for interviews and focus groups. *Int J Qual Health Care*. 2007;19:349-357.
14. Poysky J, Kinnett K. Facilitating family adjustment to a diagnosis of Duchenne muscular dystrophy: April 24-25, 2008, Miami, Florida. *Neuromuscul Disord*. 2009;19:733-738.
15. Erby LH, Rushton C, Geller G. "My son is still walking": stages of receptivity to discussions of advance care planning among parents of sons with Duchenne muscular dystrophy. *Semin Pediatr Neurol*. 2006;13:132-140.
16. Metcalfe A, Plumridge G, Coad J, et al. Parents' and children's communication about genetic risk: a qualitative study, learning from families' experiences. *Eur J Hum Genet*. 2011;19:640-646.
17. Schrans DG, Abbott D, Peay HL, et al. Transition in Duchenne muscular dystrophy: an expert meeting report and description of transition needs in an emergent patient population: (Parent Project Muscular Dystrophy Transition Expert Meeting 17-18 June 2011, Amsterdam, the Netherlands). *Neuromuscul Disord*. 2013;23: 283-286.
18. Plumridge G, Metcalfe A, Coad J, et al. Family communication about genetic risk information: particular issues for Duchenne muscular dystrophy. *Am J Med Genet A*. 2010;152A:1225-1232.
19. Metcalfe A, Coad J, Plumridge GM, et al. Family communication between children and their parents about inherited genetic conditions: a meta-synthesis of the research. *Eur J Hum Genet*. 2008; 16:1193-1200.

Downloaded from jcn.sagepub.com by guest on January 6, 2015

20. Daack-Hirsch S, Holtzer C, Cunniff C. Parental perspectives on the diagnostic process for Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Am J Med Genet A*. 2013;161A:687-695.
21. Read J, Kinali M, Muntoni F, et al. Siblings of young people with Duchenne muscular dystrophy—a qualitative study of impact and coping. *Eur J Paediatr Neurol*. 2011;15:21-28.
22. Webb CL. Parents' perspectives on coping with Duchenne muscular dystrophy. *Child Care Health Dev*. 2005;31:385-396.
23. Magliano L, Patalano M, Sagliocchi A, et al. "I have got something positive out of this situation": psychological benefits of caregiving in relatives of young people with muscular dystrophy. *J Neurol*. 2014;261:188-195.
24. Fee RJ, Hinton VJ. Resilience in children diagnosed with a chronic neuromuscular disorder. *J Dev Behav Pediatr*. 2011;32: 644-650.
25. Hodges L, Dibb B. Social comparison within self-help groups: views of parents of children with Duchenne muscular dystrophy. *J Health Psychol*. 2010;15: 483-492.
26. Firth MA. Diagnosis of Duchenne muscular dystrophy: experiences of parents of sufferers. *BMJ*. 1983;286:700-701.
27. Miller JR. Family response to Duchenne muscular dystrophy. *Loss Grief Care*. 1991;4:31-42.
28. Mack JW, Joffe S. Communicating about prognosis: ethical responsibilities of pediatricians and parents. *Pediatrics*. 2014; 133:S24-S30.
29. Parsons SK, Saiki-Craighill S, Mayer DK, et al. Telling children and adolescents about their cancer diagnosis: cross-cultural comparisons between pediatric oncologists in the US and Japan. *Psychooncology*. 2007;16:60-68.
30. Ulph F, Leong J, Glazebrook C, et al. A qualitative study exploring genetic counsellors' experiences of counselling children. *Eur J Hum Genet*. 2010;18: 1090-1094.
31. Cirak S, Arechavala-Gomeza V, Guglieri M, et al. Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment: an open-label, phase 2, dose-escalation study. *Lancet*. 2011;378:595-605.
32. Fairclough RJ, Wood MJ, Davies KE. Therapy for Duchenne muscular dystrophy: renewed optimism from genetic approaches. *Nat Rev Genet*. 2013;14:373-378.

Downloaded from jcn.sagepub.com by guest on January 6, 2015

INTERNAL MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Safety of a Pandemic Influenza Vaccine and the Immune Response in Patients with Duchenne Muscular Dystrophy

Tomoko Saito[1,2], Satoko Ohfuji[1], Tsuyoshi Matsumura[2], Toshio Saito[2], Kazuhiro Maeda[3], Akiko Maeda[1], Wakaba Fukushima[1], Harutoshi Fujimura[2], Saburo Sakoda[2] and Yoshio Hirota[1]

Abstract

Objective To examine the safety of and immune response to the influenza A(H1N1)pdm09 vaccine in patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD).

Methods Forty-four non-ambulatory patients with DMD hospitalized in a muscle disease ward and 41 healthy healthcare workers each received one dose of the influenza A(H1N1)pdm09 vaccine. Serum samples were collected before and four weeks after vaccination to measure the hemagglutinin inhibition antibody titers.

Results No severe adverse events were noted in any of the subjects. The immune responses of the patients were comparable to those of the healthcare workers. Among the patients, tube feeding and a lower total protein level in the serum were identified to be significantly associated with a lower immune response.

Conclusion A single dose of the vaccine was found to be safe and induced an optimal level of immunity in the DMD patients. The nutritional status may be associated with the immune response in patients with DMD.

Key words: Duchenne muscular dystrophy, influenza vaccine, safety, immune response

(Intern Med 54: 1199-1205, 2015)
(DOI: 10.2169/internalmedicine.54.1186)

Introduction

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is an inherited myogenic disorder characterized by progressive skeletal muscle involvement in which weakness of the respiratory muscles, distortion of the thorax and inability to perform postural changes result in the retention of secretions and chronic microatelectasis. In association with pulmonary dysfunction, respiratory infections, including influenza, can cause severe complications that further weaken the respiratory function, necessitating admission to an intensive care unit and potentially causing death (1, 2). Therefore, preventing respiratory infections is a matter of clinical importance. Although recent guidelines for the treatment of DMD recommend annual influenza vaccination (3, 4), there are currently no reports regarding the immune response in patients treated with these vaccines. Another concern is whether disease-related conditions, such as the patient's physical condition and nutritional status, are associated with the antibody response in cases of DMD.

In the present study, we investigated whether influenza vaccination is safe and immunogenic in patients with DMD as compared to that observed in healthy healthcare workers and identified the factors affecting the immune response in DMD patients.

Materials and Methods

Subjects

We invited 46 inpatients with DMD treated at National Hospital Organization Toneyama National Hospital from October 21 to 30, 2009, of whom 44 agreed to participate. All

[1]Department of Public Health, Osaka City University Graduate School of Medicine, Japan, [2]Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital, Japan and [3]Kanonji Institute, Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University, Japan
Received for publication June 17, 2013; Accepted for publication October 5, 2014
Correspondence to Dr. Tomoko Saito, tosaito@toneyama.go.jp

subjects were non-ambulatory, including 33 (75%) patients from the long-term care unit and 11 (25%) short-term inpatients. During the same period, 41 healthcare workers employed by the same hospital were also recruited to participate in the study as a control group. None of the subjects met the exclusion criteria, including prior episodes of influenza A(H1N1)pdm09 infection, acute febrile illnesses at the time of vaccination, history of anaphylaxis resulting from the vaccine components or other conditions making it inappropriate to undergo vaccination. Written informed consent was obtained from each participant or their guardian if younger than 20 years of age at the time of recruitment. The study protocol was reviewed and approved by the ethics committees of Osaka City University Graduate School of Medicine and Toneyama National Hospital.

Data collection

Prior to vaccination, all participants completed a self-administered questionnaire regarding sex, date of birth, height, weight and comorbid diseases. In addition, clinical information was extracted from the patients' medical records, including medications, ejection fraction of the left ventricle (EF) within the last six months, activities of daily living (ADLs), use of mechanical ventilation and levels of total protein, albumin, hemoglobin and hematocrit on routine laboratory tests.

Vaccine

A monovalent, unadjuvanted, inactivated, split influenza A (H1N1)pdm09 vaccine (Lot. HP01A; BIKEN) was used. All participants received a subcutaneous injection of the vaccine at a dose of 0.5 mL containing 15 μg of hemagglutinin antigens and 0.0008% thimerosal.

Assessment of adverse reactions

All vaccinated subjects recorded solicited local and systemic reactions occurring within 48 hours after vaccination using a self-administered questionnaire. For patients who were unable to independently fill in the questionnaire, nurses completed the form based on a direct interview and observation. Local reactions included redness, swelling, induration, itching and pain at the injection site. Systemic reactions included fever (axillary temperature ≥37.5℃), malaise, myalgia, headache and rashes.

Measurement of the antibody titer

Blood samples were collected 0-2 days before and 28-30 days after vaccination. The serum was stored at -20℃ until all samples were assayed at the same time in July 2010. The titer of serum antibodies to hemagglutinin was measured using the standard microtiter HAI method (5). All samples were tested at the laboratory of the Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University.

Statistical analysis

For comparisons of the baseline variables, adverse reactions and antibody responses between the subject groups (patients vs. healthcare workers), the Wilcoxon rank-sum test was used for continuous variables and the chi-square test, Fisher's exact test and Mantel-extension method were used for categorical variables.

Categorical variables included the pre-vaccination titer (<1:10, 1:10-1:20, and ≥1:40), ADLs (wheelchair use or bedridden status) and mechanical ventilation (none, noninvasive positive-pressure ventilation (NPPV) or tracheal positive-pressure ventilation (TPPV)). The immunogenicity endpoints were determined based on conventional international criteria, as follows: geometric mean titer (GMT), fold rise, seroprotection proportion (post-vaccination titer ≥1:40) and seroresponse proportion (fold rise ≥4) (6, 7). A titer of <1:10 was defined as 1:5 for the calculations. Reciprocal antibody titers were analyzed after logarithmic transformation. The results are presented in the original scale by calculating the antilogarithm.

We evaluated the independent effects of several factors on immunogenicity solely in the patient group, then calculated the odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) using logistic regression models. Since only 44 patients were enrolled, care was taken to select explanatory variables for the multivariate models. In the first multivariate model (model 1), we controlled for age and pre-vaccination titer, which have been inconsistently reported to be related to immunogenicity from influenza vaccinations (8-10). In order to obtain meaningful calculation results, we combined the pre-vaccination subcategory titers 1:10-1:20 and ≥1:40 into one category of ≥1:10. In model 2, in order to identify additional potential confounders, we used a stepwise regression model (significance level for entry into the model =0.15), which resulted in the feeding method being included.

Two-sided p values less than 0.05 were considered to be statistically significant. All analyses were performed using the SAS software package, version 9.1 (SAS Institute, Inc., Cary, USA).

Results

Study subjects

Table 1 summarizes the baseline characteristics of the subjects. Most of the patients were in an advanced stage, with a high age, low cardiopulmonary function and low level of ADLs. None of the patients were currently receiving oral steroid therapy, although this therapy is now the standard treatment worldwide for young patients with DMD (11).

Vaccine safety

Solicited adverse reactions to the vaccine among the patients and healthcare workers are shown in Table 2. Both local and systemic reactions were less frequent in the patients. All symptoms were mild, and none of the affected subjects required medical treatment.

Table 1. Baseline Characteristics of the Study Subjects (n=85).

Characteristics	Total (n=85)	Patients (n=44)	Healthcare workers (n=41)	p value*
(Comparison between patients and healthcare workers)				
Sex: male, *n* (%)	62 (73)	44 (100)	18 (44)	0.001
Age (years)				
mean (SD)	35.8 (11.1)	30.9 (8.6)	41.2 (11.1)	<0.001
median (range)	33.0 (17-62)	31.3 (17-47)	43.0 (23-62)	
Body mass index (kg/m^2)				
mean (SD)	17.4 (4.5)	13.7 (2.4)	21.4 (2.4)	<0.001
median (range)	17.6 (10.2-30.5)	13.3 (10.2-19.5)	21.2 (17.1-21.2)	
Prevaccination titer				
<1:10, *n* (%)	57 (67)	31 (70)	26 (63)	0.857
1:10-1:20, *n* (%)	24 (28)	11 (25)	13 (32)	
≥1:40, *n* (%)	4 (5)	2 (5)	2 (5)	
Underling disease				
diabetes mellitus, *n* (%)	1 (1)	1 (2)	0 0	1.000
atopic dermatitis, *n* (%)	4 (5)	3 (7)	1 (2)	0.617
(Specific factors in patients)				
EF (%), *mean (SD)*		36.7 (15.3)		
Activity of daily living				
wheelchair user, *n* (%)		17 (39)		
bedridden, *n* (%)		27 (61)		
Respiratory status				
none, *n* (%)		2 (5)		
NPPV, *n* (%)		16 (36)		
TPPV, *n* (%)		26 (59)		
Feeding method				
tube feeding (-), *n* (%)		20 (45)		
tube feeding (+) **, *n* (%)		24 (55)		
Albumin (g/dl), *mean (SD)*		3.9 (0.5)		
Total Protein (g/dl), *mean (SD)*		7.1 (0.5)		
Hemoglobin (g/dl), *mean (SD)*		12.8 (1.5)		
Hematocrit (%), *mean (SD)*		38.1 (4.5)		

EF: ejection fraction of the left ventricle, NPPV: non-invasive positive pressure ventilation, TPPV: Tracheal positive pressure ventilation

* Wilcoxon rank sum test, χ^2 test, Fisher's exact test or Mantel extension method for trend tests

** Tube feeding (+): gastrostomy feeding (n=5), nasal or oral tube feeding (n=19)

Table 2. Local and Systemic Reactions to the Vaccine.

Symptom	Patients (n=44) n (%)	Healthcare workers (n=41) n (%)	p value*
Local reactions			
Total	14 (32)	21 (51)	0.071
Redness	12 (27)	17 (41)	0.170
Swelling	4 (9)	8 (20)	0.171
Induration	0 (0)	7 (17)	0.005
Itching	0 (0)	8 (20)	0.002
Pain	2 (5)	13 (32)	0.001
Systemic reactions			
Total	3 (7)	12 (29)	0.007
Fever (>37.5°C)	2 (5)	4 (10)	0.423
Malaise	0 (0)	8 (20)	0.002
Myalgia	0 (0)	2 (5)	0.230
Headache	0 (0)	2 (5)	0.230
Rash	1 (2)	0 (0)	1.000

* χ^2 test or Fisher's exact test

Immune response

The results for the antibody response in relation to the background factors are shown in Table 3. The only identified significant factor was the pre-vaccination titer, as a higher pre-titer value was associated with a greater post-vaccination GMT, lower seroresponse proportion and higher seroprotection proportion. There were no significant differences in any of the endpoints of immunogenicity between the subject groups. In the logistic regression analysis, the OR after adjustment for age and pre-vaccination titer in the patients as compared to the healthcare workers was 1.71 (95%CI: 0.50-5.87) for the seroresponse proportion and 0.88 (0.29-2.63) for the seroprotection proportion, neither of which were statistically significant.

Figure shows the pre- and post-vaccination GMTs in the patients based on several predictors. In a comparison of the fold rise between each factor, we found that the oral-fed patients exhibited better fold rise values than the tube-fed patients (16 vs. 7, p=0.047). We also examined the effects of disease-related factors on the seroresponse and seroprotection proportions, with the results shown in Tables 4 and 5. An older age was suggested to have a relationship with a greater seroresponse in model 2. Furthermore, the tube-fed patients demonstrated a decreased OR for the seroresponse proportion compared to the oral-fed patients, and a higher total protein level was found to be significantly associated with a higher seroprotection proportion. Variables of the functional status, such as EF, ADLs and the respiratory condition, were not related to the immune response.

Table 3. Immunogenicity to the Vaccine Based on the Background Factors (n=85).

		GMT		Fold rise	Seroresponse	Seroprotection
	N	S0	S1		n (%)	n (%)
Entire sample	85	7	72	9.7	68 (80)	61 (72)
Sex						
Male	62	8	79	10.5	51 (82)	45 (73)
Female	23	7	56	8.0	17 (74)	16 (70)
p value		0.488	0.274	0.428	0.381	0.785
Age (years)						
<34.5	42	8	74	9.6	34 (81)	31 (74)
≥34.5	43	7	70	9.9	34 (79)	30 (70)
p value		0.589	0.686	0.993	0.829	0.681
Body mass index (kg/m^2)						
<18.5	45	7	70	9.6	37 (82)	31 (69)
≥18.5	40	8	75	9.8	31 (78)	30 (75)
p value		0.494	0.947	1.000	0.589	0.535
Pre-vaccination titer						
<1:10	57	5	51	10.2	46 (81)	35 (61)
1:10-1:20	24	12	127	10.4	21 (88)	22 (92)
≥1:40	4	95	320	3.4	1 (25)	4 (100)
p value		<0.001	0.002	0.222	0.035	0.010
Subject group						
Patients	44	7	75	10.5	37 (84)	31 (70)
Healthcare workers	41	8	69	9.0	31 (76)	30 (73)
p value		0.508	0.631	0.571	0.332	0.782

GMT: geometric mean titer, S0: pre-vaccination, S1: post-vaccination, Fold rise: S1/S0, Seroresponse: S1/S0 ≥4, Seroprotection:S1 ≥1:40

p value: The Wilcoxon rank-sum test or Kruskal-Wallis rank test were used to compare the GMT and fold rise, while the χ^2 test, Fisher's exact test or Mantel extension method were used to compare the seroprotection and seroresponse proportions.

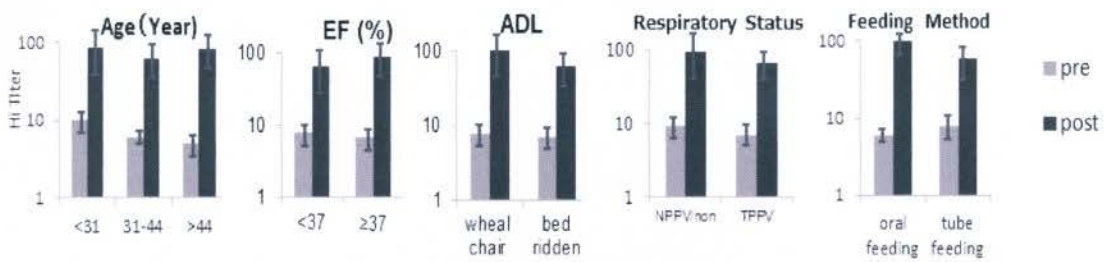


Figure. Pre- and post-vaccination HAI titers in the patients (n=44) based on age and disease-related factors. EF: ejection fraction, ADL: activities of daily living, NPPV: non-invasive intermittent positive pressure ventilation, TPPV: tracheal positive pressure ventilation. Age is presented according to tertile. The EF is presented according to the median. *In a comparison using the Wilcoxon rank-sum test or Kruskal-Wallis rank test, the p values for post-vaccination GMT were not significant, while the p value for the fold rise (post-/pre-vaccination GMT) in the feeding method was 0.047.

Discussion

No harmful adverse effects from vaccination were observed in any of the participants, while the patients with DMD experienced less frequent local and systemic reactions. Information bias derived from the self-administered questionnaire protocol may have been present, as the healthcare workers may have been more sensitive to subtle changes after vaccination. However, the patients showed lower risks for each objective reaction observed by the nurses, including redness, swelling and induration, and the lower frequency of induration was significant. There are likely several modifiers of inflammatory mediators, including sun exposure (12) and immobility, in patients with DMD that may decrease stimulation, although the pathophysiology of skin reactions remains unclear. Nevertheless, the present results are encouraging for both patients and clinicians concerned about risks associated with influenza vaccination.

The immune responses to the influenza vaccine were comparable between the patients with DMD and the health-

Table 4. Associations between Selected Characteristics and the Seroresponse Proportion in the Patients (n=44).

Category	Crude OR (95%CI)	Multivariate model 1* OR (95%CI)	Multivariate model 2* OR (95%CI)
Age			
1 year increased	1.10 (0.98-1.22)	1.14 (0.99-1.22)‡	1.23 (1.02-1.48)†
BMI			
1 kg/m^2 increased	1.38 (0.86-1.17)	1.38 (0.85-2.24)	1.29 (0.79-2.12)
Pre-vaccination titer			
≥1:10/<1:10	1.06 (0.18-6.30)	3.14 (0.36-27.12)	4.59 (0.37-56.70)
EF			
1% increased	1.00 (0.95-1.05)	1.02 (0.96-1.08)	1.02 (0.95-1.10)
Activities of daily living			
bedridden/wheelchair user	2.46 (0.48-12.72)	2.02 (029-13.82)	5.21 (0.53-51.58)
Respiratory status			
TPPV/NPPV or none	2.19 (0.43-11.2)	1.11 (0.14-9.07)	6.81 (0.51-92.28)
Feeding method			
tube feeding (+/-)	0.16 (0.02-1.44)	0.06 (0.01-0.83)†	(identical in model 1)
Albumin			
0.1 g/dL increased	1.00 (0.85-1.18)	1.03 (0.84-1.25)	0.92 (0.73-1.15)
Globulin**			
0.1 g/dL increased	1.10 (0.95-1.28)	1.08 (0.90-1.28)	1.24 (0.99-1.54)
Total protein			
0.1 g/dL increased	1.14 (0.96-1.37)	1.13 (0.93-1.38)	1.18 (0.95-1.49)
Hemoglobin			
0.1 g/dL increased	1.02 (0.97-1.08)	1.08 (0.90-1.28)	1.01 (0.95-1.07)
Hematocrit			
1% increased	1.08 (0.90-1.29)	1.09 (0.90-1.31)	1.01 (0.82-1.25)

Logistic regression model CI: confidence interval, OR: odds ratio, EF: ejection fraction of left ventricle, NPPV: non-invasive positive pressure ventilation, TPPV: tracheal positive pressure ventilation, †$p<0.05$, ‡ $p<0.10$

*model 1: adjusted for age and pre-vaccination titer

*model 2: adjusted for all variables in model 1 plus feeding method

** globulin=total protein - albumin

care workers in the present study. The primary factor significantly associated with immunogenicity was the pre-vaccination titer, as a higher pre-vaccination titer was found to be significantly associated with a higher post-vaccination titer, lower seroresponse and higher seroprotection proportion. The inverse association with the seroresponse reflects an effect of "the law of initial values" or "negative feedback" (8, 9). It is important to take the pre-vaccination titer into account when evaluating the immune response to pandemic vaccines. As such studies are often performed during pandemic waves and asymptomatic infections in the study population are inevitable, it is difficult to predict how the immune status prior to vaccination has been modified. We believe that our multivariate analysis including the pre-vaccination titer was adequate to appropriately examine the immune response in this study.

We also found that an increased age was associated with an increased seroresponse in the patient population. Previous studies have reported decreased immune responses in elderly individuals 65 years of age or older (10, 13). However, the mean age of our patients was 30.9 years, with the oldest patient being 47; thus, we cannot simply compare our results to those of other studies. The oldest group in the present study had the lowest pre-GMT and highest post-GMT values (Figure). On the other hand, the EF, ADLs and respiratory status were not significantly associated with the immune response, which indicates that the disease stage or severity is not associated with immunity. Although several specific factors are assumed to be related to long-term survival in DMD patients (14), a superior antibody response in older patients has not been previously reported. Further cell biological and epidemiological investigations of the immune status of long-term survivors with DMD will provide new insight.

The significant OR values for tube feeding and total protein in the present study indicate that the nutritional status is an independent predictor of the antibody response in patients with DMD. Our results are consistent with those of previous studies showing that the nutritional status is associated with immunogenicity in elderly persons (15-17). These findings may help to increase awareness regarding the higher burden of infection in tube-fed patients with DMD.

This study is associated with several limitations. The investigation was conducted in a single hospital and the number of subjects was small; therefore, the study power was limited. In addition, most of the patients were in an advanced stage of disease, which may limit the generalizability

Table 5. Associations between Selected Characteristics and the Seroprotection Proportion in the Patients (n=44).

Category	Crude OR (95%CI)	Multivariate model 1* OR (95%CI)	Multivariate model 2* OR (95%CI)
Age			
1 year increased	0.98 (0.91-1.06)	1.05 (0.95-1.15)	1.05 (0.94-1.16)
BMI			
1 kg/m^2 increased	1.03 (0.78-1.36)	0.84 (0.59-1.21)	0.87 (0.60-1.26)
Pre-vaccination titer			
≥1:10/<1:10	NA	NA	NA
EF			
1% increased	1.01 (0.97-1.06)	1.03 (0.97-1.10)	1.03 (0.97-1.10)
Activities of daily living			
bedridden/wheelchair user	0.62 (0.16-2.44)	1.12 (0.23-5.53)	1.33 (0.25-7.10)
Respiratory status			
TPPV/NPPV or none	0.87 (0.23-3.26)	2.73 (0.39-18.92)	5.45 (0.51-58.35)
Feeding method			
tube feeding (+/-)	0.42 (0.11-1.64)	0.35 (0.08-1.62)	(identical in model 1)
Albumin			
0.1 g/dL increased	1.17 (1.00-1.36)†	1.14 (0.95-1.37)‡	1.11 (0.92-1.34)
Globulin**			
0.1 g/dL increased	1.03 (0.93-1.15)	1.07 (0.93-1.24)	1.13 (0.95-1.33)
Total protein			
0.1 g/dL increased	1.24 (1.04-1.47)†	1.28 (1.03-1.60)†	1.45 (1.04-2.01)†
Hemoglobin			
0.1 g/dL increased	1.05 (1.00-1.10)‡	1.05 (0.99-1.10)	1.04 (0.98-1.10)
Hematocrit			
1% increased	1.17 (1.00-1.37)‡	1.16 (0.97-1.40)	1.14 (0.94-1.38)

Logistic regression model CI: confidence interval, OR: odds ratio, EF: ejection fraction of left ventricle, NPPV: non-invasive positive pressure ventilation, TPPV: tracheal positive pressure ventilation, NA: not applicable,
†$p<0.05$, ‡ $p<0.10$
*model 1: adjusted for age and pre-vaccination titer
*model 2: adjusted for all variables in model 1 plus feeding method
** globulin=total protein - albumin

of our findings. Furthermore, since none of the study patients were given oral corticosteroids, we were unable to evaluate the influence of immunosuppressive therapy on the efficacy of vaccination. Additional studies with larger cohorts including young patients and long-term survivors are thus needed to thoroughly investigate immunogenicity to influenza vaccination in cases of DMD.

In conclusion, we found that the influenza A(H1N1)pdm 09 vaccine safely induced a good immune response in patients with DMD. Influenza infection is sometimes lethal in DMD patients. The present results provide useful information for preventing influenza infection in patients with DMD.

The authors state that they have no Conflict of Interest (COI).

Acknowledgement

We are grateful to the patients and staff at Toneyama National Hospital for their understanding and cooperation while participating in this study.

This study was supported by a grant for Research on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases as a part of Health and Labor Sciences Research Grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

References

1. Bach JR, Ishikawa Y, Kim H. Prevention of pulmonary morbidity for patients with Duchenne muscular dystrophy. Chest **112**: 1024-1028, 1997.
2. Finder JD, Birnkrant D, Carl J, et al. Respiratory care of the patient with Duchenne muscular dystrophy: ATS consensus statement. Am J Respir Crit Care Med **170**: 456-465, 2004.
3. Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, et al; DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. Lancet Neurol **9**: 177-189, 2010.
4. Practical guideline for Duchenne muscular dystrophy Working Group. Practical guideline for Duchenne muscular dystrophy 2014. Nankodo, Tokyo, 2014: 81-82 (in Japanese).
5. World Health Organization. WHO manual on animal influenza diagnosis and surveillance [Internet]. [cited 2013 June 17]. Available from: http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/who_cds_csr_ncs_2002.5.pdf
6. Committee for Proprietary Medical Products. Note for guidance on harmonization of requirements for influenza vaccines. [Internet]. [cited 2013 June 17]. Available from: http://www.ema.europa.

eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003945.pdf

7. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices- United States, 2013-2014: MMWR 62(RR-07): 1-43, 2013.
8. Hobson D, Baker FA, Curry RL. Effect of influenza vaccines in stimulating antibody in volunteers with prior immunity. Lancet **2**: 155-156, 1973.
9. Hirota Y, Kaji M, Ide S, Goto S, Oka T. The hemagglutination inhibition antibody responses to an inactivated influenza vaccine among healthy adults: with special reference to the prevaccination antibody and its interaction with age. Vaccine **14**: 1597-1602, 1996.
10. Beyer WE, Palache AM, Baljet M, Masurel N. Antibody induction by influenza vaccines in the elderly: a review of the literature. Vaccine **7**: 385-394, 1989.
11. Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, et al; DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. Lancet Neurol **9**: 77-93, 2010.
12. Henri P, Lambert A, Philippe E. Laurent Intradermal vaccine delivery: Will new delivery systems transform vaccine administration? Vaccine **26**: 3197-3208, 2008.
13. Zhu FC, Wang H, Fang HH, et al. A novel influenza A (H1N1) vaccine in various age groups. N Engl J Med **361**: 2414-2423, 2009.
14. Ishizaki M, Ueyama H, Masida T, Nishida Y, Imamura S, Ando Y. Two cases of Duchenne muscular dystrophy over 40 years after onset. Rinshou Shinkeigaku (Clin Neurol) **53**: 293-298, 2013 (in Japanese, Abstract in English).
15. Hara M, Tanaka K, Hirota Y. Immune response to influenza vaccine in healthy adults and the elderly: association with nutritional status. Vaccine **23**: 1457-1463, 2005.
16. Hui SL, Chu LW, Peiris JS, Chan KH, Chu D, Tsui W. Immune response to influenza vaccination in community-dwelling Chinese elderly persons. Vaccine **24**: 5371-5380, 2006.
17. Fülöp T Jr, Wagner JR, Khalil A, Weber J, Trottier L, Payette H. Relationship between the response to influenza vaccination and the nutritional status in institutionalized elderly subjects. J Gerontol A Biol Sci Med Sci **54A**: M59-M64, 1999.

© 2015 The Japanese Society of Internal Medicine
http://www.naika.or.jp/imonline/index.html

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		大阪大学大学院医学研究科神経内科学
研究開発担当者	所属 役職	講師
	氏名	高橋正紀
実施期間		平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 28 年 3 月 31 日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学

研究開発分担者　役職　氏名：講師　高橋正紀

分担研究開発課題名（実施内容）：患者登録、アウトリーチ活動

①研究開発成果の内容

Web システムを用いた登録システムにより、システム運用、事務局、curation を分担し事務負担の少ない患者登録の運用法をほぼ確立しつつある。大阪大学は患者登録の事務局を担当、ホームページや Remudy 通信、市民公開講座等アウトリーチ活動により患者登録の推進を図ると共に、登録データの分析を行い発信した

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

2014 年 10 月から登録を開始し 1 年余が経過したが、400 名以上の患者登録が行われた。患者登録データを用いて本症の疫学的研究、遺伝学的現況、医療の状況の解析を行い学会で報告した。

Web システム稼働の準備が整い、2016 年 3 月現在既存データの移行作業中である。データ移行終了次第、Web システムを正式稼動し、全国の担当者により curation 作業を分担するシステム運用を確立する。情報発信として、Remudy 通信の登録患者への定期的郵送、市民公開講座などの案内の通知を行うとともに、臨床研究（当班の糖代謝グループの研究）の情報提供を行った。患者登録の重要性や開発の現況について周知するべく、当班のアウトリーチ活動に参加した。

マイルストーンの達成状況は、ほぼ予定通りといえる。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
The Japanese registry for myotonic dystrophy – collaboration between national center, national hospital network and academic institute. (ポスター)	Takahashi MP, Matsumura T, Nakamori M, Takada H, Kuru S, Ogata K, Ishigaki K, Komaki H, Kawai M, Takeda S, Kimura E.	10th International Myotonic Dystrophy Consortium Meeting	2015 年 6 月	国外
本邦における筋強直性ジストロフィー1 型の遺伝学的現況― 患者登録データの解析（口頭）	高橋正紀、中森雅之、石垣景子、望月秀樹、武田伸一、松村　剛、木村円	日本人類遺伝学会　第 60 回大会	2015 年 10 月	国内
筋強直性ジストロフィー患者登録の現状－登録開始 1 年を迎えて（口頭）	高橋正紀　高田博仁, 尾方克久, 中森雅之, 久留　聡, 松村　剛, 木村円	第 2 回　日本筋ジストロフィー医療研究会	2015 年 10 月	国内
筋強直性ジストロフィーの医療の現況について―患者登録データによる解析―（口頭）	高橋正紀、久留　聡、木村　隆、小森哲夫、小林道雄、木村　円、松村剛	第 33 回日本神経治療学会総会	2015 年 11 月	国内

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
病気のメカニズムと治療開発の現状	高橋正紀	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@新潟」	2015 年 5 月	国内
病気のメカニズムと治療開発の現状	高橋正紀	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@東京」	2015 年 7 月	国内

薬の開発研究の現状と治験の仕組み	高橋正紀	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@福岡」	2016 年 1 月	国内
薬の開発研究の下乗と治験の仕組み	高橋正紀	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@高知」	2016 年 3 月	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。
http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）
報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

筋ジストロフィーレジストレーションシステム運営委員会　委員

Ⅳ．実施体制
研究開発参加者リストの通り

The Japanese registry for myotonic dystrophy
–collaboration between national center, national hospital network and academic institute.

Takahashi MP[1] Matsumura T[2], Nakamori M[1],Takada H[3], Kuru S[4], Ogata K[5], Ishigaki K[6], Komaki H[7], Kawai M[5], Takeda S[8], Kimura E[9]

1. Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine
2. Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital
3. Department of Neurology, National Hospital Organization Aomori National Hospital
4. Department of Neurology, National Hospital Organization Suzuka National Hospital
5. Department of Neurology, National Hospital Organization Higashisaitama National Hospital
6. Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University
7. Department of Pediatric Neurology, National Center for Neurology and Psychiatry
8. Translational Medical Center, National Center for Neurology and Psychiatry

Abstract

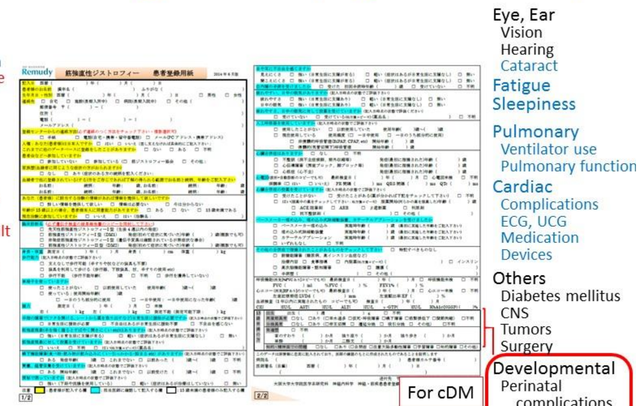
Patient registries provide epidemiological data and facilitate the recruitment of patients eligible for clinical trials. In Japan, patient registries of muscular diseases, including dystrophinopathy and GNE myopathy, have been organized and operated by the National Center for Neurology and Psychiatry (NCNP) (Remudy, www.remudy.jp) and are internationally harmonized with the TREAT-NMD global registry.

The development of a national registry for myotonic dystrophy (DM) was initiated in 2012, and after successive meetings, a framework of the registry was proposed. The Japanese DM registry is funded by a national collaboration between the NCNP, Osaka University, and hospitals of the National Hospital Organization (NHO) specialized in neuromuscular diseases for facilitating clinical research and reducing the administrative work of a centralized office. The collected data are in accordance with the core dataset of the international DM registry proposed at the TREAT-NMD/Marigold International Workshop. Although this is a patient-reported registry, genetic diagnosis is a prerequisite for registration, and clinical information should be verified by physicians.

The registry was launched in October 2014, and it has drawn nationwide attention. Within 4 months, more than 100 patients registered, and this number is steadily increasing. All the registrants were DM1 and 14 % were congenital DM. Mean age was 41 years. Half the patients were ambulant, a quarter required assistance, and a quarter were non-ambulant.

A registry that collects and renews accurate clinical data nationwide is a powerful tool to accelerate development of new drug and clinical research for standards of care and outcome measure. Further, it can help the communication between researchers and patients by providing information about clinical trials, research and health care. It will also provide crucial data for the policy decision for this rare condition.

Dataset for registration (Registration Form)



Data are in accordance with the core dataset of the international DM registry proposed at the TREAT-NMD/Marigold Naarden International Workshop (2009).
Red: mandatory items, Blue: highly encouraged items, Black: Optional

Purpose of DM registry

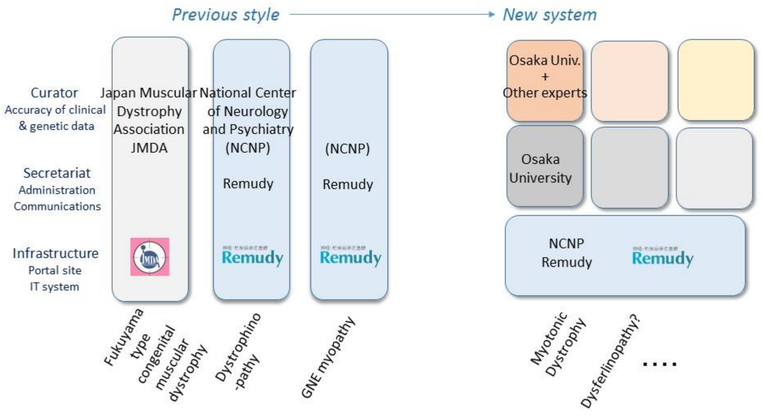
Encourage triple "C"

Clinical Trials
Feasibility investigation
Enrollment
Development of new drugs etc.

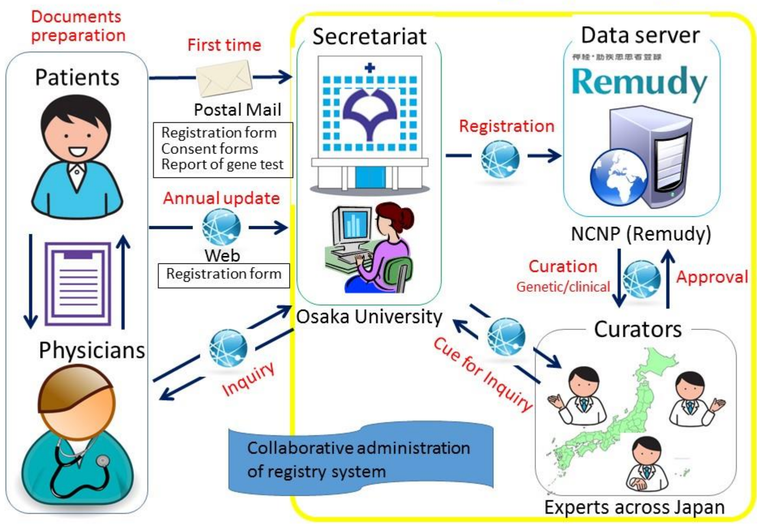
Clinical Research
Natural history
Complications
Outcome measures etc.

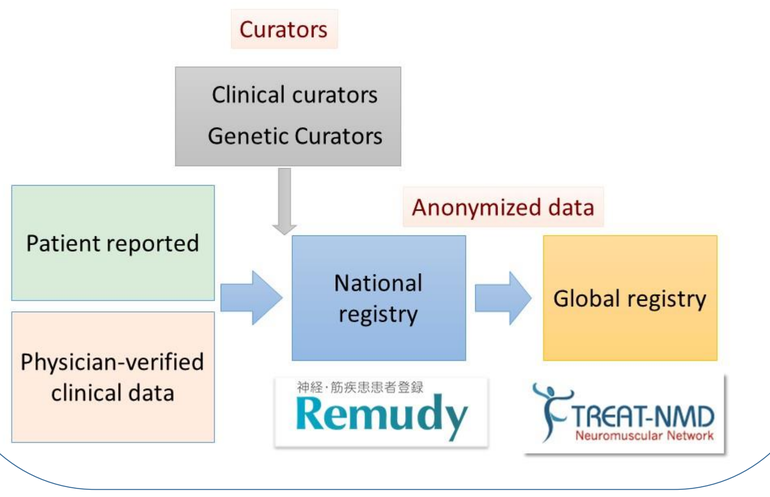
Communication
patients, clinicians, researchers
Better understanding
Better medical consultation
Peer/Social support etc.

Patient registries of neuromuscular disorders in Japan



Schematic illustration of DM registry of Japan





Announcement of DM registry

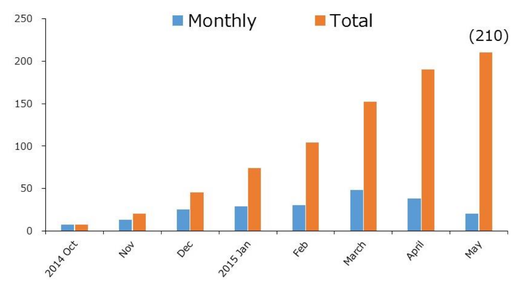
Website

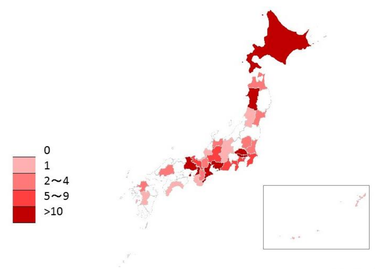
http://www.remudy.jp/myotonic/index.html

Registration open from Oct. 2, 2014

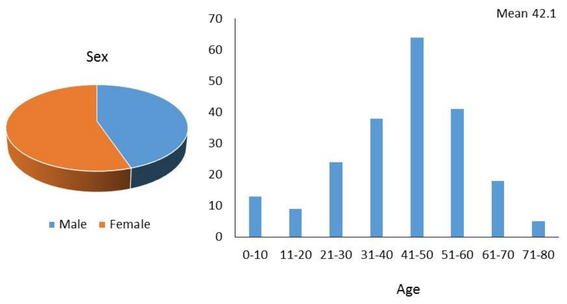
Leaflet

State of registration as of May 2015

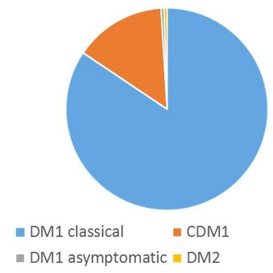




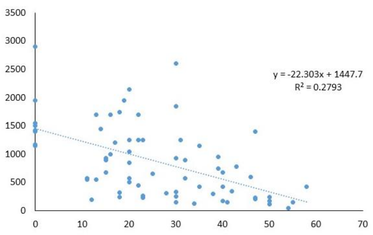
Sex and Age

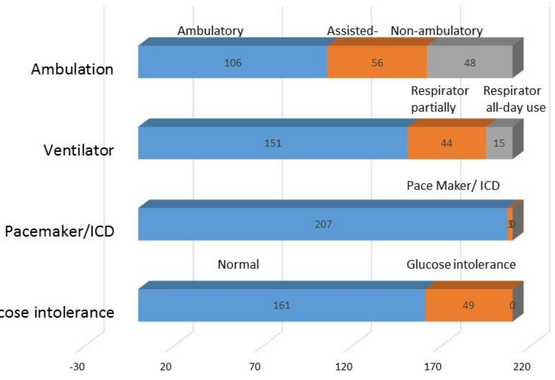


Diagnosis

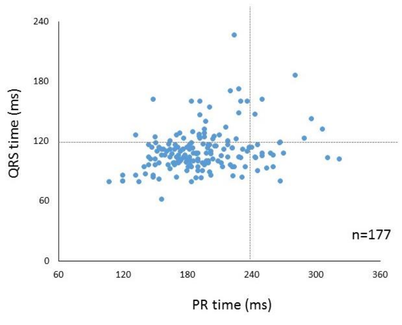


CTG repeat length and onset of the disease in DM1 patients





PR and QRS time on ECG



Communication with patients and registrants

Newsletters postal-mailed quarterly to registrants and physicians

HP of clinical research group supported by a grant from Japanese Government
http://www.dmctg.jp/

2014 May: Tokyo
2014 Oct: Osaka
2015 Jan: Osaka
2015 Feb: Okinawa
2015 May: Niigata
2015 Jul: Hiroshima
2015 Oct: Sapporo
:

Seminar-Local gathering

Collaboration with patient advocacy groups

Conclusion

Japanese DM patient registry was developed under collaboration with National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), Osaka University and clinical experts across Japan

Introduction of web system and collaboration are expected to reduce the administrative burden of a centralized office

- Although primary aim of patient registry is to accelerate clinical trials, it can also facilitate epidemiological and clinical research. In addition, it can help communication among patients, clinicians and researchers by providing information about clinical trials, research and health care
- It will also provide crucial data for the policy decision for this rare disease
- The DM national registry system may serve as a model rare disease registry.

Acknowledgement

This work was partly supported by Research Grants for Research on Intractable Diseases (H26-nanchisei-91) and Research Grants for Comprehensive Research on Disability Health and Welfare (H26-sinkei-kin-ippan-004) from the Ministry of Health, Labour and Welfare. We thank Dr. Guillaume Bassez for helpful comments and discussions.

日本人類遺伝学会　第60回大会

利益相反状態の開示

筆頭演者氏名：高橋正紀
所属：大阪大学

開示すべき利益相反状態はありません。

神経・筋疾患患者登録
Remudy

2015年10月15日
日本人類遺伝学会　第60回大会

本邦における筋強直性ジストロフィー1型の遺伝学的現況

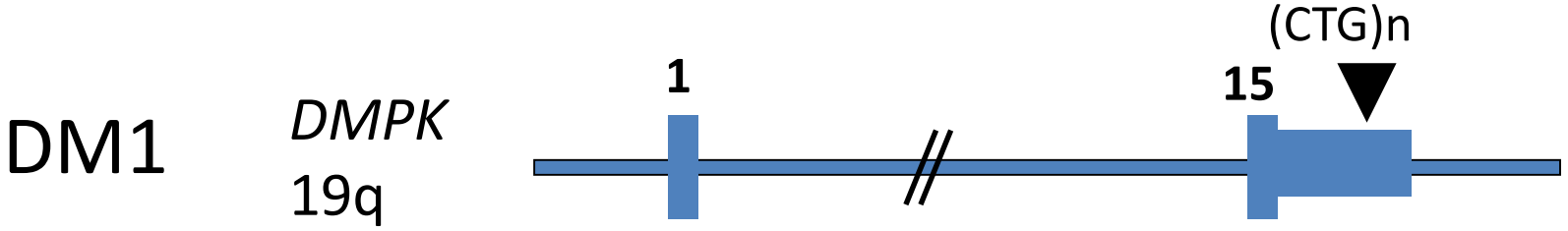
―患者登録データの解析―

高橋正紀[1]　中森雅之[1]　石垣景子[2]　望月秀樹[1]
武田伸一[3]　松村　剛[4]　木村　円[5]

1. 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学
2. 東京女子医科大学小児科
3. 国立精神・神経医療研究センター神経研究所
4. 国立病院機構刀根山病院神経内科
5. 国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナルメディカルセンター

筋強直性ジストロフィー

- 成人で最も頻度の高い遺伝性筋疾患　頻度1/8,000−20,000
- 常染色体優性遺伝
  - 表現促進現象　リピート不安定性　先天型



- 特徴的な臨床症状
  - 筋強直現象、特異な罹患筋分布
  - 全身疾患　多彩な合併症
- RNA病としての病態機序解明の進歩
  - 2014年12月　核酸医薬の治験　phase I/II　米国

郵送の窓口は大阪大学神経内科です!

http://www.remudy.jp/myotonic/index.html

DM1 registry: Naarden harmonised dataset

- Personal data of patient (name, date of birth, contact details) **Mandatory**
- Genetic diagnosis (DM1)
- Motor function: ambulation/wheelchair use

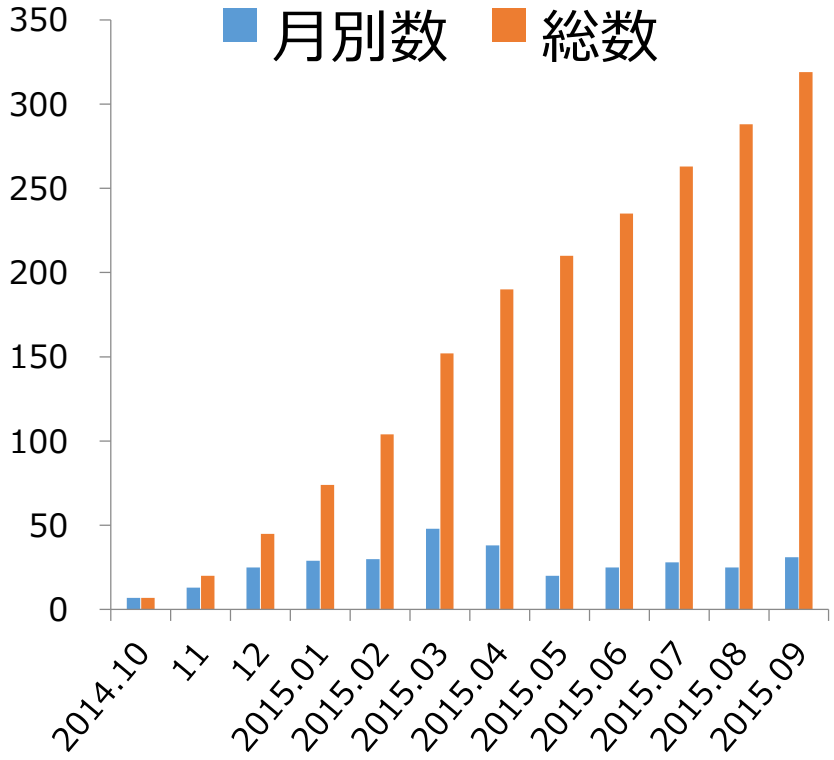
- Myotonia (clinical, medication)
- Cardiac (clinical, implant/device, ECG result, Echo result, medication)
- Pulmonary (clinical, use of ventilator, FVC)
- Swallowing/feeding (clinical, use of feeding device)
- Fatigue, daytime sleepiness (clinical, medication)
- Cataract surgery
- Age at onset
- Family history
- Ethnic origin
- Signed up to other registry
- Genetic testing details (name of laboratory, date of test, method of test, repeat length) **Highly encouraged**

神経・筋疾患患者登録
Remudy

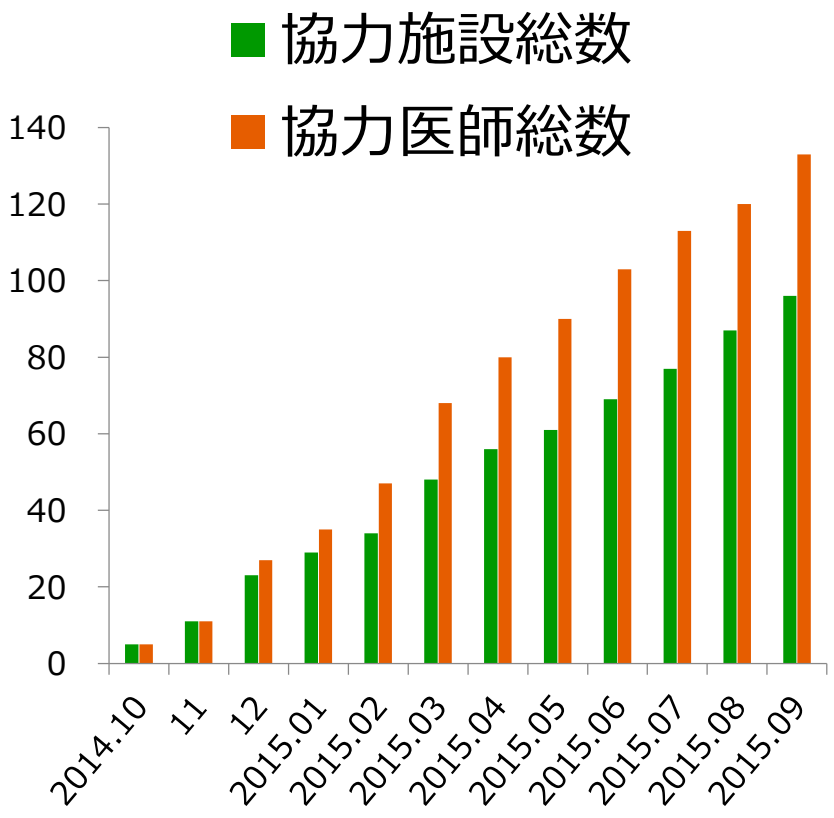
登録依頼者・協力施設・医師数の推移

2015.09.30現在

登録依頼数（319人）



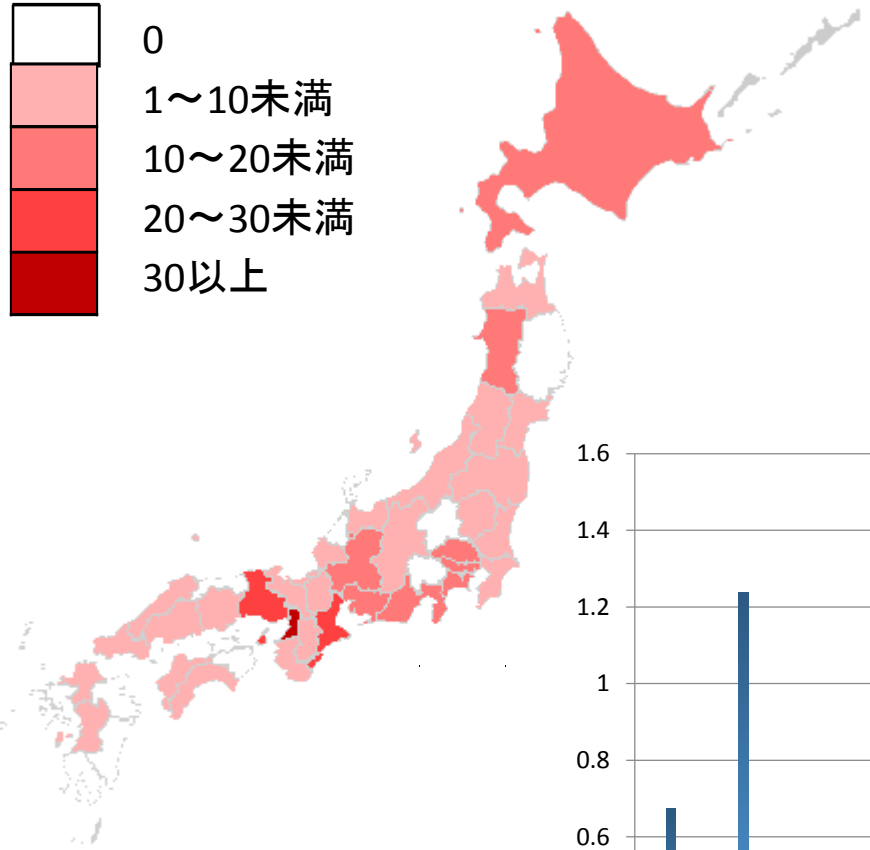
協力施設数（96施設）
協力医師数（133名）

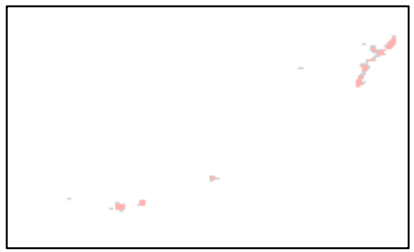


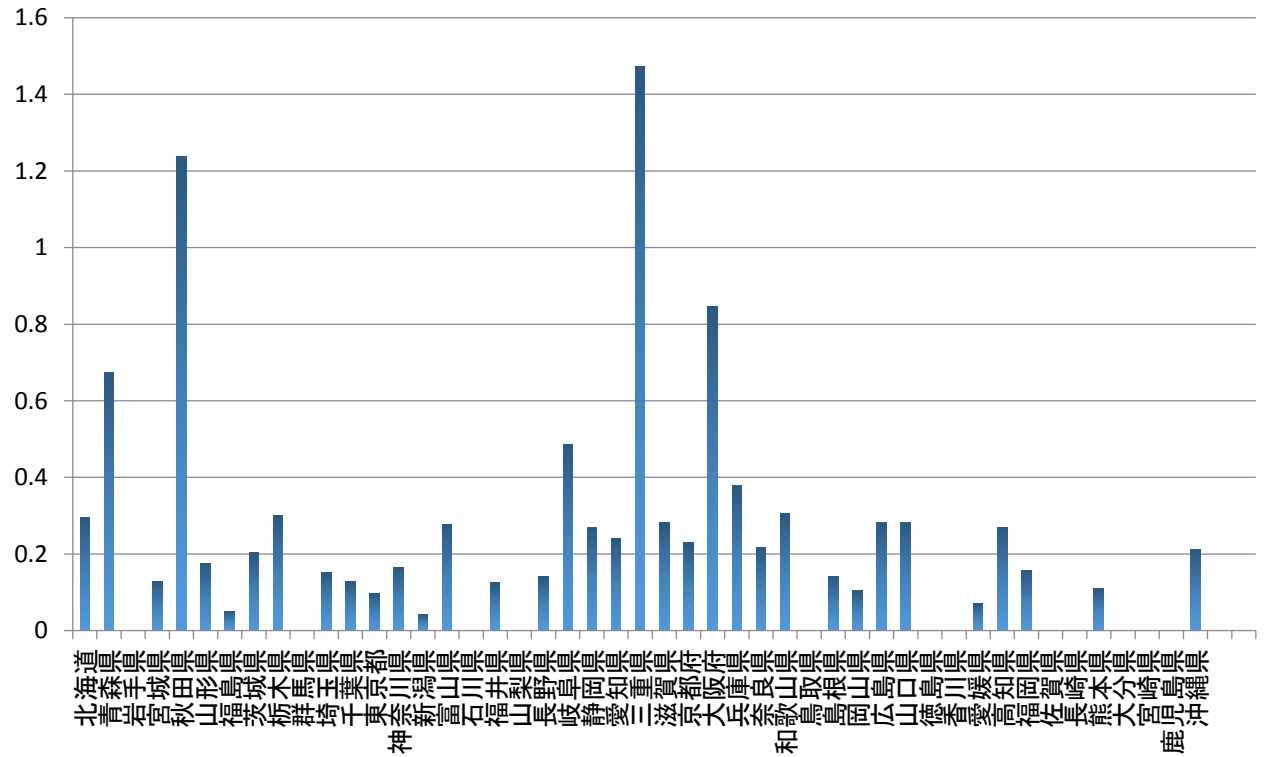
神経・筋疾患患者登録
Remudy

登録依頼者の分布

2015.09.30現在







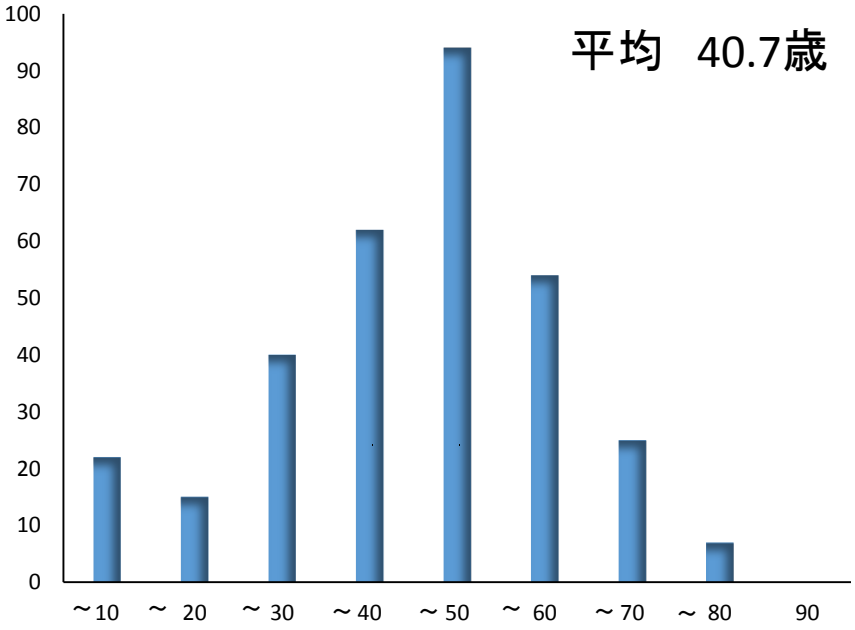
神経・筋疾患患者登録
Remudy

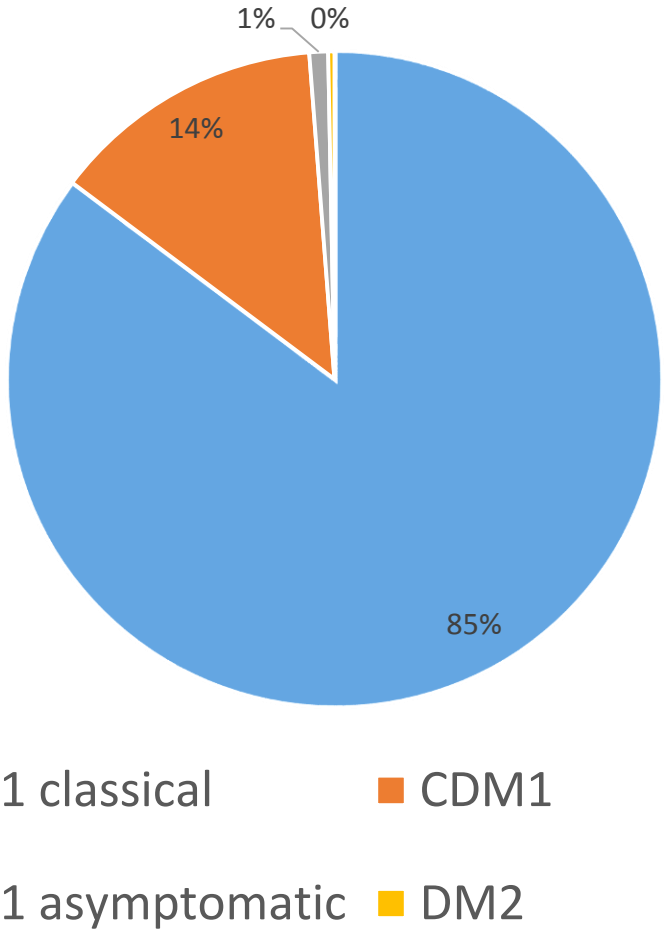
登録者性別・年齢及び診断

2015.10現在

登録者年齢分布

平均　40.7歳

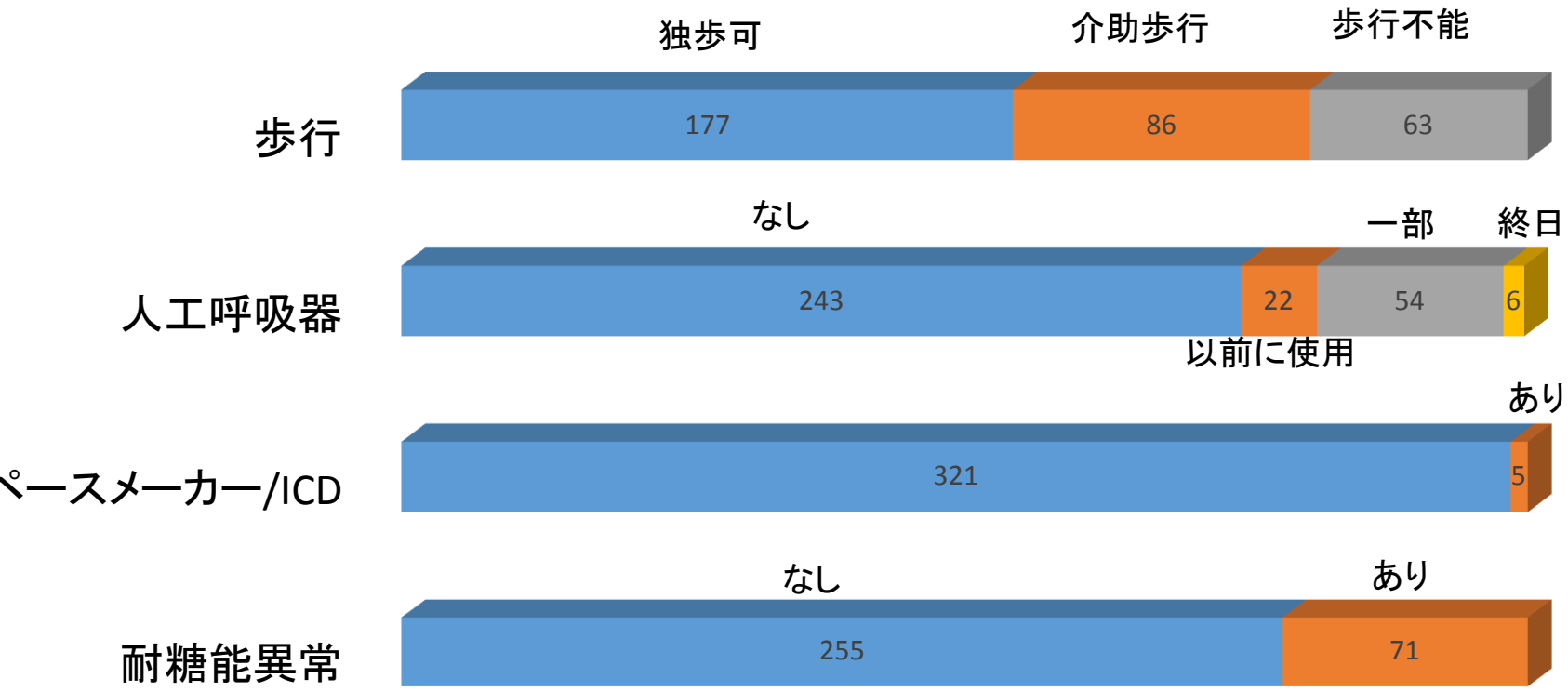




神経・筋疾患患者登録
Remudy

登録者ADL・合併症

2015.10現在



登録者の遺伝学的情報の解析

背景

- DM遺伝学的検査の保険収載（2012年）
- 患者登録では遺伝学的に確定した症例のみ登録可
- 遺伝学的検査結果の写しの添付が必須

解析内容

- 表現促進現象ーリピート不安定性
  - リピート数と発症年齢
  - 親子登録例でのリピート数

検査実施機関による差異

DMの遺伝的特徴ーリピートの不安定性

表現促進現象

- リピート数は世代を重ねると伸びる傾向
- 一般的にリピート長と重症度が相関し、発症年齢と逆相関
  リピート長がある程度を超えると（＞750 or 1000)あまり相関しない

- 生殖細胞におけるリピートの不安定性による
  考慮すべき事柄として体細胞におけるリピート不安定性
  白血球＜＜骨格筋・脳

cDM

- 母親から通常遺伝する（まれに父親由来）
- リピート長は非常に伸長している（＞1000）
- 母親のリピート数が長め（＞300）だと子供が先天性DMになる割合が高い (Cobo 1995)

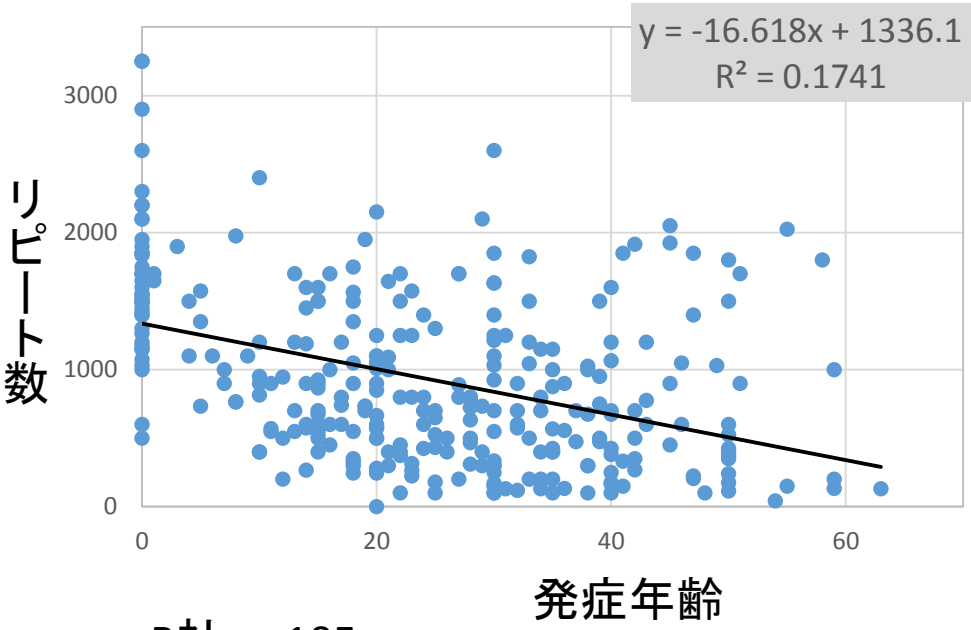
神経・筋疾患患者登録
Remudy

リピート数と発症年齢

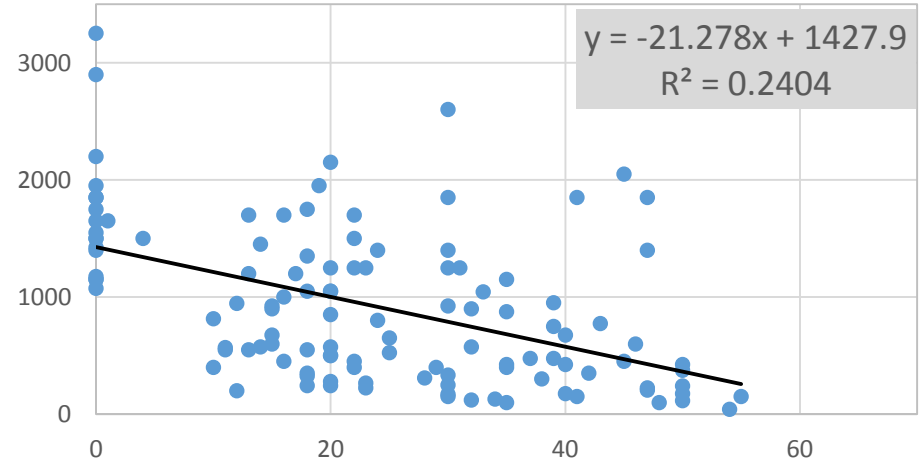
2015.10現在

- サザン法のみ
- 結果表示が　mからn の場合　平均値

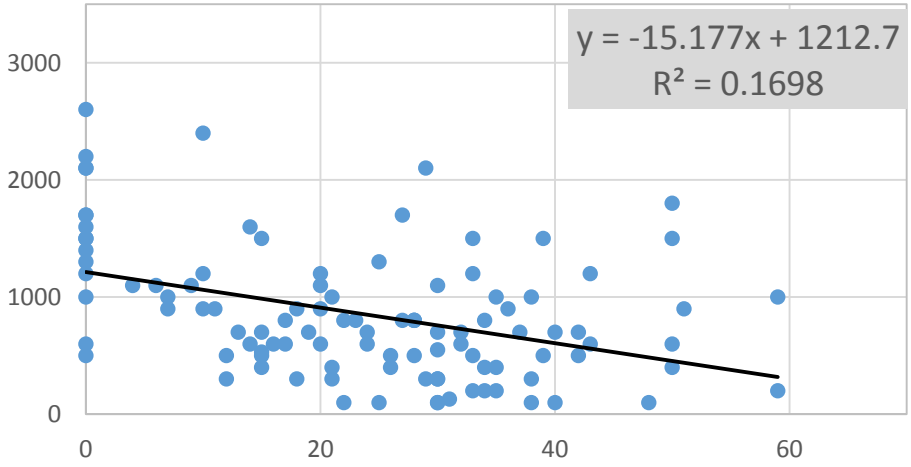
	X切片	傾き
全検査施設	1340	-16.6
A社	1430	-21.3
B社	1210	-15.2



A社　n=117

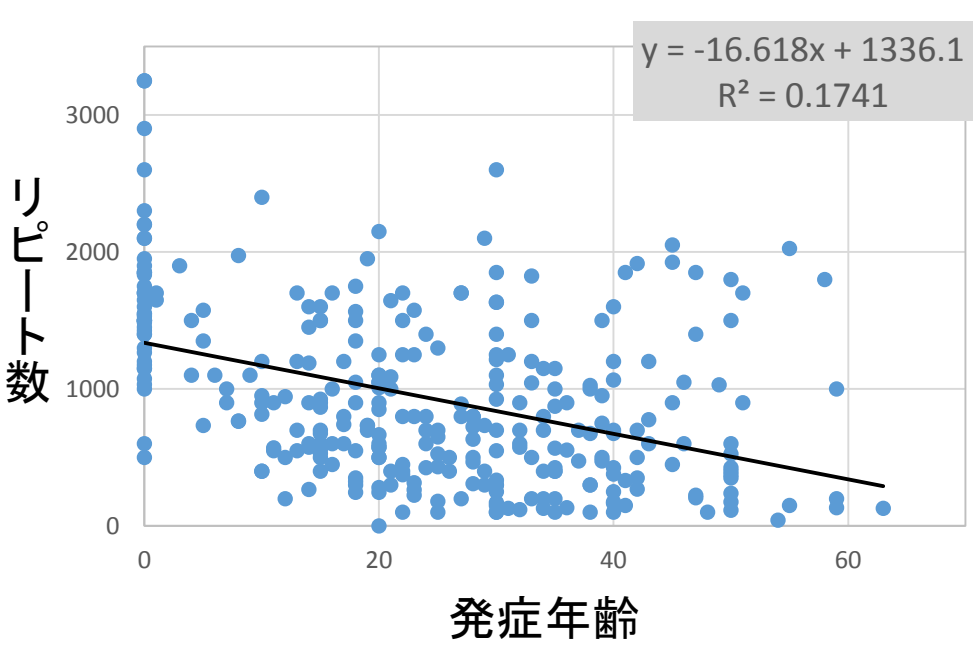


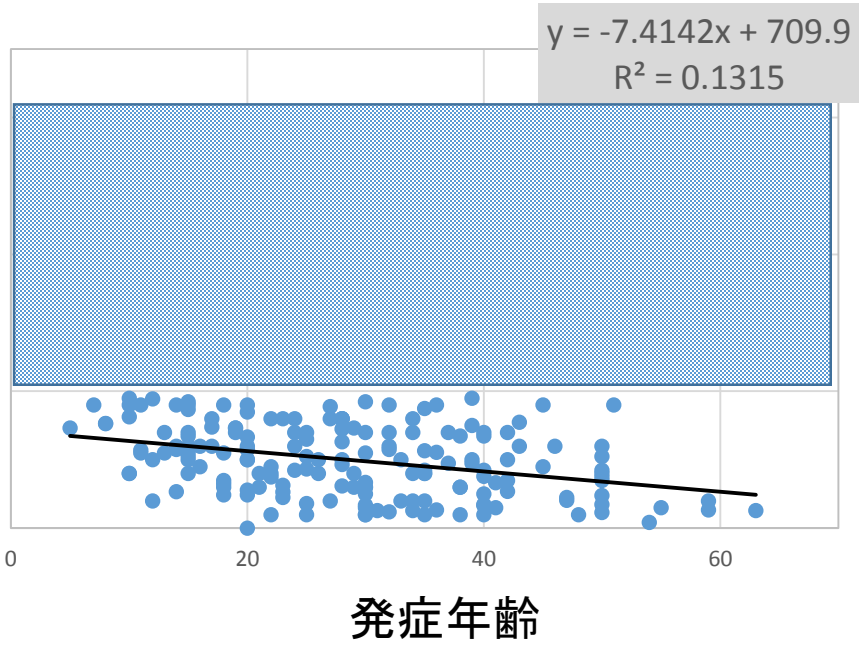
B社 n=105



リピート数と発症年齢

リピート長がある程度を超えると(＞750 or 1000)あまり相関しないというのは??



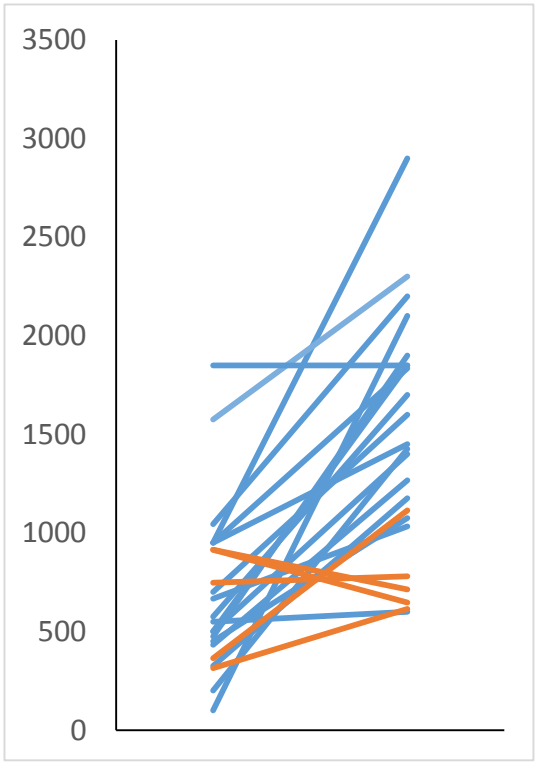


神経・筋疾患患者登録
Remudy

リピート不安定性と親の性別

Maternal Transmission

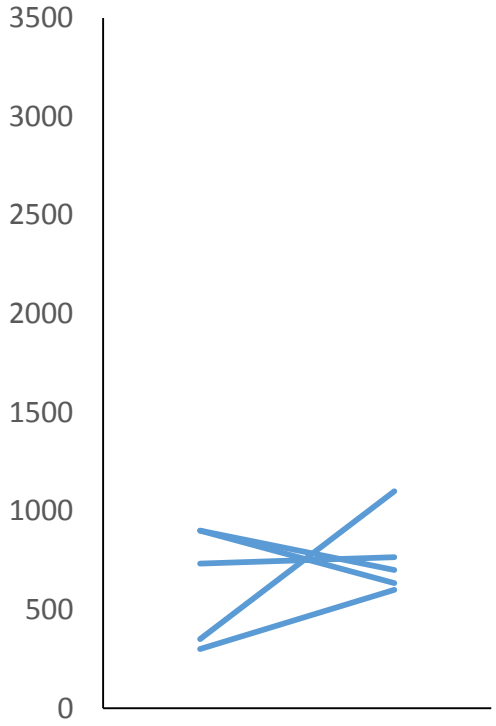
cDM n=17



100～1850
Mean 750

600～2900
Mean 1620

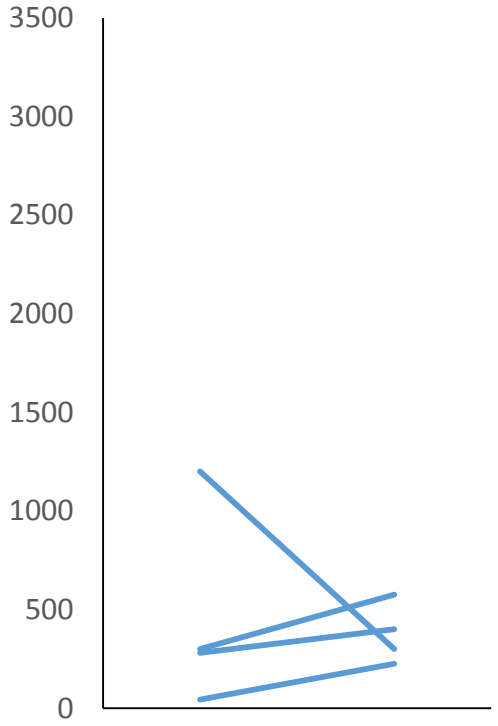
Non-cDM n=5



300～900
Mean 640

Paternal Transmission

Non-cDM n=4



～1200
Mean 460

結　語

- DM患者登録情報を用いて遺伝学的情報の解析を行った
- 既報告とやや異なり、長いリピート数も含む幅広い範囲でリピート数と発症年齢との相関が示唆された
- 親子例の解析も可能であった。cDMを出生した母のリピート数は、そうでない母のリピート数より長い傾向は見られたものの、オーバーラップがみられ、今後例数を増やした検討が必要である
- 患者登録は治験への患者リクルートなどを目的としているものの、遺伝学的な研究への応用の可能性が示唆され、より多数例での解析が期待される

神経・筋疾患患者登録
Remudy

謝　辞

芦澤　哲郎
荒畑　創
石浦　章一
石垣　景子
石崎　雅俊
石原　傳幸
大澤　仲昭
尾方　克久
川井　充
木村　円
木村　卓
木村　隆
久留　聡
小牧　宏文
齊藤　利雄
佐古田　三郎
高田　博仁
高橋　俊明
武田　伸一
田村　拓久
戸田　達史
中村　治雄
中森　雅之
西野　一三
林　由紀子
古谷　博和
松浦　徹
松村　剛
村山　千恵
望月　秀樹
森　まどか
和田　千鶴

50音順

厚生労働省
Ministry of Health, Labour and Welfare

神経・筋疾患患者登録
Remudy

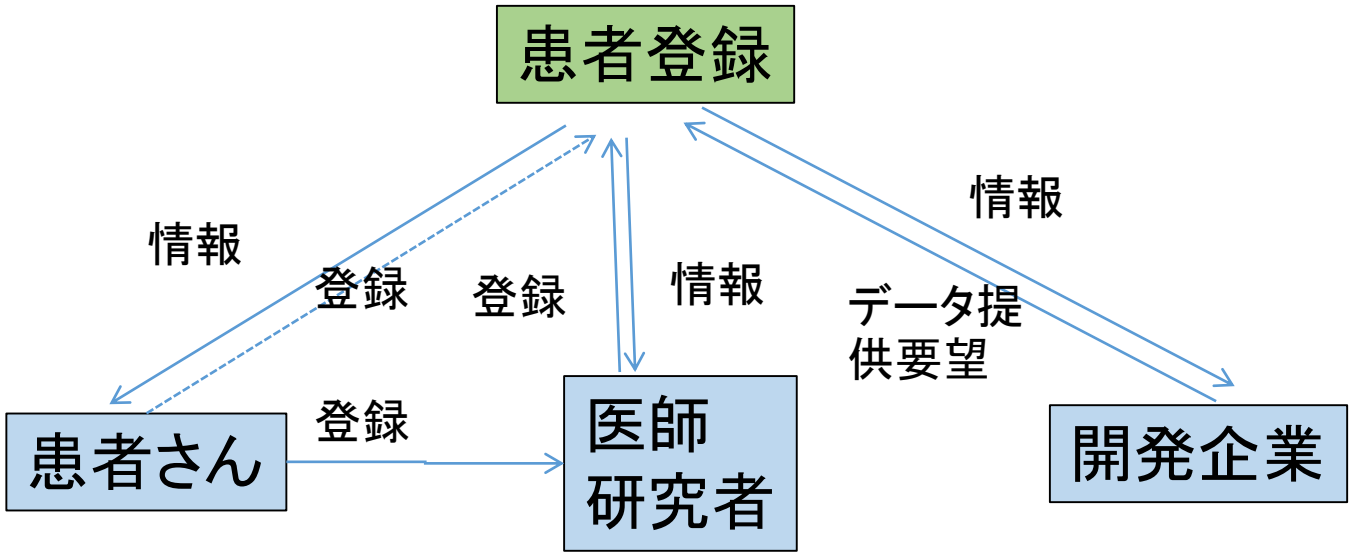
患者登録の目的

臨床試験・開発研究

治験への効率的な参加　　一定条件を満たす患者さん
開発企業の関心を高める
国際共同治験への対応

臨床研究・医療

疫学・遺伝学的研究　臨床経過　→　評価方法の確立
臨床研究のツール
既存治療の標準化



神経・筋疾患患者登録
Remudy

登録用紙

Remudy 筋強直性ジストロフィー 患者登録用紙 2014年6月版

記入日 西暦（ ）年（ ）月（ ）日
患者様のお名前 漢字名（ ） ふりがな（ ）
生年月日・性別 西暦（ ）年（ ）月（ ）日 □ 男性 □ 女性
連絡先 □ 自宅 □ 施設(長期入所中) □ 病院(長期入院中) □ その他（ ）
郵便番号 〒（ ）－（ ）
住所（ ）
電話（ ）－（ ）－（ ）
メールアドレス（ ）
登録センターからの連絡方法(必ず連絡のつく方法をチェック下さい・複数選択可)
□ 手紙 □ 電話(自宅・携帯・留守番電話) □ メール(PCアドレス・携帯アドレス)
人種：あなた(患者様)は日本人ですか □ はい □ いいえ (差し支えなければ具体的にご記入下さい：）
これまでに他のデータベースに登録をしたことがありますか □ ない □ ある □ 不明
患者会などへ参加していますか
□ 参加していない □ 参加している（□ 筋ジストロフィー協会 □ その他：）
家族歴(血縁者に同じような症状の方がおられますか)
□ なし □ あり(症状のある方の続柄を記入ください：）
血縁者で他に登録されている(する)方をご存じであれば了解の得られる範囲でお名前と続柄、年齢をご記入下さい
お名前： 続柄： 年齢： 歳、お名前： 続柄： 年齢： 歳
お名前： 続柄： 年齢： 歳、お名前： 続柄： 年齢： 歳
あなた（患者様）に該当する治験の情報があれば情報を提供して欲しいですか
□ 詳しい情報を提供して欲しい □ 情報は必要ない □ 今は分からない
年齢が15歳以上の場合、患者様本人に同意能力がありますか □ ある □ ない □ 15歳未満である
現在治験に参加していますか □ いいえ □ はい（治験名：）

臨床診断名 (必ず遺伝子検査の結果報告書のコピーを同封して下さい)
□ 先天性筋強直性ジストロフィーI型（生後4週以内の発症）
□ 筋強直性ジストロフィーI型（DM1） 発症(初めて症状に気づいた)年齢（ ）歳(概数でも可)
□ 非発症筋強直性ジストロフィーI型（遺伝子変異は確認されているが無症状な場合）
□ 筋強直性ジストロフィーII型（DM2） 発症(初めて症状に気づいた)年齢（ ）歳(概数でも可)
身長・体重 測定日（ ）年（ ）月 身長（ ）cm 体重（ ）kg
歩行能力 (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 支えなしで歩行可能（手すりや杖などの装具も不要）
□ 装具を利用して歩ける（歩行器、下肢装具、杖、手すりの使用 etc）
□ 歩行不能 (歩行不能年齢(　　)歳 □ 不明 □ 歩行を獲得していない)
車椅子を使っていますか
□ 使ったことがない □ 以前使用していた 使用年齢(　　)歳～(　　)歳
□ 使っている：使用開始年齢(　　)歳
□ 一日のうち部分的に使用 □ 一日中使用： 一日中使用になった年齢(　　)歳
握力 測定日（ ）年（ ）月 □ 未検
右（ ）kg 左（ ）kg □ 測定不能（測定可能下限： ）kg
手指の障害で(フタを開ける、シートから薬を取り出すなど)日常生活に援助が必要ですか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 日常生活に援助が必要 □ 不自由はあるが日常生活に援助不要 □ 不自由を感じない
筋強直現象(手を強く握るとすばやく開きにくい etc)はありますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 強い（日常生活に支障が有る） □ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし） □ 無い
筋強直現象に対して投薬を受けていますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ いいえ □ 不明 □ はい(処方箋コピー可)(薬品名：）
嚥下機能障害(食べ物・飲み物が飲み込みにくい・引っかかる・詰まる etc) がありますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ ある 発症年齢(　　)歳 □ これまでない □ 以前あった (　　)歳～(　　)歳 □ 不明
胃瘻、経管栄養を受けていますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ ある 開始年齢(　　)歳 □ これまでない □ 以前受けた (　　)歳～(　　)歳 □ 不明
便秘で困っていますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 強い（下剤や浣腸を使用している） □ 軽い（症状はあるが治療はしていない） □ 無い

注意 ：患者様が記入する欄 ：担当医師に確認して記入する欄 ：15歳未満の患者様のみ記入する欄

1/2

目や耳に不自由を感じますか
見えにくさ □ 強い（日常生活に支障が有る） □ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし） □ 無い
聞こえにくさ □ 強い（日常生活に支障が有る） □ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし） □ 無い
白内障の手術を受けましたか □ 受けた 初回手術時年齢（ ）歳 □ 受けていない □ 不明
疲れやすい、日中の眠気がありますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
疲れやすさ □ 強い（日常生活に支障あり） □ 軽い（日常生活に支障なし） □ 無い
日中の眠気 □ 強い（日常生活に支障あり） □ 軽い（日常生活に支障なし） □ 無い
疲れやすさ、日中の眠気に対して投薬を受けていますか (記入日時点の状態で評価ください)
□ 受けていない □ 受けている(処方箋コピー可)(薬品名：) □ 不明
人工呼吸器を使用していますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 使用したことがない □ 以前使用していた 使用年齢(　　)歳～(　　)歳
□ 現在使用している 使用頻度（□ 一日中使用 □ 一日のうち部分的に使用）
□ 非侵襲的呼吸管理(BiPAP, CPAP, etc) 開始年齢（ ）歳
□ 侵襲的(気管切開下)呼吸管理 開始年齢（ ）歳
心臓合併症はありますか □ なし □ 不明
□ 不整脈（洞不全症候群、期外収縮等） 発症(最初に指摘された)年齢（ ）歳
□ 心伝導障害（房室ブロック、脚ブロック等） 発症(最初に指摘された)年齢（ ）歳
□ 心筋症（心不全） 発症(最初に指摘された)年齢（ ）歳
心電図(波形+自動診断のコピーでも可) 最終検査日（ ）年（ ）月 □ 心電図未検 □ 不明
洞調律（□ はい □ いいえ） PR 間隔（ ）ms QRS 間隔（ ）ms QTc（ ）ms
心臓合併症の投薬を受けていますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 受けたことがない □ 受けたことがある(薬が分かれば下記をチェックして下さい) □ 不明
□ はい(服薬中の薬をチェックして下さい：処方箋コピー可) 服薬開始(何らかの薬を服薬した)年齢（ ）歳
□ ACE 阻害剤 □ ARB □ β遮断薬 □ 利尿剤
□ 抗不整脈剤（ ） □ その他（ ）
ペースメーカー埋め込み、埋め込み式除細動装置、カテーテルアブレーションを受けましたか
□ ペースメーカー埋め込み 実施時年齢（ ）歳 (最初に実施した年齢をご記入下さい)
□ 埋め込み式除細動装置 実施時年齢（ ）歳 (最初に実施した年齢をご記入下さい)
□ カテーテルアブレーション 実施時年齢（ ）歳 (最初に実施した年齢をご記入下さい)
□ いずれもなし □ 不明
その他の合併症で指摘されたことがあるものをチェックして下さい □ 特記すべきものなし
□ 耐糖能障害（糖尿病、高インスリン血症など）
治療内容 □ 食事指導 □ 内服薬(処方箋コピー可)（ ） □ インスリン
□ 高次脳機能障害・認知障害 □ 腫瘍（ ）
□ 手術歴（ ） □ その他（ ）
呼吸機能(所見[%FVC あり]コピーでも可) 最終検査日（ ）年（ ）月 □ 呼吸機能未検 □ 不明
FVC（ ）ml %FVC（ ）% FEV1%（ ）%
心エコー(所見[EF あり]のコピーでも可) 最終検査日（ ）年（ ）月 □ 心エコー未検 □ 不明
左室拡張期径:LVDd（ ）mm 左室駆出率:EF（ ）%
血液検査（1年以内に実施されたもの コピーでも可） 検査日（ ）年（ ）月
CK(　　)IU/L AST(　　)IU/L ALT(　　)IU/L γ-GTP(　　)IU/L HbA1c(NGSP)(　　)%

cDMに対応

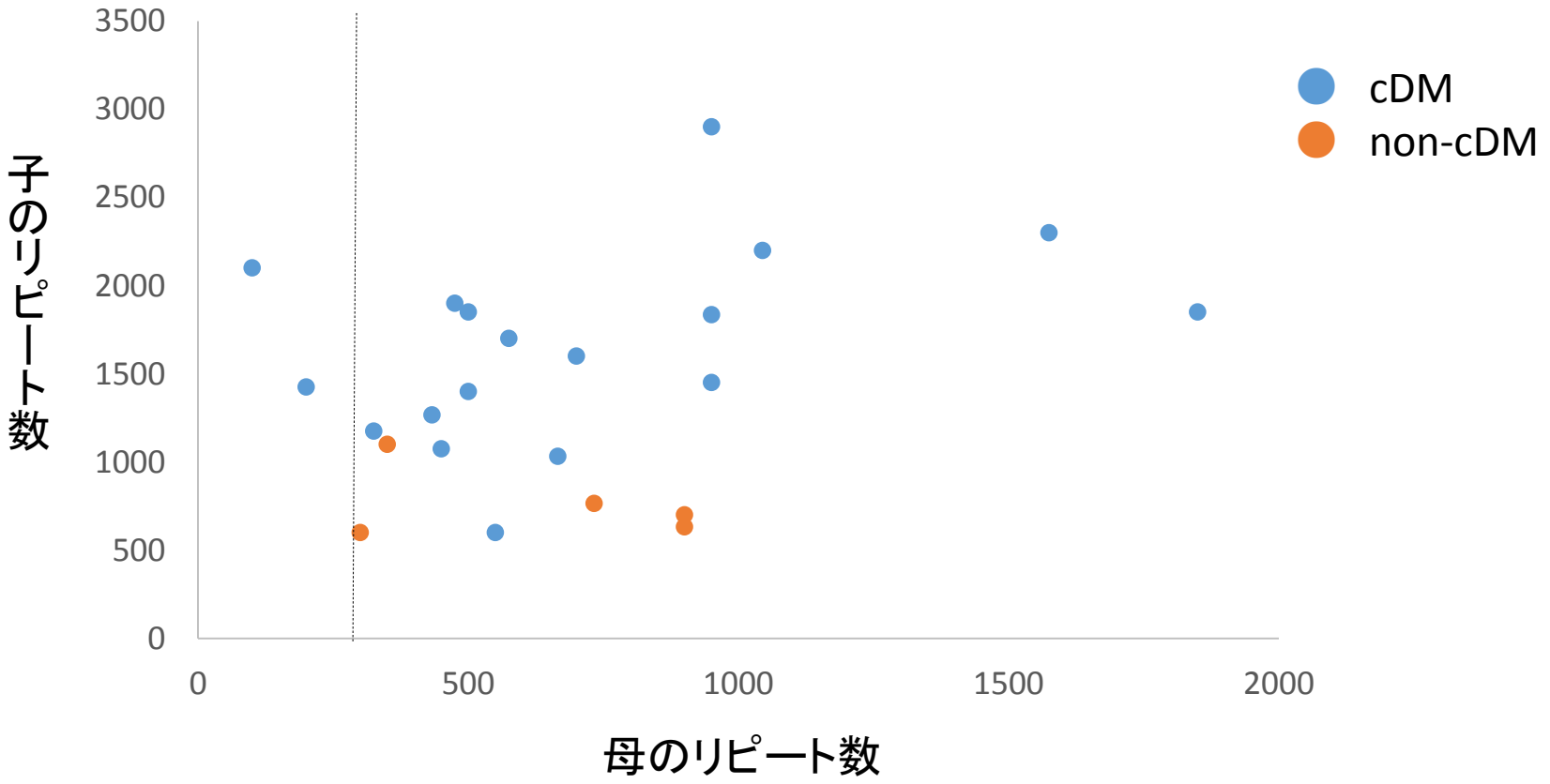
15歳未満の方
出生 出生（ ）週（ ）g □ 不明
周産期異常 □なし □あり（□羊水過多 □仮死・呼吸障害 □嚥下障害 □筋緊張低下 □関節拘縮） □不明
分娩異常 □なし □あり（□帝王切開 □ 遷延分娩 □ 吸引分娩 □ その他） □不明
発達歴 □ 不明
首のすわり （ ）か月 独り座り（ ）か月 独り歩き （ ）か月
単語 （ ）か月 二語文 （ ）か月
知的・精神面での問題 □なし □あり（□自閉症 □注意欠陥多動性障害 □学習障害 □知的障害 □その他）

このデータは原情報に忠実に記入されており、医師の確認のもとに作成されたものであることを証明します
病院名（ ） 患者様カルテ番号（ ）
医師署名（自筆） 西暦（ ）年（ ）月（ ）日
（ ）

送付先 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2 D-4
大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学 神経・筋疾患患者登録センター（Remudy） 患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー担当事務局

2/2

cDMと母親のリピート数



神経・筋疾患患者登録
Remudy

2015年10月24日
第2回筋ジストロフィー医療研究会

筋強直性ジストロフィー患者登録の現状

― 登録開始1年を迎えて―

高橋正紀[1]　高田博仁[2]　尾方克久[3]　中森雅之[1]　久留　聡[4]
松村　剛[5]　木村　円[6]

1. 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学
2. 国立病院機構　青森病院
3. 国立病院機構　東埼玉病院
4. 国立病院機構　鈴鹿病院
5. 国立病院機構　刀根山病院
6. 国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナルメディカルセンター

神経・筋疾患患者登録
Remudy

謝　辞

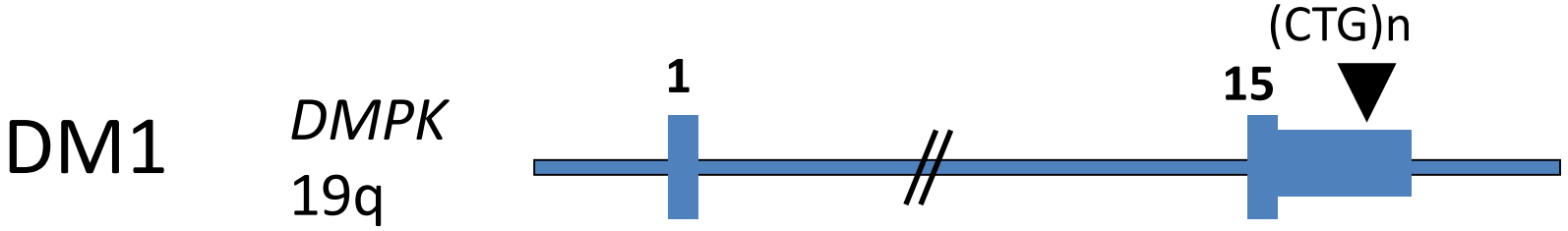
芦澤　哲郎
荒畑　創
石浦　章一
石垣　景子
石崎　雅俊
石原　傳幸
大澤　仲昭
尾方　克久
川井　充
木村　円
木村　卓
木村　隆
久留　聡
小牧　宏文
齊藤　利雄
佐古田　三郎
高田　博仁
高橋　俊明
武田　伸一
田村　拓久
戸田　達史
中村　治雄
中森　雅之
西野　一三
林　由紀子
古谷　博和
松浦　徹
松村　剛
村山　千恵
望月　秀樹
森　まどか
和田　千鶴

50音順

厚生労働省
Ministry of Health, Labour and Welfare

筋強直性ジストロフィー

- 成人で最も頻度の高い遺伝性筋疾患　頻度1/8,000−20,000
- 常染色体優性遺伝
  - 表現促進現象　リピート不安定性　先天型



- 特徴的な臨床症状
  - 筋強直現象、特異な罹患筋分布
  - 全身疾患　多彩な合併症
- RNA病としての病態機序解明の進歩
  - 2014年12月　核酸医薬の治験　phase I/II　米国

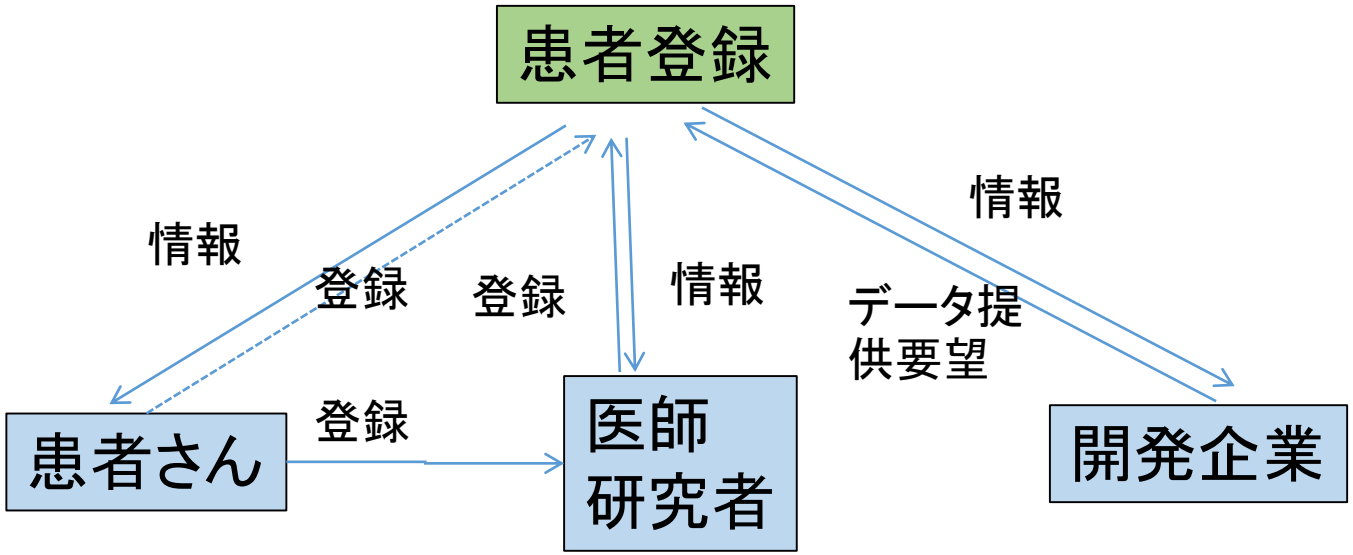
患者登録の目的

臨床試験・開発研究

治験への効率的な参加　　一定条件を満たす患者さん
開発企業の関心を高める
国際共同治験への対応

臨床研究・医療

疫学・遺伝学的研究　臨床経過　→　評価方法の確立
臨床研究のツール
既存治療の標準化



郵送の窓口は大阪大学神経内科です!

http://www.remudy.jp/myotonic/index.html

DM1 registry: Naarden harmonised dataset

- Personal data of patient (name, date of birth, contact details) **Mandatory**
- Genetic diagnosis (DM1)
- Motor function: ambulation/wheelchair use

- Myotonia (clinical, medication)
- Cardiac (clinical, implant/device, ECG result, Echo result, medication)
- Pulmonary (clinical, use of ventilator, FVC)
- Swallowing/feeding (clinical, use of feeding device)
- Fatigue, daytime sleepiness (clinical, medication)
- Cataract surgery
- Age at onset
- Family history
- Ethnic origin
- Signed up to other registry
- Genetic testing details (name of laboratory, date of test, method of test, repeat length) **Highly encouraged**

神経・筋疾患患者登録
Remudy

登録用紙

Remudy 筋強直性ジストロフィー 患者登録用紙 2014年6月版

記入日 西暦（ ）年（ ）月（ ）日
患者様のお名前 漢字名（ ） ふりがな（ ）
生年月日・性別 西暦（ ）年（ ）月（ ）日 □ 男性 □ 女性
連絡先 □ 自宅 □ 施設(長期入所中) □ 病院(長期入院中) □ その他（ ）
郵便番号 〒（ ）－（ ）
住所（ ）
電話（ ）－（ ）－（ ）
メールアドレス（ ）
登録センターからの連絡方法(必ず連絡のつく方法をチェック下さい・複数選択可)
□ 手紙 □ 電話(自宅・携帯・留守番電話) □ メール(PCアドレス・携帯アドレス)
人種：あなた(患者様)は日本人ですか □ はい □ いいえ (差し支えなければ具体的にご記入下さい：）
これまでに他のデータベースに登録をしたことがありますか □ ない □ ある □ 不明
患者会などへ参加していますか
□ 参加していない □ 参加している（□ 筋ジストロフィー協会 □ その他：）
家族歴(血縁者に同じような症状の方がおられますか)
□ なし □ あり(症状のある方の続柄を記入ください：）
血縁者で他に登録されている(する)方をご存じであれば了解の得られる範囲でお名前と続柄、年齢をご記入下さい
お名前： 続柄： 年齢： 歳、お名前： 続柄： 年齢： 歳
お名前： 続柄： 年齢： 歳、お名前： 続柄： 年齢： 歳
あなた（患者様）に該当する治験の情報があれば情報を提供して欲しいですか
□ 詳しい情報を提供して欲しい □ 情報は必要ない □ 今は分からない
年齢が15歳以上の場合、患者様本人に同意能力がありますか □ ある □ ない □ 15歳未満である
現在治験に参加していますか □ いいえ □ はい（治験名：）

臨床診断名 (必ず遺伝子検査の結果報告書のコピーを同封して下さい)
□ 先天性筋強直性ジストロフィーI型（生後4週以内の発症）
□ 筋強直性ジストロフィーI型（DM1） 発症(初めて症状に気づいた)年齢（ ）歳(概数でも可)
□ 非発症筋強直性ジストロフィーI型（遺伝子変異は確認されているが無症状な場合）
□ 筋強直性ジストロフィーII型（DM2） 発症(初めて症状に気づいた)年齢（ ）歳(概数でも可)
身長・体重 測定日（ ）年（ ）月 身長（ ）cm 体重（ ）kg
歩行能力 (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 支えなしで歩行可能（手すりや杖などの装具も不要）
□ 装具を利用して歩ける（歩行器、下肢装具、杖、手すりの使用 etc）
□ 歩行不能 (歩行不能年齢(　　)歳 □ 不明 □ 歩行を獲得していない)
車椅子を使っていますか
□ 使ったことがない □ 以前使用していた 使用年齢(　　)歳～(　　)歳
□ 使っている：使用開始年齢(　　)歳
□ 一日のうち部分的に使用 □ 一日中使用： 一日中使用になった年齢(　　)歳
握力 測定日（ ）年（ ）月 □ 未検
右（ ）kg 左（ ）kg □ 測定不能（測定可能下限： ）kg
手指の障害で(フタを開ける、シートから薬を取り出すなど)日常生活に援助が必要ですか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 日常生活に援助が必要 □ 不自由はあるが日常生活に援助不要 □ 不自由を感じない
筋強直現象(手を強く握るとすばやく開きにくい etc)はありますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 強い（日常生活に支障が有る） □ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし） □ 無い
筋強直現象に対して投薬を受けていますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ いいえ □ 不明 □ はい(処方箋コピー可)(薬品名：）
嚥下機能障害(食べ物・飲み物が飲み込みにくい・引っかかる・詰まる etc) がありますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ ある 発症年齢(　　)歳 □ これまでない □ 以前あった (　　)歳～(　　)歳 □ 不明
胃瘻、経管栄養を受けていますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ ある 開始年齢(　　)歳 □ これまでない □ 以前受けた (　　)歳～(　　)歳 □ 不明
便秘で困っていますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 強い（下剤や浣腸を使用している） □ 軽い（症状はあるが治療はしていない） □ 無い

注意 ：患者様が記入する欄 ：担当医師に確認して記入する欄 ：15歳未満の患者様のみ記入する欄

1/2

目や耳に不自由を感じますか
見えにくさ □ 強い（日常生活に支障が有る） □ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし） □ 無い
聞こえにくさ □ 強い（日常生活に支障が有る） □ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし） □ 無い
白内障の手術を受けましたか □ 受けた 初回手術時年齢（ ）歳 □ 受けていない □ 不明
疲れやすい、日中の眠気がありますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
疲れやすさ □ 強い（日常生活に支障あり） □ 軽い（日常生活に支障なし） □ 無い
日中の眠気 □ 強い（日常生活に支障あり） □ 軽い（日常生活に支障なし） □ 無い
疲れやすさ、日中の眠気に対して投薬を受けていますか (記入日時点の状態で評価ください)
□ 受けていない □ 受けている(処方箋コピー可)(薬品名：) □ 不明
人工呼吸器を使用していますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 使用したことがない □ 以前使用していた 使用年齢(　　)歳～(　　)歳
□ 現在使用している 使用頻度（□ 一日中使用 □ 一日のうち部分的に使用）
□ 非侵襲的呼吸管理(BiPAP, CPAP, etc) 開始年齢（ ）歳
□ 侵襲的(気管切開下)呼吸管理 開始年齢（ ）歳
心臓合併症はありますか □ なし □ 不明
□ 不整脈（洞不全症候群、期外収縮等） 発症(最初に指摘された)年齢（ ）歳
□ 心伝導障害（房室ブロック、脚ブロック等） 発症(最初に指摘された)年齢（ ）歳
□ 心筋症（心不全） 発症(最初に指摘された)年齢（ ）歳
心電図(波形+自動診断のコピーでも可) 最終検査日（ ）年（ ）月 □ 心電図未検 □ 不明
洞調律（□ はい □ いいえ） PR 間隔（ ）ms QRS 間隔（ ）ms QTc（ ）ms
心臓合併症の投薬を受けていますか (記入日時点の状態でご評価下さい)
□ 受けたことがない □ 受けたことがある(薬が分かれば下記をチェックして下さい) □ 不明
□ はい(服薬中の薬をチェックして下さい：処方箋コピー可) 服薬開始(何らかの薬を服薬した)年齢（ ）歳
□ ACE 阻害剤 □ ARB □ β遮断薬 □ 利尿剤
□ 抗不整脈剤（ ） □ その他（ ）
ペースメーカー埋め込み、埋め込み式除細動装置、カテーテルアブレーションを受けましたか
□ ペースメーカー埋め込み 実施時年齢（ ）歳 (最初に実施した年齢をご記入下さい)
□ 埋め込み式除細動装置 実施時年齢（ ）歳 (最初に実施した年齢をご記入下さい)
□ カテーテルアブレーション 実施時年齢（ ）歳 (最初に実施した年齢をご記入下さい)
□ いずれもなし □ 不明
その他の合併症で指摘されたことがあるものをチェックして下さい □ 特記すべきものなし
□ 耐糖能障害（糖尿病、高インスリン血症など）
治療内容 □ 食事指導 □ 内服薬(処方箋コピー可)（ ） □ インスリン
□ 高次脳機能障害・認知障害 □ 腫瘍（ ）
□ 手術歴（ ） □ その他（ ）
呼吸機能(所見[%FVC あり]コピーでも可) 最終検査日（ ）年（ ）月 □ 呼吸機能未検 □ 不明
FVC（ ）ml %FVC（ ）% FEV1%（ ）%
心エコー(所見[EF あり]のコピーでも可) 最終検査日（ ）年（ ）月 □ 心エコー未検 □ 不明
左室拡張期径:LVDd（ ）mm 左室駆出率:EF（ ）%
血液検査（1年以内に実施されたもの コピーでも可） 検査日（ ）年（ ）月
CK(　　)IU/L AST(　　)IU/L ALT(　　)IU/L γ-GTP(　　)IU/L HbA1c(NGSP)(　　)%

cDMに対応

15歳未満の方
出生 出生（ ）週（ ）g □ 不明
周産期異常 □なし □あり（□羊水過多 □仮死・呼吸障害 □嚥下障害 □筋緊張低下 □関節拘縮） □不明
分娩異常 □なし □あり（□帝王切開 □ 遷延分娩 □ 吸引分娩 □ その他） □不明
発達歴 □ 不明
首のすわり （ ）か月 独り座り（ ）か月 独り歩き （ ）か月
単語 （ ）か月 二語文 （ ）か月
知的・精神面での問題 □なし □あり（□自閉症 □注意欠陥多動性障害 □学習障害 □知的障害 □その他）

このデータは原情報に忠実に記入されており、医師の確認のもとに作成されたものであることを証明します
病院名（ ） 患者様カルテ番号（ ）
医師署名（自筆） 西暦（ ）年（ ）月（ ）日
（ ）

送付先 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2 D-4
大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学 神経・筋疾患患者登録センター（Remudy） 患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー担当事務局

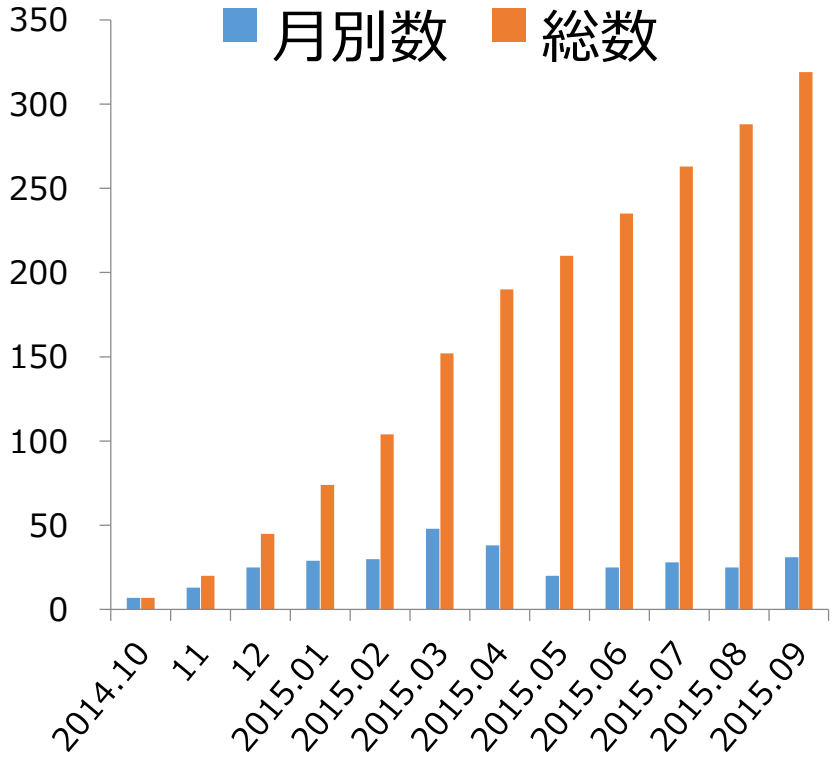
2/2

神経・筋疾患患者登録
Remudy

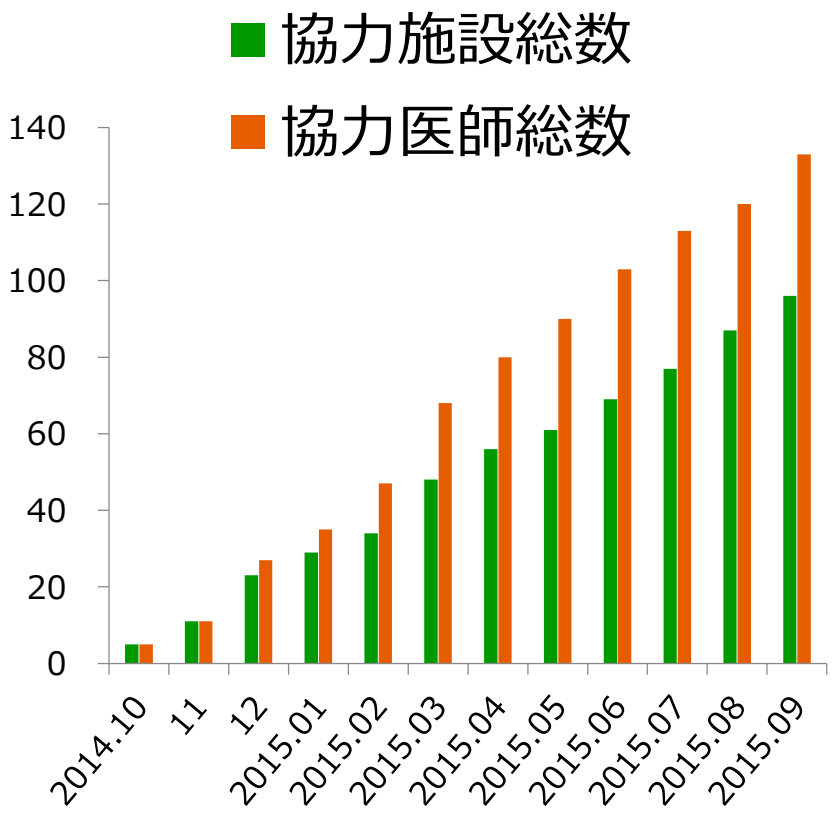
登録依頼者・協力施設・医師数の推移

2015.09.30現在

登録依頼数（319人）



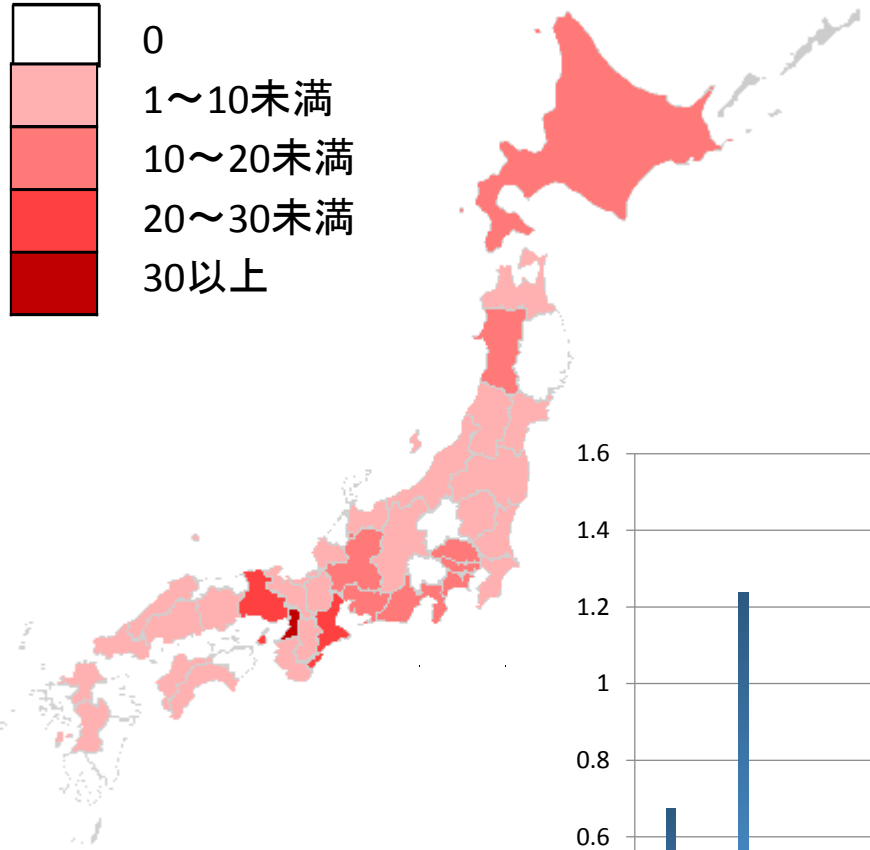
協力施設数（96施設）
協力医師数（133名）

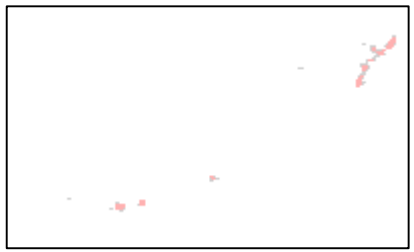


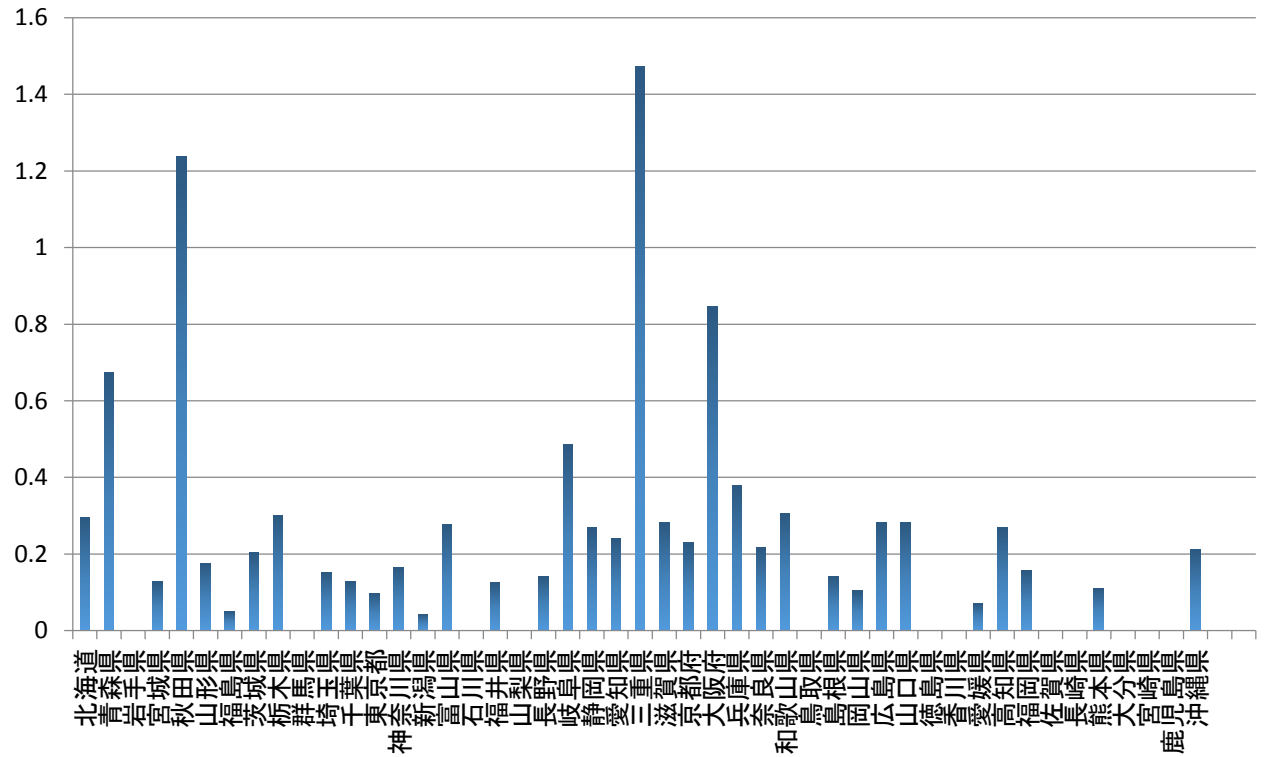
神経・筋疾患患者登録
Remudy

登録依頼者の分布

2015.09.30現在







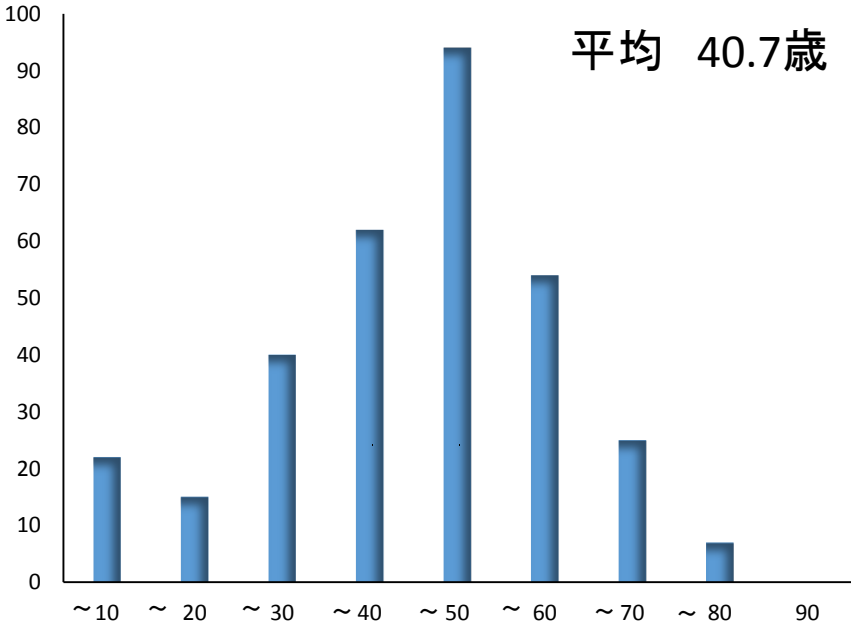
神経・筋疾患患者登録
Remudy

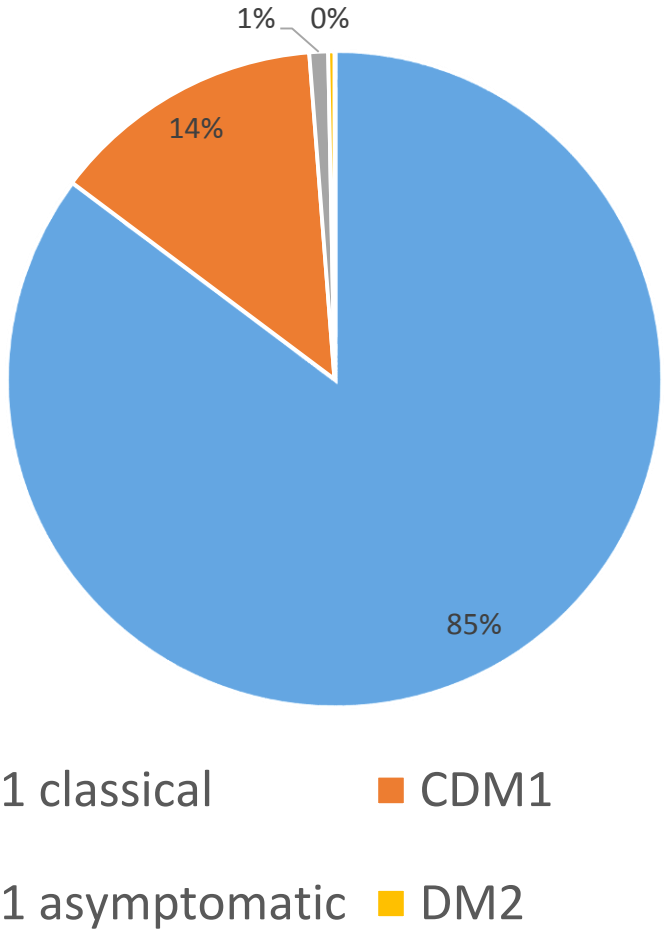
登録者性別・年齢及び診断

2015.10現在

登録者年齢分布

平均　40.7歳

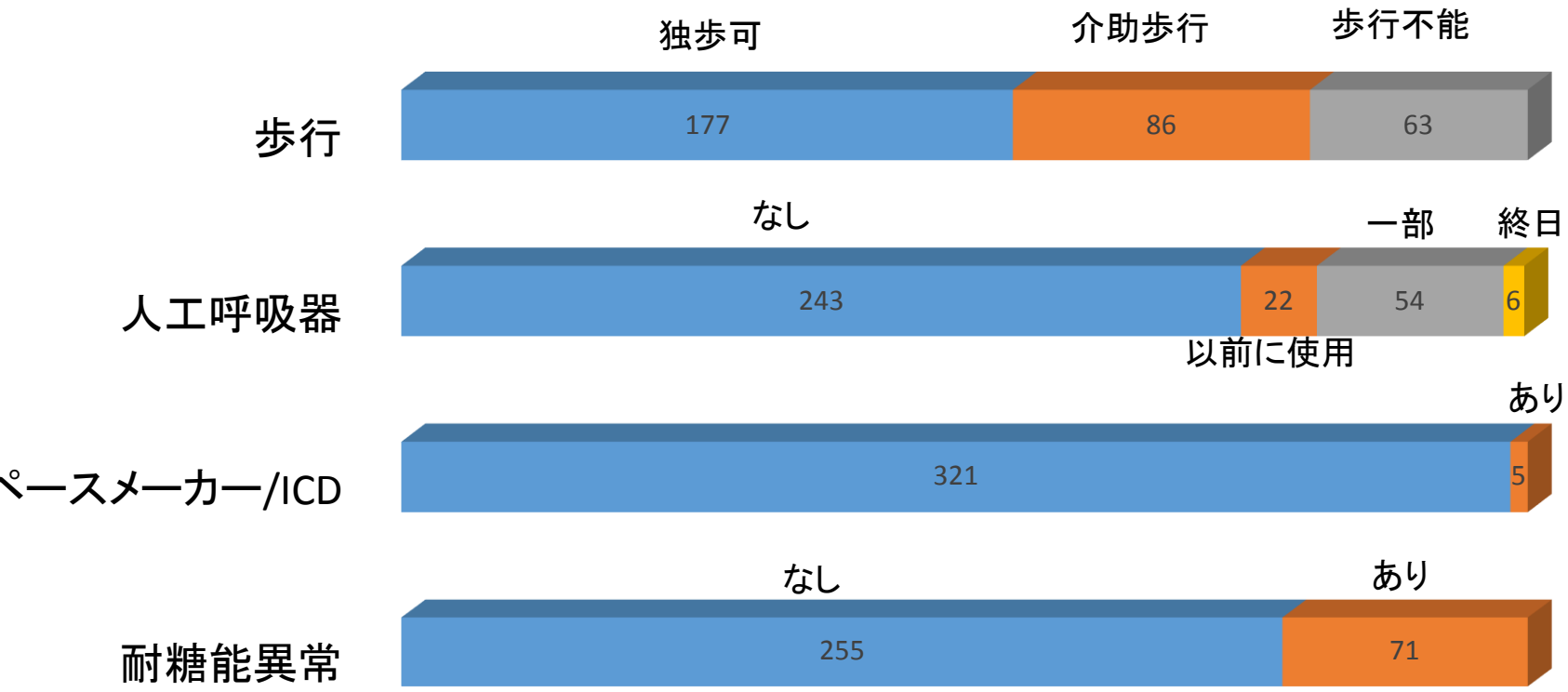




神経・筋疾患患者登録
Remudy

登録者ADL・合併症

2015.10現在



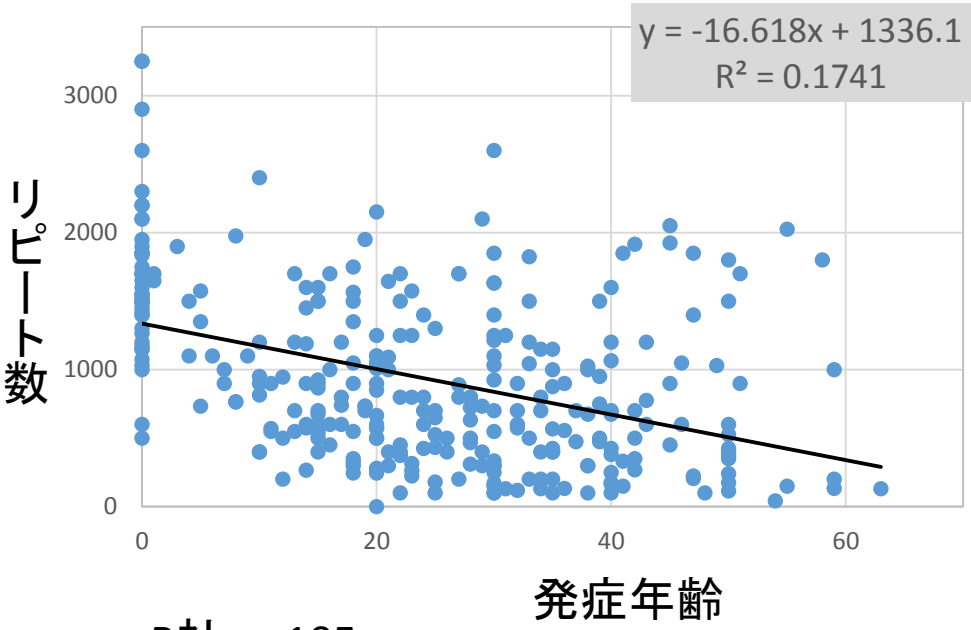
神経・筋疾患患者登録
Remudy

リピート数と発症年齢

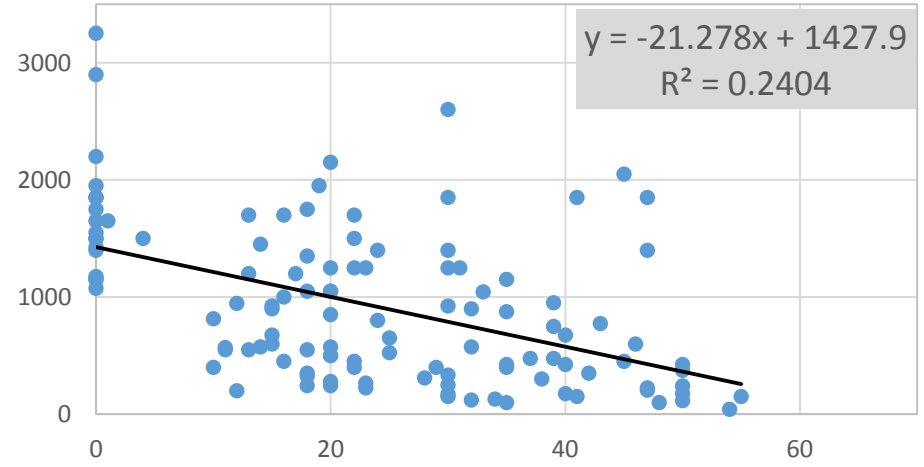
2015.10現在

- サザン法のみ
- 結果表示が　mからn の場合　平均値

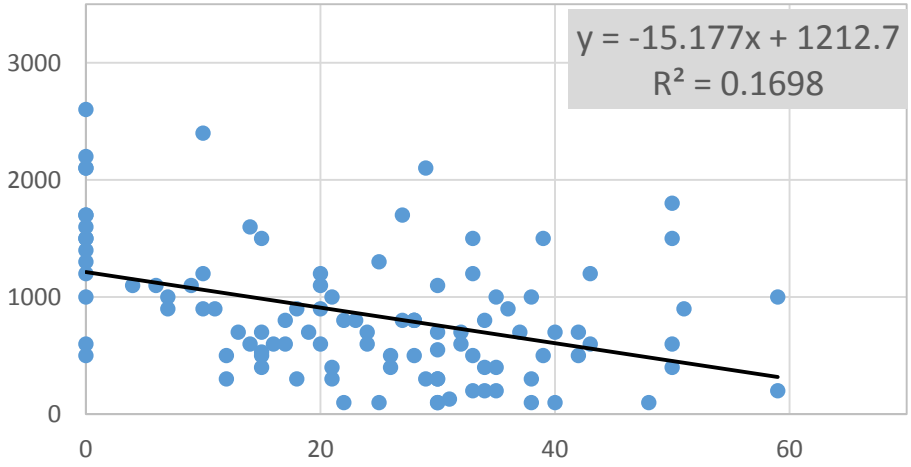
	X切片	傾き
全検査施設	1340	-16.6
A社	1430	-21.3
B社	1210	-15.2



A社　n=117



B社 n=105

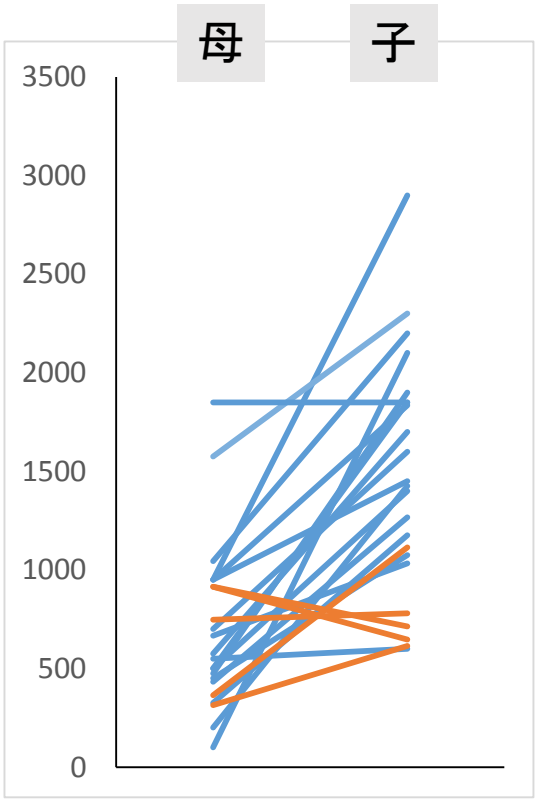


神経・筋疾患患者登録
Remudy

子のリピート長と親の性別

Maternal Transmission

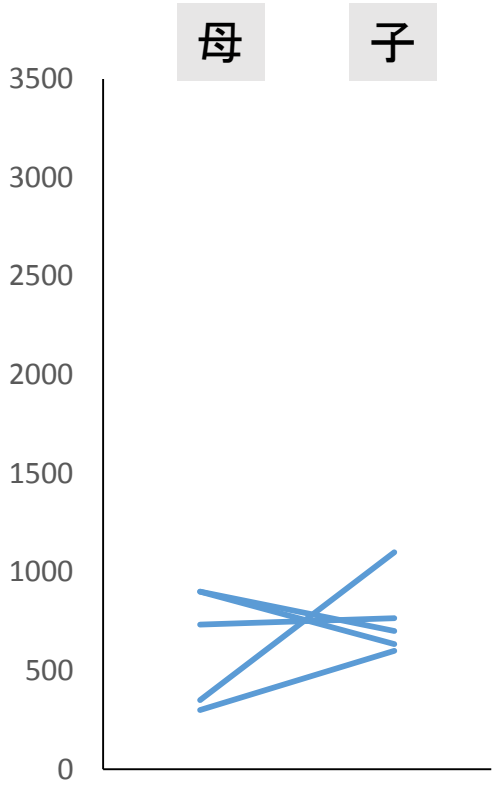
cDM n=17



100～1850
Mean 750

600～2900
Mean 1620

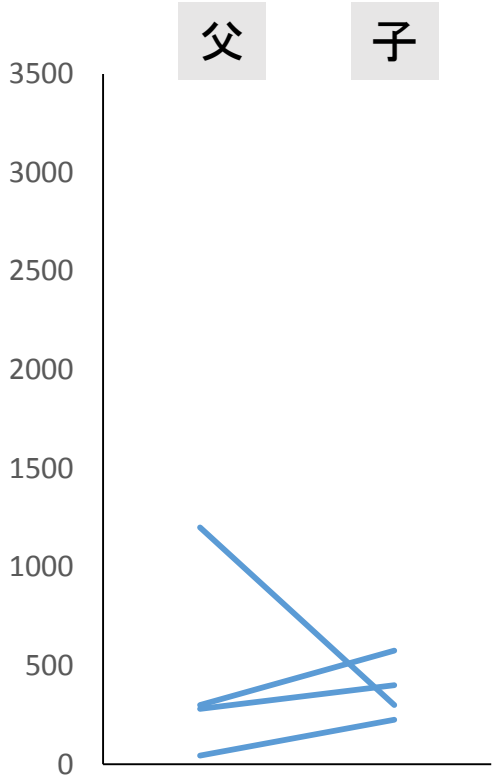
Non-cDM n=5



300～900
Mean 640

Paternal Transmission

Non-cDM n=4



～1200
Mean 460

今後に向けて

- 症例登録の地域差の解消
- 電子登録システムへの対応
- 登録内容の更新
- 臨床研究への活用
- 国際登録へのデータ提供
- 患者さんとのコミュニケーションの改善

結　語

- DM患者登録を大阪大学とNCNPと共同で開始し1年が経過した。300余の登録があった。
- 遺伝学的解析がすでに可能であった。今後の臨床研究への活用が期待される
- 電子登録、国際登録、データ更新などへの対応が必要である。

御清聴ありがとうございました

患者登録でお世話になりますが
よろしくお願いいたします

日本神経治療学会
COI 開示

*筆頭発表者名：*高橋　正紀

演題発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などありません。

2015年11月26日
第33回日本神経治療学会総会

筋強直性ジストロフィーの医療の現況について

―患者登録データによる解析―

高橋正紀[1]　久留　聡[2]　木村　隆[3]　小森哲夫[4]　小林道雄[5]
木村　円[6]　松村　剛[7]

1. 大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学
2. 国立病院機構 鈴鹿病院　神経内科
3. 国立病院機構 旭川医療センター　神経内科
4. 国立病院機構 箱根病院　神経内科
5. 国立病院機構 あきた病院　神経内科
6. 国立精神・神経医療研究センター トランスレーショナルメディカルセンター
7. 国立病院機構 刀根山病院神経内科

患者登録の目的

臨床試験・開発研究の促進

治験への効率的な参加　　一定条件を満たす患者さん
国際共同治験への対応
開発企業の関心を高める

臨床研究・医療

疫学・遺伝学的研究　自然歴（臨床経過）　→　評価方法の確立
臨床研究のツール
既存治療の標準化

治験促進だけではない患者さんへのメリット

定期的医療機関受診・検査の促進
合併症対策
健康管理への関心を高める
➡　既存治療による予後改善

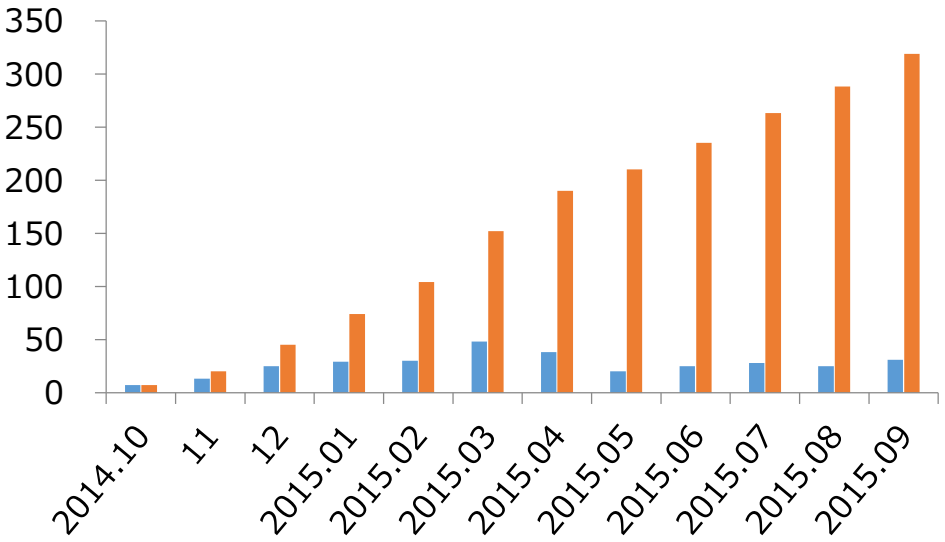
筋強直性ジストロフィー患者登録

- 大阪大学と国立精神・神経医療研究センターの共同
- 2014年10月2日登録開始
- 主治医の協力のもと患者が登録依頼

神経・筋疾患患者登録 Remudy

- 項目は国際登録に準拠
  - 遺伝子診断
  - ADL
  - ECG, FVC
  - 検査項目

TREAT-NMD Neuromuscular Network

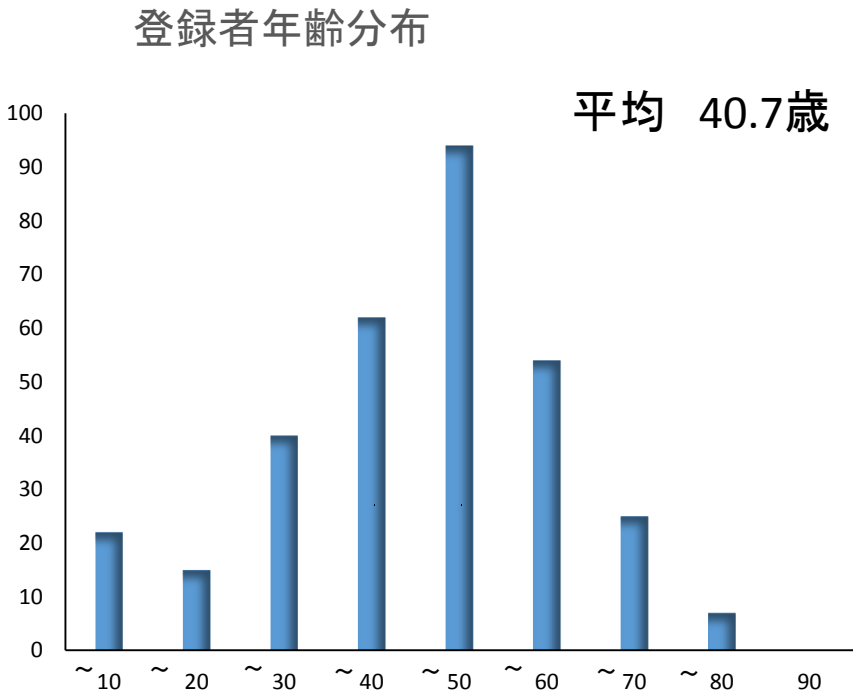


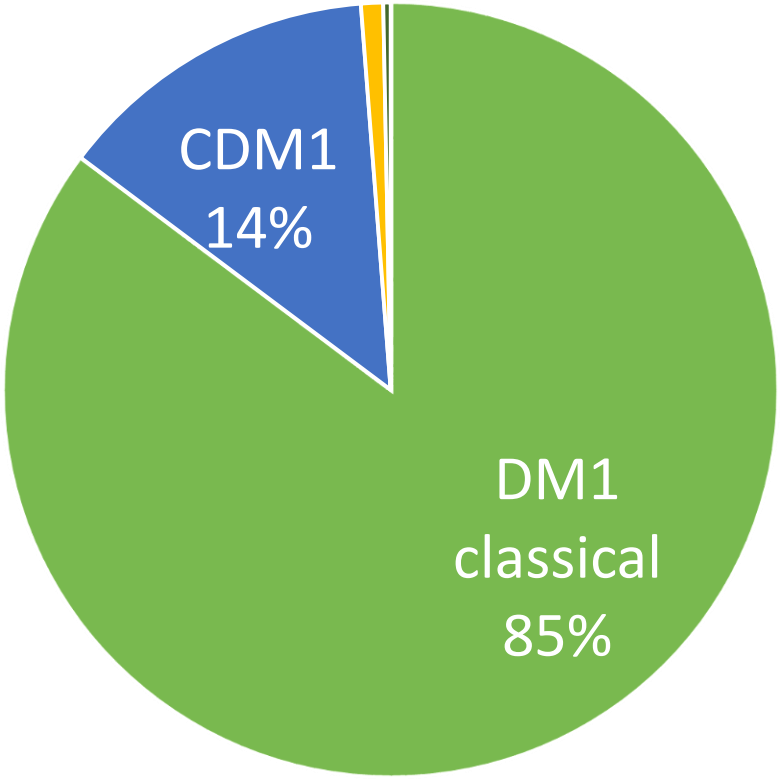
登録依頼数（348人）
協力施設数（101施設）
協力医師数（145名）

2015.10.31現在

登録者背景データ

2015.10現在





患者登録データを用いた医療の現況の解析

心臓伝導障害

突然死の原因の一つとされる
PR>240, QRS>120msがハイリスクとされ積極的な検査や治療が推奨される（Groh)。積極的な治療が予後、突然死を優位に減少させる（Wahbi）

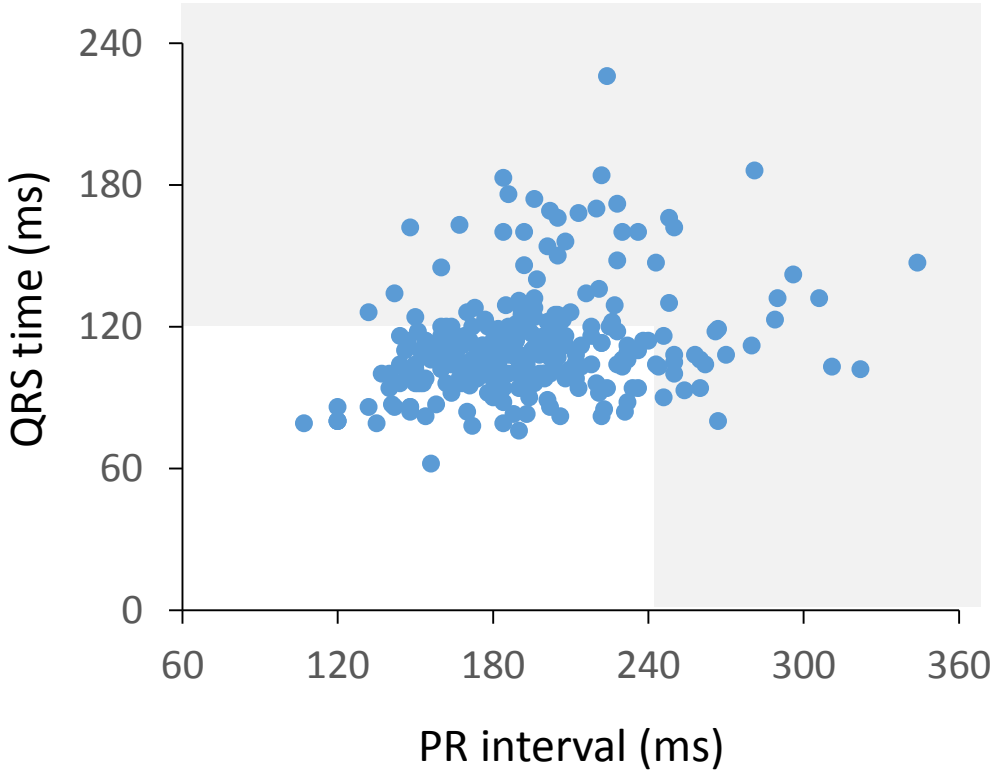
呼吸障害

呼吸筋力低下に加え、中枢性低換気
欧米では人工呼吸器の利用は少ない

耐糖能障害

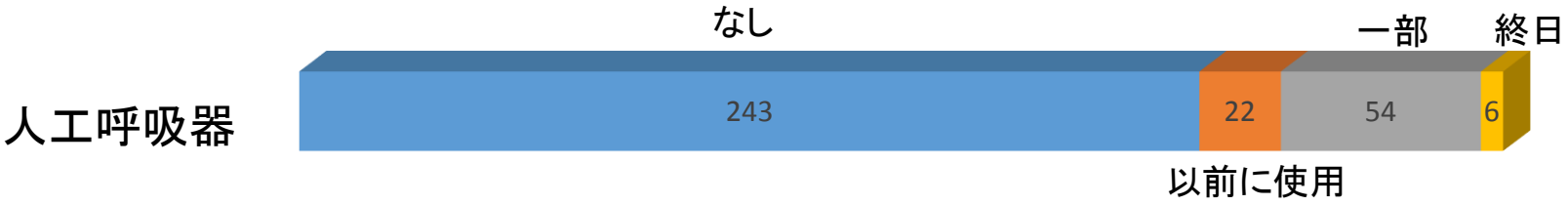
病態―インスリン抵抗性の増大
新規薬剤の開発　―　DDP4, SGLT2阻害薬

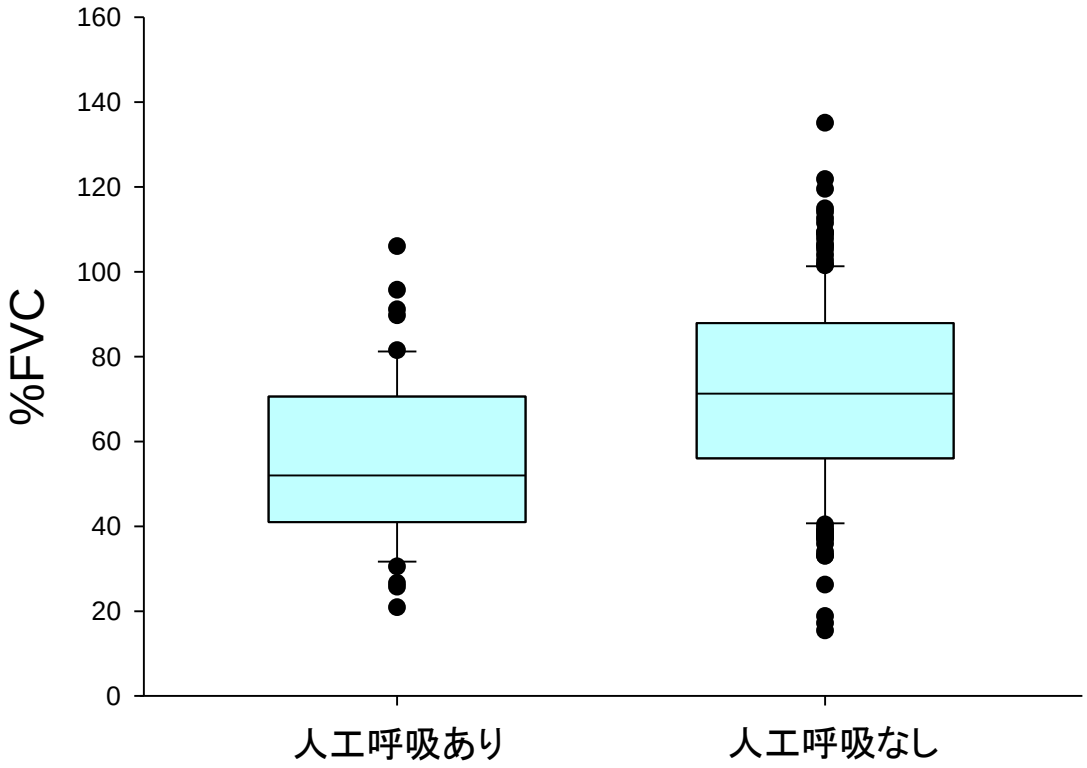
心電図異常とディバイス使用



非洞調律	2.8 %
PR>240 ms	8.9%
QRS>120	18.7%
PR>240 or QRS>120	24.5%

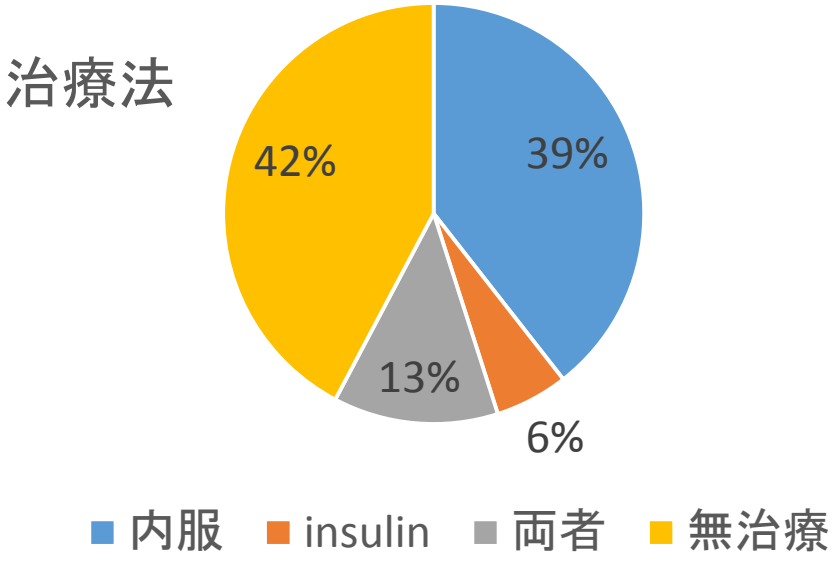
呼吸機能検査と人工呼吸器使用

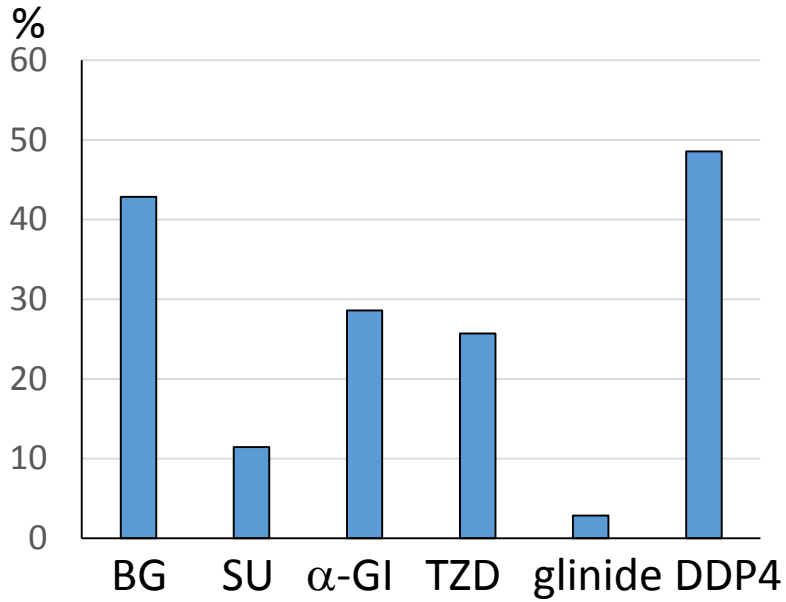


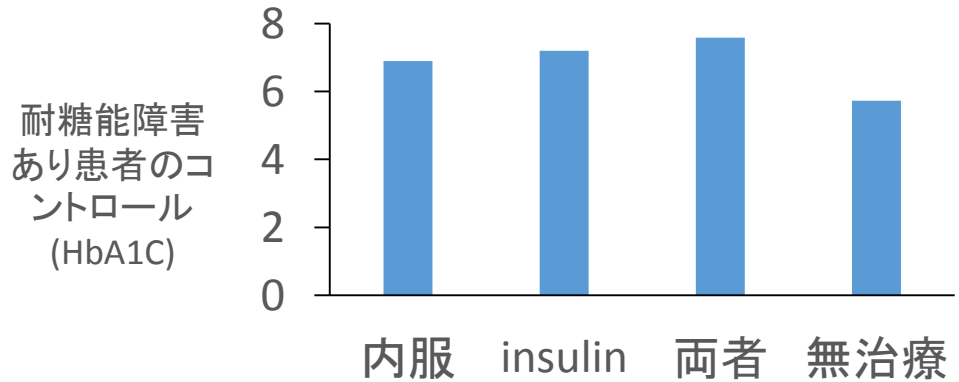


耐糖能異常と治療

耐糖能異常
255
71


治療法
42%
39%
13%
6%
内服
insulin
両者
無治療


%
60
50
40
30
20
10
0
BG
SU
α-GI
TZD
glinide
DDP4


耐糖能障害あり患者のコントロール(HbA1C)
8
6
4
2
0
内服
insulin
両者
無治療

結語

- 筋強直性ジストロフィー患者登録データにより、治療状況の解析が可能であった　　登録患者というバイアスあり
- 心臓伝導障害ハイリスク群が1/4を占めるものの、ペースメーカーやICD装着はごく少数であった
- 人工呼吸器使用はFVC低下例以外にも積極的に行われていた
- 耐糖能障害については良好にコントロールされていた。使用薬剤はインスリン抵抗性の病態に即した薬剤使用が多かった。DDP4阻害薬の使用がすでに最も多かった
- 今後の治療の標準化などに活用されることが期待される

患者登録にご協力お願いいたします

郵送の窓口は大阪大学神経内科です!

http://www.remudy.jp/myotonic/index.html

神経・筋疾患患者登録
Remudy

謝　辞

芦澤　哲郎
荒畑　創
石浦　章一
石垣　景子
石崎　雅俊
石原　傳幸
大澤　仲昭
尾方　克久
川井　充
木村　円
木村　卓
木村　隆
久留　聡
小牧　宏文
齊藤　利雄
佐古田　三郎
高田　博仁
高橋　俊明
武田　伸一
田村　拓久
戸田　達史
中村　治雄
中森　雅之
西野　一三
林　由紀子
古谷　博和
松浦　徹
松村　剛
村山　千恵
望月　秀樹
森　まどか
和田　千鶴

50音順

厚生労働省
Ministry of Health, Labour and Welfare

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		国立病院機構鈴鹿病院
研究開発担当者	所属 役職	神経内科部長
	氏名	久留　聡
実施期間		平成　27 年　4　月　1　日　～　平成　28　年　3　月　31　日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：

研究開発分担者　役職　氏名：国立病院機構鈴鹿病院臨床研究部長　久留聡

分担研究開発課題名（実施内容）：筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究、他

①研究開発成果の内容

①筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究：Duchenne 型筋ジストロフィーなど多くの神経筋疾患では呼吸管理の効果が大きく、非侵襲的呼吸管理の有効性も確立している。一方、DM では呼吸筋力低下に加え、呼吸調節障害や嚥下障害・喉頭機能障害などが併存する。このため、病初期から低酸素血症や睡眠時無呼吸が存在する場合が多く、呼吸器装着時期の適切な判断が困難、呼吸不全の自覚が乏しく呼吸器管理のコンプライアンスが不良、嚥下障害や喉頭機能障害のため誤嚥・排痰困難例が多く気道クリアランスが不良、など多くの問題が存在する。本邦では欧米に比べ呼吸器装着率が高いものの、その有効性や呼吸管理の阻害要因については不明な点が多い。療養介護病棟(筋ジストロフィー病棟)入院患者データベースの解析により、呼吸管理の有効性を解析するとともに、追加調査により呼吸管理の有効性に影響を及ぼす因子の分析を行う。研究責任者としてプロトコル作成、データ収集、進捗管理、解析等を主導

②登録推進・受療改善(アウトリーチ活動)：Remudy 通信や市民公開講、学会･研究会等を通じて、合併症や医療管理の必要性、臨床研究などの情報を発信し、登録推進・受療改善を図る。

③標準医療確立に向けたプロジェクト研究：「筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討」に参加しデータ提供など実施。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

①筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究

追加調査項目を決定し、自施設の倫理審査で承認を得られた。現在 3 施設から 120 例のデータが得られデータ整理を行っている。

②登録推進・受療改善(アウトリーチ活動)：市民公開講座、学会･研究会等を通じて、合併症治療の必要性などの情報を発信し、登録推進・受療改善を図った。

③標準医療確立に向けたプロジェクト研究：「筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討」に参加し、現在までに 17 例のデータを収集し送付した。

３．成果の外部への発表

（1）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
前頭葉機能検査（FAB）を用いた筋強直性ジストロフィーの認知機能評価（ポスター）	村松順子　竹村真紀村山晴香　、蒔田千里山内慎吾、酒井素子、久留　聡、小笠原昭彦小長谷正明	第 69 回国立病院総合医学会	平成 27 年 10 月	国内

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
運動･呼吸機能障害	久留　聡	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@新潟」	2015 年 5 月	国内
運動･嚥下･呼吸機能障害	久留　聡	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@東京」	2015 年 7 月	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		国立病院機構仙台西多賀病院
研究開発担当者	所属 役職	神経内科医長
	氏名	高橋俊明
実施期間		平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 28 年 3 月 31 日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：国立病院機構仙台西多賀病院　神経内科

研究開発分担者　役職　氏名：神経内科医長　髙橋　俊明

分担研究開発課題名（実施内容）：呼吸障害治療

①研究開発成果の内容

本邦では欧米に比べ呼吸管理の比率が高いため、呼吸器装着の生命予後に及ぼす効果を分析、呼吸器装着患者は非装着患者に比べ生命予後の改善を認めたが、その差は 2 年程度と Duchenne 型等に比べ小さく、阻害要因の存在が示唆された。国立病院機構での追加調査で呼吸管理効果の阻害要因を検索し対策を構築する。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

所属施設の倫理申請を行い承認を得た。現在追加調査を実施中である。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
Genetic profile for suspected dysferlinopathy identified by targeted next-generarion sequencing	Izumi R, Niihori T, Takahashi T, et al.	Neurology Genetics	12 月 10 日	国外
三好型ミオパチー	髙橋俊明	Clinical Neuroscience	3 月 1 日	国内

（２）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・

口頭・ポスター発表の別)		(学会等名)		外の別
神経筋疾患患者のインターネット使用状況調査について、ポスター	相沢祐一、髙橋俊明、他	新潟(第 56 回日本神経学会学術大会)	5 月 20～23 日	国内
Dysferlin 遺伝子診断への次世代シークエンサーの導入と日本人の遺伝子変異の特徴	髙橋俊明、他	大阪(第 2 回筋ジストロフィー医療研究会)	10 月 23～24 日	国内

(3)「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所(シンポジウム名等)	発表した時期	国内・外の別
今できる治療をきちんと受けよう　運動・嚥下・呼吸機能障害	髙橋俊明	札幌(市民公開講座 知っておきたい筋ジストロフィー@札幌)	10 月 4 日	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

(4)特許出願一覧(発明の名称)

報告様式4別紙1の通り

Ⅲ. 活動(運営委員会等の活動等)

筋強直性ジストロフィー治験推進のための基盤整備の研究班 2015 年度ワークショップ

筋強直性ジストロフィー治験推進のための基盤整備の研究班班会議

第 2 回筋ジストロフィーの CNS 障害研究会
第 3 回北海道東北筋強直性ジストロフィー医療研究会

Ⅳ．実施体制
　研究開発参加者リストの通り

Genetic profile for suspected dysferlinopathy identified by targeted next-generation sequencing

OPEN

Rumiko Izumi, MD, PhD
Tetsuya Niihori, MD, PhD
Toshiaki Takahashi, MD, PhD
Naoki Suzuki, MD, PhD
Maki Tateyama, MD, PhD
Chigusa Watanabe, MD, PhD
Kazuma Sugie, MD, PhD
Hirotaka Nakanishi, MD, PhD
Gen Sobue, MD, PhD
Masaaki Kato, MD, PhD
Hitoshi Warita, MD, PhD
Yoko Aoki, MD, PhD
Masashi Aoki, MD, PhD

Correspondence to Dr. Masashi Aoki: aokim@med.tohoku.ac.jp

ABSTRACT

Objective: To investigate the genetic causes of suspected dysferlinopathy and to reveal the genetic profile for myopathies with dysferlin deficiency.

Methods: Using next-generation sequencing, we analyzed 42 myopathy-associated genes, including *DYSF*, in 64 patients who were clinically or pathologically suspected of having dysferlinopathy. Putative pathogenic mutations were confirmed by Sanger sequencing. In addition, copy-number variations in *DYSF* were investigated using multiplex ligation-dependent probe amplification. We also analyzed the genetic profile for 90 patients with myopathy with dysferlin deficiency, as indicated by muscle specimen immunohistochemistry, including patients from a previous cohort.

Results: We identified putative pathogenic mutations in 38 patients (59% of all investigated patients). Twenty-three patients had *DYSF* mutations, including 6 novel mutations. The remaining 16 patients, including a single patient who also carried the *DYSF* mutation, harbored putative pathogenic mutations in other genes. The genetic profile for 90 patients with dysferlin deficiency revealed that 70% had *DYSF* mutations (n = 63), 10% had *CAPN3* mutations (n = 9), 2% had *CAV3* mutations (n = 2), 3% had mutations in other genes (in single patients), and 16% did not have any identified mutations (n = 14).

Conclusions: This study clarified the heterogeneous genetic profile for myopathies with dysferlin deficiency. Our results demonstrate the importance of a comprehensive analysis of related genes in improving the genetic diagnosis of dysferlinopathy as one of the most common subtypes of limb-girdle muscular dystrophy. Unresolved diagnoses should be investigated using whole-genome or whole-exome sequencing. ***Neurol Genet* 2015;1:e36; doi: 10.1212/NXG.0000000000000036**

GLOSSARY

CK = creatine kinase; **DM** = distal myopathy; **HGMD** = Human Gene Mutation Database; **LGMD** = limb-girdle muscular dystrophy; **MLPA** = multiplex ligation-dependent probe amplification; **MMD** = Miyoshi muscular dystrophy; **XHMM** = eXome-Hidden Markov Model.

Dysferlinopathies are a group of autosomal recessive muscular dystrophies caused by mutations in *DYSF*. There are 3 main phenotypes: Miyoshi muscular dystrophy 1 (MMD1; OMIM #254130), limb-girdle muscular dystrophy type 2B (LGMD2B; OMIM #253601), and distal myopathy with anterior tibial onset (OMIM #606768). *DYSF* is located on chromosome 2p13.3-p13.1. It is composed of 55 exons coding for 2,080 amino acid residues, which form the dysferlin protein (approximately 230 kDa).[1] Dysferlin is expressed in the plasma membrane of skeletal muscles[2] and is involved in calcium-mediated membrane fusion events and membrane repair.[3,4] Patients with *DYSF* mutations have very low levels of dysferlin expression in

See editorial

See related article

Supplemental data at Neurology.org/ng

From the Departments of Neurology (R.I., N.S., M.T., M.K., H.W., M.A.) and Medical Genetics (R.I., T.N., Y.A.), Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan; Department of Neurology (T.T.), National Hospital Organization Sendai-Nishitaga, National Hospital, Sendai, Japan; Department of Neurology (M.T.), Iwate National Hospital, Ichinoseki, Japan; Department of Neurology (C.W.), Hiroshima-Nishi Medical Center, Hiroshima, Japan; Department of Neurology (K.S.), Nara Medical University, Nara, Japan; and Department of Neurology (H.N.) and Research Division for Neurodegeneration and Dementia (G.S.), Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan.

Funding information and disclosures are provided at the end of the article. Go to Neurology.org/ng for full disclosure forms. The Article Processing Charge was paid by the authors.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License 4.0 (CC BY-NC-ND), which permits downloading and sharing the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially.

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

skeletal muscle membranes (called primary dysferlinopathy).[2,5,6] Secondary dysferlin deficiency or altered localization due to mutation of the non-*DYSF* gene has also been reported in patients with dystrophinopathy,[7] sarcoglycanopathy,[7] caveolinopathy,[8–10] or calpainopathy[8,11–13] (often classified as secondary dysferlinopathy). Thus, the definitive diagnosis of dysferlinopathy requires identification of the *DYSF* mutation. Since 1998, our group has performed mutation analysis for *DYSF* in more than 160 families suspected of having dysferlinopathy using PCR–single-strand conformational polymorphism analysis or Sanger sequencing.[1,14,15] We previously identified >50 different mutations across the entire *DYSF* gene in approximately 60% of the patients.[1,14,15] We did not find *DYSF* mutations in the remaining approximately 40% of the patients, which suggests that these patients may have mutations in other myopathy-associated genes.

The aim of this study was to conduct targeted next-generation sequencing of myopathy-associated genes to reanalyze the patients with suspected dysferlinopathy who did not previously show *DYSF* mutations. This should enable us to reveal the genetic profile for myopathies with dysferlin deficiency.

METHODS

Standard protocol approvals, registrations, and patient consents. This study was approved by the Ethics Committee of the Tohoku University School of Medicine, and all individuals gave their informed consent before their inclusion.

Patients. ***Cohort for targeted next-generation sequencing (cohort 1).*** PCR–single-strand conformational polymorphism analysis or Sanger sequencing of *DYSF* had previously been performed in 150 probands with suspected dysferlinopathy: 98 of them (65.3%) were diagnosed with *DYSF* mutations and 52 (34.7%) remained undiagnosed, with no pathogenic mutation in 43 and single heterozygous mutations in 9 (table e-1 at Neurology.org/ng). A total of 64 patients, including the above-mentioned prescreened but undiagnosed 52 patients and 12 newly enrolled patients, were analyzed using targeted next-generation sequencing. Of the 64 patients analyzed, a deficiency or reduction in sarcolemmal dysferlin was confirmed in 41 patients using immunohistochemical analysis of dysferlin in muscle samples (classified as "pathologically proven cases"), whereas dysferlin deficiencies were not confirmed in the remaining 23 patients, mainly because muscle biopsies or immunohistochemical analyses for dysferlin had not been performed (classified as "clinically suspected cases") (table 1). All of the 23 patients had teenage-to-adult–onset slowly progressive myopathy without predominant cardiac dysfunction or early-onset respiratory dysfunction with at least 1 of the dysferlinopathy-likely phenotypes: initial or strong involvement of the flexor muscles in distal lower limbs (15 of 23 patients) or a moderate-to-extreme increase (>1,000 IU/L) in serum creatine kinase (CK) levels (12 of 23 patients).

Cohort for analyzing the genetic profile in the pathologically proven cases (cohort 2). To analyze the genetic profile in

Table 1 Constitution and results for 2 cohorts

	Pathologically proven cases (cohort 2)		Clinically suspected cases		Total
Previously diagnosed cases		N = 49		N = 51	N = 100
	DYSF	47	*DYSF*	51	
	non-*DYSF*	2			
	CAPN3	1			
	CAV3	1			
Patients analyzed by targeted next-generation sequencing (cohort 1)		N = 41		N = 23	N = 64
	DYSF	16[a]	*DYSF*	7	23[a] (table 3)
	non-*DYSF*	12[a]	non-*DYSF*	4	16[a] (table 4)
	CAPN3	8	*CAPN3*	2	
	DYSF/MYOT/CAV3	1[a]	*GNE*	1	
	CAV3	1	*MYH2*	1	
	ANO5	1			
	GNE	1			
	Undiagnosed	14	Undiagnosed	12	26
Total		N = 90		N = 74	N = 164

[a] Includes 1 patient (Dys149-1) with putative pathogenic mutations detected in *DYSF*, *MYOT*, and *CAV3*, who was counted in both *DYSF* and non-*DYSF* groups.

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

the pathologically proven cases, the 47 patients with previously identified *DYSF* mutations[1,14,15] and the 2 patients with *CAPN3* and *CAV3*[10] mutations were combined with the aforementioned 41 undiagnosed but pathologically proven cases, amounting to a total of 90 patients in this cohort (table 1).

Immunohistochemical analysis for dysferlin. Immunohistochemical analysis for dysferlin in muscle samples was performed in the institution or hospital that the patient visited. Although the detailed methods may not have been identical in all cases, most cases were investigated by the avidin–biotin–peroxidase complex immunostaining method using the mouse monoclonal antibody to dysferlin (NCL-Hamlet; Leica Biosystems, Wetzlar, Germany) as the primary antibody.

Targeted next-generation sequencing. We selected 42 genes that have been reported to cause adult-onset myopathy or muscular dystrophy (table 2). The targeted regions were designed using the SureDesign system (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) to include all coding exons with 3′ and 5′ intronic 25-bp flanking bases (the regional source for coding exons was extracted from RefSeq, CCDS, Ensemble, Gencode, or Vega databases) and 3′ and 5′ untranslated regions. The targeted region for *DYSF* was designed to include 58 exons (i.e., exon 1–55, the alternative first exon, and exons 5a and 40a) to cover all alternative spliced variants. Of the total targeted region of 498.98 kb, 488.98 kb (98.08% coverage) was expected to be covered by 17,143 amplicons. Genomic DNA from the targeted region was captured using the HaloPlex target-enrichment system (Agilent Technologies). Targeted libraries were sequenced using the MiSeq platform, according to the manufacturer's instructions (Illumina, San Diego, CA). Paired 151-bp reads were aligned to the reference human genome (UCSChg19) using the Burrows–Wheeler Alignment tool.[16] Single-nucleotide variants and indels were identified using the Genome Analysis Toolkit v1.5.[17] Single-nucleotide variants and indels were annotated against the RefSeq and Single Nucleotide Polymorphism databases (dbSNP137) in the ANNOVAR program.[18] We used the PolyPhen-2 polymorphism phenotyping software tool and SIFT[19,20] to predict the functional effects of mutations and eXome-Hidden Markov Model (XHMM, http://atgu.mgh.harvard.edu/xhmm/) to call copy-number variations. We extracted variations that were listed as myopathy-causing mutations in the Human Gene Mutation Database (HGMD; provided by BIOBASE, Waltham, MA). For further analysis, we filtered variations satisfying all of the following conditions: variations located in exon or splice sites that were not detected in the control DNA included in the HaloPlex target enrichment system, variations that were covered by a minimum of 20 reads with a genotype quality score of at least 80, and variations with an altered allele frequency that ranged from 0.3 to 0.7 in the heterozygous state or that was greater than 0.7 in the homozygous state. Among these, nonsynonymous variants that either were absent or had a frequency of $<1\%$ in both the 1000 Genomes Database and the Human Genetic Variation Database (http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/) were left as rare variants.

Sanger sequencing. We performed Sanger sequencing to confirm that the mutations identified by exome sequencing segregated with the disease. PCR products were purified using a MultiScreen-PCR plate (Millipore, Billerica, MA) followed by sequencing with a 3500xL Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA).

Multiplex ligation-dependent probe amplification. To investigate copy-number variation in *DYSF*, we performed multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) with SALSA MLPA probemix P268-A1 DYSF (MRC Holland, Amsterdam, the Netherlands) according to the manufacturer's instructions. This MLPA design contains probes to amplify 40 of the 58 exons. Genomic DNA (50–250 ng) was hybridized using the probemix. After ligation and amplification, the PCR products were separated by size using a 3130xL Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific). Relative peak areas were calculated with GeneMapper software (Thermo Fisher Scientific).

Subcloning. To investigate the allelic condition of multiple heterozygous mutations in a particular gene, we performed subcloning of PCR products. Long-range PCR was performed under optimized long-PCR conditions using LA Taq polymerase (Takara, Shiga, Japan). The PCR products were subcloned into the vector pCR2.1 TOPO (Invitrogen, Waltham, MA). Several clones were randomly picked from each bacterial culture, and DNA was extracted for Sanger sequencing.

RESULTS

Targeted next-generation sequencing. An average of 96.8% (92.6%–98.2%) and 93.7% (84.6%–97.6%) of the overall targeted regions had at least 10- and 30-fold coverage, respectively (table e-2). The average read depth calculated for each gene ranged from 207 (*GFPT1*) to 429 (*CAV3*). An average of 89.7% (*FKRP*) to 99.9% (*CAPN3*) of the targeted regions had at least 10-fold coverage, and 83.1% (*FKRP*) to 99.4% (*TRIM32*) of the targeted regions had at least 30-fold coverage. These regions corresponded to those estimated to have been uncaptured by any amplicon. The sequencing data covered 99.4% and 98.1% of the targeted *DYSF* region with at least 10- and 30-fold coverage, respectively, with an average read depth of 388.

With reference to the HGMD, 0–3 myopathy-causing mutations were extracted per individual. After filtering with the quality-related and frequency thresholds described earlier, 0–17 rare nonsynonymous variants remained per individual. After considering the predicted functional effect, pattern of inheritance, and clinical information, putative pathogenic variants were detected in 38 of 64 patients (26 of 52 prescreened undiagnosed patients and all 12 newly enrolled patients).

Twenty-three of the 38 mutation-positive patients (12 of 52 prescreened undiagnosed patients and 11 of 12 newly enrolled patients) had *DYSF* mutations; these included 6 novel mutations (tables 1 and 3). Novel homozygous deletion of exons 37 and 38 (Dys194-1) and heterozygous deletion of exons 37 to 41 (Dys119-1-2) were predicted by XHMM software and confirmed by MLPA and Sanger sequencing, which revealed deletions of 5,862 and 51,161 bps, respectively.

The remaining 16 patients (15 of 52 prescreened undiagnosed patients and 1 of 12 newly enrolled patients), including a single patient (Dys149-1) in whom the *DYSF* mutation was simultaneously detected, were revealed to harbor known or rare

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Table 2 The 42 myopathy-associated genes targeted in this study

Gene symbol	Position	Representative phenotype	OMIM no.	RefSeq no.	No. of coding exons	Transcript length, bp	Protein (aa)
ANO5	11p14.3	LGMD2L	611307	NM_213599	22	6,651	913
BAG3	10q25.2-q26.2	Myopathy, myofibrillar, 6	612954	NM_004281	4	2,571	575
CAPN3	15q15.1-q15.3	LGMD2A	253600	NM_000070	24	3,228	821
CAV3	3q25	LGMD1C	607801	NM_033337	2	1,431	151
COL6A1	21q22.3	Bethlem myopathy	158810	NM_001848	35	4,238	1,028
COL6A2	21q22.3	Bethlem myopathy	158810	NM_001849	28	3,461	1,019
COL6A3	2q37	Bethlem myopathy	158810	NM_004369	44	10,749	3,177
CRYAB	11q22.3-q23.1	Myopathy, myofibrillar, 2	608810	NM_001289807	3	1,017	175
DAG1	3p21.31	LGMD2P	613818	NM_001177634	6	5,829	895
DES	2q35	LGMD2R	615325	NM_001927	9	2,248	470
DNAJB6	7q36.3	LGMD1E	603511	NM_058246	10	2,527	326
DNM2	19q13.2	Myopathy, centronuclear	160150	NM_004945	20	3,588	866
DYSF	2p13.3-p13.1	LGMD2B	253601	NM_003494	55	6,796	2,080
EMD	Xq28	Emery–Dreifuss muscular dystrophy 1, X-linked	310300	NM_000117	6	1,379	254
FHL1	Xq27.2	Emery-Dreifuss muscular dystrophy 6, X-linked	300696	NM_001159704	6	2,888	280
FKRP	19q13.3	LGMD2I	607155	NM_024301	4	3,332	495
FKTN	9q31	LGMD2M	611588	NM_006731	10	7,364	461
FLNC	7q32	Myopathy, myofibrillar, 5	609524	NM_001458	48	9,188	2,725
GFPT1	2p13	Myasthenia, congenital, with tubular aggregates 1	610542	NM_001244710	20	8,703	699
GNE	9p13.3	Inclusion body myopathy, autosomal recessive	600737	NM_001128227	12	5,298	753
KLHL9	9p22	Early-onset distal myopathy	NA	NM_018847	1	5,710	617
LDB3	10q22.2-q23.3	Myopathy, myofibrillar, 4	609452	NM_001171610	14	5,436	732
LMNA	1q21.2	LGMD1B	159001	NM_170707	12	3,190	664
MATR3	5q31.2	Amyotrophic lateral sclerosis 21	606070	NM_001194954	18	5,604	847
MYH2	17p13.1	Inclusion body myopathy 3	605637	NM_017534	40	6,339	1,941
MYH7	14q12	Laing distal myopathy	160500	NM_000257	40	6,087	1,935
NEB	2q22	Nemaline myopathy 2, autosomal recessive	256030	NM_004543	150	20,637	6,669
PLEC1	8q24	LGMD2Q	613723	NM_000445	33	14,787	4,574
POMGNT1	1p34-p33	LGMD2O	613157	NM_001243766	23	2,934	748
POMT1	9q34.1	LGMD2K	609308	NM_001136113	20	3,320	725
POMT2	14q24.3	LGMD2N	613158	NM_013382	21	4,876	750
SGCA	17q12-q21.33	LGMD2D	608099	NM_000023	10	1,432	387
SGCB	4q12	LGMD2E	604286	NM_000232	6	4,431	318
SGCD	5q33	LGMD2F	601287	NM_000337	9	1,606	290
SGCG	13q12	LGMD2C	253700	NM_000231	8	1,624	291
TCAP	17q12	LGMD2G	601954	NM_003673	2	2,123	167
TPM2	9p13.2-p13.1	Nemaline myopathy 4, autosomal dominant	609285	NM_003289	9	1,189	284
TPM3	1q22-q23	Nemaline myopathy 1, autosomal dominant or recessive	609284	NM_001278188	8	3,131	248
TRIM32	9q31-q34.1	LGMD2H	254110	NM_012210	2	3,717	653
TTID	5q31	LGMD 1A	159000	NM_006790	10	2,337	498
TTN	2q31	LGMD2J	608807	NM_001267550	363	109,224	35,991
VCP	9p13-p12	Inclusion body myopathy with early-onset Paget disease and frontotemporal dementia 1	167320	NM_007126	17	4,370	806

Abbreviations: LGMD = limb-girdle muscular dystrophy; NA = not available.

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Table 3 Summary of known or putative pathogenic *DYSF* mutations detected in this study

ID	Zygosity	Mutation type	Nucleotide change	Protein change	Listed in HGMD	dbSNP137	MAF in 1000 Genomes	MAF in HGVD	SIFT[a]	PolyPhen-2[b]
Pathologically proven cases										
Dys92-1	Het	Missense	c.356T>C	p.L119P	No		NA	NA	D	D
	Het	Missense	c.2997G>T	p.W999C	Yes	rs28937581	NA	NA	D	D
Dys129-1	Het	Nonsense	c.3444_3445delinsAA	p.Y1148X	Yes		NA	NA		
	Het	Nonsense	c.5903G>A	p.W1968X	Yes		NA	NA		
Dys149-1	Hom	Missense	c.1667T>C	p.L556P	Yes	rs200916654	0.0005	NA	D	P
Dys154-1	Hom	Nonsense	c.6135G>A	p.W2045X	Yes		NA	NA		
Dys166-1	Het	Frameshift	c.4200delC	p.P1400Pfs48X	Yes		NA	NA		
	Het	Missense	c.3118C>T	p.R1040W	Yes		NA	NA	D	D
Dys168-1	Het	Nonsense	c.2494C>T	p.Q832X	Yes	rs199543257	0.0005	NA		
	Het	Missense	c.2974T>C	p.W992R	Yes		NA	NA	D	D
Dys192-1	Hom	Missense	c.5078G>A	p.R1693Q	Yes		NA	NA	D	D
Dys194-1	Hom	Gross deletion	exon37-38del[c]		No		NA	NA		
Dys119-1-2	Het	Gross deletion	exon37-41del[d]		No		NA	NA		
	Het	Nonsense	c.3244G>T	p.E1082X	No		NA	NA		
Dys211-1	Het	Missense	c.2997G>T	p.W999C	Yes	rs28937581	NA	NA	D	D
	Het	Missense	c.5077C>T	p.R1693W	Yes		NA	NA	D	D
Dys213-1	Hom	Splicing	c.2644-2A>G		Yes		NA	0.001166		
Dys215-1	Het	Nonsense	c.1566C>G	p.Y522X	Yes		NA	NA		
	Het	Nonsense	c.2494C>T	p.Q832X	Yes	rs199543257	0.0005	NA		
Dys216-1	Hom	Missense	c.2974T>C	p.W992R	Yes		NA	NA	D	D
Dys218-1	Het	Splicing	c.663+1G>C		Yes		NA	NA		
	Het	Missense	c.2997G>T	p.W999C	Yes	rs28937581	NA	NA	D	D
Dys219-1	Het	Missense	c.2974T>C	p.W992R	Yes		NA	NA	D	D
	Het	Frameshift	c.3373delG	p.E1125Kfs9X	Yes		NA	NA		
Dys220-1	Hom	Nonsense	c.1566C>G	p.Y522X	Yes		NA	NA		
Clinically suspected cases										
Dys71-1	Het	Missense	c.356T>C	p.L119P	No		NA	NA	D	D
	Het	Missense	c.2997G>T	p.W999C	Yes	rs28937581	NA	NA	D	D
Dys116-1	Het	Missense	c.565C>G	p.L189V	Yes	rs13407355	0.02	0.020276	T	B
	Het	Missense	c.5873C>T	p.S1958F	No		NA	0.001166	D	D
	Het	Nonsense	c.6135G>A	p.W2045X	Yes		NA	NA		

Continued

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Table 3 Continued

ID	Zygosity	Mutation type	Nucleotide change	Protein change	Listed in HGMD	dbSNP137	MAF in 1000 Genomes	MAF in HGVD	SIFT[a]	PolyPhen-2[b]
Dys132-1	Hom	Missense	c.1667T>C	p.L556P	Yes	rs200916654	0.0005	NA	D	P
Dys155-1	Hom	Nonsense	c.5713C>T	p.R1905X	Yes	rs121908959	NA	NA		
Dys207-1	Hom	Splicing	c.2643+1G>A		Yes	rs140108514	NA	NA		
Dys208-1	Hom	Missense	c.1663C>T	p.R555W	Yes		NA	NA	D	D
Dys210-1	Het	Missense	c.6196G>A	p.A2066T	Yes		NA	NA	T	B
	Het	Frameshift	c.5900delG	p.G1967Afs6X	No		NA	NA		

Abbreviations: HGMD = Human Gene Mutation Database; HGVD = Human Genetic Variation Database; Het = heterozygous; Hom = homozygous; MAF = minor allele frequency; NA = not available.
[a] SIFT scores are described as D = deleterious (SIFT ≤ 0.05); T = tolerated (SIFT >0.05).
[b] PolyPhen-2 (pp2_hvar) scores are described as D = probably damaging (≥0.909); P = possibly damaging (0.447 ≤ pp2_hdiv ≤ 0.909); B = benign (pp2_hdiv ≤ 0.446).
[c] Mutations are described according to NM_003494.3: c.3903+3532_c.4167+572del5862.
[d] Mutations are described according to NM_003494.3: c.3903+1161_c.4510-1036del51161.

mutations in non-*DYSF* genes (tables 1 and 4). Of these, novel or known mutations in *CAPN3* were detected in 10 patients, accounting for the majority of non-*DYSF* genes. The heterozygous p.V805A mutation in *MYH2*, which is a known mutation leading to inclusion body myositis,[21] was detected in Dys86-1. The pathogenicity of this mutation remained uncertain because of the lack of relevant information in muscle pathology.

Subsequently, MLPA was performed for the remaining 27 patients (table e-1), including all 14 patients who were undiagnosed after targeted sequencing but were pathologically proven, through targeted next-generation sequencing. We detected no additional duplications or deletions in *DYSF* (table e-1).

Genetic profile for pathologically proven cases. Figure 1 shows the genetic profile of the 90 pathologically proven cases (patients who showed sarcolemmal dysferlin deficiency in immunohistochemical analyses). Intriguingly, the 63 patients (47 previously diagnosed patients and 16 newly diagnosed patients) with *DYSF* mutations accounted for only 70% of cases, *CAPN* mutations accounted for 10% of cases (9/90), and *CAV3* mutations accounted for 2% of cases (2/90). The other genetic profile included mutations in *ANO5*, *GNE*, and *MYOT* (together with *CAV3* and *DYSF*), each of which was detected in a single individual. Clinical information for the remaining 14 patients who showed secondary dysferlin deficiency due to putative pathogenic mutations in non-*DSYF* genes is summarized in table 5.

DISCUSSION

We performed targeted next-generation sequencing of 42 myopathy-associated genes in 64 patients with clinically or pathologically suspected dysferlinopathy. We found possible pathogenic mutations in *DYSF* or other genes in 38 patients (59.4%). The use of this targeted resequencing technique improved positive genetic detection from 65.3% (98/150 patients) to 82.7% (124/150 patients) overall, owing to (1) the detection of previously unrevealed *DYSF* mutations, including gross deletions, and (2) the comprehensive sequencing of non-*DYSF* genes and the detection of novel or known mutations in these genes.

Although secondary dysferlin deficiency can be caused by *CAPN3* mutations,[11–13] the exact frequency of *CAPN3* mutations in patients with dysferlin deficiency has not been reported previously. Human *CAPN3* is located on chromosome 15q15.1-15.3, comprises 24 exons, and codes a Ca^{2+}-dependent cysteine protease called calpain 3 (p94). Across the entire *CAPN3* gene, nearly 300 mutations have been reported to be pathogenic and the cause of LGMD2A (OMIM #253600),[22] which is estimated to be the most frequent type of LGMD in the Japanese

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Table 4 Summary of known or putative pathogenic non-*DYSF* mutations detected in this study

ID	Gene	Zygosity	Mutation type	Nucleotide change	Protein change	Listed in HGMD	dbSNP137	MAF in 1000 genomes	MAF in HGVD	SIFT[a]	PolyPhen-2[b]
Pathologically proven cases											
Dys76-1	*CAPN3*	Het	Missense	c.2105C>T	p.A702V	Yes		NA	NA	D	D
			Missense	c.2120A>G	p.D707G	Yes	rs200379491	0.0005	0.005	D	D
Dys79-1	*CAPN3*	C/H	Missense	c.992T>A	p.V331D	No		NA	NA	D	D
			Splicing	c.1194-9A>G		Yes		NA	0.001166		
Dys81-1	*CAPN3*	Hom	Missense	c.1524+1G>T		Yes		NA	NA		
Dys88-1	*CAPN3*	C/H	Missense	c.1435A>G	p.S479G	Yes	rs201736037	NA	NA	D	P
			Nonsense	c.1786A>T	p.K596X	No		NA	NA		
Dys91-1	*GNE*	Hom	Missense	c.1714G>C	p.V572L	Yes	rs121908632	0.0005	0.004283	D	D
Dys112-1	*CAPN3*	Hom	Missense	c.1381C>T	p.R461C	Yes		NA	0.002232	D	D
Dys149-1	*MYOT*	Het	Missense	c.1214G>A	p.R405K	Yes		NA	NA	T	B
	CAV3	Het	Missense	c.40G>A	p.V14I	No	rs121909281	0.0014	0.001255	T	B
Dys185-1	*PLEC*	Hom	Splicing	c.4126-4A>G		Yes	rs7002152	0.25	0.188366		
Dys189-1	*CAPN3*	C/H	Missense	c.2120A>G	p.D707G	Yes	rs200379491	0.0005	0.005	D	D
			Frameshift	c.2287_2288del	p.Y763X	No		NA	NA		
Dys195-1	*CAPN3*	Hom	Frameshift	c.7delA	p.T3Pfs54X	No		NA	NA		
Dys201-1	*ANO5*	Hom	Splicing	c.180+2T>C		No		NA	NA		
Dys203-1	*CAV3*	Het	Missense	c.122T>C	p.F41S	No		NA	NA	D	D
Dys214-1	*CAPN3*	C/H	Splicing	c.1194-9A>G		Yes		NA	0.001166		
			Missense	c.1742C>G	p.S581C	Yes		NA	0.013158	D	D
Clinically suspected cases											
Dys45-1	*GNE*	Het	Missense	c.1714G>C	p.V572L	Yes	rs121908632	0.0005	0.004283	D	D
			Del/ins	c.907_908delinsGT	p.C303V	Yes	rs121908633	NA	NA	D	P
Dys53-1	*CAPN3*	Het	Missense	c.1202A>G	p.Y401C	Yes		NA	0.001166	D	D
			Missense	c.1892A>G	p.D631G	No		NA	NA	D	B
Dys86-1	*MYH2*	Het	Missense	c.2414T>C	p.V805A	Yes	rs200662973	0.0018	0.009337	T	B
Dys188-1	*CAPN3*	Het	Missense	c.1465C>T	p.R489W	Yes		NA	NA	D	D
			Missense	c.1892A>G	p.D631G	No		NA	NA	D	B

Abbreviations: C/H = compound heterozygous; HGMD = Human Gene Mutation Database; HGVD = Human Genetic Variation Database; Het = heterozygous; Hom = homozygous; MAF = minor allele frequency; NA = not available.

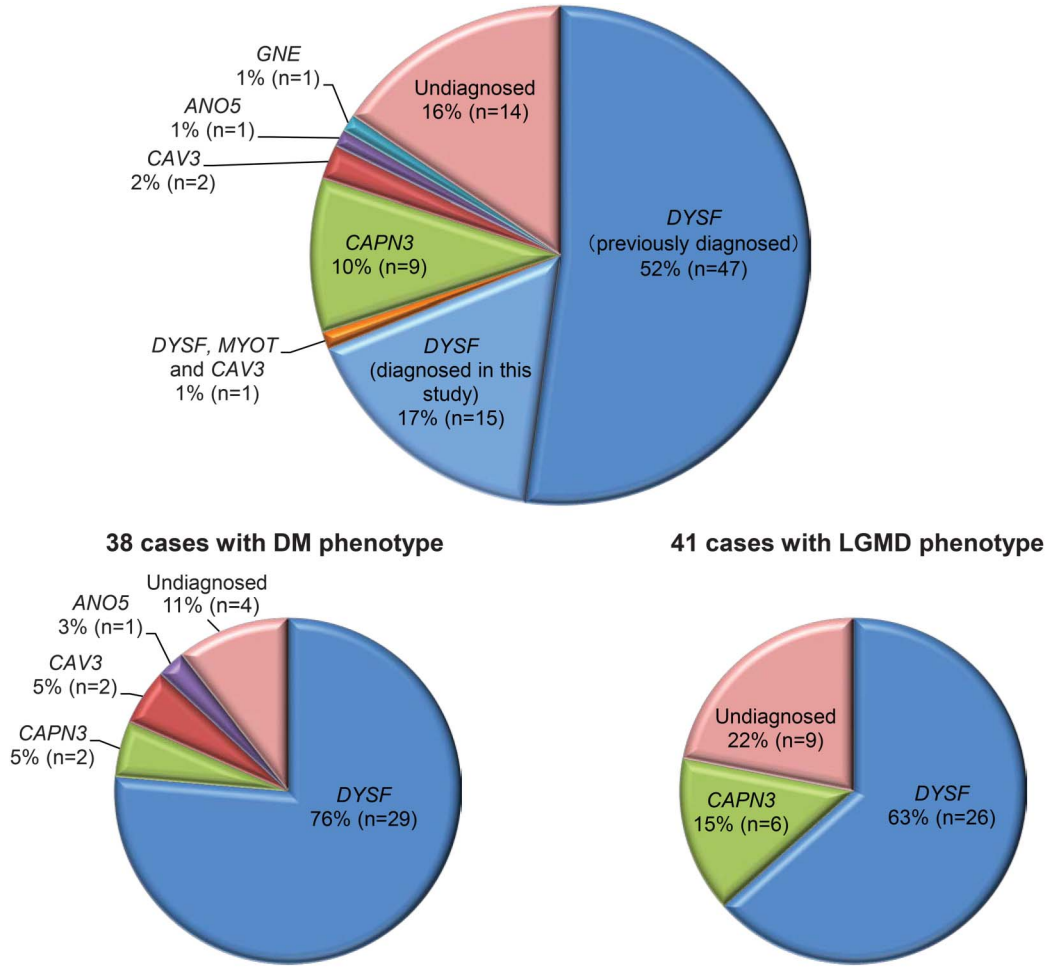
Mutations are described according to the following RefSeq numbers. *ANO5*: NM_213599, *BAG3*: NM_004281.3, *CAPN3*: NM_000070, *CAV3*: NM_033337, *FKRP*: NM_024301.4, *GNE*: NM_005476, *MYOT*: NM_006790, *MYH2*: NM_017534, *PLEC*: NM_000445.3.

[a] SIFT scores are described as D = deleterious (SIFT ≤ 0.05); T = tolerated (SIFT > 0.05).

[b] PolyPhen-2 (pp2_hvar) scores are described as D = probably damaging (≥0.909); P = possibly damaging (0.447 ≤ pp2_hdiv ≤ 0.909); B = benign (pp2_hdiv ≤ 0.446).

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Figure 1 Genetic profile of 90 patients with dysferlin deficiency



DYSF mutations were identified in a total of 63 patients (70%). Nine patients (10%) were diagnosed with *CAPN3* mutations. Of the 90 patients, 38 and 41 manifested as distal myopathy (DM) and limb-girdle muscular dystrophy (LGMD), respectively, and the remaining 11 were unclassifiable. The genetic profiles for each manifestation are also shown. The proportion of *DYSF* mutations was more frequent for the DM phenotype (76%) than for the LGMD phenotype (63%), whereas *CAPN3* mutations were more frequent in the LGMD phenotype (15%) than in the DM phenotype (5%).

population.[8] In this study, although mutations in *CAPN3* were essentially distributed sporadically, thus not suggesting a specific genotype to associate with dysferlin deficiency, our result of 10% frequency in *CAPN3* mutations with dysferlin deficiency emphasizes the necessity for genetic analysis of both genes.

Clinically, 2 of the 9 patients with *CAPN3* mutations manifested atypically with a distal myopathy (DM) phenotype rather than LGMD (figure 1, table 5). One of the patients with DM (Dys189-1) had weakness of the tibialis anterior muscle as an initial symptom and showed gastrocnemius muscle atrophy, closely resembling MMD1 (table 5).

Immunohistochemistry for calpain 3 revealed reduced expression in this patient. The other patient (Dys88-1) also had distal weakness with wasting, particularly in the tibialis anterior muscle. Although immunohistochemistry for calpain 3 was rarely investigated in our cases of dysferlinopathy, a secondary reduction in calpain 3 with *DYSF* mutations has also been reported.[23] These findings indicate that it is difficult to distinguish calpainopathy from dysferlinopathy, even when considering clinical information together with immunohistochemical analysis of both proteins. Genetic analysis of both genes would be valuable for genetic counseling, clinical management,[24] and possible specific genetic therapies in the future.

Non-*DYSF* and non-*CAPN3* genes were responsible for 5% of patients with dysferlin deficiencies (figure 1, table 5). A novel *CAV3* mutation was identified in Dys203-1, and immunohistochemical analyses in this patient showed reduced expression of both dysferlin and caveolin, confirming the diagnosis. Together with the known homozygous p.L556P mutation in *DYSF*, a known heterozygous p.R405K mutation in *MYOT* and a rare mutation of p.V14I in *CAV3* were detected in 1 patient (Dys149-1). This

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Table 5 Clinical characteristics for the 14 patients who showed secondary dysferlin deficiency

ID	Gene	Mutation	Sex, population, family history	Initial manifestation	Phenotype	Distribution of affected muscles	Serum CK, IU/L	Muscle pathology	Immunohistochemical detection of dysferlin
Dys201-1	*ANO5*	Hom, c.180+2T>C	Male, Japanese, sporadic	54 y, walking disability	DM	GC, BF, AM	4,489	Inflammation and degeneration	Reduced expression (figure e-1)
Dys70-1	*CAV3*	Het, p.R27Q	Female, Japanese, sporadic	12 y, hyperCK	DM	Small muscles of hands and feet	2,092	Mild myopathic change and type 1 fiber predominance	Reduced expression (not shown)
Dys203-1	*CAV3*	Het, p.F41S	Male, Japanese, sporadic	43 y, hyperCK	DM	GC, RF, Ham	2,295	Degeneration with RVs and neuropathic change	Reduced expression (figure e-1)
Dys189-1	*CAPN3*	C/H, p.D707G, p.763_763del	Male, Japanese, sister	19 y, walking disability	DM	TA, IP (weakness); GC, BF (atrophy)	3,695	Mild myopathic change	Reduced expression (figure e-1)
Dys195-1	*CAPN3*	Hom, p.T3fs	Female, Egyptian, brother	NA	NA	NA	NA	Inflammation	Absent (not shown)
Dys214-1	*CAPN3*	C/H, c.1194-9A>G, p.S581C	Female, Japanese, sporadic	Childhood, walking disability	LGMD	Proximal and lower limb dominant	3,324	NA	Reduced expression (not shown)
Dys76-1	*CAPN3*	Possible C/H, p.A702V, p.D707G	Female, Japanese, sporadic	28 y, walking disability	LGMD	Diffuse	1,000–3,000	Degeneration	Reduced expression (not shown)
Dys79-1	*CAPN3*	C/H, c.1194-9A>G, p.V331D	Male, Japanese, sporadic	18 y, walking disability	LGMD	Proximal dominant with scapular wing	1,992	Degeneration with lobulated fibers	Reduced expression (not shown)
Dys81-1	*CAPN3*	Hom, c.1524+1G>T	Female, Japanese, brother	18 y, walking disability	LGMD	Proximal dominant	115	Degeneration	Reduced and mosaic expression (not shown)
Dys88-1	*CAPN3*	Possible C/H, p.S479G, p.K596X	Female, Australian, cousin	NA	DM	TA	NA	NA	Reduced expression (not shown)
Dys112-1	*CAPN3*	Hom, p.R461C	Male, Japanese, sporadic	43 y, grip weakness	Unclassifiable	BB	1,500	Dystrophic change	Reduced expression (not shown)
Dys209-1	*CAPN3*	Hom, c.1194-9A>G	Female, Japanese, sporadic	Childhood, walking disability	LGMD	Proximal dominant	261	Mild degeneration	Reduced expression (not shown)
Dys91-1	*GNE*	Hom, p.V572L	Male, Japanese, NA	NA	NA	NA	NA	RVs	Partial reduction (not shown)
Dys149-1	*MYOT*, *CAV3*	Het, p.R405K Het, p.V14I	Male, Japanese, sporadic	18 y, hyperCK	NA	No weakness or atrophy	>20,000	NA	Absent (figure e-1)

Abbreviations: AM = adductor magnus; BB = biceps brachii; BF = biceps femoris; C/H = compound heterozygous; CK = creatine kinase; DM = distal myopathy; GC = gastrocnemius; GM = gluteus maxim; Ham = hamstrings; Het = heterozygous; Hom = homozygous; IP = iliopsoas; LGMD = limb-girdle muscular dystrophy; NA = not available; RF = rectus femoris; RV = rimmed vacuole; TA = tibialis anterior.

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

patient was a sporadic case with isolated hyperCKemia. Thus, it is unknown whether the muscle pathology showing absent dysferlin was caused by the *DYSF* mutation or by the associated effects of multiple mutations. A novel homozygous *ANO5* splicing mutation was identified in Dys201-1. *ANO5* encodes the transmembrane protein anoctamin 5 and is the causative gene for MMD3 (OMIM #613319) and LGMD2L (OMIM #611307). Asymmetrical muscle atrophy was predominantly observed in the gastrocnemius, biceps femoris, and adductor magnus in this patient and is a possible distribution in both MMD1 and MMD3.[25] Expression of dysferlin in this patient was diffusely decreased, mimicking MMD1 (figure e-1). A homozygous *GNE* mutation was detected in Dys91-1, compatible with DM with rimmed vacuoles, and this patient had a partial reduction in dysferlin (figure e-1). Secondary dysferlin deficiency from mutations in *ANO5* or *GNE* has not been reported previously. Hence, further investigations are required to clarify the possible association between these mutations and dysferlin deficiency.

Even after the targeted next-generation sequencing, 26 of 64 patients (40.6%) remained undiagnosed. This means that undiagnosed patients accounted for 15.6% of pathologically proven cases (14/90 patients) and 16.2% of clinically suspected cases (12/74 patients), showing nonsignificant difference between the 2 groups (table 1). There are several possible explanations: (1) mutations in subtle unsequenced targeted regions were not detected in this study; (2) intronic *DYSF* mutations that might result in abnormal splicing were not detected because these regions, along with messenger RNA, were not investigated; (3) pathogenic mutations were excluded because of biased filtering or overfiltering; or, most probably; (4) other genes not targeted in this study may be responsible. More than 50 molecules have been reported to interact with dysferlin.[26–32] These molecules are encoded by a fraction of genes such as *CAPN3*, *CAV3*, *DES*, *FLNC*, and *FHL1*, which are already known to cause myopathies. The remaining molecules may well be the next candidates. The identification of novel molecules that cause dysferlin deficiency can help elucidate the mechanisms by which dysferlin achieves membrane repair.

The study had a few limitations. The targeted genes in this study did not include the *DMD* gene, whose mutation is reported to result in secondary dysferlinopathy.[7] The immunoblot assay of muscle samples was not performed because muscle samples were not available. Thus, the quantitative level of dysferlin expression in sarcolemma or cytoplasm remains undetermined. The allelic zygosity of the multiple heterozygous candidate variants was not confirmed in all patients for the following reasons: (1) long-range PCR was unsuccessful if the distance between variants was too long or genomic DNA was estimated to be fragmented, or (2) there was a lack of available genomic parental DNA.

We used targeted next-generation sequencing to effectively and comprehensively analyze mutations in myopathy-associated genes and to clarify the heterogeneous nature of the genetic profile in patients with suspected dysferlinopathy. Our results illustrate the importance of comprehensive analysis of related genes when performing genetic diagnosis for dysferlinopathy. We believe that the genes and molecules responsible for the cases in which diagnosis remained unresolved will be identified by future whole-exome sequencing projects.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Rumiko Izumi: principal author, designed the study, analyzed and interpreted the data, drafted the manuscript. Tetsuya Niihori and Yoko Aoki: designed the study, analyzed and interpreted the data, and revised the manuscript. Toshiaki Takahashi: acquired and provided data, performed the Sanger sequencing, and revised the manuscript. Naoki Suzuki, Masaaki Kato, and Hitoshi Warita: revised the manuscript. Maki Tateyama: performed the immunohistochemical analysis of the biopsied muscles and revised the manuscript. Chigusa Watanabe, Kazuma Sugie, Hirotaka Nakanishi, and Gen Sobue: acquired and provided data. Masashi Aoki: designed the study, revised the manuscript, and acquired funding.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the patients and their families and are grateful to Yoko Tateda, Kumi Kato, Naoko Shimakura, Risa Ando, Riyo Takahashi, and Chikako Yaginuma for their technical assistance. The authors also acknowledge the support of the Biomedical Research Core of Tohoku University Graduate School of Medicine.

STUDY FUNDING

This study was supported by an Intramural Research Grant (26-7 and 26-8) for Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP; the grant on Research on Rare and Intractable Diseases (H26-intractable disease 037 and 082) from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan; Grants-in-Aid for research on rare and intractable diseases from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (H26-nanchitou(nan)-ippan-079); Research Grant for Comprehensive Research on Disability Health and Welfare from the Ministry of Health, Labour and Welfare (H26-shinkei-kin-ippan-004); and Grant-in-Aid for Challenging Exploratory Research (26670436) from the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology.

DISCLOSURE

Dr. Izumi, Dr. Niihori, and Dr. Takahashi report no disclosures. Dr. Suzuki has received research support from Grant-in-Aid for Challenging Exploratory Research (26670436), Scientific Research B (25293199), and Young Scientists A (15H05667) from the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology. Dr. Tateyama has received honoraria for lecturing from Daiichi Sankyo company and has received research support from Japan Society for the Promotion of Science (JSPS). Dr. Watanabe, Dr. Sugie, and Dr. Nakanishi report no disclosures. Dr. Sobue has served on the scientific advisory boards of Kanae Science Foundation for the Promotion of Medical Science, the Naito Science Foundation, and the Takeda Foundation; has served on the editorial boards of *Brain*, *Degenerative Neurological and Neuromuscular Disease*, *Journal of Neurology*, and *Amyotrophic Lateral Sclerosis*; and has received research support from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan; the Ministry of Welfare, Health and Labor of Japan; and the Japan Science and Technology Agency, Core Research for Evolutional Science and Technology. Dr. Kato reports no

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

disclosures. Dr. Warita has received research support from Grant-in-Aid for Scientific Research (26461288, 25293199, and 23591229) and Grant-in-Aid for Challenging Exploratory Research (26670436) from Japan Society for the Promotion of Science (JSPS), Japan. Dr. Y. Aoki has served on the editorial board for the *Journal of Human Genetics* and has received research support from the Japanese Foundation for Pediatric Research, the Japanese Ministry of Health Labor and Welfare, the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS), and the Japan Agency for Medical Research and Development (AMED). Prof. M. Aoki has received research support from the Japanese Ministry of Health Labor and Welfare, NCNP, and the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology. Go to Neurology.org/ng for full disclosure forms.

Received August 24, 2015. Accepted in final form October 26, 2015.

REFERENCES

1. Aoki M, Liu J, Richard I, et al. Genomic organization of the dysferlin gene and novel mutations in Miyoshi myopathy. Neurology 2001;57:271–278.
2. Anderson LV, Davison K, Moss JA, et al. Dysferlin is a plasma membrane protein and is expressed early in human development. Hum Mol Genet 1999;8:855–861.
3. Bansal D, Miyake K, Vogel SS, et al. Defective membrane repair in dysferlin-deficient muscular dystrophy. Nature 2003;423:168–172.
4. Lennon NJ, Kho A, Bacskai BJ, Perlmutter SL, Hyman BT, Brown RH Jr. Dysferlin interacts with annexins A1 and A2 and mediates sarcolemmal wound-healing. J Biol Chem 2003;278:50466–50473.
5. Cacciottolo M, Numitone G, Aurino S, et al. Muscular dystrophy with marked Dysferlin deficiency is consistently caused by primary dysferlin gene mutations. Eur J Hum Genet 2011;19:974–980.
6. Matsuda C, Aoki M, Hayashi YK, Ho MF, Arahata K, Brown RH Jr. Dysferlin is a surface membrane-associated protein that is absent in Miyoshi myopathy. Neurology 1999;53:1119–1122.
7. Piccolo F, Moore SA, Ford GC, Campbell KP. Intracellular accumulation and reduced sarcolemmal expression of dysferlin in limb—girdle muscular dystrophies. Ann Neurol 2000;48:902–912.
8. Tagawa K, Ogawa M, Kawabe K, et al. Protein and gene analyses of dysferlinopathy in a large group of Japanese muscular dystrophy patients. J Neurol Sci 2003;211:23–28.
9. Matsuda C, Hayashi YK, Ogawa M, et al. The sarcolemmal proteins dysferlin and caveolin-3 interact in skeletal muscle. Hum Mol Genet 2001;10:1761–1766.
10. Tateyama M, Aoki M, Nishino I, et al. Mutation in the caveolin-3 gene causes a peculiar form of distal myopathy. Neurology 2002;58:323–325.
11. Chrobakova T, Hermanova M, Kroupova I, et al. Mutations in Czech LGMD2A patients revealed by analysis of calpain3 mRNA and their phenotypic outcome. Neuromuscul Disord 2004;14:659–665.
12. Hermanova M, Zapletalova E, Sedlackova J, et al. Analysis of histopathologic and molecular pathologic findings in Czech LGMD2A patients. Muscle Nerve 2006;33:424–432.
13. Groen EJ, Charlton R, Barresi R, et al. Analysis of the UK diagnostic strategy for limb girdle muscular dystrophy 2A. Brain 2007;130:3237–3249.
14. Takahashi T, Aoki M, Tateyama M, et al. Dysferlin mutations in Japanese Miyoshi myopathy: relationship to phenotype. Neurology 2003;60:1799–1804.
15. Takahashi T, Aoki M, Suzuki N, et al. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2013;84:433–440.
16. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. Bioinformatics 2009;25:1754–1760.
17. McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. Genome Res 2010;20:1297–1303.
18. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. Nucleic Acids Res 2010;38:e164.
19. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. Nat Methods 2010;7:248–249.
20. Ng PC, Henikoff S. SIFT: predicting amino acid changes that affect protein function. Nucleic Acids Res 2003;31:3812–3814.
21. Cai H, Yabe I, Sato K, et al. Clinical, pathological, and genetic mutation analysis of sporadic inclusion body myositis in Japanese people. J Neurol 2012;259:1913–1922.
22. Kramerova I, Beckmann JS, Spencer MJ. Molecular and cellular basis of calpainopathy (limb girdle muscular dystrophy type 2A). Biochim Biophys Acta 2007;1772:128–144.
23. Anderson LV, Harrison RM, Pogue R, et al. Secondary reduction in calpain 3 expression in patients with limb girdle muscular dystrophy type 2B and Miyoshi myopathy (primary dysferlinopathies). Neuromuscul Disord 2000;10:553–559.
24. Angelini C, Nardetto L, Borsato C, et al. The clinical course of calpainopathy (LGMD2A) and dysferlinopathy (LGMD2B). Neurol Res 2010;32:41–46.
25. Ten Dam L, van der Kooi AJ, Rovekamp F, Linssen WH, de Visser M. Comparing clinical data and muscle imaging of DYSF and ANO5 related muscular dystrophies. Neuromuscul Disord 2014;24:1097–1102.
26. Huang Y, Verheesen P, Roussis A, et al. Protein studies in dysferlinopathy patients using llama-derived antibody fragments selected by phage display. Eur J Hum Genet 2005;13:721–730.
27. Matsuda C, Kameyama K, Tagawa K, et al. Dysferlin interacts with affixin (beta-parvin) at the sarcolemma. J Neuropathol Exp Neurol 2005;64:334–340.
28. Cacciottolo M, Belcastro V, Laval S, Bushby K, di Bernardo D, Nigro V. Reverse engineering gene network identifies new dysferlin-interacting proteins. J Biol Chem 2011;286:5404–5413.
29. Cai C, Weisleder N, Ko JK, et al. Membrane repair defects in muscular dystrophy are linked to altered interaction between MG53, caveolin-3, and dysferlin. J Biol Chem 2009;284:15894–15902.
30. Azakir BA, Di Fulvio S, Therrien C, Sinnreich M. Dysferlin interacts with tubulin and microtubules in mouse skeletal muscle. PLoS One 2010;5:e10122.
31. Flix B, de la Torre C, Castillo J, Casal C, Illa I, Gallardo E. Dysferlin interacts with calsequestrin-1, myomesin-2 and dynein in human skeletal muscle. Int J Biochem Cell Biol 2013;45:1927–1938.
32. de Morree A, Hensbergen PJ, van Haagen HH, et al. Proteomic analysis of the dysferlin protein complex unveils its importance for sarcolemmal maintenance and integrity. PLoS One 2010;5:e13854.

© 2015 American Academy of Neurology. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Neurology®
Genetics

Genetic profile for suspected dysferlinopathy identified by targeted next-generation sequencing

Rumiko Izumi, Tetsuya Niihori, Toshiaki Takahashi, et al.

Neurol Genet 2015;1;
DOI 10.1212/NXG.0000000000000036

This information is current as of December 10, 2015

Updated Information & Services	including high resolution figures, can be found at: http://ng.neurology.org/content/1/4/e36.full.html
Supplementary Material	Supplementary material can be found at: http://ng.neurology.org/content/suppl/2015/12/10/1.4.e36.DC1.html
References	This article cites 32 articles, 11 of which you can access for free at: http://ng.neurology.org/content/1/4/e36.full.html##ref-list-1
Citations	This article has been cited by 2 HighWire-hosted articles: http://ng.neurology.org/content/1/4/e36.full.html##otherarticles
Subspecialty Collections	This article, along with others on similar topics, appears in the following collection(s): **All Genetics** http://ng.neurology.org//cgi/collection/all_genetics **Muscle disease** http://ng.neurology.org//cgi/collection/muscle_disease
Permissions & Licensing	Information about reproducing this article in parts (figures,tables) or in its entirety can be found online at: http://ng.neurology.org/misc/about.xhtml#permissions
Reprints	Information about ordering reprints can be found online: http://ng.neurology.org/misc/addir.xhtml#reprintsus

Neurol Genet is an official journal of the American Academy of Neurology. Published since April 2015, it is an open-access, online-only, continuous publication journal. Copyright © 2015 American Academy of Neurology. All rights reserved. Online ISSN: 2376-7839.

AMERICAN ACADEMY OF NEUROLOGY®

三好型ミオパチー

髙橋 俊明

はじめに

三好型ミオパチー(三好型遠位型筋ジストロフィー)はわが国の三好和夫らの記載により臨床型が確立された疾患であり，常染色体劣性の遺伝形式を示す[1]．1995年にはその原因遺伝子が第2番染色体短腕2p13に存在することが明らかになった[2]．同じ頃に常染色体劣性遺伝形式を示す肢帯型筋ジストロフィー(LGMD)の一種が第2番染色体短腕のほぼ同じ領域に連鎖しLGMD2Bとして報告された[3]．1998年に三好型ミオパチーの原因遺伝子dysferlinが同定され[4]，LGMD2Bも同じdysferlin遺伝子が原因であることも明らかになった[4,5]．同時にdistal myopathy with anterior tibial onsetあるいはdistal anterior compartment myopathyと呼ばれる前脛骨筋の障害を特徴とする筋ジストロフィーからもdysferlin遺伝子変異がみつかった[4]．いくつかの臨床像を呈する疾患群からdysferlin遺伝子異常が発見されたことからdysferlinopathy(ジスフェルリン異常症)という疾患概念が確立された．

Dysferlin遺伝子は翻訳領域が6,243塩基で2,080アミノ酸をコードし[4]，エクソン55個からなる[6]大きな遺伝子である．Dysferlinタンパクは免疫組織化学による検討では筋細胞膜に局在する[7,8]．膜修復[9,10]やT-tubule形成[11]に重要な働きをすると考えられている．

三好型ミオパチーの臨床型は1986年のMiyoshiらの原著[1]に詳しく記載されている．クレアチニンキナーゼ(CK)の単位が現在使用されているものと異なっているため注意が必要である．また筋病理において細胞浸潤はみられなかったと記載されているが[1]，のちにdysferlinopathyでは半数以上に細胞浸潤がみられると報告されている[12]．2000年の三好の総説から三好型ミオパチーの病型の要約の表を引用しておく(表1)[13]．

診　断

臨床症状，血清CK値，筋電図，骨格筋CTなどから筋疾患であることの確認と鑑別が行われる．血清CK値は発症からの経過とともに低下していくため，とくに後期ではそれほど高くないこともある．骨格筋CTは筋原性であることの確認もある程度できる．さらに筋障害の分布の把握に有用である．ただし非典型的な例も時にみられる．なお画像上三好型ミオパチーとLGMD2Bは区別がつかないといわれている[14]．三好型ミオパチーは初期につま先立ちの困難を示す下腿屈筋の障害が目立つという，筋疾患のなかではかなり特徴的な症状がみられるため臨床診断が比較的可能であると思われる．しかし臨床的に三好型ミオパチーに類似した他疾患もあるうえ，海外ではanoctamin 5遺伝子変異によるMiyoshi muscular dystrophy 3[15](ちなみにdysferlin遺伝子変異によるものはMiyoshi muscular dystrophy 1ともいわれる)なども報告されているため，診断のためには筋生検により免疫染色を含む筋病理診断を行うことが望ましい．筋病理所見はジストロフィー性所見である．したがって三好型遠位型筋ジストロフィーという方が正確なのであろう．細胞浸潤がみられることもあるため多発筋炎と間違えられていることがある．抗dysferlin抗体による免疫染色も可能である．完全に欠損しているとdysferlinopathyの可能性がかなり高いと思われる．しかし完全な欠損以外の非典型的な異常[16]や他疾患での二次的なdysferlinタンパクの異常[16~18]も報告されており，最終的な確定診断は遺伝子変異の確認になると思われる．

われわれは東北大学医学部神経内科の青木正志教授と共同で日本人筋ジストロフィー患者のdysferlin遺伝子解析を行ってきた．今までの解析で日本人158家系に65種類の変異を見出した(図1)．変異は遺伝子全体に広く分布していた．c.2997G>T(p.W999C)変異(アレルあたり23.9%)，c.1566C>G(p.Y522X)変異(10.3%)，c.4497delT変異(7.7%)，c.3373delG変異(6.1%)，c.2974T>C(p.W992R)変異(2.9%)およびc.6135G>A

表1　常染色体劣性遠位型筋ジストロフィー(三好型)のクライテリア[13]

1）本病型は遺伝性で，遺伝型は常染色体劣性，男女，両性に同様に発症する．
2）筋萎縮は筋原性，筋電図は筋原性，筋組織所見は筋ジストロフィー性である．
3）筋萎縮は下肢遠位筋に始まり，下腿屈筋にもっとも強く，とくに腓腹筋，ヒラメ筋，足底筋が侵される．
4）多くは10歳代後半から20歳代で発症する．
5）症状は進行性であり，筋萎縮は下腿屈筋から，次いで大腿筋に及び，起坐，歩行に支障をきたす．しかし，bed patientになることは少ない．上肢の手，前腕の筋萎縮も加わるが，程度は軽い．
6）血清CK活性値が中程度から高度に上昇する．
7）血清CK活性値に関し，著しい上昇を示すホモ因子型発症前段階にあたるものがある．
8）本病型は，原因遺伝子(DYSF)が染色体上2p13にあり，これが新しい蛋白質(dysferlin)をコードし，その変異が原因とされる．

たかはし としあき　国立病院機構仙台西多賀病院神経内科医長

0289-0585/20/¥90/頁/JCOPY

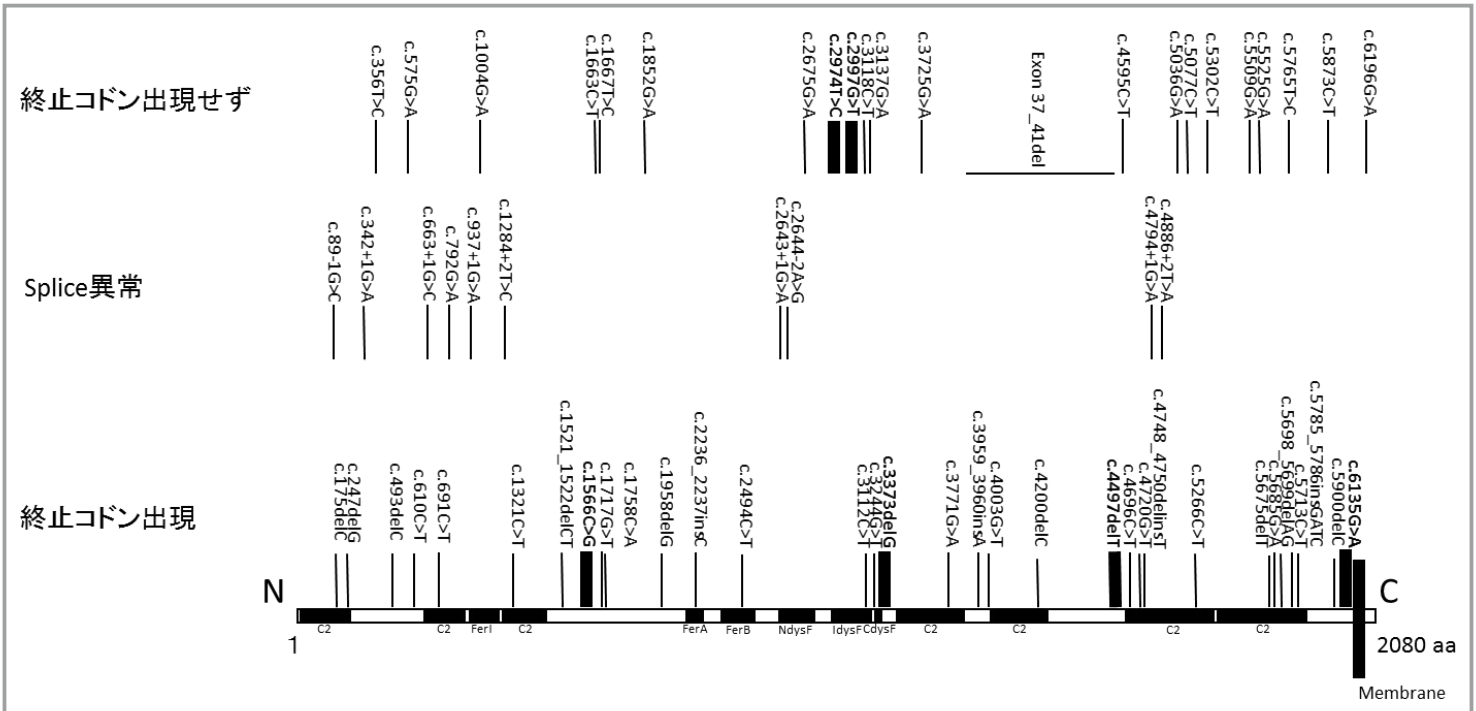


図 1　日本人の dysferlin 遺伝子変異

タンパクの上方に遺伝子変異を示した．太線と太文字は日本人に多い変異．タンパクに近い方から終止コドンの出現する変異，splice 異常をきたすと考えられる変異，終止コドンが出現しないと考えられる変異の順に示した．

(p. W2045X)変異(2.9%)が多くみられた．c. 2997G>T 変異は三好型ミオパチーより LGMD2B に多くみられる一方，c. 3373delG 変異は LGMD2B にはほとんど認めなかった．また c. 2997G>T 変異を持つと発症が遅くなった[18~20]．前述のように dysferlin 遺伝子は大きいため従来の方法での遺伝子解析は煩雑である．そのため次世代シークエンサーの導入も試行している[18]．

謝　辞：　本研究は国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費(26-7)および厚生労働科学研究障害者対策総合研究事業神経・筋疾患分野(H26-神経・筋-一般-004)によって行われた．

文　献

1) Miyoshi K, Kawai H, Iwasa M, et al. Autosomal recessive distal muscular dystrophy as a new type of progressive muscular dystrophy. Brain. 1986；109：31-54.
2) Bejaoui K, Hirabayashi K, Hentati F, et al. Linkage of Miyoshi myopathy (distal autosomal recessive muscular dystrophy) locus to chromosome 2p12-14. Neurology. 1995；45：768-72.
3) Bashir R, Strachan T, Keers S, et al. A gene for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy maps to chromosome 2p. Hum Mol Genet. 1994；3：455-7.
4) Liu J, Aoki M, Illa I, et al. Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. Nat Genet. 1998；20：31-6.
5) Bashir R, Britton S, Strachan T, et al. A gene related to Caenorhabditis elegans spermatogenesis factor fer-1 is mutated in limb-girdle muscular dystrophy type 2B. Nat Genet. 1998；20：37-42.
6) Aoki M, Liu J, Richard I, et al. Genomic organization of the dysferlin gene and novel mutations in Miyoshi myopathy. Neurology. 2001；57：271-8.
7) Anderson LV, Davison K, Moss JA, et al. Dysferlin is a plasma membrane protein and is expressed early in human development. Hum Mol Genet. 1999；8：855-61.
8) Matsuda C, Aoki M, Hayashi YK, et al. Dysferlin is a surface membrane-associated protein that is absent in Miyoshi myopathy. Neurology. 1999；53：1119-22.
9) Bansal D, Miyake K, Vogel SS, et al. Defective membrane repair in dysferlin-deficient muscular dystrophy. Nature. 2003；423：168-72.
10) Lennon NJ, Kho A, Bacskai BJ, et al. Dysferlin interacts with annexins A1 and A2 and mediates sarcolemmal wound-healing. J Biol Chem. 2003；278：50466-73.
11) Klinge L, Harris J, Sewry C, et al. Dysferlin associates with the developing T-tubule system in rodent and human skeletal muscle. Muscle Nerve. 2010；41：166-73.
12) Gallardo E, Rojas-García R, de Luna N, et al. Inflammation in dysferlin myopathy：immunohistochemical characterization of 13 patients. Neurology. 2001；57：2136-8.
13) 三好和夫．三好型ミオパチーの臨床．神経内科．2000；52：265-74.
14) Paradas C, Llauger J, Diaz-Manera J, et al. Redefining dysferlinopathy phenotypes based on clinical findings and muscle imaging studies. Neurology. 2010；75：316-23.
15) Bolduc V, Marlow G, Boycott KM, et al. Recessive mutations in the putative calcium-activated chloride channel Anoctamin 5 cause proximal LGMD2L and distal MMD3 muscular dystrophies. Am J Hum Genet. 2010；86：213-21.
16) Tagawa K, Ogawa M, Kawabe K, et al. Protein and gene analyses of dysferlinopathy in a large group of Japanese muscular dystrophy patients. J Neurol Sci. 2003；211：23-8.
17) Tateyama M, Aoki M, Nishino I, et al. Mutation in the caveolin-3 gene causes a peculiar form of distal myopathy. Neurology. 2002；58：323-5.
18) Izumi R, Niihori T, Takahashi T, et al. Genetic profile for suspected dysferlinopathy identified by targeted next generation sequencing. Neurol Genet. 2015；1：e36.
19) Takahashi T, Aoki M, Tateyama M, et al. Dysferlin mutations in Japanese Miyoshi myopathy：relationship to phenotype. Neurology. 2003；60：1799-804.
20) Takahashi T, Aoki M, Suzuki N, et al. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013；84：433-40.

神経筋疾患患者のインターネット使用状況調査について

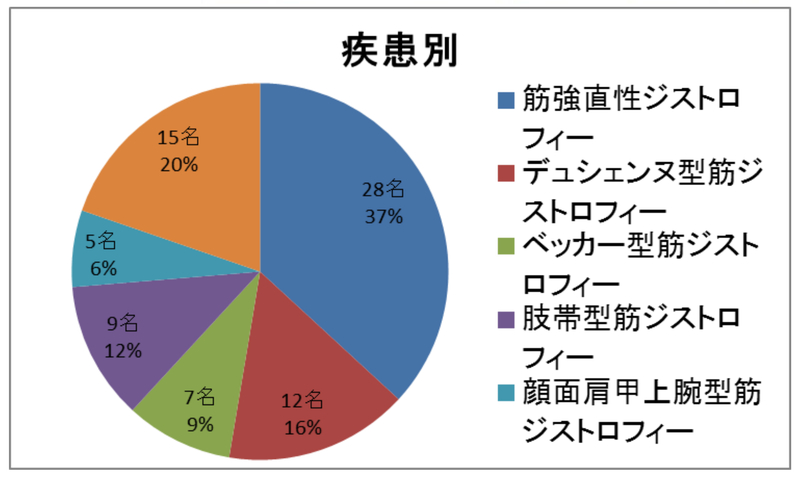
相沢祐一 1，高橋俊明 2，鈴木茉耶 1，尾形克久 3，谷口さやか 2，大泉英樹 2，田中洋康 2，
吉岡勝 2，今野秀彦 2，武田篤 2，髙橋正紀 4
1. 国立病院機構仙台西多賀病院医療福祉相談室　2. 国立病院機構仙台西多賀病院神経内科
3. 国立病院機構東埼玉病院神経内科　4. 大阪大学大学院医学系研究科神経内科

【目的】

神経筋疾患の治療法の研究が進み治療を行う動きも出てきている。IT 化が進む中で患者登録を簡便に行うためインターネットの利用が想定される。そのため神経筋疾患患者の情報通信機器の使用状況を調べ、今後の患者登録事業に役立てる事を目的とする。

【対象及び方法】

・対象：国立病院機構仙台西多賀病院神経内科に通院している神経筋疾患患者
・研究期間：平成26年1月～平成26年3月
・方法：外来診察時に主治医から研究目的の説明を行い、本研究に対して同意が得られた76名に対して面接によるアンケート調査を実施。

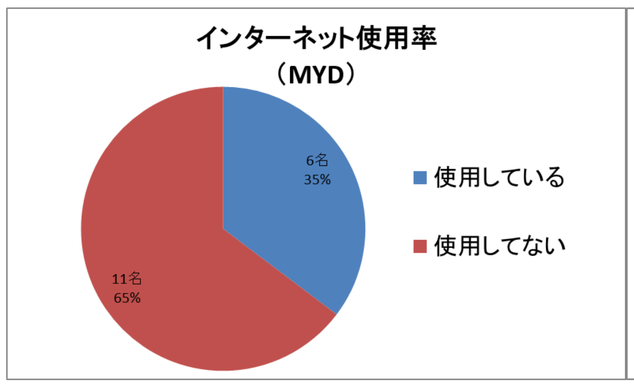


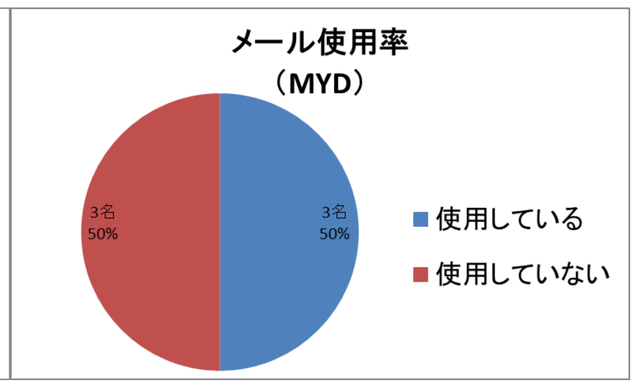
⇒疾患別で特に割合が高い**筋強直性ジストロフィー**、及び
デュシェンヌ型ジストロフィーについて取り上げ、比較を行った。

【結果】

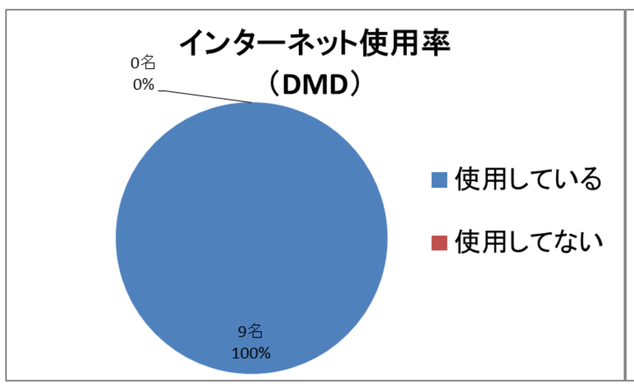
回収率100%、76名（男50名・女26名）、平均年齢は46.5歳。
パソコン及び携帯電話・スマートフォン（以下携帯電話）の所有及び利用状況について自己・世帯で調査し、下記の結果が得られた。
≪パソコン≫自己所有率56%、世帯72%（全国平均は80%程度）
≪携帯電話≫自己所有率70%、世帯84%（全国平均は93%）

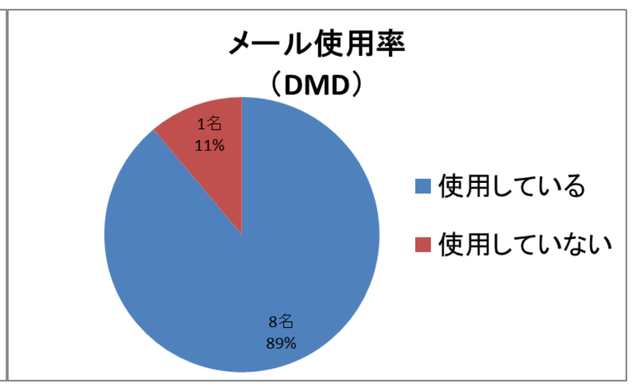
・筋強直性ジストロフィーでは28名中、インターネットを使用を使用している患者は17名だった。





・デュシェンヌ型筋ジストロフィーでは12名中、インターネットを使用している患者は9名だった。





【考察】

疾患ごと検証を行うと、パソコンの使用状況に顕著に差があった。筋強直性ジストロフィーはパソコンを所有しインターネットに接続しメールを使用している患者は**28名中ゼロ**という結果であった。一方でデュシェンヌ型筋ジストロフィーは 12名中8名がパソコンを所有しインターネットに接続しパソコンでメールも行っていた。デュシェンヌ型筋ジストロフィーにとってパソコンは補装具としてのコミュニケーションツールであるため利用頻度が高いことは予想されたが、筋強直性ジストロフィーの患者のほとんどがインターネットを利用出来ていない実態が明らかとなった。

【結果】

今後、患者登録を行うにあたっては疾患ごとの特性に応じた支援が重要である。（特に筋強直性ジストロフィーの支援に際してはインターネット使用において家族をはじめ医療関係者・施設の職員の協力等が必要である。）

厚生労働科学研究障害者対策総合研究事業神経・筋疾患分野（H26-神経・筋-一般-004）
筆頭発表者：演題発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

Dysferlin遺伝子診断への次世代シークエンサーの導入と日本人の遺伝子変異の特徴

髙橋俊明(医), 八木沼智香子(検), 井泉瑠美子(医)1), 小野洋也(医)1), 鈴木直輝(医)1), 島倉奈緒子(技)1), 新堀哲也(医)1), 青木洋子(医)1), 谷口さやか(医), 大泉英樹(医), 田中洋康(医), 吉岡勝(医), 武田篤(医), 青木正志(医)1)

NHO仙台西多賀病院
1)東北大学

本研究は
国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費(26－7)
厚生労働科学研究障害者対策総合研究事業神経･筋疾患分野(H26-神経･筋-一般-004)
によって行われた

Dysferlinopathy

常染色体劣性遺伝

2p13のdysferlinが原因遺伝子

55 エクソン，2,080 アミノ酸＝6,243 bp

三好型遠位型筋ジストロフィー
　腓腹筋から発症

肢帯型筋ジストロフィー2B型
　肢帯型

Distal anterior compartment myopathy
　前脛部が強く障害

これまでのDysferlin遺伝子解析方法

ゲノムDNAを使用

エクソン近傍のイントロン内にプライマーをおき55エクソンのPCR

Single strand conformation polymorphism (SSCP)法で変化の検出

変化のみられたエクソンを直接塩基配列決定

終止コドン出現以外は正常100染色体で存在の確認

c.1566C>G変異の検出

1）エクソン18のPCR産物を制限酵素Mbo Iによる切断

2）切断された症例は直接塩基配列で確認

Summary of dysferlin gene mutations of the patients in this study

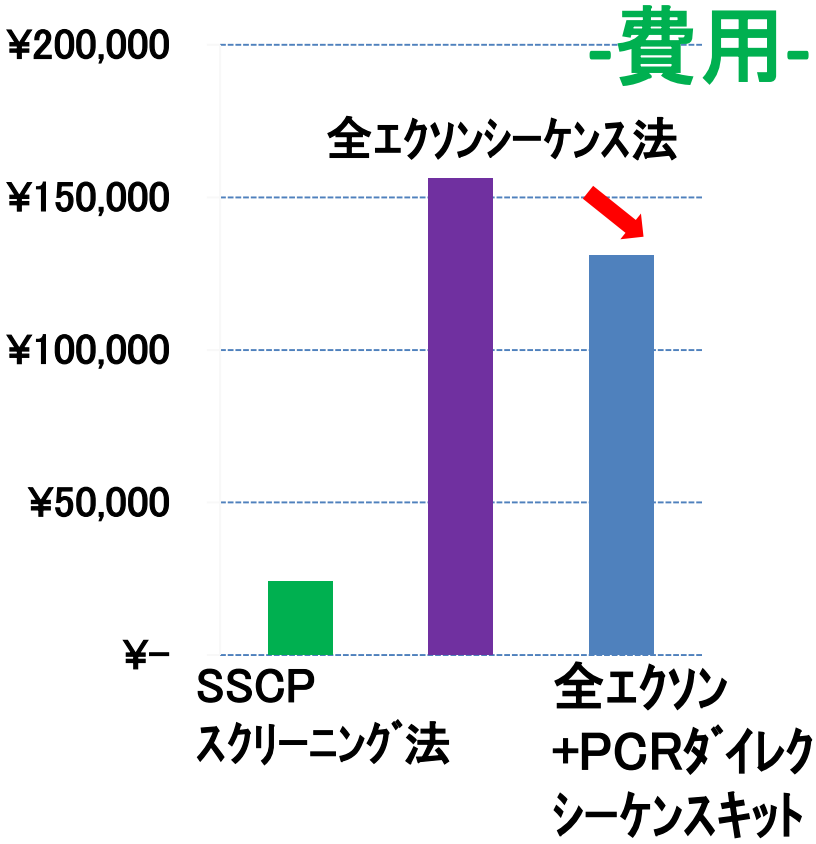
Family-patient	Phenotype	Exon	Nucleotide change	Protein change	State
Dys 9-1	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		43	c.4748_4750delinsT	p.Tyr1583PhefsX16	
Dys 10-1	MM	20	c.1758C>A	p.Tyr586X	compound heterozygous
		52	c.5785_5786insGATC	p.Leu1929ArgfsX21	
Dys 11-1	MM	31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	homozygous
Dys 12-1	MM	31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	homozygous
Dys 13-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		34	c.3771G>A	p.Trp1257X	
Dys 14-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	compound heterozygous
		31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	
Dys 18-1	MM	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	compound heterozygous
		51	c.5698_5699delAG	p.Ser1900GlnfsX13	
Dys 18-2	father of Dys 18-1	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	heterozygous
Dys 18-3	mother of Dys 18-1	51	c.5698_5699delAG	p.Ser1900GlnfsX13	heterozygous
Dys 21-1	MM	29	c.3112C>T	p.Arg1038X	homozygous
Dys 21-2	MM, brother of Dys 21-1	29	c.3112C>T	p.Arg1038X	homozygous
Dys 33-1	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 34-1	MM	7	c.691C>T	p.Gln231X	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 34-2	hCK, sister of Dys 34-1	7	c.691C>T	p.Gln231X	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 35-1	MM	intron 10	c.937+1G>A	splice site	compound heterozygous
		intron 25	c.2643+1G>A	splice site	
Dys 36-1	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		37	c.4003G>T	p.Gln1335X	
Dys 37-1	LGMD	intron 10	c.937+1G>A	splice site	homozygous
Dys 37-2	LGMD, sister of Dys 37-1	intron 10	c.937+1G>A	splice site	homozygous
Dys 37-3	son of Dys 37-1	intron 10	c.937+1G>A	splice site	heterozygous
Dys 38-1	MM	43	c.4720G>T	p.Gly1574X	compound heterozygous
		45	c.5036G>A	p.Gly1679Glu	
Dys 38-2	mother of Dys 38-1	45	c.5036G>A	p.Gly1679Glu	heterozygous
Dys 43-1	LGMD	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 43-2	LGMD, sister of Dys 43-1	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 44-1	hCK	intron 10	c.937+1G>A	splice site	compound heterozygous
		18	c.1566C>G	p.Tyr522X	
Dys 46-1	LGMD	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
Dys 48-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 49-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 50-1	MM	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
Dys 50-2	LGMD, father of Dys 50-1	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
Dys 50-3	DACM, cousin of Dys 50-1	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
Dys 51-1	MM	51	c.5675delT	p.Phe1892SerfsX73	homozygous
Dys 52-1	MM	43	c.4696C>T	p.Gln1566X	compound heterozygous
		54	c.6135G>A	p.Trp2045X	
Dys 53-1	distal myopathy	26	c.2675G>A	p.Gly892Glu	heterozygous
Dys 54-1	MM	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
Dys 55-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		37	c.3959_3960insA	p.Met1320IlefsX26	
Dys 56-1	MM	49	c.5525G>A	p.Gly1842Asp	compound heterozygous
		51	c.5765T>C	p.Leu1922Pro	
Dys 57-1	MM	intron 10	c.937+1G>A	splice site	homozygous
Dys 58-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 59-1	LGMD	28	c.2974T>C	p.Trp992Arg	homozygous
Dys 60-1	MM	49	c.5509G>A	p.Asp1837Asn	homozygous
Dys 61-1	LGMD	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
Dys 63-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 64-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 65-1	MM	31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	homozygous
Dys 68-1	MM	intron 6	c.663+1G>C	splice site	homozygous
Dys 69-1	MM	31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	homozygous
Dys 71-1	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	heterozygous
Dys 75-1	MM	29	c.3112C>T	p.Arg1038X	homozygous
Dys 78-1	LGMD	intron 10	c.937+1G>A	splice site	homozygous
Dys 84-1	LGMD	14	c.1321C>T	p.Gln441X	homozygous
Dys 84-2	LGMD, brother of Dys 84-1	14	c.1321C>T	p.Gln441X	homozygous
Dys 89-1	LGMD	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	compound heterozygous
		28	c.2974T>C	p.Trp992Arg	
Dys 90-1	MM	intron 13	c.1284+2T>C	splice site	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 92-1	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	heterozygous
Dys 93-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 94-1	MM	31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	homozygous
Dys 95-1	MM	24	c.2494C>T	p.Gln832X	homozygous
Dys 96-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 97-1	MM	6	c.493delC	p.Leu165SerfsX48	homozygous
Dys 98-1	hCK	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 99-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 105-1	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		intron 44	c.4886+2T>A	splice site	
Dys 106-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 107-1	MM	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
Dys 109-1	MM	42	c.4595C>T	p.Thr1532Met	homozygous
Dys 109-2	MM, sister of Dys 109-2	42	c.4595C>T	p.Thr1532Met	homozygous
Dys 109-3	brother of Dys 109-1	42	c.4595C>T	p.Thr1532Met	heterozygous
Dys 110-1	MM	51	c.5675delT	p.Phe1892SerfsX73	homozygous
Dys 111-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 113-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 114-1	LGMD	intron 25	c.2643+1G>A	splice site	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 114-2	daughter of Dys 114-1	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	heterozygous
Dys 114-3	daughter of Dys 114-1	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	heterozygous
Dys 115-1	MM	intron 6	c.663+1G>C	splice site	homozygous
Dys 116-1	MM	54	c.6135G>A	p.Trp2045X	heterozygous
Dys 117-1	LGMD	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 117-2	LGMD, brother of Dys 117-1	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 120-1	LGMD	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 121-1	hCK	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 122-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	compound heterozygous
		31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	
Dys 122-2	father of Dys 122-1	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	heterozygous
Dys 122-3	mother of Dys 122-1	31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	heterozygous
Dys 123-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 124-1	LGMD	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 125-1	MM	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
Dys 126-1	LGMD	intron 4	c.342+1G>A	splice site	compound heterozygous
		54	c.6135G>A	p.Trp2045X	
Dys 126-2	BMD, uncle of Dys 126-1	intron 25	c.2644-2A>G	splice site	heterozygous
Dys 127-1	LGMD	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 133-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 137-1	MM	7	c.792G>A	splice site	compound heterozygous
		54	c.6135G>A	p.Trp2045X	
Dys 138-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 139-1	hCK	intron 25	c.2644-2A>G	splice site	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
31	MM, sister of Dys 139-1	intron 25	c.2644-2A>G	splice site	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 145-1	LGMD	6	c.610C>T	p.Arg204X	homozygous
Dys 146-1	LGMD	31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	compound heterozygous
		intron 43	c.4794+1G>A	splice site	
Dys 152-1	hCK	21	c.1958delG	p.Gly653ValfsX2	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 152-2	MM, brother of Dys 152-1	21	c.1958delG	p.Gly653ValfsX2	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 158-1	MM	intron 1	c.89-1G>C	splice site	homozygous
Dys 161-1	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		47	c.5302C>T	p.Arg1768Trp	
Dys 163-1	LGMD	6	c.493delC	p.Leu165SerfsX48	homozygous
Dys 168-1	hCK	24	c.2494C>T	p.Gln832X	heterozygous
Dys 169-1	MM	11	c.1004G>A	p.Gly335Asp	compound heterozygous
		intron 25	c.2644-2A>G	splice site	
Dys 170-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 172-1	MM	6	c.493delC	p.Leu165SerfsX48	homozygous
Dys 173-1	hCK	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	
4	LGMD	intron 25	c.2643+1G>A	splice site	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
5	LGMD	21	c.1958delG	p.Gly653ValfsX2	homozygous
15	LGMD	37	c.3959_3960insA	p.Met1320IlefsX26	homozygous
19	SPMA	34	c.3725G>A	p.Arg1242His	heterozygous
22	MM	37	c.3959_3960insA	p.Met1320IlefsX26	homozygous
47	LGMD, brother of 22	37	c.3959_3960insA	p.Met1320IlefsX26	homozygous
39	LGMD	intron 25	c.2643+1G>A	splice site	homozygous
44	LGMD	29	c.3112C>T	p.Arg1038X	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	

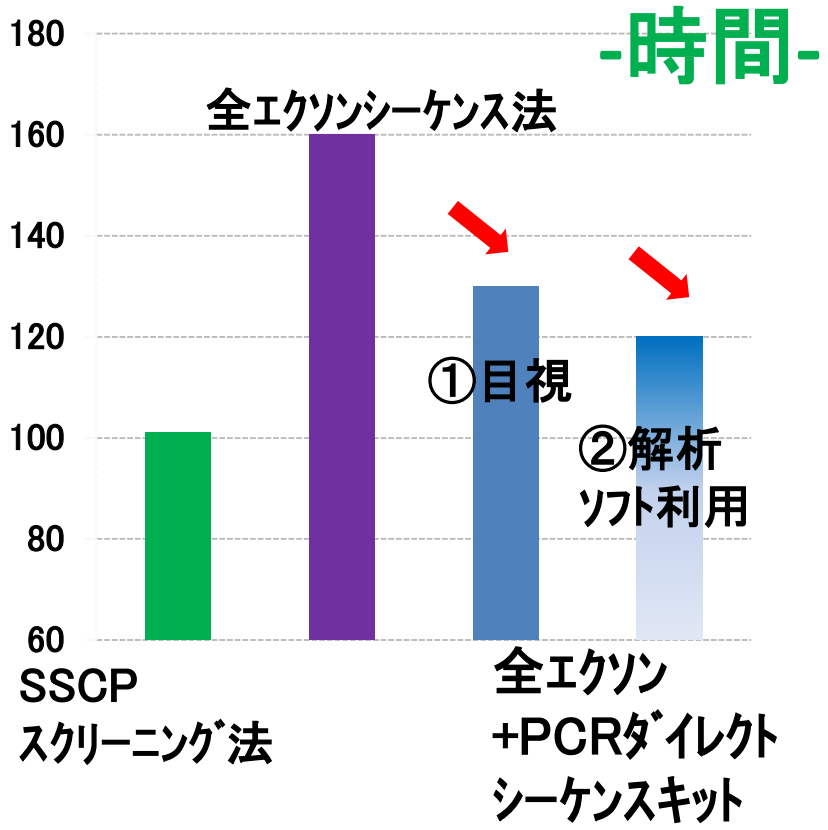
Miyoshi myopathy (MM), Limb girdle muscular dystrophy (LGMD), Hyper-CKemia (hCK), Distal anterior compartment myopathy (DACM), Becker muscular dystrophy (BMD), Spinal progressive muscular atrophy (SPMA)

Summary of dysferlin gene mutations of the patients in this study

Family-patient	Phenotype	Exon	Nucleotide change	Protein change	State
Dys 8-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	compound heterozygous
		51	c.5698_5699delAG	p.Ser1900GlnfsX13	
Dys 174-1	MM	14	c.1321C>T	p.Gln441X	compound heterozygous
		31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	
Dys 175-1	MM	intron 25	c.2644-2A>G	splice site	heterozygous
Dys 181-1	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
Dys 183-1	MM	29	c.3112C>T	p.Arg1038X	compound heterozygous
		47	c.5266C>T	p.Gln1756X	
Dys 184-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 187-1	MM	17	c.1521_1522delCT	p.Asp507TyrfsX2	compound heterozygous
		34	c.3771G>A	p.Trp1257X	
Dys 190-1	MM	6	c.610C>T	p.Arg204X	compound heterozygous
		24	c.2494C>T	p.Gln832X	
Dys 196-1	MM	28	c.2974T>C	p.Trp992Arg	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
Dys 198-1	?	19	c.1717G>T	p.Glu573X	homozygous
Dys 199-1	MM	intron 25	c.2644-2A>G	splice site	compound heterozygous
		31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	
Dys 202-1	LGMD	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	compound heterozygous
		51	c.5713C>T	p.Arg1905X	
Dys 204-1	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 204-2	LGMD, daughter of Dys 204-1	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
Dys 206-1	LGMD	28	c.2974T>C	p.Trp992Arg	compound heterozygous
		31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	
52	MM	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	homozygous
58	MM	34	c.3771G>A	p.Trp1257X	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
Dys 5-1	MM, brother of 58	34	c.3771G>A	p.Trp1257X	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
Dys 5-2	father of 58 and Dys 5-1	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	heterozygous
Dys 5-3	mother of 58 and Dys 5-1	34	c.3771G>A	p.Trp1257X	heterozygous
61	?	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	compound heterozygous
		43	c.4748_4750delinsT	p.Tyr1583PhefsX16	
62	mother of 61	41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	heterozygous
63	hCK	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	heterozygous
64	hCK	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	heterozygous
66	hCK	42	c.4595C>T	p.Thr1532Met	heterozygous
68	LGMD	6	c.575G>A	p.Arg192Leu	compound heterozygous
		49	c.5509G>A	p.Asp1837Asn	
69	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
70	MM	4	c.247delG	p.Glu83LysfsX68	compound heterozygous
		6	c.610C>T	p.Arg204X	
72	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
74	MM	49	c.5509G>A	p.Asp1837Asn	homozygous
75	LGMD	34	c.3725G>A	p.Arg1242His	homozygous
76	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
77	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		29	c.3137G>A	p.Arg1046His	
79	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
80	MM	46	c.5077C>T	p.Arg1693Trp	homozygous
94	LGMD, sister of 80	46	c.5077C>T	p.Arg1693Trp	homozygous
81	LGMD	19	c.1663C>T	p.Arg555Trp	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
82	MM	18	c.1566C>G	p.Tyr522X	homozygous
83	?	49	c.5509G>A	p.Asp1837Asn	homozygous
85	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
86	LGMD	5	c.356T>C	p.Leu119Pro	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
93	LGMD, sister of 86	5	c.356T>C	p.Leu119Pro	compound heterozygous
		28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	
87	MM	20	c.1852G>A	p.Gly618Arg	homozygous
88	hCK	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	heterozygous
91	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		34	c.3827delT	p.Leu1276ProfsX68	
92	LGMD, brothe of 91	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		34	c.3827delT	p.Leu1276ProfsX68	
95	LGMD	54	c.6135G>A	p.Trp2045X	homozygous
96	?	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
97	LGMD, brother of 96	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
98	?, brothe of 96	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
101	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		54	c.6135G>A	p.Trp2045X	
102	MM	6	c.610C>T	p.Arg204X	compound heterozygous
		41	c.4497delT	p.Phe1499LeufsX4	
104	MM	3	c.175delC	p.Leu59TrpfsX91	homozygous
105	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
106	MM	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		31	c.3373delG	p.Glu1125LysfsX9	
107	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		34	c.3771G>A	p.Trp1257X	
108	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
109	MM	54	c.6135G>A	p.Trp2045X	homozygous
110	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	compound heterozygous
		43	c.4748_4750delinsT	p.Tyr1583PhefsX16	
111	LGMD	28	c.2997G>T	p.Trp999Cys	homozygous
118	LGMD	23	c.2236_2237insC	p.Asn622GlnfsX21	homozygous

Miyoshi myopathy (MM), Limb girdle muscular dystrophy (LGMD), Hyper-CKemia (hCK)



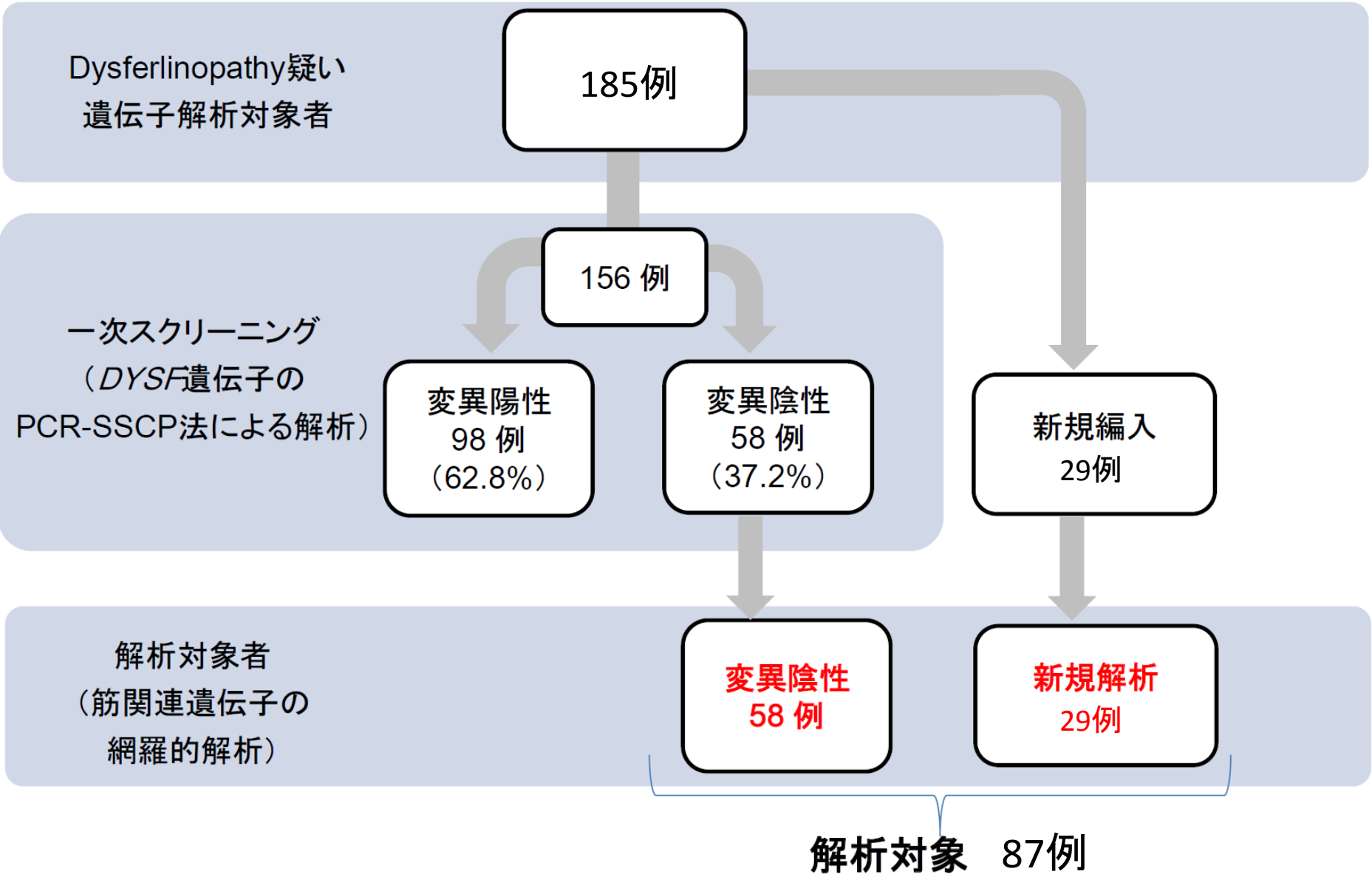


- PCR装置の更新
- PCRダイレクトシーケンスキット導入
- 配列解析用ソフトウェアの利用開始

*DYSF*など）は、エクソン数が非常に大きくすべてのエクソンの変異を検索することが難しい。このような場合、従来のDNA解析方法では、候補遺伝子を網羅的に検索するための労力・コスト・時間が非常に大きいため、遺伝子診断を行うことは現実的に難しかった。
（三井　2014）

今後も次世代シークエンサーを含めた他の方法を合わせ同遺伝子変異検出法の検討を行いたい

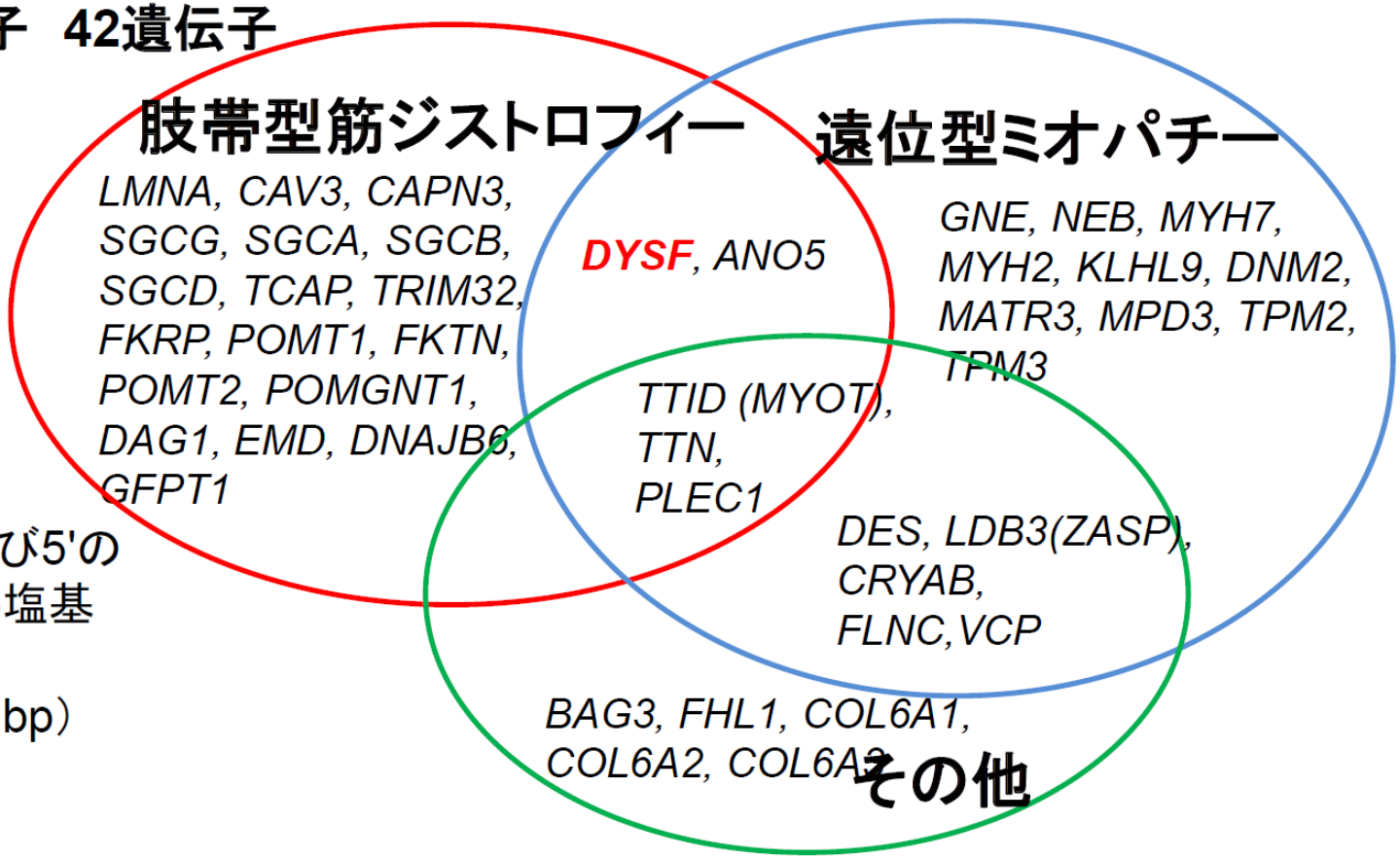
解析対象


Dysferlinopathy疑い
遺伝子解析対象者
185例
一次スクリーニング
（DYSF遺伝子の
PCR-SSCP法による解析）
156 例
変異陽性
98 例
（62.8%）
変異陰性
58 例
（37.2%）
新規編入
29例
解析対象者
（筋関連遺伝子の
網羅的解析）
変異陰性
58 例
新規解析
29例
解析対象　87例

ターゲットリシークエンス解析　方法

標的領域デザイン → ライブラリー作成（標的領域の抽出） → 次世代シークエンサーでの配列決定 → 情報解析 候補変異の絞りこみ → 候補変異のサンガー法での確認

筋疾患関連遺伝子　42遺伝子



標的領域

- coding exon
- 各エクソン3' および5'の隣接イントロン25塩基
- UTR領域（合計　498,559 bp）

アンプリコン作成
SureDesignシステム（Agilent Technologies）　→　488,980 bp（98.08 %）の解析が可能

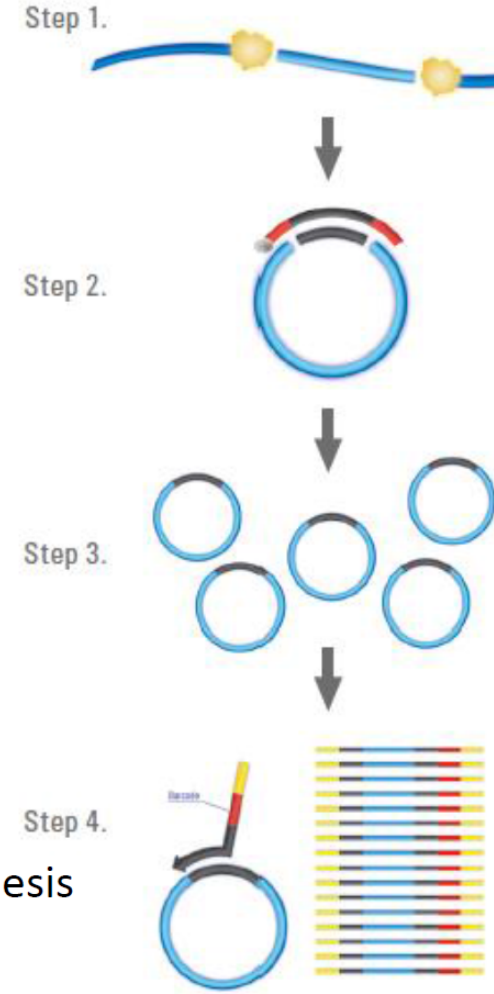
ターゲットリシークエンス解析　方法

標的領域デザイン → **ライブラリー作成（標的領域の抽出）** → **次世代シークエンサーでの配列決定** → 情報解析 候補変異の絞りこみ → 候補変異のサンガー法での確認

試薬：HaloPlex
ターゲットエンリッチメントシステム
（Agilent Technologies）

次世代シークエンサー：Miseq

配列決定：　原理　Sequencing by Synthesis
（151bp paired-read）



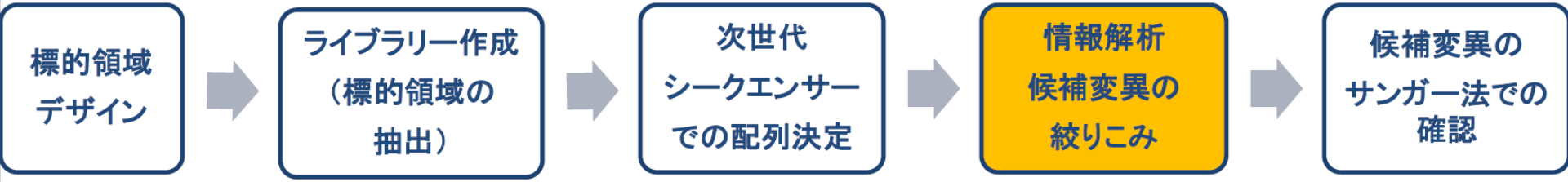
225ng DNA
制限酵素で断片化

ビオチン付加DNAライブラリーと
ハイブリダイゼーション
（標的領域の抽出）

結合したプローブ-DNAを
ストレプトアビジン付加
磁気ビーズで回収

PCRによる増幅

ターゲットリシークエンス解析　方法



情報解析

1. マッピング
   －Burrows-Wheeler Alignment tool（BWA）
2. 重複リード除去
   － Picard program
3. バリアントコール
   － Genome Analysis Tool Kit（GATK）v1.5
4. バリアントアノテーション
   － ANNOVAR program

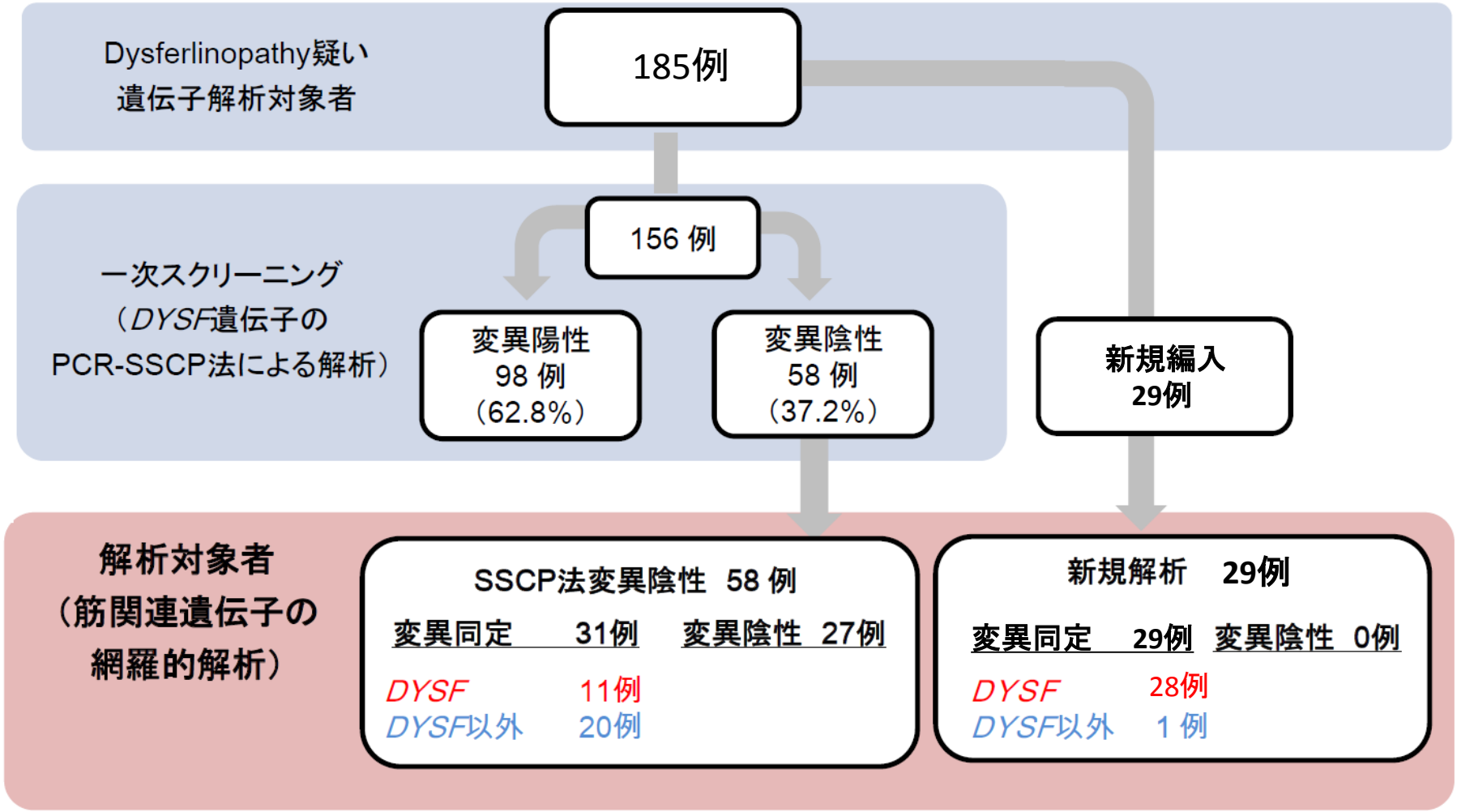
既報告変異の抽出

Human Gene Mutation Database

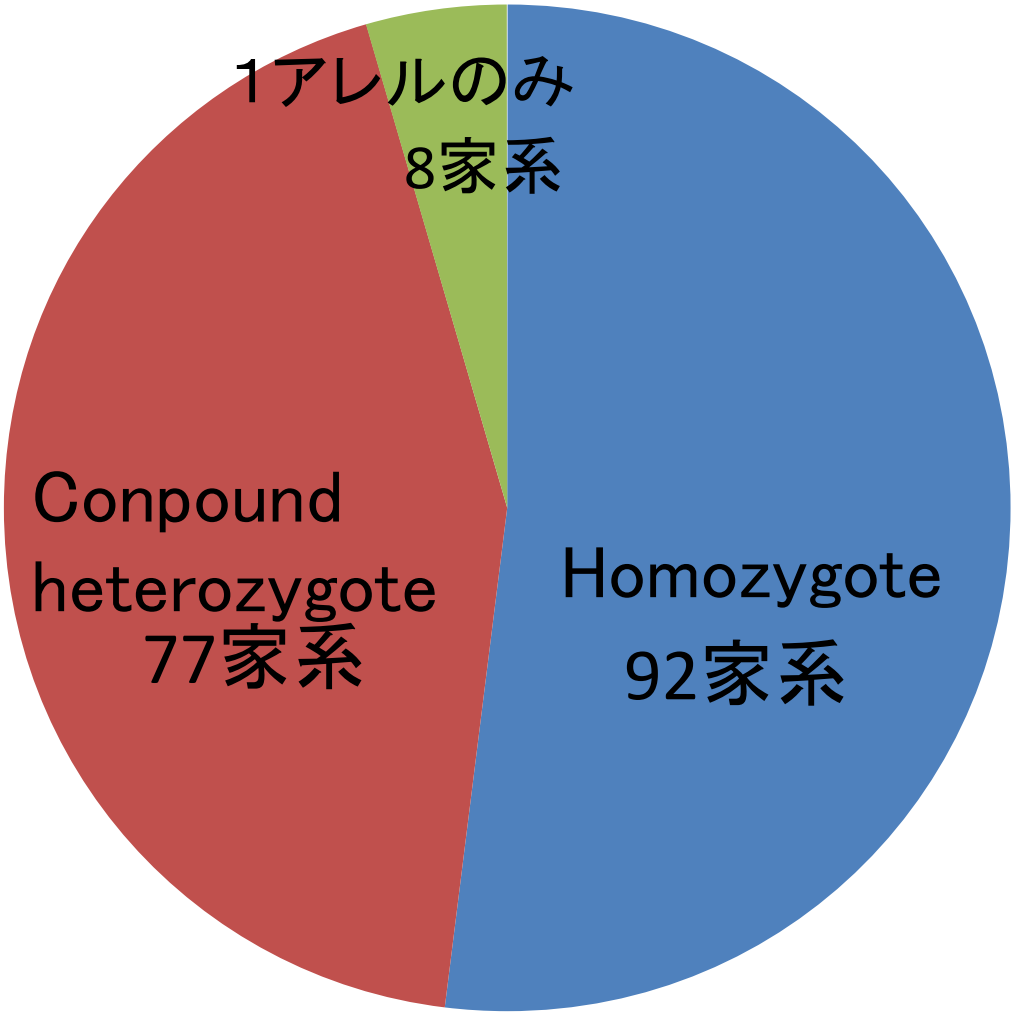
全標的領域での平均depth：118～797倍　（平均311倍）
20倍以上のdepthでシークエンスされた領域
：88.0～97.9%　（平均95.4%）
*DYSF*遺伝子の平均のdepth ：155～1043倍（平均395倍）
20倍以上のdepthでシークエンスされた領域
：90.3 ～100%　（平均98.9%）

- 疾患関連既報告の変異：　1症例あたり0～4個検出
- 新規もしくは稀な非同義バリアント：　1症例あたり0～17個抽出

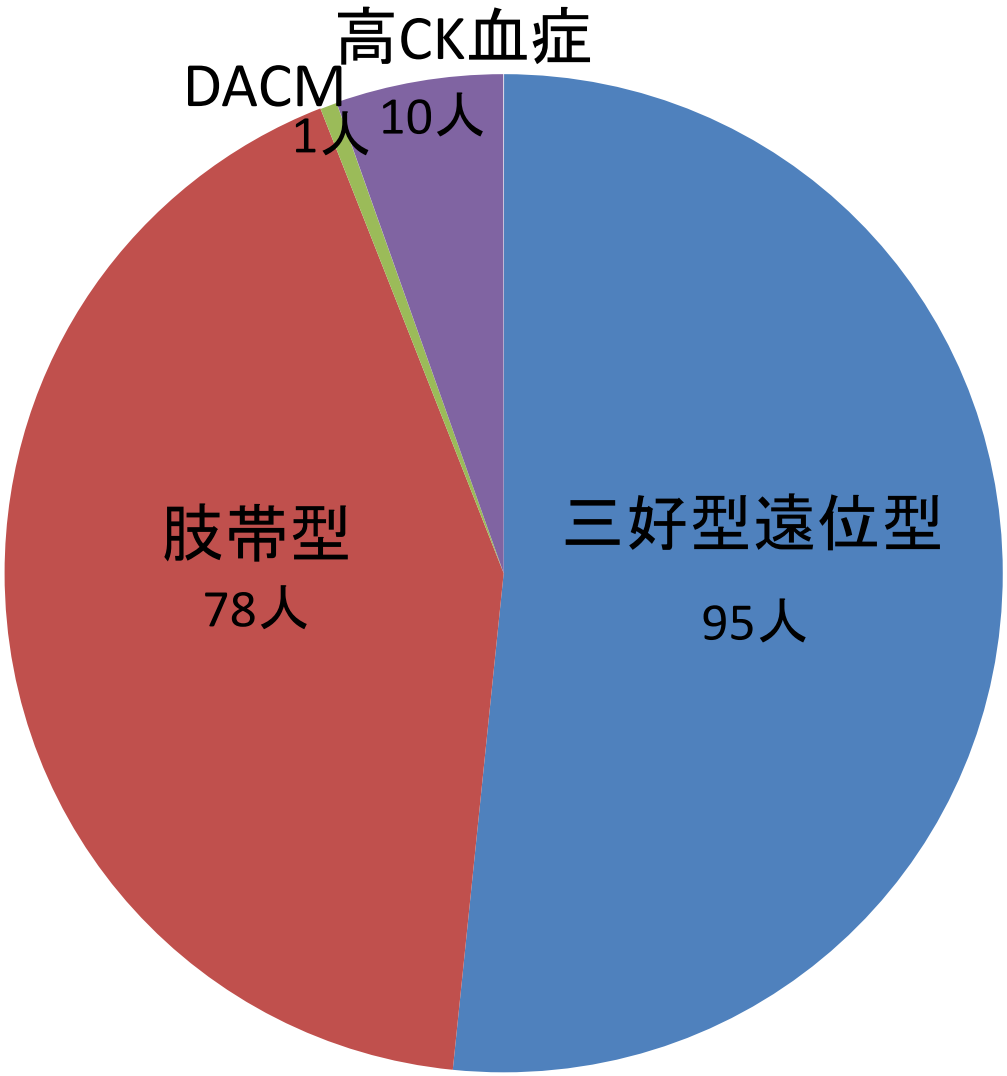
87例の変異同定結果


Dysferlinopathy疑い
遺伝子解析対象者
185例
一次スクリーニング
（DYSF遺伝子の
PCR-SSCP法による解析）
156 例
変異陽性
98 例
（62.8%）
変異陰性
58 例
（37.2%）
新規編入
29例
解析対象者
（筋関連遺伝子の
網羅的解析）
SSCP法変異陰性 58 例
変異同定 31例
変異陰性 27例
DYSF 11例
DYSF以外 20例
新規解析 29例
変異同定 29例
変異陰性 0例
DYSF 28例
DYSF以外 1 例

177家系に73種類の変異



表現型



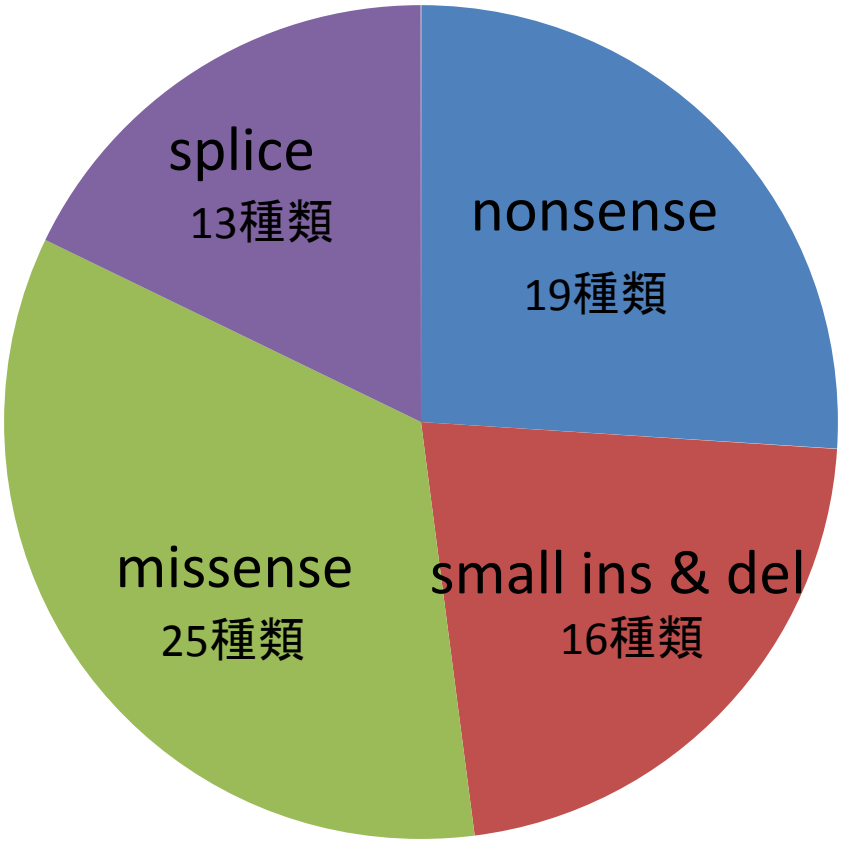
日本人に多い変異

c.2997G>T (p.W999C)	77アレル（22.3%）	
c.1556C>T (p.Y522X)	41アレル（11.8%）	（SSCPで検出率悪い）
c.4497delT	24アレル（6.9%）	
c.3373delG	21アレル（6.1%）	
c.6135G>A (p.W2045X)	13アレル（3.8%）	
c.2974T>C (p.W992R)	10アレル（2.9%）	

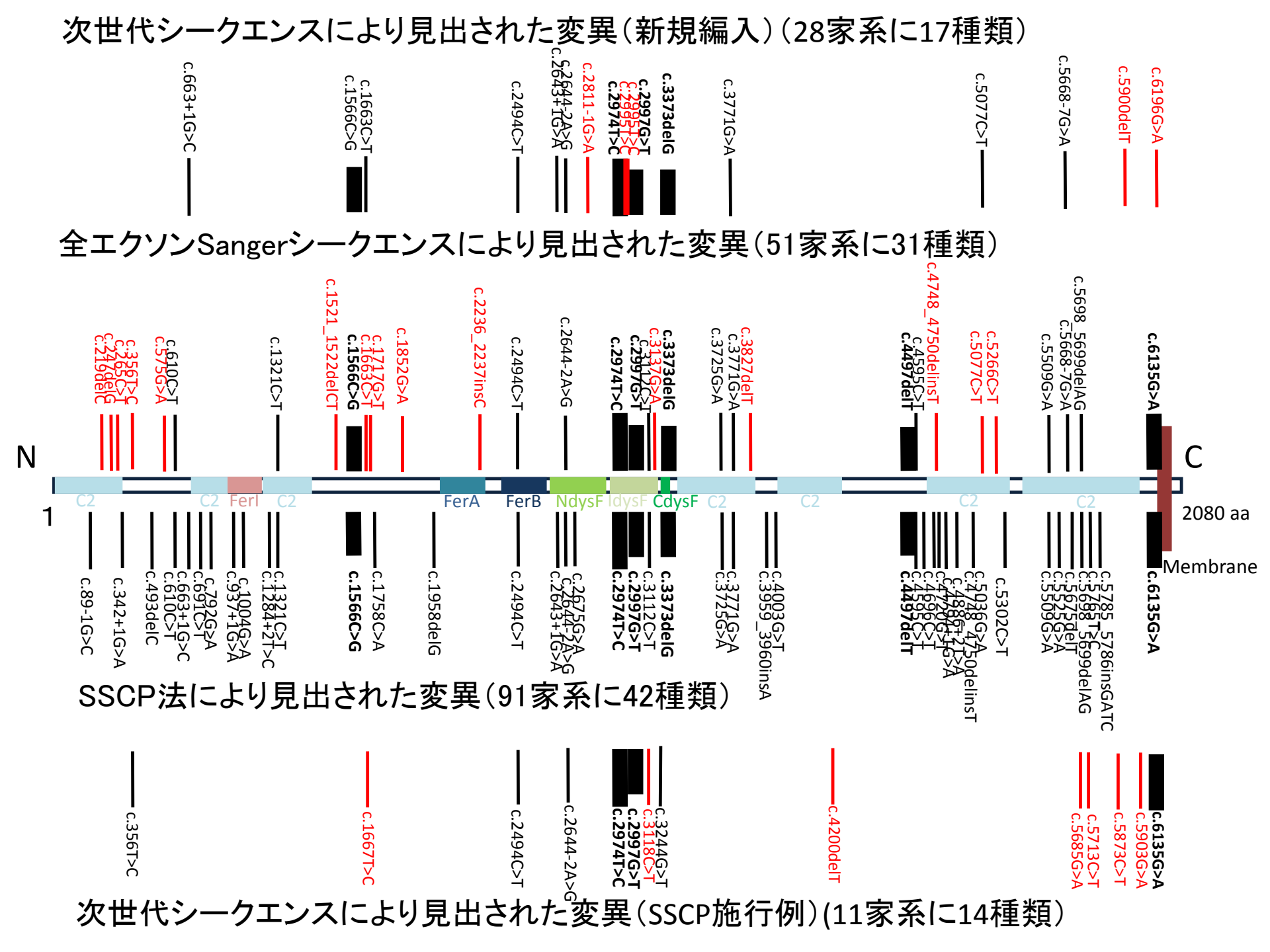
c.937+1G>A	8アレル（2.3%）
c.5509G>A (p.D1837N)	8アレル（2.3%）
c.2643+1G>A	7アレル（2.0%）
c.2644-2A>G	7アレル（2.0%）
c.493delC	6アレル（1.7%）
c.3112C>T (p.R1038X)	6アレル（1.7%）
c.3771G>A (p.W1257X)	6アレル（1.7%）
c.610C>T (p.R204X)	5アレル（1.4%）
c.663+1G>C	5アレル（1.4%）
c.2494C>T (p.Q832X)	5アレル（1.4%）
c.3959_3960insA	5アレル（1.4%）
c.5668-7G>A	5アレル（1.4%）

他1種類が4アレル（1.2%），9種類が3アレル（0.9%），11種類が2アレル（0.6%），34種類が1アレル（0.3%）

177家系に73種類の変異



次世代シークエンスにより見出された変異（新規編入）（28家系に17種類）



遺伝子型と表現型

c.2997G>T変異は肢帯型に多い（p = 0.0000071）

	c.2997G>T	他の変異
三好型遠位型	17人	78人
肢帯型	39人	39人

c.2997G>T変異のhomozygoteは肢帯型に多い（p = 0.0065）

	Homozygote	Heterozygote
三好型遠位型	1人	15人
肢帯型	18人	24人

c.3373delG変異は三好型に多い（p = 0.032）

	c.3373delG	他の変異
三好型遠位型	12人	83人
肢帯型	2人	76人

日本人dysferlin遺伝子変異の特徴

177家系に73種類の変異が遺伝子全体に広く分布

6種類の多い変異

肢帯型，三好型遠位型にそれぞれ多くみられる変異

発症の遅い変異

これからのDysferlin遺伝子解析方法

ゲノムDNAを使用

全遺伝子領域のパネルでのターゲットリシークエンスで変化の検出

変化のみられた（エクソンおよび近傍のイントロン）をSangerシークエンス

終止コドン出現以外は正常100染色体で存在の確認

問題点

検出率が低いための見落とし？

遺伝的多型の確認

大きな欠失，重複を検出できない？（Krahn M et al. 2009）

イントロン，プロモーターなどを見ていない

RNAの解析（Kergourlay V et al. 2014）
「ミスセンス変異」の20%はスプライス異常

偶発的/二次的所見

市民公開講座
知っておきたい筋強直性ジストロフィー

2.今できる治療をきちんと受けよう

運動・嚥下・呼吸機能障害

国立病院機構仙台西多賀病院　神経内科
髙橋　俊明

筋強直性ジストロフィーの臨床的治療には確立した方法がない

各施設，各医師が試行錯誤している

筋萎縮，筋力低下

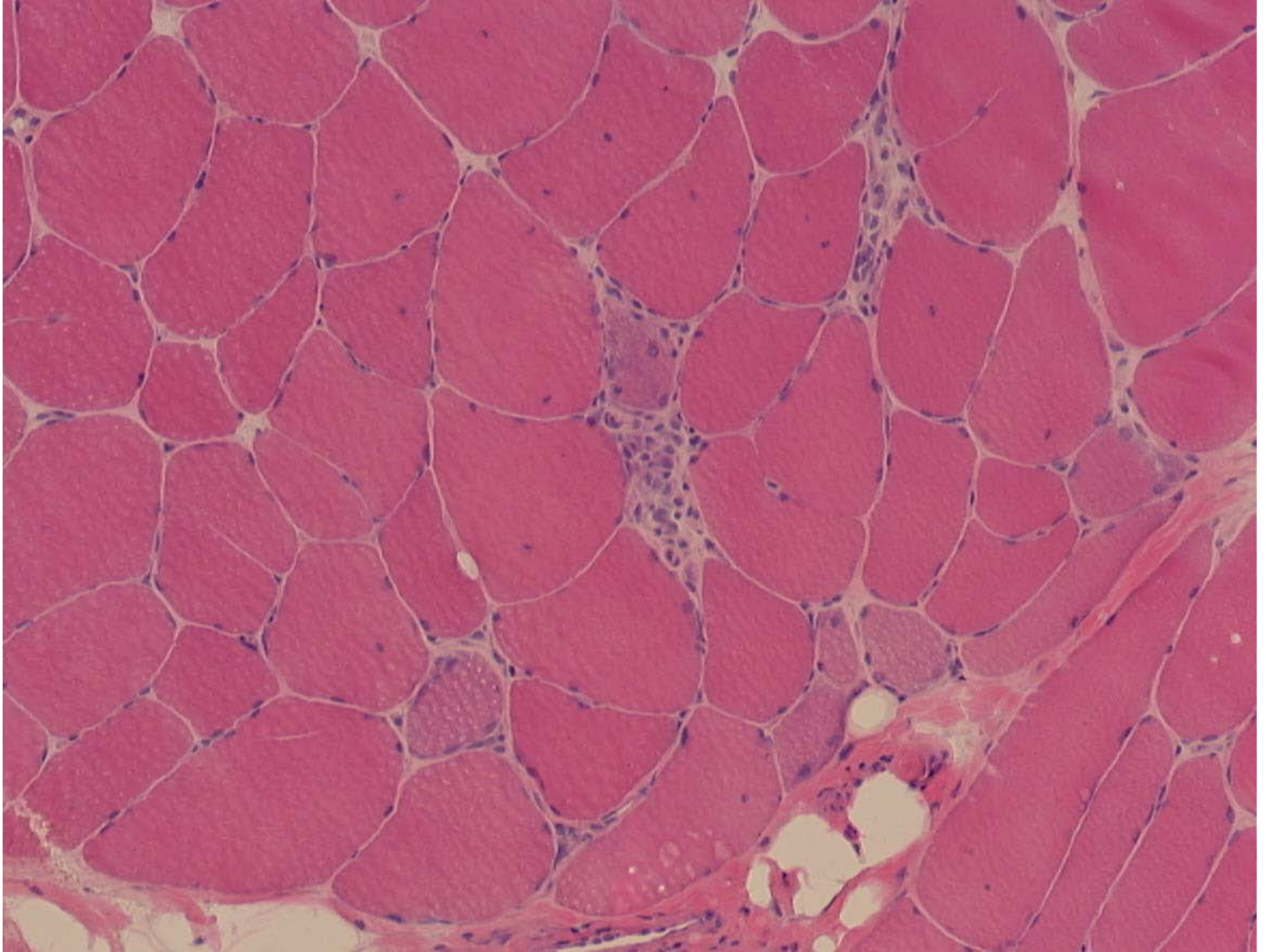
体（首，手，足）の筋力低下、ミオトニア

体のいろいろなところに筋肉が関係

嚥下障害（口，あご，のど，の筋）

呼吸障害（胸，横隔膜，の筋）

心臓の障害（心臓も筋肉）



筋がこわれやすい　⇔　使わないとおとろえる
（リハビリテーション科とよく相談）

筋をこわさない範囲でなるべく動かす

関節を硬くしない

危なくないように

ミオトニアに薬がある
心臓に影響（主治医とよく相談）

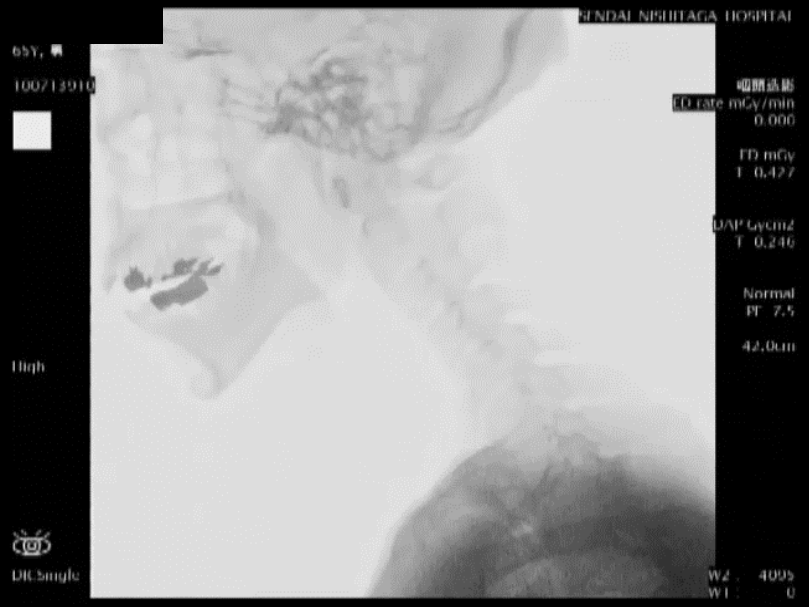
嚥下障害

食べ物，飲み物，だ液をうまく飲み込めなくなる

気管，肺への誤嚥

肺炎，窒息の原因

嚥下造影


SENDAI NISHITAGA HOSPITAL
65Y, 男
100713910
嚥頭透影
ED rate mGy/min
0.000
ED mGy
T 0.427
DAP Gycm2
T 0.246
Normal
PF 7.5
42.0cm
High
W2 4095
W1 0

嚥下障害の対策

嚥下障害があるものと思う(意識する)

歯磨き，うがいなど口腔ケア，歯科の治療

食前のうがい

食べやすい形態

正しい姿勢(食後も)

ゆっくり食べる

呼吸障害

呼吸に関する筋力が低下し十分な強さで呼吸ができない

体内の酸素が減り，二酸化炭素が増える

筋強直性ジストロフィーでは早期からみられる

苦しさの自覚が少ない
　病院で検査をしないと分からない

検査

胸部X線写真：肺、横隔膜の状態

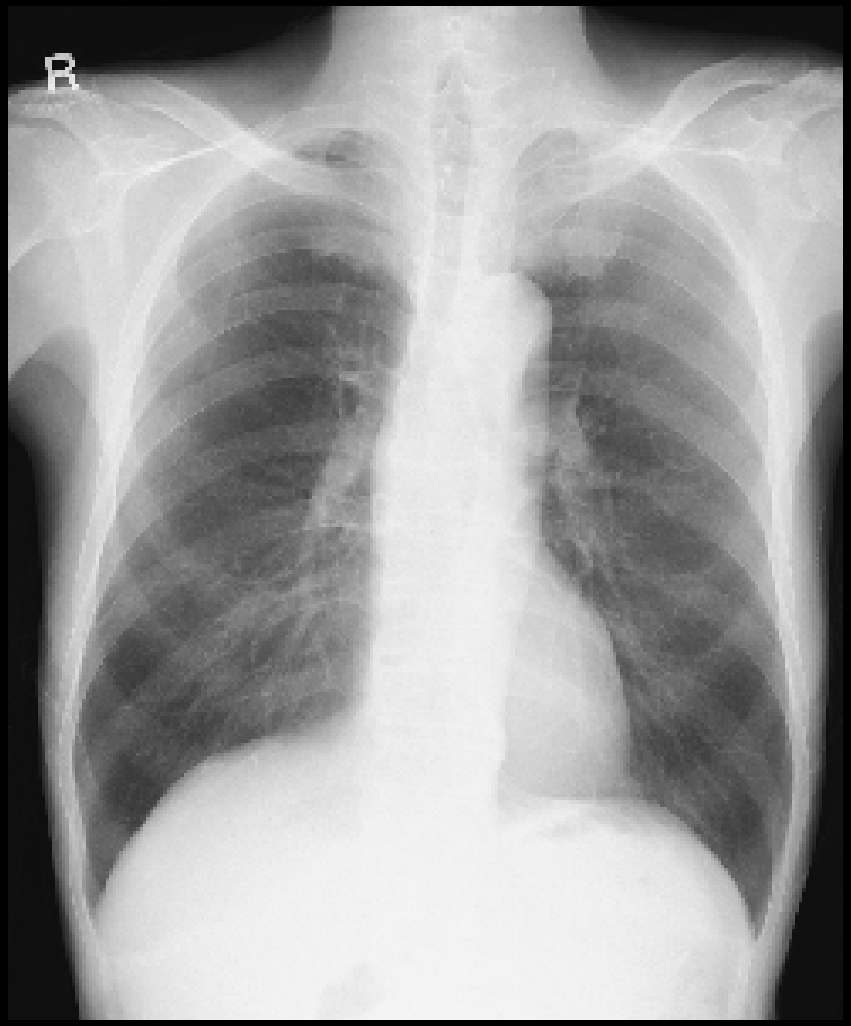
肺活量：呼吸の力

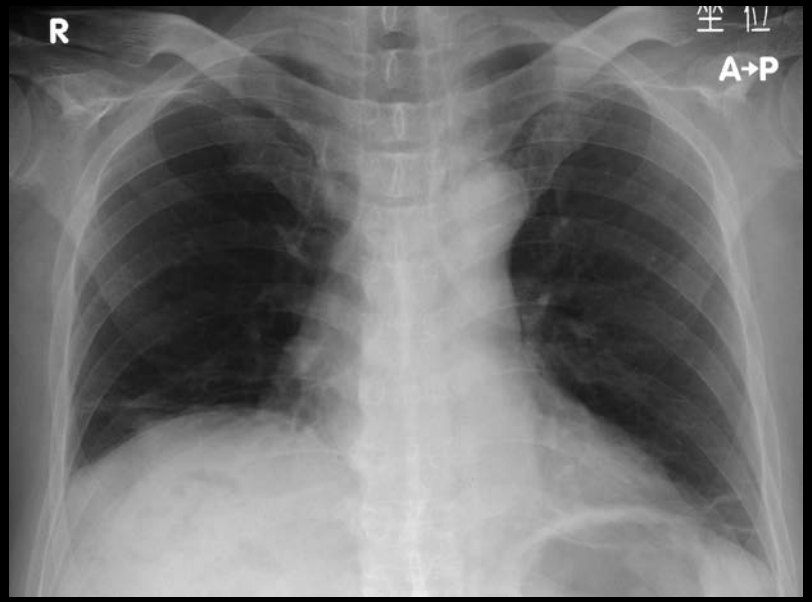
経皮的酸素飽和度：体内の酸素の量のおおよその値

血液ガス（採血）：体内の酸素と二酸化炭素の正確な値

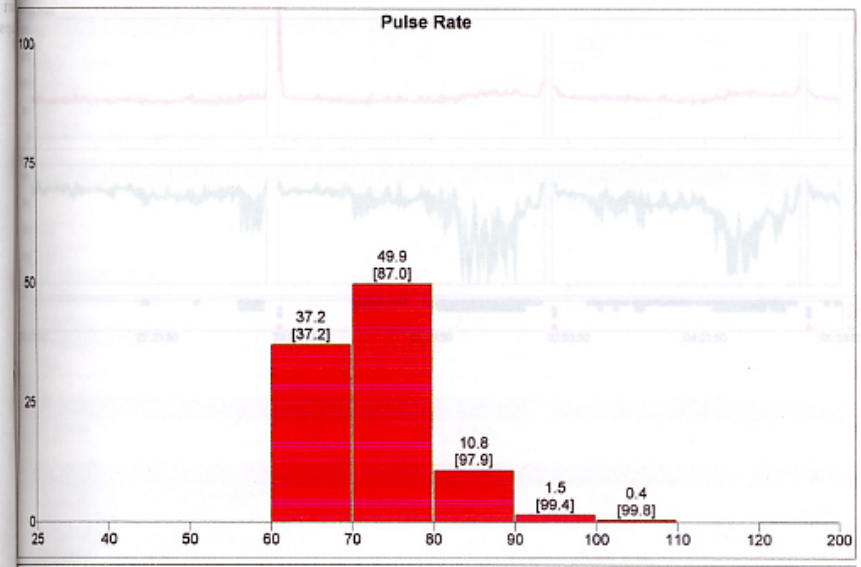
夜間酸素飽和度：睡眠中の呼吸のおおよその状態

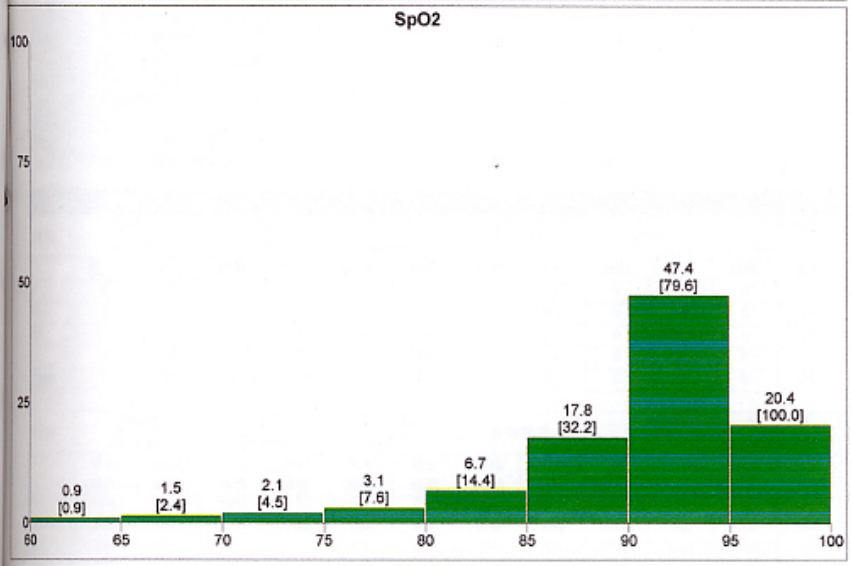
胸部X線写真



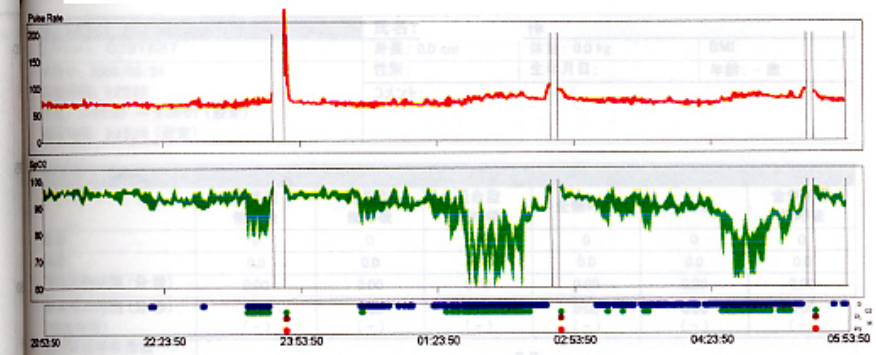


Patient: Printed: 22 Sep 2008 File: 080922-1.SCR





Patient: Printed: 22 Sep 2008 File: 080922-1.SCR



×７　×６　×５　×４　×３　×２　×１　　の和がNHI（141.3）

呼吸障害の対策

酸素が少ない状態が続くのは体に悪い

呼吸訓練
- 発声訓練
- 口すぼめ呼吸法
- 腹式呼吸訓練
- 病院での呼吸訓練

酸素療法

人工呼吸器
- はじめは夜間のみ
- 鼻マスクの人工呼吸から

人工呼吸

非侵襲的（NIPPV）

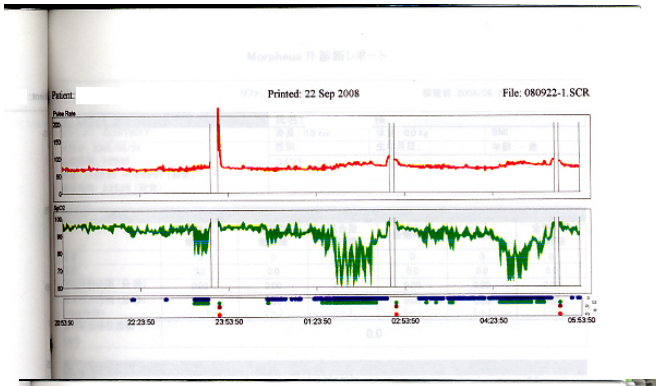
マスク＝気管切開しない
最初に行う
声が出せる
慣れると食べられる

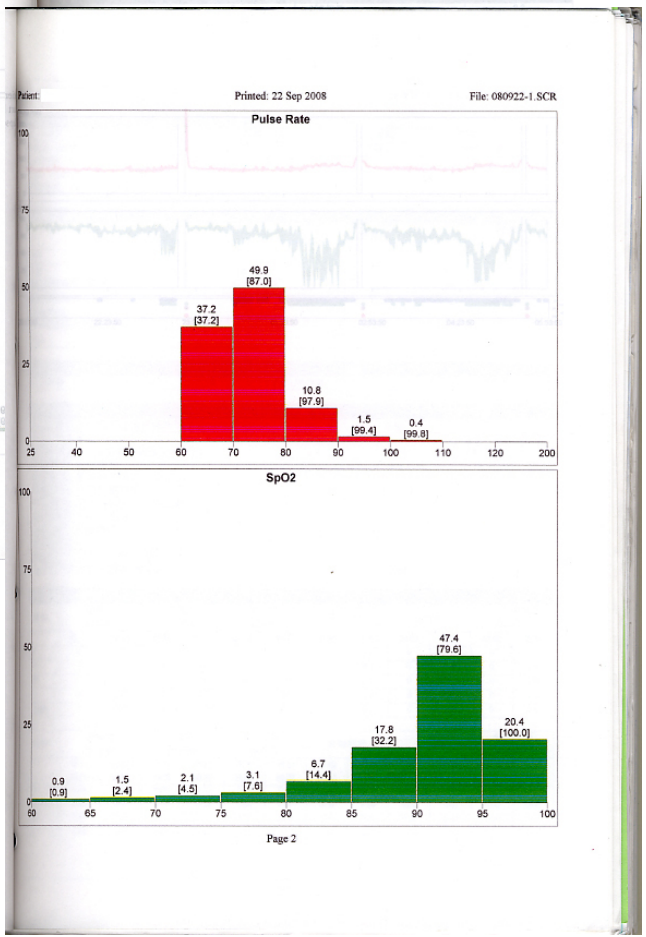
胃にも空気が入る

侵襲的(TIPPV)

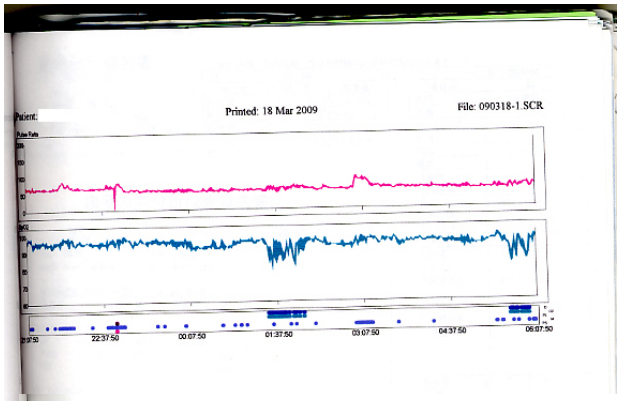
気管切開
何らかの事情で行う
声が出せない
食べられる

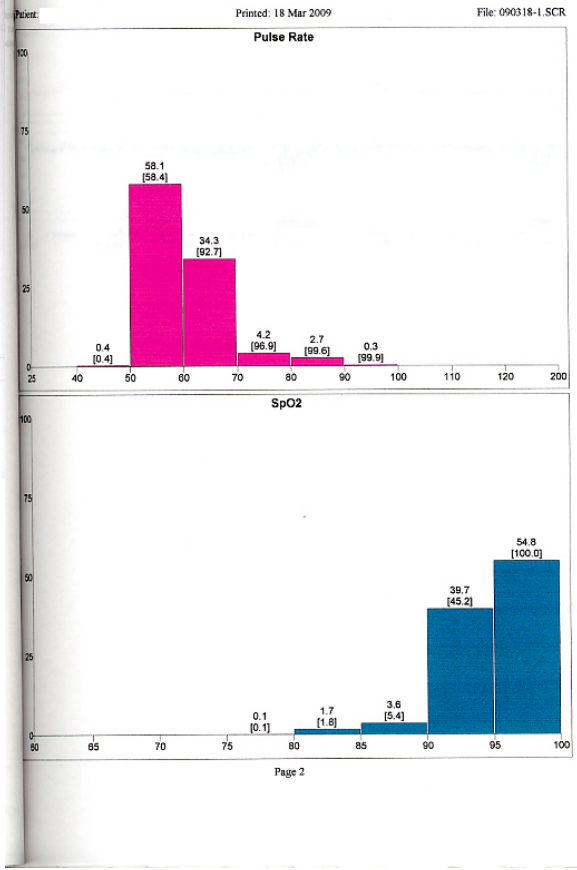
胃には空気が入らない


Printed: 22 Sep 2008
File: 080922-1.SCR


Printed: 22 Sep 2008
File: 080922-1.SCR
Pulse Rate
37.2 [37.2]
49.9 [87.0]
10.8 [97.9]
1.5 [99.4]
0.4 [99.8]
SpO2
0.9 [0.9]
1.5 [2.4]
2.1 [4.5]
3.1 [7.6]
6.7 [14.4]
17.8 [32.2]
47.4 [79.6]
20.4 [100.0]
Page 2

BiPAP　6か月


Printed: 18 Mar 2009
File: 090318-1.SCR


Printed: 18 Mar 2009
File: 090318-1.SCR
Pulse Rate
0.4 [0.4]
58.1 [58.4]
34.3 [92.7]
4.2 [96.9]
2.7 [99.6]
0.3 [99.9]
SpO2
0.1 [0.1]
1.7 [1.8]
3.6 [5.4]
39.7 [45.2]
54.8 [100.0]
Page 2

実際にはじめてみると

納得しない→パンフレットなど？

かえって苦しい→IPAPを低目から開始

鼻閉、鼻汁→抗ヒスタミン剤、加湿器

夜間の低酸素が改善しない
→圧が低い？　酸素の併用（低換気以外の問題？）　従量式？

NIPPVがどれほど予後を改善しているのか？

最後に

転倒に注意して，出来ること（仕事，趣味など）をどんどんやってください．それが自然にリハビリテーションにもなっていきます．

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		国立病院機構東埼玉病院
研究開発担当者	所属 役職	神経内科医長
	氏名	鈴木幹也
実施期間		平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 28 年 3 月 31 日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：国立病院機構東埼玉病院

研究開発分担者　役職　氏名：神経内科医長　鈴木幹也

分担研究開発課題名（実施内容）：筋強直性ジストロフィーの呼吸療法に関する研究

① 研究開発成果の内容

筋強直性ジストロフィー（MyD）は成人の遺伝性筋疾患の中で最も多い疾患である。いまだに有効な根治療法がなく、その治療は対症療法が中心となるが、その中で呼吸療法は極めて重要な位置を占め生命予後を左右すると考えられる。しかしながら、本邦の筋ジストロフィー専門施設の 1999 年から 2012 年のデータベースから、約半数の MyD 患者が何らかの呼吸器を使用しており、年々人工呼吸器装着患者の割合は増えている傾向にある。しかしながら、どのような呼吸療法がなされ、どの程度の効果が得られているかについては、まだ十分に調べられていない。

筋ジストロフィー専門施設における MyD の呼吸療法の現状を把握し、課題と問題点を明らかにするためにデータベースに登録されている MyD 症例の追加調査を行い検討する。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

筋強直性ジストロフィーの呼吸療法に関する研究については、35 例を登録した。また、筋強直性ジストロフィーの ECG と予後に関する研究についてこれまで 18 例を登録した。集積された症例の全体を解析する予定である。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
なし				

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
なし				

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
なし				

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。
http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）
報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制
研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		国立精神・神経医療研究センター
研究開発担当者	所属 役職	総合内科部長
	氏名	瀬川和彦
実施期間		平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 28 年 3 月 31 日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：国立精神・神経医療研究センター

研究開発分担者　役職　総合内科部長　氏名：瀬川　和彦

分担研究開発課題名（実施内容）：筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討

① 研究開発成果の内容

筋強直性ジストロフィー患者の心電図所見を経時的に解析し、心イベントのリスク因子を探索する。

② 研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

滋賀医大を主幹とし、多施設共同研究を実施している。当院の症例を100例余り送付して解析中である。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（２）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
心疾患診療のオーバービュー（口	瀬川和彦	筋強直性ジス	2015年7月18	国内

頭)		トロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究 2015 年度ワークショップ	日	
心房粗動に対しカテーテルアブレーションを施行し経過観察中、ホルター心電図で無症候性の頻拍を認めた筋強直性ジストロフィーの一例	瀬川和彦	第二回筋ジストロフィー医療研究会	2015 年 10 月 24 日	国内

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等)	発表した時期	国内・外の別
心臓の問題	瀬川和彦	筋強直性ジストロフィー市民公開講座　知っておきたい筋強直性ジストロフィー@新潟	2015 年 5 月 24 日	国内
心臓の問題	瀬川和彦	筋強直性ジストロフィー市民公開講座　知っておきたい筋強直性ジストロフィー@東京	2015 年 7 月 19 日	国内
心臓の問題	瀬川和彦	筋強直性ジストロフィー市民公開講座　知っておきたい筋強直性ジストロフィー@札幌	2015 年 10 月 4 日	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけていま

す。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。
http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）
報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）
新潟、東京、札幌の市民公開講座において、筋強直性ジストロフィーの心臓の合併症についての講演を行った。

Ⅳ．実施体制
研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		筋硬直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
研究開発課題名		経時的心電図分析による致死性不整脈予測因子の分析とデバイス治療適応の検討
機関名		国立大学法人　滋賀医科大学
研究開発担当者	所属 役職	内科学講座（循環器・呼吸器）　教授
	氏名	堀江　稔
実施期間		平成 27 年 4 月　1 日　～　平成 28 年　3 月 31 日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：内科学講座（循環器・呼吸器）

研究開発分担者　役職　氏名：教授堀江　稔

分担研究開発課題名（実施内容）：経時的心電図分析による致死性不整脈予測因子の分析とデバイス治療適応の検討

① 研究開発成果の内容

2015 年 11 月末から 2016 年 3 月 11 日時点までで本邦の 6 施設から 240 例のデータが収集された。2005 年以降各施設に通院歴のある症例で、臨床所見と心電図、ホルター心電図所見を継持的に後ろ向きに調査している。心電図総数は 2903 枚である。過去の報告との比較から、400 例を超える症例を目標としている。

② 研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

1. 筋強直性ジストロフィー症の突然死について

本疾患の突然死は心伝導障害と心房細動の既往が関与することが報告されているが(N Engl J Med 2008)、我々のコホートでは同様の傾向はない。心肺蘇生後や心室性不整脈の目撃例での関与は示唆されるが、非目撃例の突然死に同様の傾向はなく、他の原因によることが考えられる。今後さらに症例を増やして統計解析を予定している。

2. 筋強直性ジストロフィー症とナトリウムチャネロパチーの関係

我々の Nature Communications への報告から(2016, in press)、筋強直性ジストロフィー症の心臓障害には loss of function タイプの幼児型ナトリウムチャネルの発現が持続することが関係していると考えられる。心筋ナトリウムチャネロパチーの一つと考えられ、心伝導障害のみならずブルガダ症候群や J 波の頻度が高いことも予想される。先ほど述べた非目撃例の

突然死はこれらの病態で説明できる可能性もある。現在 2900 枚の ECG におけるブルガダ心電図の確認を継続中である。これらの心電図所見が予後に影響を及ぼすか、今後検討したいと考える。

3. 筋強直性ジストロフィー症のデバイス治療について
現時点でデバイス治療はむしろ筋強直性ジストロフィー症の心臓病変の進行例で適応されることが多く、早期のデバイス治療が功を奏するかは不明である。今後データの集積を継続するとともに、デバイス治療の有効性を検討していく。

３．成果の外部への発表

（1）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
Splicing misregulation of SCN5A contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy	Freyermuth F, Rau F, Kokunai Y, Linke T, Sellier C, Nakamori M, Kino Y, Arandel L, Jollet A, Thibault C, Philipps M, Vicaire S, Jost B, Udd B, Day JW, Duboc D, Wahbi K, Matsumura T, Fujimura H, Mochizuki H, Deryckere F, Kimura T, Nukina N, Ishiura S, Lacroix V, Campan-Fournier A, Navratil V, Chautard E, Auboeuf D, Horie M, Imoto K, Lee KY, Swanson MS, Lopez de Munain A, Inada S, Itoh H, Nakazawa K, Ashihara T, Wang E, Zimmer T, Furling D, Takahashi MP, Charlet-Berguerand N.	Nature Communications	2016年4月	国外
The genetics underlying acquired long QT syndrome: impact for genetic screening	Hideki Itoh, Crotti L, Aiba T, Spazzolini C, Denjoy I, Fressart V, Hayashi K, Nakajima T, Ohno S, Makiyama T, Wu J, Hasegawa K, Mastantuono E, Dagradi F, Pedrazzini M,	European Heart Journal	2015 年 12 月	国外

	Yamagishi M, Berthet M, Murakami Y, Shimizu W, Guicheney P, Schwartz PJ, Horie M			
Asymmetry of parental origin in long QT syndrome: preferential maternal transmission of KCNQ1 variants linked to channel dysfunction.	Itoh H, Berthet M, Fressart V, Denjoy I, Maugenre S, Klug D, Mizusawa Y, Makiyama T, Hofman N, Stallmeyer, Zumhagen S, Shimizu W, Wilde AA, Schulze-Bahr E, Horie M, Tezenas du Montcel S, Guicheney P	EuropeanJournal of Human Genetics	In press	国外
Adenosine triphosphate-guided pulmonary vein isolation for atrial fibrillation: the UNmasking Dormant Electrical Reconduction by Adenosine TriPhosphate (UNDER-ATP) trial	Kobori A, Shizuta S, Inoue K, Kaitani K, Morimoto T, Nakazawa Y, Ozawa T, Kurotobi T, Morishima I, Miura F, Watanabe T, Masuda M, Naito M, Fujimoto H, Nishida T, Furukawa Y, Shirayama T, Tanaka M, Okajima K, Yao T, Egami Y, Satomi K, Noda T, Miyamoto K, Haruna T, Kawaji T, Yoshizawa T, Toyota T, Yahata M, Nakai K, Sugiyama H, Higashi Y, Ito M, Horie M, Kusano KF, Shimizu W, Kamakura S, Kimura T	European Heart Journal.	2015年8月	国外
Efficacy of Antiarrhythmic Drugs Short-Term Use After Catheter Ablation for Atrial Fibrillation (EAST-AF) trial	Kaitani K, Inoue K, Kobori A, Nakazawa Y, Ozawa T, Kurotobi T, Morishima I, Miura F, Watanabe T, Masuda M, Naito M, Fujimoto H, Nishida T, Furukawa Y, Shirayama T, Tanaka M, Okajima K, Yao T, Egami Y, Satomi K, Noda	European Heart Journal.	2015年9月	国外

	T, Miyamoto K, Haruna T, Kawaji T, Yoshizawa T, Toyota T, Yahata M, Nakai K, Sugiyama H, Higashi Y, Ito M, Horie M, Kusano KF, Shimizu W, Kamakura S, Morimoto T, Kimura T, Shizuta S,			

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Genetic counselling for inherrited cardic arrhythmia. （口頭）	堀江　稔	香港（Cardio Rhythm 2015）	2015	国外
Genetics of Early Repolarization Syndromes. （口頭）	堀江　稔	中国（Expert Consensus Symposium on J Wave Syndrome）	2015	国外
Progress in Diagnosis and Treatment of Malignant Ventricular Arrhythmias. （口頭）	堀江　稔	中国（Fourth Conference on Severe Heart Diseases in China）	2015	国外
The genetics underlying the acquired long QT syndrome. Impact on management.	Itoh H, Spazzolini C, Horie M, et al.	アメリカ合衆国(The Heart Rhythm Society's 36th Annual Scientific Sessions)	2015	国外
Genotype-Phenotype Correlation in Brugada Syndromes Differs from that in Long QT Syndromes.	堀江　稔	大阪（**第 79 回日本循環器学会総会・学術集会**）	2015	国内
A novel KCNJ3 mutation as a susceptibility for ventricular arrhythmias in long-QT Syndrome	Aiba T , Ono M, Horie M, et al.	京都（第 30 回日本不整脈学会学術大会）	2015	国内
Comparison ofcircadian, weekly and seasonal variations between electrical storms versus single VF events in patients with Brugada syndrome	Aiba T , Takatsuki S, Horie M, et al.	京都　（第 30 回日本不整脈学会学術大会）	2015	国内

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

- 日本循環器学会ガイドライン作成委員会「遺伝性不整脈の診療に関するガイドライン」
- 平成 27 年度　厚生労働科学研究　「遺伝子診断に基づく不整脈疾患群の病態解明および診断基準・重症度分類・ガイドライン作成に関する研究」班会議

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

nature COMMUNICATIONS

ARTICLE

Received 2 Jun 2015 | Accepted 16 Feb 2016 | Published 11 Apr 2016

DOI: 10.1038/ncomms11067 OPEN

Splicing misregulation of *SCN5A* contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy

Fernande Freyermuth[1,*,†], Frédérique Rau[2,*], Yosuke Kokunai[3], Thomas Linke[4], Chantal Sellier[1], Masayuki Nakamori[3], Yoshihiro Kino[5], Ludovic Arandel[2], Arnaud Jollet[2], Christelle Thibault[1], Muriel Philipps[1], Serge Vicaire[1], Bernard Jost[1], Bjarne Udd[6,7,8], John W. Day[9], Denis Duboc[10], Karim Wahbi[10], Tsuyoshi Matsumura[11], Harutoshi Fujimura[11], Hideki Mochizuki[3], François Deryckere[12], Takashi Kimura[13], Nobuyuki Nukina[14], Shoichi Ishiura[15], Vincent Lacroix[16], Amandine Campan-Fournier[17], Vincent Navratil[18], Emilie Chautard[19], Didier Auboeuf[19], Minoru Horie[20], Keiji Imoto[21], Kuang-Yung Lee[22], Maurice S. Swanson[23], Adolfo Lopez de Munain[24], Shin Inada[25], Hideki Itoh[20], Kazuo Nakazawa[25], Takashi Ashihara[20], Eric Wang[23], Thomas Zimmer[4], Denis Furling[2], Masanori P. Takahashi[3] & Nicolas Charlet-Berguerand[1]

Myotonic dystrophy (DM) is caused by the expression of mutant RNAs containing expanded CUG repeats that sequester muscleblind-like (MBNL) proteins, leading to alternative splicing changes. Cardiac alterations, characterized by conduction delays and arrhythmia, are the second most common cause of death in DM. Using RNA sequencing, here we identify novel splicing alterations in DM heart samples, including a switch from adult exon 6B towards fetal exon 6A in the cardiac sodium channel, *SCN5A*. We find that MBNL1 regulates alternative splicing of *SCN5A* mRNA and that the splicing variant of *SCN5A* produced in DM presents a reduced excitability compared with the control adult isoform. Importantly, reproducing splicing alteration of *Scn5a* in mice is sufficient to promote heart arrhythmia and cardiac-conduction delay, two predominant features of myotonic dystrophy. In conclusion, misregulation of the alternative splicing of *SCN5A* may contribute to a subset of the cardiac dysfunctions observed in myotonic dystrophy.

[1] Department of Translational medicine and neurogenetics, IGBMC, CNRS UMR7104, INSERM U964, Université de Strasbourg, Illkirch 67400, France. [2] Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, Inserm, CNRS, Centre de Recherche en Myologie UMRS974/FRE3617, Institut de Myologie, GH Pitié-Salpêtrière, Paris 75013, France. [3] Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka 565-0871, Japan. [4] Department of Physiology, Friedrich Schiller University Hospital, Jena 07743, Germany. [5] Department of Bioinformatics and Molecular Neuropathology, Meiji Pharmaceutical University, Kiyose 205-8588, Japan. [6] Neuromuscular Research Center, Tampere University and University Hospital, Tampere 33520, Finland. [7] Department of Medical Genetics, Folkhälsan Institute of Genetics, Helsinki University, Helsinki 00250, Finland. [8] Department of Neurology, Vaasa Central Hospital, Vaasa 65130, Finland. [9] Department of Neurology, Stanford University, Stanford, California 94304, USA. [10] Service de Cardiologie, Université Paris-Descartes, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris 75014, France. [11] Department of Neurology, Toneyama National Hospital, Toyonaka 560-8552, Japan. [12] CNRS UMR7175, Ecole Supérieure de Biotechnologies de Strasbourg, Illkirch 67400, France. [13] Division of Neurology, Hyogo Medical College, Nishinomiya 663-8501, Japan. [14] Laboratory of Structural Neuropathology, Doshisha University Graduate School of Brain Science, Kyoto 610-0394, Japan. [15] Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo, Tokyo 153-8902, Japan. [16] Université Lyon 1, CNRS, UMR5558 LBBE, Villeurbanne 69622, France. [17] Hospices civils de Lyon, Laboratoire de cytogénétique constitutionelle, Bron 69500, France. [18] Pôle Rhône Alpes de Bioinformatique, Université Lyon 1, Bâtiment Gregor Mendel, Villeurbanne 69100, France. [19] Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Lyon 69373, France. [20] Department of Cardiovascular and Respiratory Medicine, Shiga Medical University, Otsu 520-2192, Japan. [21] Department of Information Physiology, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki 444-8585, Japan. [22] Department of Neurology, Chang Gung Memorial Hospital, Keelung 20401, Taiwan. [23] Department of Molecular Genetics and Microbiology, Center for NeuroGenetics and the Genetics Institute, University of Florida, College of Medicine, Gainesville, Florida 32610, USA. [24] Department of Neurology, Hospital Universitario DONOSTIA, Neuroscience Area, Institute Biodonostia CIBERNED and University of Basque Country UPV-EHU, San Sebastián 20014, Spain. [25] Laboratory of Biomedical Sciences and Information Management, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka 565-8565, Japan. * These authors contributed equally to the work. † Present address: Massachusetts General Hospital, MassGeneral Institute for Neurodegenerative Diseases, Charlestown, Massachusetts 02129, USA. Correspondence and requests for materials should be addressed to D.F. (email: denis.furling@upmc.fr) or to M.P.T. (email: mtakahas@neurol.med.osaka-u.ac.jp) or to N.C-B. (email: ncharlet@igbmc.fr).

Myotonic dystrophy (DM), the most common adult-onset muscular dystrophy, includes two genetically distinct forms. DM of type 1 (DM1) and its severe congenital form (CDM1) are caused by an expansion of CTG repeats in the 3′-untranslated region (UTR) of the *DMPK* gene[1–3]. In contrast, DM of type 2 (DM2) is caused by an expansion of CCTG repeats within the first intron of the *CNBP* (also known as *ZNF9*) gene[4].

The pathogenesis of DM involves a RNA gain-of-function mechanism caused by expression of mutant RNAs containing hundred to thousands of CUG or CCUG repeats that interfere with the splicing of other pre-mRNAs through dysfunction of two classes of RNA-binding proteins. MBNL proteins (MBNL1, MBNL2 and MBNL3) are sequestered within nuclear RNA foci formed by expanded CUG and CCUG repeats[5,6], whereas expression and phosphorylation of CUG-binding protein 1 (CUGBP1, encoded by the *CELF1* gene) are increased in DM1 heart samples[7]. MBNL and CUGBP1 proteins regulate alternative splicing, and alterations of their functional levels in myotonic dystrophic tissues results in reversion to fetal splicing patterns for several mRNAs, such as the insulin receptor (*INSR*) (ref. 8), the muscle chloride channel (*CLCN1*) (refs 9,10), dystrophin (*DMD*) (refs 11,12) and key components of the skeletal muscle excitation–contraction coupling process, including amphiphysin2 (*BIN1*) (ref. 13), ryanodine receptor 1 (*RYR1*) (ref. 14), sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase SERCA1 (*ATP2A1*) (ref. 14) and the muscle calcium channel $Ca_V1.1$ (*CACNA1S*) (ref. 15). Misregulation of the alternative splicing of the insulin receptor *INSR*, *CLCN1* and *DMD* mRNAs are associated with the insulin resistance[8], myotonia[9,10,16] and dystrophic process[12], respectively, while alterations of the alternative splicing of *BIN1*, *RYR1*, *ATP2A1* and *CACNA1S* may contribute to the skeletal muscle weakness observed in DM[13–15].

In contrast, the molecular mechanisms underlying the cardiac defects, which affect 80% of individuals with DM and represent the second most common cause of death in this disease[17,18], are yet to be defined. Cardiac involvements in DM are characterized by cardiac-conduction delay that may result in fatal atrio-ventricular block, and by atrial or ventricular tachycardia[17,18]. Electrocardiography (ECG) analyses in DM patients indicate prolonged conduction time from the sinoatrial node to the ventricles (PR interval) and elongated ventricular depolarization (QRS duration). Interestingly, cardiac dysfunctions in DM are reminiscent in some aspect to an alteration of the cardiac sodium current. The α-subunit of the cardiac voltage-gated Na^+ channel, $Na_v1.5$, is encoded by the *SCN5A* gene and plays a key role in the excitability of cardiomyocytes and for rapid propagation of the impulse through the cardiac-conduction system. Mutations in *SCN5A* lead to a variety of arrhythmic disorders, including long QT3, progressive and non-progressive cardiac-conduction disease (also known as Lev-Lenègre disease), atrial fibrillation, sick sinus syndrome, Brugada syndrome and numerous overlapping syndromes[19–21].

Using transcriptomic approaches, we identified various novel splicing changes in heart samples of DM1 individuals. Analysis of the RNA motifs enriched in the vicinity of these misregulated exons indicates that sequestration of the MBNL proteins is probably the main cause of splicing misregulation in heart of individuals with DM. Among these novel splicing alterations, we focused on misregulation of alternative splicing of the *SCN5A* pre-mRNA. This splicing alteration results in expression of a fetal isoform of *SCN5A* with altered electrophysiological properties. Of importance, we demonstrate that reproducing the splicing alteration of *Scn5a* in mouse is sufficient to cause heart arrhythmia and cardiac-conduction delay with elevated PR interval, which are key characteristics of the heart alterations observed in DM. These results suggest that altered splicing of *SCN5A* mRNA may participate to the electrical cardiac abnormalities observed in DM.

Results

Identification of splicing changes in DM heart samples. To determine novel splicing abnormalities in DM heart samples, we first used whole-genome microarrays (GeneChip Human Exon 1.0 ST array) on polyadenylated RNA extracted from left ventricle samples of three adult DM1 patients compared with three age-matched control individuals. Bioinformatic analyses predicted significant (Fold Change ≥ 2, Sudent *t*-test, *P* value ≤ 0.01) changes in the splicing of 24 exons between control and DM1 samples (Supplementary Table 1), including a misregulation of the alternative splicing of the *SCN5A* pre-mRNA. To extend this analysis, we performed paired-end RNA sequencing (RNA-seq) on the same DM1 and control heart samples, yielding 1,611 million of mapped 100 bp reads. DESeq and Cuffdiff were then applied to estimate differential gene expression and over or under-expressed mRNAs were selected by using the Benjamini and Hochberg adjusted *P* values (false discovery rate (FDR) ≤ 0.1). A total of 9 and 19 upregulated genes were predicted differentially expressed with DESeq and Cuffdiff, respectively, but none were confirmed by quantitative real-time RT-qPCR analyses. This low number of differentially expressed mRNAs suggests that cardiac pathology in DM is not associated with drastic modifications of gene expression levels. In contrast, DEXSeq (ref. 22), which tests differential exon usage between two conditions, predicted 134 significant (Log2 Fold Change ≥ 1.2, FDR ≤ 0.1) alternative splicing changes between control and DM1 heart samples (Supplementary Data 1). Similarly, MISO (ref. 23) analysis, which computes the fraction of mRNA that includes a given cassette alternative exon, predicted 259 significant (ΔPSI ≥ 0.3; *Z*-score ≥ 1.2) alternative splicing changes between control and DM1 heart samples (Fig. 1a and Supplementary Data 2), including a robust misregulation of the alternative splicing of *SCN5A* (Fig. 1b). MISO and DEXSeq predictions overlapped, but with some exceptions, such as the skipping of the consecutive exons 18, 19 and 20 of *CAMK2B* predicted by DEXSeq but not by MISO; or the shift of *SCN5A* exon 6B towards exon 6A identified by MISO but not by DEXSeq. These differences are inherent to their computation models, since MISO does not detect alterations of successive exons and DEXSeq does not identify mutually exclusive exons, highlighting that MISO and DEXSeq are complementary bioinformatics approaches. Next, we tested by PCR with reverse transcription (RT–PCR) forty candidate mRNAs having the highest probability of misregulation in DEXSeq and/or MISO analyses. We validated splicing alterations for 32 of them, including some that have been identified in previous studies (*TNNT2, TNNT3*, *ABLIM1, LDB3*, *MBNL1*, *CAMK2B*, *MAPT* and so on)[24–26], and 20 others that represent, to the best of our knowledge, novel alterations of alternative splicing (*ADD3*, *GOLGA4*, *CRTC2*, *ARHGEF10L*, *ANK3*, *DCLK2*, *EPN2*, *UNC13B*, *TECR*, *ARVCF*, *SOCS7*, *CELF1* and so on) in DM1 heart samples (Fig. 1c). Of interest, some of these splicing alterations may be of pathological consequence in DM. For example, knockout of the *Socs7* gene in mouse results in insulin resistance[27]. Whether the splicing misregulation of *SOCS7* in DM contributes to insulin resistance remains to be tested. Also, RNA sequencing predicts an increased retention of the penultimate intron of *FCGRT*, which encodes the Fc fragment of the IgG receptor transporter α (FCRN) protein, involved in IGG recycling[28]. Whether splicing alteration of *FCGRT* in DM is responsible to the decreased level of IGG in blood of these patients is an attractive hypothesis that remains to be tested.

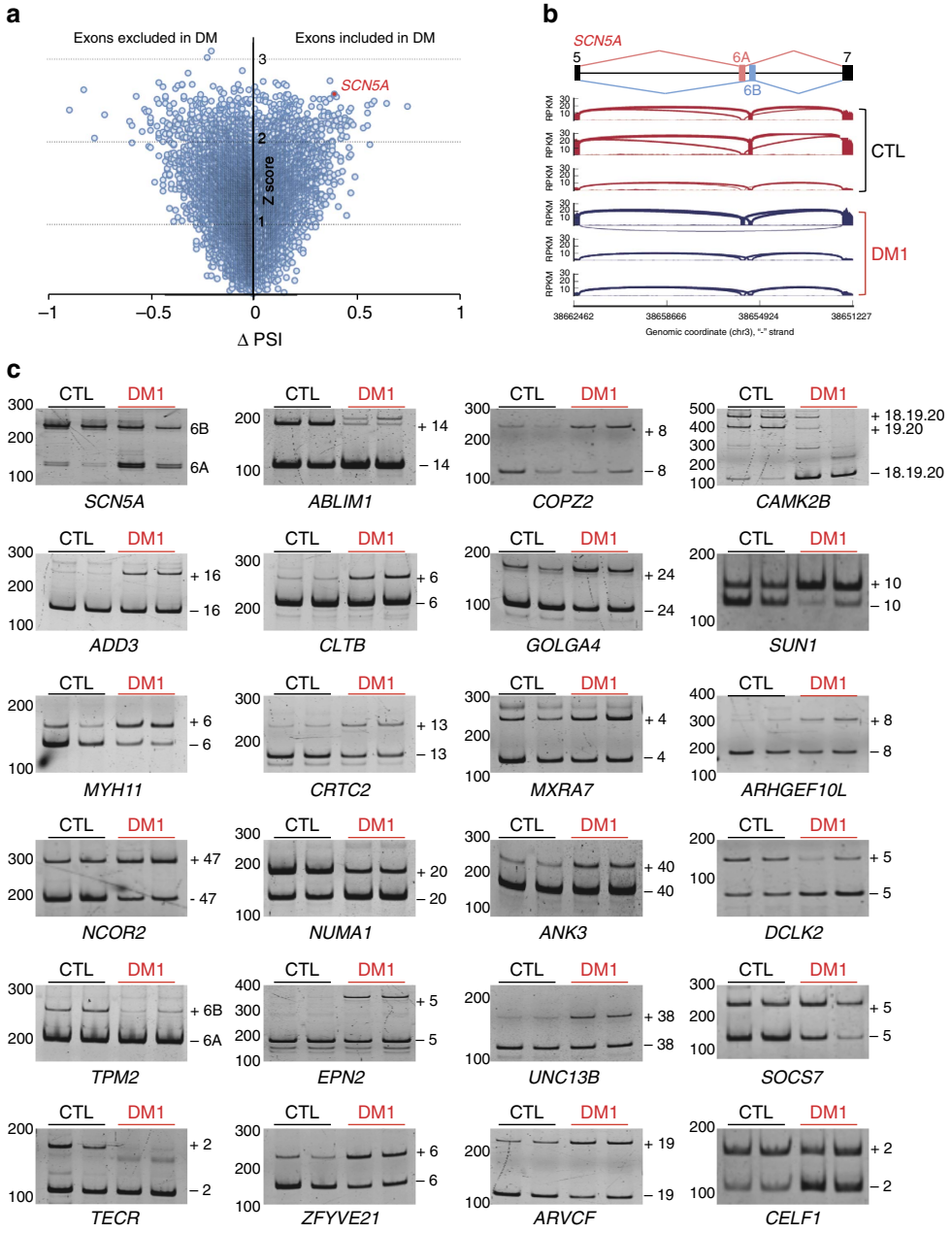


Figure 1 | Identification of novel splicing misregulations in DM1 heart samples. (**a**) Δ-PSI versus Z-score plot of exon cassettes misregulations predicted by MISO analysis. (**b**) Exons structure and coverage of RNA-seq reads across *SCN5A* exons 5–7 show increased inclusion of exon 6A and decreased inclusion of exon 6B in heart samples of three DM1 patients (bottom, blue) versus three control samples (top, red). (**c**) Validation by RT–PCR of RNA-seq predictions in human heart samples of normal adult individuals (CTL, black) versus adult DM1 patients (DM1, red). Molecular size markers in bps are reported to the left of each RT–PCR gels. bp, base pair.

Finally, RNA sequencing predicts misregulation of the alternative splicing of a cardiac-specific exon located in the 5′-UTR of *CELF1*, which encodes CUGBP1. Whether this alternative splicing may contribute to the increase levels of CUGBP1 protein observed in DM1 hearts remains also to be evaluated.

Splicing altered in DM are enriched for MBNL-binding sites. Mutants RNAs containing expanded CUG or CCUG repeats interfere with the functional levels of CUGBP1 and MBNL proteins. Earlier studies determined that MBNL proteins bind to YGC RNA motifs (where Y is a pyrimidine)[29–32], while CUGBP1 binds to UGU-enriched sequences[33,34]. To determine whether these RNA motifs are indeed present in the vicinity of exons misregulated in DM, we determined all 4-mer RNA motifs enriched within, upstream or downstream of the exons predicted as misregulated by MISO in DM1 heart samples, compared with 2,000 control exons (Fig. 2). Most RNA motifs significantly enriched (binomial test, P value $<1.0\ 10^{-7}$) contained YGC sequences, while none were found to contain UGU sequences. Furthermore, YGC sequences were enriched upstream of exons abnormally included in DM1, while YGC motifs were enriched downstream of exons repressed in DM1. These results matched the MBNL splicing regulatory map determined by CLIP experiments, where binding of MBNL upstream of an exon tends to inhibit exon inclusion whereas binding of MBNL downstream

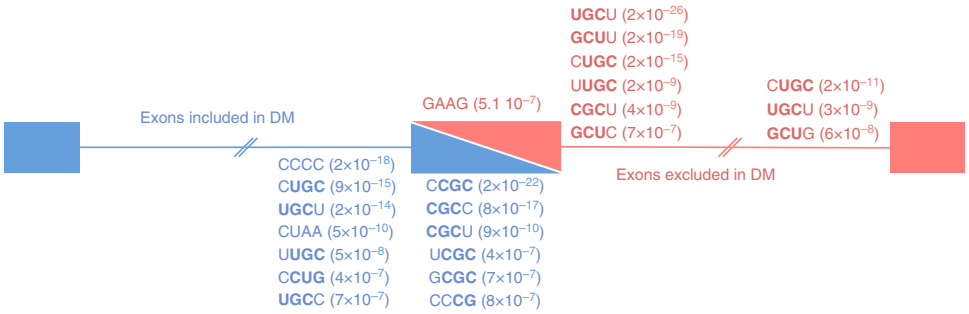


Figure 2 | MBNL-binding motifs are enriched in vicinity of exons misregulated in DM1. Sequence and binomial test *P* values of 4-mer RNA motifs enriched downstream, within and upstream of exons misregulated in DM1 heart samples. Sequences enriched in exons excluded in DM are indicated in red, while sequences enriched in exons included in DM are indicated in blue.

of an exon generally stimulates exon inclusion[35,36]. In contrast, we found no enriched motifs for other RNA-binding proteins, including CUGBP1, rbFOX1, hnRNP H or Staufen. These results, as well as previous data[36–38], support a model in which titration of MBNL proteins is the main cause of splicing change in DM1 heart, while misregulation of other RNA-binding proteins may contribute to a subset of splicing alterations.

Splicing of *SCN5A* is misregulated in DM heart samples. Both microarray and RNA-seq predicted misregulation of alternative splicing of *SCN5A* pre-mRNA in DM1 heart samples. Splicing of *SCN5A* is developmentally regulated, such that exon 6A is included in fetal heart but rapidly replaced by exon 6B after birth[39]. Consequently, *SCN5A* exon 6A is named as embryonic or fetal, while exon 6B is known as adult. Exons 6A and 6B are mutually exclusive exons encoding part of the voltage sensor, segments 3 and 4 located in the domain I of the sodium channel (Fig. 3a,b). These are key segments for the electrical activity of the sodium channel, and inclusion of either fetal exon 6A or adult exon 6B results in channel isoforms, named, respectively, $hNa_v1.5e$ and $hNa_v1.5$, with different electrophysiological properties[39–41]. We confirmed our microarray and RNA-seq predictions by RT–PCR and found that adult *SCN5A* exon 6B is partly replaced by its fetal exon 6A in heart samples of individuals with DM, including adult DM1 and adult DM2 cases (Fig. 3c). Note that to differentiate exon 6B from exon 6A that have the exact same length of 92 bp, we took advantage of a *Bstb*I restriction site present only in exon 6A, which thus appears as a *Bstb*I-digested doublet band in Fig. 3c. These results are consistent with the recent report of a splicing misregulation of *SCN5A* in one DM1 heart sample[42]. Although splicing of *SCN5A* is misregulated in DM1, we observed no correlation between the percentage of *SCN5A* exon 6A inclusion and the increased duration of the PR interval and only a very limited, if any, correlation between misregulation of *SCN5A* exon 6A splicing and alteration of the QRS duration in individuals with DM1 (R^2 of 0.2 with six DM1 samples; Supplementary Fig. 1). Misregulation of *SCN5A* splicing was specific to DM, as we did not observe inclusion of exon 6A in heart samples from individual affected with Duchenne muscular dystrophy (DMD), amyotrophic lateral sclerosis (ALS) or dilated cardiomyopathy (DCM) (Fig. 3d). Moreover, misregulation of splicing in DM1 was specific and not global, as we observed no splicing changes of *SCN5A* alternative exon 18, of *CACNA1C* mutually exclusive exons 8A and 8B, of *KCNAB1* alternative exons 2 and 11, or of *KCNQ1* alternative exons 2 and 5 (Supplementary Fig. 2). Finally, we observed no significant alteration of the expression level of *SCN5A* mRNA by quantitative real-time RT-qPCR (Fig. 3e). Overall, these results indicate a specific misregulation of alternative splicing of *SCN5A* resulting in expression of a fetal form of this channel in adult DM heart. These results are consistent with previous studies where alternative splicing changes in DM resume a MBNL-dependent fetal splicing pattern that persist in adult tissues[26,37].

Alternative splicing of *SCN5A* is regulated by MBNL1. To determine the mechanisms underlying misregulation of *SCN5A* splicing, we first determined its splicing pattern in cell models of DM. Since *SCN5A* is expressed at low level in culture of immature skeletal muscle cells, we investigated its splicing in primary cultures of differentiated skeletal muscle cells originating from muscle biopsies of control and DM1 individuals. RT–PCR experiments determined a switch of exon 6B towards exon 6A in DM1 muscle cells compared with control, reproducing the splicing alteration observed in cardiac tissue (Fig. 4a). Of technical interest, the basal level of exon 6A inclusion was higher in muscle cell cultures than in adult heart samples (compare Fig. 4a to Fig. 3c), which probably reflect the immature aspect of cell cultures. Since mutant RNAs containing expanded CUG or CCUG repeats interfere with alternative splicing through titration of MBNL proteins, we tested whether MBNL1 regulates *SCN5A* splicing. Reduction of *MBNL1* expression through a siRNA-mediated approach in human control primary muscle cells mimicked the effect of CUG repeats and promoted a switch from adult exon 6B towards fetal exon 6A (Fig. 4b). Western blotting analysis confirmed the successful depletion of MBNL1 expression (Supplementary Fig. 3A). Next, we assessed alternative splicing of *Scn5A* in heart samples of *Mbnl* knockout mice[43]. RT–PCR analysis shows that inclusion of the exon 6A of *Scn5a* is increased in heart samples of mice with no Mbnl1 and reduced level of Mbnl2 ($Mbnl1^{-/-}$, $Mbnl2^{+/-}$)(Fig. 4c). The increased inclusion of *Scn5a* exon 6A in *Mbnl* knockout mice is significant (Student *t*-test, *P* value ≤ 0.01) but rather mild, probably reflecting difference in regulation of alternative splicing between human and mouse or the compensatory effect of residual Mbnl2 expression[43]. This hypothesis is consistent with the mild splicing alteration of *Scn5A* observed in the sole *Mbnl1* knockout mice[44]. Overall, these results suggest that MBNL proteins regulate the alternative splicing of *SCN5A* exons 6A and 6B. To determine whether this regulation is direct or indirect, we constructed a minigene containing exons 6A and 6B of *SCN5A* bordered by their intronic regions. Expression of this construct in mouse C2C12 myoblasts reproduced a fetal pattern with mainly inclusion of exon 6A (Fig. 4d). Since inclusion of exon 6B was repressed, reduction of Mbnl1 activity through siRNA or expression of expanded CUG repeats had no further repressive effect on exon 6B. In contrast, expression of MBNL1 promoted a switch from fetal exon 6A towards adult exon 6B, while

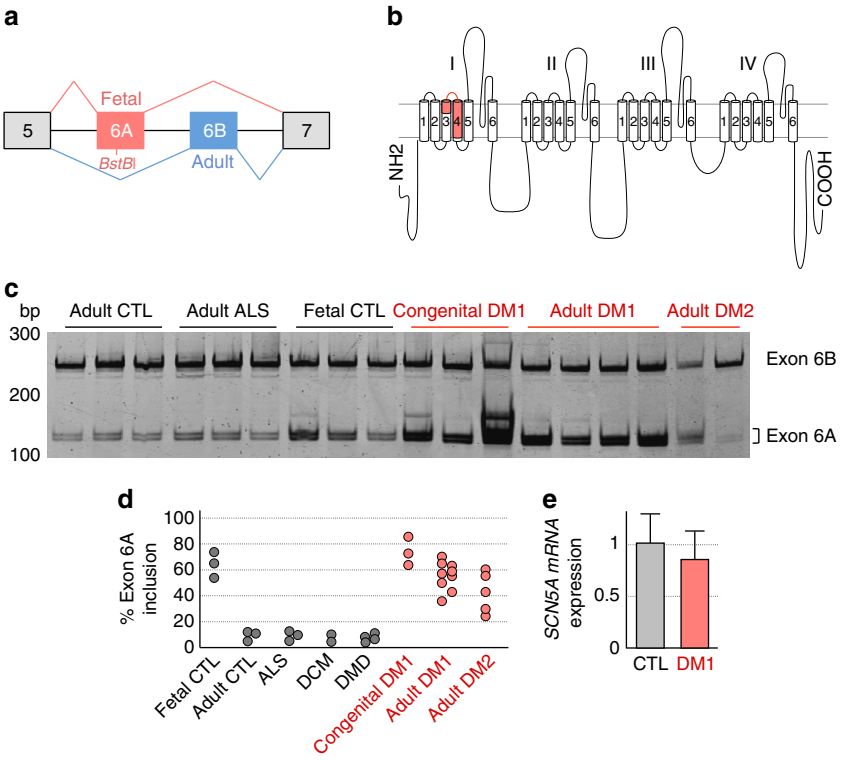


Figure 3 | Splicing of *SCN5A* exon 6A is altered in DM heart samples. (**a**) Schematic representation of mutually exclusive exons 6A and 6B of *SCN5A*. *SCN5A* mRNA includes exon 6A (red) in fetal heart, while *SCN5A* mRNA expresses exon 6B (blue) in adult heart. (**b**) Schematic representation of SCN5A topology expressing exon 6A (red). Exons 6A or 6B encodes part of segment 3, connecting loop between S3 and S4 and most part of the voltage-sensitive segment 4 of domain 1 of the sodium channel SCN5A. (**c**). Representative *BstB*I-digested RT–PCR analysis of endogenous *SCN5A* mRNA from human heart samples of normal adult (CTL), adult ALS, non-DM fetuses (20, 24 and 35 weeks), congenital DM1 fetuses (CDM1 of 22, 25 and 28 weeks), adults DM1 and DM2 individuals. Molecular size marker is indicated in bp. (**d**) Graphical representation of RT–PCR analysis depicting the percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6A in left ventricular heart samples from fetal and adult control, ALS, DCM, DMD, CDM1 and adult DM1 and DM2 individuals. (**e**) Graphical representation of quantitative real-time RT-qPCR depicting the mRNA expression of *SCN5A* relative to *RPLP0* in control normal adults ($n=5$) versus adult DM1 ($n=5$) heart samples. Bars indicate s.e.m. bp, base pairs.

expression or siRNA-mediated depletion of CUGBP1 had no effect (Fig. 4d). Western blotting analysis confirmed that siRNA transfection efficiently reduced endogenous Mbnl1 or Cugbp1 expression (Supplementary Fig. 3B and C). Next, gel-shift assays determined that recombinant purified GST-tagged MBNL1 bound to UGC RNA motifs located upstream of exon 6A (Fig. 4e). Of interest, this UGC sequence is absent from the mouse genome, which may explain the mild splicing alteration of *Scn5A* observed in mice knockout for Mbnl proteins. Mutation of these UGC motifs abolished MBNL1 binding (Fig. 4f), as well as the regulatory effect of MBNL1 on a mutant *SCN5A* minigene (Fig. 4g). Overall, these results establish that MBNL1 regulates directly alternative splicing of *SCN5A* exons 6A/6B.

***SCN5A* splicing forms present different electrical properties.** *SCN5A* encodes $Na_v1.5$, the main cardiac voltage-gated sodium channel, and loss-of-function mutations in *SCN5A* lead to a variety of arrhythmic disorders, which share some common pathological features with DM. Furthermore, exons 6A and 6B differ at seven amino acid positions, resulting in channel variants with different electrophysiological properties[39–41]. To investigate the consequences of the switch from *SCN5A* exon 6B towards exon 6A observed in DM, we first examined in *Xenopus* oocytes the sodium currents generated by either $hNa_v1.5e$, the splice variant of *SCN5A* containing the fetal exon 6A, or $hNa_v1.5$, encoded by *SCN5A* containing the adult control exon 6B (Fig. 5a and Supplementary Table 2). Injection of RNA encoding hNav1.5e, which is the splicing isoform of SCN5A found in DM, indicated a significant reduction of the sodium current amplitude of 45%, compared with $hNa_v1.5$, the normal adult *SCN5A* exon 6B form (Fig. 5b,c). Since, the extent of splicing misregulation varies among DM individuals, which typically express a mix of SCN5A splicing forms containing either exon 6A or exon 6B (cf. Fig. 3c), we analysed sodium currents generated by a mix of both *SCN5A* isoforms (Fig. 5a). Injecting *Xenopus* oocytes with an equimolar mix of RNA encoding each channel, namely 50% of $hNa_v1.5e$ (*SCN5A* containing fetal exon 6A) and 50% of $hNa_v1.5$ (SCN5A expressing adult exon 6B), resulted in a reduction of 30% of the current amplitude compared with the control $hNa_v1.5$ (Fig. 5b,c). Next, two-electrode voltage clamp recording experiments revealed that the steady-state activation of the fetal $hNa_v1.5e$ was shifted by 7 mV towards depolarized potential compared with the control adult $hNa_v1.5$ form (Fig. 5d and Supplementary Table 2). This shift is consistent with the shift observed previously in transfected mammalian cells[39–41], thus validating our approach in *Xenopus* oocytes. To better reproduce the situation observed in DM, we injected in *Xenopus* oocytes an equimolar mix of DM ($hNa_v1.5e$, fetal exon 6A) and control ($hNa_v1.5$, adult exon 6B) RNA isoforms of *SCN5A*. Importantly, this mix of splicing forms also presented a significant shift of steady-state activation towards depolarized potentials by 3.8 mV, compared with the control $hNa_v1.5$ form (Fig. 5d, Supplementary Table 2). Correspondingly, a similar shift

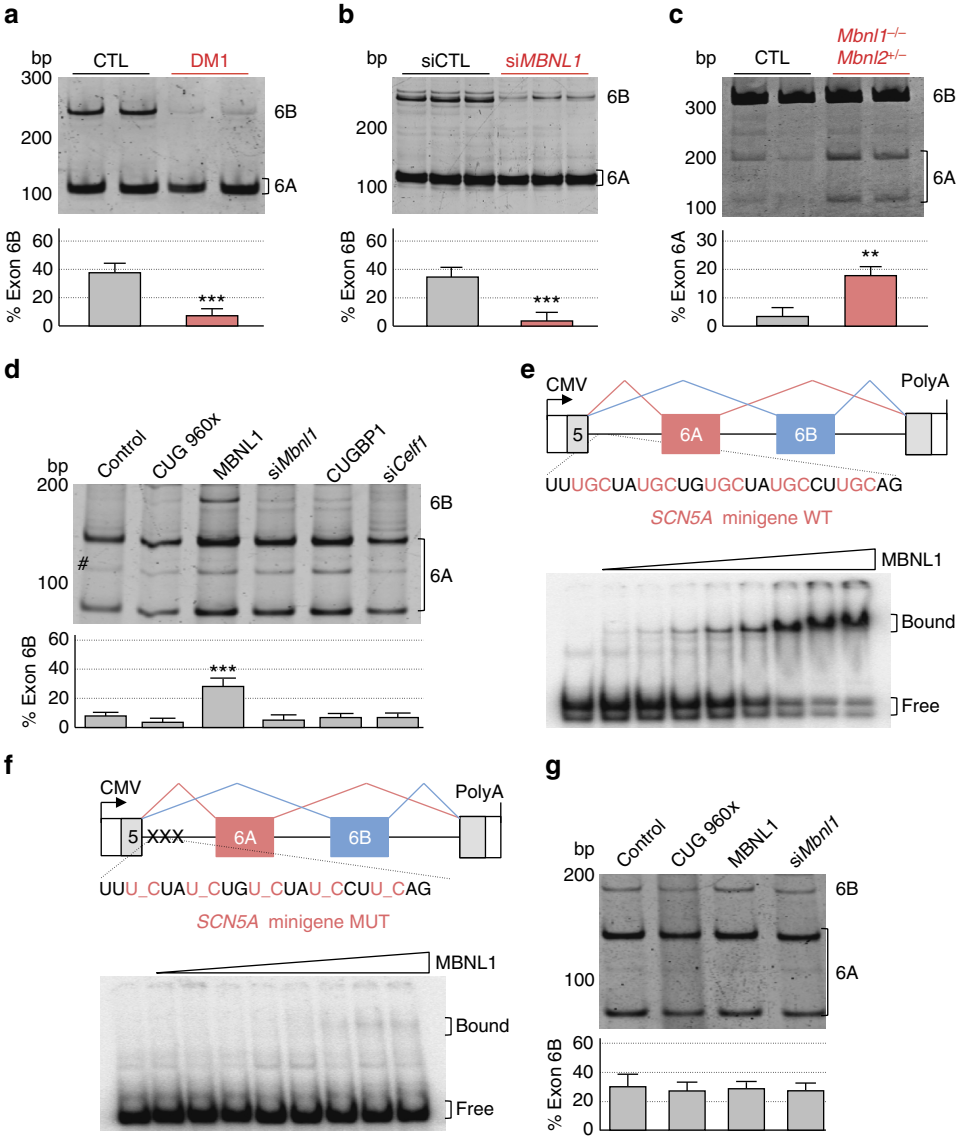


Figure 4 | MBNL1 regulates alternative splicing of *SCN5A*. (**a**) Upper panel, RT-PCR analysis of endogenous *SCN5A* mRNA from differentiated primary muscle cell cultures derived from biopsies of control or DM1 individuals. (lower) Quantification of the percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6B. (**b**, upper) RT-PCR analysis of endogenous *SCN5A* mRNA from human differentiated cultures of control primary muscle cells transfected with a scrambled siRNA (siCTL) or a siRNA targeting *MBNL1* mRNA (si*MBNL1*). (lower) Percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6B. (**c**, upper) RT-PCR analysis of endogenous *Scn5a* mRNA in heart samples of wild-type and compound *Mbnl1*$^{-/-}$, *Mbnl2*$^{+/-}$ double knockout mice. (lower) Percentage of *Scn5a* mRNA including exon 6A. (**d**, upper) RT-PCR analysis of exogenous *SCN5A* mRNA from differentiated C2C12 muscle cells co-transfected with a *SCN5A* minigene containing exons 6A and 6B bordered by their introns and with either a plasmid expressing 960 CTG repeats, MBNL1, CUGBP1 or with a siRNA directed against *Mbnl1* (si*Mbnl1*) or *Celf1* (encoding Cugbp1; si*Celf1*). # Indicates usage of a cryptic splice site inherent to the minigene. (lower) Percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6B. (**e**, upper) Schematic representation of *SCN5A* minigene, including the UGC-rich sequence used for binding assays. (lower) Gel-shift assays were performed using 5–1,000 nM of purified bacterial recombinant GST-MBNL1Δ^{101} and a uniformly ^{32}P-CTP labelled RNA. (**f**, upper) Schematic representation of mutant *SCN5A* minigene, including the mutant sequence, used for binding assays. (lower) Gel-shift assay performed as in **e**. (**g**, upper) RT-PCR analysis of exogenous *SCN5A* mRNA from differentiated C2C12 muscle cells co-transfected with mutant *SCN5A* minigene and with a plasmid expressing 960 CTG repeats or MBNL1 or with a siRNA directed against *Mbnl1* (si*Mbnl1*). (lower) Percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6B. All transfection and gel-shift experiments were repeated three to five times. Molecular size markers are indicated in bp. Bars indicate s.e.m. Student test, ** indicates $P<0.01$, *** indicates $P<0.001$. bp, base pairs.

was observed for the time constant of inactivation (Fig. 5e). Consistent with previous electrophysiological studies[39–41], no significant differences were observed between hNa$_v$1.5 and hNa$_v$1.5e regarding steady-state inactivation and recovery from inactivation (Fig. 5f,g). Overall, our results are consistent with previous studies[39–41], and demonstrate that hNa$_v$1.5e, the splicing form of *SCN5A* expressed in DM and containing the fetal exon 6A, presents a reduced excitability compared with hNa$_v$1.5, which is the adult control *SCN5A* isoform containing exon 6B.

Alteration of *SCN5A* splicing leads to heart conduction defects. Misregulation of the alternative splicing of *SCN5A* in DM is one alteration identified among many others, thus questioning the

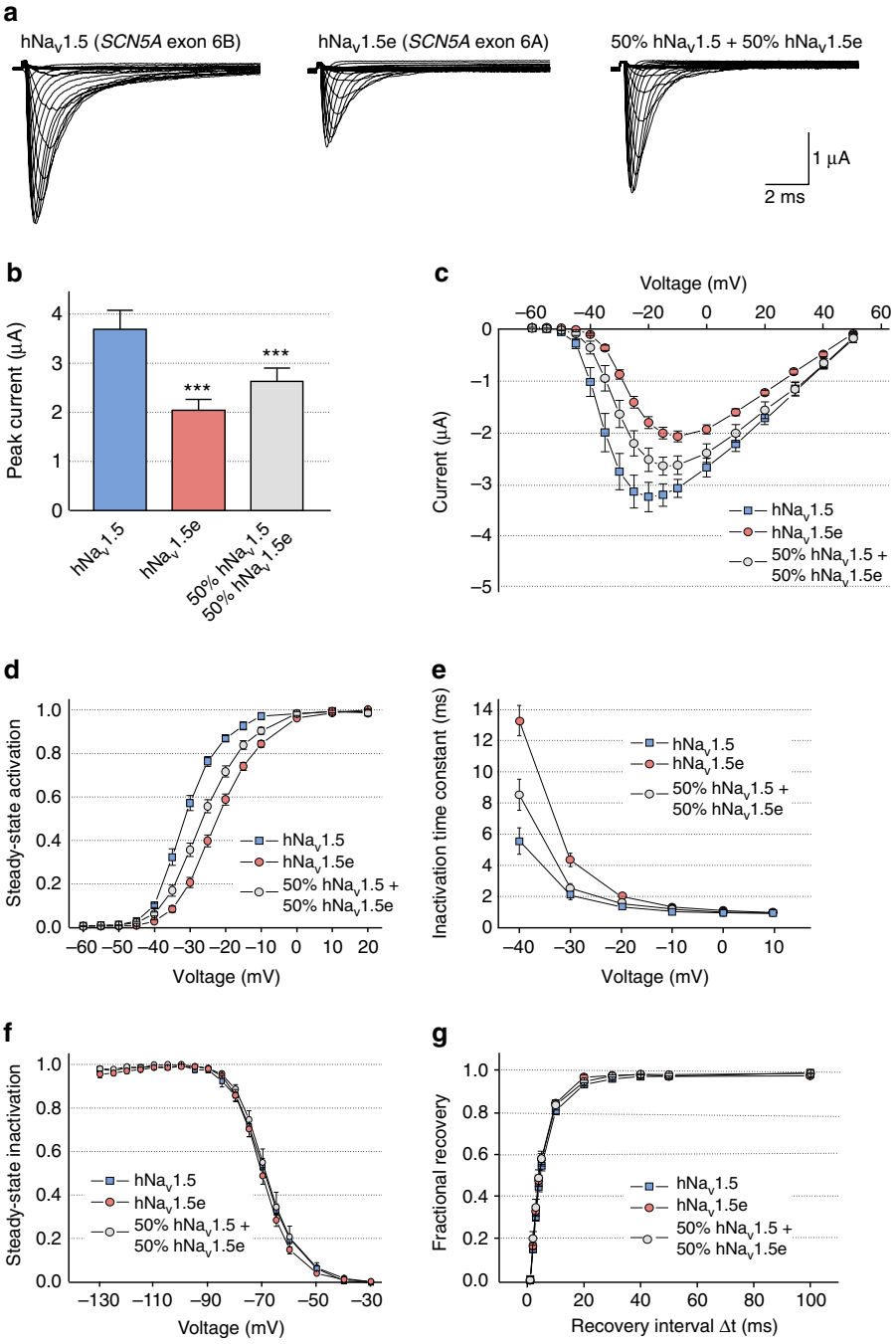


Figure 5 | Electrophysiological properties of hNa$_v$1.5 and hNa$_v$1.5e channels. (**a**) Representative Na^+ currents generated in *Xenopus* oocytes by hNa$_v$1.5 (encoded by *SCN5A* containing the adult exon 6B), hNa$_v$1.5e (encoded by *SCN5A* including the fetal exon 6A), and simultaneously expressed Na$_v$1.5 and Na$_v$1.5e channels at a 1:1 ratio. (**b**) Peak current amplitudes at the test potential of −10 mV in *Xenopus* oocytes injected with equimolar amount of cRNA encoding hNa$_v$1.5, hNa$_v$1.5e or 1:1 combination of Na$_v$1.5 and Na$_v$1.5e channels. (**c**) Current–voltage relationships. (**d**) Steady-state activation curves. (**e**) Inactivation time constants τh (ms) at different test pulses. (**f**) Steady-state inactivation curves. (**g**) Fractional recovery curves. Data were obtained from 11 different batches of oocytes. To illustrate steady-state activation, steady-state inactivation and recovery from inactivation, we used 3–5 representative measurements. For total number of measurements ($n = 25$–27) and for statistical data evaluation (Vm, s) see the Supplementary Table 2. Bars indicate s.e.m. Student test, *** indicates $P < 0.001$.

contribution of *SCN5A* misregulation to the cardiac symptoms observed in DM. To test the physiological importance of *SCN5A* splicing misregulation, we artificially forced the switch from adult exon 6B towards fetal exon 6A into wild-type adult mouse heart using an exon-skipping strategy (Fig. 6a). To insure efficient transduction of the cardiac muscle and continuous expression of nuclear antisense oligonucleotides, we engineered and produced adeno-associated virus (AAV2/9) expressing optimized U7-snRNA fused to *Scn5a* antisense sequences (U7-AS^{Scn5a}). Splicing analysis revealed that combination of two U7-AS constructs, spanning intron 6/exon 6B junction and exon 6B of *Scn5A*, promoted a switch from inclusion of adult exon 6B towards inclusion of the fetal exon 6A (Supplementary Fig. 4A). Thus, AAV2/9 expressing both U7-AS constructs

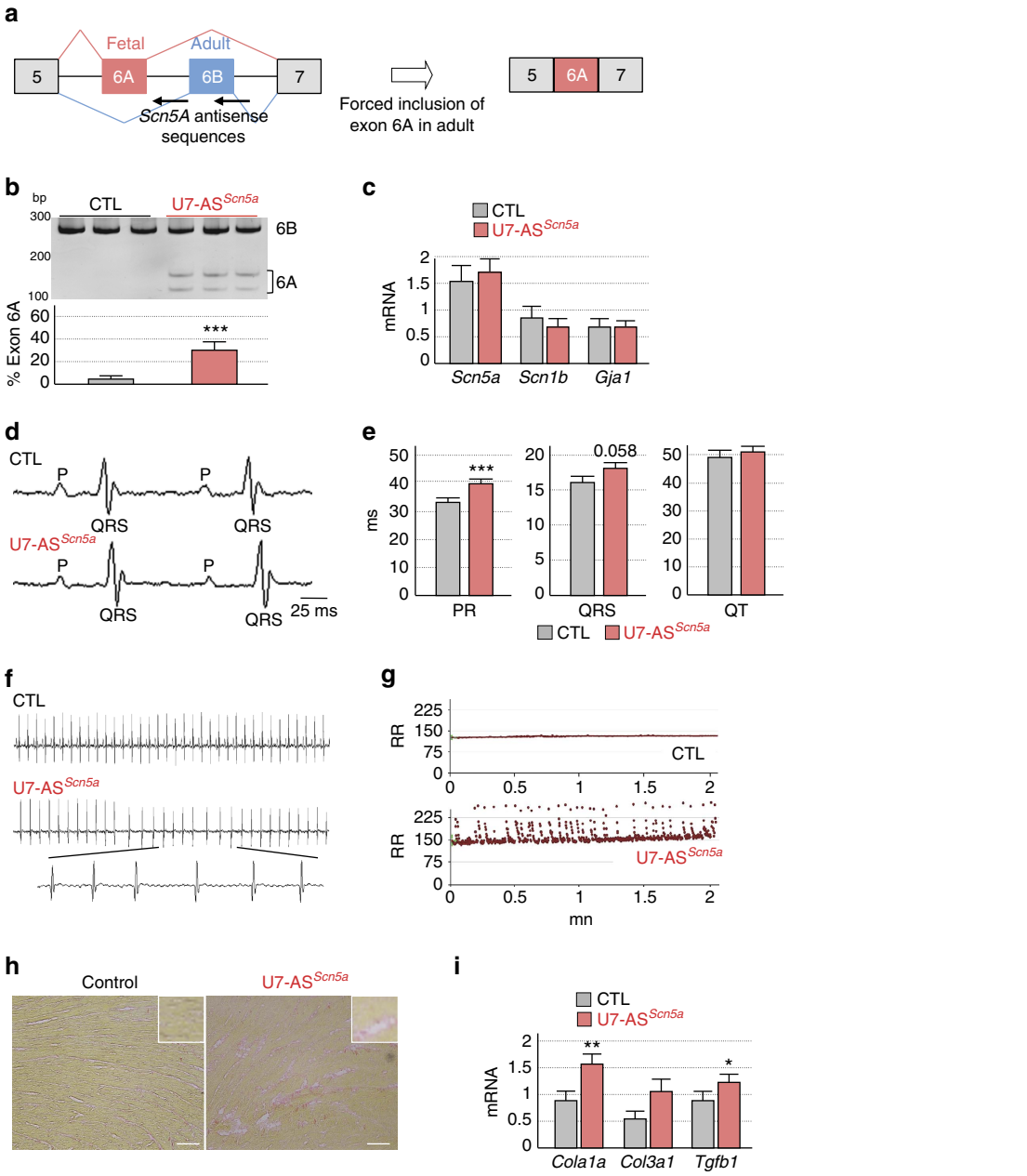


Figure 6 | Alteration of *Scn5a* splicing causes heart conduction defects and arrhythmias. (**a**) Schematic representation of mutually exclusive exons 6A and 6B of *Scn5a* and of antisense sequences driven by optimized U7-snRNAs (U7-AS^{Scn5a}) to force fetal exon 6A inclusion in adult wild-type mouse heart. (**b**, upper) RT–PCR analysis of the alternative splicing of endogenous *Scn5a* mRNA from heart samples of mice injected with AAV2/9 expressing U7-AS^{Scn5a} compared with control injected mice. Molecular size marker is indicated in bp. (lower) Percentage of *Scn5a* mRNA including exon 6A. (**c**) Real-time RT-qPCR quantification of the expression of *Scn5a, Scn1b* and *GJja1* (connexin 43) mRNAs in heart samples of mice expressing U7-AS^{Scn5a} ($n=6$) compared with control injected mice ($n=6$). (**d**) Representative ECG traces show prolongation of the PR interval in U7-AS^{Scn5a}-injected mice compared with control mice. (**e**) ECG measures of PR interval, QRS and QT intervals in 4-month-old mice injected with AAV2/9 expressing U7-AS^{Scn5a} ($n=25$) compared with age-matched control mice ($n=17$). (**f**) Representative ECG traces reveal atrial fibrillation in U7-AS^{Scn5a}-injected mice compared with control mice. (**g**) Variation of the RR interval indicates evidences of heart arrhythmias in U7-AS^{Scn5a}-injected mice ($n=25$) compared with control mice ($n=17$). (**h**) Representative image of six analysed heart samples showing mild fibrosis revealed by Red Sirius histology staining in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice. Scale bar, 100 µm. (**i**) Real-time RT-qPCR quantification of the expression of *Cola1a, Col3a1* and *Tgfb* mRNAs in heart of control ($n=6$) or AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice ($n=6$). Bars indicate s.e.m. Student test, * indicates $P<0.5$, ** indicates $P<0.01$, *** indicates $P<0.001$. bp, base pair.

(AAV-U7-AS^{Scn5a}) were injected systemically into newborn wild-type mice and cardiac functions were investigated 4 and 6 months post injection. Control animals injected either with saline or empty AAV2/9 presented no splicing alterations of *Scn5a* and normal cardiac functions. In contrast, mice injected with AAV-U7-AS^{Scn5a} presented a decreased inclusion of adult exon 6B with a concomitant 30–40% increase of the inclusion of exon 6A, thus reproducing the situation observed in DM (Fig. 6b). Quantitative RT–PCR demonstrated no changes in the expression of *Scn5a* mRNA or of its associated subunit *Scn1b* between control- and AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice (Fig. 6c). Importantly, AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice reproduce some of the key

pathological features of DM, including conduction defects and heart arrhythmias. Indeed, ECG performed 4 months post injection revealed a significant prolongation of the PR intervals (Student *t*-test, *P* value ≤ 0.001) in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice compared with control injected mice (Fig. 6d,e). In contrast, QT interval was not significantly altered, and we identified only a trend towards increased QRS duration (Student *t*-test, *P* value of 0.058 with 8 AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice on 25 presenting a QRS higher than 19 ms versus 16.5 ms in control mice) (Fig. 6e and Supplementary Fig. 4B). Similarly, analysis of heart functions in 6-month-old animals showed that AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice present a consistent increase of the PR interval compared with control injected mice (40.5 ms versus 34.8 ms respectively; Student *t*-test, *P* value ≤ 0.05), without significant changes of the QRS and QT intervals (Supplementary Fig. 4B). Of interest, a similar elongation of the PR interval was observed in *Scn5a*$^{+/-}$ mice, which are hemizygote for *Scn5a* expression and represent an established model for cardiac-conduction disease[45–47]. Furthermore, ECG analyses also revealed that 44% of AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice develop significant (Student *t*-test, $P<0{,}001$) heart arrhythmia at 4 months post injection with an average of five arrhythmic events, defined as variation of the RR interval, per minute whereas control injected animals showed no alterations (Fig. 6f,g). We did not detect ventricular fibrillations or second and third-degree heart blocks in any injected animals. In contrast, we observed supraventricular premature contractions and atrial fibrillation in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice (Fig. 6f), and five of these injected mice died suddenly between 4 and 6 months post injections (none of the control mice died). These electrical alterations were specific and not caused by global cardiac remodelling since we observed neither systolic nor diastolic alterations by doppler echocardiography (Supplementary Table 3) and no change in heart/body weight ratio ($4.4 \pm 0{,}1\ mg\,g^{-1}$ in control, $n=9$, versus $4{,}7 \pm 0{,}2\ mg\,g^{-1}$ in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected animals, $n=14$). As further control, H&E-staining revealed normal heart structures with no evident cardiomyopathy or dilation at 6 months post AAV injections (Supplementary Fig. 4C). Similarly, quantitative RT–PCR experiments show no alteration in the expression levels of *Nppa*, *Nppb* (encoding Anp and Bnp, respectively) and *Myh7* mRNAs (Supplementary Fig. 4D), suggesting no overt cardiac remodelling in antisense AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice. Moreover, Sirius Red staining confirmed normal heart structures but also revealed some mild fibrosis (Fig. 6h), which was confirmed by increased expression of collagen *Cola1a* and *Tgfb1* mRNAs (Fig. 6i). Interestingly, mild fibrosis is also observed in DM cardiac samples[17,18], as well as in individuals and mice models with loss-of-function mutations of the *SCN5A* gene[20,21,46,47]. Overall, heart arrhythmias and prolonged PR interval in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected animals demonstrate that inclusion of the fetal exon 6A of *Scn5a* is inappropriate to adult mouse heart physiology. However, while we found a clear elongation of the PR interval, we did not detect a significant alteration of the QRS duration as only a third of AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice present increased QRS duration (>19 ms). Interestingly, similar findings have been described in *Scn5a*$^{+/-}$ mice, which all show elongation of the PR interval, while only a subset of *Scn5a*$^{+/-}$ animals present a prolongation of the QRS interval[45]. Hence, elongation of the PR interval is not systematically associated with increased duration of the QRS in mouse model of Scn5a dysfunction. Thus, to strengthen our data, we mathematically tested whether human cardiac parameters would be altered by the electrophysiological differences caused by the switch from adult exon 6B towards fetal exon 6A of *SCN5A*. Simulation based on a modified O'Hara-Rudy model[48,49] predicted a change of the QRS duration from 72 ms with control adult $hNa_v1.5$ to 88 ms with fetal $hNa_v1.5e$, hence a 22% increase (Fig. 7a and Supplementary Fig. 5). Furthermore, we also tested extent of atrio-ventricular change[50]. Mathematical simulation predicted a change of the atrium-His interval from 81 ms with control $hNa_v1.5$ to 143 ms with fetal $hNa_v1.5e$ (Fig. 7b). Overall, these results support our mouse results and provide additional evidences that misregulation of *SCN5A* alternative splicing causes cardiac-conduction abnormalities, which is a key pathological feature of DM (Fig. 7c).

Discussion

Cardiac defects affect 80% of individuals with DM and represent the second most common cause of death in this disease[17,18]. However, the molecular mechanisms responsible for cardiac-conduction delay and ventricular tachycardia in DM are unclear. Using RNA sequencing we identified various novel splicing misregulation events in DM1 heart samples. Among these changes, the splicing switch from adult exon 6B to fetal exon 6A in *SCN5A* mRNA is of particular interest. Previous studies[39–41] as well as ours indicate that $hNa_v1.5e$, the splicing variant of *SCN5A* found in DM and that contains the fetal exon 6A, possesses a reduced excitability compared with the normal adult splicing form of *SCN5A* containing the exon 6B. Consequently, the switch from the $hNa_v1.5$ to the $hNa_v1.5e$ channel in DM may cause a slower upstroke velocity of the cardiac action potential, leading to conduction slowing. Importantly, this hypothesis is supported by mathematical simulation as well by animal model, since imposing a switch from inclusion of the control adult exon 6B towards using the fetal exon 6A of *Scn5A* in adult mouse heart led to cardiac-conduction delay and heart arrhythmias, two key features of DM. Moreover, clinical evidence also supports an alteration of the sodium current in DM. Indeed, the electrophysiological features[39–41] of the fetal isoform of *SCN5A* expressed in DM are similar to the electrophysiological characteristics observed with loss-of-function mutations of *SCN5A* causing cardiac-conduction disease[51–53]. Also, there are some similarities of ECG recording, including prolongation of the PR interval and of the QRS duration, between individuals with DM and individuals affected by cardiac-conduction disease caused by loss-of-function mutations in *SCN5A*[42,54]. Finally, the induction of abnormal ECG pattern in DM patients treated with ajmaline[55,56], a class Ia antiarrhythmic agent acting on the cardiac sodium channel and the abnormal sodium current observed in a mouse model of DM[57], are also evocative of a dysfunction of the sodium channel in DM. Overall, our results suggest that misregulation of the splicing of *SCN5A* participates in a subset of electrical cardiac alterations observed in DM, namely the cardiac-conduction delay and the heart arrhythmias. However, it is likely that other alternative splicing alterations and/or mechanisms[58–61] are participating to the full pattern of cardiac alterations in DM since knockout of *Mbnl1* and *Mbnl2* in mice leads to only mild alteration of *Scn5A* splicing, while these mice show severe conduction disease and cardiac dilatation[43,44].

In conclusion, this work may also have some clinical importance such as considering with caution the treatments of DM patients with pharmaceutical agents that reduce the activity of the cardiac sodium channel, including mexiletine, flecainide and other antiarrhythmic drugs of class I. In that aspect, this study may provide a molecular explanation to the adverse cardiac reaction of some patients with myotonic dystrophic to treatment with drugs reducing activity of SCN5A (refs 62,63). Involvement of the cardiac sodium channel in DM might also highlight the importance of considering polymorphism in the *SCN5A* gene, as

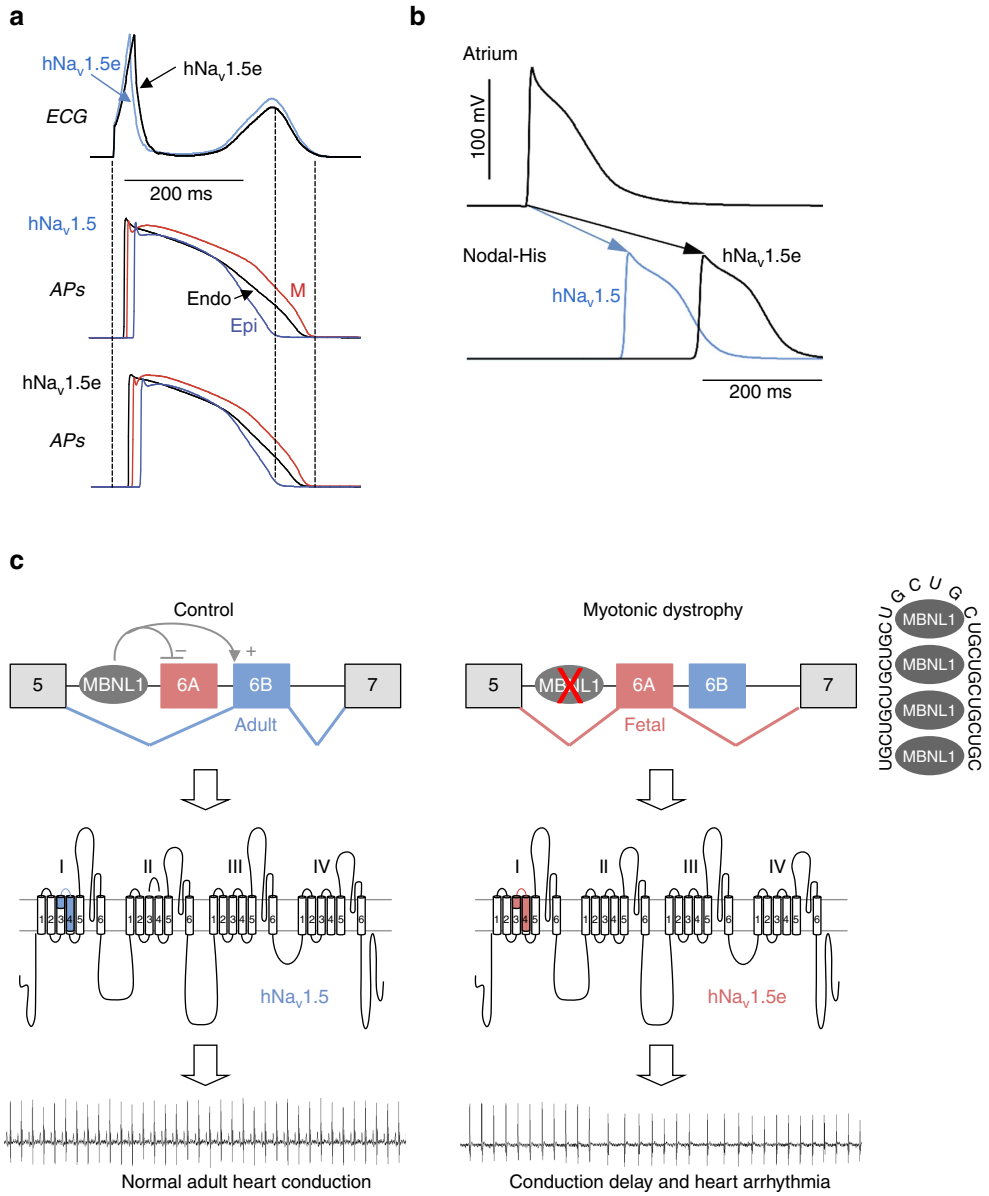


Figure 7 | Computer simulation predicts cardiac conduction abnormalities in DM. (**a**) Simulations of ECG (upper) and action potential (AP) alterations (middle and lower) caused by the switch from adult *SCN5A* exon 6B towards fetal exon 6A, using a modified human ventricular ORd model. (**b**) Simulations of the atrio-ventricular changes caused by inclusion of SCN5A fetal exon 6A instead of adult exon 6B, employing an atrio-ventricular nodal model. APs of atrial and AV node cells were simulated and atrium-His interval was measured as the difference in the latency of APs between atrial and nodal-His cells. (**c**) Model of splicing alteration of the cardiac sodium channel, *SCN5A*, in DM. MBNL proteins regulate the switch from *SCN5A* exon 6A in fetal heart to exon 6B in adult. In DM, titration of MBNL proteins by mutant RNA containing expanded CUG repeats leads to expression of a fetal splicing form of *SCN5A*, inappropriate to adult heart physiology, ultimately resulting in cardiac-conduction delay and heart arrhythmias, which are two keys features of DM.

well as in other genes such as *SCN10A*, as a possible cause of the clustering of cardiac alterations in some families of DM[64], an hypothesis supported by the recent report that DM exacerbates Brugada syndrome caused by a mutation in *SCN5A* (ref. 65). Inversely, it remains to be tested whether mutations in intronic regions regulating alternative splicing of *SCN5A* exon 6A/6B might be considered as a cause of cardiac-conduction abnormalities in patients in whom no mutations were identified in the coding sequence of *SCN5A*. Also, if dysfunction of the cardiac sodium channel in DM is comparable in some aspects to cardiac-conduction disease caused by mutations in *SCN5A*, an attractive supposition would be that therapeutic approaches developed for these diseases could be considered for DM. Finally, if cardiac-conduction defects in DM are associated with an alteration of the alternative splicing of *SCN5A*, one may hope that correction of splicing misregulations through approaches releasing MBNL1 from CUG expanded repeats or through approaches reducing the expression of pathogenic CUG RNA[66,67] may alleviate the cardiac symptoms of DM.

Methods

Human samples. All samples were heart left ventricles that were sampled with the informed consent of individuals and approved by the Institutional Review Board of the Pitié-Salpêtrière hospital, of the Neuromuscular Research Center of the Tampere University Hospital, of the Hospital Donostia and of the Toneyama National Hospital. Non-affected heart samples (CTL #1 to #3) were purchased at Ambion and Stratagene, respectively. DCM #1 and #2 were patients suffering from DCM of uncharacterized genetic origin. DMD #1 to #4 were patients affected with DMD. ALS #1 to #3 were patients with ALS described previously[68]. DM1 samples #1 and

2 were from cardiac transplantation for end stage heart failure with conduction system disease in a 45-year-old male and a 48-year-old female suffering from DM1. DM1 patient #3 is a 58-year-old female with 500 CTG repetitions in blood. DM1 patients #4 to #6 have been described previously[68] with expansion of 4,300 (female, 58 years); 4,800 (male, 63 years); 5,800 (female, 56 years); and ~6,000 CTG repeats in heart. DM1 samples #7 to #9 were patients with BAV1 and sadly unknown number of CTG repeats. DM2 patients #1 to 4 were described previously[69,70]. DM2 patients #5 heart sample was obtained at immediate autopsy after sudden bilateral renal thrombosis at the age of 71 years. He had ~4,800 CCTG repeats in leucocytes.

mRNA sequencing. RNA sequencing was performed on DM1 samples #4 to #6 described previously[68]. After isolation of total cellular RNA from human heart samples, libraries of template molecules suitable for high throughput DNA sequencing were created using 'TruSeq RNA Sample Preparation v2 Kit' (Illumina). Briefly, mRNA was purified from 1 µg total RNA using poly-T oligo-attached magnetic beads and fragmented using divalent cations at 94 °C for 8 min. The cleaved mRNA fragments were reverse transcribed to cDNA using random primers then the second strand of the cDNA was synthesized using DNA Polymerase I and RNase H. The double-stranded cDNA fragments were blunted using T4 DNA polymerase, Klenow DNA polymerase and T4 PNK. A single 'A' nucleotide was added to the 3′ ends of the blunt DNA fragments using a Klenow fragment (3′- to 5′-exo minus) enzyme. The cDNA fragments were ligated to double-stranded adapters using T4 DNA Ligase. The ligated products were enriched by PCR amplification (30 s at 98 °C; (10 s at 98 °C, 30 s at 60 °C, 30 s at 72 °C) × 12 cycles; 5 min at 72 °C). Then surplus PCR primers were removed by purification using AMPure XP beads (Agencourt Biosciences Corporation). DNA libraries were checked for quality and quantified using 2100 Bioanalyzer (Agilent). The libraries were loaded in the flow cell at 7pM concentration and clusters were generated in the Cbot and sequenced in the Illumina Hiseq 2000 as paired-end 2 × 100 base reads. FASTQ files were generated with CASAVA v1.8.2.

Bioinformatic analysis. A total of 1.857.442.522 short reads were mapped onto the human genome (hg19 assembly) by using Tophat2 software[71] (release v2.0.5) with a mapping rate ranging from 83 to 90%. Htseq-count (release 0.5.3p3). The Cufflinks software[72] (release 2.0.2) was used to call the gene expression level according to the ensembl gene annotation (release 66). DEXseq software[22] (release v1.4.0) was then used to identify differential exons usage and significant over and under-expressed genes were selected by using Benjamini & Hochberg adjusted *P* value (FDR ≤0.1).

Computer simulation of action potential durations and ECG. Two mathematical models, O'Hara-Rudy (ORd) dynamic model[48,49] of ventricular myocytes and rabbit atrio-ventricular node model[50], were employed to simulate action potential of cardiac cells and ECG. For the simulation, parameters of the activation gates for control hNav1.5, an equimolar mix of hNav1.5 and hNav1.5e, and hNav1.5e were estimated to match the experimental data obtained with Xenopus oocytes. Na currents and curves of voltage dependence of control hNav1.5, an equimolar mix of hNav1.5 and hNav1.5e, and hNav1.5e were reconstructed using these estimated parameters (Supplementary Fig. 5A–D). The parameters for the inactivation gate were unchanged. To get ECG similar to the left precordial ECG, a unipolar recording electrode was located 2.6 cm far from the epicardial border of the ventricular wedge preparation model (Supplementary Fig. 5E). The model consists of endocardial (Endo), midmyocardial (M) and epicardial (Epi) layers of thicknesses 0.12, 0.65 and 0.24 cm, respectively. The membrane kinetics and the transmural heterogeneity were based on the ORd model[48] with twice sodium channel conductance to reproduce physiological ranges of both ventricular conduction velocity (~60 cm s^{-1} along the fibre) and tissue excitability. The pacing stimuli of 2 ms and twice diastolic threshold were applied transmembranously to the part of endocardial border at 1 Hz to achieve steady state. The action potentials of Endo, M and Epi are recorded at the centre of each myocardial layer. Temperature employed in the simulation was 37 °C. Ionic concentrations employed in the simulation were 96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1.8 mM CaCl2, 1 mM MgCl2, 10 mM HEPES/KOH and pH 7.4. Other model parameters and the numerical approach have been described elsewhere[49]. One-dimensional mathematical model[50] of atrio-ventricular node was employed to simulate the conduction between atrium to ventricle. Although this model was based on the experimental data in rabbit heart, this is, in our knowledge, the only model for AV conduction. The simulation parameters for the equimolar mix of hNav1.5 and hNav1.5e and hNav1.5e were set to reproduce the shift inactivation and the decrease of peak Na current observed in oocytes. The multicellular model consisted of atrium and AV node, and action potentials of atrium and AV node cells were simulated with the stimulus intervals of 350 ms.

Construction and analysis of the SCN5A minigenes. Exons 5, 6A, 6B and 7 were PCR amplified from human DNA (Clontech) with FWD primer: 5′-aaaagctagcgtac accttcaccgccatttacacc-3′ and REV primer: 5′-aaaagcggccgcggatcactgaggtaaaggtcca gg-3′, and inserted between the NheI and NotI restriction sites of pCDNA3.1 + (Invitrogen). Mutations in *SCN5A* intron 5 were introduced by primer-directed PCR mutagenesis. C2C12 cells plated in 6-well plates were co-transfected with Lipofectamine 2000 (Invitrogen) according to the manufacturer's instructions with SCN5A minigene and DMPKS DT960, V5-CUGBP1, V5-MBNL1 40 kDa (NM_207292) and siRNA directed against MBNL1 (5′-CACGGAAUGUAAAUU UGCAdTdT-3′; Eurogentec) or against CUGBP1 (NM_198700; NM_006560; NM_001025596; NM_001172640; NM_001172639; Thermo Scientific) in DMEM medium containing 1 g per l glucose and 2% horse serum (37 °C, 5% CO_2) during 24 h. Total RNAs were extracted using Tri Reagent (MRC) and subjected to reverse transcription using Transcriptor Reverse Transcriptase kit (Roche). PCR were performed using Taq polymerase (Roche), one denaturation step at 94 °C for 2 min, 26 cycles of amplification 94 °C for 1 min, 58 °C for 30 s., 72 °C for 45 s and a final step at 72 °C for 7 min using the forward primer (5′-cttctgcctgcacgcgttcac-3′) and the reverse (5′-acgggccctctagactcg-3′) specific to pCDNA3.1- SCN5A minigene. The PCR products were digested by *BstBI* enzyme. PCR products of mRNAs including exon 6A and 6B are of 116 + 71 bp and 187 bp, respectively. PCR products were precipitated, analysed by electrophoresis on 6,5% polyacrylamide gel, BET labelled and quantified using Typhoon scanner.

Electrophysiological measurements. Ovarian lobes were obtained from *Xenopus laevis* under anaesthesia (0.4% 3-aminobenzoic acid ethyl ester) and transferred to Ca^{2+}-free Barth medium (84 mM NaCl, 1 mM, 2.4 mM NaHCO3, 0.82 mM MgSO4 and 7.5 mM Tris/HCl pH 7.4). Oocytes in stages V and VI were incubated in Ca^{2+}-free Barth medium containing 1.2 mg ml^{-1} collagenase for 60 min. After washing repeatedly with Barth medium, the oocytes were isolated and defolliculated mechanically. Plasmids containing cDNAs of hNav1.5 or hNav1.5e were linearized using the *Not*I restriction enzyme and *in vitro* transcribed using the T7 RNA polymerase. Concentrations of the cRNA variants were adjusted to ~0.002 µg $µl^{-1}$ using the gel documentation system from Herolab (Wiesloch, Germany) and a reference RNA sample (0.24–9.5 kb RNA ladder, Invitrogen Life Technologies), before injecting ~50–80 nl cRNA per oocyte. After 3 days incubation at 18 °C in Barth medium, the peak current amplitude of the whole-cell Na^+ current was between 0.5 and 7.5 µA, depending on the quality of the oocyte batch. Cells producing currents larger than 6 µA were not selected for the evaluation of the channel kinetics. Measurements were performed in totally 11 different batches of oocytes. Whole-cell Na^+ currents were recorded with the two-microelectrode voltage-clamp technique using the TEC-05-S amplifier (npi electronic GmbH, Tamm, Germany) and the following bath solution (96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1.8 mM CaCl2, 1 mM MgCl2, 10 mM HEPES/KOH and pH 7.4). Currents were elicited by test potentials from −80 to 20 mV in 5 or 10 mV increments at a pulsing frequency of 1.0 Hz (holding potential −120 mV). Steady-state activation (m_∞) was evaluated by fitting the Boltzmann equation $m_\infty = \{1 + \exp[-(V - Vm) \text{ per } s]\} - 1$ to the normalized conductance as function of voltage, where *V* is the test potential, Vm the mid-activation potential, and *s* the slope factor in mV. Recording and analysis of the data was performed on a personal computer with the ISO3 software (MFK, Niedernhausen, Germany). The sampling rate was 50 kHz. Student's *t*-test was used to test for statistical significance. Statistical significance was assumed for $P < 0.05$.

***In vivo* gene transfer.** All mouse procedures were done according to protocol approved by the Committee on Animal Resources at the Centre d'Exploration Fonctionnelle of UPMC animal facility and under appropriate biological containment. AAV2/9 vectors expressing *Scn5a* antisense sequences driven by an optimized U7-snRNA (U7-AS) construct described previously[73] were produced by co-transfection in HEK293 cells of pAAV2(U7-AS), pAD-DELTA-F16 encoding adenovirus helper functions and p5E18-VD2/9. Vector particles were purified on iodixanol gradients from cell lysates obtained 72 h after transfection, and titres were measured by RT-qPCR. The vector preparation used in this study had a titer of 1 × 10EXP13 vector genomes (vg) ml^{-1}. U7-AS constructs that contain antisense sequences to target intron 6/exon 6B border or exon 6B of *Scn5A* were cloned in the same AAV backbone. 2 days old C57BL/6 mice were injected in the temporal vein for systemic delivery with 50 µl of either with saline, empty AAV2/9 or AAV2/9-U7-AS (1×10^{12} vector genomes ml^{-1}). Six months after injections, mice were killed, hearts were collected and snap-frozen in liquid nitrogen-cooled isopentane and stored at −80 °C.

ECG recordings and echocardiographic examination. Mice were anaesthetized with isoflurane and surface ECG was recorded using 23-gauge, subcutaneous needle electrodes (Gould Instrument Systems), affixed to each limb. ECG was continuously monitored for 3 min (software IOX 2, EMKA Technologies, Paris France). Heart rate, PR and QRS duration were measured from recording traces using ECG auto V.1.5.7 software (Emka Technologies). Non-invasive measurements of left ventricular dimensions were evaluated under isoflurane anaesthesia, using echocardiography-Doppler (General Electric Medical systems Co, Vivid 7 Dimension/Vivid 7 PRO) with a probe emitting ultrasounds with 9–14 MHz frequency. The two-dimensionally guided Time Motion mode recording of the left ventricle provided the following measurements: diastolic and systolic septal and posterior wall thicknesses, internal end-diastolic and end-systolic diameters, ejection fraction, fractional shortening of left ventricular diameter. Each set of

measurements was obtained from a same cardiac cycle. At least three sets of measures were obtained from three different cardiac cycles.

Recombinant protein production and purification. *Escherichia coli* BL21(RIL) pRARE competent cells (Invitrogen) were transformed with peGEX-MBNL1Δ^{101}, which is a C-terminal truncated form of MBNL1 with higher solubility but identical affinity than MBNL1 full-length, (gift from Prof. C. Branlant), grown at 37 °C in 400 ml of LB medium supplemented with Kanamycin until OD600 = 0.5, 0.5 mM IPTG was added and the culture was further incubated 4 h at 30 °C. Harvested cells were sonicated in 50 mM Tris-Cl pH 7.5, 300 mM NaCl, 5% glycerol, 1 mM DTT, 5 mM EDTA, centrifuged 20 min at 20,000*g* and recombinant GST-MBNL1$^{\Delta 101}$, protein was purified using GST-Kits (Novagen) and store in 20% glycerol.

RNA transcription and gel-shift assays. Templates for transcription were obtained by PCR with pCDNA3.1-SCN5A or pCDNA3.1-SCN5A mutant minigenes and the primers (FWD that include a T7 promoter sequence: 5′-TAA TACGACTCACTATAGGGCCATGGAACTGGCTGGACTTT-3′ and REV: 5′-AGAAAGAGAGGGGTGGTCG-3′). Transcription reaction was performed using T7 transcription kit (Ambion) in presence of 1 µl of αP32-CTP (10µCi, 800 Ci per mmole, Perkin Elmer), analysed on 8% denaturing polyacrylamide and quantified with LS-6500 counter (Beckman). After transcription, 1 unit of DNase I (Invitrogen, Carlsbad, CA) was added, and the sample was incubated for additional 30 min at 37 °C. Transcribed RNAs were then purified by micro Bio-Spin 6 chromatography columns (Bio-rad) according to the manufacturer's instructions. The sizes of RNAs were checked by gel electrophoresis on a denaturing 6% polyacrylamide gel. For gel shift, 1 µl of labelled RNA was annealed in binding buffer (BB, 50 mM Tris-HCl (pH 7.0), 75.0 mM NaCl, 37.5 mM KCl, 5.25 mM DTT, 0.1 mg ml^{-1} BSA, 0.1 mg ml^{-1} *E. Coli* tRNA) at 90 °C for 5 min. and allowed to cool to room temperature by placing on a bench top. After cooling, MgCl2 and RNAsin were added to a final concentration of 0.75 mM and 0.4 U µl^{-1} respectively. GST-MBNL1-Δ101 protein was then added to the above solution and the mixture was incubated at 25 °C for 20 min. The solution mixture was loaded onto a non-denaturing 6.0% (w/v) polyacrylamide gel (acrylamide/bisacrylamide, 40:1, w/w) containing 0.5 × TBE (1X TBE is 90 mM Tris-base, 89 mM Boric acid and 2 mM EDTA (pH 8.0)), which had been pre-electrophoresed at 110 V for 20 min. at 4 °C. The gel was electrophoresed at 110 V at 4 °C for 3 h. The gel was then dried and exposed to a phosphorimager screen and imaged using a Typhoon 9410 variable mode imager. The data were fit to the following equation: $y = \min + ((\max - \min))/(1 + (x/IC50)\text{-HillSlope}))$, where y is the percentage of RNA bound to MBNL1, x is the concentration of MBNL1, min and max are the minimum and maximum percentage of RNA bound to MBNL1 (0–100%) and IC50 is the concentration where 50% of maximum binding is achieved.

RT–PCR analyzes. Total RNA was isolated by TriReagent (Molecular Research Center). A total of 1 µg of total RNA isolated from heart samples of control or DM individual was subjected to reverse transcription using random hexanucleotide and the Transcriptor High Fidelity cDNA synthesis kit (Roche Diagnostics). PCR was performed with Taq polymerase (Roche), using the following protocol: one denaturation step at 94 °C for 2 min, 30 cycles of amplification 94 °C for 1 min, 60 °C for 1 min, 72 °C for 2 min and a final step at 72 °C for 5 min using primers described in the Supplementary Table 4. The PCR products were precipitated, analysed by electrophoresis on a 6.5% polyacrylamide gel, stained with ethidium bromide and quantified using a PhosphorImager Typhoon scanner (GE Healthcare) and the ImageQuaNT software. Concerning analysis of alternative splicing of human *SCN5A*, the forward primer was located within *SCN5A* exon 5 (FWD: 5′-CTTCT GCCTGCACGCGTTCAC-3′) and the reverse primer within *SCN5A* exon 7 (REV: 5′-CAGAAGACTGTGAGGACCATC-3′). Since *SCN5A* exons 6A or 6B are of similar size (92 nts), PCR products were digested by *BstB*I enzyme before loading on 6.5% polyacrylamide gel, resulting in PCR products of 240 bp (exon 6B) and a doublet of 115 bp and 125 bp (exon 6A digested by *BstB*I).

Quantitative real-time PCR analyzes. Total RNA was isolated by TriReagent (Molecular Research Center). cDNAs were generated using using the Transcriptor High Fidelity cDNA synthesis kit (Roche Diagnostics). Real-time qPCR were realized using the LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche) in a Lightcycler 480 (Roche) with 15 min at 94 °C followed by 50 cycles of 15 s at 94 °C, 20 s at 58 °C and 20 s at 72 °C using primers described in the Supplementary Table 5. *Rplpo* mRNA was used as standard and data were analysed using the Lightcycler 480 analysis software (2ΔCt method).

References

1. Brook, J. D. *et al.* Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* **68,** 799–808 (1992).
2. Fu, Y. H. *et al.* An unstable triplet repeat in a gene related to myotonic muscular dystrophy. *Science* **255,** 1256–1258 (1992).
3. Mahadevan, M. *et al.* Myotonic dystrophy mutation: an unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene. *Science* **255,** 1253–1255 (1992).
4. Liquori, C. L. *et al.* Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. *Science* **293,** 864–867 (2001).
5. Miller, J. W. *et al.* Recruitment of human muscleblind proteins to (CUG)n expansions associated with myotonic dystrophy. *EMBO J.* **19,** 4439–4448 (2000).
6. Kanadia, R. N. *et al.* A muscleblind knockout model for myotonic dystrophy. *Science* **302,** 1978–1980 (2003).
7. Kuyumcu-Martinez, N. M., Wang, G. S. & Cooper, T. A. Increased steady-state levels of CUGBP1 in myotonic dystrophy 1 are due to PKC-mediated hyperphosphorylation. *Mol. Cell* **28,** 68–78 (2007).
8. Savkur, R. S., Philips, A. V. & Cooper, T. A. Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat. Genet.* **29,** 40–47 (2001).
9. Mankodi, A. *et al.* Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of ClC-1 chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. *Mol. Cell* **10,** 35–44 (2002).
10. Charlet-B, N. *et al.* Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing. *Mol. Cell* **10,** 45–53 (2002).
11. Nakamori, M., Kimura, T., Fujimura, H., Takahashi, M. P. & Sakoda, S. Altered mRNA splicing of dystrophin in type 1 myotonic dystrophy. *Muscle Nerve* **36,** 251–257 (2007).
12. Rau, F. *et al.* Abnormal splicing switch of DMD's penultimate exon compromises muscle fibre maintenance in myotonic dystrophy. *Nat. Commun.* **6,** 7205 (2015).
13. Fugier, C. *et al.* Misregulated alternative splicing of BIN1 is associated with T tubule alterations and muscle weakness in myotonic dystrophy. *Nat. Med.* **17,** 720–725 (2011).
14. Kimura, T. *et al.* Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca2 + -ATPase in myotonic dystrophy type 1. *Hum. Mol. Genet.* **14,** 2189–2200 (2005).
15. Tang, Z. Z. *et al.* Muscle weakness in myotonic dystrophy associated with misregulated splicing and altered gating of Ca(V)1.1 calcium channel. *Hum. Mol. Genet.* **21,** 1312–1324 (2012).
16. Wheeler, T. M., Lueck, J. D., Swanson, M. S., Dirksen, R. T. & Thornton, C. A. Correction of ClC-1 splicing eliminates chloride channelopathy and myotonia in mouse models of myotonic dystrophy. *J. Clin. Invest.* **117,** 3952–3957 (2007).
17. Groh, W. J. *et al.* Electrocardiographic abnormalities and sudden death in myotonic dystrophy type 1. *N. Engl. J. Med.* **358,** 2688–2697 (2008).
18. Lazarus, A. *et al.* Long-term follow-up of arrhythmias in patients with myotonic dystrophy treated by pacing: a multicenter diagnostic pacemaker study. *J. Am. Coll. Cardiol.* **40,** 1645–1652 (2002).
19. Chen, Q. *et al.* Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* **392,** 293–296 (1998).
20. Tan, H. L. *et al.* A sodium-channel mutation causes isolated cardiac conduction disease. *Nature* **409,** 1043–1047 (2001).
21. Schott, J. J. *et al.* Cardiac conduction defects associate with mutations in SCN5A. *Nat. Genet.* **23,** 20–21 (1999).
22. Anders, S., Reyes, A. & Huber, W. Detecting differential usage of exons from RNA-seq data. *Genome Res.* **22,** 2008–2017 (2012).
23. Katz, Y., Wang, E. T., Airoldi, E. M. & Burge, C. B. Analysis and design of RNA sequencing experiments for identifying isoform regulation. *Nat. Methods* **7,** 1009–1015 (2010).
24. Philips, A. V., Timchenko, L. T. & Cooper, T. A. Disruption of splicing regulated by a CUG-binding protein in myotonic dystrophy. *Science* **280,** 737–741 (1998).
25. Nakamori, M. *et al.* Splicing biomarkers of disease severity in myotonic dystrophy. *Ann. Neurol.* **74,** 862–872 (2013).
26. Kalsotra, A. *et al.* A postnatal switch of CELF and MBNL proteins reprograms alternative splicing in the developing heart. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **105,** 20333–20338 (2008).
27. Banks, A. S. *et al.* Deletion of SOCS7 leads to enhanced insulin action and enlarged islets of Langerhans. *J. Clin. Invest.* **115,** 2462–2471 (2005).
28. Wani, M. A. *et al.* Familial hypercatabolic hypoproteinemia caused by deficiency of the neonatal Fc receptor, FcRn, due to a mutant beta2-microglobulin gene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **103,** 5084–5089 (2006).
29. Yuan, Y. *et al.* Muscleblind-like 1 interacts with RNA hairpins in splicing target and pathogenic RNAs. *Nucleic Acids Res.* **35,** 5474–5486 (2007).
30. Kino, Y. *et al.* Muscleblind protein, MBNL1/EXP, binds specifically to CHHG repeats. *Hum. Mol. Genet.* **13,** 495–507 (2004).
31. Goers, E. S., Purcell, J., Voelker, R. B., Gates, D. P. & Berglund, J. A. MBNL1 binds GC motifs embedded in pyrimidines to regulate alternative splicing. *Nucleic Acids Res.* **38,** 2467–2484 (2010).
32. Teplova, M. & Patel, D. J. Structural insights into RNA recognition by the alternative-splicing regulator muscleblind-like MBNL1. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **15,** 1343–1351 (2008).

33. Marquis, J. *et al.* CUG-BP1/CELF1 requires UGU-rich sequences for high-affinity binding. *Biochem. J.* **400,** 291–301 (2006).
34. Teplova, M., Song, J., Gaw, H. Y., Teplov, A. & Patel, D. J. Structural insights into RNA recognition by the alternate-splicing regulator CUG-binding protein 1. *Structure* **18,** 1364–1377 (2010).
35. Wang, E. T. *et al.* Transcriptome-wide regulation of pre-mRNA splicing and mRNA localization by muscleblind proteins. *Cell* **150,** 710–724 (2012).
36. Goodwin, M. *et al.* MBNL sequestration by toxic RNAs and RNA misprocessing in the myotonic dystrophy brain. *Cell Rep.* **12,** 1159–1168 (2015).
37. Lin, X. *et al.* Failure of MBNL1-dependent post-natal splicing transitions in myotonic dystrophy. *Hum. Mol. Genet.* **15,** 2087–2097 (2006).
38. Kanadia, R. *et al.* Reversal of RNA missplicing and myotonia after muscleblind overexpression in a mouse poly(CUG) model for myotonic dystrophy. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **103,** 11748–11753 (2006).
39. Murphy, L. L. *et al.* Developmentally regulated SCN5A splice variant potentiates dysfunction of a novel mutation associated with severe fetal arrhythmia. *Heart Rhythm.* **9,** 590–597 (2012).
40. Walzik, S., Schroeter, A., Benndorf, K. & Zimmer, T. Alternative splicing of the cardiac sodium channel creates multiple variants of mutant T1620K channels. *PLoS ONE* **6,** e19188 (2011).
41. Onkal, R. *et al.* Alternative splicing of $Na_v1.5$: an electrophysiological comparison of 'neonatal' and 'adult' isoforms and critical involvement of a lysine residue. *J. Cell. Physiol.* **216,** 716–726 (2008).
42. Wahbi, K. *et al.* Brugada syndrome and abnormal splicing of SCN5A in myotonic dystrophy type 1. *Arch. Cardiovasc. Dis.* **106,** 635–643 (2013).
43. Lee, K. Y. *et al.* Compound loss of muscleblind-like function in myotonic dystrophy. *EMBO Mol. Med.* **5,** 1887–1900 (2013).
44. Dixon, D. M. *et al.* Loss of muscleblind-like 1 results in cardiac pathology and persistence of fetal splice isoforms. *Sci. Rep.* **5,** 9042 (2015).
45. Leoni, A. L. *et al.* Variable Na(v)1.5 protein expression from the wild-type allele correlates with the penetrance of cardiac conduction disease in the Scn5a(+/-) mouse model. *PLoS ONE* **5,** e9298 (2010).
46. Royer, A. *et al.* Mouse model of SCN5A-linked hereditary Lenègre's disease: age-related conduction slowing and myocardial fibrosis. *Circulation* **111,** 1738–1746 (2005).
47. van Veen, T. A. *et al.* Impaired impulse propagation in Scn5a-knockout mice: combined contribution of excitability, connexin expression, and tissue architecture in relation to aging. *Circulation* **112,** 1927–1935 (2005).
48. O'Hara, T., Virág, L., Varró, A. & Rudy, Y. Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. *PLoS Comput. Biol.* **7**, e1002061 (2011).
49. Tsuji-Wakisaka, K. *et al.* Identification and functional characterization of KCNQ1 mutations around the exon 7-intron 7 junction affecting the splicing process. *Biochim. Biophys. Acta* **1812,** 1452–1459 (2011).
50. Inada, S., Hancox, J. C., Zhang, H. & Boyett, M. R. One-dimensional mathematical model of the atrioventricular node including atrio-nodal, nodal, and nodal-his cells. *Biophys. J.* **97,** 2117–2127 (2009).
51. Probst, V. *et al.* Progressive cardiac conduction defect is the prevailing phenotype in carriers of a Brugada syndrome SCN5A mutation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **17,** 270–275 (2006).
52. Zhang, Z. S., Tranquillo, J., Nepliouева, V., Bursac, N. & Grant, A. O. Sodium channel kinetic changes that produce Brugada syndrome or progressive cardiac conduction system disease. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **292,** H399–H407 (2007).
53. Wang, D. W., Viswanathan, P. C., Balser, J. R., George, Jr A. L. & Benson, D. W. Clinical, genetic, and biophysical characterization of SCN5A mutations associated with atrioventricular conduction block. *Circulation* **105,** 341–346 (2002).
54. Rudnik-Schöneborn, S. *et al.* Brugada-like cardiac disease in myotonic dystrophy type 2: report of two unrelated patients. *Eur. J. Neurol.* **18,** 191–194 (2011).
55. Pambrun, T. *et al.* Unmasked Brugada pattern by Ajmaline challenge in patients with myotonic dystrophy type 1. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* **20**, 28–36 (2015).
56. Maury, P. *et al.* Prevalence of type 1 Brugada-ECG pattern following administration of Class 1C drugs in patients with type 1 myotonic dystrophy: myotonic dystrophy as a part of the Brugada syndrome. *Heart Rhythm.* **11**, 1721–1727 (2014).
57. Algalarrondo, V. *et al.* Abnormal sodium current properties contribute to cardiac electrical and contractile dysfunction in a mouse model of myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscul. Disord.* **25,** 308–320 (2014).
58. Yadava, R. S. *et al.* RNA toxicity in myotonic muscular dystrophy induces NKX2-5 expression. *Nat. Genet.* **40,** 61–68 (2008).
59. Koshelev, M., Sarma, S., Price, R. E., Wehrens, X. H. & Cooper, T. A. Heart-specific overexpression of CUGBP1 reproduces functional and molecular abnormalities of myotonic dystrophy type 1. *Hum. Mol. Genet.* **19,** 1066–1075 (2010).
60. Kalsotra, A. *et al.* The Mef2 transcription network is disrupted in myotonic dystrophy heart tissue, dramatically altering miRNA and mRNA expression. *Cell Rep.* **6,** 336–345 (2014).
61. Rau, F. *et al.* Misregulation of miR-1 processing is associated with heart defects in myotonic dystrophy. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18,** 840–845 (2011).
62. Gorog, D. A., Russell, G., Casian, A. & Peters, N. S. A cautionary tale: the risks of flecainide treatment for myotonic dystrophy. *J. Clin. Neuromuscul. Dis.* **7,** 25–28 (2005).
63. Otten, R. F. *et al.* Arrhythmia exacerbation after sodium channel blockade in myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* **40,** 901–902 (2009).
64. Groh, W. J., Lowe, M. R., Simmons, Z., Bhakta, D. & Pascuzzi, R. M. Familial clustering of muscular and cardiac involvement in myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* **31,** 719–724 (2005).
65. Pambrun, T. *et al.* Myotonic dystrophy type 1 mimics and exacerbates Brugada phenotype induced by Nav1.5 sodium channel loss-of-function mutation. *Heart Rhythm.* **11,** 1393–1400 (2014).
66. Childs-Disney, J. L. *et al.* Induction and reversal of myotonic dystrophy type 1 pre-mRNA splicing defects by small molecules. *Nat. Commun.* **4,** 2044 (2013).
67. Wheeler, T. M. *et al.* Targeting nuclear RNA for *in vivo* correction of myotonic dystrophy. *Nature* **488,** 111–115 (2012).
68. Nakamori, M. *et al.* Aberrantly spliced alpha-dystrobrevin alters alpha-syntrophin binding in myotonic dystrophy type 1. *Neurology* **70,** 677–685 (2008).
69. Schoser, B. G. *et al.* Sudden cardiac death in myotonic dystrophy type 2. *Neurology* **63,** 2402–2404 (2004).
70. Udd, B., Krahe, R., Wallgren-Pettersson, C., Falck, B. & Kalimo, H. Proximal myotonic dystrophy--a family with autosomal dominant muscular dystrophy, cataracts, hearing loss and hypogonadism: heterogeneity of proximal myotonic syndromes? *Neuromuscul. Disord.* **7,** 217–228 (1997).
71. Kim, D. *et al.* TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biol.* **14,** R36 (2013).
72. Trapnell, C. *et al.* Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nat. Biotechnol.* **28,** 511–515 (2010).
73. Goyenvalle, A. *et al.* Rescue of dystrophic muscle through U7 snRNA-mediated exon skipping. *Science* **306,** 1796–1799 (2004).

Acknowledgements

We thank Tom Cooper (Baylor College of Medicine, Houston, USA) for the gift of the DT960 and tgCUGBP1 plasmids, Christiane Branlant (CNRS, Nancy, France) for the gift of the pGEX-MBNL1Δ^{101} vector, the Research Resource Network Japan and the Myobank of the Institute of Myology for providing human heart tissue samples, Feriel Azibani (UMRS974, Paris, France) and all members of the French DM Network for fruitful discussion. We also deeply thank the IGBMC Microarray and Sequencing platform, the informatics resources of the PRABI, Nathalie Mougenot from the UPMC PECMV-CEF facility, the Fédération de Recherche en Imagerie Multimodalité (www.bichat.inserm.fr), the AAV platform of the Centre de Recherche en Myologie, the Penn Vector Core, Gene Therapy Program, University of Pennsylvania (Philadelphia) for providing the pAAV2/9 plasmid (p5E18-VD29), members of the France Genomique program for RNA sequencing and all IGBMC common facilities for assistance. This work was supported by UPMC/INSERM/CNRS/AIM (D.F.); ANR-12-RARE-0005-01 E-RARE 'HEART DM' (N.C.-B. and D.F.); AFM #18833, ERC-2012-StG #310659 'RNA DISEASES' and ANR-10-LABX-0030-INRT and ANR-10-IDEX-0002-02 (N.C.-B.); Research Grants for Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases and for Comprehensive Research on Persons with Disabilities from AMED (H.M., M.P.T.); Grants-in-Aids from MEXT (25136705) (H.I.); Grants-in-Aids from JSPS (25713034 (M.N.) and 15K09314 (M.P.T.)); and Intramural Research Grant of NCNP 26-8 (M.P.T.).

Author contributions

Experiments were performed by F.F., F.R., Y.K., T.L., E.C., F.D., M.N., H.M., Y.K., N.N., C.S., L.A., A.J., C.T., M.P, S.V. and B.J. Bioinformatic analyses were performed by S.I., T.A., K.N., H.I., M.H., K.I., V.L., A.F., V.N., E.W., C.B. and D.A. Clinical samples and patient data were obtained from A.L.d.M., B.U., J.W.D., D.D., K.W., T.M., H.F. and D.F. Data were collected and analysed by F.F., F.R., T.K., S.I., M.S., D.F., T.Z., M.P.T and N.C.B. The study was designed, coordinated and written by E.W., T.Z., D.F., M.P.T and N.C.B.

Additional information

Accession codes: ExonArray and RNA-Seq data have been deposited in Gene Expression Omnibus (GEO) data base under accession codes GSE67067 and GSE67812, respectively.

Supplementary Information accompanies this paper at http://www.nature.com/naturecommunications

Competing financial interests: The authors declare no competing financial interests.

Reprints and permission information is available online at http://npg.nature.com/reprintsandpermissions/

How to cite this article: Freyermuth, F. *et al.* Splicing misregulation of *SCN5A* contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy. *Nat. Commun.* 7:11067 doi: 10.1038/ncomms11067 (2016).

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

European Heart Journal (2016) **37**, 1456–1464
doi:10.1093/eurheartj/ehv695

The genetics underlying acquired long QT syndrome: impact for genetic screening

Hideki Itoh[1,2,3,4], Lia Crotti[5,6], Takeshi Aiba[8], Carla Spazzolini[5], Isabelle Denjoy[9], Véronique Fressart[2,3,4,10], Kenshi Hayashi[11], Tadashi Nakajima[12], Seiko Ohno[1], Takeru Makiyama[13], Jie Wu[1,14], Kanae Hasegawa[1], Elisa Mastantuono[7], Federica Dagradi[5], Matteo Pedrazzini[5], Masakazu Yamagishi[11], Myriam Berthet[2,3,4], Yoshitaka Murakami[15], Wataru Shimizu[8,16], Pascale Guicheney[2,3,4†], Peter J. Schwartz[5†], and Minoru Horie[1†*]

[1]Department of Cardiovascular and Respiratory Medicine, Shiga University of Medical Science, Seta Tsukinowa-cho, Otsu, Shiga 520-2192, Japan; [2]Inserm, UMR_S1166, Paris, France; [3]Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR_S1166, Institut de recherche sur les maladies cardiovasculaires, du métabolisme et de la nutrition, Paris, France; [4]Institute of Cardiometabolism and Nutrition (ICAN), Paris, France; [5]IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Center for Cardiac Arrhythmias of Genetic Origin and Laboratory of Cardiovascular Genetics, Milan, Italy; [6]Department of Molecular Medicine, University of Pavia, Pavia, Italy; [7]Institute of Human Genetics, Helmholtz Zentrum München, Neuherberg, Germany; [8]Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan; [9]AP-HP, Hôpital Bichat, Service de Cardiologie, Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, Université Denis Diderot, Paris 7, Paris, France; [10]AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpétrière, Service de Biochimie Métabolique, UF Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire et Cellulaire, Paris, France; [11]Division of Cardiovascular Medicine, Kanazawa University Graduate School of Medical Science, Kanazawa, Japan; [12]Department of Medicine and Biological Science, Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi, Japan; [13]Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan; [14]Department of Pharmacology, Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, China; [15]Medical Statistics, Shiga University of Medical Science, Otsu, Shiga, Japan; and [16]Department of Cardiovascular Medicine, Nippon Medical School, Tokyo, Japan

Received 25 February 2015; revised 18 November 2015; accepted 1 December 2015; online publish-ahead-of-print 28 December 2015

See page 1465 for the editorial comment on this article (doi:10.1093/eurheartj/ehv620)

Aims Acquired long QT syndrome (aLQTS) exhibits QT prolongation and Torsades de Pointes ventricular tachycardia triggered by drugs, hypokalaemia, or bradycardia. Sometimes, QTc remains prolonged despite elimination of triggers, suggesting the presence of an underlying genetic substrate. In aLQTS subjects, we assessed the prevalence of mutations in major LQTS genes and their probability of being carriers of a disease-causing genetic variant based on clinical factors.

Methods and results We screened for the five major LQTS genes among 188 aLQTS probands (55 ± 20 years, 140 females) from Japan, France, and Italy. Based on control QTc (without triggers), subjects were designated 'true aLQTS' (QTc within normal limits) or 'unmasked cLQTS' (all others) and compared for QTc and genetics with 2379 members of 1010 genotyped congenital long QT syndrome (cLQTS) families. Cardiac symptoms were present in 86% of aLQTS subjects. Control QTc of aLQTS was 453 ± 39 ms, shorter than in cLQTS (478 ± 46 ms, $P < 0.001$) and longer than in non-carriers (406 ± 26 ms, $P < 0.001$). In 53 (28%) aLQTS subjects, 47 disease-causing mutations were identified. Compared with cLQTS, in 'true aLQTS', *KCNQ1* mutations were much less frequent than *KCNH2* (20% [95% CI 7–41%] vs. 64% [95% CI 43–82%], $P < 0.01$). A clinical score based on control QTc, age, and symptoms allowed identification of patients more likely to carry LQTS mutations.

Conclusion A third of aLQTS patients carry cLQTS mutations, those on *KCNH2* being more common. The probability of being a carrier of cLQTS disease-causing mutations can be predicted by simple clinical parameters, thus allowing possibly cost-effective genetic testing leading to cascade screening for identification of additional at-risk family members.

Keywords Congenital long QT syndrome • Acquired long QT syndrome • Drug-induced long QT syndrome • Genetics

* Corresponding author. Fax: +81 77 543 5839, Email: horie@belle.shiga-med.ac.jp

† P.G., P.J.S., and M.H. contributed equally as senior authors.

Published on behalf of the European Society of Cardiology. All rights reserved. © The Author 2015. For permissions please email: journals.permissions@oup.com.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Introduction

Acquired long QT syndrome (aLQTS) is characterized by QT prolongation and sometimes Torsades de Pointes (TdP) ventricular tachycardia, and is provoked by the presence of QT-prolonging drugs,[1,2] hypokalaemia,[3] or bradycardia.[4] Culprit agents in aLQTS include many in common use, such as antihistamines, antibiotics, antidepressants, prokinetics, and many others.[1] The importance of aLQTS depends on its two main consequences: the unacceptable risk of sudden death when being medically treated for a non-life-threatening condition, and the implications for new drug development as many potentially useful agents are withdrawn from the market following a small number of cases of TdP.[1] The problem of drug-induced aLQTS has not been solved despite the efforts made by the Food and Drug Administration,[5–7] including strict non-clinical (S7B) and clinical (ICH E14) tests.

While, in most aLQTS cases, the QT interval returns to normal after the discontinuation of drug or other causative trigger, in some cases it remains prolonged. Partly on this basis, since 1982[8] it had been suggested that aLQTS may share some genetic background with congenital long QT syndrome (cLQTS).[9–11] In LQTS, 16 disease-causing genes have been identified so far, mostly encoding cardiac ion channel subunits or associated proteins.[12] Individual genetic background could be important, even in the presence of modest QT prolongation, because in association with appropriate triggers, it may favour the life-threatening manifestations of aLQTS. In this international collaborative study, we analysed a cohort of 188 aLQTS cases, assessed the prevalence of mutations in the major LQTS genes when compared with that in 1010 cLQTS probands, and evaluated the association of clinical factors, including QTc, with the probability of aLQTS subjects being carriers of a disease-causing genetic variant.

Methods

Study population

A total of 188 subjects diagnosed with aLQTS were identified at the participating centres in France ($n = 20$), Italy ($n = 21$), and Japan ($n = 147$). Patients were considered symptomatic if they exhibited TdP ventricular tachycardia, pre-syncope, syncope, cardiac arrest, or ventricular fibrillation, or as asymptomatic if they had a prolonged QTc (QT interval corrected for heart rate according to Bazett's formula[13] $\geq$480 ms) in the presence of proarrhythmic determinants.

QTc measurement

The QTc of aLQTS was measured in the presence and absence ('control QTc') of triggering factors. Control QTc was recorded either before or after an adequate period of time had elapsed from the critical event to allow washout and/or correction of the triggering condition. Depending on the value of control QTc, aLQTS subjects were retrospectively divided into two groups: 'true aLQTS' (QTc <460 ms in females and <450 ms in males) or 'unmasked cLQTS' (all non-true aLQTS). Control QTc in aLQTS was also compared with that of 2379 genotyped members (1938 carriers and 441 non-carriers) of 1010 cLQTS (Romano-Ward) families recruited in Japan ($n = 435$), France ($n = 296$), and Italy ($n = 279$).

Genetic analysis

The protocol for genetic analysis was approved by and performed under the guidelines of each institutional Ethics Committee. Written informed consent to participate in the study including consent for the collection and the use of DNA samples for genetic analysis was obtained in each centre. Genomic DNA was isolated from peripheral white blood cells using conventional methods. Genetic screening was performed for *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1*, and *KCNE2* genes, corresponding to LQT1, LQT2, LQT3, LQT5, and LQT6, in each centre. All index cases were tested; family members were analysed only if the proband had a mutation. We considered as disease-causing those mutations for which a link with LQTS has already been established in previous publications. In the absence of references, novel variants were included when deemed to be pathogenic or likely pathogenic applying the recently published ACMG guidelines,[14] which are based on criteria using typical types of variant evidence, including frequencies in population data and computational (*in silico*) predictive programmes. Two KCNH2 novel variants of uncertain significance according to ACMG criteria were included because they had never been described in any control population and both were present in the same subject, making very unlikely that such combined heterozygosity had not contributed to the clinical manifestations. Common polymorphisms and rare variants in accordance with previous reports were excluded.[15,16] Nevertheless, given its role as a QT modulator and a risk factor in cLQTS and aLQTS,[17,18] we also examined the frequency of the common variant *KCNQ1*-D85N.

Scoring system

We developed and assessed the performance of a composite score in predicting the probability of being a mutation carrier. Univariate analyses were first used to derive those demographic/clinical variables shown to be significantly associated with the presence of a disease-causing mutation. Three significant ($P < 0.05$) variables were identified, i.e. age, QTc, and the presence of symptoms, which were then included in a multivariable logistic regression model with the genetic status [mutation carriers (MCs)/non-mutation carriers (NMCs)] as the dependent variable. These three predictors were treated as dichotomized variables: for age at the critical event, the predefined cut-off was 40 years, the usual time horizon for the exposure to the risk of a first cardiac event in cLQTS; for the QT interval, the cut-off was 440 ms, the traditional limit for ECG-based diagnosis of cLQTS; the third variable was the presence/absence of symptoms at the time of aLQTS diagnosis. The positive presence of each variable was specifically categorized (i.e. age <40 years; QTc >440 ms; history of cardiac events) conferred 1 point. Thus, the score made up by adding the points for each factor present ranged from 0 to 3 points. We also considered the relative magnitude of the specific contribution of the three predictors and tested in a sensitivity analyses a 'weighted' version of the score. Specifically, points were derived from the final logistic regression model beta-coefficients and were assigned to each factor by dividing each beta coefficient by the smallest beta coefficient in the model and rounding to the nearest integer. Thus, this weighted scoring system assigned 1 point for age <40 years, 2 points for a QTc >440, and 3 points for a history of symptoms. As a result, each patient received a score ranging from 0 to 6 points. The goal was to identify a simple composite indicator of the probability of the presence of an LQTS mutation, based on features easily available to clinicians.

Statistical analysis

Normal continuous variables, expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD), were compared by an unpaired *t*-test or by one-way ANOVA. Categorical variables, expressed as numbers and percentages, were analysed by χ^2 or Fisher's exact test, as appropriate. Binomial exact 95% confidence intervals (CIs) were computed to assess the reliability of the estimated proportions of mutation carriers. Multivariable logistic regression analysis was performed to evaluate the independent

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

contribution of demographic and clinical variables to the probability of being mutation carriers among aLQTS individuals. All variables were tested for collinearity to exclude over-correlation with one another. Odds ratios with 95% CI are reported. To assess the discriminating power of the scoring system, i.e. its performance in distinguishing between aLQTS subjects likely to be or not mutation carriers, we used the receiving operator characteristic curve. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant. SPSS Statistics version 21 (IBM Co, Armonk, NY, USA) was used for computation.

Results

Clinical background of acquired long QT syndrome

The larger aLQTS Japanese subset ($n = 147$) was not significantly different compared with the Caucasian one ($n = 39$) in all measured baseline clinical features, with the only exception of a somewhat older age. Among all the 188 aLQTS patients, females ($n = 140$, 74.5%) were prevalent and the mean age at the critical event was 55 ± 20 years. Most subjects ($n = 162$, 86%) were symptomatic; the remaining 26 (14%) came to medical attention because of a marked QT prolongation associated with secondary factors. These included: drugs ($n = 81$, Supplementary material online, *Table S1*), hypokalaemia (serum level <3.5 mEq/L, $n = 42$), bradycardia (mostly sick sinus syndrome or atrioventricular block, $n = 17$), a combination of at least two factors ($n = 43$), and 'other' factors ($n = 5$, three Takotsubo cardiomyopathy, one hypothermia, and one subarachnoid haemorrhage). When a distinction was made between drug-induced LQTS and all other causes of aLQTS, the two groups were comparable with respect to almost all baseline characteristics, the only exception being a significantly larger proportion of symptomatic and mutation carriers among those individuals with hypokalaemia, bradycardia, and 'other' factors as aLQTS determinants (*Table 1*). When aLQTS was secondary to hypokalaemia, the mean serum potassium concentration was 2.8 ± 0.5 mEq/L.

Latent QT prolongation in acquired long QT syndrome

The mean control QTc of the 188 aLQTS patients was 453 ± 39 ms, significantly shorter than that of the 1938 cLQTS MCs (478 ± 46 ms, $P < 0.001$) but longer than that of the 441 NMCs (406 ± 26 ms, $P < 0.001$). This suggests that already in the absence of any triggering factor, there is latent QTc prolongation (*Figure 1*). Based on their control QTc, 112 (60%) patients were true aLQTS and 76 (40%) were unmasked cLQTS. *Figure 2* shows representative ECGs of one patient of each subgroup. In association with the induced critical event, the QTc of aLQTS patients was dramatically prolonged (591 ± 82 ms).

Genetic background in acquired long QT syndrome

Genetic analysis identified 51 carriers of a single LQTS disease-causing mutation and 2 compound heterozygous carriers of genetic variants in different genes (*KCNQ1*/*KCNH2*) or in the same gene (*KCNH2*/*KCNH2*). Overall, 53 of the 188 aLQTS cases (28%, 95% CI 22–35) were found to be MCs following accidental exposure to an arrhythmia-triggering factor. A detailed list of all the 47 distinct mutations identified is presented in Supplementary material online, *Table S2*. Of these (all previously reported with the exception of 9 novel mutations), 13 were found in *KCNQ1*, 29 in *KCNH2*, 3 in *SCN5A*, 1 in *KCNE1*, and 1 in *KCNE2*. Mutations were found regardless of ethnicity, sex, or triggers, but were more frequently found in aLQTS patients diagnosed before age 40 than afterwards (41 vs. 24%, $P = 0.03$) and in symptomatic than in asymptomatic aLQTS (32 vs. 4%, $P = 0.002$; *Table 2*). Control

Table 1 Comparison between drug-induced LQTS and aLQTS from other causes

	Drug-induced aLQTS ($n = 117$)[a]	Non-drug-induced aLQTS ($n = 71$)	*P*-value
Females	83 (71)	57 (80)	0.15
Age (years)	55 ± 22	54 ± 19	0.64
QTc off trigger (ms)	451 ± 39	455 ± 39	0.49
True aLQTS	69 (59)	43 (61)	0.83
Unmasked LQTS	48 (41)	28 (39)	
QTc on trigger	585 ± 85	601 ± 76	0.23
Japanese : Caucasian : Black	91 (78) : 24 (20) : 2 (2)	56 (79) : 15 (21) : 0 (0)	0.54
Symptomatic	94 (80)	68 (96)	0.003
Mutation carriers	27 (23)	26 (37)	0.045
KCNQ1	9 (33)	6 (23)	0.167
KCNH2	13 (48)	17 (65)	
SCN5A	3 (11)	0	
KCNE1/*KCNE2*	2 (7)	1 (4)	
Double mutations	0	2 (8)	

Data are frequencies (%) or mean ± SD.
LQTS, long QT syndrome; aLQTS, acquired long QT syndrome.
[a]QT drugs only ($n = 81$) and QT drugs in association with hypokalaemia ($n = 27$) or bradycardia ($n = 9$).

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

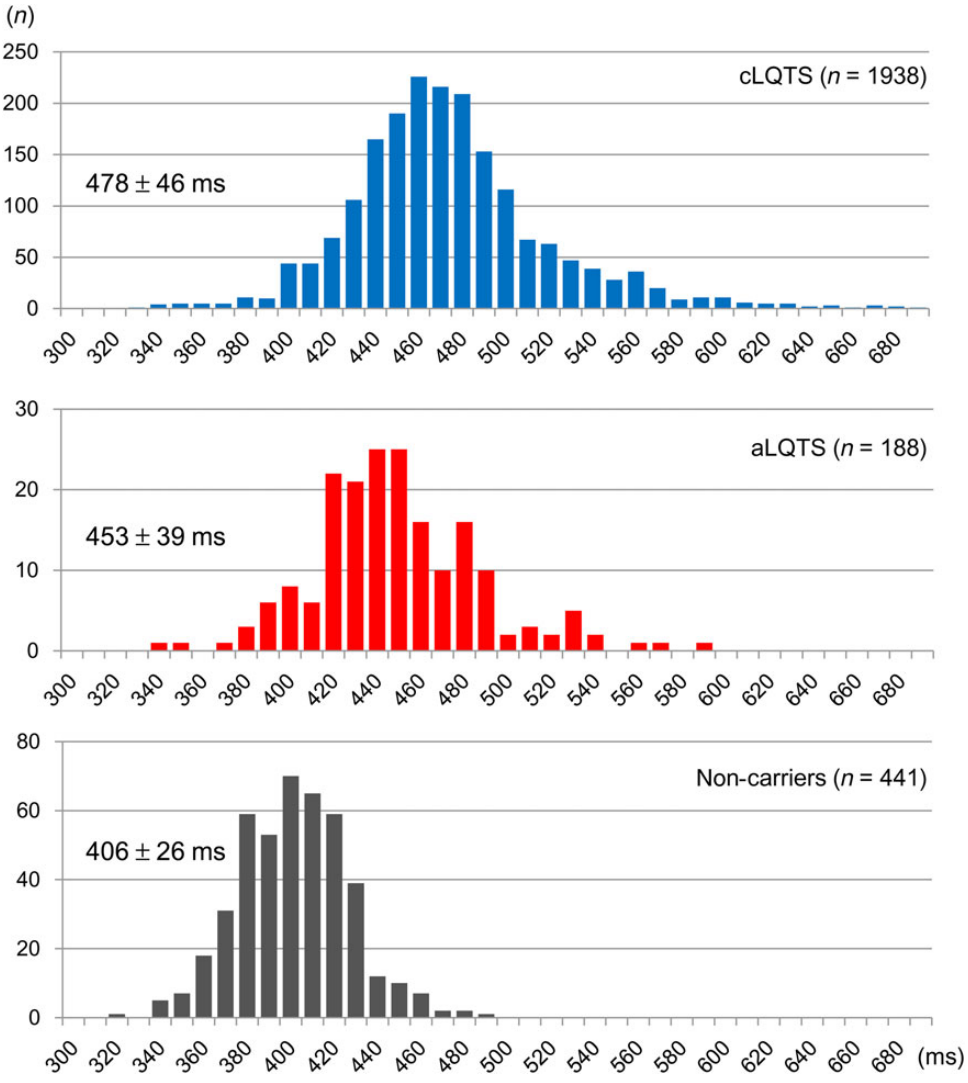


Figure 1 Distribution of QTc interval in genotyped congenital long QT syndrome, acquired long QT syndrome, and non-carriers.

QTc of the 53 aLQTS MCs was significantly longer than that observed in the 135 aLQTS NMCs (469 ± 36 vs. 447 ± 38 ms, $P < 0.001$), but comparable to the control QTc measured in the cLQTS MCs (478 ± 46 ms). Conversely, the QTc of aLQTS NMCs (447 ± 38) was more prolonged than that of cLQTS NMCs (406 ± 26, $P < 0.001$).

The analysis of aLQTS family members identified 56 mutation carriers (37 ± 24 years), with a mean QTc of 459 ± 36 ms. Of these 56 MCs, 54 (96%) were asymptomatic while 2 females with the R555C mutation in *KCNQ1* or the M124T mutation in *KCNH2* had cardiac events with prolonged QTc of 628 and 678 ms, respectively, while taking terfenadine or probucol; they had not been diagnosed as 'cLQTS' prior to these cardiac events.[9,19]

Mutations in acquired long QT syndrome and congenital long QT syndrome

To assess the relative frequencies of the LQTS genetic subtypes, we focused on single mutation carriers only, after exclusion of the 55 (2 aLQTS and 53 cLQTS) compound heterozygous MCs. Distribution of the LQTS genetic subtypes differed significantly between aLQTS and cLQTS (*Figure 3A*). Among the 957 cLQTS MCs, *KCNQ1* and *KCNH2* mutations were found in 477 (50% [95% CI 47–53%]) and 397 (41% [95% CI 38–45%]) patients, respectively. In contrast, among the 51 aLQTS individuals, carriers of *KCNQ1* mutations ($n = 15$, 29% [95% CI 17–44%]) were significantly less frequent than *KCNH2* MCs ($n = 30$, 59% [95% CI 44–72%]) compared with cLQTS ($P < 0.01$). The larger proportion of *KCNH2* MCs observed in the aLQTS cohort compared with cLQTS was independent of specific ethnic background, as it was comparable in the Japanese and Caucasian subsets [22/35 (63%) and 8/16 (50%), respectively]. It was also present both in the drug-induced LQTS and in the 'other' cause-aLQTS subset (*Table 1*). This overrepresentation of the LQT2 subtype with respect to cLQTS was more evident in true aLQTS than in the unmasked cLQTS subtype in which the percentages of *KCNQ1* (38%) and *KCNH2* (54%) MCs were intermediate between true aLQTS and cLQTS MCs (*Figure 3B*).

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

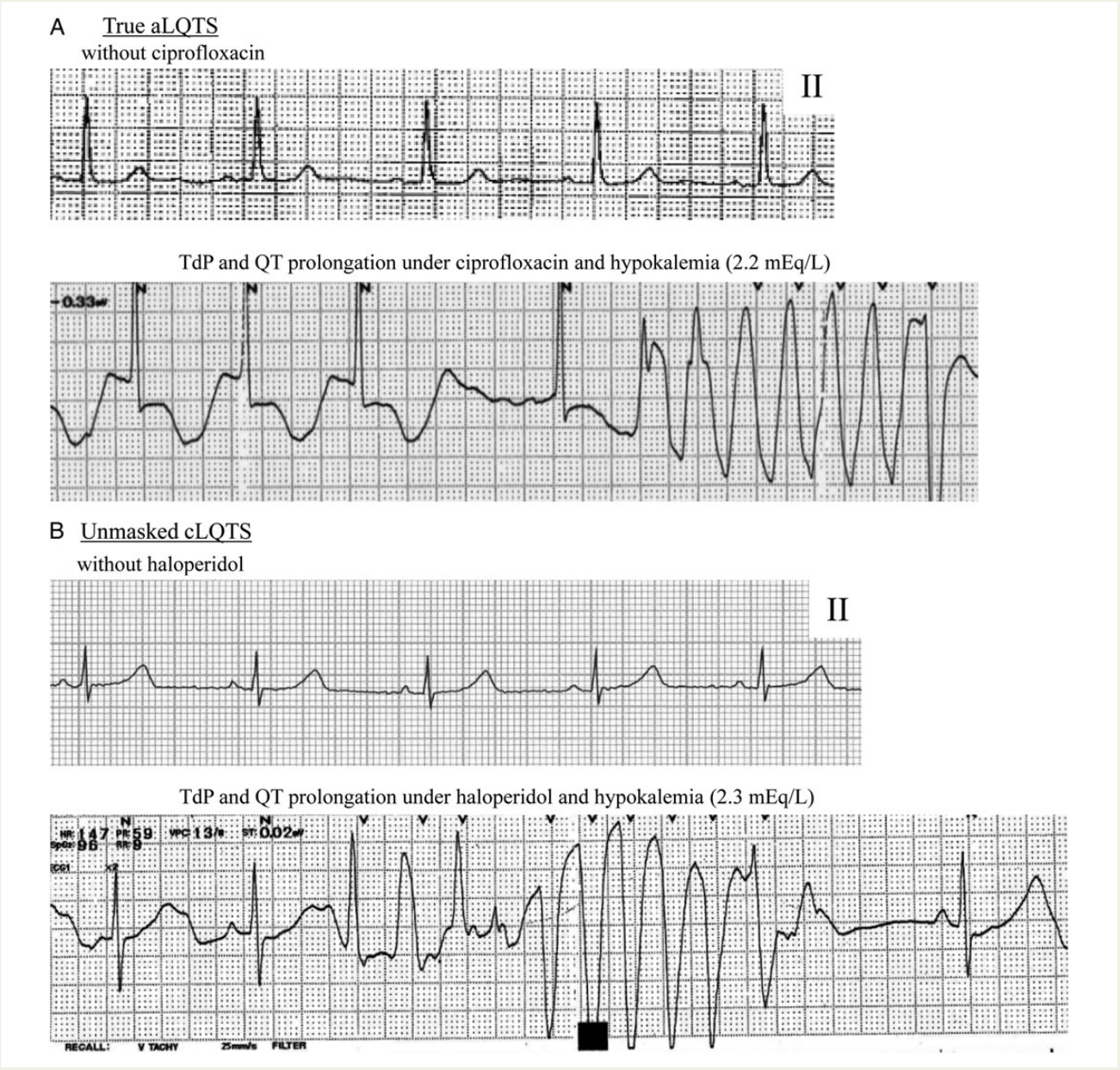


Figure 2 Electrocardiograms of true acquired long QT syndrome and unmasked congenital long QT syndrome. (*A*) A representative case with true long QT syndrome. This 73-year-old female was admitted for the treatment of bacterial pneumonia. Her basal QTc was normal (396 ms, upper panel). Torsades de Pointes and severe QT prolongation appeared 3 days after receiving ciprofloxacin (lower panel) and led to ventricular fibrillation. After cardioversion, the ECG showed marked QT prolongation (613 ms) and atrial fibrillation with hypokalaemia (2.2 mEq/L). (*B*) A representative case with unmasked congenital long QT syndrome. This 52-year-old alcoholic male was treated with haloperidol i.v. (6 mg) for withdrawal symptoms. Though his control QTc interval was prolonged but not remarkably (466 ms), a monitoring ECG showed Torsades de Pointes and marked QTc prolongation (624 ms) after haloperidol accompanied by hypokalaemia (2.3 mEq/L). Genetic analysis revealed a *KCNH2* mutation (R948S) located in the C-terminus.

Interestingly, despite the small number of MCs in each genetic subgroup, *KCNE1*/*KCNE2* mutations seemed more frequent in aLQTS than in cLQTS (5.9% [95% CI 1.2–16%] vs. 1.7% [95% CI 1–2.7%], $P = 0.07$).

The common variant *KCNQ1*-D85N was found in 10/188 (5%) heterozygous subjects, corresponding to a minor allele frequency of 2.7%. Five of these were also carriers of *KCNH2* mutations. No significant difference was observed between aLQTS subjects with or without the D85N variant with respect to all demographic and clinical variables measured, although D85N carriers trended towards a longer control QTc (475 ± 38 vs. 452 ± 39 ms, $P = 0.067$) compared with non-carriers.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Table 2 Prevalence of mutation carriers according to baseline features of the 188 aLQTS subjects

Demographic/clinical variable	Mutation carriers (n = 55)	P-value
Ethnicity		
Blacks	0/2	0.09
Caucasians	16/39 (41)	
Japanese	37/147 (25)	
Age of onset		
<40 years	20/49 (41)	0.03
≥40 years	33/139 (24)	
Sex		
Males	11/48 (23)	0.46
Females	42/140 (30)	
Secondary factors		
Drug	19/81 (23)	0.36
Hypokalaemia	17/42 (40)	
Bradycardia	5/17 (29)	
Combination	11/43 (26)	
Other	1/5 (20)	
Control QTc		
True aLQTS	26/112 (23)	0.07
Unmasked LQTS	27/76 (36)	
Cardiac symptoms		
Symptomatic	52/162 (32)	0.002
Asymptomatic	1/26 (4)	

Numbers are *n*/*N* (%).
LQTS, long QT syndrome; aLQTS, acquired long QT syndrome.

A score to predict genetic status

Using a multivariable logistic regression model, age at exposure to proarrhythmic triggers, control QTc measured in the absence of these factors, and a history of symptoms at the time of the critical event were significant and independent predictors for carriers of disease-causing mutations (*Table 3*). Their combination in a summative score ranging from 0 to 3 points allowed identification of individuals in whom genetic screening is more or less likely to reveal an LQTS mutation. The discriminatory power of the score was relatively good (AUC, 0.72, 95% CI 0.64–0.80, $P < 0.001$). As shown in *Figure 4*, the proportion of aLQTS subjects with a positive genetic result increased linearly (P for trend < 0.001) from 0 to 63% (from 0 to 3 points), where all three factors conferring a higher probability (age ≤40 years, symptoms, and QTc >440 ms) were present. Of the aLQTS patients carrying a mutation, 89% (47 of 53) had a score of 2 or 3 points; from a different and broader perspective, of all the 188 aLQTS subjects none with a score of 0 and only 6 (3%) with a score of 1 had a mutation. The same significant pattern was present when examining separately Japanese and Caucasians (*Figure 5*).

When in a sort of sensitivity analysis we used a 'weighted' score by assigning 1 point to age <40 years, 2 points to QTc >440 ms, and 3 points to symptomatic status, the pattern was confirmed (see Supplementary material online, *Figure S1*).

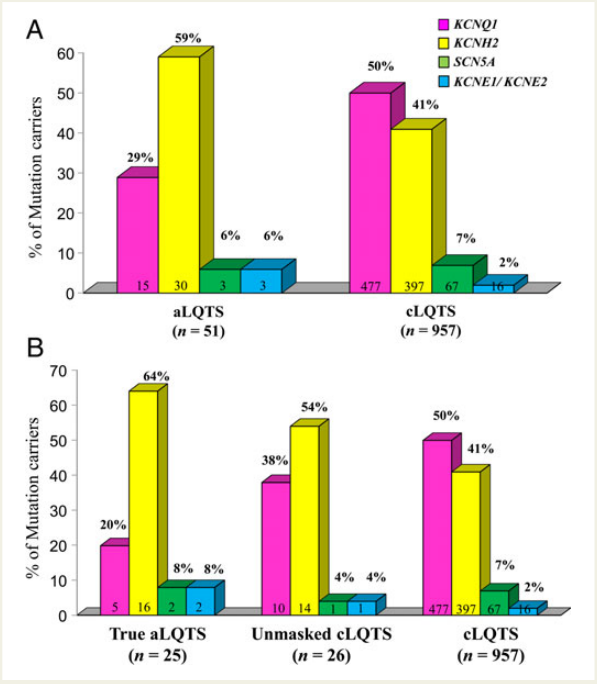


Figure 3 Distribution of genetic subtypes in acquired long QT syndrome and congenital long QT syndrome. All acquired long QT syndrome mutation carriers are shown in *A*; they are then subdivided in *B* as 'true acquired long QT syndrome' or 'unmasked congenital long QT syndrome', according to the study definitions.

Table 3 Predictors of the probability of being mutation carriers (MCs) in aLQTS

	OR (95% CI)	P-value
Age, <40 vs. ≥40 years	2.5 (1.2–5.3)	0.020
QTc, >440 vs. ≤440 ms	5.2 (2.2–12.2)	<0.001
Clinical status, symptomatic vs. asymptomatic	10.6 (1.3–83.5)	0.025

LQTS, long QT syndrome; aLQTS, acquired long QT syndrome.

Discussion

The present multicentre study focused on the genetic basis of aLQTS and provides four major findings: (i) the QTc measured in the absence of triggering factors of aLQTS cases is shorter than that of cLQTS patients, but is significantly longer than that of individuals without cLQTS; (ii) 28% of aLQTS subjects have mutations in cLQTS genes; (iii) at variance with cLQTS, the most prevalent mutations in aLQTS are on the *KCNH2* gene; and (iv) the QTc measured in the absence of triggers, together with simple clinical parameters, allows identification of aLQTS subjects more likely to

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

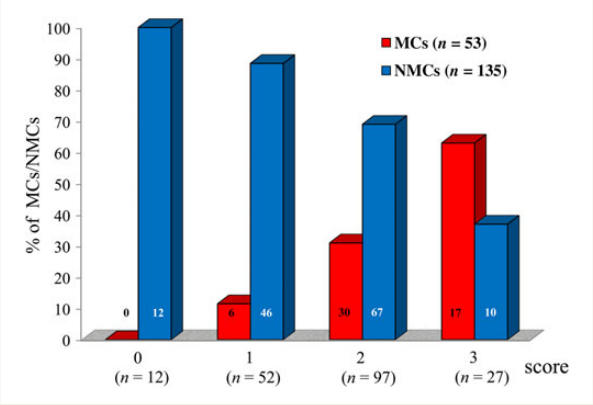


Figure 4 Proportions of mutation carriers/non-mutation carriers among the 188 patients according to increasing score values. Score 0 = age ≥40 years + asymptomatic + QTc ≤440 ms; score 3 = age <40 years + symptomatic + QTc >440 ms; Scores 1 and 2 represent the presence of one or of two factors. The number of mutation carriers increases with increasing score values (from 0 in the group with Score 0) and indicates that 89% of mutation carriers (47 of 53) are found within the Scores 2 and 3. Conversely, among the 52 patients with a score of 1, which represent 28% of the entire population, there were six mutation carriers; this means that while within the group with a score of 1, there is an 11% of mutation carriers, when looking at the entire population this percentage drops to 3%. This would be the percentage of mutation carriers missed if genetic screening would be limited to the groups with a score of 2 and 3.

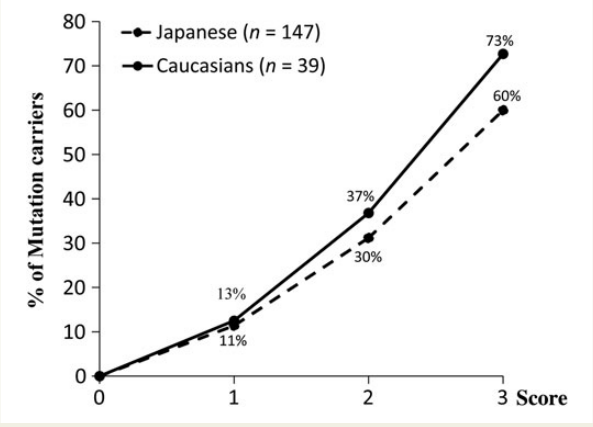


Figure 5 The percentages of mutation carriers, within each value of the probability score, are similar between Japanese and Caucasian acquired long QT syndrome subjects. The figures of 11 and 13% for a score of 1 correspond approximately at a 3% prevalence of mutation carriers on the total population of acquired long QT syndrome.

be carriers of LQTS mutations and for whom, therefore, genetic screening is warranted.

Even though QTc returns to the normal range once QT-prolonging factors are removed,[20] previous reports observed that QTc sometimes remains prolonged even after withdrawal of culprit drugs[21] or the correction of serum electrolytes.[3] Our study cohort showed that the 'off' trigger QTc of aLQTS was indeed significantly longer than that of unaffected family members of cLQTS patients, in agreement with the concept that aLQTS could represent at least in part a latent genetic predisposition.[8] Our study now demonstrates in a large cohort of aLQTS cases that ~30% of these subjects have an underlying mutation in one of the major LQTS-related genes. Even among the 'true aLQTS', i.e. those with normal QT interval outside the triggering episode, 23% had cLQTS-causing mutations and this percentage is much higher than the ~6% reported previously.[11,22] We did consider the possibility that this greater prevalence, which was independent of ethnic background, might be due to the fact that our cohort included subjects whose aLQTS was caused not only by drugs, but also by hypokalaemia or bradycardia. However, this was not the case as the percentage of MCs among the drug-induced aLQTS was already high (23%) and the addition of non-drug-induced MCs increased this percentage.

The percentages of LQT1 and LQT2 patients in cLQTS are either similar or show a predominance of LQT1 mutations,[23,24] which was also the case in the present study. In contrast, in the 'true aLQTS', we observed a significantly lower frequency of LQT1- than LQT2-causing mutations. Even though it is unclear why *KCNH2* mutations are more frequently found in aLQTS, it may be relevant that most of these mutations are located in the non-pore regions, usually associated with rather benign phenotypes.[25] There was also a tendency for mutations in *KCNE1* and *KCNE2* to occur more frequently in aLQTS than in cLQTS. A possible explanation is that β-subunits are accessory proteins which modulate the function of the main α-subunits of the cardiac potassium channels and their altered channel dysfunctions are often benign and not sufficient *per se* to cause the full blown manifestations of cLQTS. Such considerations are clinically important because, in the absence of triggering factors, most of these mutations remain silent and the subjects appear normal.

No mutations were detected in two of three aLQTS patients. This does not necessarily rule out a genetic component, which may yet be identified. A number of rare or common polymorphisms could induce cumulative effects on QTc prolongation,[26] and even clinical phenotypes of long QT syndrome,[12] such as *KCNH2*-K897T,[27,28] *SCN5A*-S1103Y,[29] *KCNE1*-D85N,[17,18,28] and *NOS1AP*[30] variants. It is therefore tempting to speculate that the synergistic association of several functional polymorphisms could contribute to the genetic background predisposing to aLQTS. The D85N polymorphism, often associated with both cLQTS and aLQTS,[17,18,30] was not found in the present study to play any significant role despite a trend for longer QTc among the carriers.

The present findings go beyond clarification of the genetic basis for aLQTS because our analysis shows that a score incorporating simple parameters such as QTc, age, and presence/absence of symptoms may provide a useful guide for the clinician, assisting his/her decision-making and allowing cost-effective genetic testing.

Limitations

Genes responsible for the rarer variants of LQTS[12] were not analysed. Although their probability to cause cLQTS is very low (<1%), we cannot exclude the possibility that some genotype-negative aLQTS patients may have mutations in these genes or in others not yet

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

identified. Our score lacks external or internal cross-validation and therefore it should be considered as a preliminary tool. However, the three variables used are well-known risk factors for arrhythmias in cLQTS, and their dichotomization was performed at traditional clinically based LQTS cut-offs, thus limiting the potential bias.

Conclusion

In clinical practice, greater attention should be paid to even mild prolongation of the QT interval because this could represent a signal of potential risk of manifestation of aLQTS if exposed to the appropriate triggers. Some individuals initially labelled as aLQTS are diagnosed as cLQTS ('unmasked cLQTS') following the lack of QT normalization after removal of the trigger, and should be treated as such. Evidence of a genetic predisposition often present in aLQTS justifies and recommends a genetic study in all patients with a score of 2 or 3, where one finds almost 90% of the mutation carriers. While screening those with a score of 0 is unlikely to be useful, not to screen those with 1 point would miss only 3% of the subjects carrying a mutation within the entire aLQTS population and would be more debatable. Having identified the predisposing mutation in the proband, 'cascade screening' in their families will rapidly and inexpensively identify additional mutation carriers and prevent avoidable risks of life-threatening arrhythmias.

Supplementary material

Supplementary material is available at *European Heart Journal* online.

Authors' contributions

C.S., Y.M.: performed statistical analysis; P.J.S., H.I., L.C., W.S., M.H.: handled funding and supervision; H.I., L.C., T.A., I.D., V.F., K.H., T.N., S.O., T.M., J.W., K.H., E.M., F.D., M.P., M.Y., M.B., W.S., P.G., P.J.S., M.H.: acquired the data; P.J.S., L.C., C.S., P.G., M.H., H.I.: conceived and designed the research; P.J.S., H.I., C.S., M.H.: drafted the manuscript; P.J.S., L.C., C.S., M.H., H.I.: made critical revision of the manuscript for key intellectual content.

Acknowledgement

We thank Arisa Ikeda, Rika Kasahara, Tamayo Hirata, and Aya Umehara for their excellent technical assistance, and Pinuccia De Tomasi for her expert editorial support.

Funding

This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science (H.I., 25460406), the Japan Ministry of Health, Labour, and Welfare (W.S. and M.H., H24-033 and H26-040), the Japan Circulation Society (M.H., TR funds), and the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (H.I., 25136705), National Natural Science Foundation of China (J.W., 81273501 and 81470378), the Italian Ministry of Education, University and Research (MIUR) Grants FIRB RBFR12I3KA (L.C.) and PRIN 2010BWY8E9 (P.J.S. and L.C.), and the Italian Ministry of Health Grant GR-2010-2305717 (L.C.) and Italian Ministry of Health Malattie Rare RF-IAI_2008-1216776 (P.J.S. and L.C.).

Conflict of interest: none declared.

References

1. Roden DM. Drug-induced prolongation of the QT interval. *N Engl J Med* 2004;**350**:1013–1022.
2. Wysowski DK, Bacsanyi J. Cisapride and fatal arrhythmia. *N Engl J Med* 1996;**335**:290–291.
3. Berthet M, Denjoy I, Donger C, Demay L, Hammoude H, Klug D, Schulze-Bahr E, Richard P, Funke H, Schwartz K, Coumel P, Hainque B, Guicheney P. C-terminal HERG mutations: the role of hypokalemia and a KCNQ1-associated mutation in cardiac event occurrence. *Circulation* 1999;**99**:1464–1470.
4. Kurita T, Ohe T, Marui N, Aihara N, Takaki H, Kamakura S, Matsuhisa M, Shimomura K. Bradycardia-induced abnormal QT prolongation in patients with complete atrioventricular block with Torsades de Pointes. *Am J Cardiol* 1992;**69**:628–633.
5. Food and Drug Administration HHS. International Conference on Harmonisation; guidance on S7B Nonclinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals; availability. Notice. *Fed Regist* 2005;**70**:61133–61134.
6. Food and Drug Administration HHS. International Conference on Harmonisation; guidance on E14 Clinical Evaluation of QT/QTc Interval Prolongation and Proarrhythmic Potential for Non-Antiarrhythmic Drugs; availability. Notice. *Fed Regist* 2005;**70**:61134–61135.
7. Darpo B, Garnett C, Benson CT, Keirns J, Leishman D, Malik M, Mehrotra N, Prasad K, Riley S, Rodriguez I, Sager P, Sarapa N, Wallis R. Cardiac Safety Research Consortium: can the thorough QT/QTc study be replaced by early QT assessment in routine clinical pharmacology studies? Scientific update and a research proposal for a path forward. *Am Heart J* 2014;**168**:262–272.
8. Moss AJ, Schwartz PJ. Delayed repolarization (QT or QTU prolongation) and malignant ventricular arrhythmias. *Mod Concepts Cardiovasc Dis* 1982;**51**:85–90.
9. Donger C, Denjoy I, Berthet M, Neyroud N, Cruaud C, Bennaceur M, Chivoret G, Schwartz K, Coumel P, Guicheney P. KVLQT1 C-terminal missense mutation causes a forme fruste long-QT syndrome. *Circulation* 1997;**96**:2778–2781.
10. Makita N, Horie M, Nakamura T, Ai T, Sasaki K, Yokoi H, Sakurai M, Sakuma I, Otani H, Sawa H, Kitabatake A. Drug-induced long-QT syndrome associated with a subclinical SCN5A mutation. *Circulation* 2002;**106**:1269–1274.
11. Yang P, Kanki H, Drolet B, Yang T, Wei J, Viswanathan PC, Hohnloser SH, Shimizu W, Schwartz PJ, Stanton M, Murray KT, Norris K, George AL, Roden DM. Allelic variants in long-QT disease genes in patients with drug-associated Torsades de Pointes. *Circulation* 2002;**105**:1943–1948.
12. Schwartz PJ, Ackerman MJ, George AL, Wilde AA. Impact of genetics on the clinical management of channelopathies. *J Am Coll Cardiol* 2013;**62**:169–180.
13. Bazett HC. An analysis of the time relations of electrocardiograms. *Heart* 1920;**7**:353–370.
14. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL, Committee ALQA. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;**17**:405–424.
15. Kapa S, Tester DJ, Salisbury BA, Harris-Kerr C, Pungliya MS, Alders M, Wilde AA, Ackerman MJ. Genetic testing for long-QT syndrome: distinguishing pathogenic mutations from benign variants. *Circulation* 2009;**120**:1752–1760.
16. Giudicessi JR, Kapplinger JD, Tester DJ, Alders M, Salisbury BA, Wilde AA, Ackerman MJ. Phylogenetic and physicochemical analyses enhance the classification of rare nonsynonymous single nucleotide variants in type 1 and 2 long-QT syndrome. *Circ Cardiovasc Genet* 2012;**5**:519–528.
17. Nishio Y, Makiyama T, Itoh H, Sakaguchi T, Ohno S, Gong YZ, Yamamoto S, Ozawa T, Ding WG, Toyoda F, Kawamura M, Akao M, Matsuura H, Kimura T, Kita T, Horie M. D85N, a KCNE1 polymorphism, is a disease-causing gene variant in long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2009;**54**:812–819.
18. Kääb S, Crawford DC, Sinner MF, Behr ER, Kannankeril PJ, Wilde AA, Bezzina CR, Schulze-Bahr E, Guicheney P, Bishopric NH, Myerburg RJ, Schott JJ, Pfeufer A, Beckmann BM, Martens E, Zhang T, Stallmeyer B, Zumhagen S, Denjoy I, Bardai A, Van Gelder IC, Jamshidi Y, Dalageorgou C, Marshall V, Jeffery S, Shakir S, Camm AJ, Steinbeck G, Perz S, Lichtner P, Meitinger T, Peters A, Wichmann HE, Ingram C, Bradford Y, Carter S, Norris K, Ritchie MD, George AL, Roden DM. A large candidate gene survey identifies the KCNE1 D85N polymorphism as a possible modulator of drug-induced torsades de pointes. *Circ Cardiovasc Genet* 2012;**5**:91–99.
19. Hayashi K, Shimizu M, Ino H, Yamaguchi M, Terai H, Hoshi N, Higashida H, Terashima N, Uno Y, Kanaya H, Mabuchi H. Probucol aggravates long QT syndrome associated with a novel missense mutation M124T in the N-terminus of HERG. *Clin Sci (Lond)* 2004;**107**:175–182.
20. Roden DM, Viswanathan PC. Genetics of acquired long QT syndrome. *J Clin Invest* 2005;**115**:2025–2032.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

21. Itoh H, Sakaguchi T, Ding WG, Watanabe E, Watanabe I, Nishio Y, Makiyama T, Ohno S, Akao M, Higashi Y, Zenda N, Kubota T, Mori C, Okajima K, Haruna T, Miyamoto A, Kawamura M, Ishida K, Nagaoka I, Oka Y, Nakazawa Y, Yao T, Jo H, Sugimoto Y, Ashihara T, Hayashi H, Ito M, Imoto K, Matsuura H, Horie M. Latent genetic backgrounds and molecular pathogenesis in drug-induced long-QT syndrome. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2009;**2**:511–523.
22. Behr ER, Ritchie MD, Tanaka T, Kääb S, Crawford DC, Nicoletti P, Floratos A, Sinner MF, Kannankeril PJ, Wilde AA, Bezzina CR, Schulze-Bahr E, Zumhagen S, Guicheney P, Bishopric NH, Marshall V, Shakir S, Dalageorgou C, Bevan S, Jamshidi Y, Bastiaenen R, Myerburg RJ, Schott JJ, Camm AJ, Steinbeck G, Norris K, Altman RB, Tatonetti NP, Jeffery S, Kubo M, Nakamura Y, Shen Y, George AL, Roden DM. Genome wide analysis of drug-induced Torsades de Pointes: lack of common variants with large effect sizes. *PLoS One* 2013;**8**:e78511.
23. Priori SG, Schwartz PJ, Napolitano C, Bloise R, Ronchetti E, Grillo M, Vicentini A, Spazzolini C, Nastoli J, Bottelli G, Folli R, Cappelletti D. Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med* 2003;**348**:1866–1874.
24. Tester DJ, Will ML, Haglund CM, Ackerman MJ. Compendium of cardiac channel mutations in 541 consecutive unrelated patients referred for long QT syndrome genetic testing. *Heart Rhythm* 2005;**2**:507–517.
25. Shimizu W, Moss AJ, Wilde AA, Towbin JA, Ackerman MJ, January CT, Tester DJ, Zareba W, Robinson JL, Qi M, Vincent GM, Kaufman ES, Hofman N, Noda T, Kamakura S, Miyamoto Y, Shah S, Amin V, Goldenberg I, Andrews ML, McNitt S. Genotype-phenotype aspects of type 2 long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2009;**54**:2052–2062.
26. Newton-Cheh C, Eijgelsheim M, Rice KM, de Bakker PI, Yin X, Estrada K, Bis JC, Marciante K, Rivadeneira F, Noseworthy PA, Sotoodehnia N, Smith NL, Rotter JI, Kors JA, Witteman JC, Hofman A, Heckbert SR, O'Donnell CJ, Uitterlinden AG, Psaty BM, Lumley T, Larson MG, Stricker BH. Common variants at ten loci influence QT interval duration in the QTGEN Study. *Nat Genet* 2009;**41**:399–406.
27. Crotti L, Lundquist AL, Insolia R, Pedrazzini M, Ferrandi C, De Ferrari GM, Vicentini A, Yang P, Roden DM, George AL, Schwartz PJ. KCNH2-K897T is a genetic modifier of latent congenital long-QT syndrome. *Circulation* 2005;**112**:1251–1258.
28. Gouas L, Nicaud V, Berthet M, Forhan A, Tiret L, Balkau B, Guicheney P, Group DE-SIRS. Association of KCNQ1, KCNE1, KCNH2 and SCN5A polymorphisms with QTc interval length in a healthy population. *Eur J Hum Genet* 2005;**13**:1213–1222.
29. Van Norstrand DW, Tester DJ, Ackerman MJ. Overrepresentation of the proarrhythmic, sudden death predisposing sodium channel polymorphism S1103Y in a population-based cohort of African-American sudden infant death syndrome. *Heart Rhythm* 2008;**5**:712–715.
30. Crotti L, Monti MC, Insolia R, Peljto A, Goosen A, Brink PA, Greenberg DA, Schwartz PJ, George AL. NOS1AP is a genetic modifier of the long-QT syndrome. *Circulation* 2009;**120**:1657–1663.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

European Heart Journal (2015) **36**, 3276–3287
doi:10.1093/eurheartj/ehv457

FASTTRACK
ESC Hot Line

Arrhythmia/electrophysiology

Adenosine triphosphate-guided pulmonary vein isolation for atrial fibrillation: the UNmasking Dormant Electrical Reconduction by Adenosine TriPhosphate (UNDER-ATP) trial

Atsushi Kobori[1†], Satoshi Shizuta[2*], Koichi Inoue[3†], Kazuaki Kaitani[4], Takeshi Morimoto[5], Yuko Nakazawa[6], Tomoya Ozawa[6], Toshiya Kurotobi[7], Itsuro Morishima[8], Fumiharu Miura[9], Tetsuya Watanabe[10], Masaharu Masuda[10], Masaki Naito[11], Hajime Fujimoto[11], Taku Nishida[12], Yoshio Furukawa[13], Takeshi Shirayama[14], Mariko Tanaka[15], Katsunori Okajima[16], Takenori Yao[17], Yasuyuki Egami[18], Kazuhiro Satomi[19], Takashi Noda[19], Koji Miyamoto[19], Tetsuya Haruna[20], Tetsuma Kawaji[2], Takashi Yoshizawa[2], Toshiaki Toyota[2], Mitsuhiko Yahata[2], Kentaro Nakai[2], Hiroaki Sugiyama[2], Yukei Higashi[17], Makoto Ito[6], Minoru Horie[6], Kengo F. Kusano[19], Wataru Shimizu[19,21], Shiro Kamakura[19], and Takeshi Kimura[2], on behalf of the UNDER-ATP Trial Investigators

[1]Division of Cardiology, Kobe City Medical Center General Hospital, Kobe, Japan; [2]Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine, 54 Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan; [3]Cardiovascular Center, Sakurabashi Watanabe Hospital, Osaka, Japan; [4]Division of Cardiology, Tenri Hospital, Tenri, Japan; [5]Department of Clinical Epidemiology, Hyogo College of Medicine, Hyogo, Japan; [6]Heart Rhythm Center, Department of Cardiovascular and Respiratory Medicine, Shiga University of Medical Science, Otsu, Japan; [7]Cardiovascular Center, Shiroyama Hospital, Habikino City, Osaka, Japan; [8]Department of Cardiology, Ogaki Municipal Hospital, Ogaki, Japan; [9]Department of Cardiology, Hiroshima City Hiroshima Citizens Hospital, Hiroshima, Japan; [10]Cardiovascular Center, Kansai Rosai Hospital, Amagasaki, Japan; [11]Department of Cardiovascular Medicine, Nara Prefecture Western Medical Center, Nara, Japan; [12]First Department of Internal Medicine, Nara Medical University, Nara, Japan; [13]Division of Cardiology, Osaka General Medical Center, Osaka, Japan; [14]Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan; [15]Department of Cardiology, Japanese Red Cross Society Wakayama Medical Center, Wakayama, Japan; [16]Department of Cardiology, Himeji Cardiovascular Center, Himeji, Japan; [17]Department of Cardiovascular Medicine, Okamura Memorial Hospital, Shizuoka, Japan; [18]Division of Cardiology, Osaka Rosai Hospital, Osaka, Japan; [19]Division of Arrhythmia and Electrophysiology, Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan; [20]Cardiovascular Center, Tazuke Medical Research Institute Kitano Hospital, Osaka, Japan; and [21]Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School, Tokyo, Japan

Received 26 July 2015; revised 11 August 2015; accepted 18 August 2015; online publish-ahead-of-print 30 August 2015

See page 3288 for the editorial comment on this article (doi:10.1093/eurheartj/ehv473)

Aims Most of recurrent atrial tachyarrhythmias after pulmonary vein isolation (PVI) for atrial fibrillation (AF) are due to reconnection of PVs. The aim of the present study was to evaluate whether elimination of adenosine triphosphate (ATP)-induced dormant PV conduction by additional energy applications during the first ablation procedure could reduce the incidence of recurrent atrial tachyarrhythmias.

Methods and results We randomly assigned 2113 patients with paroxysmal, persistent, or long-lasting AF to either ATP-guided PVI (1112 patients) or conventional PVI (1001 patients). The primary endpoint was recurrent atrial tachyarrhythmias lasting for >30 s or those requiring repeat ablation, hospital admission, or usage of Vaughan Williams class I or III antiarrhythmic drugs at 1 year with the blanking period of 90 days post ablation. Among patients assigned to ATP-guided PVI, 0.4 mg/kg body weight of ATP provoked dormant PV conduction in 307 patients (27.6%). Additional radiofrequency energy applications

* Corresponding author. Tel: +81 75 751 4254, Fax: +81 75 751 3289, Email: shizuta@kuhp.kyoto-u.ac.jp

† A.K. and K.I. contributed equally.

Published on behalf of the European Society of Cardiology. All rights reserved. © The Author 2015. For permissions please email: journals.permissions@oup.com.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

successfully eliminated dormant conduction in 302 patients (98.4%). At 1 year, 68.7% of patients in the ATP-guided PVI group and 67.1% of patients in the conventional PVI group were free from the primary endpoint, with no significant difference (adjusted hazard ratio [HR] 0.89; 95% confidence interval [CI] 0.74–1.09; $P = 0.25$). The results were consistent across all the prespecified subgroups. Also, there was no significant difference in the 1-year event-free rates from repeat ablation for any atrial tachyarrhythmia between the groups (adjusted HR 0.83; 95% CI 0.65–1.08; $P = 0.16$).

Conclusion In the catheter ablation for AF, we found no significant reduction in the 1-year incidence of recurrent atrial tachyarrhythmias by ATP-guided PVI compared with conventional PVI.

Keywords Adenosine • Atrial fibrillation • Catheter ablation • Dormant conduction • Pulmonary vein isolation

Introduction

Although radiofrequency catheter ablation (RFCA) has been developed as a curative therapy for atrial fibrillation (AF), it is still associated with a considerably high rate of recurrent atrial tachyarrhythmias, ~30–40% in patients with paroxysmal AF, and 50–70% among those with persistent or long-lasting AF.[1–4]

Because most ectopic beats triggering AF originate from myocardial sleeves in pulmonary veins (PVs),[5] the mainstay of RFCA for AF is PV isolation (PVI). The major cause of recurrent atrial tachyarrhythmias following successful PVI is considered to be electrical reconnections between left atrium (LA) and PVs. Therefore, it is important to establish permanent LA–PV disconnection, although high energy application is associated with an increased risk of procedural complications, including cardiac tamponade, PV stenosis/occlusion, and atrio-oesophageal fistula.[1]

Adenosine (triphosphate) has been reported to provoke dormant electrical conduction between LA and PVs after initially successful PVI.[6] Thus, adenosine (triphosphate)-guided additional ablation until disappearance of dormant conduction has been proposed as an adjunctive approach to establish permanent LA–PV disconnection and thereby decrease recurrence of AF post ablation.[7] However, only several retrospective studies and one randomized controlled trial with a relatively small number of patients have shown the efficacy of adenosine (triphosphate)-guided PVI.[8–11]

Accordingly, we conducted a large-scale multicentre prospective randomized controlled trial, evaluating the efficacy of adenosine triphosphate (ATP)-guided PVI when compared with conventional PVI.

Methods

The UNmasking Dormant Electrical Reconduction by Adenosine-TriPhosphate (UNDER-ATP) trial is a physician-initiated, non-company-sponsored, multicentre prospective randomized controlled trial, comparing ATP-guided PVI and conventional PVI in patients undergoing AF ablation. This study was a component of the 2 × 2 factorial randomized controlled trial, Kansai Plus Atrial Fibrillation (KPAF) trial. The other component was the Efficacy of Antiarrhythmic drugs Short-Term use after catheter ablation for Atrial Fibrillation (EAST-AF) trial, evaluating the efficacy of 90-day use of antiarrhythmic drug (AAD) post AF ablation. The trial was registered with ClinicalTrials.gov (NCT01477983). The study protocol was approved by the institutional review board at each participating centre. Written informed consent was obtained from all patients.

Study population

Patients were recruited from 19 cardiovascular centres mostly located in the Kansai region of Japan (see Supplementary material online, Appendix A). Patients who were 21–79 years old undergoing first-time RFCA for paroxysmal, persistent, or long-lasting AF were eligible for the study. Exclusion criteria were contraindication or intolerance to ATP or Vaughan Williams class I or III AADs, including severe bronchial asthma, severe vasospastic angina and substantial bradycardia, renal insufficiency (serum creatinine ≥2.0 mg/dL or on haemodialysis), New York Heart Association class IV heart failure, left ventricular ejection fraction <40%, left atrial diameter >55 mm, very long-lasting (≥5 years) AF, intolerance for optimal anticoagulation, myocardial infarction within the past 6 months, prior or planned open heart surgery, severe valvular heart disease, inability to be followed at the outpatient clinic for 1 year, unwillingness to sign the consent form for participation, and patients whom the attending physician considered inappropriate to enrol in the study. Between November 2011 and March 2014, a total of 3722 patients were screened, and 2120 patients were initially enrolled in the study (*Figure 1*). Randomization was performed before the ablation procedure, stratified by age (<70 or ≥70 years), gender, centre, and AF type.

Ablation procedure

Ablation procedures were usually performed under local anaesthesia with mild conscious sedation. After successful trans-septal puncture, PVI was performed with the use of at least one circular catheter. Intravenous heparin was administered continuously to maintain an activated clotting time between 250 and 350 s. The standard method of PVI in the participating centres of the present study was extensive encircling PVI, broadly isolating ipsilateral superior and inferior PVs simultaneously, mostly with the use of double circular catheters.[3,12] An irrigation catheter in combination with the three-dimensional mapping system (CARTO, Biosense-Webster, Diamond Bar, CA, USA or Ensite NavX, St Jude Medical, St Paul, MN, USA) was used in most patients. Deflectable sheath was commonly used to increase the contact force of the ablation catheter to the target tissue. Radiofrequency energy was applied to the antrum of the ipsilateral PVs with minimal anatomical gaps in the ablation points. The electrophysiological endpoint of PVI was bidirectional conduction block between LA and PVs.

When spontaneous PV reconnection was observed during the waiting period following initially successful PVI, additional energy applications were performed to re-isolate the PV. Thereafter, in patients assigned to the ATP-guided PVI, 0.4 mg/kg body weight/one injection of ATP was rapidly administered intravenously to unmask dormant conduction. Isoproterenol infusion was not mandatory in the ATP test. In patients with double circular catheters, the ATP tests were performed at least once for each side of PVs. In patients with a single circular catheter, the ATP tests were usually performed for all four PVs. When dormant conduction was provoked by the ATP test, additional RF energy applications were performed until

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

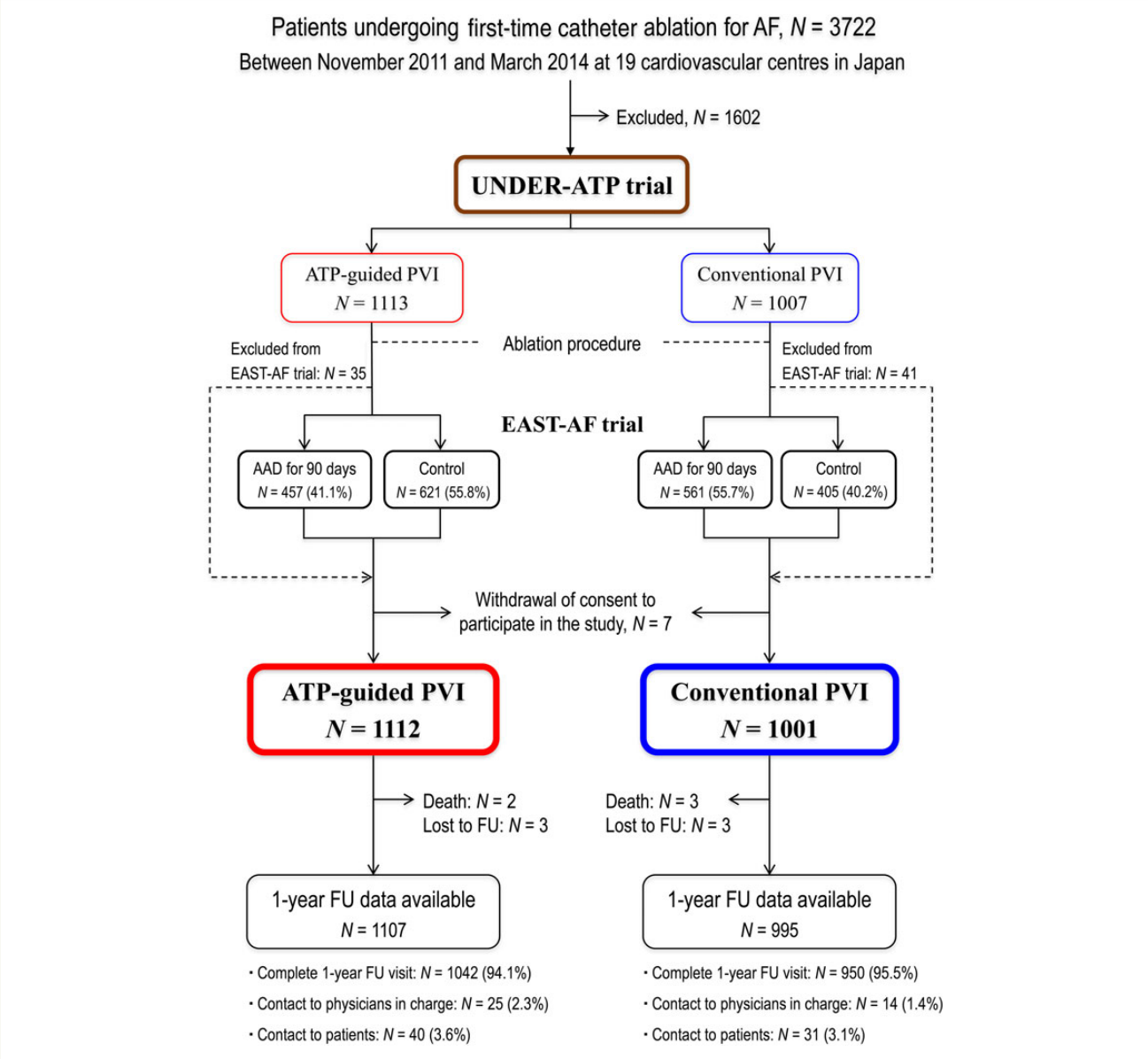


Figure 1 Study flow of the UNDER-ATP trial. AF, atrial fibrillation; AAD, antiarrhythmic drug; ATP, adenosine triphosphate; FU, follow-up; PVI, pulmonary vein isolation.

disappearance of dormant conduction. For safety reason, whether to stop additional RF energy applications in the case of difficulty in eliminating dormant conduction was left to the discretion of the operator.

Whether to perform additional ablation including tricuspid valve isthmus ablation, continuous fractionated atrial electrogram ablation, and LA linear ablation was left to the discretion of the operator and/or the attending physician.

Definitions and endpoints

Paroxysmal AF was defined as that terminates spontaneously or under AADs within 7 days of onset. Persistent AF was defined as that lasting for more than 7 days up to 1 year, and long-lasting AF was defined as that lasting for more than 1 year. Higher- and lower-volume centres were defined as those performing first-time AF ablation of $\geq$100 and $<$100 cases/year, respectively, during the patient enrolment period.

The primary endpoint of the study was recurrent atrial tachyarrhythmias at 1 year with the blanking period of 90 days post ablation. The definition of recurrent atrial tachyarrhythmias was those lasting for $>$30 s or requiring repeat ablation, hospital admission, or usage of Vaughan Williams class I or III AADs. Repeat ablation during the blanking period of 90 days was strongly discouraged. When repeat ablation was performed within 90 days post ablation, the patient was considered as having recurrent atrial tachyarrhythmias within 90 days and also having those at Day 91. The secondary efficacy endpoint was repeat ablation for any atrial tachyarrhythmia at 1 year without the blanking period. The secondary safety endpoints included procedural complications, total procedure time, total fluoroscopy time, total radiation dose, and side effects of ATP such as bronchial asthma, vasospastic angina, and sustained hypotension ($<$90 mmHg or requiring vasopressor) during and after the procedure.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Follow-up

Patients were scheduled to receive periodical follow-up at the outpatient clinic of the centres where the index ablation was performed at 3, 6, and 12 months. The time window for each visit was 77–105 days for 3 months, 150–240 days for 6 months, and 330–450 days for 12 months. Twelve-lead electrocardiogram was obtained at every visit. One-channel electrocardiograms were recorded for a duration of 2 weeks, twice daily and when patient had symptoms, at hospital discharge, 6 and 12 months with the use of ambulatory electrogram recorder (HCG-801, OMRON Healthcare Co., Ltd). Twenty-four-hour Holter monitoring was performed at 6 and 12 months. Ambulatory electrocardiograms were read by cardiologists at the core laboratory who were unaware of the treatment assignments. Records of Holter monitoring were read by clinicians at the local centre. When patients became unable to visit the outpatient clinic of the local centre, the follow-up data were obtained by contacting the

Table 1 Baseline patient characteristic

	All patients (*N* = 2113)	ATP-guided PVI (*N* = 1112)	Conventional PVI (*N* = 1001)	*P*-value
Age (years)	63.3. ± 10.0	58.6 ± 8.6	68.5 ± 8.8	<0.001
Male, *n* (%)	1589 (74.7)	856 (77.0)	723 (72.7)	0.01
Body weight (kg)	66.0 ± 12.3	68.3 ± 12.8	63.4 ± 11.2	<0.001
Body mass index (kg/m^2)	24.1 ± 3.5	24.3 ± 3.6	23.7 ± 3.2	<0.001
History of AF (months)	25.9 [9.0–62.9]	23.3 [8.8–60.8]	26.4 [9.4–67.5]	0.37
Type of AF, *n* (%)				
Paroxysmal	1420 (67.2)	737 (66.3)	683 (68.2)	0.34
Persistent	479 (22.7)	245 (22.0)	234 (23.4)	
Long-lasting	214 (10.1)	130 (11.7)	84 (8.4)	
Higher-volume centre, *n* (%)[a]	1644 (77.8)	865 (77.8)	779 (77.8)	0.98
$CHADS_2$ score, *n* (%)				
0, 1	1557 (73.7)	910 (81.8)	647 (64.6)	<0.001
2	356 (16.8)	141 (12.7)	215 (21.5)	
≥3	200 (9.5)	61 (5.5)	139 (13.9)	
Hypertension, *n* (%)	1125 (53.2)	535 (47.6)	590 (58.9)	<0.001
Diabetes mellitus, *n* (%)	282 (13.3)	141 (12.7)	141 (14.1)	0.34
History of heart failure, *n* (%)	172 (8.1)	83 (7.5)	89 (8.9)	0.24
Left ventricular ejection fraction (%)	64.3 ± 7.6	64.2 ± 7.9	64.6 ± 7.3	0.22
Left atrial dimension (mm)	39.0 ± 6.2	38.9 ± 6.3	39.2 ± 6.2	0.26
Moderate valvular heart disease, *n* (%)	147 (7.0)	45 (2.1)	102 (4.8)	0.51
Prior stroke or TIA, *n* (%)	174 (8.2)	66 (5.9)	108 (10.8)	<0.001
Prior myocardial infarction, *n* (%)	37 (1.8)	17 (1.5)	20 (2.0)	0.41
Creatinine clearance (mL/min)	85.0 ± 28.4	94.6 ± 28.3	74.4 ± 24.7	<0.001
Number of prior ineffective AADs, *n* (%)				
0	864 (41.0)	471 (42.5)	393 (39.4)	0.56
1	846 (40.2)	436 (39.3)	410 (41.1)	
2	282 (13.4)	144 (13.0)	138 (13.8)	
≥3	114 (5.1)	58 (5.2)	56 (5.6)	
Oral anticoagulant, *n* (%)				
Warfarin	704 (33.3)	337 (30.3)	367 (36.7)	0.002
Dabigatran	932 (44.1)	519 (46.7)	413 (41.3)	
Xa inhibitor	391 (18.5)	199 (17.9)	192 (19.2)	
Antiplatelet drug, *n* (%)	221 (10.5)	89 (8.0)	132 (13.2)	<0.001
Beta-blockers, *n* (%)	752 (35.6)	391 (35.2)	361 (36.1)	0.67
ACEI/ARB, *n* (%)	799 (37.8)	374 (33.6)	425 (42.5)	<0.001
Ca-antagonists, *n* (%)	742 (35.1)	333 (30.0)	409 (40.9)	<0.001
Vaughan Williams Class I/III AAD, *n* (%)	643 (30.4)	333 (30.0)	310 (31.0)	0.61

AAD, antiarrhythmic drug; ACEI, angiotensin-converting enzyme inhibitor; AF, atrial fibrillation; ARB, angiotensin receptor blockade; ATP, adenosine triphosphate; PVI, pulmonary vein isolation; TIA, transient ischaemic attack.
[a]Centres undergoing first-time catheter ablation for AF of ≥100 cases/year during the patient enrolment period.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Table 2 Procedural characteristics and complications

	ATP-guided PVI (*N* = 1112)	Conventional PVI (*N* = 1001)	*P*-value
Procedural characteristics, *n* (%)			
Local anaesthesia with conscious sedation	1104 (99.3)	995 (99.4)	0.73
Intracardiac echocardiography	856 (77.0)	763 (76.2)	0.68
Oesophageal temperature monitoring	803 (72.2)	711 (71.0)	0.55
Three-dimensional mapping system	1112 (100)	1000 (99.9)	0.47
CARTO	835 (75.1)	726 (72.6)	0.19
EnSite	277 (24.9)	274 (27.4)	–
Double circular catheters	820 (73.7)	773 (77.4)	0.05
Deflectable sheath	606 (54.5)	575 (57.4)	0.17
Irrigation catheter	1102 (99.1)	984 (98.3)	0.10
Contact force-sensing catheter	26 (2.3)	28 (2.8)	0.50
Extensive encircling PVI	1110 (99.8)	996 (99.5)	0.20
CFAE ablation	131 (11.8)	107 (10.7)	0.43
Left atrial roof line	202 (18.2)	217 (21.7)	0.04
Mitral isthmus line	74 (6.7)	78 (7.8)	0.31
GP ablation	59 (5.3)	59 (5.9)	0.56
Tricuspid valve isthmus ablation	803 (77.0)	745 (74.4)	0.25
SVC isolation	155 (13.9)	140 (14.0)	0.98
Spontaneous PV reconnection	474 (42.6)	419 (41.9)	0.72
LSPV	263 (23.7)	229 (22.9)	0.67
LIPV	185 (16.6)	171 (17.1)	0.78
RSPV	234 (21.0)	200 (20.0)	0.56
RIPV	210 (18.9)	174 (17.4)	0.37
Dormant conduction by ATP	307 (27.6)	–	–
LSPV	171 (15.4)	–	–
LIPV	87 (7.8)	–	–
RSPV	124 (11.2)	–	–
RIPV	107 (9.6)	–	–
Total number of energy applications for PVI	83.7 ± 32.0	80.4 ± 32.3	0.02
Total duration of energy applications for PVI (min)	37.1 [28.7–45.6]	35.1 [27.3–44.3]	0.005
Duration from initial success to final check in PVI (min)	67 [42–96]	61 [38–91]	<0.001
Total number of energy applications	106 ± 61	101 ± 40	0.02
Total duration of energy application (min)	47.1 [35.3–59.6]	45.5 [34.7–58.8]	0.11
Total procedure time (min)	195 [163–230]	192 [160–230]	0.22
Total fluoroscopy time (min)	58.4 [35.5–86.8]	58.0 [34.1–88.2]	0.99
Total radiation dose (mGy)	399 [141–756]	370 [164–721]	0.92
Procedural complications, *n* (%)			
Death	0 (0)	0 (0)	1.0
Cardiac tamponade requiring drainage	10 (0.9)	12 (1.2)	0.50
Stroke	0 (0)	1 (0.1)	0.47
TIA	1 (0.1)	2 (0.2)	0.61
Systemic embolism	1 (0.1)	1 (0.1)	1.0
Pulmonary embolism	0 (0.0)	0 (0.0)	–
Sepsis	1 (0.1)	0 (0)	1.00
Pericarditis	3 (0.3)	6 (0.6)	0.32
Pseudoaneurysm requiring surgery	2 (0.2)	1 (0.1)	1.00
Arteriovenous fistula requiring surgery	1 (0.1)	1 (0.1)	1.00
Atrial–oesophageal fistula	0 (0)	1 (0.1)	0.47
Phrenic nerve injury	1 (0.1)	1 (0.1)	1.00
Gastric motility or pyloric spasm	3 (0.3)	2 (0.2)	1.00

Continued

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Table 2 *Continued*

	ATP-guided PVI (*N* = 1112)	Conventional PVI (*N* = 1001)	*P*-value
Sustained low blood pressure[a]	30 (2.7)	31 (3.1)	0.58
Asthma attack	0 (0)	0 (0)	–
Ischaemic cardiac events	1 (0.1)	4 (0.4)	0.20

ATP, adenosine triphosphate; CFAE, continuous fractionated atrial electrogram; GP, ganglionated plexi; LIPV, left inferior pulmonary vein; LSPV, left superior pulmonary vein; PV, pulmonary vein; PVI, pulmonary vein isolation; RIPV, right inferior pulmonary vein; RSPV, right superior pulmonary vein; SVC, superior vena cava; TIA, transient ischaemic attack.
[a]Blood pressure of <90 mmHg or requiring vasopressor.

physicians in charge or the patients. All the clinical data were imputed by clinical research coordinators, clinicians, and/or physicians at the local centre. Experienced clinical research coordinators (see Supplementary material online, Appendix B) from the study management centre (Research Institute for Production Development, Kyoto, Japan) checked ~10% of the imputed data, viewing the hospital charts and records.

Statistical analysis

The details of the sample size calculation are described in Supplementary Methods. In brief, the treatment effect of the ATP-guided PVI on the primary endpoint was assumed to be 20% in relative risk reduction. Assuming the arrhythmia recurrence rate in patients with paroxysmal AF to be 32% and that in persistent/long-lasting AF to be 60%, and also assuming the proportion of paroxysmal and persistent/long-lasting AF in the study population to be 3 : 1, 1840 patients were required to achieve 90% power to detect a significant difference with a two-sided alpha level of 0.05. Considering possible drop out of the patients, differences between the expected and actual rates of the primary endpoint, and difference between the expected and actual distributions of AF type, at least 2000 patients were to be enrolled in the study.

Data are presented as values and percentages, mean value ± SD, or median with first quartile to third quartile [Q1–Q3]. Categorical variables were compared with the χ^2 test or Fisher's exact test. Continuous variables were compared using Student's *t*-test or Wilcoxon rank sum test based on their distributions. The event-free rate was estimated by the Kaplan–Meier method and differences were assessed by the log-rank test.

All analyses regarding the primary and secondary endpoints comparing ATP-guided PVI and conventional PVI groups were performed by the intention-to-treat manner. Patients who died during the follow-up period and those who were lost to follow-up were censored at the date of death or last contact.

Because of the programming error in randomization system to minimize the imbalance of allocation in each dichotomized age stratum, patients were oppositely allocated to the treatment group towards imbalance, which affected the distribution of other stratification variables, age-related baseline patient characteristics, and the intervention of the EAST-AF trial post ablation (*Table 1* and *Figure 1*). We noticed this randomization error after the completion of patient enrolment. However, we predetermined to use the Cox proportional hazard model to estimate the treatment effects of ATP-guided approach on the primary endpoint and secondary efficacy endpoint, adjusting for the stratification variables (age, gender, centre, and type of AF) and 90-day use of AAD post ablation. The adjusted hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (CIs) are shown.

All analyses were conducted by two physicians (T.T. and Te.K.) and a statistician (T.M.) with the use of SAS 9.4 and JMP 10.0.2 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA). All the statistical analyses were two-tailed, and probability values of <0.05 were considered statistically significant.

Results

Patients

Between November 2011 and March 2014, a total of 2120 patients were initially enrolled in the study. Patients were randomly assigned to either ATP-guided PVI or conventional PVI before ablation. Excluding seven patients who withdrew consent to participate in the study, 2113 patients were the population of the study (*Figure 1*). The baseline patient characteristics are summarized in *Table 1*. The average age was 63.3 ± 10.0 years and 1589 patients (74.7%) were male. A total of 1420 patients (67.2%) had paroxysmal AF. There were significant differences in age, gender, and age-related patient characteristics between the groups. Adherence to 24-h Holter monitoring or 2-week ambulatory electrocardiogram recording was 86.8% at 6 months and 75.6% at 12 months with no significant difference between the groups.

Procedural characteristics

All patients underwent AF ablation. The procedural characteristics are presented in *Table 2*. Extensive encircling PVI with the use of irrigation catheter and the three-dimensional mapping system was performed in vast majority of patients. Left atrium roof linear ablation was more frequently performed in the conventional PVI group. After a median duration of 43 [30–60] min from the initially successful PVI, spontaneous PV reconnections were observed in 892 PVs among 474 patients (42.6%) of the ATP group and in 774 PVs among 419 patients (41.9%) of the conventional group ($P = 0.72$). All but one reconnected PVs were re-isolated by additional energy applications of 5 [3–9] times in median.

Thereafter, the ATP tests were performed in 1087 patients (97.7%) of the ATP-guided PVI group. An adjusted dose of ATP (0.4 mg/kg body weight/one injection) was intravenously administered after a median duration of 57 [33–87] min from the initially successful PVI. Dormant conduction was unmasked in 489 PVs among 307 patients (27.6%). Additional RF energy applications of 5 [3–9] times for a duration of 2.5 [1.4–4.2] min in median completely eliminated dormant conduction in 302 patients (98.4%).

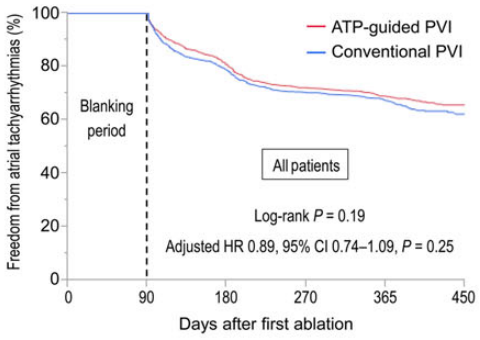
The procedural complications are summarized in *Table 2*. No patient died during the index hospitalization.

Primary outcome and secondary efficacy outcome

During the median follow-up of 384 [366–450] days, five patients died and six patients were lost to follow-up (*Figure 1*). At 1 year,

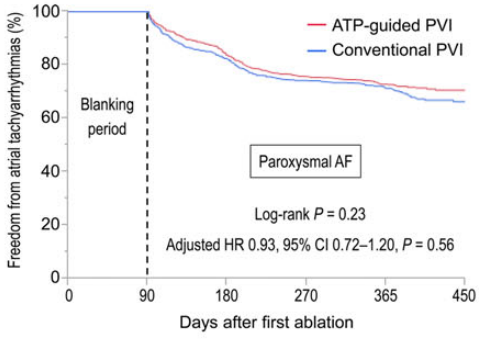
Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

A



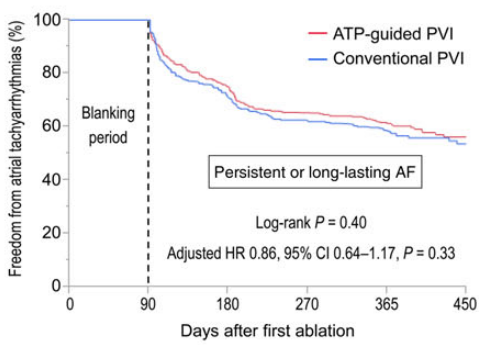
Interval (days)	0	90	180	270	365	450
ATP-guided PVI						
No. of events		0	214	308	346	360
No. of patients at risk	1112	1111	896	800	625	190
Event free rate (%)		100	80.7	72.2	68.7	65.8
Conventional PVI						
No. of events		0	213	296	327	348
No. of patients at risk	1001	999	787	701	533	155
Event free rate (%)		100	78.7	70.3	67.1	62.3

B



Interval (days)	0	90	180	270	365	450
ATP-guided PVI						
No. of events		0	120	178	200	207
No. of patients at risk	737	737	616	558	434	143
Event free rate (%)		100	83.7	75.8	72.8	70.7
Conventional PVI						
No. of events		0	121	176	194	210
No. of patients at risk	683	682	562	506	386	115
Event free rate (%)		100	82.3	74.2	71.4	66.4

C



Interval (days)	0	90	180	270	365	450
ATP-guided PVI						
No. of events		0	94	130	146	153
No. of patients at risk	375	374	281	244	191	47
Event free rate (%)		100	73.8	65.2	60.7	56.3
Conventional PVI						
No. of events		0	92	120	133	138
No. of patients at risk	318	317	225	196	147	40
Event free rate (%)		100	70.9	62.0	57.7	53.7

Figure 2 Event-free survival from the primary endpoint of recurrent atrial tachyarrhythmias with the blanking period of 90 days comparing adenosine triphosphate-guided pulmonary vein isolation and conventional pulmonary vein isolation, in all patients (*A*), in patients with paroxysmal atrial fibrillation (*B*), and in patients with persistent or long-lasting atrial fibrillation (*C*). AF, atrial fibrillation; ATP, adenosine triphosphate; CI, confidence interval; HR, hazard ratio; PVI, pulmonary vein isolation.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

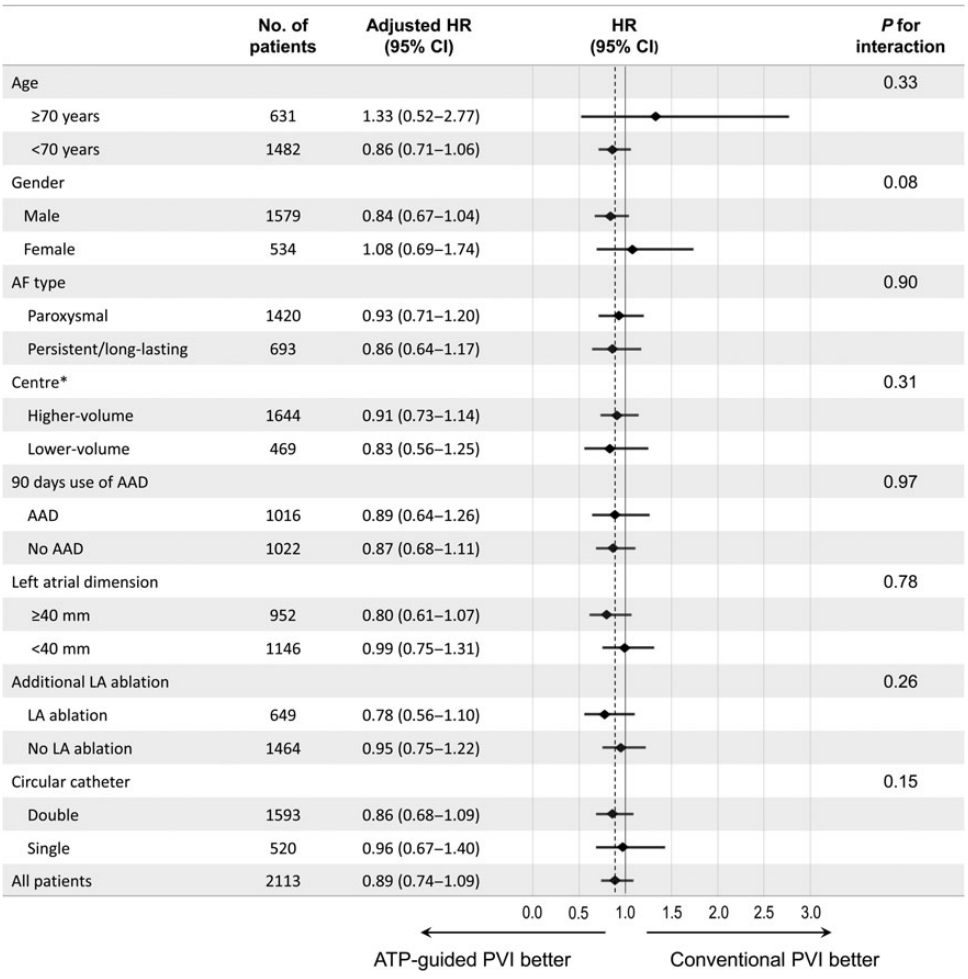


Figure 3 Primary endpoint in the prespecified or clinically relevant patient subgroups. AF, atrial fibrillation; AAD, antiarrhythmic drug; LA, left atrium; CI, confidence interval; HR, hazard ratio; PVI, pulmonary vein isolation. *Centres were divided according to the number of first-time atrial fibrillation ablation during the patient enrolment period (≥100 or <100 cases/year).

68.7% of patients in the ATP-guided PVI group and 67.1% of patients in the conventional PVI group were free from the primary endpoint of recurrent atrial tachyarrhythmias with the blanking period of 90 days post ablation. There was no significant difference in the event-free rates from the primary endpoint during follow-up between the groups (adjusted HR 0.89; 95% CI 0.74–1.09; $P = 0.25$; *Figure 2A*). Even when patients were divided into those with paroxysmal AF and those with persistent or long-lasting AF, no significant difference was observed in the event-free rates from the primary endpoint between the ATP-guided PVI and conventional PVI groups (*Figure 2B* and *C*). Also, even when patients were divided into those with and without LA ablation in addition to PVI, there was no significant difference in the event-free rates from the primary endpoint between the groups (see Supplementary material online, *Figure S1*). *Figure 3* shows the prespecified or clinically relevant subgroup analyses regarding the treatment effect of ATP-guided approach on the primary endpoint. There was no significant interaction across all the subgroups.

Also, there was no significant difference in the event-free rates from the secondary efficacy endpoint of repeat ablation for any atrial tachyarrhythmia between the ATP-guided PVI and conventional PVI groups regardless of AF type (*Figure 4*).

The event-free survival from the primary endpoint and secondary efficacy endpoint comparing patients with and without dormant PV conduction in the ATP group is shown in *Figure 5*. There was no significant difference between the groups.

Secondary safety outcomes

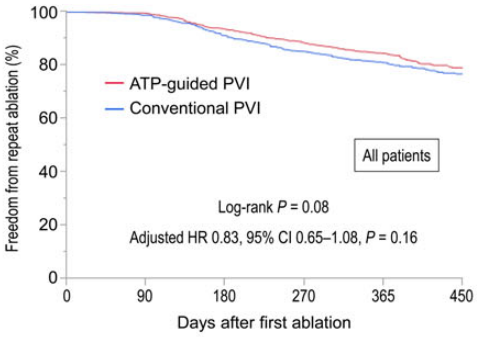
Although a modest increase in the total number of RF energy applications was observed in the ATP-guided group, there was no significant difference in the total procedure time, total fluoroscopy time, or total radiation dose between the two groups. In addition, there was no significant increase in any of the peri-procedural complications with ATP-guided ablation, including suspected side effect of ATP, such as asthma, vasospastic angina, and sustained hypotension (*Table 2*).

Discussion

The present study evaluated the efficacy of ATP-guided PVI when compared with conventional PVI in the RFCA for AF. In discordance

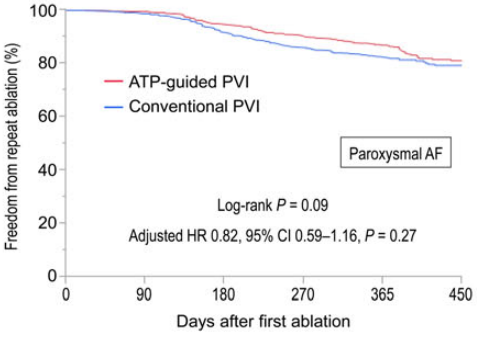
Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

A



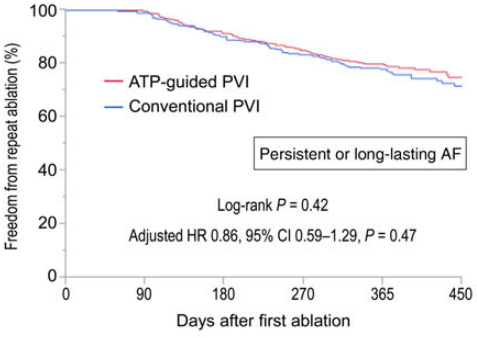
Interval (days)	0	90	180	270	365	450
ATP-guided PVI						
No. of events		5	71	128	174	199
No. of patients at risk	1112	1107	1039	981	721	239
Event free rate (%)		99.6	93.6	88.5	84.2	79.2
Conventional PVI						
No. of events		11	88	147	191	207
No. of patients at risk	1001	989	911	850	641	205
Event free rate (%)		98.9	91.2	85.3	80.7	76.9

B



Interval (days)	0	90	180	270	365	450
ATP-guided PVI						
No. of events		3	39	72	96	116
No. of patients at risk	737	735	697	664	523	178
Event free rate (%)		99.6	94.7	90.2	86.9	81.2
Conventional PVI						
No. of events		8	57	95	120	128
No. of patients at risk	683	675	626	587	443	140
Event free rate (%)		98.8	91.6	86.0	82.3	79.4

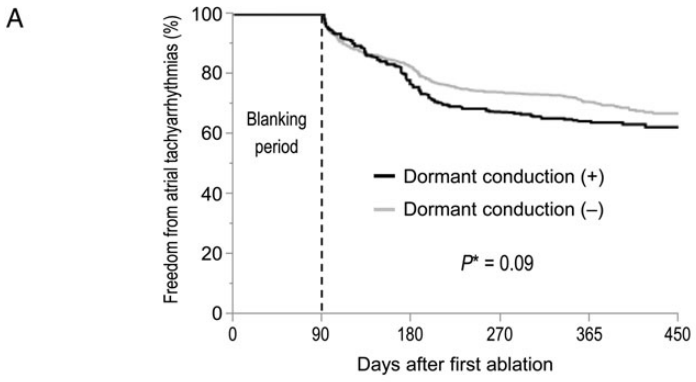
C



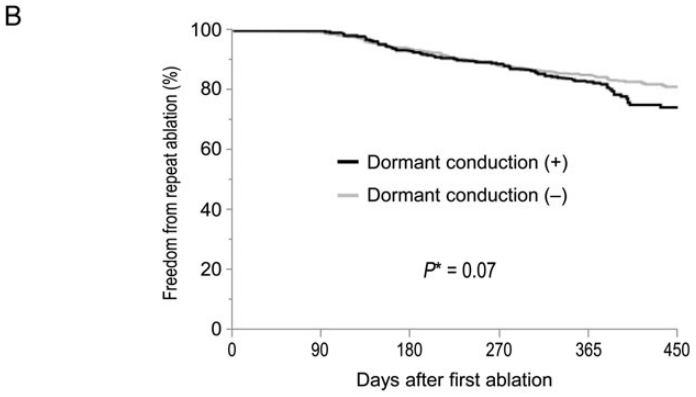
Interval (days)	0	90	180	270	365	450
ATP-guided PVI						
No. of events		2	32	56	78	83
No. of patients at risk	375	373	342	319	246	61
Event free rate (%)		99.5	91.2	85.0	79.0	75.0
Conventional PVI						
No. of events		3	31	52	71	79
No. of patients at risk	318	316	286	264	198	65
Event free rate (%)		99.1	90.2	83.5	77.3	71.7

Figure 4 Event-free survival from the secondary efficacy endpoint of repeat ablation for any atrial tachyarrhythmia comparing adenosine triphosphate-guided pulmonary vein isolation and conventional pulmonary vein isolation, in all patients (*A*), in patients with paroxysmal atrial fibrillation (*B*), and in patients with persistent or long-lasting atrial fibrillation (*C*). Abbreviations as in *Figure 2*.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016



Interval (days)	0	90	180	270	365	450
Dormant conduction (+)						
No. of events		0	72	100	110	112
No. of patients at risk	307	307	235	207	163	53
Event free rate (%)		100	76.5	67.3	64.0	62.4
Dormant conduction (–)						
No. of events		0	142	208	236	248
No. of patients at risk	805	805	662	595	462	137
Event free rate (%)		100	82.3	74.1	70.5	67.1



Interval (days)	0	90	180	270	365	450
Dormant conduction (+)						
No. of events		0	21	34	53	66
No. of patients at risk	307	307	286	273	211	70
Event free rate (%)		100	93.1	88.9	82.6	74.4
Dormant conduction (–)						
No. of events		5	50	94	121	133
No. of patients at risk	805	800	753	709	558	169
Event free rate (%)		99.4	93.5	88.3	84.8	81.3

Figure 5 Event-free survival from the primary endpoint (*A*) and secondary efficacy endpoint (*B*) comparing patients with and without dormant conduction in the adenosine triphosphate group. **P*-values were assessed by the score test of the Cox proportional hazards model using the sandwich variance estimator because the proportional hazard assumption was not verified.

with the previous studies,[8–10] there was no significant difference in the incidence of recurrent atrial tachyarrhythmias at 1 year after ablation between the two groups.

Dormant PV conduction induced by adenosine after initially successful PVI was first reported by Arentz *et al.*,[6] followed by Tritto *et al.*[7] Thereafter, three observational studies were reported, showing markedly reduced incidence of AF recurrence by ATP-guided PVI when compared with historical control, with relative risk reduction of 32.5–50%.[8–10] There may be several possible explanations for the discrepancy between the previous and present studies. The three observational studies showing the efficacy of ATP-guided PVI were all retrospective studies, inherently associated with selection bias of the patients. Also, because the comparisons were made with historical controls, the improved outcomes in patients treated with ATP-guided ablation could be explained by improved skill and increased experience of the operators. In addition, the ablation procedures were performed under fluoroscopic guidance in the era of non-irrigation catheter and immature three-dimensional mapping system, which might have led to incomplete lesion formation and many anatomical gaps in the ablation points. In the present study, irrigation catheters and highly developed three-dimensional mapping systems were used in most patients, ablating all-around the ipsilateral PVs

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

with minimal anatomical gaps. Also, deflectable sheath was used in >50% of patients to increase the contact force of the ablation catheter to the target tissue. Furthermore, most operators in the present study took a waiting time of >30 min to detect spontaneous PV reconnections, probably because waiting time had been reported to be essentially important to detect acute reconnection of PVs.[13] Actually, spontaneous PV reconnections were detected in >40% of patients in the present study. As a result, in contrast to the high rates of dormant conduction in the three previous studies ranging from 41 to 56% with an average of 49%, dormant conduction was observed in only 27.6% of patients assigned to the ATP-guided ablation in the present study.

Recently, the results of the ADVICE (ADenosine following pulmonary Vein Isolation to target dormant Conduction Elimination) study have been reported.[11] Among 534 patients with paroxysmal AF enrolled in the study, 284 (53%) had dormant conduction revealed by adenosine and were randomly assigned to additional adenosine-guided ablation or no-further ablation. The event-free rate from recurrent atrial tachyarrhythmias at 1 year after ablation with the blanking period of 3 months was 69.4 and 42.3%, respectively, with the relative risk reduction of 56% ($P < 0.001$). Although the investigators concluded that adenosine-guided approach should be considered for incorporation into routine clinical practice, we think that it largely depends on the frequency of dormant conduction, which is highly affected by the method of the ablation procedure. When PVI is performed by electrophysiological guidance with circular catheters placed within the PVs, then the rate of dormant conduction would be around 50%, as observed in the previous observational studies and the ADVICE trial. When PVI is performed by combination of anatomical and electrophysiological guidance with the use of three-dimensional mapping system and circular catheters, applying RF energies to the antrum of PVs with minimal anatomical gaps, and also when waiting time of >30 min is taken, then the rate of dormant conduction would be 20–30%, as observed in the present study. Furthermore, when the contact force-sensing catheter or the second-generation cryoballoon is optimally used, the rate of dormant conduction would be 5–15%.[14–16] Thus, the clinical impact of the adenosine or ATP test is becoming much smaller under the current advanced ablation technologies.

We should note that the style of randomization was different between the ADVICE trial and the present study. The ADVICE trial randomized 284 patients with dormant conduction to additional ablation or no-further ablation. Thus, although the ADVICE trial showed clear benefit of additional ablation on reducing recurrent atrial tachyarrhythmias in patients with dormant conduction, the clinical impact of the adenosine-guided approach on the entire patients undergoing PVI was unclear. In addition, a relatively small number of the randomized patients was a limitation of the study. On the other hand, the present study randomized 2113 patients undergoing AF ablation to either ATP-guided PVI or conventional PVI. Although ATP-guided PVI failed to show the advantage over conventional PVI, we cannot evaluate whether the additional ablation in patients with dormant conduction reduced recurrent atrial tachyarrhythmias.

Given the approximately two times longer waiting period in the present study when compared with the ADVICE trial, adenosine- or ATP-guided PVI can be considered as a time-saving approach to improve the clinical outcomes of AF ablation. However, the role of adenosine or ATP test in the current advanced ablation strategies with the use of contact force-sensing catheter or second-generation cryoballoon should be evaluated in the future large-scale clinical studies.

There are several important limitations in this study. First, as mentioned in the Method and Results sections, because of the programming error in randomization system to minimize the imbalance of allocation in each dichotomized age stratum, patients were oppositely allocated to the treatment group towards imbalance. However, we used the Cox proportional hazards model to estimate the treatment effects of ATP-guided PVI on the primary endpoint and secondary efficacy endpoint, adjusting for the stratification variables and 90-day use of AAD post ablation. Therefore, we think that the estimated effect of the ATP-guided approach on the primary endpoint was appropriately calculated. Indeed, we have confirmed that the difference in age did not affect the incidence of the primary endpoint (data not shown). Secondly, although patients received periodical assessment with the ambulatory electrogram recorder and 24-h Holter monitoring in the present study, there may have been undetected episodes of recurrent atrial tachyarrhythmias during follow-up. However, there was also no significant difference in the event-free survival from repeat ablation, which was usually recommended for the patients by the attending physicians based on the documentation of recurrent atrial arrhythmias and the patients' symptoms. Thirdly, LA roof linear ablation was more frequently performed in the conventional PVI group. Fourthly, although adenosine and ATP have a close biological relation, there may have been some pharmacological differences between adenosine and ATP in unmasking dormant PV conduction. Also, there may be some racial differences in the reaction of patients to adenosine or ATP. Finally, 0.4 mg/kg body weight (i.e. 20 mg for 50 kg body weight) of ATP might have been under-dosage to reveal dormant PV conduction. However, in the previous report by Kumagai *et al.*,[10] dormant conduction was unmasked in 51% of patients by fixed 10 mg dose of ATP, so we think the body weight-adjusted dose of ATP used in the present study was adequate to reveal dormant conduction.

In conclusion, we found no significant reduction in the incidence of recurrent atrial tachyarrhythmias after catheter-based ablation for AF with ATP-guided PVI when compared with conventional PVI.

Authors' contributions

Te.K., T.T., and T.M.: performed statistical analysis; S.S. and Ta.K.: handled funding and supervision; A.K., S.S., K.I., K.K., T.M., Y.N., T.O., To.K., I.M., F.M., T.W., M.M., M.N., H.F., T.Ni., Y.F., T.S., M.T., K.O., T.Ya., Y.E., K.S., T.No., K.M., T.H., Te.K., T.Yo., T.T., M.Y., K.N., H.S., and Y.H.: acquired the data; S.S., T.M., K.K., A.K., and Ta.K.: conceived and designed the research; S.S.: drafted the manuscript; A.K., K.I., K.K., T.M., Y.N., T.O., To.K., I.M., F.M., T.W., M.N., Y.H., M.I., M.H., K.F.K., W.S., S.K., and Ta.K.: made critical revision of the manuscript for key intellectual content.

Supplementary material

Supplementary material is available at *European Heart Journal* online.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Acknowledgements

We thank the clinical research coordinators of the study management centre (see Supplementary material online, Appendix B) for their invaluable help in checking and correcting the enormous data.

Funding

This study was supported by the Research Institute for Production Development in Kyoto, Japan.

Conflict of interest: none declared.

References

1. Cappato R, Calkins H, Chen SA, Davies W, Iesaka Y, Kalman J, Kim YH, Klein G, Natale A, Packer D, Skanes A, Ambrogi F, Biganzoli E. Updated worldwide survey on the methods, efficacy, and safety of catheter ablation for human atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2010;**3**:32–38.
2. Oral H, Knight BP, Tada H, Ozaydin M, Chugh A, Hassan S, Scharf C, Lai SW, Greenstein R, Pelosi F Jr, Strickberger SA, Morady F. Pulmonary vein isolation for paroxysmal and persistent atrial fibrillation. *Circulation* 2002;**105**:1077–1081.
3. Takahashi A, Iesaka Y, Takahashi Y, Takahashi R, Kobayashi K, Takagi K, Kuboyama O, Nishimori T, Takei H, Amemiya H, Fujiwara H, Hiraoka M. Electrical connections between pulmonary veins: implication for ostial ablation of pulmonary veins in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 2002;**105**:2998–3003.
4. Oral H, Chugh A, Yoshida K, Sarrazin JF, Kuhne M, Crawford T, Chalfoun N, Wells D, Boonyapisit W, Veerareddy S, Billakanty S, Wong WS, Good E, Jongnarangsin K, Pelosi F Jr, Bogun F, Morady F. A randomized assessment of the incremental role of ablation of complex fractionated atrial electrograms after antral pulmonary vein isolation for long-lasting persistent atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2009;**53**:782–789.
5. Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, Garrigue S, Le Mouroux A, Le Métayer P, Clémenty J. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med* 1998;**339**:659–666.
6. Arentz T, Macle L, Kalusche D, Hocini M, Jais P, Shah D, Haissaguerre M. 'Dormant' pulmonary vein conduction revealed by adenosine after ostial radiofrequency catheter ablation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004;**15**:1041–1047.
7. Tritto M, De Ponti R, Salerno-Uriarte JA, Spadacini G, Marazzi R, Moretti P, Lanzotti M. Adenosine restores atrio-venous conduction after apparently successful ostial isolation of the pulmonary veins. *Eur Heart J* 2004;**25**:2155–2163.
8. Hachiya H, Hirao K, Takahashi A, Nagata Y, Suzuki K, Maeda S, Sasaki T, Kawabata M, Isobe M, Iesaka Y. Clinical implications of reconnection between the left atrium and isolated pulmonary veins provoked by adenosine triphosphate after extensive encircling pulmonary vein isolation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2007;**18**:392–398.
9. Matsuo S, Yamane T, Date T, Inada K, Kanzaki Y, Tokuda M, Shibayama K, Miyanaga S, Miyazaki H, Sugimoto K, Mochizuki S. Reduction of AF recurrence after pulmonary vein isolation by eliminating ATP-induced transient venous reconduction. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2007;**18**:704–708.
10. Kumagai K, Naito S, Nakamura K, Hayashi T, Fukazawa R, Sato C, Takemura N, Miki Y, Fuke E, Tanaka Y, Hori Y, Goto K, Iwamoto J, Aonuma K, Oshima S, Taniguchi K. ATP-induced dormant pulmonary veins originating from the carina region after circumferential pulmonary vein isolation of atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2010;**21**:494–500.
11. Macle L, Khairy P, Weerasooriya R, Novak P, Verma A, Willems S, Arentz T, Deisenhofer I, Veenhuyzen G, Scavée C, Jais P, Puererfellner H, Levesque S, Andrade JG, Rivard L, Guerra PG, Dubuc M, Thibault B, Talajic M, Roy D, Nattel S, ADVICE trial investigators. Adenosine-guided pulmonary vein isolation for the treatment of paroxysmal atrial fibrillation: an international, multicentre, randomised superiority trial. *Lancet* 2015;**9994**:672–679.
12. Ouyang F, Bänsch D, Ernst S, Schaumann A, Hachiya H, Chen M, Chun J, Falk P, Khanedani A, Antz M, Kuck KH. Complete isolation of left atrium surrounding the pulmonary veins: new insights from the double-Lasso technique in paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 2004;**110**:2090–2096.
13. Yamane T, Matsuo S, Date T, Lellouche N, Hioki M, Narui R, Ito K, Tanigawa S, Yamashita S, Tokuda M, Yoshida H, Inada K, Shibayama K, Miyanaga S, Miyazaki H, Abe K, Sugimoto K, Yoshimura M. Repeated provocation of time- and ATP-induced early pulmonary vein reconnections after PVI: eliminating paroxysmal AF in a single procedure. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2011;**4**:601–608.
14. le Polain de Waroux JB, Weerasooriya R, Anvardeen K, Barbraud C, Marchandise S, De Meester C, Goesaert C, Reis I, Scavee C. Low contact force and force-time integral predict early recovery and dormant conduction revealed by adenosine after pulmonary vein isolation. *Europace* 2015;**17**:877–883.
15. Andrade JG, Monir G, Pollak SJ, Khairy P, Dubuc M, Roy D, Talajic M, Deyell M, Rivard L, Thibault B, Guerra PG, Nattel S, Macle L. Pulmonary vein isolation using 'contact force' ablation: the effect on dormant conduction and long-term freedom from recurrent atrial fibrillation—a prospective study. *Heart Rhythm* 2014;**11**:1919–1924.
16. Miyazaki S, Taniguchi H, Nakamura H, Hachiya H, Ichihara N, Araki M, Kuroi A, Takagi T, Iwasawa J, Hirao K, Iesaka Y. Adenosine triphosphate test after cryothermal pulmonary vein isolation: creating contiguous lesions is essential for eliminating dormant conduction. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2015 [Epub ahead of print].

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Corrigendum

doi:10.1093/eurheartj/ehv247
Online publish-ahead-of-print 10 June 2015

Corrigendum to: Incremental prognostic utility of coronary CT angiography for asymptomatic patients based upon extent and severity of coronary artery calcium: results from the COronary CT Angiography EvaluatioN For Clinical Outcomes InteRnationalMulticenter (CONFIRM) Study [Eur Heart J (2015) 36 (8): 501–508; doi:10.1093/eurheartj/ehu358].

The funding information was incorrectly supplied and should be updated as follows. The Publisher apologises for this mistake. This has also been updated online:

NRF/MSIP This research was supported by Leading Foreign Research Institute Recruitment Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science, ICT & Future Planning (MSIP) (2012027176)

Published on behalf of the European Society of Cardiology. All rights reserved. © The Author 2015. For permissions please email: journals.permissions@oup.com.

European Heart Journal (2016) **37**, 610–618
doi:10.1093/eurheartj/ehv501

FASTTRACK
ESC Hot Line

Atrial fibrillation

Efficacy of Antiarrhythmic Drugs Short-Term Use After Catheter Ablation for Atrial Fibrillation (EAST-AF) trial

Kazuaki Kaitani[1†], Koichi Inoue[2†], Atsushi Kobori[3], Yuko Nakazawa[4], Tomoya Ozawa[4], Toshiya Kurotobi[5], Itsuro Morishima[6], Fumiharu Miura[7], Tetsuya Watanabe[8], Masaharu Masuda[8], Masaki Naito[9], Hajime Fujimoto[9], Taku Nishida[10], Yoshio Furukawa[11], Takeshi Shirayama[12], Mariko Tanaka[13], Katsunori Okajima[14], Takenori Yao[15], Yasuyuki Egami[16], Kazuhiro Satomi[17], Takashi Noda[17], Koji Miyamoto[17], Tetsuya Haruna[18], Tetsuma Kawaji[19], Takashi Yoshizawa[19], Toshiaki Toyota[19], Mitsuhiko Yahata[19], Kentaro Nakai[19], Hiroaki Sugiyama[19], Yukei Higashi[15], Makoto Ito[4], Minoru Horie[4], Kengo F. Kusano[17], Wataru Shimizu[17,20], Shiro Kamakura[17], Takeshi Morimoto[21], Takeshi Kimura[19], and Satoshi Shizuta[19]*, on behalf of the EAST-AF Trial Investigators

[1]Division of Cardiology, Tenri Hospital, Tenri, Japan; [2]Cardiovascular Center, Sakurabashi Watanabe Hospital, Osaka, Japan; [3]Division of Cardiology, Kobe City Medical Center General Hospital, Kobe, Japan; [4]Heart Rhythm Center, Department of Cardiovascular and Respiratory Medicine, Shiga University of Medical Science, Otsu, Japan; [5]Cardiovascular Center, Shiroyama Hospital, Habikino City, Japan; [6]Department of Cardiology, Ogaki Municipal Hospital, Ogaki, Japan; [7]Department of Cardiology, Hiroshima City Hiroshima Citizens Hospital, Hiroshima, Japan; [8]Cardiovascular Center, Kansai Rosai Hospital, Amagasaki, Japan; [9]Department of Cardiovascular Medicine, Nara Prefecture Western Medical Center, Nara, Japan; [10]First Department of Internal Medicine, Nara Medical University, Nara, Japan; [11]Division of Cardiology, Osaka General Medical Center, Osaka, Japan; [12]Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan; [13]Department of Cardiology, Japanese Red Cross Society Wakayama Medical Center, Wakayama, Japan; [14]Department of Cardiology, Himeji Cardiovascular Center, Himeji, Japan; [15]Department of Cardiovascular Medicine, Okamura Memorial Hospital, Shizuoka, Japan; [16]Division of Cardiology, Osaka Rosai Hospital, Osaka, Japan; [17]Division of Arrhythmia and Electrophysiology, Department of Cardiovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan; [18]Cardiovascular Center, Tazuke Medical Research Institute Kitano Hospital, Osaka, Japan; [19]Department of Cardiovascular Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine, 54 Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan; [20]Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School, Tokyo, Japan; and [21]Department of Clinical Epidemiology, Hyogo College of Medicine, Hyogo, Japan

Received 28 July 2015; revised 19 August 2015; accepted 29 August 2015; online publish-ahead-of-print 28 September 2015

See page 619 for the editorial comment on this article (doi:10.1093/eurheartj/ehv536)

Aims Substantial portion of early arrhythmia recurrence after catheter ablation for atrial fibrillation (AF) is considered to be due to irritability in left atrium (LA) from the ablation procedure. We sought to evaluate whether 90-day use of anti-arrhythmic drug (AAD) following AF ablation could reduce the incidence of early arrhythmia recurrence and thereby promote reverse remodelling of LA, leading to improved long-term clinical outcomes.

Methods and results A total of 2038 patients who had undergone radiofrequency catheter ablation for paroxysmal, persistent, or long-lasting AF were randomly assigned to either 90-day use of Vaughan Williams class I or III AAD (1016 patients) or control (1022 patients) group. The primary endpoint was recurrent atrial tachyarrhythmias lasting for >30 s or those requiring repeat ablation, hospital admission, or usage of class I or III AAD at 1 year, following the treatment period of 90 days post ablation. Patients assigned to AAD were associated with significantly higher event-free rate from recurrent atrial tachyarrhythmias when compared with the control group during the treatment period of 90 days [59.0 and 52.1%, respectively; adjusted hazard ratio (HR) 0.84; 95% confidence interval (CI) 0.73–0.96; $P = 0.01$]. However, there was no

* Corresponding author. Tel: +81 75 7514254, Fax: +81 75 7513289, Email: shizuta@kuhp.kyoto-u.ac.jp

† These authors contributed equally.

Published on behalf of the European Society of Cardiology. All rights reserved. © The Author 2015. For permissions please email: journals.permissions@oup.com.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

significant difference in the 1-year event-free rates from the primary endpoint between the groups (69.5 and 67.8%, respectively; adjusted HR 0.93; 95% CI 0.79–1.09; $P = 0.38$).

Conclusion Short-term use of AAD for 90 days following AF ablation reduced the incidence of recurrent atrial tachyarrhythmias during the treatment period, but it did not lead to improved clinical outcomes at the later phase.

Keywords Antiarrhythmic drug • Atrial fibrillation • Catheter ablation • Reverse remodelling

Introduction

Catheter ablation is increasingly performed as a curative therapy for atrial fibrillation (AF), but the high rate of arrhythmia recurrence is a limitation of the procedure.[1–4] Although the major cause of recurrent atrial tachyarrhythmias following AF ablation is considered to be electrical reconnection of pulmonary veins (PVs), a sizable portion of early recurrence is considered to be due to irritability in left atrium (LA) from the ablation procedure. Indeed, previous studies have shown that ~30% of patients with early recurrence had no further recurrent arrhythmias following the first couple of months post ablation.[5,6] At the same time, early arrhythmia recurrence has been shown to be a strong predictor of late arrhythmia recurrence.[6–8] Thus, short-term use of antiarrhythmic drugs (AADs) after ablation has been proposed as adjunctive approach not only to prevent early arrhythmia recurrence, but also to improve long-term outcomes by promoting reverse remodelling of LA through maintenance of sinus rhythm during the first several months after ablation.[7–10] However, previous randomized controlled trials that enrolled only 100–200 patients lacked statistical power to determine the effect of short-term AAD therapy on suppression of late arrhythmia recurrence.[7–10]

Accordingly, we conducted a large-scale multicentre prospective randomized controlled trial, evaluating the efficacy of 90-day use of AAD after catheter ablation for AF.

Methods

The Efficacy of Antiarrhythmic Drugs Short-Term Use After Catheter Ablation for Atrial Fibrillation (EAST-AF) trial is a physician-initiated, non-company-sponsored, multicentre prospective randomized controlled trial, comparing 90-day use of AAD and control in patients who had undergone successful catheter ablation for AF. This study was a component of the 2 × 2 factorial randomized controlled trial, Kansai Plus Atrial Fibrillation trial. The other component was the UNmasking Dormant Electrical Reconduction by Adenosine TriPhosphate (UNDER-ATP) trial, evaluating the efficacy of adenosine triphosphate (ATP)-guided PV isolation (PVI) for AF. The trial was registered with ClinicalTrials.gov (NCT01477983). The study protocol was approved by the Institutional Review Board at each participating centre. Written informed consent was obtained from all the study patients.

Study population

Patients were recruited from 19 cardiovascular centres mostly located in the Kansai region of Japan (Supplementary material online, Appendix S1). Patients who were 21–79 years old undergoing first-time radiofrequency catheter ablation for paroxysmal, persistent, or long-lasting AF were eligible for the study. Exclusion criteria were contraindication or intolerance to ATP or Vaughan Williams class I or III AADs including severe asthma, severe vasospastic angina and substantial bradycardia, renal insufficiency (serum creatinine ≥2.0 mg/dL or on haemodialysis), New York Heart Association class IV heart failure, left ventricular ejection fraction <40%, LA diameter >55 mm, very long-lasting (≥5 years) AF, intolerance for optimal anticoagulation, myocardial infarction within the past 6 months, prior or planned open heart surgery, severe valvular heart disease, inability to be followed at the outpatient clinic for 1 year, unwillingness to sign the consent form for participation, and patients whom the attending physician considered inappropriate to enrol in the study. Between November 2011 and March 2014, a total of 3722 patients were screened. Among 2120 patients initially enrolled in the trial, 76 patients were excluded after the ablation procedure because of severe procedural complications, substantial bradycardia, or some other reasons (*Figure 1*). Randomization was performed immediately after the ablation procedure, which was stratified by age (<70 or ≥70 years), gender, centre, type of AF, and preceding ablation procedure (ATP-guided or conventional PVI).

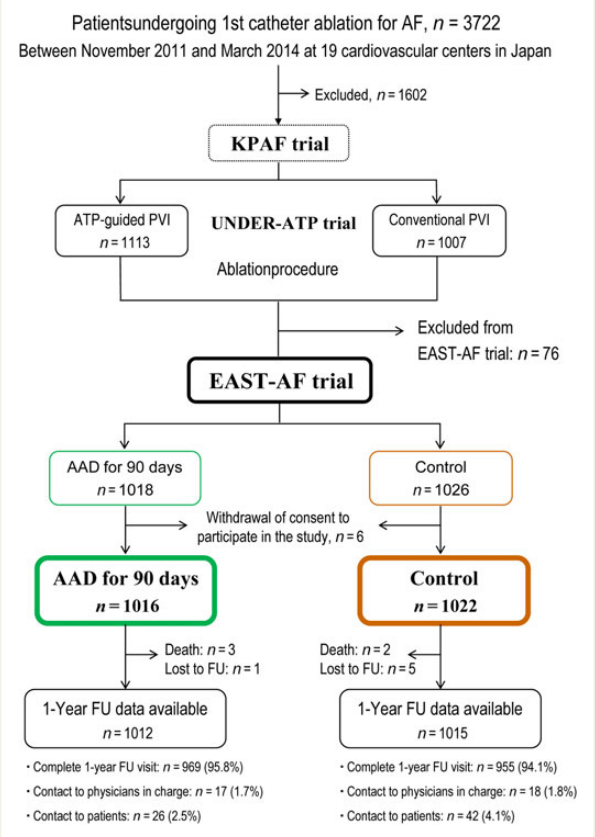


Figure 1 Study flow of the EAST-AF trial. AAD, antiarrhythmic drug; ATP, adenosine triphosphate; FU, follow-up; PVI, pulmonary vein isolation.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Ablation procedure

Vaughan Williams class I or III AADs were usually discontinued 5 half-lives before the ablation procedure except amiodarone, which was encouraged to be discontinued at least 1 month before the procedure. The details of the ablation procedure were described in Supplementary material online. In brief, most patients underwent extensive encircling PVI, broadly isolating ipsilateral superior and inferior PVs simultaneously, with the use of irrigation catheter and a three-dimensional mapping system (CARTO, Biosense-Webster, Diamond Bar, CA, USA, or Ensite NavX, St Jude Medical, St Paul, MN, USA). The electrophysiological endpoint of PVI was bidirectional conduction block between LA and PVs. Approximately half of the patients underwent ATP-guided PVI (*Table 1*). Whether to perform additional ablation including tricuspid valve isthmus ablation, continuous fractionated atrial electrogram (CFAE) ablation, and LA linear ablation was left to the discretion of the operator and/or the attending physician.

Antiarrhythmic drug therapy

In patients assigned to 90-day use of AADs, Vaughan Williams class I or III AAD was started on the day of the ablation procedure. The choice and dosage of AADs were to be determined according to the Japanese AF guidelines[11,12] and the reimbursement approval in Japan. The initial doses or standard maintenance doses of AADs approved by the reimbursement were 150 mg/day for pilsicainide, 100 mg/day for flecainide, 300 mg/day for cibenzoline, 450 mg/day for propafenone, 300 mg/day for disopyramide, 40 mg/day for aprindine, 100 mg/day for bepridil, 200 mg/day for amiodarone, and 80 mg/day for sotalol. Usage of amiodarone for AF was approved only in patients with heart failure, reduced left ventricular function, and/or hypertrophic cardiomyopathy. Sotalol was approved only for ventricular tachyarrhythmias. Neither dronedarone nor dofetilide was commercially available. For safety reason, the actual choice and dosage of the AADs were left to the discretion of the attending physician.

Definitions and endpoints

Paroxysmal AF was defined as that terminates spontaneously or under AADs within 7 days of onset. Persistent AF was defined as that lasting for more than 7 days up to 1 year and long-lasting AF was defined as that lasting for more than 1 year. Higher- and lower-volume centres were defined as those performing first-time ablation for AF of $\geq$100 cases/year and $<$100 cases/year, respectively, during the patient enrolment period. The primary endpoint of the study was recurrent atrial tachyarrhythmias at 1 year excluding the events during the treatment (blanking) period of 90 days post ablation. The definitions of recurrent atrial tachyarrhythmias were those lasting for $>$30 s or requiring repeat ablation, hospital admission, or usage of Vaughan Williams class I or III AADs. Repeat ablation during the blanking period of 90 days was strongly discouraged. When repeat ablation was performed within 90 days post ablation, the patient was considered as having recurrent atrial tachyarrhythmias within 90 days and also having those at Day 91. The secondary efficacy endpoints were recurrent atrial tachyarrhythmias during the treatment period of 90 days and repeat ablation for any atrial tachyarrhythmia at 1 year. In patients assigned to the AAD group, usage of class I or III AAD during the treatment period of 90 days was not considered as the clinical event. The secondary safety endpoints were the side effects of AADs.

Follow-up

Patients were scheduled to receive periodical follow-up at the outpatient clinic of the centres in which the index ablation was performed at 3, 6, and 12 months. The time window for each visit was 77–105 days for 3 months, 150–240 days for 6 months, and 330–450 days for 12 months. Twelve-lead electrocardiogram was obtained at every visit. One-channel electrocardiograms were recorded for a duration of 2 weeks, twice daily, and when patient had symptoms, at hospital discharge, 6 months, and 12 months with the use of ambulatory electrocardiogram recorder (HCG-801, OMRON HEALTHCARE Co., Ltd). Twenty-four hour Holter monitoring was performed at 6 and 12 months. Ambulatory electrocardiograms were read by cardiologists at the core laboratory who were unaware of the treatment assignments. Records of Holter monitoring were read by clinicians at the local centre. When patients became unable to visit the outpatient clinic of the local centre, the follow-up data were obtained by contacting the physicians in-charge or the patients. All the clinical data were imputed by clinical research coordinators, clinicians, and/or attending physicians at the local centre. Experienced clinical research coordinators (Supplementary material online, Appendix S2) from the study management centre (Research Institute for Production Development, Kyoto, Japan) checked $\sim$10% of the imputed data, viewing the hospital charts and records.

Statistical analysis

The details of the sample size calculation are described in Supplementary material online. In brief, the treatment effect of the 90-day use of AAD on the primary endpoint was assumed to be 20% in relative risk reduction. Assuming the arrhythmia recurrence rate in patients with paroxysmal AF to be 32% and that in patients with persistent or long-lasting AF to be 60%, and also assuming the proportion of paroxysmal and persistent/long-lasting AF in the study population to be 3:1, 1840 patients were required to achieve 90% power to detect a significant difference with a two-sided alpha level of 0.05. Considering possible drop out of the patients, differences between the expected and actual rates of the primary endpoint, and differences between the expected and actual distributions of AF type, at least 2000 patients were to be enrolled in the study.

Data are presented as values and percentages, mean value $\pm$ SD, or median with first to third quartile (Q1–Q3). Categorical variables were compared with the χ^2 test or Fisher's exact test. Continuous variables were compared using the Student's *t*-test or Wilcoxon rank-sum test on the basis of their distributions. Event-free rate was estimated by the Kaplan–Meier method, and differences were assessed by the log-rank test.

All analyses regarding the primary and secondary endpoints comparing ATP-guided PVI and conventional PVI groups were performed by the intention-to-treat manner. Because the time window for 1-year follow-up was defined as 330–450 days in the study protocol, the clinical events of up to 450 days were included in the analyses. Patients who died during follow-up and those who were lost to follow-up were censored at the date of death or last contact.

Because of the programming error in the randomization system to minimize the imbalance of allocation in each dichotomized age stratum, patients were oppositely allocated to the treatment group towards imbalance, which affected the distribution of other stratification variables and age-related baseline patient characteristics (*Table 1*). However, we predetermined to use the Cox proportional hazard model to estimate the treatment effects of the 90-day use of AAD on the primary endpoint and secondary efficacy endpoints, adjusting for the stratification variables (age, gender, centre, type of AF, and ATP-guided PVI). The adjusted hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (CIs) are presented.

All analyses were conducted by two physicians (T.T and K.N.) and a statistician (T.M.) with the use of SAS 9.4 and JMP 10.0.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). All the statistical analyses were two-tailed, and probability values of less than 0.05 were considered statistically significant.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Table 1 Baseline patient characteristics

	AAD (*N* = 1016)	Control (*N* = 1022)	*P*-value
Age (years)	65.9 ± 9.6	60.7 ± 9.6	<0.001
Male (%)	741 (72.9)	789 (77.2)	0.03
Body weight (kg)	64.7 ± 11.5	67.4 ± 12.7	<0.001
Body mass index (kg/m^2)	24.2 ± 3.5	23.9 ± 3.3	0.049
History of AF, months	24.7 [8.8–62.3]	26.1 [9.3–62.9]	0.41
Type of AF			
Paroxysmal (%)	692 (68.1)	684 (66.9)	0.48
Persistent (%)	232 (22.8)	229 (22.4)	
Long-lasting (%)	92 (9.1)	109 (10.7)	
Higher-volume centres (%)[a]	795 (78.3)	796 (77.9)	0.84
$CHADS_2$ score (%)			
0, 1	711 (70.0)	793 (77.6)	<0.001
2	192 (18.9)	153 (15.0)	
≥3	113 (11.1)	76 (7.4)	
Hypertension (%)	561 (55.2)	526 (51.5)	0.09
Diabetes mellitus (%)	154 (15.2)	117 (11.5)	0.01
History of heart failure (%)	88 (8.7)	72 (7.1)	0.18
Left ventricular ejection fraction (%)	64.5 ± 7.5	64.2 ± 7.8	0.42
Left atrial dimension (mm)	38.9 ± 6.2	39.0 ± 6.2	0.77
Moderate valvular heart disease (%)	86 (8.5)	50 (4.9)	0.001
Prior stroke or TIA (%)	81 (8.0)	86 (8.4)	0.72
Prior myocardial infarction (%)	23 (2.3)	12 (1.2)	0.06
Creatinine clearance (%)	80.1 ± 26.6	90.1 ± 28.9	<0.001
Number of prior ineffective AADs (%)			
0	422 (41.8)	406 (39.8)	0.07
1	383 (37.9)	441 (43.2)	–
2	145 (14.4)	125 (12.2)	–
≥3	60 (5.9)	49 (4.8)	–
Ablation procedure			
ATP-guided PVI (%)	456 (44.9)	621 (60.8)	<0.001
Additional ablation (%)			
CFAE ablation (%)	99 (9.7)	128 (12.5)	0.046
LA roof line (%)	207 (20.4)	187 (18.3)	0.24
Mitral isthmus line (%)	73 (7.2)	74 (7.2)	0.96
Tricuspid valve isthmus ablation (%)	755 (74.3)	742 (72.6)	0.38
SVC isolation (%)	155 (15.3)	137 (13.4)	0.23
Medication at hospital discharge			
Oral anticoagulant	1012 (99.6)	1020 (99.8)	0.41
Warfarin (%)	471 (46.5)	509 (49.9)	0.18
Dabigatran (%)	327 (32.3)	325 (31.9)	–
Xa inhibitor (%)	214 (21.1)	186 (18.2)	–
Antiplatelet drug (%)	117 (11.5)	94 (9.2)	0.09
Proton pump inhibitors (%)	805 (79.2)	833 (81.5)	0.20
Statin (%)	239 (23.5)	224 (21.9)	0.39
ACEI/ARB (%)	401 (39.5)	365 (35.7)	0.08
Ca antagonist (%)	352 (34.7)	310 (30.3)	0.04
Beta-blockers (%)	368 (36.2)	361 (35.3)	0.67
Vaughan Williams class I or III AAD (%)	968 (95.3)	57 (5.6)	–

AAD, antiarrhythmic drug; ACEI, angiotensin-converting enzyme-inhibitor; AF, atrial fibrillation; ARB, angiotensin receptor blockade; ATP, adenosine triphosphate; CFAE, continuous fractionated atrial electrogram; LA, left atrium; PVI, pulmonary vein isolation; SVC, superior vena cava; TIA, transient ischaemic attack.
[a]Centres undergoing first-time catheter ablation for AF of ≥100 cases/year during the patient enrolment period.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Results

Patients

Between November 2011 and March 2014, a total of 2120 patients were initially enrolled in the study. After the ablation procedure, 76 patients were excluded because of severe procedural complications ($N = 23$), substantial bradycardia ($N = 13$), withdrawal of consent ($N = 7$), or some other reasons ($N = 33$). Randomization was performed immediately after the ablation procedure. Excluding 6 patients who withdrew consent to participate in the study during follow-up, 2038 patients were the population of the study (*Figure 1*). The baseline patient characteristics are shown in *Table 1*. Mean age was 63.3 ± 10.0 years, and 1530 patients (75.1%) were male. A total of 1376 patients (67.5%) had paroxysmal AF. There were significant differences in age, gender, and age-related patient characteristics between the groups. Also, patients in the control group more often had received ATP-guided PVI.

Adherence to 2-week electrocardiogram recording at hospital discharge, 6 months, and 12 months was 90.8, 73.6, and 61.2%, respectively, with no significant difference between the groups. Compliance with 24 h Holter monitoring at 6 and 12 months was 66.6 and 55.4%, respectively. Compliance with either 2-week electrocardiogram recording or 24 h Holter monitoring at 6 and 12 months was 87.4 and 76.1%, respectively, with no significant difference between the groups.

During the index hospitalization, 48 patients (4.7%) in the AAD group discontinued or did not start the AAD due to suspected side effects or substantial bradycardia identified for the first time after randomization. Fifty-seven patients (5.6%) in the control group started AADs because of highly symptomatic recurrent atrial tachyarrhythmias.

The details of the drugs in the AAD group are shown in *Table 2*. Most frequently used AADs were pilsicainide and flecainide, followed by bepridil and cibenzoline.

Table 2 Antiarrhythmic drugs used in the antiarrhythmic drug group

Antiarrhythmic drugs	No. of patients (%)	Average daily dosage (mg)
Class I		
Pilsicainide	242 (25.0)	93.5 ± 31.5
Flecainide	221 (22.8)	104.1 ± 28.4
Cibenzoline	149 (15.4)	153.4 ± 69.2
Propafenone	41 (4.2)	325.6 ± 57.1
Disopyramide	31 (3.2)	279.6 ± 52.4
Aprindine	31 (3.2)	32.3 ± 11.5
Class III		
Bepridil	191 (19.7)	98.9 ± 24.4
Amiodarone	50 (5.2)	136.7 ± 44.2
Sotalol	8 (0.8)	110.0 ± 41.4

Primary and secondary efficacy outcomes

At 1 year, five patients died and six patients were lost to follow-up (*Figure 1*). During the treatment period of 90 days, patients assigned to the AAD group were associated with significantly higher event-free survival from recurrent atrial tachyarrhythmias when compared with the control group (59.0 vs. 52.1%, respectively; adjusted HR 0.84; 95% CI 0.73–0.96; $P = 0.01$) (*Figure 2A*). However, after discontinuation of the AADs at 90 days, there was no significant difference in the event-free rates from the primary endpoint of recurrent atrial tachyarrhythmias between the two groups (adjusted HR 0.93; 95% CI 0.79–1.09; $P = 0.38$). The 1-year event-free rate from the primary endpoint was 69.5% in the AAD group and 67.8% in the control group (*Figure 2B*). Even when patients were divided into those with paroxysmal AF and those with persistent or long-lasting AF, no significant difference was observed in the event-free rates from the primary endpoint between the AAD and control groups (Supplementary material online, *Figure S1*). The pre-specified subgroup analyses regarding the treatment effect of the 90-day use of AAD on the primary endpoint are shown in *Figure 3*. There was no significant interaction in all the subgroups.

Also, there was no significant difference between the groups in the event-free rates from repeat ablation for any atrial tachyarrhythmia during follow-up (83.4 and 82.4%, respectively; adjusted HR 0.91; 95% CI 0.74–1.13; $P = 0.39$) (*Figure 2C*).

Figure 4 shows the event-free survival from the primary endpoint of recurrent atrial tachyarrhythmias comparing patients with and without early arrhythmia recurrence within 90 days. Patients with early arrhythmia recurrence were associated with much lower event-free survival from late arrhythmia recurrence.

Adverse clinical outcomes

During the treatment period of 90 days, 77 patients (7.6%) in the AAD group and 146 patients (14.3%) in the control group had a crossed-over treatment. In the AAD group, 41 patients (4.1%) had side effects of the AADs requiring change or discontinuation of the drugs, although there was no severe adverse event due to the AADs. During the median follow-up of 387 (366–450) days, there were 5 deaths (0.5%), including 1 sudden cardiac death (0.1%) in the control group. A total of 113 patients (11.1%) in the AAD group and 117 patients (11.5%) in the control group received cardioversion ($P = 0.82$) (*Table 3*).

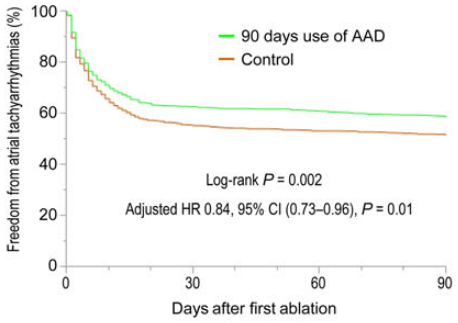
Discussion

The present randomized controlled trial evaluated the efficacy of 90-day use of AAD after catheter ablation for AF. Although a significant reduction of early arrhythmia recurrence during the treatment period of 90 days was observed, it did not lead to improved clinical outcomes at the later phase following discontinuation of the drug. Nevertheless, early arrhythmia recurrence was strongly associated with late arrhythmia recurrence.

The results of this study are in accordance with the previous small randomized controlled trials. In the Antiarrhythmics After Ablation of Atrial Fibrillation (5A Study), 110 patients undergoing catheter ablation for paroxysmal AF were randomly assigned to 6-week use of AAD or no-treatment. Despite significant reduction in arrhythmia recurrence within 6 weeks, there was no difference in the arrhythmia-free rates at 6 months.[7,8] Also in the AMIOdarone After CATheter Ablation for Atrial Fibrillation (AMIO-CAT) trial,

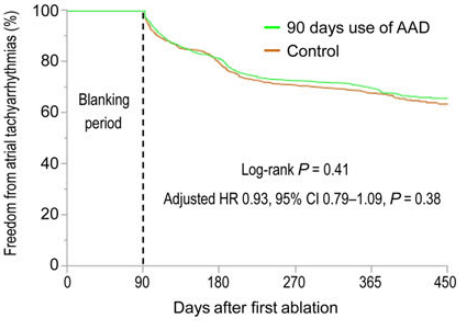
Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

A



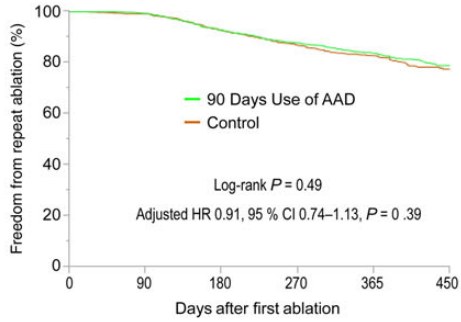
Interval	0	30	60	90
90 days use of AAD				
No. of events		377	395	417
No. of patients at risk	1016	640	623	600
Event free rate (%)		62.9	61.1	59.0
Control				
No. of events		454	475	490
No. of patients at risk	1022	569	549	532
Event free rate (%)		55.6	53.5	52.1

B



Interval	0	90	180	270	365	450
90 days use of AAD						
No. of events		0	190	276	308	325
No. of patients at risk	1016	1016	828	737	570	163
Event free rate (%)		100	81.3	72.8	69.5	65.9
Control						
No. of events		0	210	295	327	344
No. of patients at risk	1022	1021	810	723	557	165
Event free rate (%)		100	79.4	71.0	67.8	63.7

C



Interval	0	90	180	270	365	450
90 days use of AAD						
No. of events		7	73	123	167	185
No. of patients at risk	1016	1009	942	890	680	204
Event free rate (%)		99.3	92.8	87.9	83.4	79.0
Control						
No. of events		7	74	134	178	200
No. of patients at risk	1022	1014	945	884	685	217
Event free rate (%)		99.3	92.7	86.8	82.4	77.7

Figure 2 (*A*) Event-free survival from recurrent atrial tachyarrhythmias during the treatment period of 90 days. (*B*) Event-free survival from the primary endpoint of recurrent atrial tachyarrhythmias following the treatment (blanking) period of 90 days. (*C*) Event-free survival from repeat ablation for any atrial tachyarrhythmia. AAD, antiarrhythmic drug; CI, confidence interval; HR, hazard ratio.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

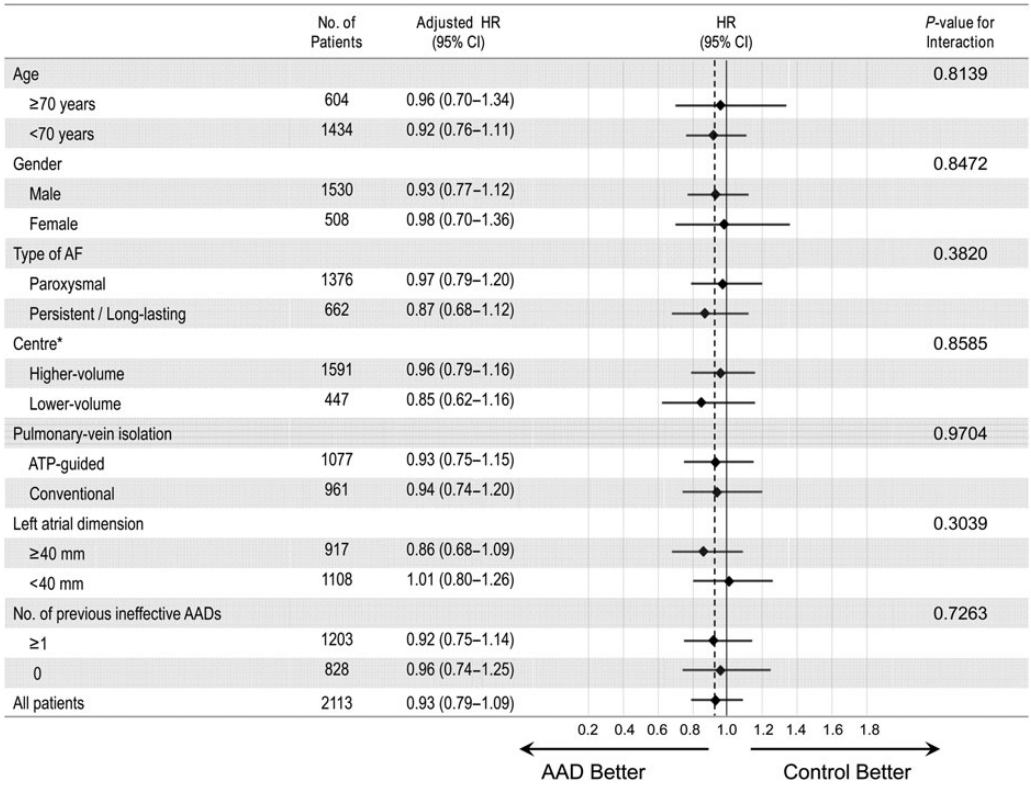
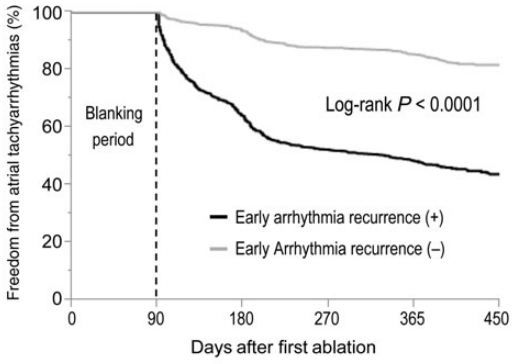


Figure 3 Primary endpoint in the pre-specified patient subgroups. AAD, antiarrhythmic drug; AF, atrial fibrillation; CI, confidence interval; HR, hazard ratio. *Centres were divided according to the number of first-time AF ablation during the patient enrolment period (≥100 or <100 cases/year).



Interval (Days)	0	90	180	270	365	450
Early arrhythmia recurrence (+)						
No. of events		0	326	431	468	485
No. of patients at risk	907	906	578	469	353	113
Event free rate (%)		100	63.9	52.2	47.9	43.9
Early arrhythmia recurrence (–)						
No. of events		0	74	140	167	184
No. of patients at risk	1131	1131	1058	991	774	215
Event free rate (%)		100	93.5	87.6	85.1	81.7

Figure 4 Event-free survival from the primary endpoint comparing patients with and without early arrhythmia recurrence within 90 days.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Table 3 Adverse clinical outcomes during follow-up

	Antiarrhythmic drug ($N = 1016$)	Control ($N = 1022$)
Death (%)	3 (0.3)	2 (0.2)
Cardiovascular death (%)	0 (0)	1 (0.1)
Ischaemic stroke/TIA (%)	3 (0.3)	1 (0.1)
Systemic embolism (%)	0 (0)	1 (0.1)
Intracranial haemorrhage (%)	4 (0.4)	2 (0.2)
Myocardial infarction (%)	1 (0.1)	1 (0.1)
Hospitalization for heart failure (%)	4 (0.4)	4 (0.4)
Cardioversion	113 (11.1)	117 (11.5)
≤90 days	85 (8.4)	104 (10.2)
>90 days	28 (2.7)	13 (1.3)
Side effects of AADs[a] (%)	41 (4.1)	–
Bradycardia	13 (1.3)	–
Ventricular tachyarrhythmia (%)	0 (0)	–
Hepatic transaminase increase (%)	3 (0.3)	–
Skin rash (%)	2 (0.2)	–
Others/unclarified (%)	23 (2.3)	–

TIA, transient ischaemic attack.
[a]Requiring change or discontinuation of the AAD therapy during the treatment period of 90 days.

212 patients undergoing catheter ablation for paroxysmal or persistent AF were randomized to 8-week administration of amiodarone or placebo. Again, acute effect of amiodarone was observed, but discontinuation of the drug led to similar arrhythmia-free rates at 6 months.[9] In both studies, early arrhythmia recurrence during the treatment period was a strong predictor of late arrhythmia recurrence.

The theoretical background of the hypothesis that suppressing early arrhythmia recurrence with AAD for a couple of months after catheter ablation for AF may promote reverse electrical remodelling of LA and thereby suppress late arrhythmia recurrence was derived from the study by Wijffels *et al.* in 1995.[13] They reported the progressive shortening of effective refractory period of atrium by induction of artificial AF in goats, proposing the concept of 'Atrial fibrillation begets atrial fibrillation'. Thereafter, Rostock *et al.*[14] reported this electrical remodelling of atrium in human subjects undergoing catheter ablation for left-sided accessory pathway. They showed that progressive shortening of effective refractory period by artificial AF was pronounced in PVs rather than atrium. Conversely, we hypothesized that maintenance of sinus rhythm with AADs in combination with catheter ablation may promote reverse electrical remodelling of the atrium and stabilize the heart towards stable sinus rhythm without arrhythmia recurrence. Unfortunately, however, the consistent results of the previous and present studies strongly suggest that LA and PVs in patients undergoing catheter ablation for AF are mostly so degenerated and arrhythmogenic to expect the reverse electrical remodelling within a duration of several months.

Although long-term use of AADs after AF ablation may be effective in reducing the risk of arrhythmia recurrence, the benefit of AADs may be offset by their side effects, especially in elderly patients or those with structural heart disease and/or heart failure.[15–17] Indeed, in the recent report by Zhang *et al.*,[18] a second ablation procedure was more effective in maintaining sinus rhythm than AADs in patients with arrhythmia recurrence after catheter ablation for persistent AF.

There are several important limitations in this study. First, as mentioned in Methods and Results, because of the programming error in the randomization system to minimize the imbalance of allocation in each dichotomized age stratum, patients were oppositely allocated to the treatment group towards imbalance. However, we used the Cox proportional hazards model to estimate the treatment effects of the 90-day use of AAD on the primary endpoint and secondary efficacy endpoints, adjusting for the stratification variables. Therefore, we think the estimated effects of the 90-day use of AAD on the primary endpoint and secondary efficacy endpoints were appropriately calculated. Indeed, we have confirmed that the difference in age did not affect the incidence of the primary endpoint (data not shown). Secondly, although patients received periodical assessment with the ambulatory electrogram recording and 24 hour Holter monitoring in this study, there may have been substantial undetected episodes of recurrent atrial tachyarrhythmia during follow-up. Thirdly, CFAE ablation was more frequently performed in the control group. Fourthly, the AADs used in this study were different from those recommended or actually used in Western countries.[19,20] However, although cibenzoline and bepridil are rarely used in Western countries, both drugs have been shown to be highly effective in restoring and maintaining sinus rhythm in AF patients.[21–24] Finally, the average doses of AADs used in the present study were lower than usual doses in Western countries, presumably because of the lower approved doses of AADs in Japan and the propensity of Japanese cardiologists to prefer lower doses of AADs to avoid severe side effects.[10,25] However, given the significant reduction in early arrhythmia recurrence and the acceptable rate of side effects in the AAD group of the present study, and also considering the fact that the average body weight of Asian patients with AF is much lighter than that of Western AF patients by ~20 kg,[26] the doses of AADs used in the present study might have been appropriate.

In conclusion, short-term use of AAD for 90 days following AF ablation reduced the incidence of recurrent atrial tachyarrhythmias during the treatment period, but it did not lead to improved clinical outcomes at the later phase.

Authors' contributions

T.M., T.T., and K.N. performed statistical analysis. S.S. and Ta.K. handled funding and supervision. A.K., S.S., K.I., K.K., T.M., Y.N., T.O., To.K., I.M., F.M., T.W., M.M., M.N., H.F., T.Ni., Y.F., T.S., M.T., K.O., T.Ya., Y.E., K.S., T.No., K.M., T.H., Te.K., T.Yo., T.T., M.Y., K.N., H.S., and Y.H. acquired the data. S.S., K.K., A.K., T.M., and Ta.K. conceived and designed the research. S.S. drafted the manuscript. A.K., K.I., K.K., T.M., Y.N., T.O., To.K., I.M., F.M., T.W., M.N.,

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

Y.H., M.I. M.H., K.F.K., W.S., S.K., and Ta.K. made critical revision of the manuscript for key intellectual content.

Supplementary material

Supplementary Material is available at *European Heart Journal* online.

Acknowledgement

The authors are indebted to the clinical research coordinators of the study management centre (Supplementary material online, Appendix S2) for their invaluable help in checking and correcting the enormous data.

Funding

This study was supported by Research Institute for Production Development in Kyoto, Japan.

Conflict of interest: none declared.

References

1. Cappato R, Calkins H, Chen SA, Davies W, Iesaka Y, Kalman J, Kim YH, Klein G, Natale A, Packer D, Skanes A, Ambrogi F, Biganzoli E. Updated worldwide survey on the methods, efficacy, and safety of catheter ablation for human atrial fibrillation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2010;**3**:32–38.
2. Oral H, Knight BP, Tada H, Ozaydin M, Chugh A, Hassan S, Scharf C, Lai SW, Greenstein R, Pelosi F Jr, Strickberger SA, Morady F. Pulmonary vein isolation for paroxysmal and persistent atrial fibrillation. *Circulation* 2002;**105**:1077–1081.
3. Takahashi A, Iesaka Y, Takahashi Y, Takahashi R, Kobayashi K, Takagi K, Kuboyama O, Nishimori T, Takei H, Amemiya H, Fujiwara H, Hiraoka M. Electrical connections between pulmonary veins: implication for ostial ablation of pulmonary veins in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 2002;**105**:2998–3003.
4. Oral H, Chugh A, Yoshida K, Sarrazin JF, Kuhne M, Crawford T, Chalfoun N, Wells D, Boonyapisit W, Veerareddy S, Billakanty S, Wong WS, Good E, Jongnarangsin K, Pelosi F Jr, Bogun F, Morady F. A randomized assessment of the incremental role of ablation of complex fractionated atrial electrograms after antral pulmonary vein isolation for long-lasting persistent atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2009;**53**:782–789.
5. O'Donnell D, Furniss SS, Dunuwille A, Bourke JP. Delayed cure despite early recurrence after pulmonary vein isolation for atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2003;**91**:83–85.
6. Oral H, Knight BP, Ozaydin M, Tada H, Chugh A, Hassan S, Scharf C, Lai SW, Greenstein R, Pelosi F Jr, Strickberger SA, Morady F. Clinical significance of early recurrences of atrial fibrillation after pulmonary vein isolation. *J Am Coll Cardiol* 2002;**40**:100–104.
7. Roux JF, Zado E, Callans DJ, Garcia F, Lin D, Marchlinski FE, Bala R, Dixit S, Riley M, Russo AM, Hutchinson MD, Cooper J, Verdino R, Patel V, Joy PS, Gerstenfeld EP. Antiarrhythmics After Ablation of Atrial Fibrillation (5A Study). *Circulation* 2009;**120**:1036–1040.
8. Leong-Sit P, Roux JF, Zado E, Callans DJ, Garcia F, Lin D, Marchlinski FE, Bala R, Dixit S, Riley M, Hutchinson MD, Cooper J, Russo AM, Verdino R, Gerstenfeld EP. Antiarrhythmics After Ablation of Atrial Fibrillation (5A Study): six-month follow-up study. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2011;**4**:11–14.
9. Darkner S, Chen X, Hansen J, Pehrson S, Johannessen A, Nielsen JB, Svendsen JH. Recurrence of arrhythmia following short-term oral AMIOdarone After CATheter Ablation for Atrial Fibrillation: a double-blind, randomized, placebo-controlled study (AMIO-CAT trial). *Eur Heart J* 2014;**35**:3356–3364.
10. Hayashi M, Miyauchi Y, Iwasaki YK, Yodogawa K, Tsuboi I, Uetake S, Hayashi H, Takahashi K, Shimizu W. Three-month lower-dose flecainide after catheter ablation of atrial fibrillation. *Europace* 2014;**16**:1160–1167.
11. JCS Joint Working Group. Guidelines for Pharmacotherapy of Atrial Fibrillation (JCS 2008): digest version. *Circ J* 2010;**74**:2479–2500.
12. JCS Joint Working Group. Guidelines for Pharmacotherapy of Atrial Fibrillation (JCS 2013). *Circ J* 2014;**78**:1997–2021.
13. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995;**92**:1954–1968.
14. Rostock T, Steven D, Lutomsky B, Servatius H, Drewitz I, Klemm H, Müllerleile K, Ventura R, Meinertz T, Willems S. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation in the pulmonary veins on the impact of atrial fibrillation on the electrophysiological properties of the pulmonary veins in humans. *J Am Coll Cardiol* 2008;**51**:2153–2160.
15. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators. Preliminary report: effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1989;**321**:406–412.
16. Lafuente-Lafuente C, Mouly S, Longás-Tejero MA, Mahé I, Bergmann JF. Antiarrhythmic drugs for maintaining sinus rhythm after cardioversion of atrial fibrillation: a systematic review of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2006;**166**:719–728.
17. Køber L, Torp-Pedersen C, McMurray JJ, Gøtzsche O, Lévy S, Crijns H, Amlie J, Carlsen J; Dronedarone Study Group. Increased mortality after dronedarone therapy for severe heart failure. *N Engl J Med* 2008;**358**:2678–2687.
18. Zhang XD, Gu J, Jiang WF, Zhao L, Zhou L, Wang YL, Liu YG, Liu X. Optimal rhythm-control strategy for recurrent atrial tachycardia after catheter ablation of persistent atrial fibrillation: a randomized clinical trial. *Eur Heart J* 2014;**35**:1327–1334.
19. Camm AJ, Lip GY, De Caterina R, Savelieva I, Atar D, Hohnloser SH, Hindricks G, Kirchhof P; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). 2012 Focused update of the ESC Guidelines for the Management of Atrial Fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the Management of Atrial Fibrillation. Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J* 2012;**33**:2719–2747.
20. Arbelo E, Brugada J, Hindricks G, Maggioni AP, Tavazzi L, Vardas P, Laroche C, Anselme F, Inama G, Jais P, Kalarus Z, Kautzner J, Lewalter T, Mairesse GH, Perez-Villacastin J, Riahi S, Taborsky M, Theodorakis G, Trines SA; Atrial Fibrillation Ablation Pilot Study Investigators. The atrial fibrillation ablation pilot study: a European Survey on Methodology and results of catheter ablation for atrial fibrillation conducted by the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J* 2014;**35**:1466–1478.
21. Komatsu T, Sato Y, Tachibana H, Nakamura M, Horiuchi D, Okumura K. Randomized crossover study of the long-term effects of pilsicainide and cibenzoline in preventing recurrence of symptomatic paroxysmal atrial fibrillation: influence of the duration of arrhythmia before therapy. *Circ J* 2006;**70**:667–672.
22. Komatsu T, Tachibana H, Sato Y, Ozawa M, Ohshima K, Orii M, Kunigida F, Nakamura M. A randomized study on the efficacy of intravenous cibenzoline and pilsicainide administered prior to electrical cardioversion in patients with lone paroxysmal and persistent atrial fibrillation. *J Cardiol* 2009;**53**:35–42.
23. Nakazato Y, Yasuda M, Sasaki A, Iida Y, Kawano Y, Nakazato K, Tokano T, Mineda Y, Sumiyoshi M, Nakata Y, Daida H. Conversion and maintenance of sinus rhythm by bepridil in patients with persistent atrial fibrillation. *Circ J* 2005;**69**:44–48.
24. Yamashita T, Ogawa S, Sato T, Aizawa Y, Atarashi H, Fujiki A, Inoue H, Ito M, Katoh T, Kobayashi Y, Koretsune Y, Kumagai K, Niwano S, Okazaki O, Okumura K, Saku K, Tanabe T, Origasa H; J-BAF Investigators. Dose–response effects of bepridil in patients with persistent atrial fibrillation monitored with transtelephonic electrocardiograms: a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind study (J-BAF Study). *Circ J* 2009;**73**:1020–1027.
25. Takada M, Goto T, Kotake T, Saito M, Kawato N, Nakai M, Gunji T, Shibakawa M. Appropriate dosing of antiarrhythmic drugs in Japan requires therapeutic drug monitoring. *J Clin Pharm Ther* 2005;**30**:5–12.
26. Hori M, Connolly SJ, Zhu J, Liu LS, Lau CP, Pais P, Xavier D, Kim SS, Omar R, Dans AL, Tan RS, Chen JH, Tanomsup S, Watanabe M, Koyanagi M, Ezekowitz MD, Reilly PA, Wallentin L, Yusuf S; RE-LY Investigators. Dabigatran versus warfarin: effects on ischemic and hemorrhagic strokes and bleeding in Asians and non-Asians with atrial fibrillation. *Stroke* 2013;**44**:1891–1896.

Downloaded from http://eurheartj.oxfordjournals.org/ by guest on May 12, 2016

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		弘前大学大学院医学研究科循環呼吸腎臓内科
研究開発担当者	所属 役職	教授
	氏名	奥村　謙
実施期間		平成　27　年　4　月　1　日　～　平成　28　年　3　月　31　日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：弘前大学大学院医学研究科　循環呼吸腎臓内科

研究開発分担者　役職　氏名：教授　奥村　謙

分担研究開発課題名（実施内容）：経時的心電図分析による致死性不整脈予測因子の分析とデバイス治療適応の検討

①研究開発成果の内容

筋強直性ジストロフィー患者の心電図を経時的に解析し、致死性不整脈に関連したリスク因子を探索するとともに、デバイス治療の適応の見直しを行う。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

プロトコル作成に参画。現在班員６施設を中心にデータ収集中で、初期の予定通り進捗している。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（２）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		国立病院機構青森病院
研究開発担当者	所属 役職	副院長
	氏名	高田博仁
実施期間		平成　27 年　4　月　1　日　～　平成　28　年　3　月　31 日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：国立病院機構青森病院

研究開発分担者　役職　氏名：国立病院機構青森病院副院長　髙田博仁

分担研究開発課題名（実施内容）：持続血糖測定器を用いた筋硬直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の検討、糖尿病を合併した筋硬直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討、他

① 研究開発成果の内容

①「持続血糖測定器を用いた筋硬直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の検討」、「糖尿病を合併した筋硬直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」：筋硬直性ジストロフィー（DM）では、糖脂質代謝異常、内分泌障害等の合併が知られている。DM における糖代謝異常は、インスリン感受性低下を主体として筋萎縮や運動機能障害も加わり複雑な病態を呈しているが、その病態の詳細は不明で標準的治療法も確立されていない。本研究では、DM において持続血糖測定（Continues Glucose Monitoring；CGM）を実施し、日常生活における血糖変動とブドウ糖負荷試験における血糖変動を測定することで、本症の耐糖能障害の詳細を明らかにするものである。さらに、DM における耐糖能障害治療としては、ピオグリタゾンやビグアナイドなどインスリン抵抗性改善薬が用いられているが、十分な効果を挙げているとは言いがたく、DPP-4 阻害薬等についてのデータは乏しい。本研究では糖尿病合併 DM において CGM を用い、DPP4 阻害薬の効果を評価し耐糖能障害の新しい治療法開発を目指す。研究開発分担者は、これらの研究責任者としてプロトコル作成、データ収集、進捗管理、解析等を主導している。今年度は、研究を実施する 5 施設において倫理審査を済ませ、大阪大学大学院医学系研究科神経内科学教室でインクレチンを測定する準備を整えた。今年度終了時点で、「持続血糖測定器を用いた筋硬直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の検討」は 20 例に実施、「糖尿病を合併した筋硬直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」は 2 例に実施し、さらに実施症例数を増やしていく予定である。

②登録推進・受療改善(アウトリーチ活動)：Remudy 通信や市民公開講、学会･研究会等を通じて、合併症や医療管理の必要性、臨床研究などの情報を発信し、登録推進・受療改善を試みた。青森県で筋ジストロフィーの市民公開講座を開催した他、県内の他医療施設や保健所主催の会合で説明会を実施した。

③指定難病関連作業：筋ジストロフィー指定難病以降に関連したファクトシート作成作業に参加、難病情報センターホームページ掲載コンテンツ等にも関与した。
④標準医療確立に向けたプロジェクト研究:「筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究」、「筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討」に参加しデータ提供を実施した。

② 研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

①「持続血糖測定器を用いた筋硬直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の検討」、「糖尿病を合併した筋硬直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」
持続血糖測定による血糖変動分析・治療効果評価プロトコル 2015 年 4 月に決定した。主幹施設である青森病院において 2015 年 5 月に倫理審査を受け承認、各協力施設においても倫理審査で承認を得た。青森病院および刀根山病院を中心として調査を開始、20 例ほどの症例に実施した。さらに調査結果分析を 2016 年 10 月頃に予定している。
③登録推進・受療改善(アウトリーチ活動):Remudy 通信や市民公開講座、学会･研究会等を通じて、患者登録や合併症管理の必要性などの情報を発信し、登録推進・受療改善を試みた。2015 年 6 月に青森県筋ジストロフィー市民公開講座を開催した。
④指定難病関連作業：筋ジストロフィー指定難病以降に関連したファクトシート作成作業に参加、難病情報センターホームページ掲載コンテンツ等にも関与した。
⑤標準医療確立に向けたプロジェクト研究:「筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究」、「筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討」に参加。倫理審査で承認を得てデータを提供した。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（２）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別)	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
シスタチンＣによる筋強直性ジ	**髙田博仁**、今　清覚、	第 56 回日本	平成 27 年 5	国内

ストロフィーの腎機能評価（ポスター)	小山慶信、木村珠喜	神経学会学術大会	月	
東北地方における神経・筋疾患患者情報登録システム Remudy の登録状況（口頭）	**髙田博仁**、木村　円、高橋正紀	第 97 回日本神経学会東北地方会	平成 28 年 3 月	国内
筋強直性ジストロフィーにおける肝機能障害と糖脂質代謝異常に関する検討（口頭）	**高田博仁、今　清覚、小山慶信、木村珠喜、長畑史子**	第 2 回筋ジストロフィー医療研究会	平成 27 年 10 月	国内
筋強直性ジストロフィー患者への支援：外来通院患者のインタビュー調査から	大平香織、髙田博仁、福地　香、日照田綾子、松村　剛	第 2 回筋ジストロフィー医療研究会	平成 27 年 10 月	国内

（３）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等)	発表した時期	国内・外の別
他にもある色んな合併症	高田博仁	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@東京」	2015 年 7 月	国内
代謝の問題	高田博仁	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@札幌」	2015 年 10 月	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（４）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		国立病院機構大牟田病院
研究開発担当者	所属 役職	神経内科医長
	氏名	荒畑　創
実施期間		平成　27　年　4　月　1　日　～　平成　28　年　3　月　31　日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：国立病院機構大牟田病院　神経内科

研究開発分担者　役職　氏名：神経内科医長　荒畑　創

分担研究開発課題名（実施内容）：持続血糖測定による詳細な血糖変動の検索とインクレチン療法等の有効性検討

① 研究開発成果の内容

現在のところ、同意を得られた患者より、持続血糖測定による詳細な血糖変動の検索を行っている。
市民公開講座等にて合併症管理の必要性など医療管理の必要性について広報活動を行った。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

2 名の患者の血糖の検討を行っているが、インクレチン療法の実施については、治療を要する適切な患者は現在検討中である。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
なし				

（２）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、	発表者氏名	発表した場所	発表した時期	国内・

口頭・ポスター発表の別)		(学会等名)		外の別
なし				

(3)「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所(シンポジウム名等)	発表した時期	国内・外の別
まだある合併症	荒畑　創	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@新潟」	2015 年 5 月	国内
代謝の問題	荒畑　創	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@東京」	2015 年 7 月	国内
在宅療養とポートサービス	荒畑　創	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@福岡」	2016 年 1 月	国内
重要な機能障害・合併症～嚥下機能障害 ST の立場から	酒井光明	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@福岡」	2016 年 1 月	国内
日常生活での注意点	桑原寿佳子	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@福岡」	2016 年 1 月	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総

合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1件あたり年間3,000万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。
http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）
報告様式4別紙1の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）
なし

Ⅳ．実施体制
研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		大阪大学大学院医学系研究科糖尿病病態医療学寄附講座
研究開発担当者	所属 役職	寄附講座准教授　岩橋博見
	氏名	岩橋博見
実施期間		平成　27　年　4月　1　日　～　平成　28年　3　月　31　日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：大阪大学大学院医学系研究科糖尿病病態医療学寄附講座

研究開発分担者　役職　氏名：寄附講座准教授　岩橋博見

分担研究開発課題名（実施内容）：持続血糖測定器を用いた筋硬直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の検討、糖尿病を合併した筋硬直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討、他

①研究開発成果の内容

「持続血糖測定器を用いた筋硬直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の検討」、「糖尿病を合併した筋硬直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」：筋硬直性ジストロフィー（DM）では、糖脂質代謝異常、内分泌障害等の合併が知られている。DM における糖代謝異常は、インスリン感受性低下を主体として筋萎縮や運動機能障害も加わり複雑な病態を呈しているが、その病態の詳細は不明で標準的治療法も確立されていない。本研究では、DM において持続血糖測定（Continues Glucose Monitoring；CGM）を実施し、日常生活における血糖変動とブドウ糖負荷試験における血糖変動を測定することで、本症の耐糖能障害の詳細を明らかにするものである。さらに、DM における耐糖能障害治療としては、ピオグリタゾンやビグアナイドなどインスリン抵抗性改善薬が用いられているが、十分な効果を挙げているとは言いがたく、DPP-4 阻害薬等についてのデータは乏しい。本研究では糖尿病合併 DM において CGM を用い、DPP4 阻害薬の効果を評価し耐糖能障害の新しい治療法開発を目指す。研究開発分担者は、本研究責任者の高田らとともに、プロトコル作成を立案、進捗管理、解析等に協力している。今年度は、研究を実施する 5 施設において倫理審査を済ませ、大阪大学大学院医学系研究科神経内科学教室でインクレチンを測定する準備を整えた。今年度終了時点で、「持続血糖測定器を用いた筋硬直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の検討」は 20 例に実施、「糖尿病を合併した筋硬直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」は 2 例に実施し、さらに実施症例数を増やしていく予定である。

受療改善(アウトリーチ活動)他：研究開発分担者は、福岡県中小企業振興センターで開催された市民公開講座で、「筋硬直性ジストロフィーについて知ろう　重要な機能障害・合併症～筋硬直性ジストロフィーと糖尿病」というタイトルで講演。また、東京にて開催された「筋強直性ジストロフィー治験推進のための基盤整備の研究班　2015 年度ワークショップ」では、「糖尿病治療の原則と最近の薬剤選択について」というタイトルで講演を行った。また、第 52 回日本糖尿病近畿地方会にて、「筋力低下進行とインスリン抵抗性増悪の推移を確認し得た筋強直性ジストロフィーの一例」というタイトルで、症例

報告を行った。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

「持続血糖測定器を用いた筋硬直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の検討」、「糖尿病を合併した筋硬直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」：
持続血糖測定による血糖変動分析・治療効果評価プロトコルを 2015 年 4 月に決定した。主幹施設である青森病院において 2015 年 5 月に倫理審査を受け承認、各協力施設においても倫理審査で承認を得た。青森病院および刀根山病院を中心として調査を開始、20 例ほどの症例に実施した。さらに調査結果分析を 2016 年 10 月頃に予定している。

３．成果の外部への発表

（1）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
筋力低下進行とインスリン抵抗性増悪の推移を確認し得た筋強直性ジストロフィーの一例（口頭発表）	堀井知美、浅見沙織、岩橋博見、他	第 52 回日本糖尿病学会近畿地方会（京都）	2015 年 11 月 14 日	国内
糖尿病治療の原則と最近の薬剤選択について	岩橋博見	ワークショップ(東京八重洲ホール 701 会議室)	2015 年 7 月 18 日	国内

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シ	発表した時期	国内・

		ンポジウム名等)		外の別
筋硬直性ジストロフィーについて知ろう　重要な機能障害・合併症～筋硬直性ジストロフィーと糖尿病	岩橋博見	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@福岡」	2016 年 1 月 17 日	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		東京女子医科大学
研究開発担当者	所属 役職	小児科講師
	氏名	石垣景子
実施期間		平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 28 年 3 月 31 日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：東京女子医科大学　小児科

研究開発分担者　役職　氏名：講師　石垣　景子

分担研究開発課題名（実施内容）：先天性筋強直性ジストロフィー全国調査と啓蒙活動

①研究開発成果の内容

（１）先天性筋強直性筋ジストロフィーの全国調査

先天性筋強直性筋ジストロフィー(Congenital myotonic dystrophy:CDM)は，全身性筋緊張低下，呼吸・哺乳障害等，成人とは異なる臨床的特徴を示す最重症型であり，95%の患児の母が筋強直性ジストロフィー（myotonic dystrophy：DM）患者である．胎生期からの児自身の筋緊張の低下，筋力低下があり，かつ母体の罹患に伴う子宮機能低下に伴う分娩の遷延より，しばしばハイリスク分娩となる．また母自身が妊娠・出産を契機に自身の DM の診断に至ることも少なくない．児および母自身の診断の受け入れ，疾患に伴う育児困難等，複数の問題に直面するため，母に対しての医療，心理，社会的側面の多方面からの支援が必要であり，小児科医、内科医、産婦人科医などと連携することが非常に重要である．

東京女子医科大学小児科で 1989 年から 2013 年の間に経験した CDM 症例 21 例（19 家系）の後方向視的解析を行い，その合併症，問題点を抽出した．この結果をもとに，アンケートを作成し，全国規模で先天性筋強直性ジストロフィーの発症頻度，患者数を調査するとともに，母体の周産期異常の有無，母子の診断時期，児の合併症など実態把握を計画した．DM の出産，診断に立ち会うであろう，産科医師，新生児科医師，小児神経専門医を対象に一次，および二次調査を行う．一次調査は人数把握を目的とし，分娩可能施設の産科医（代表）2484 件，新生児科専門医 200 件，小児神経専門医約 1000 名を対象とした．

（２）先天性筋強直性ジストロフィーおよび筋強直性ジストロフィーの妊娠分娩における啓蒙活動

ホームページ「専門家が提供する筋強直性ジストロフィーの臨床情報（DM-CTG)」において，妊娠・出産に関する注意を，Q and A 方式で提供した．また，市民講座にて CDM の実際および，DM 患者の妊娠，出産に関する講演を行い，啓蒙活動を行った．

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

（１）先天性筋強直性筋ジストロフィーの全国調査

マイルストーン 1：東京女子医科大学小児科で 1989 年から 2013 年の間に経験した CDM 症例 21 例（19 家系）の後方向視的解析を行い，合併症，問題点を抽出した．成果は日本小児神経学会総会にて報告した．　達成時期　2015 年 5 月
マイルストーン 2：全国調査一次，および二次調査の内容決定．一次調査は往復はがきによる人数調査，二次調査は回答者による Web アンケートとする．対象は産科医，新生児科医，小児神経専門医とした．
アンケート内容決定　　達成時期　2015 年 8 月
マイルストーン 3：倫理審査申請「先天性筋強直性ジストロフィーの全国調査（一次調査）」
東京女子医科大学倫理審査承認（承認番号 3694）　達成時期　2015 年 11 月
マイルストーン 4：分娩可能施設の宛先および小児神経科医・新生児科専門医の名簿取り寄せ，一次調査（往復はがき）の発送（分娩可能施設の産科医（代表）2484 件，新生児科専門医 200 件，小児神経専門医約 1000 名）　達成時期　2016 年 1 月
マイルストーン 5：回収したアンケートの結果解析　　目標達成時期 2016 年 3 月
マイルストーン 6：倫理審査申請「先天性筋強直性ジストロフィーの全国調査（二次調査）」
目標達成時期　2016 年 5 月
マイルストーン 7：二次調査解析および，成果発表　　目標達成時期　2016 年 12 月

2）先天性筋強直性ジストロフィーおよび筋強直性ジストロフィーの妊娠分娩における啓蒙活動
マイルストーン 1：ホームページ「専門家が提供する筋強直性ジストロフィーの臨床情報（DM-CTG）」において，妊娠・出産に関する注意事項を掲載　　達成時期　2015 年 9 月

3．成果の外部への発表

（1）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
なし				

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
先天性筋強直性ジストロフィーの周産期合併症	七字美延, 石垣景子, 石黒久美子, 佐藤孝俊, 武藤順子, 村上てるみ, 大澤真木子，永田智	第 57 回日本小児神経学会学術集会	2015 年 5 月 29 日	国内

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
筋強直性ジストロフィーの妊娠出産に関わる問題	石垣景子	知っておきたい筋強直性ジストロフィー@東京	2015 年 7 月 19 日	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

特になし.

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		長寿・障害総合研究事業　障害者対策総合研究開発事業
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究 （課題番号）15dk0310043h002
機関名		独立行政法人国立病院機構沖縄病院
研究開発 担当者	所属 役職	ﾘﾊﾋﾞﾘﾃｰｼｮﾝ科部長
	氏名	諏訪園秀吾
実施期間		平成２７年４月１日　～　平成２８年３月３１日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：独立行政法人国立病院機構沖縄病院神経内科
研究開発分担者　役職　氏名：リハビリテーション科部長　諏訪園秀吾
分担研究開発課題名（実施内容）：筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明

①研究開発成果の内容

i) 筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明： DM では中枢神経障害の合併が存在し、これは医療へのコンプライアンスにも影響を及ぼしている。本研究では、多数の神経心理バッテリーを使用して、DM の神経心理学的特徴を解明し、適切な対処法の確立を目指す。研究責任者として調査項目選定、データ収集、進捗管理、解析等を主導

ii) 登録推進・受療改善(アウトリーチ活動) : 沖縄県で市民公開講座を開催。この後に新規受診患者の増加があり、患者新規登録に確実につながっている。

iii) 標準医療確立に向けたプロジェクト研究 :「筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究」、「筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討」に参加しデータ収集し提供など実施。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

マイルストン 15：筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明プロトコル作成(達成予定時期 2015 年 3 月頃)　完了

マイルストン 16：筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明調査開始(達成予定時期 2015 年 6 月頃)　完了

マイルストン 17：筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明調査結果解析(達成予定時期 2016 年 10 月頃)　　解析実施中；研究開発参加者リストにある施設（沖縄病院・あきた病院・大阪大学・刀根山病院）において、計画書に示したように広範囲を網羅した複数の検査項目について、約 40 症例からの神経心理学的データの収集を終えた（これは１施設では困難なことである)。その解析結果の一部は下記に記す学会等で発表した。今後はそこでの議論を踏まえて、(膨大なデータであるので）どのような視点から論文へまとめ臨床的に使える形にするかを上記４施設で話しあい、今年度中に論文作成

する予定としている。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（２）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
筋強直性ジストロフィーの比較的若年例数例における特殊な前頭葉機能評価について（口演）	○諏訪園秀吾・奥間めぐみ・上田幸彦・前堂志乃・吉村直樹	第 2 回筋ジストロフィー医療研究会	2015/10/24	国内
当院における高次脳機能研究の現在-ALS, パーキンソン, 筋ジス, その他-（口演）	諏訪園秀吾	沖縄県神経懇話会第 361 回例会	2015/12/5	国内
筋強直性ジストロフィー認知機能障害の特徴（口演）	諏訪園秀吾	筋ジストロフィー合同班会議	2016/1/8	国内
筋強直性ジストロフィー症タイプ１の 5 症例における Benton と AVLT の検討-working memory か注意の問題か-（口演）	安藤匡宏・○諏訪園秀吾・奥間めぐみ・田代雄一・前堂志乃・上田幸彦	第２回筋ジストロフィーの CNS 障害研究会	2016/1/9	国内
筋強直性ジストロフィー症タイプ 1 の比較的若年 6 例における高次脳機能検査と脳血流 SPECT の関連（口演）	田代雄一・○諏訪園秀吾・安藤匡宏・奥間めぐみ・上田幸彦	第２回筋ジストロフィーの CNS 障害研究会	2016/1/9	国内
筋強直性ジストロフィー患者における注意機能、視空間認知機能の特徴（口演）	上田幸彦, 諏訪園秀吾, 奥間めぐみ, 松村剛, 齊藤利雄, 藤村晴俊, 井村修, 藤野陽生, 新垣ほの	第２回筋ジストロフィーの CNS 障害研究会	2016/1/9	国内

	か，榎本聖香，長山卓弘，宮本真衣，高橋正紀, 田路智子, 加藤亜希子, 松原梨絵子, 和田千鶴			
筋強直性ジストロフィー患者における認知機能と QoL の関連の探索的検討（口演）	藤野陽生, 新垣ほのか, 榎本聖香, 長山卓弘, 宮本真衣, 齊藤利雄, 藤村晴俊, 高橋正紀, 田路智子, 加藤亜希子, 松原梨絵子, 和田千鶴, 諏訪園秀吾, 奥間めぐみ, 上田幸彦，松村剛，井村修	第 2 回筋ジストロフィーの CNS 障害研究会	2016/1/9	国内
認知グループ今年度活動のまとめ（口演）	諏訪園秀吾	松村班班会議	2016/1/16	国内

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
筋ジストロフィーの最近の話題	松村剛	筋ジストロフィー市民公開講座 2015 @沖縄	2015・2・22	国内

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		独立行政法人国立病院機構あきた病院
研究開発担当者	所属 役職	神経内科部長
	氏名	和田千鶴
実施期間		平成２７年　４月　１日　～　平成２８年　３　月３１日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：国立病院機構あきた病院

研究開発分担者　役職　氏名：神経内科部長　和田千鶴

分担研究開発課題名（実施内容）：筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明、他

①研究開発成果の内容

①筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明： **ワーキングメンバー**として調査項目選定、データ収集、解析等に参加した。

②登録推進・受療改善(アウトリーチ活動)：秋田県で市民公開講座を開催した。

③標準医療確立に向けたプロジェクト研究:「筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究」、「筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討」に参加しデータ提供など実施。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

①筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明

調査項目選定、データ収集、解析等に参加した。

まずは本疾患の中枢神経障害について把握するために、実施すべき調査項目を班員で検討し、Mini Mental State Examination、*Trail Making Test*、*verbal* fluency、Wechsler Adult Intelligence Scale、*Frontal* Assessment Battery、*Wisconsin Card Sorting Test*、Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale、標準注意検査法（CAT）、Visual Perception Test for Agnosia、Apathy、Patient Health Questionnaire-9、ESS、MFI20、MDQoL60、SRS-2 を DM1 患者に対して行った。現在はその結果を大阪大学で解析中である。今後は、この解析結果をもとに、MD1 患者の特性を把握し、さらに評価項目を選定予定である。

②登録推進・受療改善(アウトリーチ活動)：2015 年 11 月に筋強直性ジストロフィー市民公開講座 2015 @秋田を開催した。広報活動としては、秋田県内の医療機関、身体障害者施設、県疾病対策課、保健所などに市民公開講座のお知らせとともに、本疾患の登録事業も開始されている旨、紹介した。河北新聞社に依頼し、本疾患の特性、登録事業、市民公開講座の紹介など記事にしていただき、県外からも反響があった。

③標準医療確立に向けたプロジェクト研究:「筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究」、「筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討」に参加。倫理審査で承認を得てデータ収集中

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（２）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
筋強直性ジストロフィーにおける視覚認知障害の検討	和田　千鶴	新潟（日本神経学会）	2015 年 5 月	国内
「筋強直性ジストロフィーにおける高次脳機能障害の検討（第 2 報）」	田路　智子	札幌（第 69 回国立病院総合医学会）	2015 年 10 月	国内
筋強直性ジストロフィーにおける視覚認知障害の検討（第３報）	田路　智子	大阪（筋ジス医療研究会）	2015 年 10 月	国内
Dysfunction of dorsal visual pathway in Myotonic Dystrophy type 1	**Chizu Wada**	Santiago（XXII World Congress of Neurology）	2015 年 11 月	国外
筋強直性ジストロフィータイプ１患者における認知機能障害と脳血流低下の分布に関する検討	和田　千鶴	第 2 回筋ジストロフィーの CNS 障害研究会	2016 年 1 月	国内

（３）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

筋強直性ジストロフィーにおける視覚認知障害の検討

田路智子[2)] 加藤亜希子[2)] 佐藤裕美[2)] 畠山知之[1)] 武田房子[1)]
小原講二[1)] 阿部エリカ[1)] 小林道雄[1)] 和田千鶴[1) 2)] 豊島 至[1)]
[1)]国立病院機構あきた病院神経内科
[2)]国立病院機構あきた病院リハビリテーション科

【目的】

筋強直性ジストロフィ-タイプ１（DM1）の中枢神経症状としては、知的機能低下、自閉症スペクトラム障害、病識の乏しさなどに加え、構成障害、視空間認知障害の報告が散見される。

今回、Alzheimer’s Disease Assessment Scale-cognitive component-Japanese version（ADAS-jcog）、標準高次視知覚検査（Visual Perception Test for Agnosia；VPTA）と追加課題を施行し、視覚認知機能について検討した。

＜DM1の中枢神経症状の既報告＞

Cognition	
General intelligence	
IQ ↓ ;（動作性IQ↓;組み合わせ，積み木，符号）	**+/-**
MMSE ↓	**+/-**
Visual spatial deficits	**++**
Attentional deficits	**++**
Verbal fluency ↓	**+/-**
Behavior	
Dysexecutive syndrome	**++**
Apathy	**++**
Anxiety	**+/-**
Depression	**+/-**
Personality patterns	
Avoidant	**++**
Obsessive-compulsive	**+**
Passive-aggressive	**+**
Dependent	**+**
Emotion	
Facial emotion recognition deficit	**+**
Excessive daytime sleepiness	**++**
Fatiguability	**+**

【対象】

- 当院入院中（DM1）患者 14名
  男性8名　女性6名
  （先天性MyDを除く検査可能な視力を有する患者）
- 検査時年齢 38～66歳
  男性 38～66歳（平均54歳）
  女性 44～58歳（平均51歳）
- 気管切開患者 2名
- 全員右利き
- 最終学歴
  （中学 3名　高校 7名　大学・専門学校 3名　不明1名）

【結果】

1. ADAS-jcog

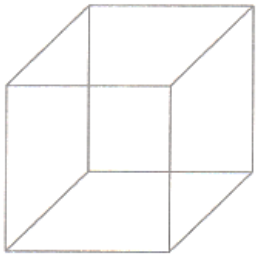
1）下位項目 vs 総点

下位項目	平均	標準偏差	総点との相関係数	P値（P＜0.05）
①単語再生	3.3	±0.9	0.633	0.011
②口頭言語能力	0.0	±0.0		
③言語の聴覚的理解	0.0	±0.0		
④自発話における喚語困難	0.1	±0.0	0.165	0.557
⑤口頭命令に従う	0.3	±0.7	0.353	0.197
⑥手指および物品呼称	0.0	±0.0		
⑦構成行為	1.9	±0.7	0.675	0.006
⑧観念運動	1.5	±2.8	0.559	0.030
⑨見当識	0.8	±0.0	0.594	0.020
⑩単語再認	1.4	±1.1	0.543	0.036
⑪テスト教示の再生能力	0.0	±0.0		

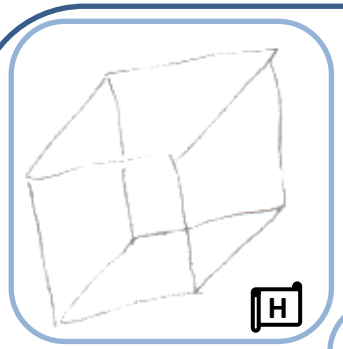
2)⑦構成行為

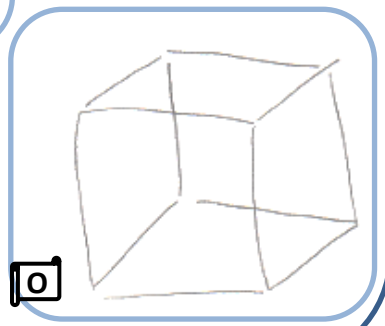
立方体

見本



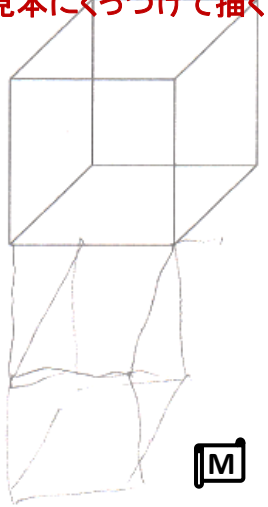
立方体が
模写できたPt.



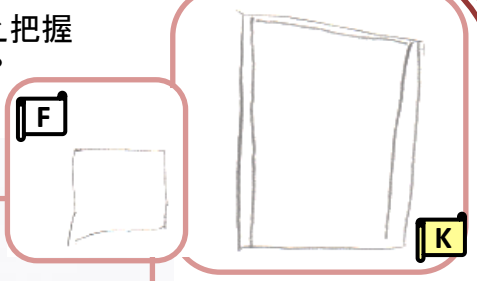


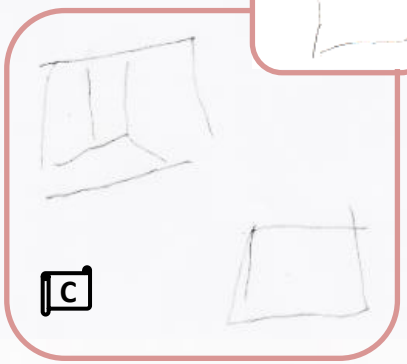
立方体が
模写できないPt.

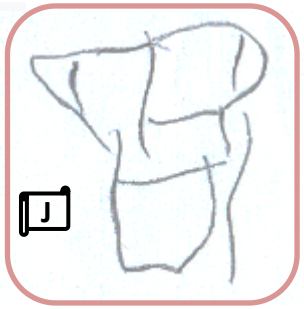
見本にくっつけて描く

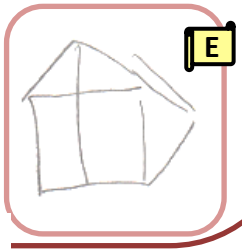


大まかな形さえ把握
できていない？



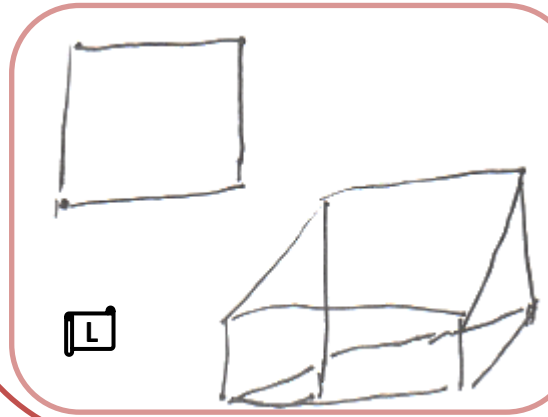


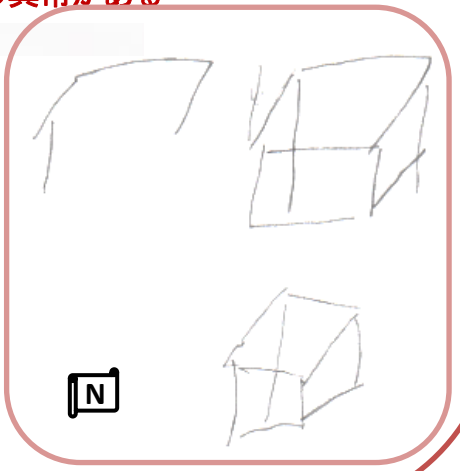




線分の傾きや数・長さの異常がある

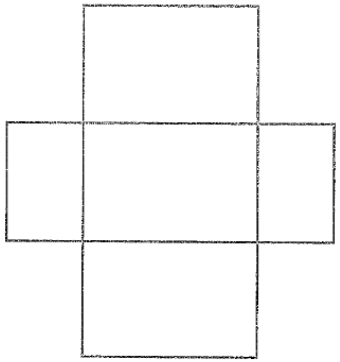
大まかな形の把握
はできている

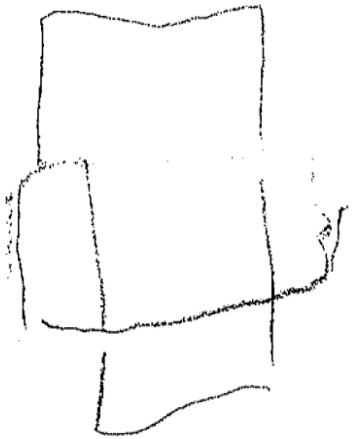




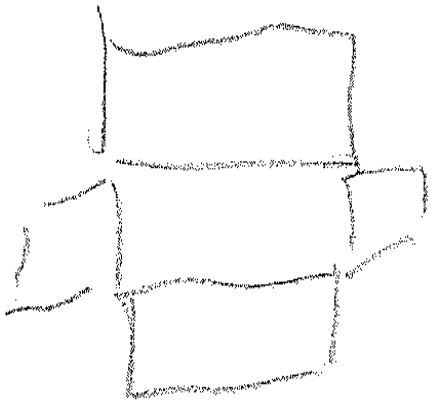
長方形の重なり

見本

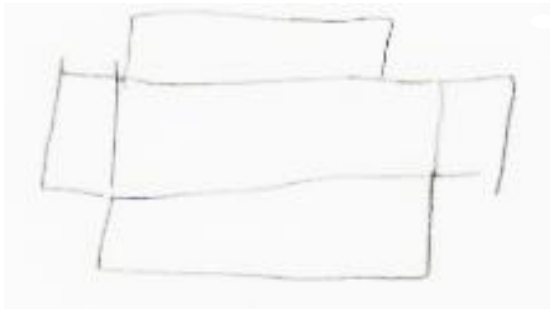




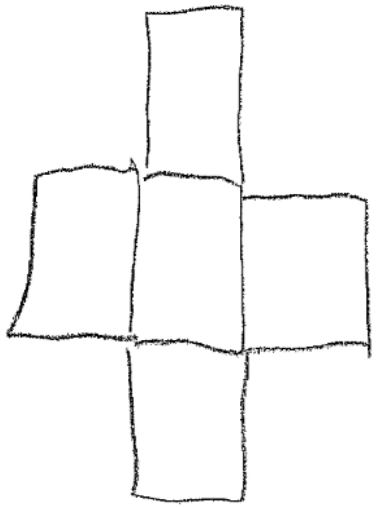
B



D



E



K

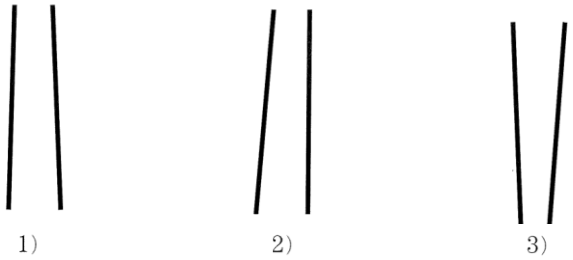
2. VPTA

加点率は高くなるほど異常の程度が強いことを示す

	検査項目	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	平均	加点率	平均	加点率	平均	上限	総加点率
1.視知覚の基本機能	2)線分の長さの分別	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	10	0%
	3)数の目測	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0.3	6%	0.1	2%	0.2	6	3%
	4)形の分別	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0.7	6%	0.1	1%	0.3	12	2%
	5)線分の傾き	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	17%	0.0	0%	0.3	6	5%
	6)錯綜図	1	1	2	0	0	0	0	0	2	0	1	1.3	22%	0.4	6%	0.6	6	11%
	7)図形の模写	3	2	5	5	0	0	1	2	0	3	0	3.3	56%	1.4	23%	1.9	6	32%
2.物体・画像認知	8)絵の呼称	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.7	4%	0.0	0%	0.2	16	1%
	10)物品の呼称	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	16	0%
	16)状況図	0	4	0	4	2	0	0	0	0	0	0	1.3	22%	0.8	13%	0.9	6	15%
3.相貌認知	17)有名人の命名(熟知相貌)	2	8	6	7	5	0	3	6	0	0	2	5.3	33%	2.9	18%	3.5	16	22%
	18)有名人の指示(熟知相貌)	2	4	2	0	1	0	0	0	1	0	0	2.7	17%	0.3	2%	0.9	16	6%
	20)未知相貌の異同弁別	2	0	2	0	2	2	0	3	0	2	2	1.3	17%	1.4	17%	1.4	8	17%
	21)未知相貌の同時照合	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	6	0%
	22)表情の叙述	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	6	0%
4.色彩認知	25)色名呼称	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0.7	4%	0.4	2%	0.5	16	3%
	26)色相の照合	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	16	0%
	28)色名による指示	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0.0	0%	0.3	2%	0.2	16	1%
	29)言語-視覚課題	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0.0	0%	0.5	8%	0.4	6	6%
	30)言語-言語課題	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	6	0%
	31)色鉛筆の選択	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.3	4%	0.2	6	3%
5.シンボル認知	32)記号の認知	2	0	0	1	2	2	0	0	0	0	0	0.7	8%	0.6	8%	0.6	8	8%
	33)文字の認知(音読) イ)片仮名	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	6	0%
	33)文字の認知(音読) ホ)単語・漢字	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	12	0%
	33)文字の認知(音読) ヘ)単語・仮名	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	12	0%
6.視空間の認知と操作	37)線分の2等分 【左へのずれ】	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	0	0.3	6%	0.5	8%	0.5	6	8%
	【右へのずれ】	3	1	2	0	0	0	2	0	0	0	3	2.0	33%	0.6	10%	1.0	6	17%
	38)線分の抹消 【左上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	20	0
	【左下】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	20	0%
	【右上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	20	0%
	【右下】	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0.0	0%	0.4	2%	0.3	20	1%
	39)模写 花 【左】	0	0	6	5	0	0	4	0	−	0	0	2.0	14%	1.3	9%	1.5	14	11%
	【右】	1	0	2	2	2	0	4	0	−	0	1	1.0	7%	1.3	9%	1.2	14	9%
	40)数字の音読 右読み【左】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	24	0%
	右読み【右】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	24	0%
	左読み【左】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	24	0%
	左読み【右】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	24	0%
	41)自発画 【左】	0	0	3	1	3	0	2	0	0	0	0	1.0	17%	0.8	13%	0.8	6	14%
	【右】	0	0	2	2	3	0	3	0	0	0	0	0.7	11%	0.9	17%	0.9	6	15%

1-5）線分の傾き

「方法：どちらが大きく開いていますか。上ですか，下ですか」

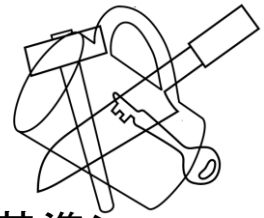


＜採点基準＞
遅延反応　　1点
無反応・誤り　2点

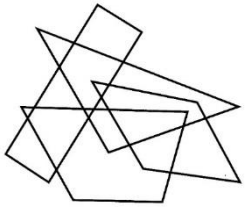
	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	D,E,K 平均	D,E,K 加点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 加点率	平均	上限	総加点率
5.線分の傾き	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	17%	0.0	0%	0.3	6	5%

1-6）錯綜図

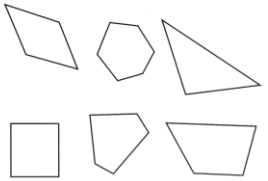
い「みえた物の名前をすべて言ってください」



ろ「いくつ重なっているか数を言って下さい」



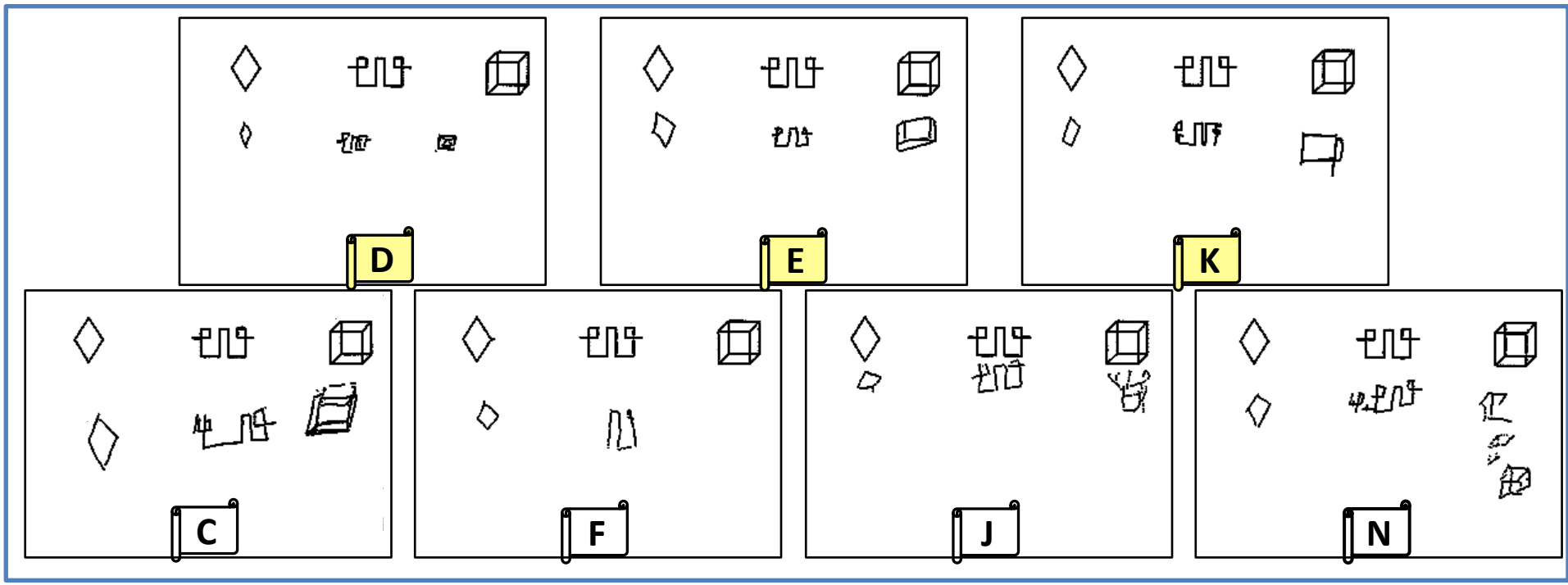
は「（ろ）の図には（は）の図のどの図形がありますか」



＜採点基準＞
い・ろ→　2～3個正答は1点　0～1個正答は2点
は　　→　2個正答は1点　1個以下は2点

	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	D,E,K 平均	D,E,K 加点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 加点率	平均	上限	総加点率
6.錯綜図	1	1	2	0	0	0	0	0	2	0	1	1.3	22%	0.4	6%	0.6	6	11%

1-7）図形の模写

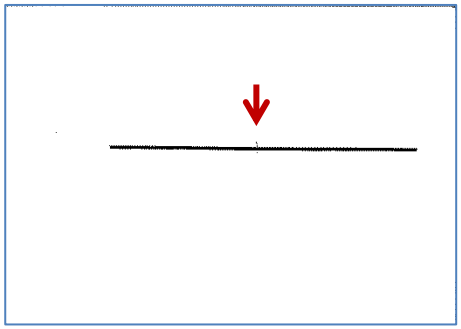


＜採点基準＞　正しい形と認められる場合は0点、
菱型・変形まんじ：角がきれいにつながらない、バランスが悪い場合は1点
立方体：形が少し歪む、線を何回も引くが形としてはできている場合は1点
無反応、余分な線が加わる、形が大きくゆがむ、部分的描写は2点

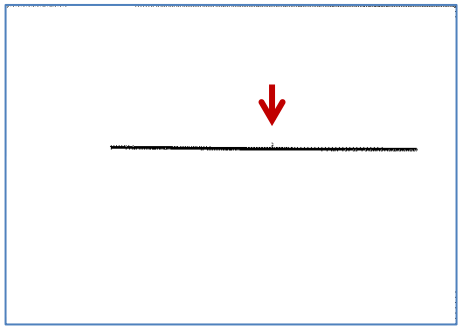
												D,E,K		D,E,K以外				
	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	平均	加点率	平均	加点率	平均	上限	総加点率
7.図形の模写	3	2	5	5	0	0	1	2	0	3	0	3.3	56%	1.4	23%	1.9	6	32%

6-37）線分の2等分

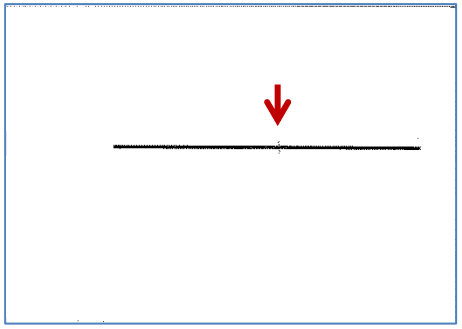
「方法：線の真ん中に印をつけてください」



E



K



D

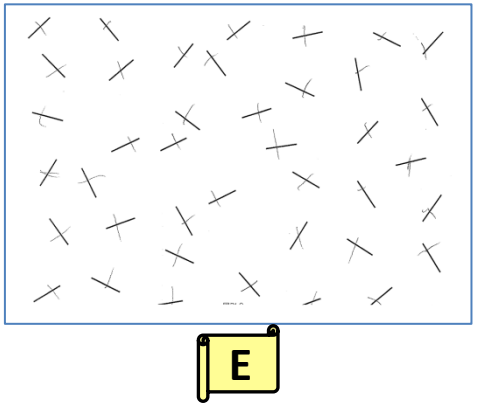
＜採点基準＞
線分の半分の長さを採点：中点より0.5cm以上1cm未満のずれは1点
無反応、1cm以上のずれは2点

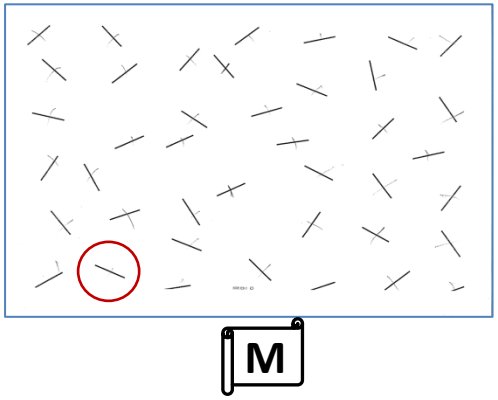
												D,E,K		D,E,K以外				
	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	平均	加点率	平均	加点率	平均	上限	総加点率
37.線分の2等分【左へのずれ】	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	0	0.3	6%	0.5	8%	0.5	6	8%
【右へのずれ】	3	1	2	0	0	0	2	0	0	0	3	2.0	33%	0.6	10%	1.2	6	17%

6-38）線分の抹消

⑥ 視覚の認知と操作：線分の抹消

「方法：すべての線に印をつけてください」



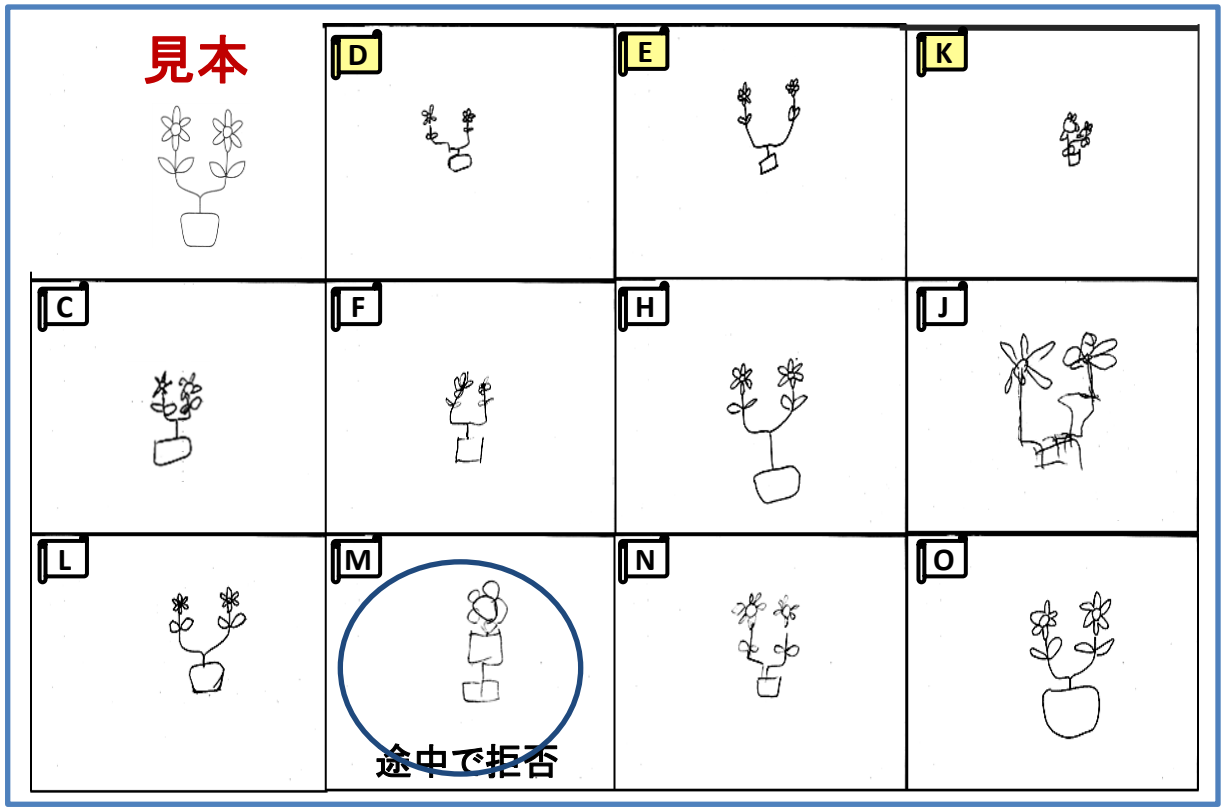


＜採点基準＞

図版を左上、左下、右上、右下に4等分し、それぞれの区分にある線分10個について採点。注意喚起後の抹消は1点

												D,E,K		D,E,K以外				
	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	平均	加点率	平均	加点率	平均	上限	総加点率
38.線分の抹消 【左上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	20	0%
【左下】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	20	0%
【右上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0%	0.0	0%	0.0	20	0%
【右下】	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0.3	0%	0.4	2%	0.3	20	1%

6-39）模写（花）

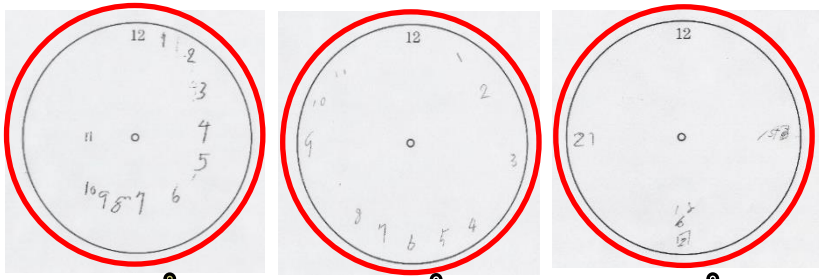


＜採点基準＞
鉢・茎と，左右それぞれの葉・花の6要素を採点
形のゆがみ，バランスが悪い場合は1点
形にならない，無視は2点

													D,E,K		D,E,K以外				
			D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	平均	加点率	平均	加点率	平均	上限	総加点率
39.模写	花	【左】	0	0	6	5	0	0	4	0	-	0	0	2	14%	1.3	9%	1.5	14	11%
	花	【右】	1	0	2	2	2	0	4	0	-	0	1	1	7%	1.3	9%	1.2	14	9%

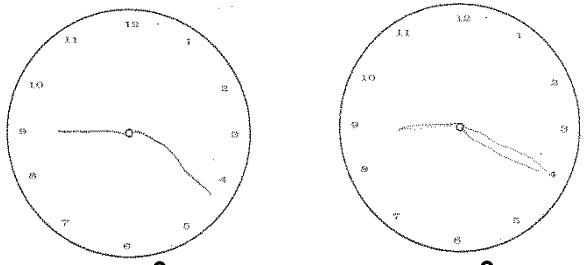
6-41）自発画

＜時計の文字盤＞



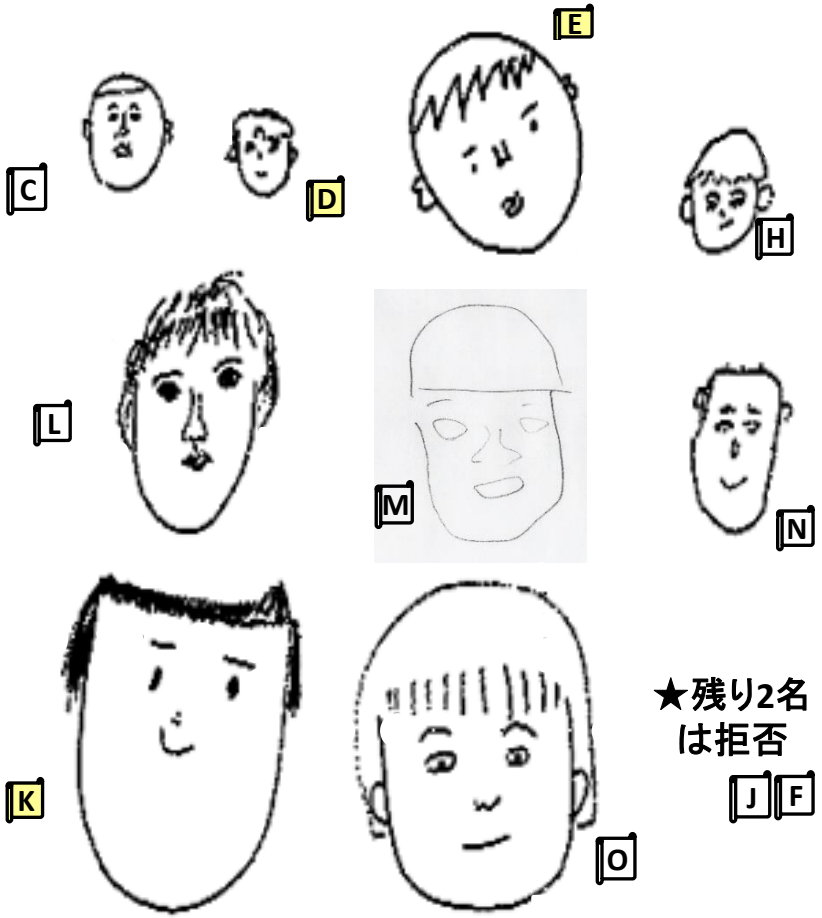
K　F　N

＜4時45分をさす針＞



E　C

＜人の顔＞



C　D　E　H　L　M　N　K　O

★残り2名は拒否　J　F

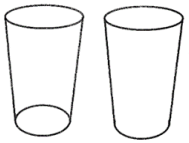
＜採点基準＞画の左半分・右半分で採点。拙劣な反応（バランスの悪さ，軽度のズレ等）は1点。左右のどちらかが形にならない，部分的書き落としは2点

		D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	D,E,K 平均	D,E,K 加点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 総加点率	平均	上限	総加点率
41.自発画	【左】	0	1	3	1	3	0	2	0	0	2	0	1.3	22%	1	17%	1.1	6	18%
	【右】	0	1	2	2	3	0	3	0	0	2	0	1	17%	1.4	24%	1.3	6	22%

3.追加課題

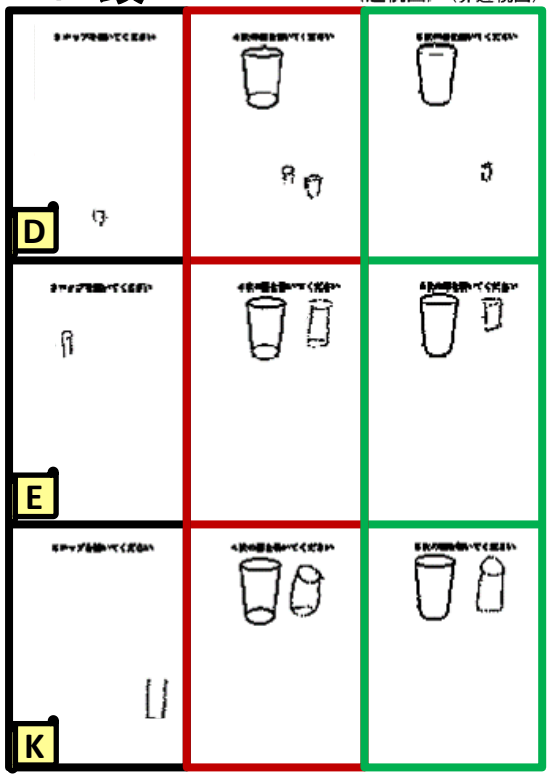
3-1）コップ

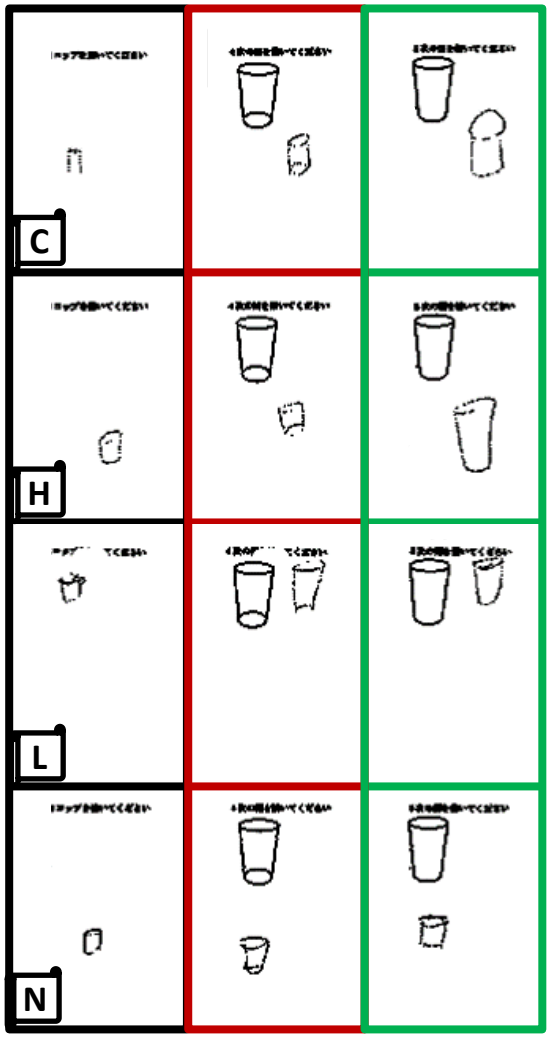
模写

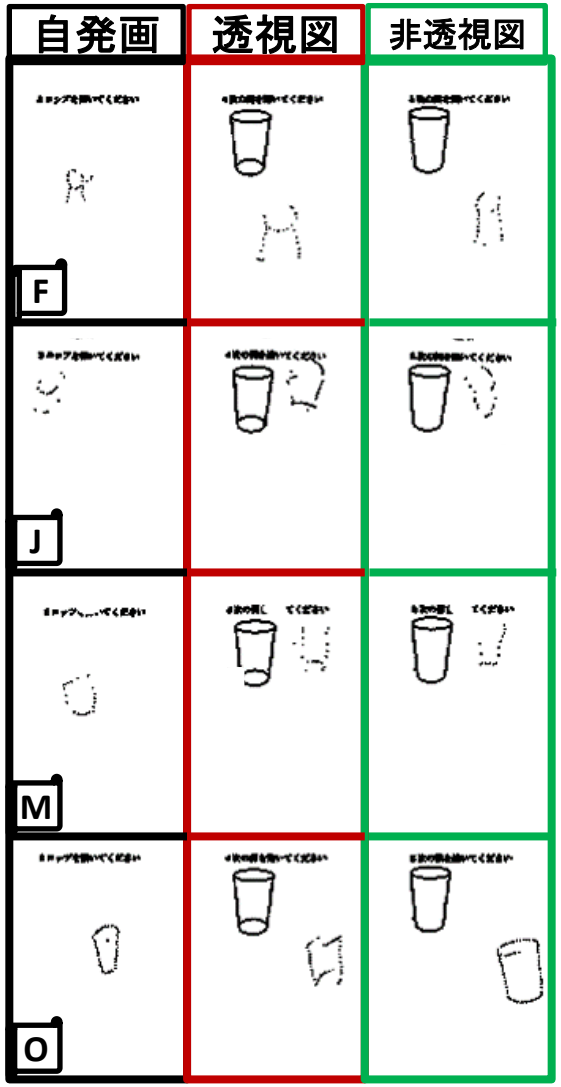


（透視図）（非透視図）

自発画
口頭



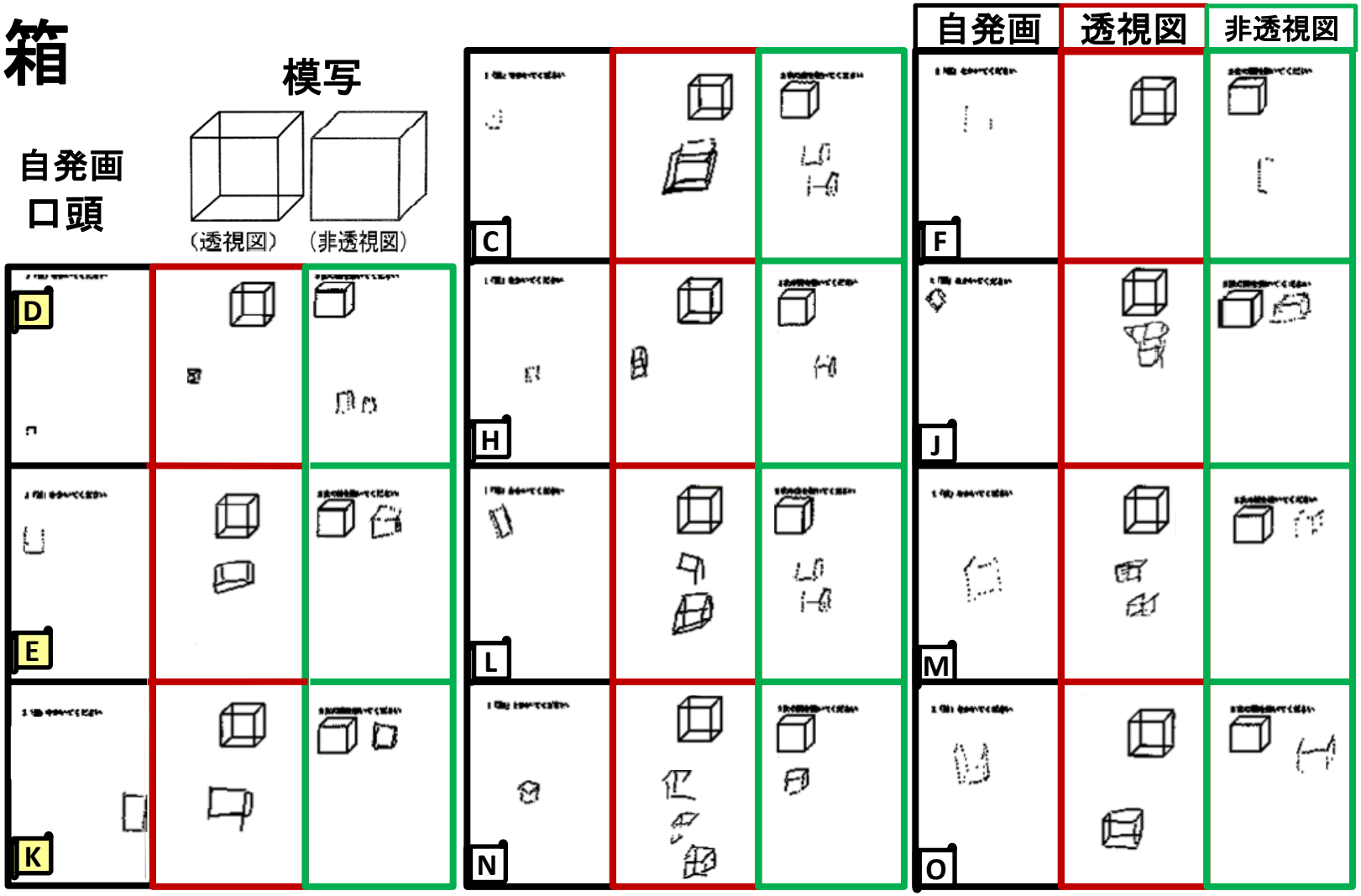




＜採点基準＞正しい形と認められる場合は0点、バランスが悪い場合は1点
無反応、余分な線が加わる、形が大きくゆがむ、部分的描写は2点

	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	D,E,K 平均	D,E,K 加点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 加点率	平均	総加点率
透視図	1	1	1	0	2	0	1	0	0	0	0	1.0	50%	0.38	19%	0.5	27%
非透視図	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0.3	17%	0.38	19%	0.4	18%

3-2）箱



＜採点基準＞正しい形と認められる場合は0点、形が少し歪む、線を何回も引くが形としてはできている場合は1点
無反応、余分な線が加わる、形が大きくゆがむ、部分的描写は2点

	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	D,E,K 平均	D,E,K 加点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 加点率	平均	総加点率
透視図	2	2	2	2	2	0	2	2	1	2	0	2	100%	1.4	69%	1.5	72%
非透視図	2	1	2	2	2	0	1	0	0	0	0	1.7	83%	0.6	31%	0.9	45%

【結果】

- ADAS-jcogでは視覚構成障害を認め、特に立方体透視図の模写や図形の重なりの認識ができなかった。

- VPTAでは視野異常や半側空間無視は認めず、線分の傾きの把握、錯綜図、図形の模写での成績が悪かった。それに比べ、人の顔や時計の自発画や花の模写は比較的良好だった。

- 追加課題では、非透視図より透視図で不完全な描写となった。

【考察】

- 花・人の顔・コップ・箱の模写課題での結果から、身近に存在するものや自己の内部でイメージしやすいものほど描写可能と思われた。

- 非透視図より、透視図で不完全な描写となった理由として、形態イメージの奥行きの認知障害や、複雑な線画の要素を把握し、全体を統合する能力の低下が疑われた。

【まとめ】

MD1患者の視覚認知機能について検討した。

MD1患者の一部で視空間認知に異常があることが示された。

筆頭発表者：演題発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

本研究は、厚生労働科学研究委託費（障害者対策総合事業）
「筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究」で実施した。

筋強直性ジストロフィーにおける高次脳機能障害の検討（第２報）
～視覚認知を中心に～

国立病院機構　あきた病院

〇田路智子（ST）#1　加藤亜希子（ST）#1　佐藤裕美（ST）#1　畠山知之（医）#2
小原講二（医）#2　阿部エリカ（医）#2　小林道雄（医）#2　和田千鶴（医）#2
豊島　至（医）#2

あきた病院　リハビリテーション科　#1　　神経内科　#2

【目的】MyDの進行に伴う高次脳機能障害の検討

第１報にて

（1）ADAS-jcog（Alzheimer’s Disease Assessment　Scale-cognitive component-Japanese version）

（2）FAB（Frontal Assessment Battery)

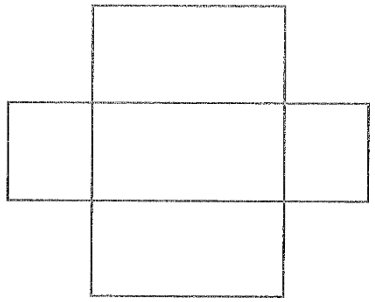
（3）SDS（自己評価式抑うつ性尺度）

（4）やる気スコア　　を実施

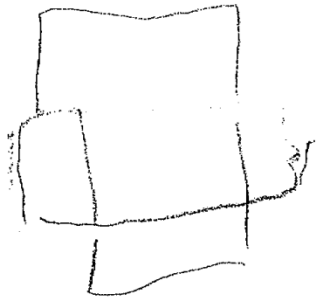
ADAS-jcogの図形模写課題で特徴的な結果が得られた

初回 ADAS-jcog の図形模写課題
（構成行為の検査項目の1つ）

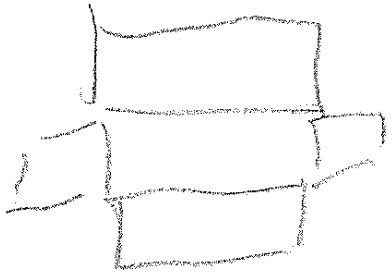
長方形の重なり



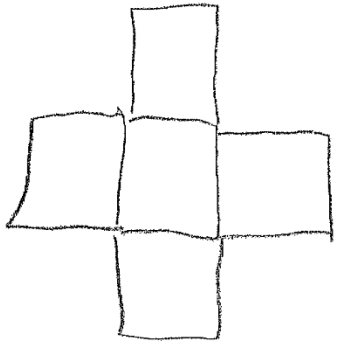
見本



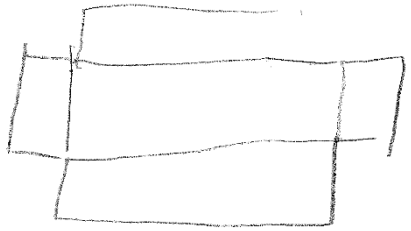
Bさん



Dさん



Eさん



Kさん

4名は、2つの長方形の重なりとして認識せず、
5つの四角を組み合わせて描いた。

視覚認知機能をより詳細に調べる為、前回行った検査に
標準高次視知覚検査（VPTA）を加えて実施

【方法】

～対象～

- 当院入院中のMyD患者 13名（ 男性 8名　女性 5名）
  （先天性MyDを除く検査可能な視力を有する患者）
- 年齢 38～66歳（平均 53.9歳）
- 発症年数 15～40年（平均 28.9年）
- 気管切開患者　2名
- 全員右利き

【方法】

～標準高次視知覚検査（VPTA）～

① 視知覚の基本機能：線分の長さ、数の目測、形の分別、線分の傾き、
錯綜図、図形の模写

② 物体・画像認知：絵の呼称、物品の呼称、状況図

③ 相貌認知：有名人の命名、有名人の指示、未知相貌の異同弁別、
同時照合、表情の叙述

④ 色彩認知：色名呼称、色相の照合、色名による指示、言語-視覚課題、
色鉛筆の選択

⑤ シンボル認知：文字の認知（音読：片仮名）、（音読：単語・漢字）
（音読：単語：仮名）

⑥ 視空間の認知と操作：線分の2等分、線分の抹消、模写（花）、
数字の音読、自発画（時計・人の顔）

【結果】VPTA

		C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	平均	得点率	平均
①.視知覚の基本機能	2.線分の長さの分別	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	10	0.0	0%	0.0
	3.数の目測	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0.3	6	0.3	6%	0.1
	4.形の分別	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0.5	12	0.7	6%	0.1
	5.線分の傾き	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0.3	6	1.0	17%	0.0
	6.錯綜図	0	1	1	0	0	0	2	0	2	0	1	0.7	6	1.3	22%	0.4
	7.図形の模写	5	3	2	4	0	1	5	0	0	3	0	2.3	6	3.3	56%	1.6
②.物体・画像認知	8.絵の呼称	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0.2	16	0.7	4%	0.0
	10.物品の呼称	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	16	0.0	0%	0.0
	16.状況図	4	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	1.2	6	1.3	22%	0.8
③.相貌認知	17.有名人の命名（熟知相貌）	7	2	8	5	0	3	6	6	0	0	2	3.5	16	5.3	33%	2.9
	18.有名人の指示（熟知相貌）	0	2	4	1	0	0	2	0	1	0	0	0.8	16	2.7	17%	0.3
	20.未知相貌の異同弁別	0	2	0	2	2	0	2	3	0	2	2	1.4	8	1.3	17%	1.4
	21.未知相貌の同時照合	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	6	0.0	0%	0.0
	22.表情の叙述	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	6	0.0	0%	0.0
④.色彩認知	25.色名呼称	2	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0.5	16	0.7	4%	0.4
	26.色相の照合	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	16	0.0	0%	0.0
	28.色名による指示	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0.2	16	0.0	0%	0.3
	29.言語-視覚課題	2	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0.3	6	0.0	0%	0.5
	30.言語-言語課題	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	6	0.0	0%	0.0
	31.色鉛筆の選択	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2	6	0.0	0%	0.3
⑤.シンボル認知	32.記号の認知	1	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0.8	8	0.7	8%	0.6
	33.文字の認知（音読） イ）片仮名	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	6	0.0	0%	0.0
	33.文字の認知（音読） ロ）ひらがな	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	12	0.0	0%	0.0
	33.文字の認知（音読） ハ）漢字	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0.2	12	0.7	6%	0.0
	33.文字の認知（音読） ニ）数字	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	12	0.0	0%	0.0
	33.文字の認知（音読） ホ）単語・漢字	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	12	0.0	0%	0.0
	33.文字の認知（音読） ヘ）単語・仮名	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	12	0.0	0%	0.0
	36.文字の照合	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	8	0.0	0%	0.0
⑥.視空間の認知と操作	37.線分の2等分【左へのずれ】	0	0	0	0	0	1	1	0	0	3	0	0.5	6	0.3	6%	0.5
	【右へのずれ】	0	3	1	0	0	2	2	0	0	0	3	1.2	6	2.0	33%	0.6
	38.線分の抹消 【左上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0
	【左下】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0
	【右上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0
	【右下】	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0.3	20	0.0	0%	0.4
	39.模写 花【左】	5	0	0	0	0	4	6	0	−	0	0	1.5	14	2.0	14%	1.3
	【右】	2	1	0	2	0	4	2	0	−	0	1	1.2	14	1.0	7%	1.3
	40.数字の音読 右読み【左】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	24	0.0	0%	0.0
	【右】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	24	0.0	0%	0.0
	左読み【左】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	24	0.0	0%	0.0
	左読み【右】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	24	0.0	0%	0.0
	41.自発画 【左】	1	0	1	3	0	2	3	0	0	2	0	1.3	6	1.3	22%	1.0
	【右】	2	0	1	3	0	3	2	0	0	2	0	1.3	6	1.0	17%	1.4

(5)標準高次視知覚検査(VPTA)

① 視知覚の基本機能:線分の長さ、数の目測、形の分別、線分の傾き、錯綜図、図形の模写

		C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	D,E,K 平均	D,E,K 得点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 得点率
①視知覚の基本機能	1.視覚体験の変化	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0.2	2	0.0	0%	0.3	13%
	2.線分の長さの分別	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0	0.0	0%	0.0	0%
	3.数の目測	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0.3	6	0.3	6%	0.1	2%
	4.形の分別	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0.5	12	0.7	6%	0.1	1%
	5.線分の傾き	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0.3	6	1.0	17%	0.0	0%
	6.錯綜図	0	1	1	0	0	0	2	0	2	0	1	0.7	6	1.3	22%	0.4	6%
	7.図形の模写	5	3	2	4	0	1	5	0	0	3	0	2.3	6	3.3	56%	1.6	27%

【結果】 標準高次視知覚検査(VPTA) ①視知覚の基本機能:線分の傾き

「方法:どちらが大きく開いていますか。上ですか、下ですか」

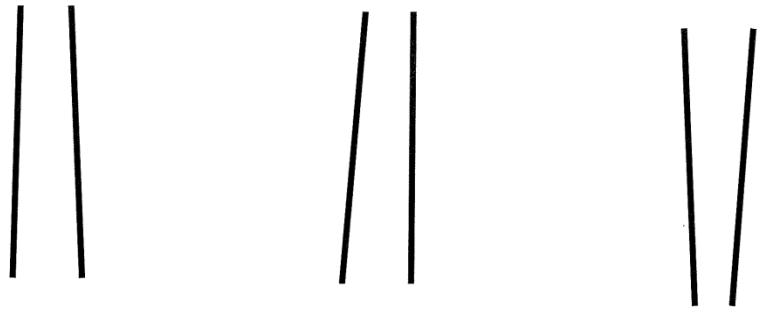


図 17

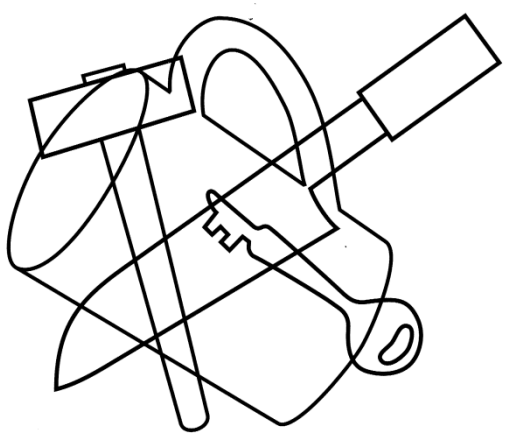
採点基準:

遅延反応　1点　、無反応・誤り　2点

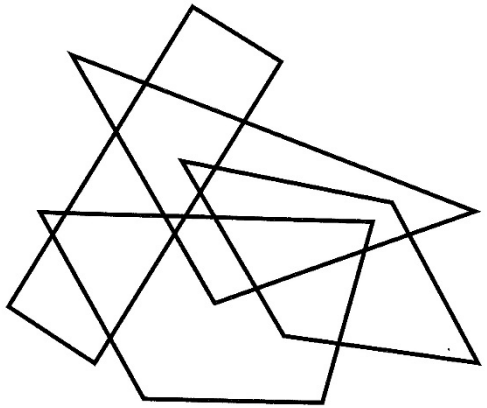
	C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	D,E,K 平均	D,E,K 得点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 得点率
5.線分の傾き	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0.3	6	1.0	17%	0.0	0%

【結果】 標準高次視知覚検査（VPTA） ①視知覚の基本機能：錯綜図

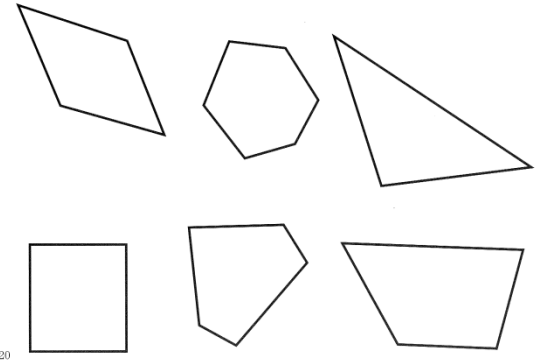
い 「みえた物の名前をすべて言ってください」



ろ 「いくつ重なっているか数を言って下さい」



は 「（ろ）の図には（は）の図のどの図形がありますか」



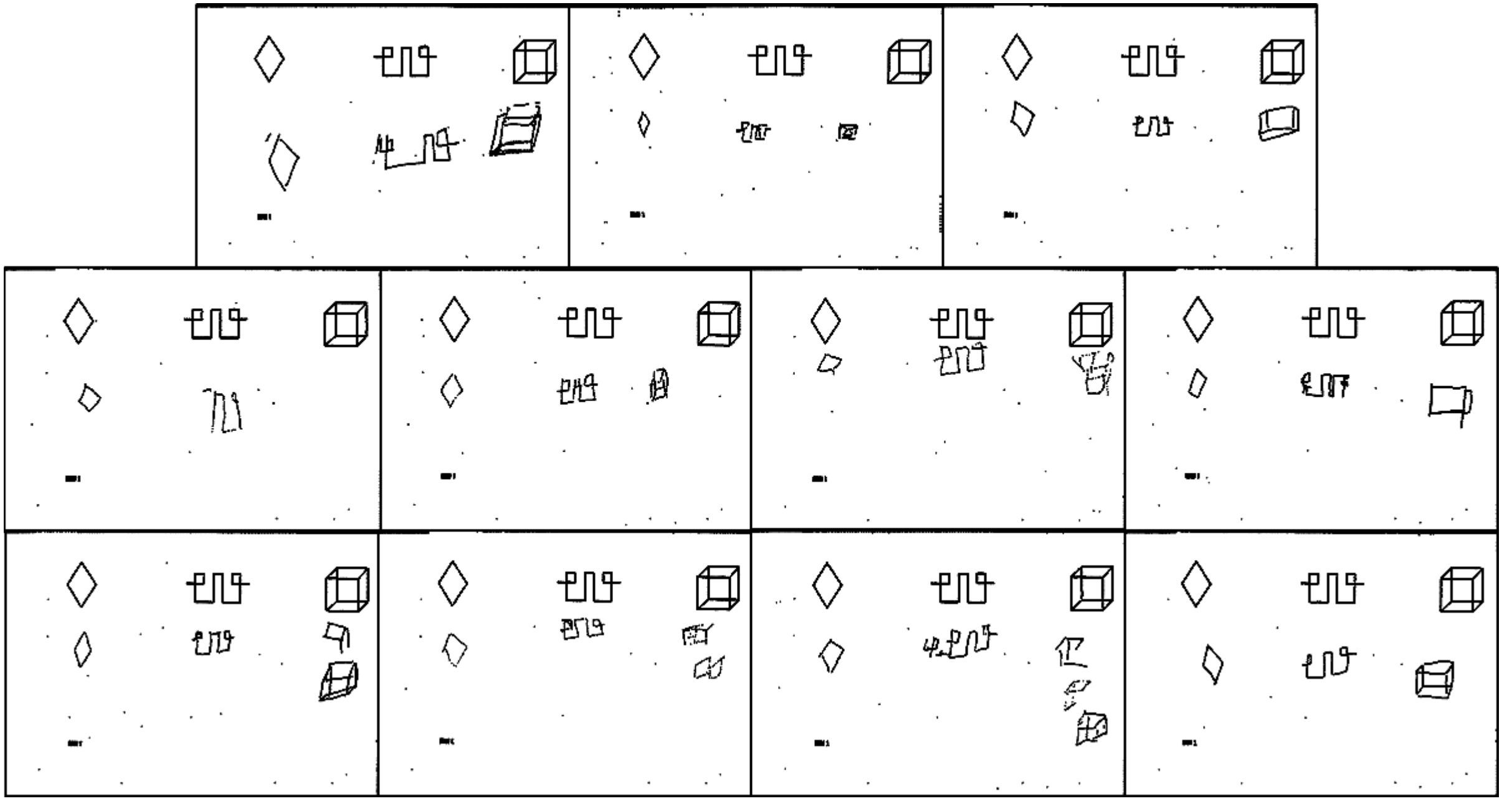
採点基準：

い・ろ→ 2～3個正答は1点 0～1個正答は2点

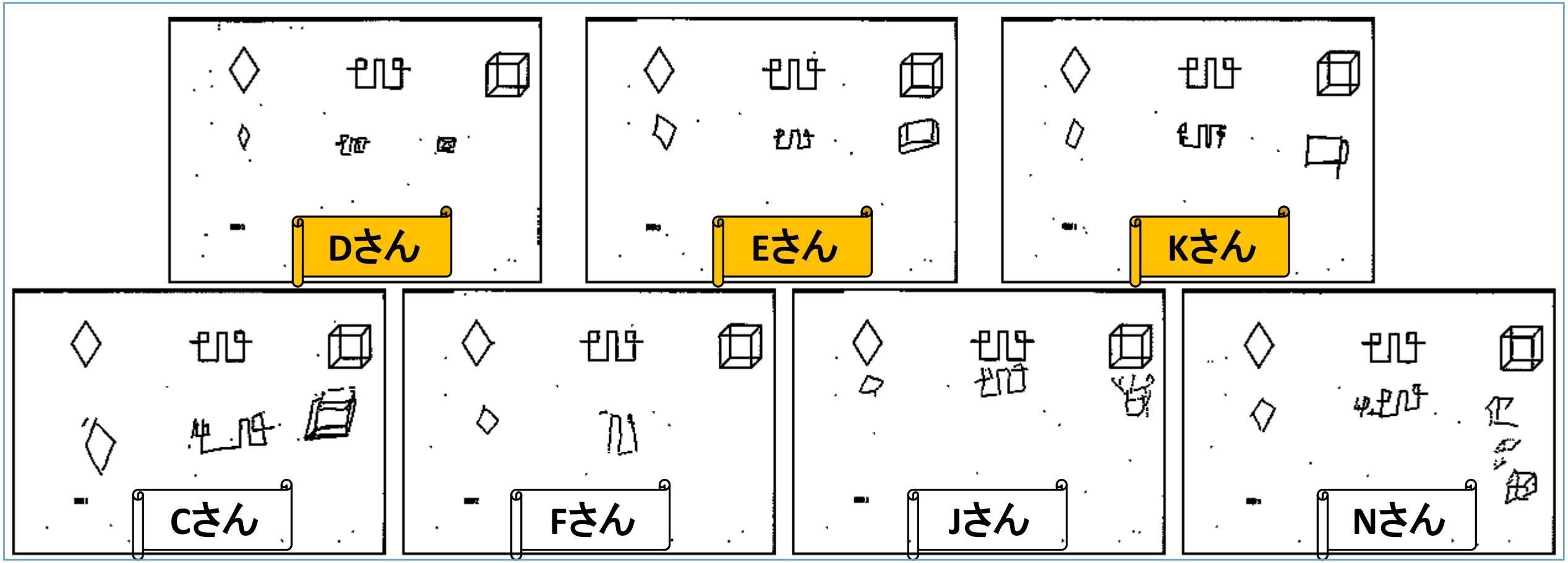
は → 2個正答は1点 1個以下は2点

	C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	D,E,K 平均	D,E,K 得点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 得点率
6.錯綜図	0	1	1	0	0	0	2	0	2	0	1	0.7	6	1.3	22%	0.4	6%

【結果】 標準高次視知覚検査（VPTA） ①視知覚の基本機能：図形の模写



【結果】 標準高次視知覚検査（VPTA） ①視知覚の基本機能：図形の模写



	C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	D,E,K 平均	D,E,K 得点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 得点率
7.図形の模写	5	3	2	4	0	1	5	0	0	3	0	2.3	6	3.3	56%	1.6	27%

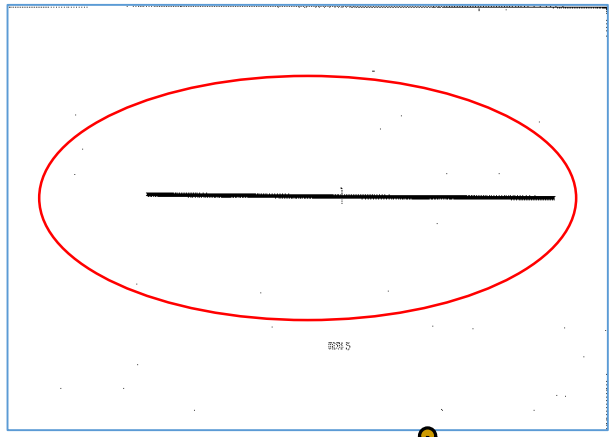
(5)標準高次視知覚検査(VPTA)

⑥ 視空間の認知と操作:線分の2等分、線分の抹消、模写(花)、数字の音読 自発画(時計・人の顔)

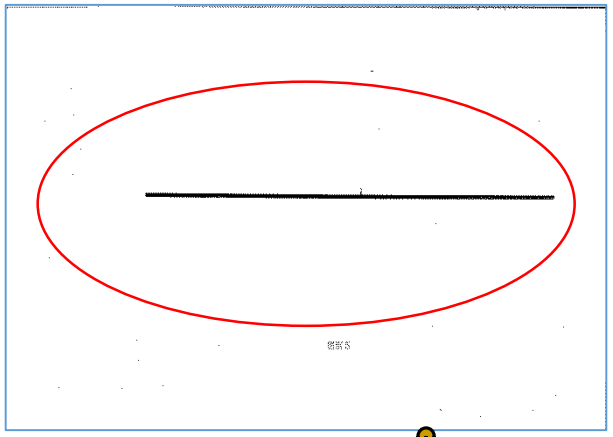
		C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	D,E,K 平均	D,E,K 得点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 得点率
⑥視空間の認知と操作	37.線分の2等分 【左へのずれ】	0	0	0	0	0	1	1	0	0	3	0	0.5	6	0.3	6%	0.5	8%
	【右へのずれ】	0	3	1	0	0	2	2	0	0	0	3	1.2	6	2.0	33%	0.6	10%
	38.線分の抹消 【左上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0	0%
	【左下】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0	0%
	【右上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0	0%
	【右下】	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0.3	20	0.0	0%	0.4	2%
	39.模写 花 【左】	5	0	0	0	0	4	6	0	-	0	0	1.5	14	2.0	14%	1.3	9%
	花 【右】	2	1	0	2	0	4	2	0	-	0	1	1.2	14	1.0	7%	1.3	9%
	40.数字の音読 右読み【左】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	24	0.0	0%	0.0	0%
	右読み【右】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	24	0.0	0%	0.0	0%
	左読み【左】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	24	0.0	0%	0.0	0%
	左読み【右】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	24	0.0	0%	0.0	0%
	41.自発画 【左】	1	0	1	3	0	2	3	0	0	2	0	1.3	6	1.3	22%	1.0	17%
	【右】	2	0	1	3	0	3	2	0	0	2	0	1.3	6	1.0	17%	1.4	24%

【結果】 標準高次視知覚検査（VPTA）⑥ 視覚の認知と操作：線分の2等分

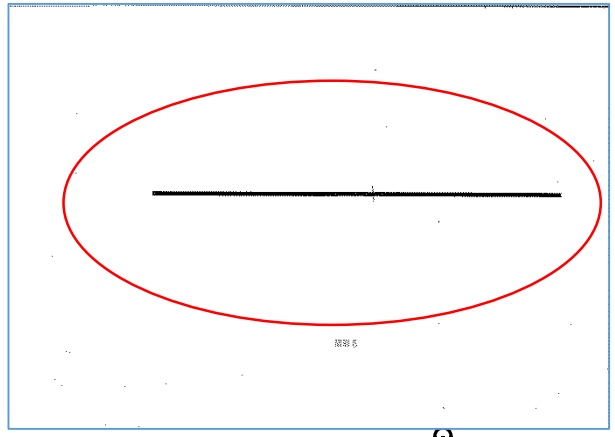
「方法：線の真ん中に印をつけてください」



Eさん



Kさん



Dさん

採点基準

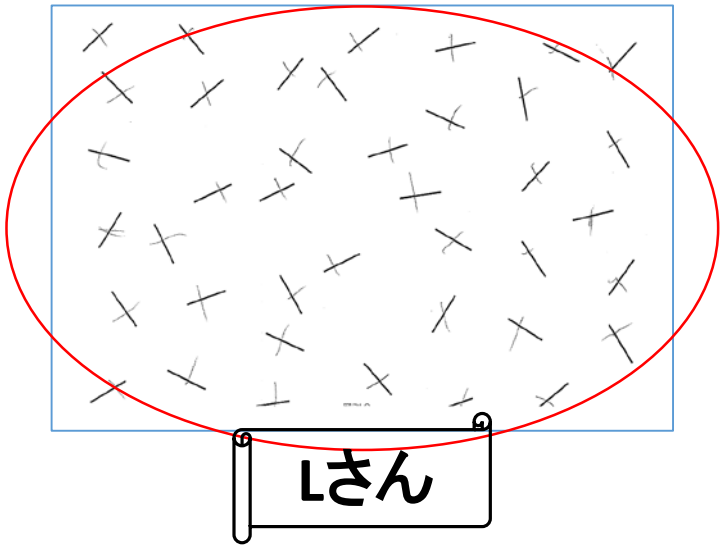
線分の半分の長さを採点：中点より0.5cm以上1cm未満のずれは1点

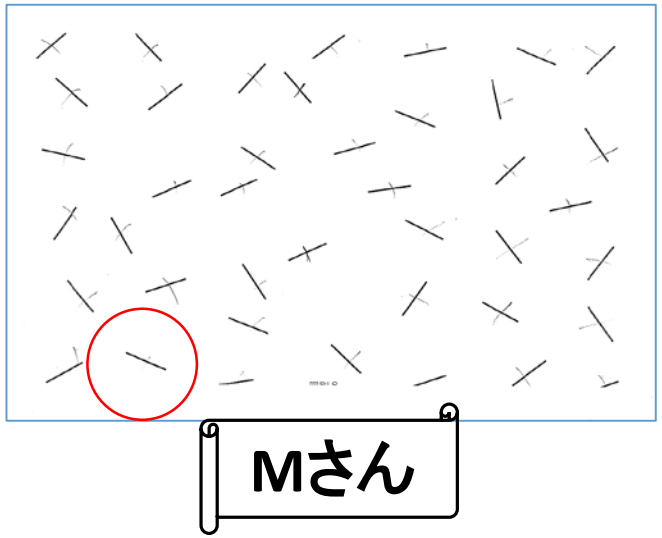
無反応、1cm以上のずれは2点

	C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	D,E,K 平均	D,E,K 得点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 得点率
37.線分の2等分【左へのずれ】	0	0	0	0	0	1	1	0	0	3	0	0.5	6	0.3	6%	0.5	8%
【右へのずれ】	0	3	1	0	0	2	2	0	0	0	3	1.2	6	2.0	33%	0.6	10%

【結果】 標準高次視知覚検査（VPTA）⑥ 視覚の認知と操作：線分の抹消

「方法：すべての線に印をつけてください」





採点基準：

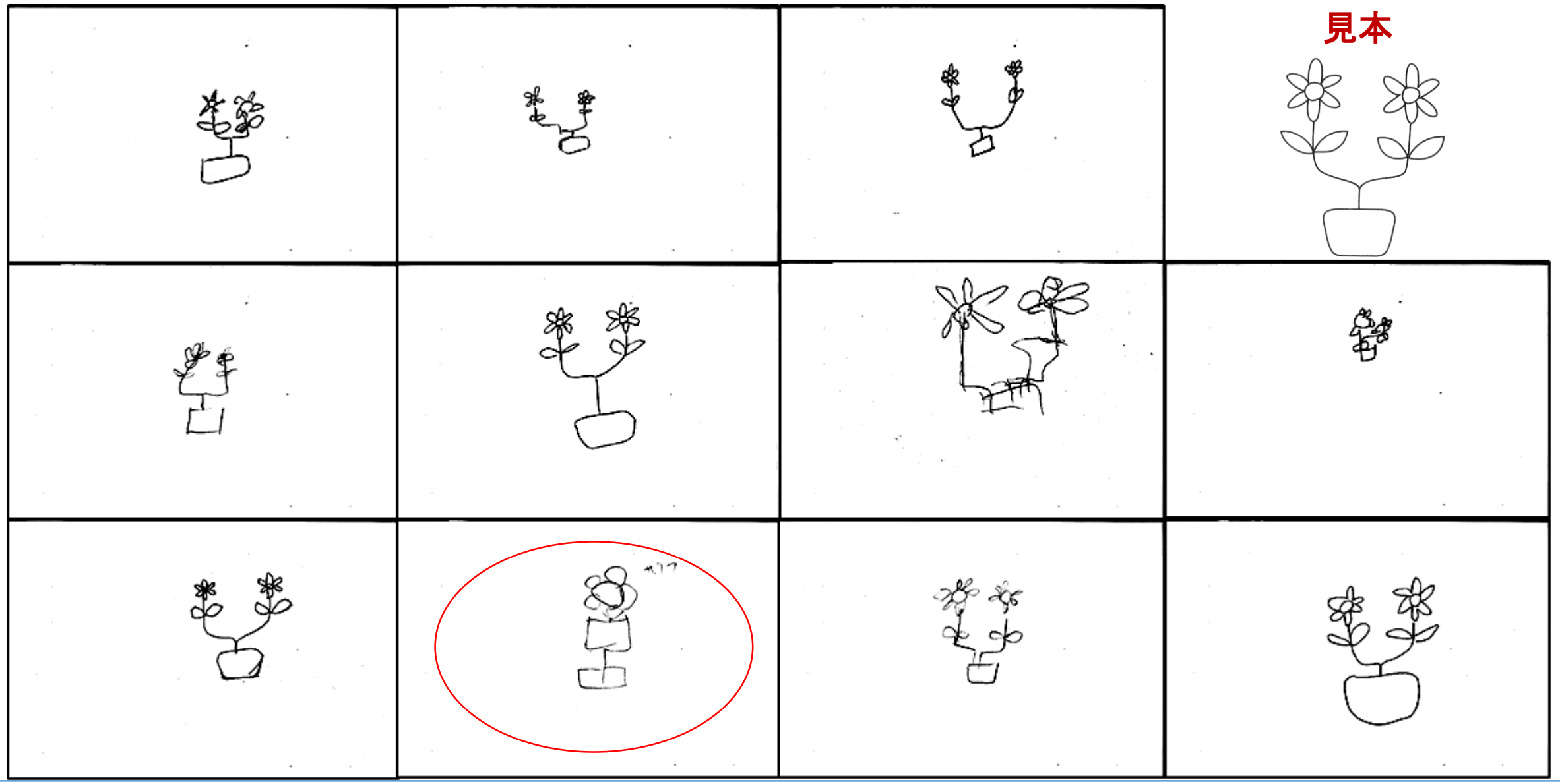
図版を左上、左下、右上、右下に4等分し、それぞれの区分にある線分10個について採点

注意喚起後の抹消は1点

	C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	D,E,K 平均	D,E,K 得点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 得点率
38.線分の抹消 【左上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0	0%
【左下】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0	0%
【右上】	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	20	0.0	0%	0.0	0%
【右下】	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0.3	20	0.0	0%	0.4	2%

【結果】 標準高次視知覚検査(VPTA)⑥ 視覚の認知と操作:模写(花)

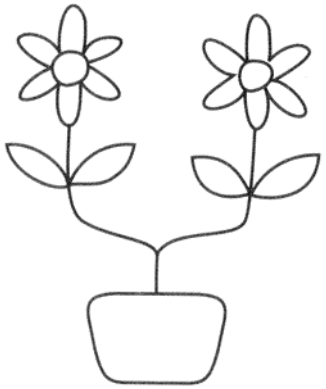
「方法:これ(見本)を真似して描いてください」

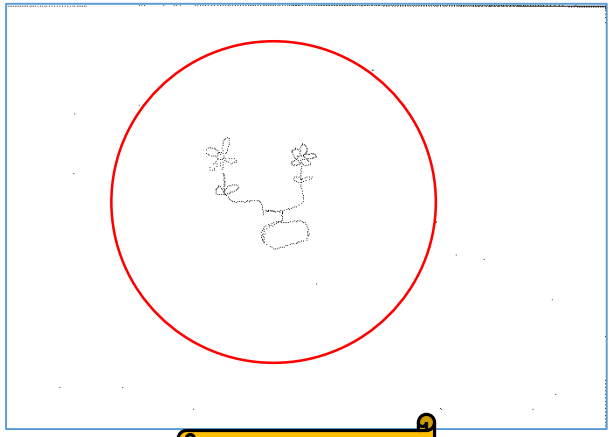


【結果】 標準高次視知覚検査(VPTA)⑥ 視覚の認知と操作:模写(花)

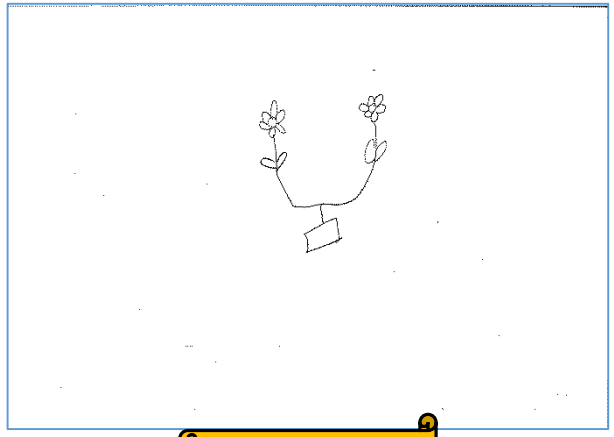
「方法:これ(見本)を真似して描いてください」

見本

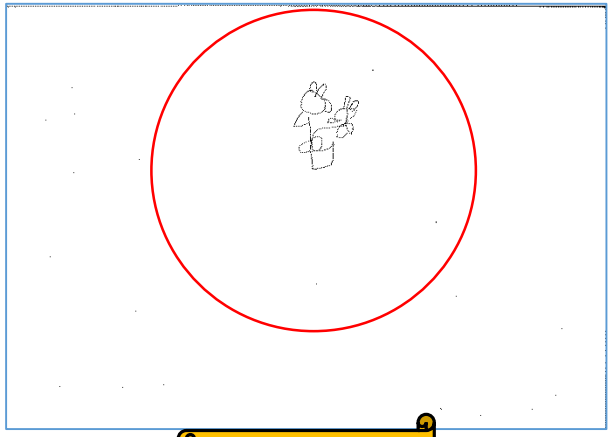




Dさん



Eさん



Kさん

採点基準:

鉢・茎と、左右それぞれの葉・花の6要素を採点

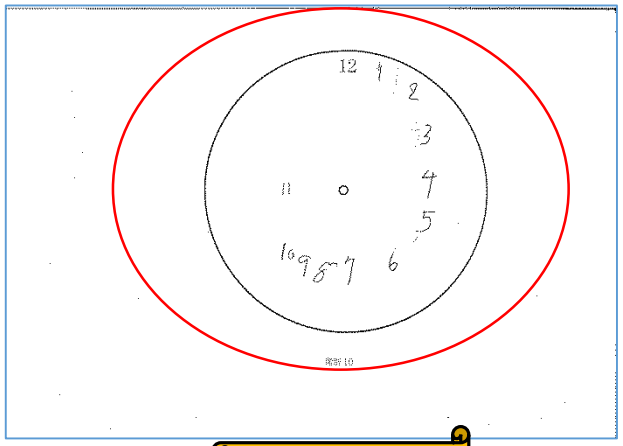
形のゆがみ、バランスが悪い場合は1点

形にならない、無視は2点

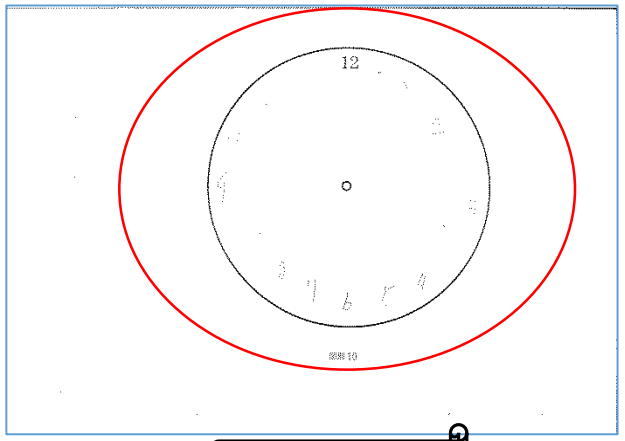
			C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	D,E,K 平均	D,E,K 得点率	D,E,K以外 平均	D,E,K以外 得点率
39.模写	花	【左】	5	0	0	0	0	4	6	0	-	0	0	1.5	14	2.0	14%	1.3	9%
	花	【右】	2	1	0	2	0	4	2	0	-	0	1	1.2	14	1.0	7%	1.3	9%

【結果】標準高次視知覚検査(VPTA)⑥ 視空間認知と操作:自発画:文字

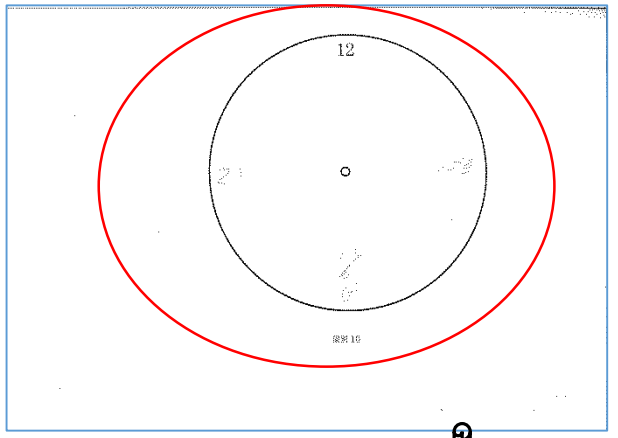
「方法:時計の文字盤です。ここに時計の数字を描き入れてください」



Kさん



Fさん



Nさん

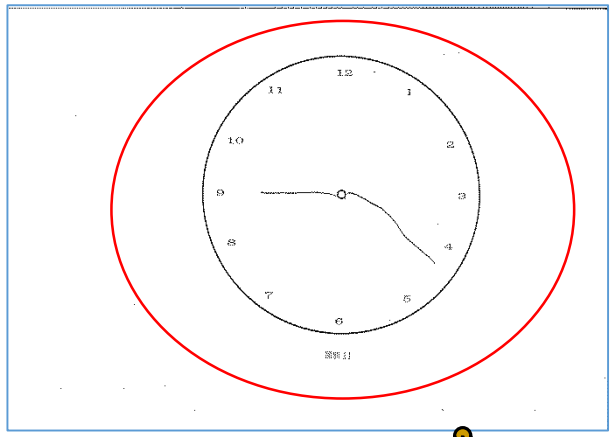
採点基準:

拙劣反応は1点、著しいゆがみ、部分的な書き落とし、無反応は2点

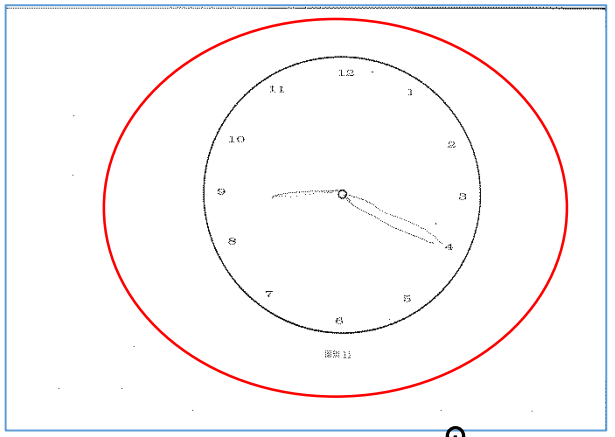
													D,E,K		D,E,K以外	
	C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	平均	得点率	平均	得点率
41.自発画 【左】	1	0	1	3	0	2	3	0	0	2	0	1.3	6	1.3	22%	1.0	17%
【右】	2	0	1	3	0	3	2	0	0	2	0	1.3	6	1.0	17%	1.4	24%

【結果】 標準高次視知覚検査(VPTA)⑥ 視空間認知と操作:自発画:4時45分

「方法:4時45分の時の長い針と短い針を描き入れてください」



Eさん



Cさん

採点基準:画の左半分・右半分で採点

拙劣な反応(バランスの悪さ、軽度のズレ等)は1点

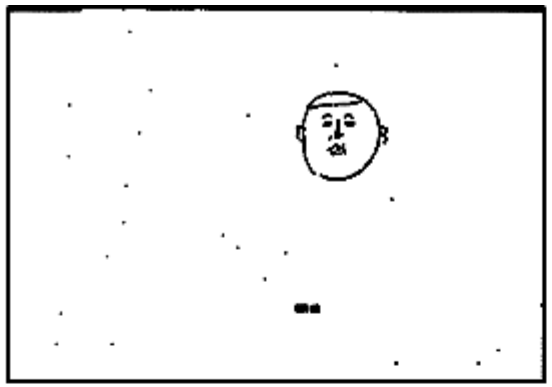
左右のどちらかが形にならない、部分的書き落としは2点

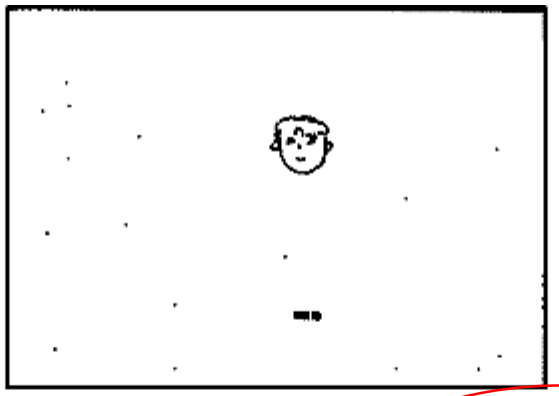
													D,E,K		D,E,K以外	
	C	D	E	F	H	J	K	L	M	N	O	平均	上限	平均	得点率	平均	得点率
41.自発画 【左】	1	0	1	3	0	2	3	0	0	2	0	1.3	6	1.3	22%	1.0	17%
【右】	2	0	1	3	0	3	2	0	0	2	0	1.3	6	1.0	17%	1.4	24%

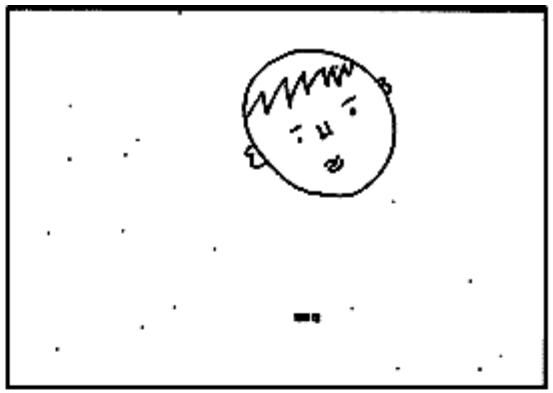
【結果】標準高次視知覚検査（VPTA）⑥ 視空間認知と操作：自発画：人の顔

1A-4-03

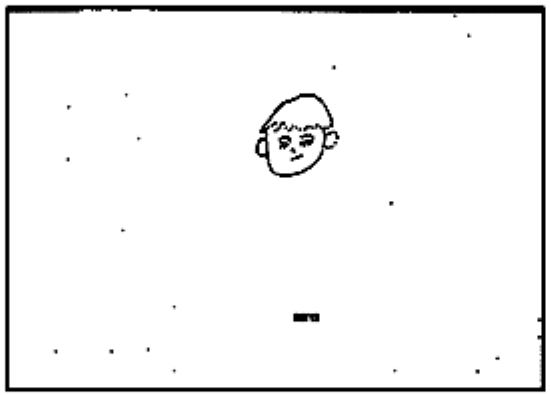
「方法：人の顔を描いてください」



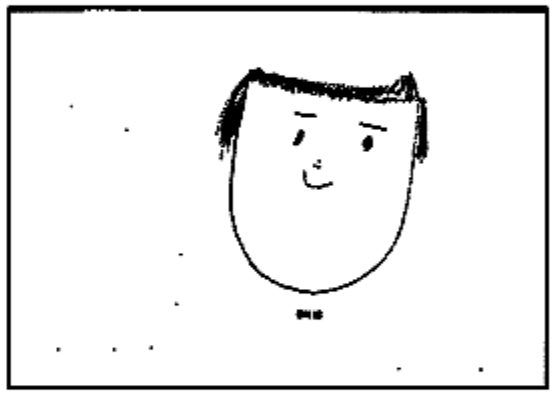


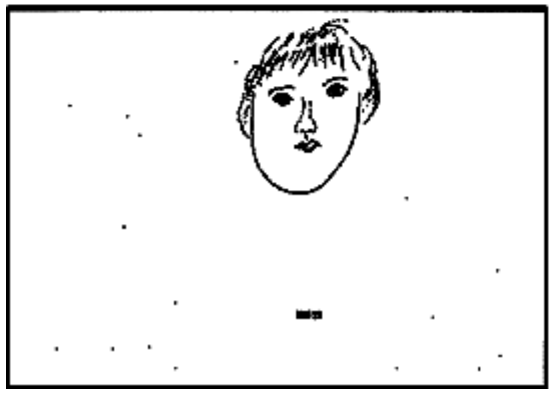


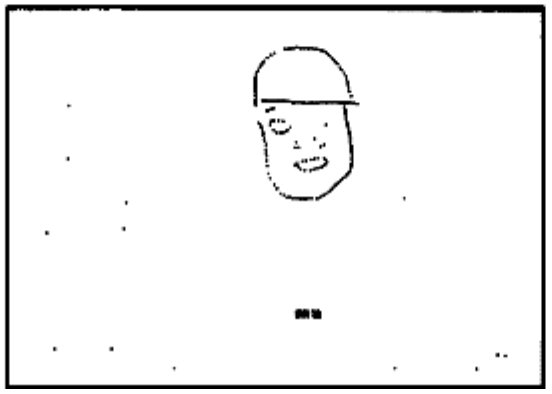
拒否
２点

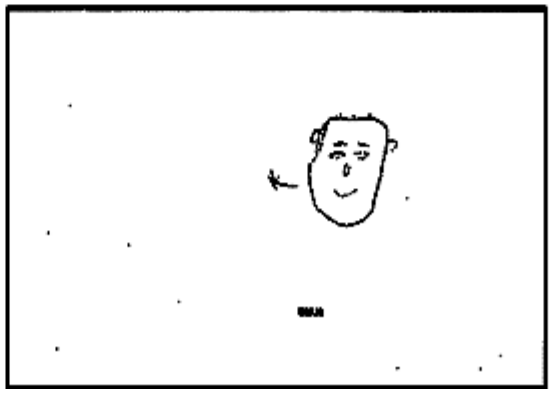


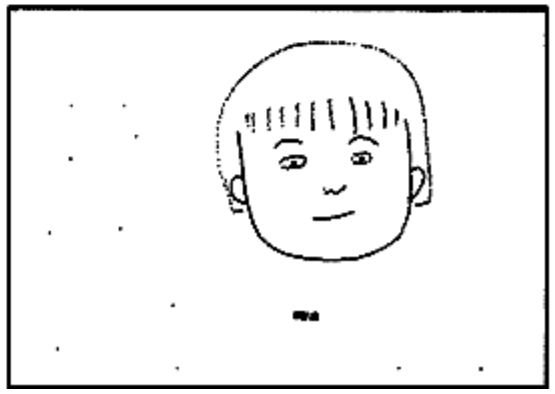
拒否
２点











【結果】

- 立方体は描写困難な患者が多い
- 花・人の顔は、描写できる患者が多い

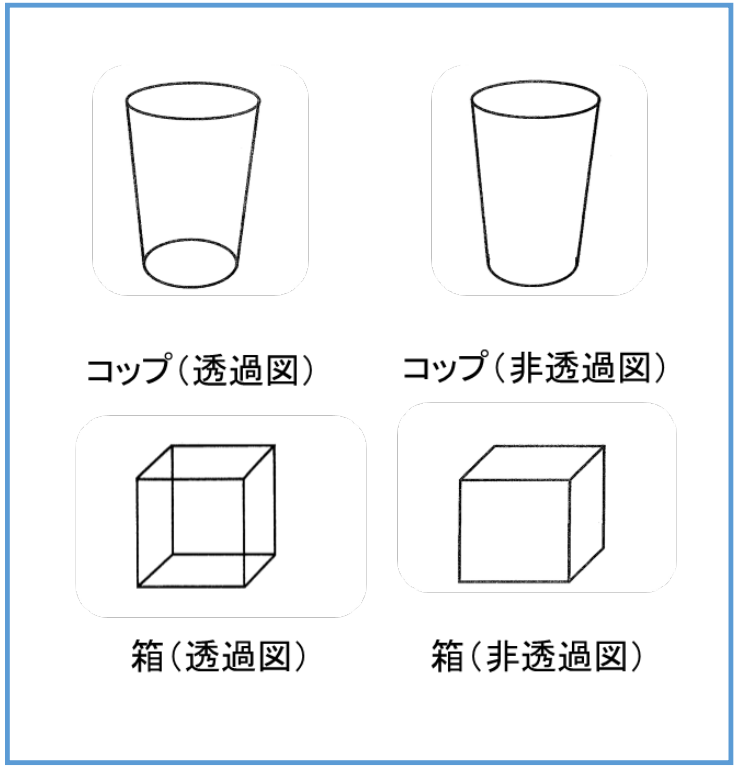
身近にあり、形態イメージを持っているものは描けるのでは？

【VPTAの結果から】

追加課題実施

コップ
箱

- 自発画（口頭指示）
- 模写（透視図）
- 模写（非透視図）



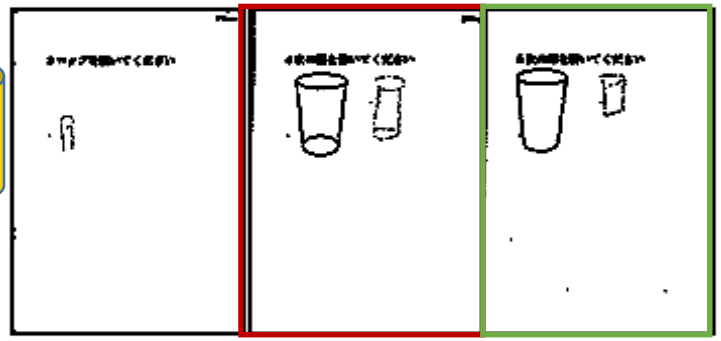
追加課題　コップ

自発画 | 透視図 | 非透視図

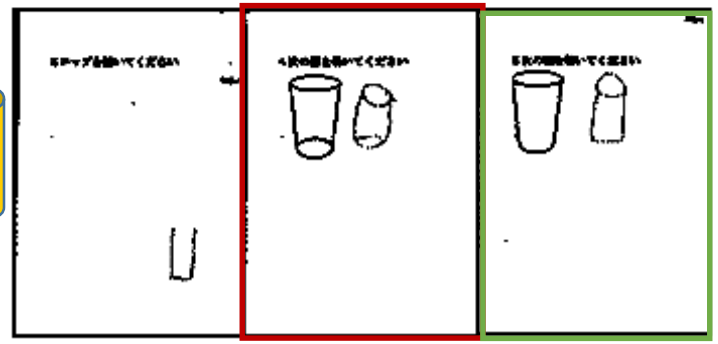
1A-4-03

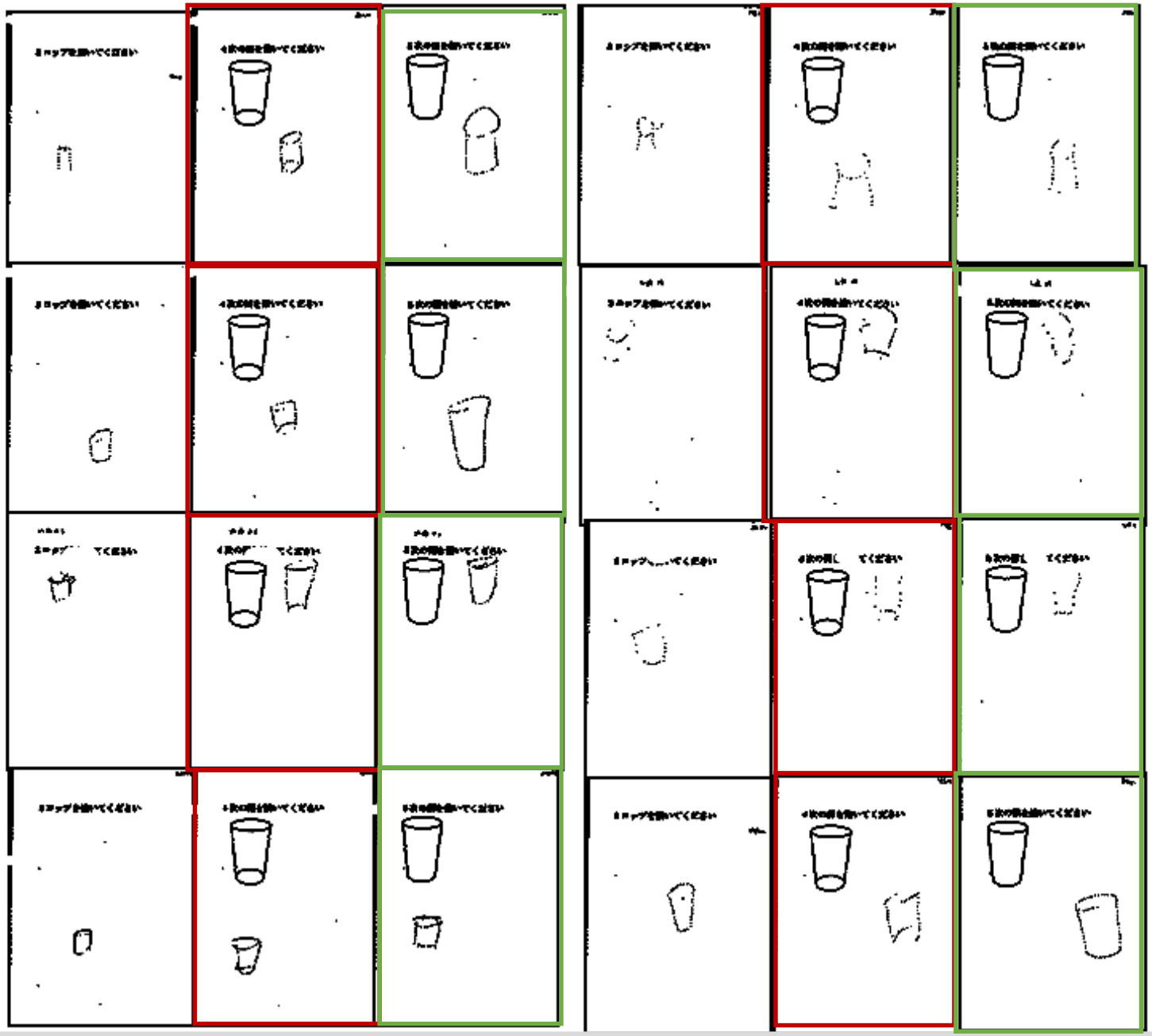
Dさん

Eさん



Kさん



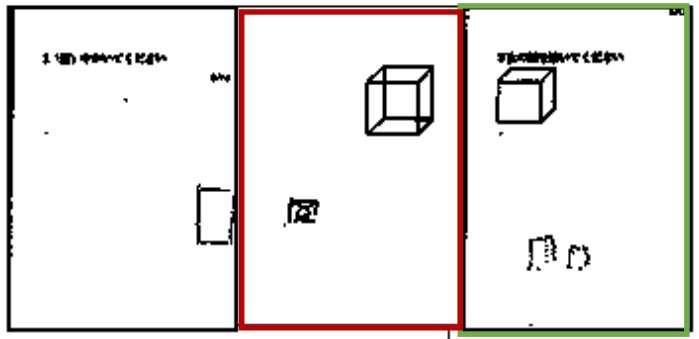


追加課題　箱

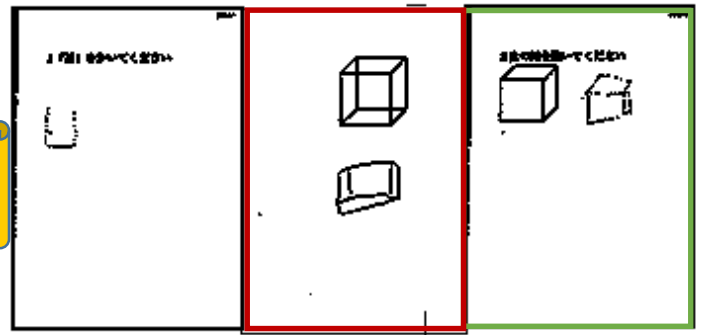
自発画　透視図　非透視図

1A-4-03

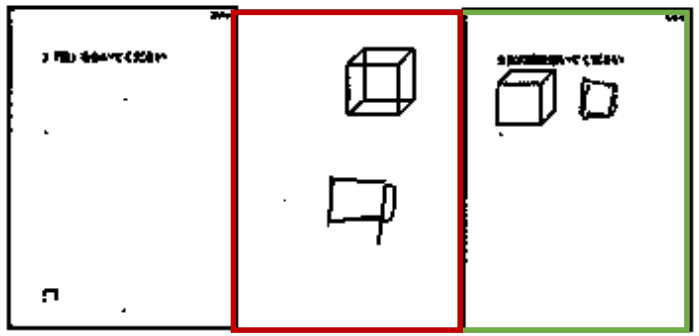
Dさん

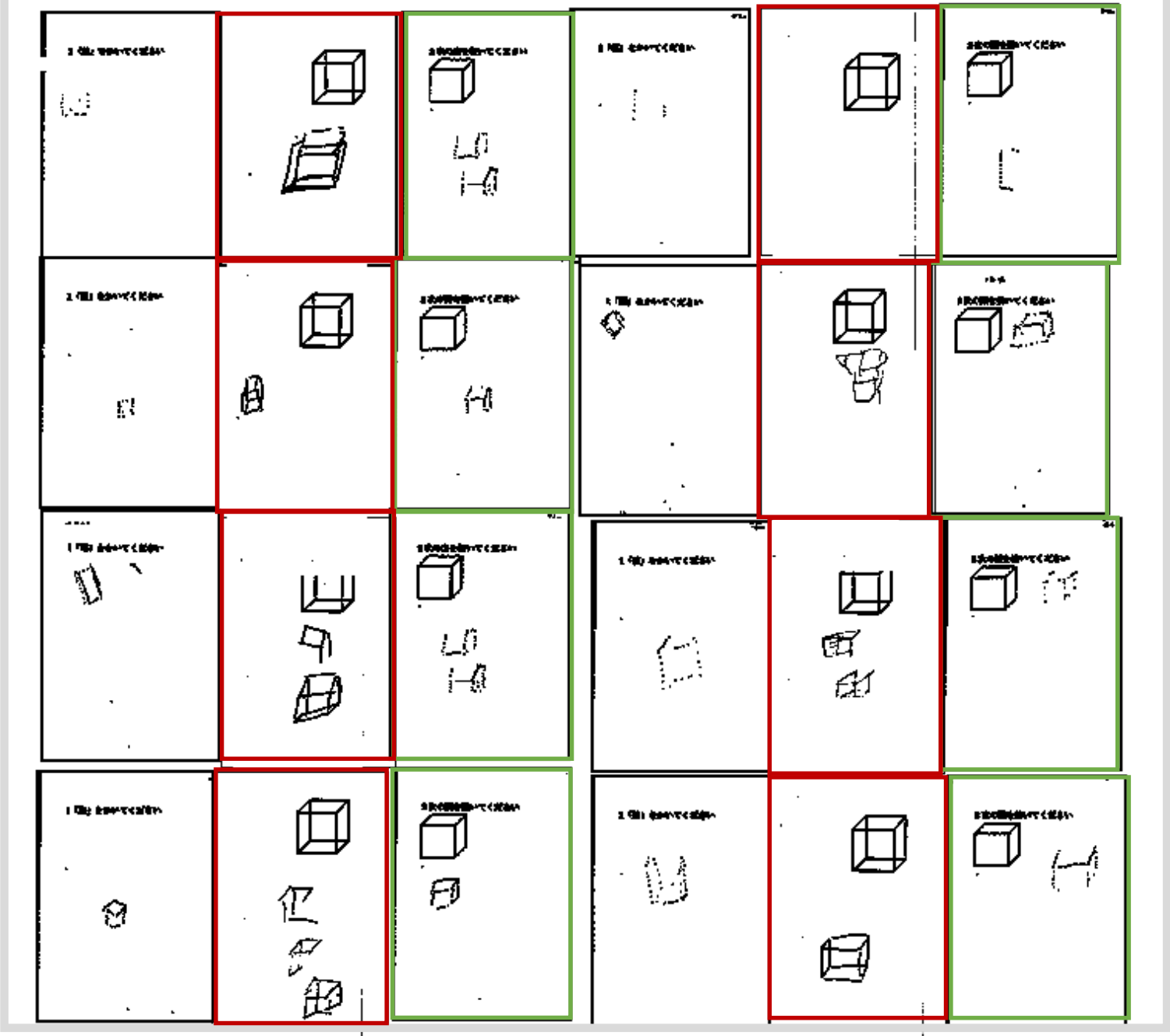


Eさん



Kさん





【考察】

- 線分2等分、線分抹消の結果からは、視野異常や半側空間無視は考えにくい。
- 花・人の顔・コップ・箱の描写結果から、身近に存在するものやイメージしやすいものは描写可能と思われる。
- 立方体（箱）が不完全だったのは、抽象的な幾何学的図形を形態イメージとして捉えきれないからではと考えた。
- 非透視図より、透視図で不完全な描写となった理由としては、奥行きが捉えられないためか、複雑な線画の要素的部分を把握・統合する能力の低下によるものかは特定できなかった。

【結論】

- VPTA はMyDの視覚認知機能評価のスクリーニングとして有効 であった。

- MyD患者の一部で視空間認知に異常があることが示唆された。

筋強直性ジストロフィーにおける視覚認知障害の検討（第３報）

田路智子[2)]　加藤亜希子[2)]　佐藤裕美[2)]　松原梨絵子[2)]
畠山知之[1)]　武田芳子[1)]　小原講二[1)]　阿部エリカ[1)]
小林道雄[1)]　和田千鶴[1)]　豊島 至[1)]

[1)]国立病院機構あきた病院神経内科
[2)]国立病院機構あきた病院リハビリテーション科

【前回までの報告（第1報）】

目的：MyDの進行に伴う高次脳機能障害の検討

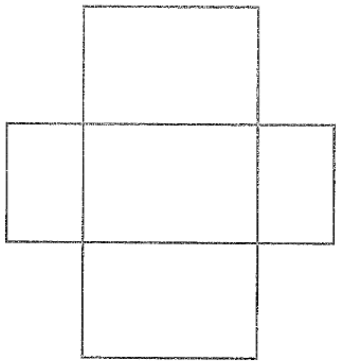
（1）ADAS-Jcog（Alzheimer’s Disease Assessment Scale-cognitive component-Japanese version）
（2）FAB（Frontal Assessment Battery)
（3）SDS（自己評価式抑うつ性尺度）
（4）やる気スコア　　を実施

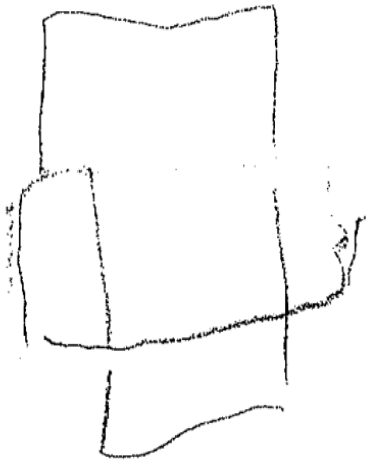
ADAS-Jcogの図形模写課題で特徴的な結果が得られた。

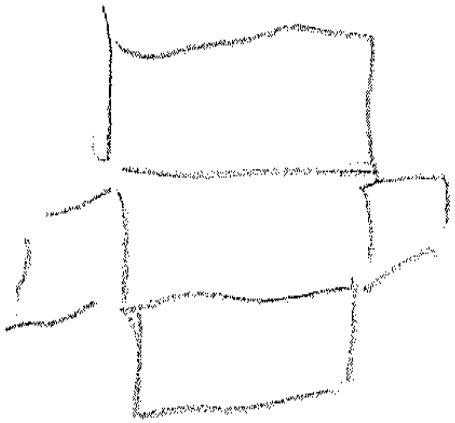
ADAS-Jcog
図形模写課題

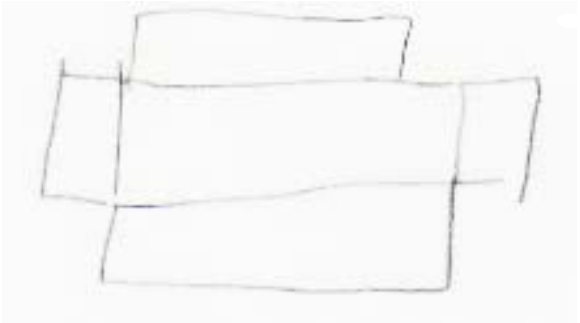
長方形の重なり

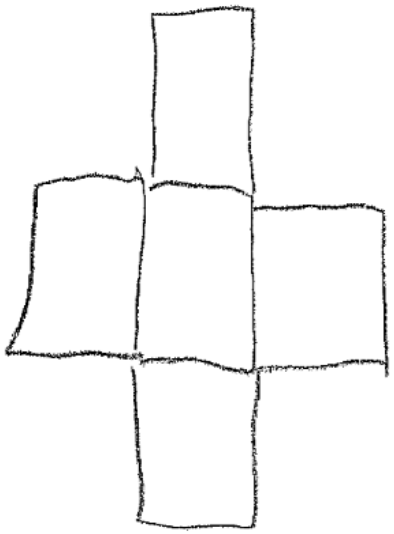
見本





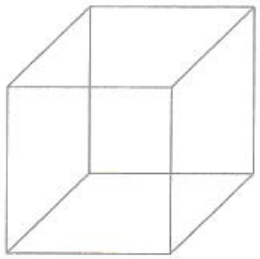




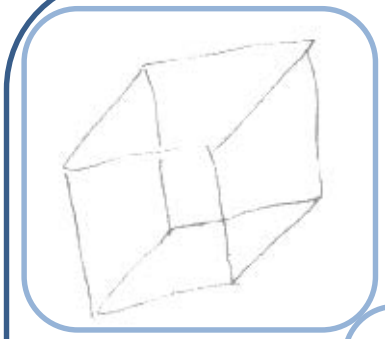


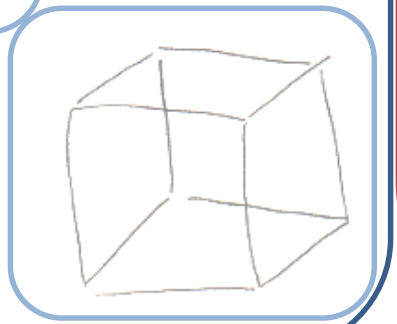
ADAS-Jcog
立方体

見本



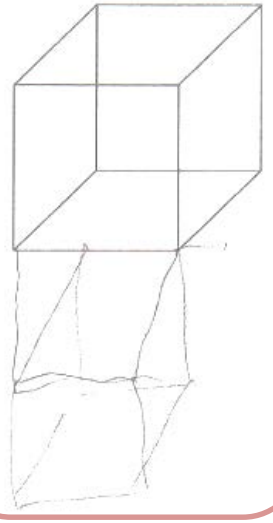
立方体が
模写できたPt.



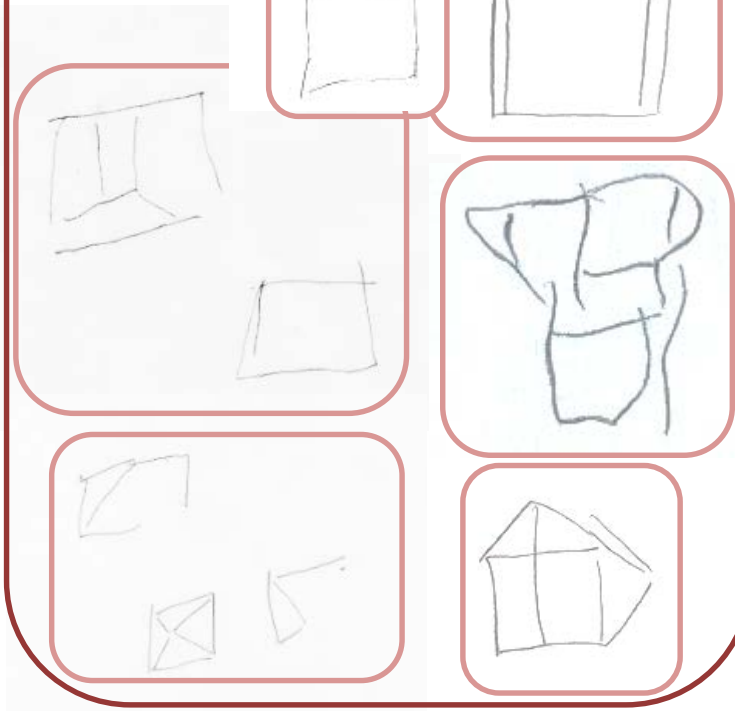


立方体が
模写できないPt.

見本にくっつけて描く

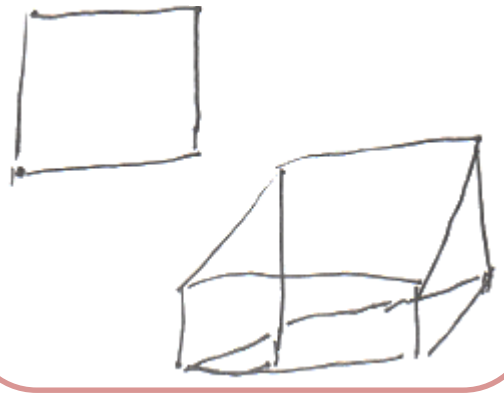


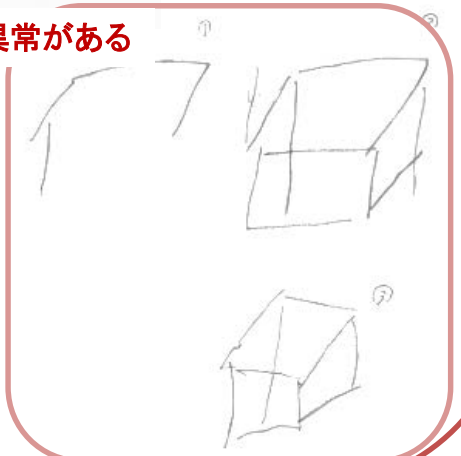
大まかな形さえ把握
できていない



大まかな形の把握
はできている

線分の傾きや数・長さの異常がある





【前回までの報告（第2報）】

目的 視覚認知機能の検討

（1）標準高次視知覚検査

（VPTA：Visual Perception Test for Agnosia)

（2）描写課題（透視図・非透視図）

①コップ

②箱　　を実施

結果

・視野異常・半側空間無視を明らかに示す結果はなかった。

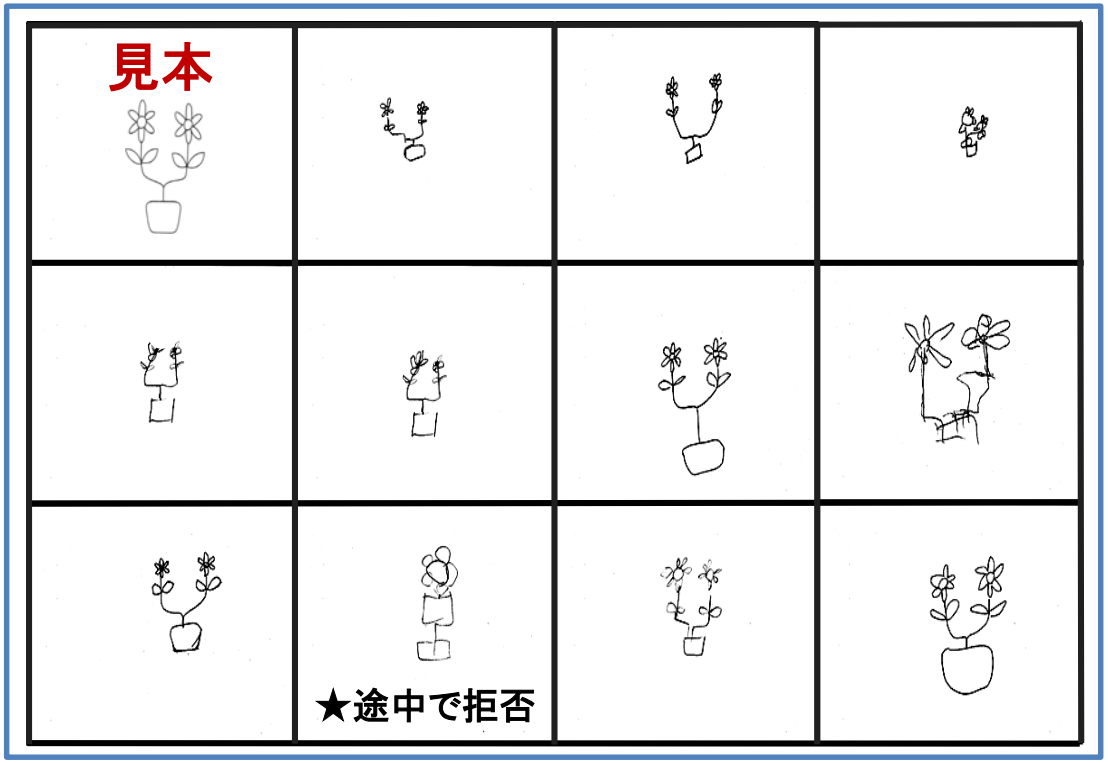
・VPTA課題の花（模写）・人の顔（自発画）は成績良好。

・抽象的な幾何学的図形は描写困難な患者が多かった。

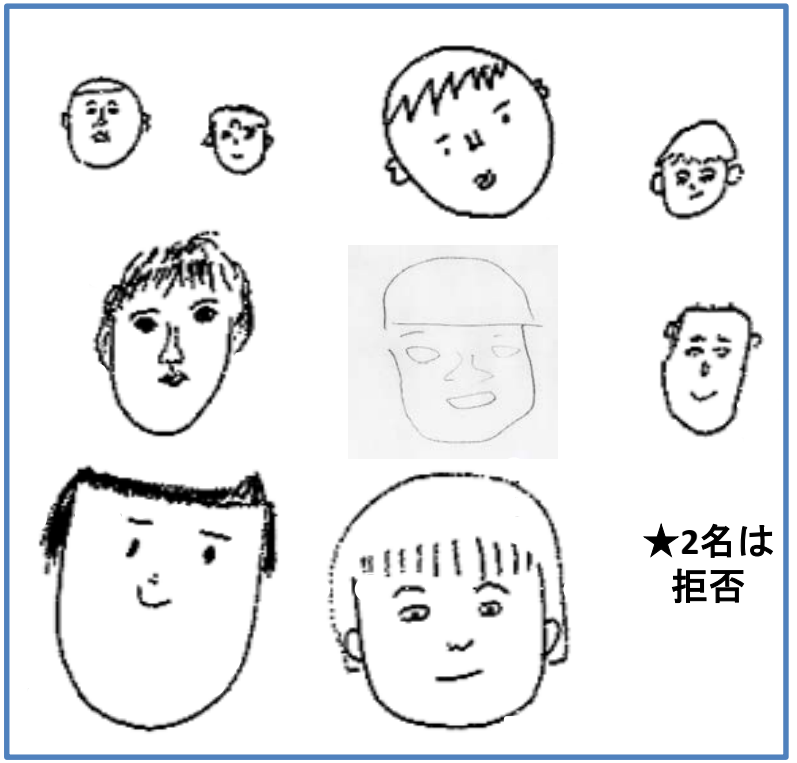
・非透視図より透視図での不完全描写が多かった。

VPTA課題

花（模写）



人の顔（自発画）



【今回の目的】

　前回までの結果をさらに解釈するため、今回新たに行った形態イメージ想起、奥行き認知、錯視、知的能力に関する課題結果を報告する。

【対象】

- 当院入院中（DM1）患者12名
  男性6名　　女性6名
  （先天性MyDを除く検査可能な視力・上肢機能を有する者）

- 検査時年齢：40～68歳（平均52.8±8.5歳）
  男性40歳～68歳（平均54.3±10.1歳）
  女性42歳～60歳（平均51.2±7.1歳）

- 最終学歴：中学3名　高校7名　大学・専門学校2名

【方法】

課題①

- 網掛け線画
- 錯視
- 積木の数の推定
- 点つなぎ線画
- メガネ・ワイングラスの描画
  （見本は写真・実物の２種類）

以上の項目は採点基準を定め、3名の評価者で各結果を点数化した。【高得点ほど成績不良】

課題②

- WAIS-Ⅲ
  1. 積木模様➡年齢群換算した尺度換算表で評価点を算出
  2. 知識・絵画完成・符号・類似➡WAIS-R推定IQ換算表に結果を当て、推定IQを求めた。

【方法】

3名の評価者で各結果を点数化

【高得点（加点）＝成績不良】

＜採点基準＞

積木の数の推定

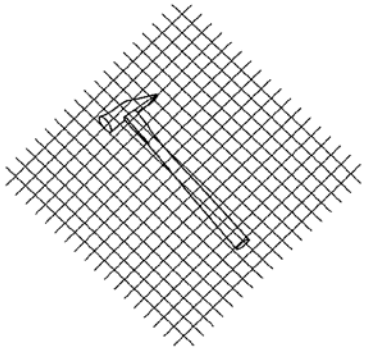
正解　:0　　不正解:1

点つなぎ線画・描画共通

正確な形の把握:0点
一部分の欠落、余分な線の追加、大まかな形の把握:1点
形の把握不可:2点

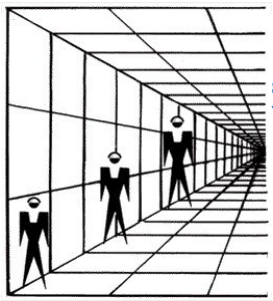
【網掛け線画】

何が見えますか？



【錯視】

どの人が一番大きいですか？

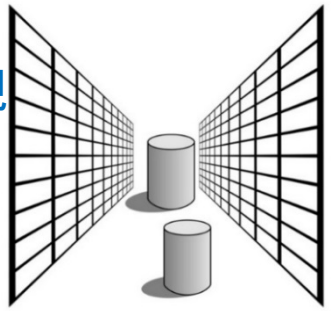


幾何学的錯視

遠近法

奥行き

どちらが大きいですか？

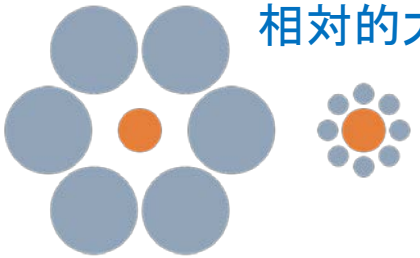


真ん中に何が見えますか？

主観的輪郭

奥行き

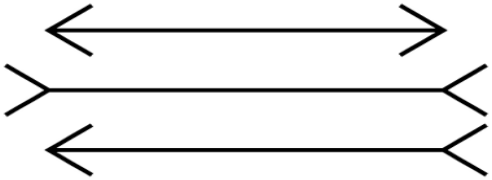
オレンジの丸はどちらが大きいですか？



相対的大きさ

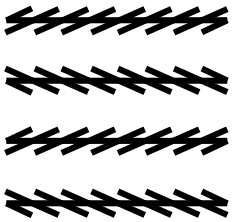
どれが一番長く見えますか？

幾何学的錯視・遠近法



横の線はどう見えますか？

平行ですか？傾いていますか？



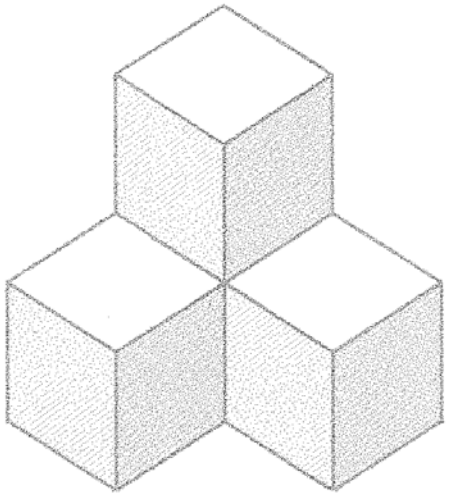
角度錯視

奥行き

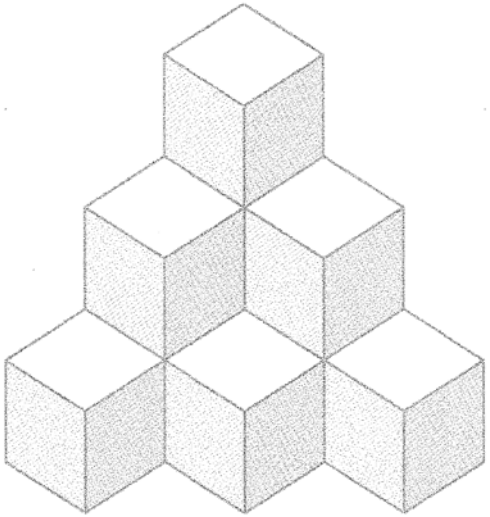
【結果：積木の数の推定】

〈採点基準〉
正解：0点
不正解：1点

積木は何個ありますか？



①4個



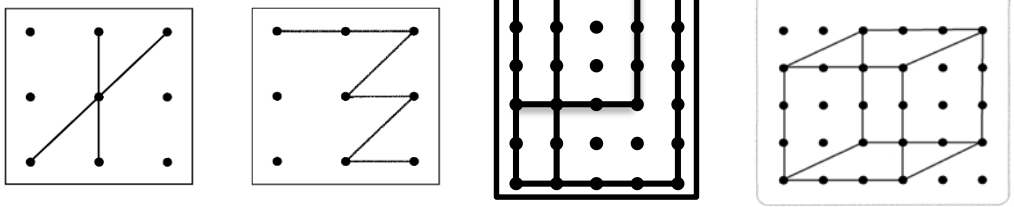
②10個

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
①4個	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
②10個	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0

【結果：点つなぎ線画】

「同じように書いて下さい」

① ② ③ ④



〈採点基準〉

正確な形の把握：0点

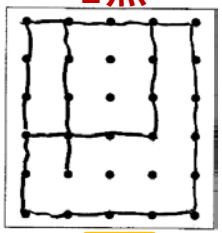
一部分の欠落、余分な線の追加、大まかな形の把握：1点

形の把握不可：2点

①、②は全員正答

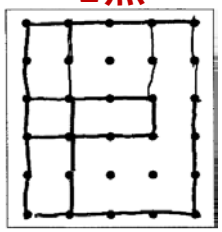
③四角の重なり

1点



B

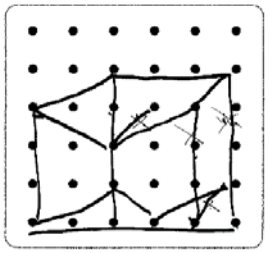
1点



F

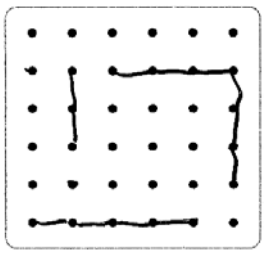
④立方体

2点



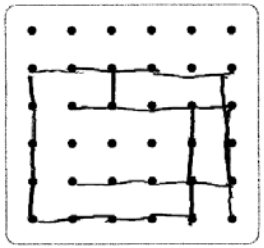
A

2点



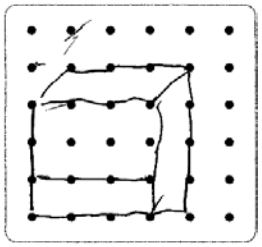
B

2点



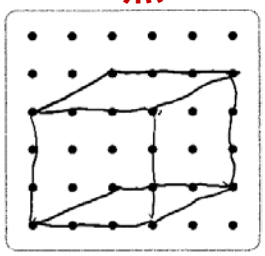
F

2点



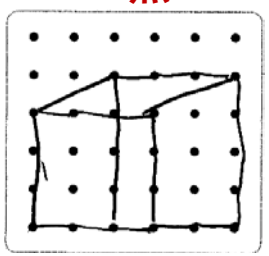
G

1点



J

2点



K

【結果：写真描画】

①メガネ

「この絵を描いてください」

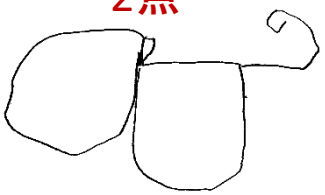
〈採点基準〉
正確な形の把握：0点

一部分の欠落、余分な線の追加、大まかな形の把握：1点

形の把握不可：2点

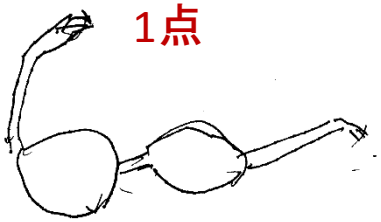
1点

C



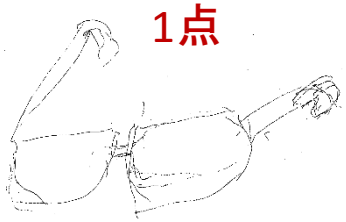
2点

F



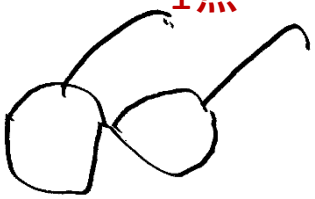
1点

G



1点

H

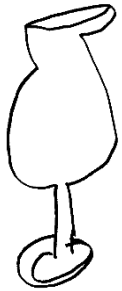


1点

K

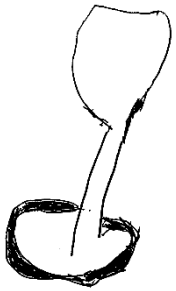
②ワイングラス

「この絵を描いてください」



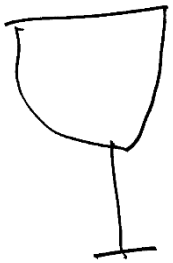
2点

A



1点

B

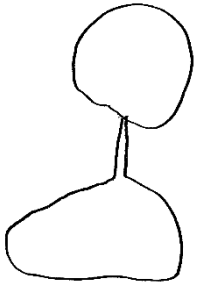


1点

C

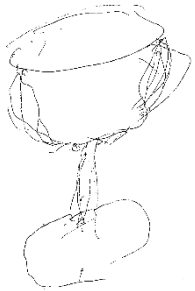
1点

E



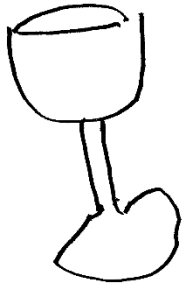
2点

F



1点

H



1点

K

【結果：実物描画】

①メガネ

「この絵を描いてください」

〈採点基準〉
正確な形の把握：0点

一部分の欠落、余分な線の追加、大まかな形の把握：1点

形の把握不可：2点

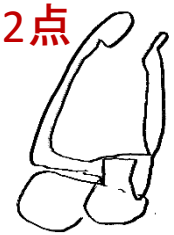
2点

B

1点

C

2点



F

1点

G

1点

J

1点

K

②ワイングラス

「この絵を描いてください」

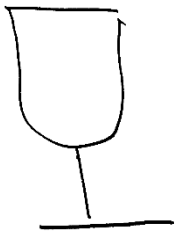
1点

A

2点

B

1点



C

2点

F

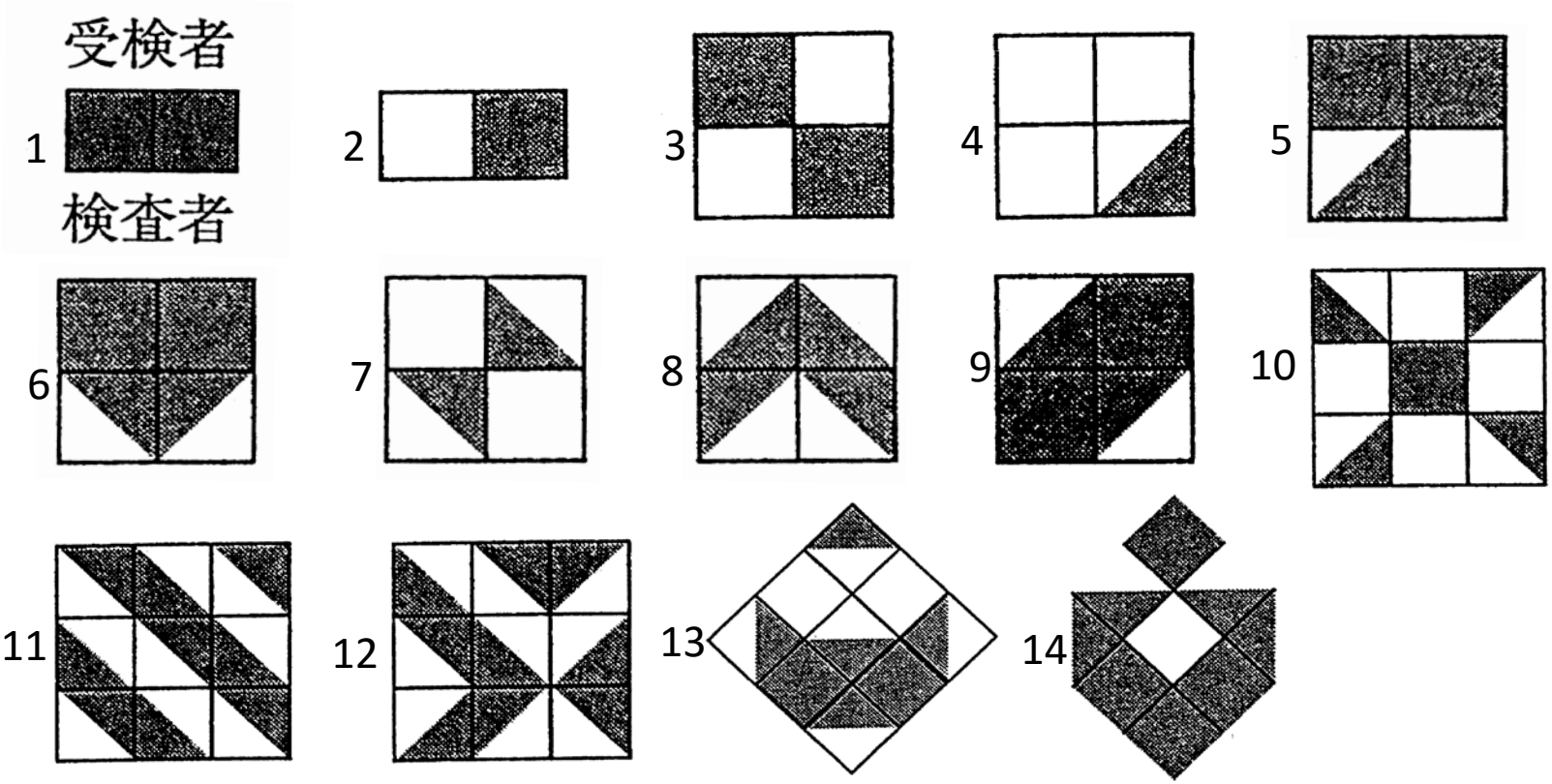
1点

G

2点

K

【結果：WAIS-Ⅲ 積木模様】



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	平均	最高粗点	得点率
WAIS-Ⅲ　積木模様 粗点	11	10	24	12	19	4	16	12	43	39	14	30	19.5	68	28.7%
WAIS-Ⅲ　積木模様 評価点	2	2	5	3	4	1	3	2	9	8	4	3	3.75	19	19.7%

※評価点は、年齢群換算した尺度換算表で算出

【結果:IQ順】

	A	F	G	H	B	E	K	D	I	C	J	L	計
網掛け線画	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
積木の数4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
積木の数10	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	6
点つなぎ線画													
四角重なり	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
立方体	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	1	0	11
計	2	3	2	0	3	0	2	0	0	0	1	0	13
写真描画													
メガネ	0	2	1	1	0	0	1	0	0	1	0		6
ワイングラス	2	2	0	1	1	1	1	0	0	1	0		9
計	2	4	1	2	1	1	2	0	0	2	0		15
実物描画													
メガネ	0	2	1	1	2	0	1	0	0	1	0	0	8
ワイングラス	1	2	1	0	2	0	2	0	0	1	0	0	9
計	1	4	2	1	4	0	3	0	0	2	0	0	17
課題総点	6	13	7	3	9	2	7	0	0	5	1	0	53
WAIS-Ⅲ													
積木模様評価点	2	1	3	2	2	4	4	3	9	5	8	3	
推定IQ	41	42	54	56	58	66	73	76	79	87	94	100	

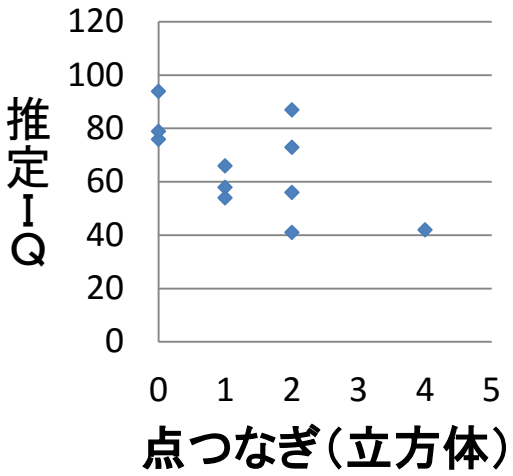
【相関】

	推定IQ	点つなぎ（立方体含む計）	点つなぎ（立方体）	写真描画	実物描画	描画合計	積木（ML）	課題総点	積木模様（WAIS-Ⅲ）	ADAS-Jcog	やる気スコア	FAB	MMSE
推定IQ													
点つなぎ（立方体含む計）	-0.625 0.142												
点つなぎ（立方体）	-0.600 0.020	0.962 1.000											
写真描画	-0.617 0.022	0.528 0.800	0.482 0.772										
実物描画	-0.518 0.206	0.824 0.967	0.824 0.967	0.676 0.888									
描画合計	0.628 0.982	0.751 0.931	0.751 0.931	0.890 0.990	0.942 0.999								
積木（ML）	-0.646 0.129	0.594 0.840	0.594 0.839	0.670 0.885	0.616 0.853	0.705 0.905							
課題総点	-0.699 0.006	0.877 0.986	0.877 0.986	0.805 0.958	0.938 0.998	0.962 0.100	0.782 0.947						
積木模様（WAIS-Ⅲ）	0.634 0.864	-0.411 0.269	-0.344 0.308	-0.556 0.183	-0.468 0.236	-0.548 0.188	-0.513 0.209	-0.552 0.186					
ADAS-Jcog	-0.532 0.198	0.319 0.678	0.319 0.678	0.272 0.651	0.372 0.708	0.397 0.723	0.195 0.608	0.389 0.718	-0.534 0.196				
やる気スコア	-0.475 0.231	0.279 0.654	0.279 0.654	0.576 0.828	0.302 0.668	0.480 0.771	0.131 0.572	0.406 0.728	-0.132 0.427	0.425 0.739			
FAB	0.140 0.577	-0.147 0.419	-0.147 0.419	-0.361 0.298	-0.366 0.295	-0.422 0.263	-0.124 0.432	-0.312 0.326	0.131 0.572	-0.590 0.163	-0.389 0.282		
MMSE	0.592 0.838	-0.684 0.107	-0.684 0.107	-0.423 0.262	-0.693 0.102	-0.660 0.121	-0.580 0.169	-0.639 0.134	0.350 0.696	-0.686 0.106	-0.588 0.164	0.463 0.762	

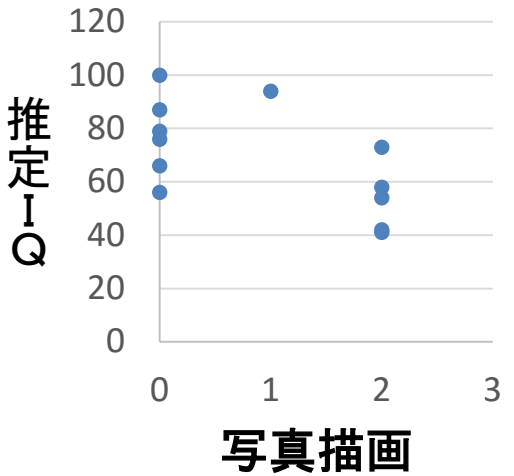
上段：**t値**
下段：**P値**

相関有り
（P＜0.05）

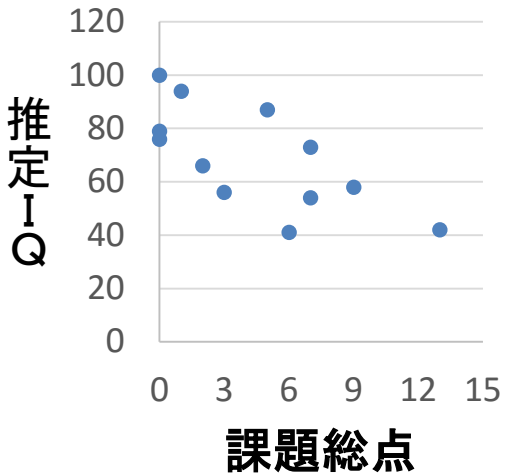
【相関（散布図）】



r=-0.600
P<0.05



r=-0.617
P<0.05



r=-0.699
P<0.05

【結果のまとめ】

- 錯視は全員に認められた。
- 点つなぎ線画では、課題が複雑化するにつれ描画が困難となった。
- 描画課題（メガネ・ワイングラス）は見本が写真・実物に関わらず不完全な描画が多かった。
- 知的能力（推定IQ）と点つなぎ線画（立方体）・写真描画の結果に相関が認められた。

【考察】

- これまでの線画、描画課題の結果から、線画での課題成績にはIQが関係しているようだが、花や人の顔の描画成績が良好だったことから、記憶や意味付けの程度、感情の不可などによりその能力が補完されうることが示唆された。

- 一方で、IQと積木課題との相関は認めず、新規の三次元の課題処理には全般的IQ以外の要素が関係していることが考えられる。

【考察】

- 今回の結果をリハビリテーションにつなげるとするならば、個々のDM1患者で記憶や意味付け、感情が付加されたやや複雑な課題を利用することが、患者のQOL向上や満足感につながるのではと考える。

Dysfunction of dorsal visual pathway in Myotonic Dystrophy type 1

Chizu Wada, M.D.[1)], Tomoko Taji[2)], Akiko Kato[2)], Hiromi Saito[2)], Tomoyuki Hatakeyama M.D. [1)], Fusako Takeda M.D. [1)], Koji Obara, M.D. [1)], Erika Abe, M.D. [1)], Michio Kobayashi, M.D. [1)], Tsuyoshi Imota M.D. [1)], Tadayuki Ishihara M.D. [1)], Shigeo Mamiya M.D. [3)], Itaru Toyoshima, M.D. [1)]

Department of Neurology[1)], Department of Rehabilitation[2)], Department of internal medicine[3)], Akita National Hospital, Akita, Japan

Introduction

The patient with myotonic dystrophy type 1 (DM1) is known to be often accompanied by a higher brain function disorder, and there are some reports showing visual cognitive impairment and frontal lobe dysfunction.

15 patients with DM1 of our hospital were investigated, using cognitive test batteries. As a result, visual constructive disturbance was remarkable. Further studying with SPECT revealed hypoperfusion in dorsal pathway in these patients.

Methods

Patients;

15 genetically confirmed DM1 patients (9 males, and 6 females, average age 52.8±8.5 years) were examined. All were right-handed. Congenital DM1 patients were excluded.

Cognitive function test batteries;

1. Alzheimer's disease assessment scale-cognitive component -Japanese version (ADAS-jcog)
2. Frontal assessment battery (FAB)
3. Self-motivation score (SMS)
4. Self-rating depression scale (SDS)
5. Visual cognitive function (VPTA)

Neuroimaging;

Pattern of blood perfusion was examined by N-isopropyl-p-[123I]-iodoamphetamine (I-123-IMP) and statistical imaging were obtained by 3D-SSP (Three-dimensional stereotactic surface projections).

Result

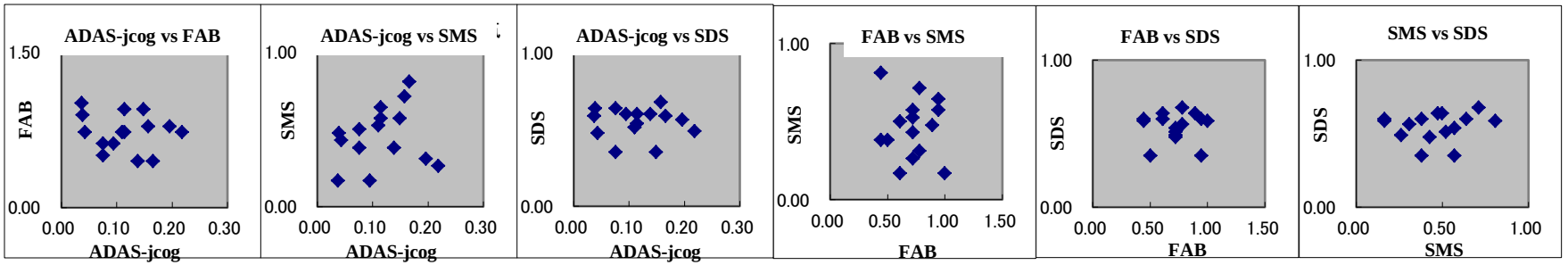
1, The total score with each battery

Batteries	Total score (mean)	SD	Severity criteria
FAB	12	±5.7	15.3± 1.4 (Normal control of 50 years old)[1]
ADAS-jcog	9.5	±6.3	A higher score means severe.
SMS	20	±9.9	More than 16 points
SDS	44	±2.8	More than 50 points[2]

1) Terada et., Japanese journal of neuropsychology 25, 51-56, 2009
2) Zung WWK, Arch Gen Psychiat 12, 63-70,1965

Results of subtests of FAB and ADAS-jcog were shown below (3 and 4). Although obvious depressive tendency wasn't observed, several patients showed motivation drops.

2, The correlation of the four batteries



Total scores of each cognitive battery was not correlated each other.

3, The score of subtests vs total score of FAB

Subtests	Score (mean)	SD	Correlation coefficient for total score	P value of <0.05
1, Conceptualization	1.9	±0.7	0.477	0.072
2, Mental flexibility	1.6	±0.7	0.327	0.235
3, Programming	1.8	±2.1	0.642	0.010
4, Sensitivity to interference	2.1	±1.4	0.726	0.002
5, Inhibitory control	1.7	±2.1	0.769	0.001
6, Environmental autonomy	3	±0.0		

Three subtests (programming, sensitivity to interference, inhibitory control ,) had a correlation with total score.

4, The score of subtests vs total score of ADAS-jcog

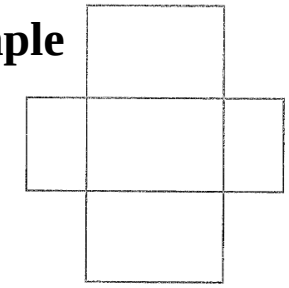
Subtests	Score (mean)	SD	Correlation coefficient for total score	P value of <0.05
1, Word Recall Task	3.3	±0.9	0.633	0.011
2, Spoken Language Ability	0.0	±0.0		
3, Comprehension	0.0	±0.0		
4, Word-Finding Difficulty in Spontaneous Speech	0.1	±0.0	0.165	0.557

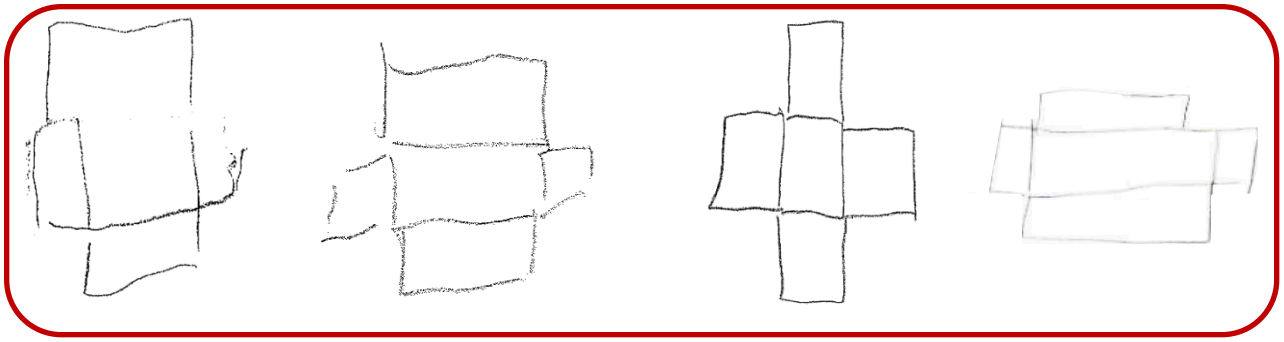
5, Commands	0.3	±0.7	0.353	0.197
6, Naming objects and fingers	0.0	±0.0		
7, Constructional Praxis	1.9	±0.7	0.675	0.006
8, Ideational Praxis	1.5	±2.8	0.559	0.030
9, Orientation	0.8	±0.0	0.594	0.020
10, Word Finding Difficulty	1.4	±1.1	0.543	0.036
11, Remembering Test Instructions	0.0	±0.0		

Four subtests (word recall task, constructional praxis, ideational praxis, orientation) had a correlation with total score. Above all, constructional praxis showed the strongest correlation. For example, it showed a configuration failure, such as the following.

<Copying test of overlapping rectangle>

sample





Four patients wrote by combining a 'five squares'.

5, Visual cognitive function (VPTA)

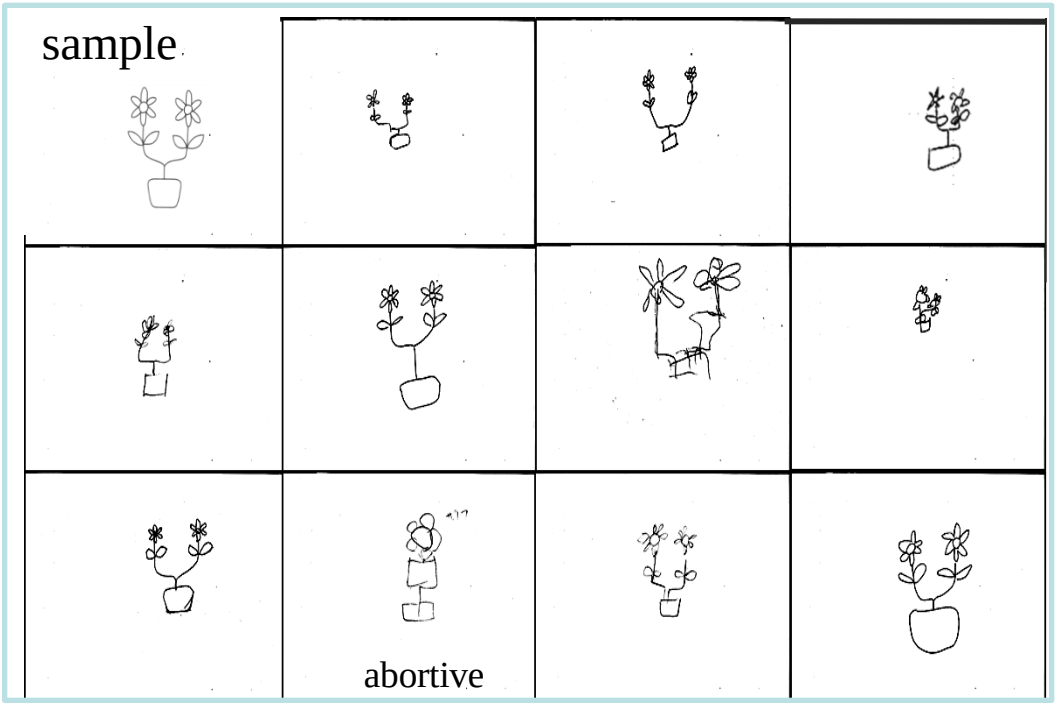
The higher the score rate indicates that the fault is strong.

	Subtest	D	E	K	C	F	H	J	L	M	N	O	mean	Upper limit	Score rate
Basic visual perception	Discrimination of the length for the line	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0
	Estimation of the number	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0.2	6	3
	Recognition of the shape	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0.3	12	2
	Recognition of the slope of the line	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	6	5
	Complication figure	1	1	2	0	0	0	0	0	2	0	1	0.6	6	11
	Copying of the figure	3	2	5	5	0	0	1	2	0	3	0	1.9	6	32
Object-image recognition	Naming of the picture	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2	16	1
	Naming of the object	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0
	Situation figure	0	4	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0.9	6	15
Face recognition	Naming of familiar face														
	Pointing of familiar face														
	Discrimination of the unfamiliar face														
	Simultaneous collation of the unfamiliar face	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0
	Execration of facial expression	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0
Color recognition	Naming of color	0	0	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0.5	16	3
	Collation of color	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0
	Pointing of color	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0.2	16	1
	Pointing at the color of the object	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0.4	6	6
	Saying at the color of the object	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0
	Choice of the colored pencil	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0.2	6	3
Symbol recognition	Recognition of the symbol	2	0	0	1	2	2	0	0	0	0	0	0.6	8	8
	Cognitive of the letter (reading aloud) katakana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0
	word・kanji	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0
	word・kana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0
Visuospatial recognition &working	Bisection for the line gap to the left	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	0	0.5	6	8
	gap to the right	3	1	2	0	0	0	2	0	0	0	3	1	6	17
	Erasion for the line Upper left	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
	Under left	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
	Upper right	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
	Under right	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0.3	20	1
	Copying of Flower <left side>	0	0	6	5	0	0	4	0	-	0	0	1.5	14	11
	<right side>	1	0	2	2	2	0	4	0	-	0	1	1.2	14	9
	Reading aloud of the number Read from right <left side>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	0
	<right side>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	0
	Read from left <left side>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	0
	<right side>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	0
	drawing <left side>	0	0	3	1	3	0	2	0	0	0	0	0.8	6	14
	<right side>	0	0	2	2	3	0	3	0	0	0	0	0.9	6	15

These three subtests could not be accurate evaluation for photos were too old.

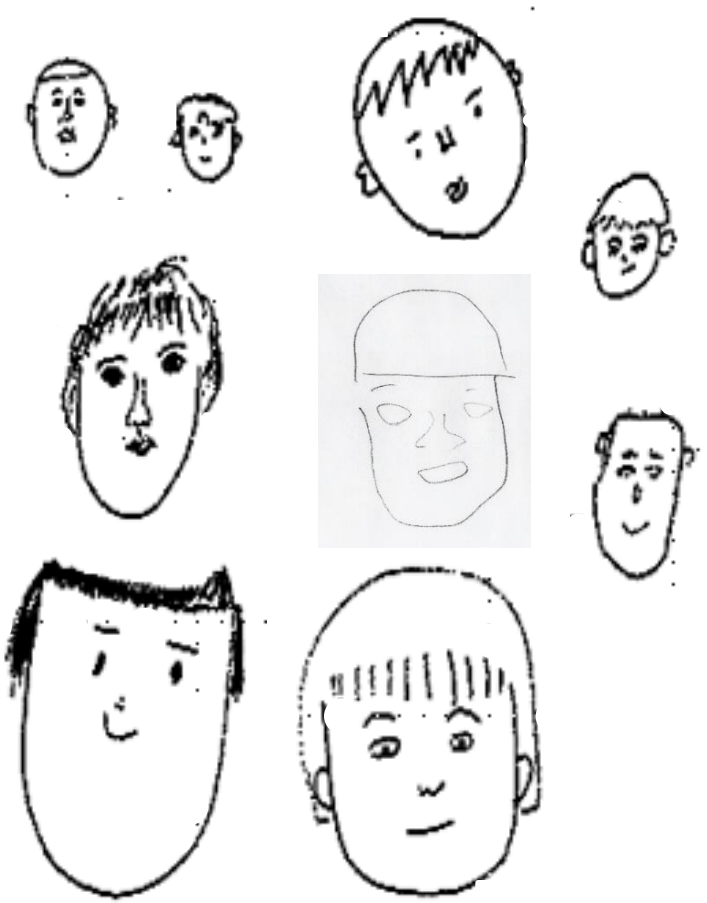
Their results tended to be poor in subtests about constitution, for example, complication figure, copying of the figure, situation figure. The unilateral spatial neglect was absent and the recognition of color and letter were good.

<Copying of Flower>



Most of the patients were able to copy the flower and draw the face of the person, that were familiar to all patients in the daily life.

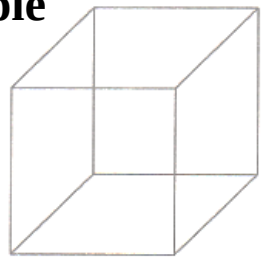
<Drawing of face>

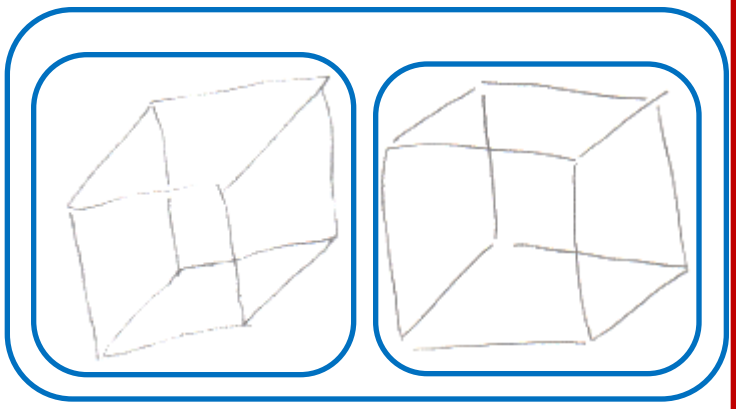


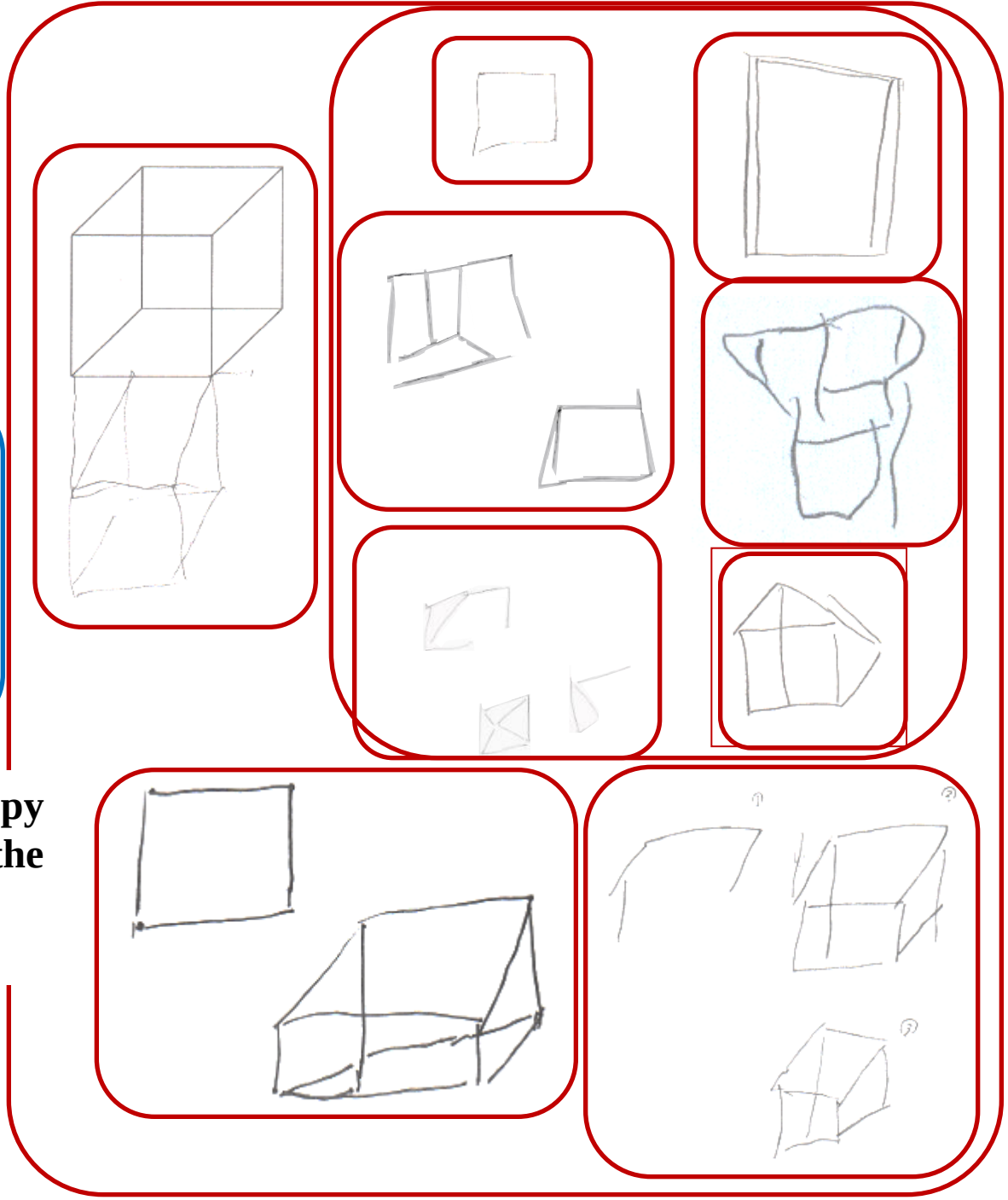
Two patients refused to draw.

<Cube Copying Test>

sample







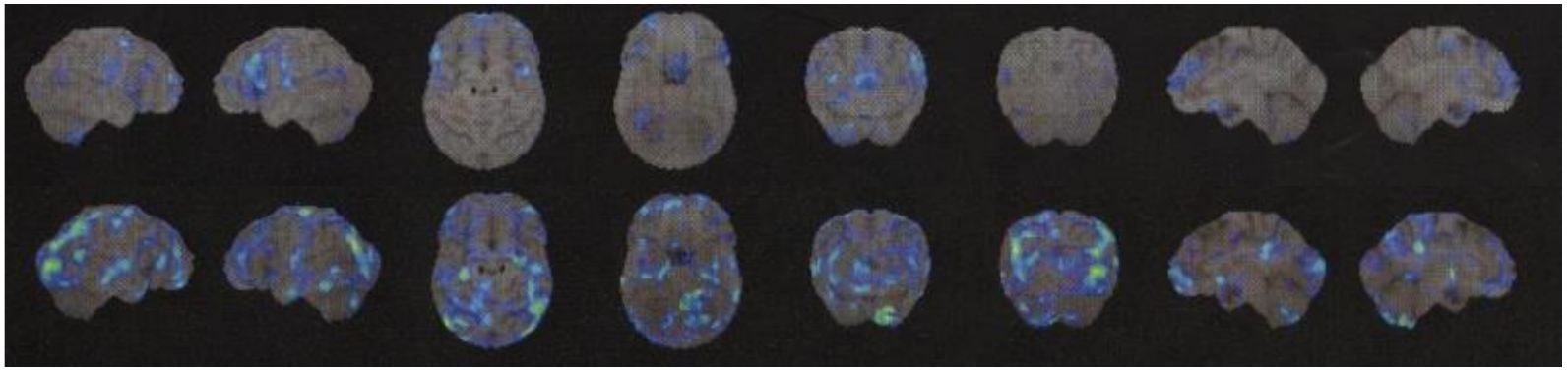
Two patients were able to copy (blue), but, in other patients, the copies were incompletely (red).

^{123}I-IMP-SPECT (3D-SSP)

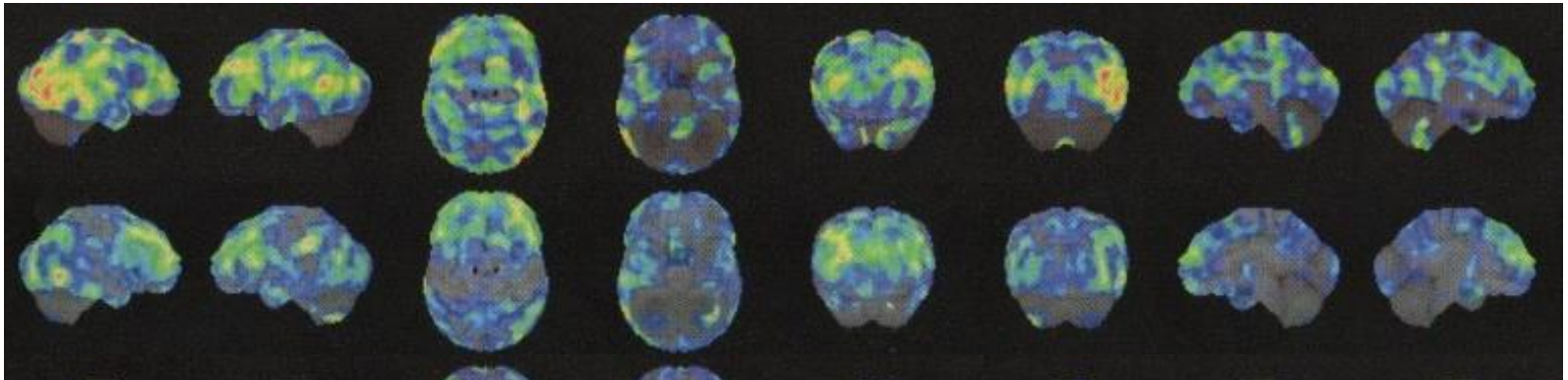
(The image assumed a normalized part cerebellum)

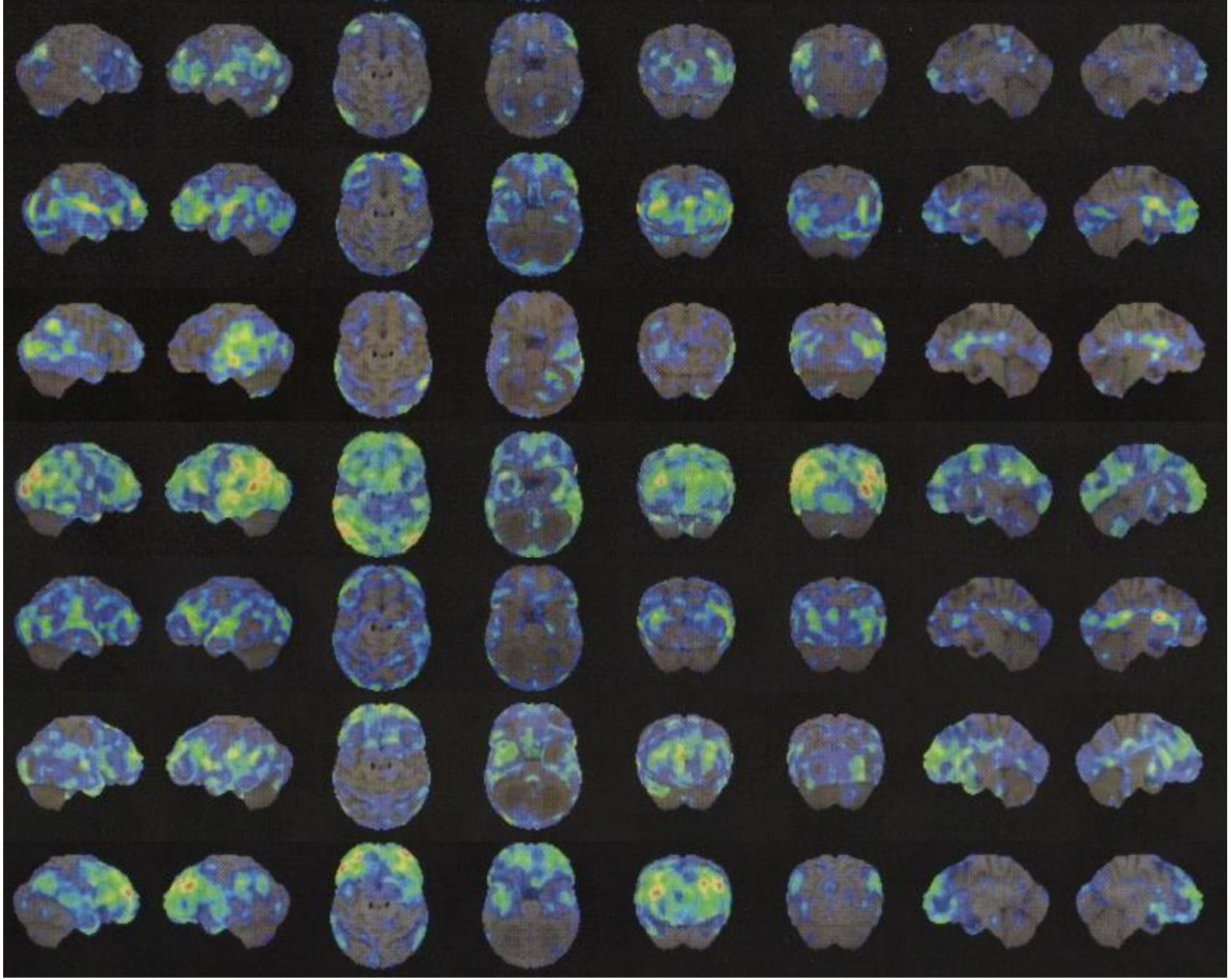
Cases without a constitution disorder

RT.LAT LT.LAT SUP INF ANT POST RT.MED LT.MED



Cases with a constitution disorder

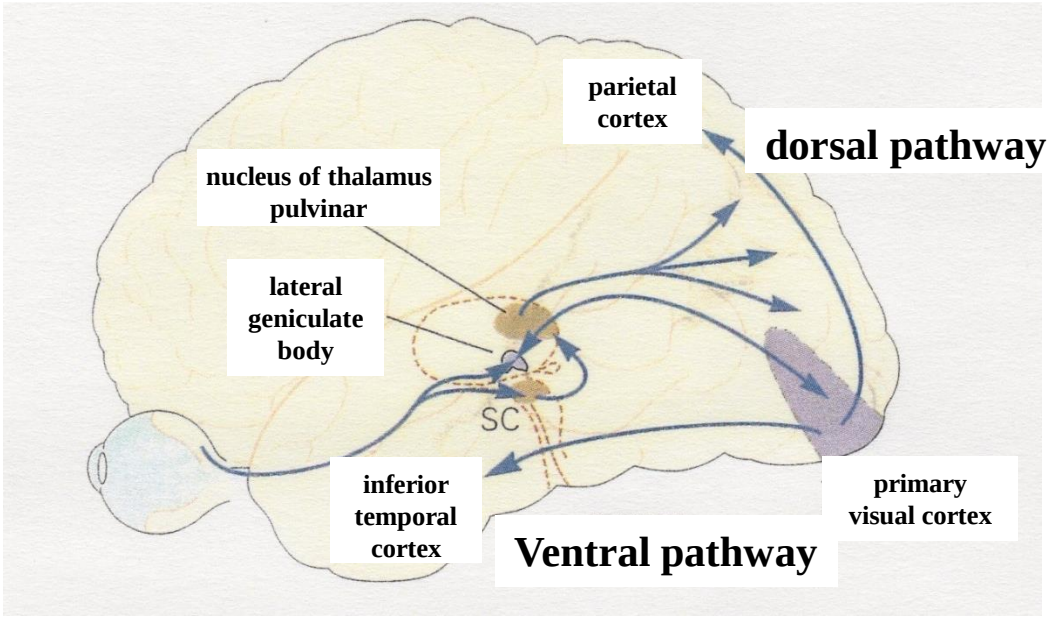




A hypoperfusion of the parietal association area was found in addition to that of fronto-temporal lobe in cases with a constitution disorder.

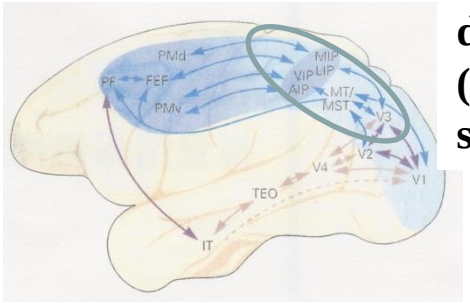
Discussion

Visual processing

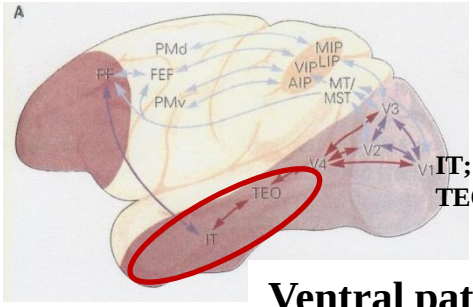


Kandel, Principles of neural science, 2014

<Visual pathway of Monkey>



dorsal pathway
(attention,
spatial orientation)



IT; inferior temporal cortex
TEO; temporo-occipital cortex

Ventral pathway
(object recognition)

Visual information is believed to be processed by two major pathways, ventral pathway and the dorsal pathway. Cortical projections go forward from the primary visual cortex to areas in the temporal lobe (ventral pathway) and areas in the parietal lobe (dorsal pathway). For object recognition, the ventral pathway leading to IT from the primary visual cortex is as essential. IT is also related to the pathway involved in visual memory from the medial temporal lobe and prefrontal cortex and the retention of the visual experience. On the other hand, dorsal pathway relate with visually guided movement and stereoscopic vision. This pathway is divided into two bordering the intraparietal sulcus. The pathway passing through the Inferior parietal lobule (ventro-dorsal stream) is related

Visual information is believed to be processed by two major pathways, ventral pathway and the dorsal pathway. Cortical projections go forward from the primary visual cortex to areas in the temporal lobe (ventral pathway) and areas in the parietal lobe (dorsal pathway). For object recognition, the ventral pathway leading to IT from the primary visual cortex is as essential. IT is also related to the pathway involved in visual memory from the medial temporal lobe and prefrontal cortex and the retention of the visual experience. On the other hand, dorsal pathway relate with visually guided movement and stereoscopic vision. This pathway is divided into two bordering the intraparietal sulcus. The pathway passing through the Inferior parietal lobule (ventro-dorsal stream) is related to position information and analysis of visual properties of the target. DM1 patients recognized objects well. In addition, it was possible to copy flowers and draw the human face without looking. On the other hand, they were not able to copy a cube (unfamiliar task) that involved spatial cognition. These results suggest an impairment of spatial orientation caused by dysfunction of dorsal pathway of visual processing.

Conclusion

Visual cognitive impairment of DM1 was examined by some batteries and neuroimagings. Their results tended to be poor in subtests about constitution, for example, complication figure, copying of the figure, situation figure. On the other hand, most of patients were able to copy of the flowers and draw of the face of the person, that were easy to image, well. On neuroimaging, a hypoperfusion of the parietal association area was found in addition to that of fronto-temporal lobe in cases with a constitution disorder. These results suggest an impairment of spatial orientation caused by dysfunction of dorsal pathway of visual processing.

筋強直性ジストロフィータイプ1患者における認知機能障害と脳血流低下の分布に関する検討

和田千鶴[1], 田路智子[2], 加藤亜希子[2], 松原梨絵子[2], 武田房子[1]
畠山知之[1], 小原講二[1], 阿部エリカ[1], 小林道雄[1], 豊島至[1]
[1]国立病院機構あきた病院神経内科
[2]国立病院機構あきた病院リハビリテーション科

背景

筋強直性ジストロフィータイプ1（以下MD1）では，自閉症スペクトラム障害，知的機能低下，病識の乏しさなどに加え，注意障害，遂行機能障害，構成障害，視空間認知障害の報告がある。当院での予備的検討でも，一部のMD1患者において，FAB得点の低下、語想起の障害、図形の模写課題での視覚構成障害を認めた。

今回，MD1患者の脳血流低下の分布との関連性について検討した。

対象と方法

・遺伝子診断で確定したMD1患者16名

（先天性，明らかな脳血管障害の既往のある患者は除外し，検査可能な視力・聴力を有する患者を対象とした。全員右利き）。

1）全例に^{123}I–IMP–脳血流SPECTを施行

2）FAB，語想起課題（カテゴリー；動物，語；ふ・あ・に）

；14名（Pt.1～14）

3）ADAS–jcogの構成行為課題（円・2つの重なった長方形・ひし形・立方体），VPTA（図形の模写・錯綜図）

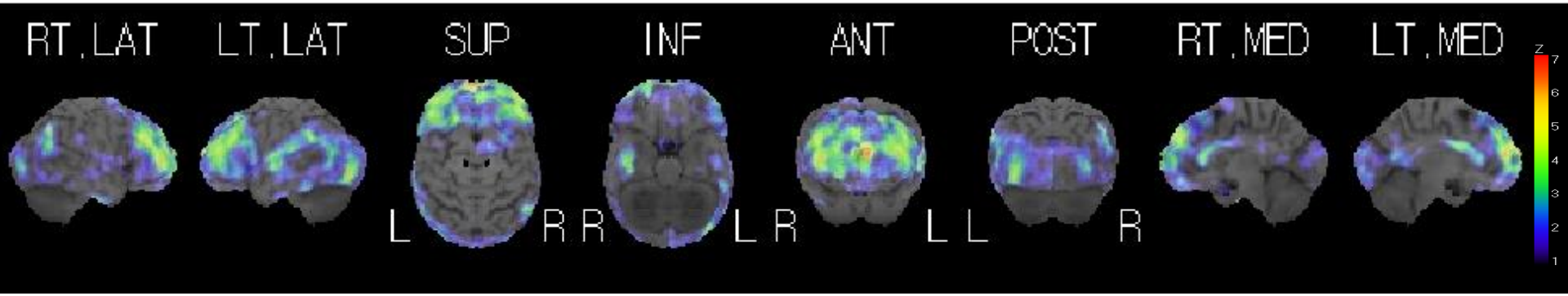
；14名（Pt.1～12，15，16　※視野異常や半側空間無視がない症例）

4）^{123}I–IMP–脳血流SPECTで得られたデータから3D–SSP解析を行った。iSSP3.5を用いて画像を比較した。

MD1患者16名

	MD1群	正常コントロール群
例数	16名	51名
男:女	10:6	28:23
平均年齢	53.7±7.6歳 （40～69歳）	66.2±7.1歳 （51～78歳）
教育歴	16.8±4.0年	
CTGリピート数	1918±1516	

統計解析画像
MD1患者16名 VS 正常コントロール群



FAB・語想起課題

Pt. No.	7	8	2	1	6	9	10	12	3	5	4	14	11	13	平均値±SD
評点の合計（FAB・ふあに・動物）	10	15	17	21	23	23	23	23	24	24	25	25	27	27	21.9±4.8
FAB	9	12	13	16	18	15	14	17	15	17	16	15	18	17	15.1 ±2.5
ふあに	1	1	3	4	5	6	7	4	7	4	7	8	7	7	5.1 ±2.3
動物	0	2	1	1	0	2	2	2	2	3	2	2	2	3	1.7 ±0.9

＜語想起の評点方法＞

動物	評点	ふあに	評点
0-10	0	2以下	0
11-15	1	3～5	1
16-20	2	6～9	2
21以上	3	10以上	3

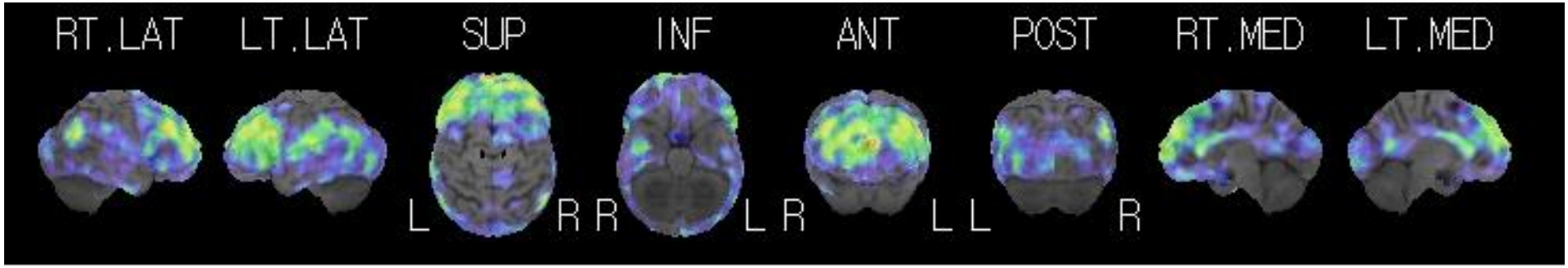
※合計点が23点以下を低得点群とした。

	低得点群	高得点群	正常コントロール群
評点の合計	19.4±4.9	25.3±1.4	
患者数	8名	6名	51名
男：女	4：4	4：2	28：23
平均年齢	53.6±10.0歳	53.0±5.0歳	66.2±7.1歳
教育歴	19.0±1.5	15.0±4.6年	
CTGリピート数	1953±1325	1940±2100	

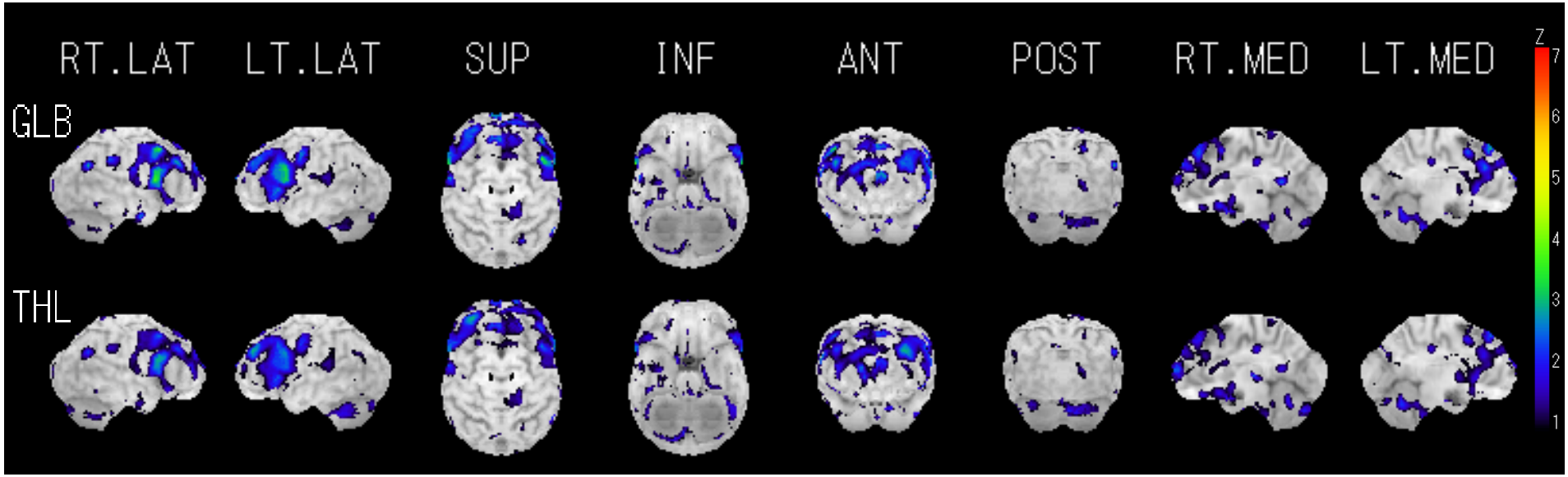
FAB・語想起課題

統計解析画像(iSSP3.5 2tZ)

低得点群 VS 正常コントロール群



低得点群 VS 高得点群



FAB

【結果】

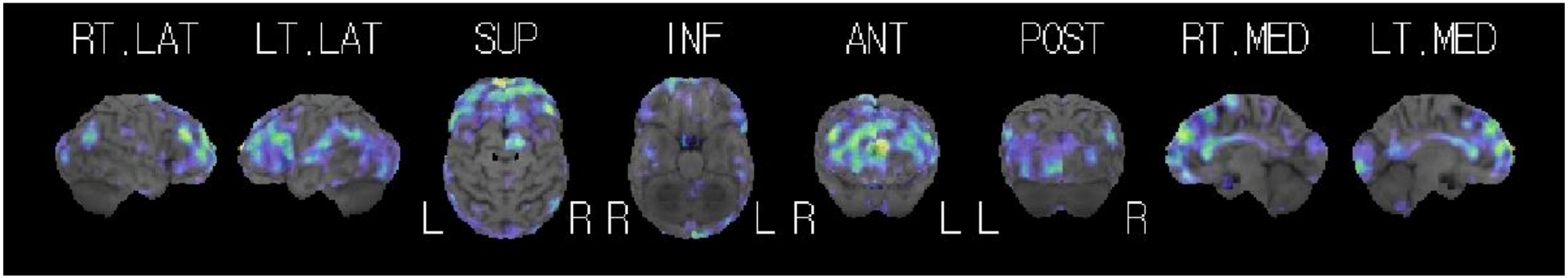
Pt. No.	7	8	2	10	3	9	14	1	4	5	12	13	6	11	平均値±SD
FAB総点	9	12	13	14	15	15	15	16	16	17	17	17	18	18	15.1±2.5

※16点以下を低得点群とした。

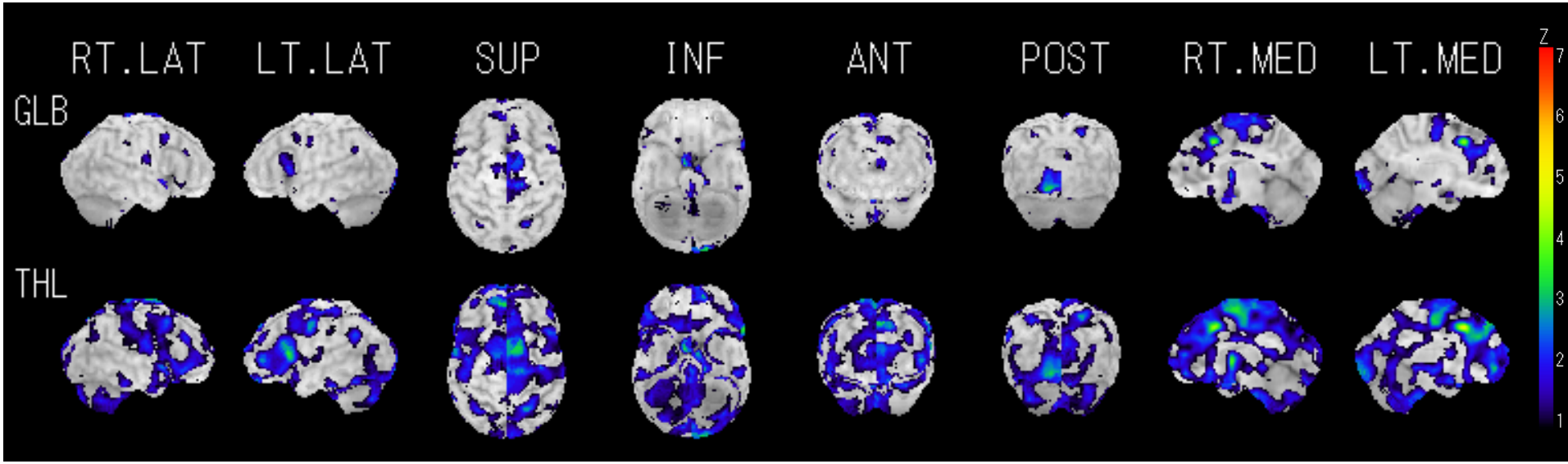
	低得点群	高得点群	正常コントロール群
FAB総点	13.9±2.3	17.4±0.5	
患者数	9名	5名	51名
男:女	5:4	2:3	28:23
平均年齢	53.8±8.5歳	52.6±8.2歳	66.2±7.1歳
教育歴	18.7±1.4	14.8±5.4年	
CTGリピート数	2453±1812	1037±636	

FAB
統計解析画像(iSSP3.5 2tZ)

低得点群 VS 正常コントロール群



低得点群 VS 高得点群



語想起課題

【結果】

Pt. No.	7	2	8	6	1	12	9	5	3	14	11	10	4	13	平均値±SD
評点の合計（かふあに・動物）	2	5	6	7	7	8	10	10	11	12	12	12	12	13	9.1 ±3.3
か	1	1	3	2	2	2	2	3	2	2	3	3	3	3	2.3 ±0.7
ふ	0	1	1	1	1	1	2	1	3	3	3	3	2	2	1.7 ±1.0
あ	1	1	0	2	2	2	2	2	3	3	2	3	3	3	2.1 ±0.9
に	0	1	0	2	1	1	2	1	1	2	2	1	2	2	1.3 ±0.7
動物	0	1	2	0	1	2	2	3	2	2	2	2	2	3	1.7 ±0.9

＜語想起の評点方法＞

動物	評点	かふあに	評点
0-10	0	2以下	0
11-15	1	3～5	1
16-20	2	6～9	2
21以上	3	10以上	3

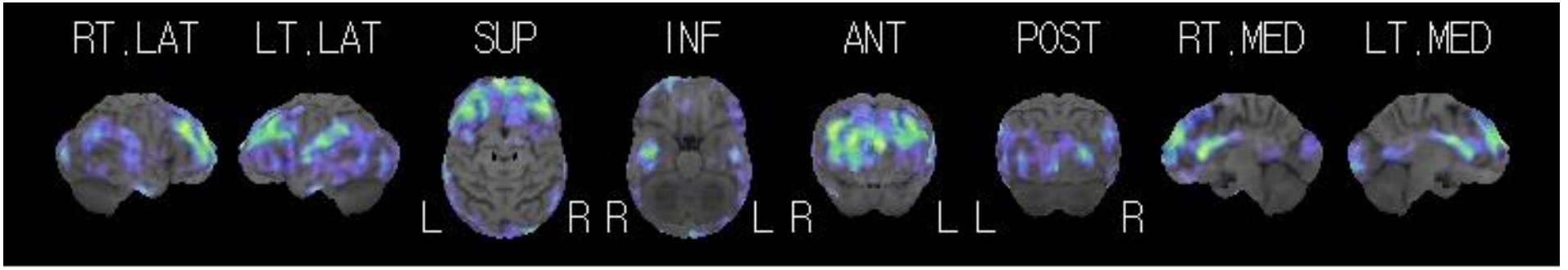
※かふあに・動物評点の合計点が
9点以下を低得点群とした。

	低得点群	高得点群	正常コントロール群
評点の合計	8.7±3.7	11.5±1.1	
患者数	6名	8名	51名
男:女	3:3	5:3	28:23
平均年齢	53.3±11.1歳	53.4±5.9歳	66.2±7.1歳
教育歴	18.7±1.0	16.3±4.7年	
CTGリピート数	1900±1334	1983±1905	

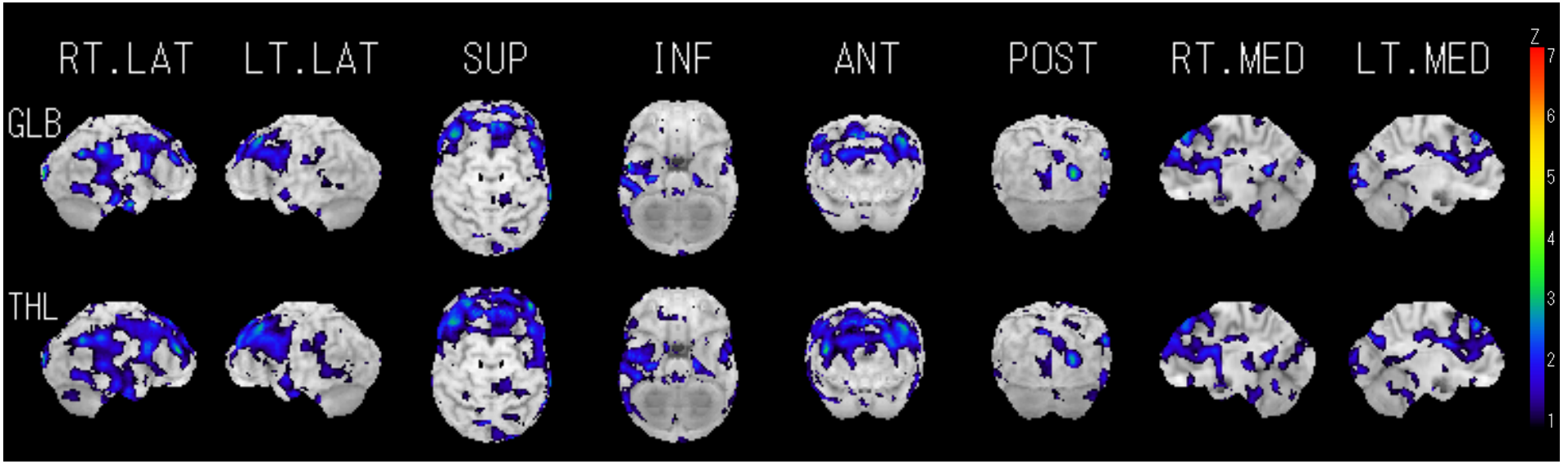
語想起課題

統計解析画像(iSSP3.5 2tZ)

低得点群 VS 正常コントロール群

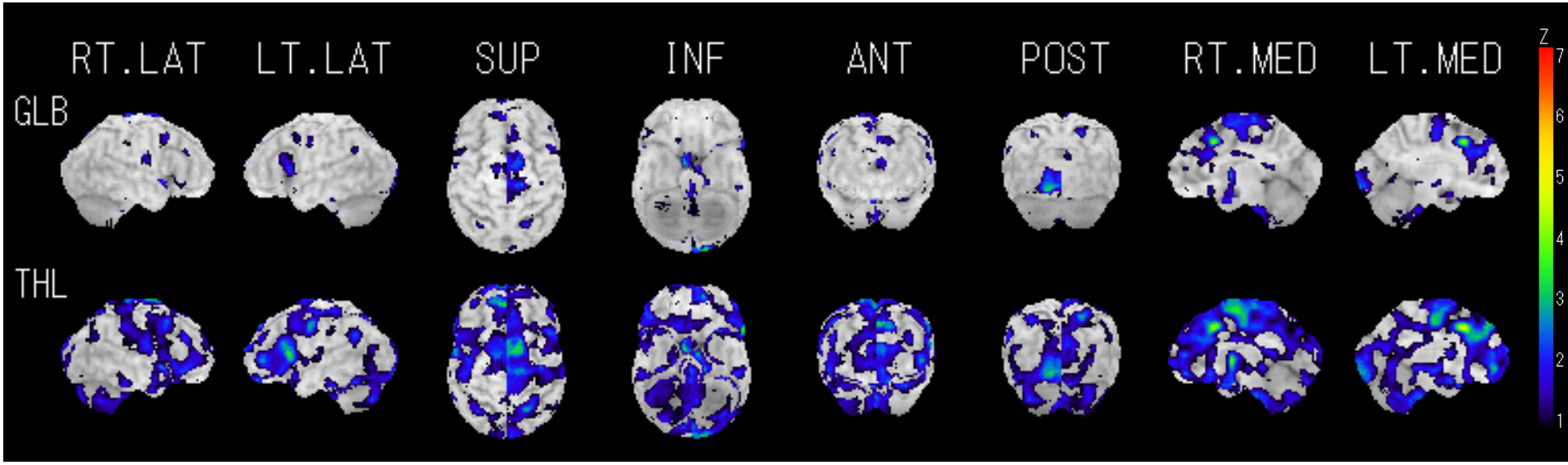


低得点群 VS 高得点群



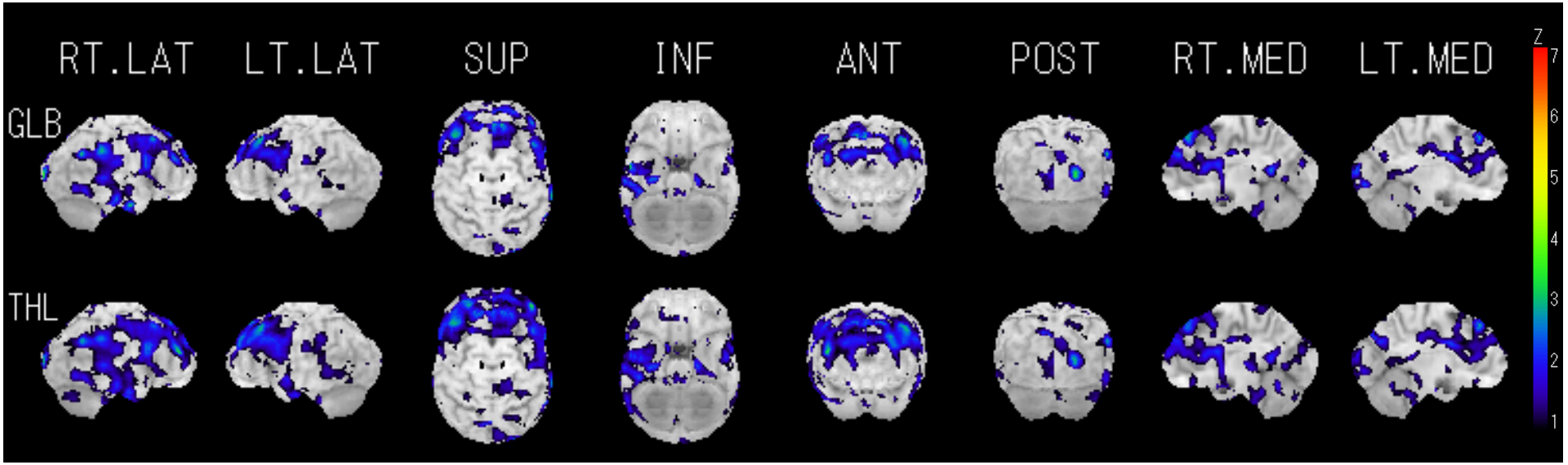
FAB

低得点群 VS 高得点群



語想起課題

低得点群 VS 高得点群



視覚構成課題

【結果】

Pt. No.	6	9	11	12	10	15	1	16	4	5	3	7	8	2	平均値
合計点（ADAS・図形の模写・錯綜図）	0	0	0	1	3	3	4	4	5	5	6	6	7	10	3.9±3.0
ADAS	0	0	0	0	1	2	1	1	1	1	2	1	1	3	1.1±0.8
図形の模写	0	0	0	1	0	1	2	3	4	4	3	5	4	5	2.3±1.9
錯綜図	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	1	0	2	2	0.6±0.9

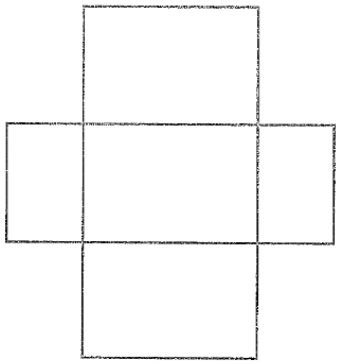
※加点された症例を視覚構成障害群とした。

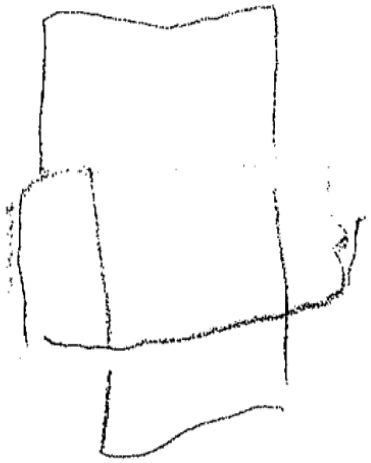
	視覚構成障害 (+)群	視覚構成障害 (−)群	正常コントロール群
評点の合計	4.9±2.4	0	
患者数	11名	3名	51名
男:女	4:4	1:2	28:23
平均年齢	54.2±8.6歳	51.3±7.5歳	66.2±7.1歳
教育歴	17.1±4.2	15.0±5.2年	
CTGリピート数	2466±1531	869±261	

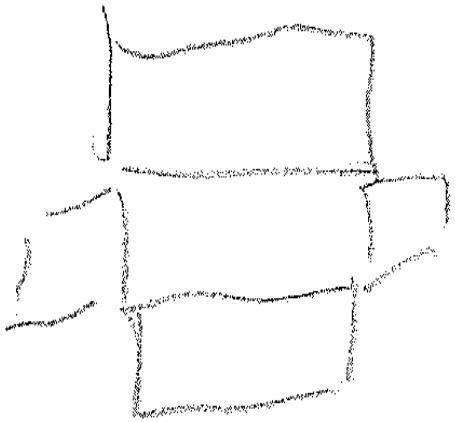
ADAS-Jcog
構成行為課題

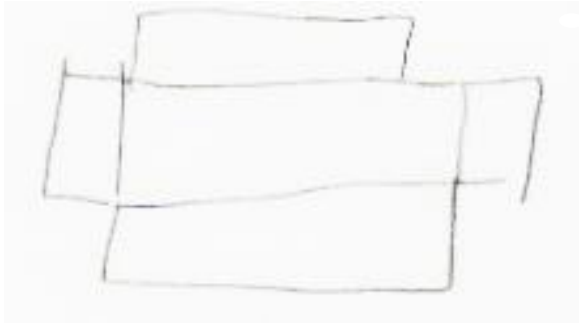
長方形の重なり

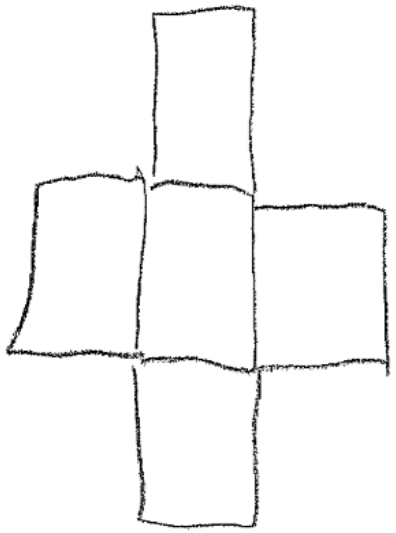
見本





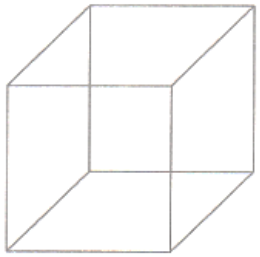




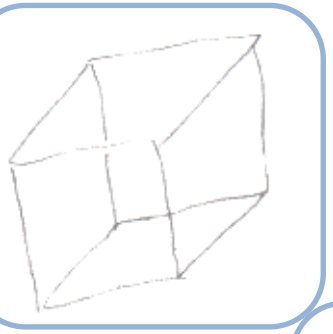


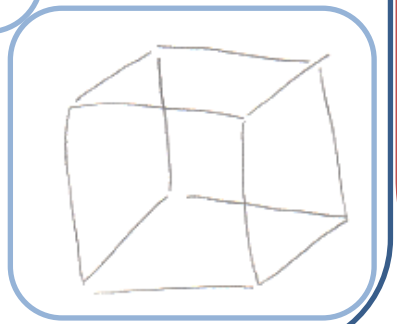
立方体模写課題

見本



視覚構成障害
(-)群

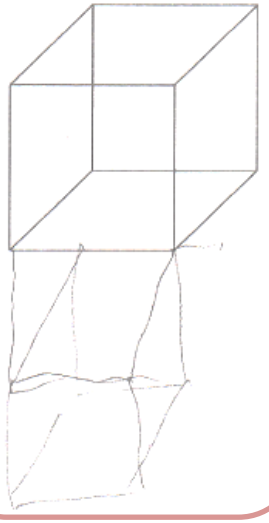




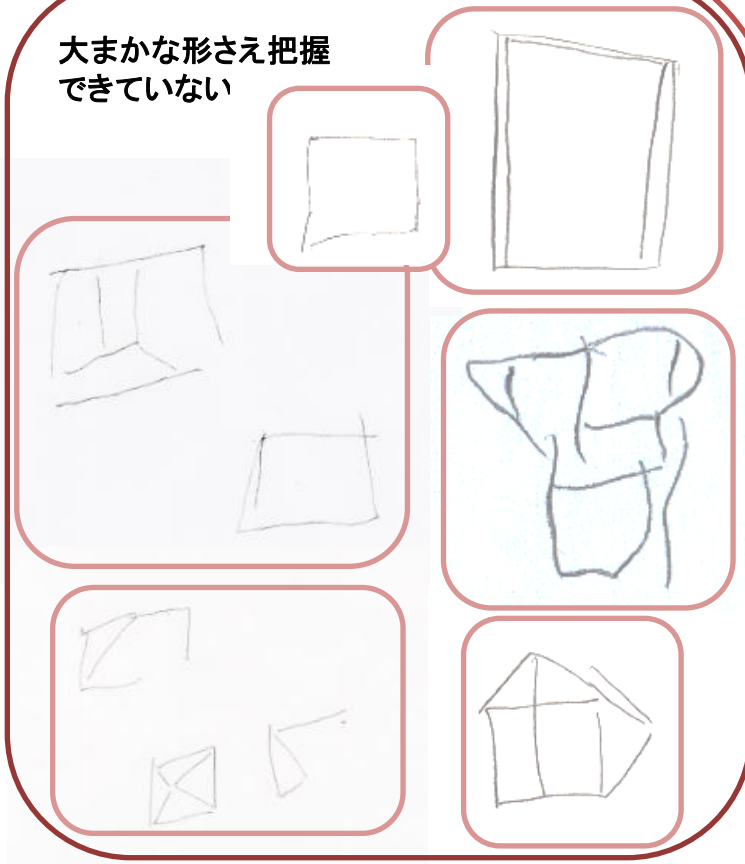
立方体が
模写できたPt.

視覚構成障害
(+)群

見本にくっつけて描く

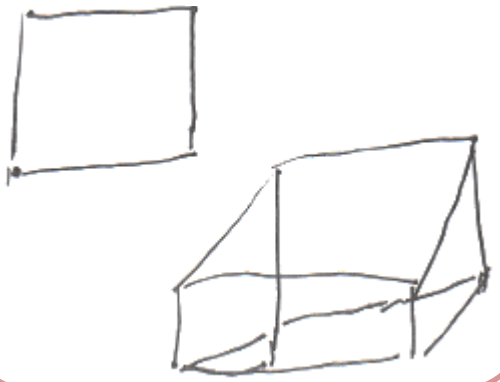


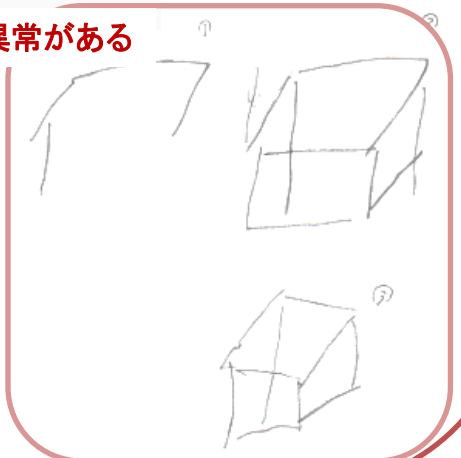
大まかな形さえ把握
できていない



大まかな形の把握
はできている

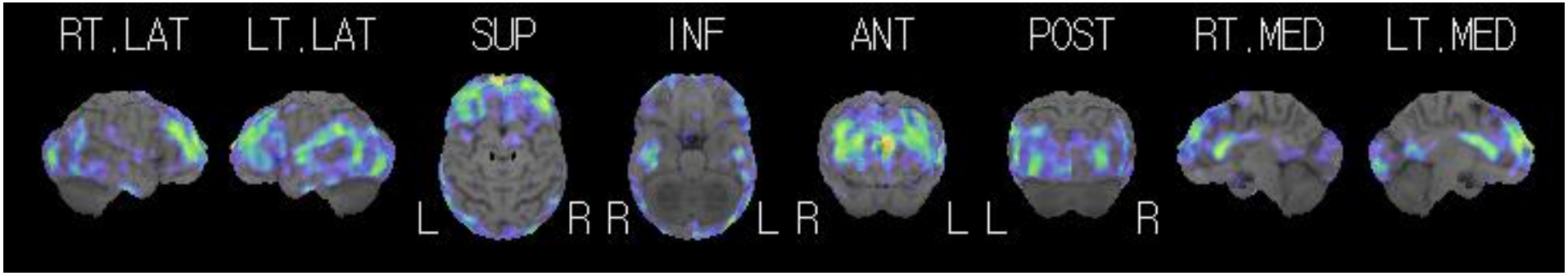
線分の傾きや数・長さの異常がある



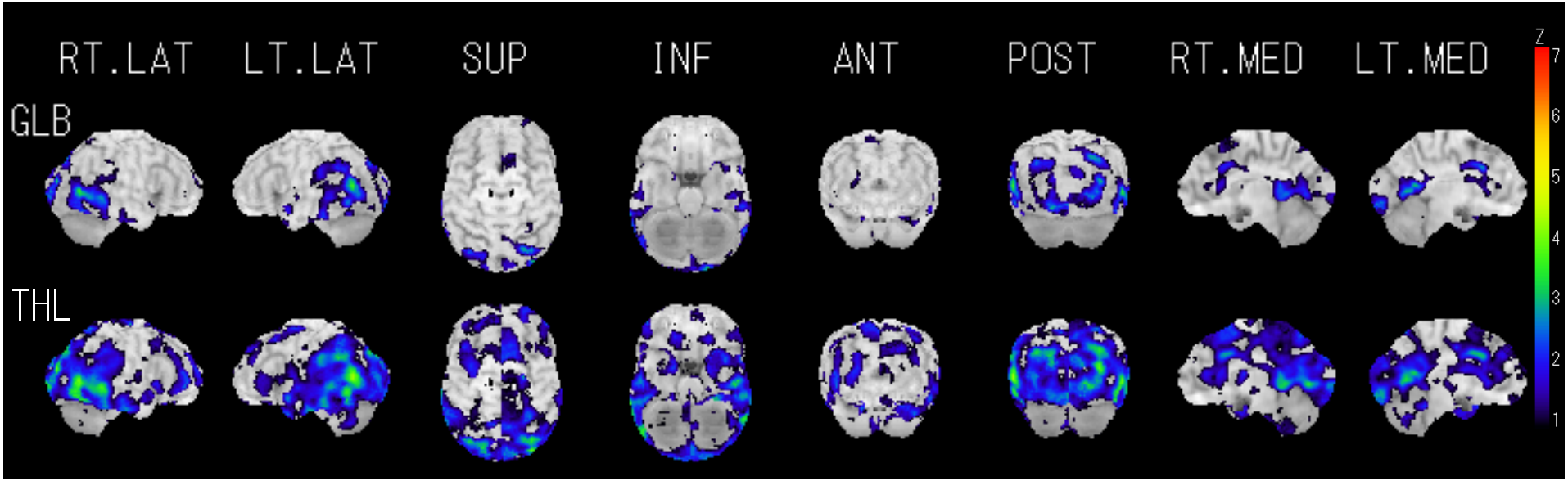


視覚構成課題
統計解析画像(iSSP3.5 2tZ)

視覚構成障害(+)群 VS 正常コントロール群



視覚構成障害(+)群 VS 視覚構成障害(−)群

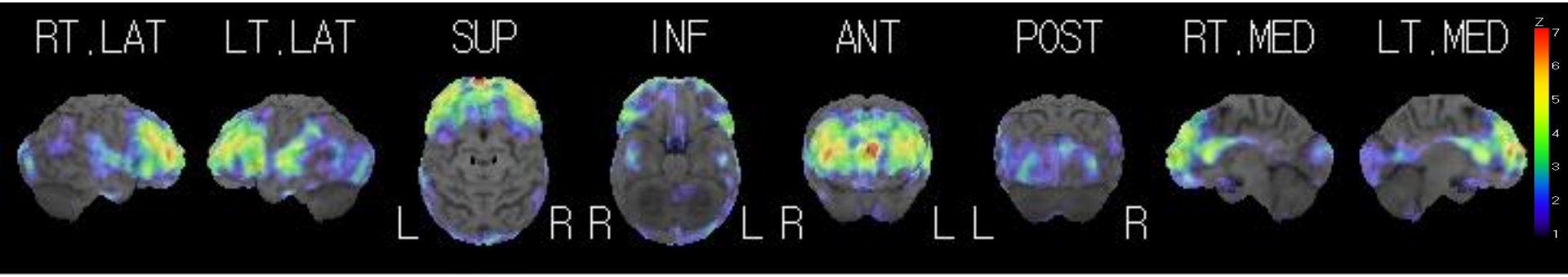


MD1患者27名

	MD1群	正常コントロール群
例数	27例	51名
男:女	14:13	28:23
平均年齢	54.0±7.0歳 （42～67歳）	66.2±7.1歳 （51～78歳）

※先天性，明らかな脳血管障害の既往のある患者は除外

統計解析画像
MD1患者27名 VS 正常コントロール群



MD1の
脳血流低下部位

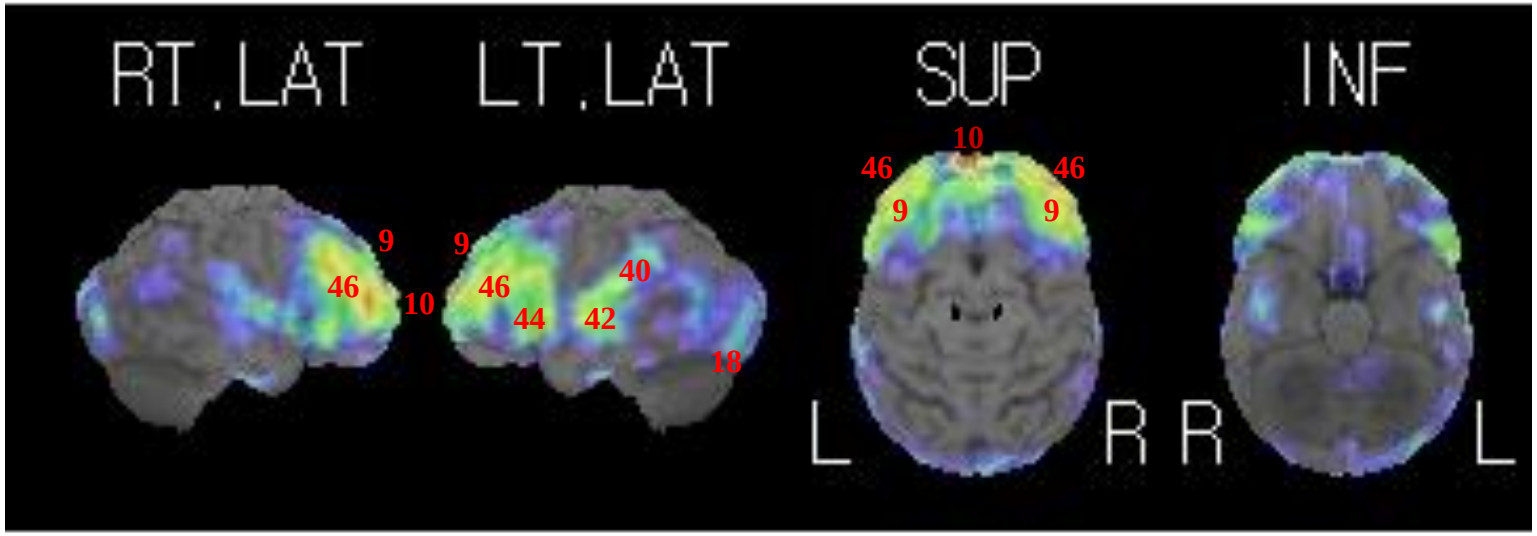
Z-score>1.5 を満たす領域において
Extent ratioとMean Z-scoreの積を
算出し評価した。

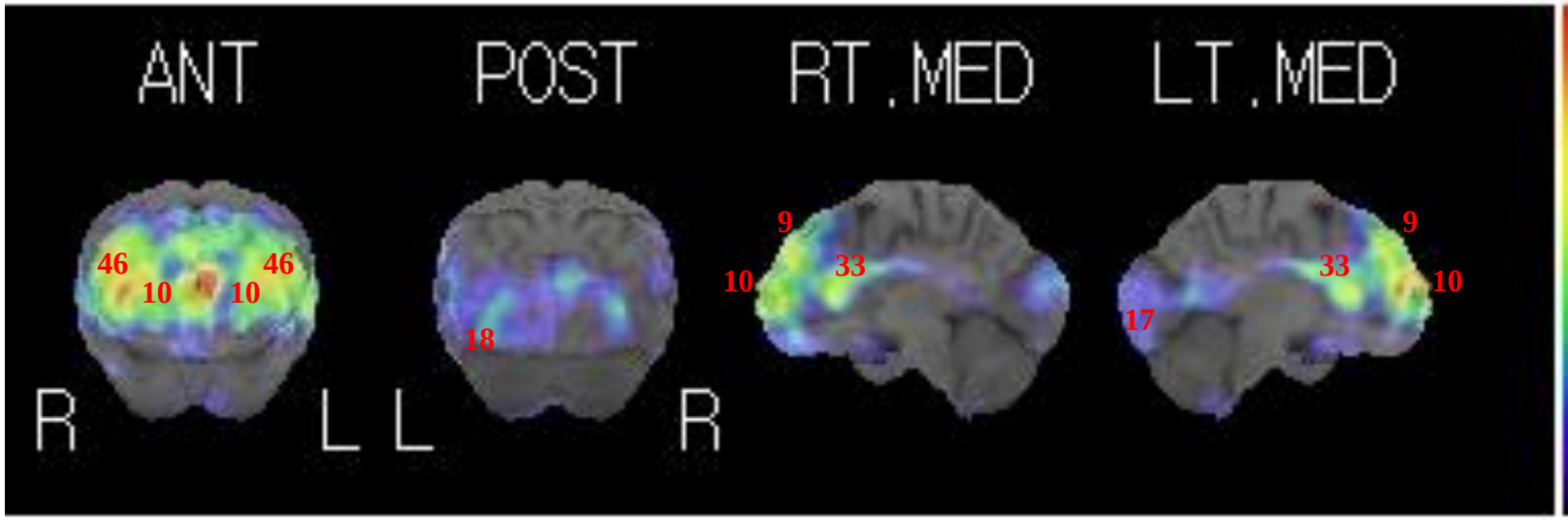
外背側前頭前野，内側前頭前野，前頭極，ブローカ野、前部帯状回の血流低下が顕著.
（BA46,10,9,45,33,32,44,）

・一次味覚野（BA43）
・一次聴覚野（BA42）
・一次視覚野・視覚連合（BA17,18）
・角回・縁上回（BA39・40）

Brodmann		extent ratio	severity mean	ratio*mean
46	Rt	100.00%	4.13	4.13
46	Lt	100.00%	4.1	4.10
10	Lt	100.00%	3.98	3.98
10	Rt	100.00%	3.7	3.70
45	Lt	100.00%	3.6	3.60
9	Lt	97.50%	3.67	3.58
33	Lt	100.00%	3.46	3.46
9	Rt	98.20%	3.49	3.43
43	Lt	100.00%	3.43	3.43
42	Lt	100.00%	3.2	3.20
45	Rt	100.00%	2.7	2.70
33	Rt	100.00%	2.69	2.69
8	Lt	98.60%	2.72	2.68
44	Lt	97.40%	2.7	2.63
8	Rt	99.00%	2.63	2.60
43	Rt	100.00%	2.45	2.45
22	Lt	100.00%	2.24	2.24
42	Rt	100.00%	2.13	2.13
30	Lt	100.00%	2.1	2.10
24	Lt	70.40%	2.74	1.93
44	Rt	94.70%	2.02	1.91
24	Rt	71.30%	2.66	1.90
17	Lt	100.00%	1.82	1.82
40	Lt	88.10%	2.02	1.78
47	Rt	68.30%	2.55	1.74
29	Lt	97.60%	1.74	1.70
39	Lt	95.30%	1.75	1.67
18	Lt	89.00%	1.88	1.67
47	Lt	64.10%	2.59	1.66
32	Rt	80.30%	1.99	1.60
32	Lt	85.60%	1.81	1.55
22	Rt	91.30%	1.68	1.53

統計解析画像
MD1患者27名 VS 正常コントロール群





まとめ

- MD1患者のFAB，語想起、視覚構成課題について、脳血流低下部位との関連性が示唆された。
- MD1の脳血流SPECTでは、外背側前頭前野，内側前頭前野，前頭極，ブローカ野、前部帯状回の血流低下が顕著であったが、一次聴覚野、一次視覚野・視覚連合野、一次味覚野にも血流低下を認めた。
- MD1患者の各々の中枢神経症状と脳血流低下部位との関連性については、白質病変との関連も含め、今後さらに検討が必要と思われた。

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		大阪大学大学院人間科学研究科
研究開発担当者	所属 役職	教授
	氏名	井村　修
実施期間		平成　27　年　4　月　1　日　～　平成　28　年　3　月　31　日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：大阪大学大学院人間科学研究科

研究開発分担者　役職　氏名：教授　井村修

分担研究開発課題名（実施内容）：中枢神経障害の神経心理学的分析

① 研究開発成果の内容

40 数名の DM1 の調査協力者を対象に、TMT、MMSE、WAIS、FAB、WCST、ADAS、CAT、Apathy、PHQ9、ESS、MDQoL60、SRS-2 などの各種認知機能検査および抑うつや睡眠、QOL などの検査を実施した。認知機能の低下は療養行動に影響し、QOL の低下や病気の進行に関連すると考えられるからである。行動のプランや遂行に関連する前頭葉機能の低下が、各種認知機能・神経心理検査の成績から示唆された。また注意機能の低下のみられる DM1 患者もいた。これらの認知機能の問題と QOL の関連を詳細に検討し、認知行動療法などのアプローチにより、DM1 患者の療養行動の改善を試みることが今後の課題となる。また QOL の評価尺度として、INQOL および MDHI の日本語版の作成を行ってきた。

② 研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

あきた病院、横浜労災病院、刀根山病院、大阪大学附属病院、沖縄病院において 40 数名の DM1 患者の協力を得て、上記各種認知機能・神経心理検査及び QOL 関連尺度を実施した。各検査項目間の相関分析と平均値の分析を行っているところである。今後、検査項目の絞り込みを行い、他の施設においてもデータ収集を行いたいと考えている。INQOL と MDHI はバックトランスレーションが終わり、日本語版がほぼ完成した状況にあり、テスト-再テスト信頼性や、項目間の信頼性や妥当性の検討に進む予定である。現在得られているデータをもとに、中間報告としての論文執筆を行い、成果の公表を順次行っていく予定である。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
筋ジストロフィーにおける発達障害についての心理学的検討.	井村修	第 57 回日本小児神経学会　シンポジュウム発表	2015 年 5 月	国内
Characteristics of autistic behavior in patients with dystrophynopaties.	Fujino, H., Saito, T., Matsumura, T., Shibata, S., Iwata, Y., Fujimura, H., & Imura, O	第 57 回日本小児神経学会学術集会ポスター発表	2015 年 5 月	国内

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（４）特許出願一覧（発明の名称）
報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制
研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		東京大学大学院総合文化研究科
研究開発担当者	所属 役職	教授
	氏名	石浦章一
実施期間		平成 27 年 4 月 1 日 ～ 平成 28 年 3 月 31 日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：東京大学大学院総合文化研究科

研究開発分担者　役職　氏名：教授　石浦章一

分担研究開発課題名（実施内容）：　筋強直性ジストロフィー治験推進のための基盤整備の研究

① 研究開発成果の内容

筋強直性ジストロフィー1 型の原因は、DMPK 遺伝子の 3‘非翻訳領域に存在する CTG リピートの伸長であり、長く伸びた CUG リピート RNA にスプライシング因子が捕捉されてスプライシングが正常に行われなくなり、その結果、発症することが明らかになった。特に、本症に特徴的なミオトニアは、塩素チャネル遺伝子のスプライシングが異常になることで起こる。ヒトでの治験も計画されているものの、効果の判定としてはミオトニアが最適であることが指摘されている。ところが、マウスとヒトの塩素チャネル遺伝子構造の違いが指摘されており、マウスで効果のあった薬剤が必ずしもヒトで同等の効果を認めるかどうかについては、明らかではない。マウスでは、エキソン 5－6－7a-7 となっているところが、ヒトでは 5-6-6b-7a-7 となっており、エキソン 5－6－7 とスプライシングされるときだけ正常の塩素チャネルが作られる。そこで本研究では、ミオトニアの原因となっている塩素チャネル遺伝子がヒトとマウスで異なることから、マウスでエキソン 7a をスキップさせるアンチセンス配列がヒトで同等に効果があるかについて検討した。この研究は、筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の最も基本的な研究である。マウスではエキソン 6 と 7 の間にエキソン 7a があり、このエキソンが入るとフレームシフトを起こし、異常なタンパク質が作られる。ところがヒトでは、エキソン 6 と 7 の間にエキソン 6b とエキソン 7a がある。マウスの場合は、エキソン 7a の 5’端の方にアンチセンスを配置することにより効率的にこのエキソンをスキップさせることができた。そこで、ヒトでは、エキソン 6b からエキソン 7a、エキソン 7 付近にアンチセンスをいくつか作成し、スキップ効率を比較した。その結果、エキソン 7a の 3’　端に対するアンチセンスを導入したとき、最も良い効率でエキソン 6b とエキソン 7a を両方スキップして正常のエキソン 5-6-7 をもつ塩素チャネルを作らせることができることがわかった。アンチセンス導入に関しては、数種類用いるのではなく、場所を限定して 1 種類で最も効果のあるものを求める必要があり、ヒトとマウスでは異なる配列に効果が認められた。

② 研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

十分達成できた。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
Splicing of human chloride channel 1.	Nakamura, T., Ohsawa-Yoshida, N., Zhao, Y., Koebis, M., Oana, K., Mitsuhashi, H. & Ishiura, S.	Biochem.Biophys.Reports 5, 63-69	2016 年 1 月	国外
Splicing misregulation of SCN5A contributes to cardiac conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy.	Freyermuth, F., Rau, F., Kokunai, Y., Linke, T., Sellier, C., Nakamori, M., Kino, Y., Arandel, L., Jollet, A., Thibault, C., Philipps, M., Vicaire, S., Jost, B., Udd, B., Day, D., Duboc, D., Wahbi, K., Matsumura, T., Fujimura, H., Mochizuki, H., Deryckere, F., Kimura T., Nukina, N., Ishiura, S., Lacroix, V., Campan-Fournier, A., Navratil, V., Chautard, E., Auboeuf, D., Horie, M., Imoto, K., Lee, K-Y., Swanson, M., Lopez de Munain, A., Inada, S., Itoh, H., Nakazawa, K., Ashihara, T., Wang, E., Zimmer, T., Furling, D., Takahashi, M.P. & Charlet, N.	Nature Commun. 7, 11067	2016 年 1 月	国外
Functional analysis of SERCA1b, a highly expressed SERCA1 variant in myotonic dystrophy	Zhao, Y., Ogawa, H., Yonekura, S., Mitsuhashi, H.,	Biochim.Biophys.Acta-Molecular	2015 年 10 月	国外

type 1 muscle.	Mitsuhashi, S., Nishino, I., Toyoshima, C. & Ishiura, S.	Basis of Disease.		
A short morpholino CAG15 corrects aberrant alternative splicing of *Clcn1* and *Serca1 in vivo.*	Nagano, K.,Takagane, K., Koebis, M., Oana, K., Ohsawa, N., Zhao. Y., Mitsuhashi, H. & Ishiura, S.	Jacobs J.Genet. 1, 008	2015 年 8 月	国外

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
病気があっても健康に暮らすために	石浦章一	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@新潟」	2015 年 5 月	国内
病気があっても健康に暮らすために	石浦章一	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@東京」	2015 年 7 月	国内
病気があっても健康に暮らすために	石浦章一	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@札幌」	2015 年 10 月	国内
筋強直性ジストロフィーってどんな病気？	石浦章一	筋強直性ジストロフィー市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロ	2016 年 1 月	国内

		フィー@福岡」	

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

Biochemistry and Biophysics Reports 5 (2016) 63–69

Contents lists available at ScienceDirect

Biochemistry and Biophysics Reports

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbrep

Splicing of human chloride channel 1

Takumi Nakamura [1], Natsumi Ohsawa-Yoshida [1], Yimeng Zhao, Michinori Koebis, Kosuke Oana, Hiroaki Mitsuhashi, Shoichi Ishiura *

Department of Life Science, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8902, Japan

ARTICLE INFO

Article history:
Received 19 August 2015
Received in revised form
28 October 2015
Accepted 9 November 2015
Available online 11 November 2015

Keywords:
Myotonic dystrophy
MBNL1
Splicing
Human chloride channel 1 gene

ABSTRACT

Expression of *chloride channel 1* (*CLCN1*/*ClC-1*) in skeletal muscle is driven by alternative splicing, a process regulated in part by RNA-binding protein families MBNL and CELF. Aberrant splicing of *CLCN1* produces many mRNAs, which were translated into inactive proteins, resulting in myotonia in myotonic dystrophy (DM), a genetic disorder caused by the expansion of a CTG or CCTG repeat. This increase in abnormal splicing variants containing exons 6B, 7A or the insertion of a TAG stop codon just before exon 7 leads to a decrease in expression of the normal splice pattern. The majority of studies examining splicing in *CLCN1* have been performed using mouse *Clcn1*, as have investigations into the activation and suppression of normal splicing variant expression by *MBNL1-3* and *CELF3–6*, respectively. In contrast, examinations of human *CLCN1* have been less common due to the greater complexity of splicing patterns. Here, we constructed a minigene containing *CLCN1* exons 5–7 and established a novel assay system to quantify the expression of the normal splicing variant of *CLCN1* using real-time RT-PCR. Antisense oligonucleotides could promote normal *CLCN1* alternative splicing but the effective sequence was different from that of *Clcn1*. This result differs from previous reports using *Clcn1*, highlighting the effect of differences in splicing patterns between mice and humans.

© 2015 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

1. Introduction

Myotonic dystrophy (*dystrophia myotonica*, DM) is an autosomal dominant disorder and the most common form of inherited muscular dystrophy in adults [1]. DM is characterised by a wide range of symptoms, including myotonia, progressive muscle loss, cataracts, cardiac conduction defects, insulin resistance and cognitive impairments [2]. Two forms of DM, DM1 and DM2, have been described to date. In DM1, disease symptoms result from an aberrant expansion of the CTG trinucleotide repeat in the 3′ untranslated region (UTR) in myotonic dystrophy protein kinase (*DMPK*) on chromosome 19 [3–5]. In DM2, disease is caused by an expansion of a CCTG tetranucleotide repeat in intron 1 of the CCHC-type zinc finger, nucleic acid binding protein (*CNBP*) gene on chromosome 3 [6]. Among patients with DM, several lines of evidence have suggested a relationship between transcribed RNA CUG or CCUG repeats and disease symptoms. First, the number of CUG repeats correlates with the severity of symptoms [5]. Second, in cells derived from patients with DM, expanded CUG and CCUG repeats accumulate in the nucleus [6–8]. Third, HSA^{LR} transgenic mice expressing an expanded CUG repeat inserted in the human skeletal muscle actin (*HSA*) gene manifest myotonia and abnormal muscle histology [9].

In addition to sequence repeats, abnormalities in RNA metabolism have also been found in patients with DM. Aberrant splicing has been reported in multiple genes, including chloride channel 1 (*CLCN1*), insulin receptor (*INSR*), bridging integrator 1 (*BIN1*), myomesin 1 (*MYOM1*) and actin-binding LIM protein 1 (*ABLIM1*), among others [10–14], leading to a variety of symptoms in these patients. This aberrant splicing is thought to be driven by two families of splicing factors, muscleblind-like (*MBNL*) and CUG binding protein/ELAV-like family (CELF). MBNL proteins MBNL1–3 bind CHG/CHHG (H: A, C and U) sequences of RNA and co-localise with mRNAs containing CUG expanded repeats [15]. This process leads to a decrease in the intracellular concentrations of functionally available MBNL proteins. Alternatively, CELF proteins, especially CELF1 and CELF2, are activated by CUG repeats, although the pathways regulating this process have not been fully elucidated [16]. This imbalance of MBNL and CELF in turn leads to abnormal splicing of downstream genes, further exacerbating DM symptoms.

Here, we examine the effects of MBNL1-3 and CELF1-6 on DM. *CLCN1* is thought to be responsible for myotonia, the most characteristic symptom in DM1 [17]. Many studies have been performed using mouse *Clcn1*. In these models, a frameshift occurs following

* Corresponding author.
E-mail address: cishiura@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp (S. Ishiura).
[1] These authors have equally contributed to this work.

http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrep.2015.11.006
2405-5808/© 2015 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

the insertion of exon 7A (79 bp) between exon 6 and 7 in *Clcn1*; these immature mRNA transcripts are then degraded by the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) machinery, resulting in lower steady state levels of CLCN1 protein. Correction of the abnormal splicing patterns in HSA^{LR} transgenic mice has been shown to rescue this phenotype, leading to recovery from myotonia [18]. Moreover, in *Clcn1*, MBNL1–3 decrease the insertion of exon 7A, whereas CELF3–6 increase it [19]. However, chloride channelopathy in DM1 has been reported to be due to downregulation of CLCN1 transcription [20]. So, the mechanism of myotonia in DM1 is controversial.

Far less is known regarding the function of human *CLCN1*, as mouse and human *CLCN1* exhibit distinctly different splicing patterns. *CLCN1* encodes for two additional exons, 6B (55 bp) not present in the mouse orthologue and 7A (79 bp) between exons 6 and 7; insertion of either or both of these exons into *Clcn1* results in a frameshift mutation. Alternative splicing of these exons has been shown to produce numerous variants in the skeletal muscle of patients with DM, including variants such as 5–6B–7A–7–8, 5–6–6B–7A–7–8 and 5–8 [17]. Beyond these two additional exons, another splicing pattern characterised by a three base pair (TAG triplet) extension of exon 7 has also been detected [10]. This inserted TAG sequence is thought to act as a stop codon, resulting in the production of the immature mRNA.

To better understand the mechanism of splicing in *CLCN1*, we began by constructing a minigene spanning exons 5–7 of *CLCN1*, resulting in the synthetic *CLCN1* (5–7) minigene. We also established a new assay using real-time reverse transcription (RT)-PCR, which can distinguish between splicing variants based upon the presence of the TAG-inserted pattern. We found significant differences between the human and mouse orthologue, which may have important implications for the study of DM.

2. Materials and methods

2.1. Cell culture, transfection and RNA extraction

HEK293 cells were grown in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing 10% foetal bovine serum (FBS) and subcultured at 90–100% confluence. HEK293 cells were plated at 6.0×10^5 cells on 6-well plates 24 h before transfection. For RT-PCR analyses, the *CLCN1* (5–7) minigene (1.0 μg) was transfected with 3.0 μL FuGENE 6 (Promega). In the cellular splicing assay, minigenes (0.2 μg) and splicing factor constructs (0.8 μg) were transfected with 3.0 μL FuGENE 6. For antisense analysis, HEK293 cells were cultured in 12-well plates and transfected with minigenes (0.1 μg) and AONs (antisense oligonucleotides: phosphorothioate 2′ *O*-methyl RNA oligonucleotides (Coralville, IA) listed in Supplementary Table ST1, 50 pmol) using 4.0 μL Lipofectamine 2000 at 50–60% confluence and incubated for 48 h; total RNA was extracted using a GenElute Mammalian Total RNA Miniprep Kit with DNase treatment (Sigma-Aldrich), as described previously [13,14,21].

2.2. RT-PCR and sequence analysis

For cDNA synthesis, 1.0 μg of total RNA was reverse-transcribed with a PrimeScript 1st Strand cDNA synthesis Kit (TaKaRa Bio) in a total volume of 10 μL using oligo(dT) primers. cDNA samples were then diluted fivefold prior to use. PCR was performed using Ex Taq DNA polymerase (TaKaRa Bio) according to the manufacturer's protocol. For sequence analysis of the *CLCN1* (5–7) minigene, PCR was carried out using the following primer set: forward (5′-CATGGTCCTGCTGGAGTTCGTG-3′) and reverse (5′-CTCCAAGTGGTGTCCCAAAACAAC-3′). PCR conditions were as follows: an initial denaturation step at 96 °C for 2 min, 30 cycles at 96 °C for 30 s, 62 °C for 30 s and 72 °C for 30 s, and a final extension step of 72 °C for 5 min. PCR products were then separated via 8% polyacrylamide gel electrophoresis and soaked in ethidium bromide solution (1 μg/ml); then the relevant bands were extracted from the gel. The spliced gel was shaken in solution buffer (0.5 M ammonium acetate and 1 mM EDTA in sterilised water) for 48 h, after which the products were washed in isopropyl alcohol followed by ethanol precipitation. Precipitates were then dissolved in a volume of 5 μL sterilised water. The purified DNA fragment was inserted into a pGEM-TEasy vector (Promega) using a Rapid DNA Ligation Kit (Roche) and sequenced to confirm proper insertion.

2.3. Real-time PCR

Expression of the normal splicing pattern variant of *CLCN1* was quantified using a relative standard curve method following amplification on a StepOnePlus Real-Time PCR System (Life Technologies). Reactions were performed using the Power SYBR Green PCR Master Mix (Life Technologies). PCR reaction was performed in a total volume of 10 μL using cDNA samples (1 μL). PCR conditions were as follows: an initial denaturation step at 96 °C for 20 s, followed by 40–55 cycles at 96 °C for 30 s and 67 °C for 30 s, and a final melt curve step at 96 °C for 30 s, 67 °C for 30 s and 96 °C for 30 s. Expression of the normal splicing pattern was compared against the expression of GFP in the *CLCN1* (5–7) minigene relative to the mock control. Each threshold cycle value (Ct-value) was calculated as an average of three replicates, with undetermined values treated as 0. Another mock sample (pcDNA3.1) was used as the control baseline for calculating relative quantification (RQ) value. The normal splicing pattern was amplified using the *CLCN1* (5–6–7) primer set: forward (5′-GTTCTGCGGGGTATATGAaCA-3′) and reverse (5′-CTCCAAGTGGTGTCCCAAAACAAC-3′); GFP was amplified using the following primers: forward (5′-AAGTTCAGCGTGTCCGG-3′) and reverse (5′-TGTCGCCCTCGAACTTC-3′). Each primer set was adjusted to a final concentration of 500 nM.

2.4. Standard curve

To draw the standard curve, initial templates were diluted in sterile water and supplemented with 0.2 pg/μL salmon sperm single strand DNA (D1626, Sigma), followed by a series of four ninefold dilutions. The pGEM-TEasy vector (Promega) containing the normal splicing pattern insert was used as the control template at a starting concentration of 1 ng/μL. GFP controls were amplified from mock control cDNA. Variance between replicates due to high annealing and extension temperatures was limited by using standard curves with an $R^2 > 0.95$.

2.5. Protein extraction

Transfected cells were harvested in sonication buffer (0.1% Triton X-100, 0.1% protease inhibitor mix in phosphate-buffered saline, PBS) and disrupted 10 times by sonication using Sonifier 450 disruptor (Branson) with an output of 3 and a duty cycle of 10%. After sonication, protein concentrations were quantified using a DC Protein Assay (Bio-Rad) according to the manufacturer's instructions. Briefly, each sample was diluted to 2 μg/μL with PBS and diluted twofold in 2 × sample buffer to a final concentration of 1 μg/μL. Samples were stored at −80 °C.

2.6. Western blotting

Samples were resolved by SDS-PAGE and transferred to PVDF membranes (Immobilon-P, Millipore). The membranes were then blocked with 5% skim milk in PBS with 0.05% Tween 20 (PBST) for 1 h at room temperature and then incubated overnight at 4 °C with primary antibodies, anti-myc (1:5000, R950-25; Invitrogen)

and anti-actin (1:600, Spring Bioscience) in 5% skim milk. After washing, the membranes were incubated for 1 h in horseradish peroxidase (HRP)-conjugated secondary antibodies (Cell Signaling Technologies) at room temperature. The immunoreactive bands were visualised by enhanced chemiluminescence (ECL) and scanned using an LAS-3000 image analyser (FujiFilm).

2.7. Constructs

The *CLCN1* (5–7) minigene was constructed using the *CLCN1* minigene [19], which spans exons 6–7 of *CLCN1*. The genomic fragment covering exon 5 and intron 5 was amplified by nested PCR using PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (TaKaRa Bio) from human genomic DNA (Promega). The first fragment containing exons 5–6 was amplified using the following primer set: forward (5′-AGAACTTGCCACCAGACTCG-3′) and reverse (5′-TGGACTAG-CAGGGAGAGCAT-3′). The second fragment was amplified using the first fragment as template with the following primers: forward (5′-AAAGATCTGGAATCCCCGAAATGAA-3′) and reverse (5′-TGGAC-TAGCAGGGAGAGCAT-3′). The second fragment was then inserted into the BglII–XapI site of the *CLCN1* minigene and sequenced to confirm proper recombination. Splicing factors MBNL1, MBNL2, MBNL3, CELF1, CELF2, CELF3, CELF4, CELF5 and CELF6 were cloned as described previously into pSec-DK, a mammalian expression vector with a myc-tag and 6× His-tag modified from pSecTagA (Invitrogen) by deleting the Igκ chain leader sequence [19].

2.8. Mutagenesis

The first fragment of the *CLCN1* (A > T) minigene and the second fragment of the *CLCN1*(ΔTAG) minigene were amplified with PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (TaKaRa Bio) using the *CLCN1*(5–7) minigene as a template. The following primer sets were used for PCR amplification: first fragment, forward (5′-CTCTGTCTGTCTCTCCCCTtGTAGCAGCCATACTACTACTCTG-3′) and reverse (5′-CAGAGTAGTAGTATGGCTGCTACaAGGGG-AGAGACAGACAGAG-3′) and second fragment, forward (5′-CCTGTTTCTCTGTCTGTCTCTCCCC_TAGCAGCCATACTACTACTCTG-3′) and reverse (5′-CAGAGTAGTAGTATGGCTGCTA_GGGGAGA-GACAGACAGAGAAACAGG-3′). PCR products were then treated with DpnI and inserted into the HindIII–SalI site of the *CLCN1* (5–7) minigene. Each minigene was sequenced before use to confirm proper insertion.

3. Results

3.1. Splicing pattern of the CLCN1 (5–7) minigene

This study was performed using the *CLCN1* (5–7) minigene, which consisted of exons 5–7 of *CLCN1* inserted into a pEGFP-C1 expression vector (Fig. 1A). This vector was then transfected into HEK293 cells and analysed by RT-PCR to compare the splicing patterns of the human construct to that of the mouse orthologue (Fig. 1B). Several splicing patterns were observed, including exons 5–6–6B–7A–7, 5–6B–7A–7 and 5–6–7 [17]. These patterns are in stark contrast to that of *Clcn1*, which contains only exons 5–6–7 and 5–6–7A–7 (Fig. 1). As frameshifts are known to occur in all constructs expressing exons 6B or 7A, these splicing variants are likely to result in the production of inactive proteins or mRNAs, which would be degraded via nonsense-mediated mRNA decay (NMD). The normal spliced band containing exons 5–6–7 (286 bp) and an abnormally spliced one containing exons 5–7A–7 (287 bp) were indistinguishable by electrophoresis, limiting our ability to quantify production of the normal splice variant.

3.2. Reappearance of the TAG-inserted pattern in the CLCN1 (5–7) minigene

During the analysis of the *CLCN1* (5–7) minigene splicing, we detected an additional splicing variants containing a TAG sequence just before exon 7 (Fig. 2A). We refer to this splicing pattern as the "TAG-inserted pattern". This splicing pattern was found in exons 5–7A–7, 5–7 and 5–6–7, suggesting that a TAG sequence can exist in each of the bands shown in Fig. 1B. Because the TAG sequence encodes for a stop codon, these splicing variants also produce the mRNAs which are translated into inactive proteins. The frequency of the TAG-inserted pattern has previously been investigated across all splicing variants of *CLCN1* [10]. Here, we performed RT-PCR followed by sequencing of the 5–6–7 splice band from human skeletal muscle biopsies to determine the ratio of the TAG-inserted pattern relative to that of the 5–6–7 splicing pattern (Fig. 2B). The observed ratio was found to be highly variable between individuals, with no significant difference in the percentage of the TAG inserted pattern between DM and controls.

To determine the mechanism underlying TAG insertion, we examined the sequence immediately upstream of exon 7, revealing two tandem TAG sequences (Fig. 2C). We hypothesised that the

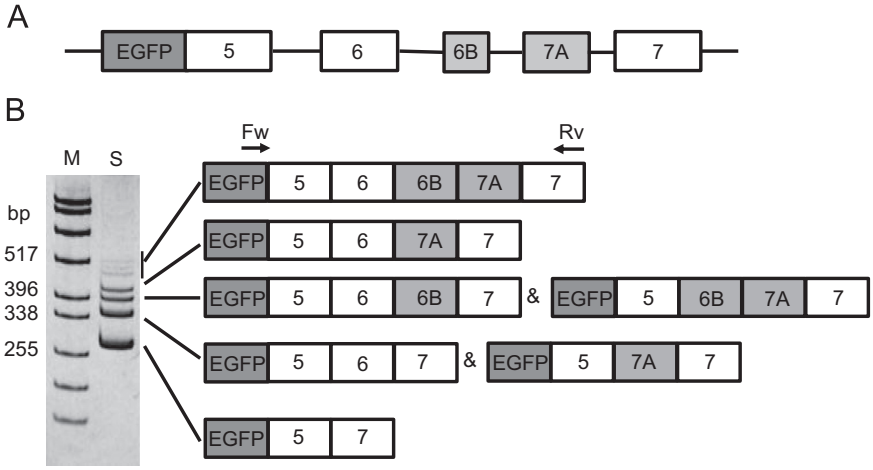
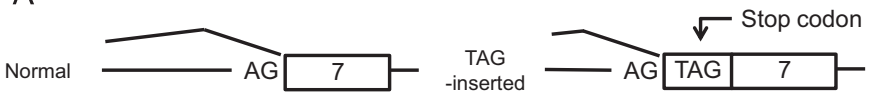


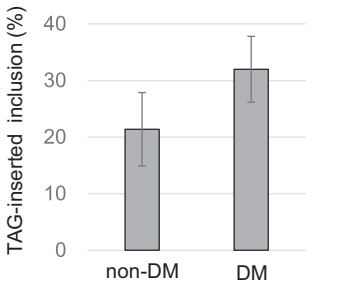
Fig. 1. Splicing patterns of the *CLCN1* (5–7) minigene. (A) Structure of the *CLCN1* (5–7) minigene. Exons 5–7 of *CLCN1* were inserted downstream of EGFP. Frameshifts occur in splicing variants having each or both of exons 6B and 7A, which may result in the production of immature proteins. (B) The *CLCN1* (5–7) minigene was transfected into HEK293 cells, and the resulting splicing variants were analysed by RT-PCR. Various other splicing patterns were also detected; however, the splicing variant containing only exons 5–7 was not detected in human muscle. M, marker; S. splicing products, bp, base pair. Since we used a forward primer which is complementary to GFP sequence, appeared bands are higher than the theoretical ones.

A



B

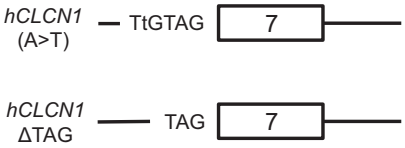
Sample	Normal	TAG-inserted	TAG (%)
Non-DM1	12	3	20
Non-DM2	9	6	40
Non-DM3	12	3	20
Non-DM4	15	0	0
Non-DM5	11	4	27
DM1	10	5	33
DM2	8	7	47
DM3	11	4	27
DM4	13	2	13
DM5	9	6	40



***P=0.2518
(Student's t-test; mean ± SD; n = 5)

C

D



E

	Normal	TAG-inserted	TAG-inserted inclusion (%)
hCLCN1	5	15	75
hCLCN1(A>T)	20	0	0
hCLCN1(ΔTAG)	20	0	0

Fig. 2. Analysis of the TAG-inserted pattern. (A) The structure of the TAG-inserted pattern. In this pattern, a TAG sequence that encodes for a stop codon is inserted immediately upstream of exon 7. (B) The percentage of the TAG-inserted pattern in normal-sized splicing variants in human skeletal muscle biopsies (Non-DM1-5: 8mo(M), 2y(M), 31y(F), 34y(M), 42y(M), respectively ; DM1-5: 8mo(M), 2y(M), 11y(M), 36y(M), 41y(M), respectively). We performed RT-PCR and sequenced the band corresponding to the normal splicing pattern 15 times for each individual. Interindividual variances in the percentage of TAG-inserted pattern transcripts were evident, but these differences were not significantly different between DM and control groups. (C) Sequences adjacent to exon 7. Two tandemly repeated TAG sequences were detected just before exon 7. (D) Analysis of the acceptor site in TAG-inserted pattern transcripts. Two mutant *CLCN1* minigenes were constructed: *CLCN1* (A > T), in which the TAG sequence was mutated to TTG, and *CLCN1*ΔTAG, in which the TAG sequence was deleted. (E) Analysis of the percentage of the TAG-inserted pattern inclusion in each construct. The TAG-inserted pattern was completely absent in each of the two mutant constructs.

upstream TAG sequence serves as the acceptor site for mRNA splicing. To confirm this hypothesis, we generated two constructs: one in which the upstream TAG sequence was mutated to TTG, *CLCN1* (A > T), and the other in which the upstream TAG sequence was deleted, *CLCN1*ΔTAG (Fig. 2D). These constructs were then transfected into HEK293 cells, and the resulting transcripts were analysed by RT-PCR and sequenced. The TAG-inserted pattern was shown to be completely lost in each construct (Fig. 2E), indicating that the upstream TAG sequence, particularly the 'AG' residues, serves as the new acceptor site to produce the TAG-inserted pattern.

3.3. Establishment of a new assay system to quantify the normal splicing pattern variant

Based upon the various splicing patterns observed in the first round of analyses, we developed a new assay to quantify the normal splicing pattern variant by real-time RT-PCR using a primer set specific for those sequences. In this assay, the forward primer annealed to the junction of exons 6 and 7, and the reverse primer annealed to exon 7. Complementarity between the two bases on the 5′ end of exon 7 was used to distinguish the 5–6–7 splicing variant from that of the TAG-inserted pattern (Fig. 3A, left). However, as this forward primer is also complementary to a portion of the TAG-inserted pattern (Fig. 3A, right), this primer set was able to amplify both the 5–6–7 and the TAG-inserted patterns under standard PCR conditions. Next, we designed the forward primer to have one mismatch in the four bases complementary to the TAG-inserted pattern, so that the complementarity between the primer and the TAG-inserted pattern is suppressed (Fig. 3B). This primer set was referred to as *CLCN1* (5–6–7).

Finally, we optimised our PCR conditions using the *CLCN1* (5–6–7) primer set. Generally, real-time PCR is performed in two steps containing a single denaturation followed by an annealing and extension step. Plasmid vectors containing the 5–6–7 and the TAG-inserted pattern sequences were used as the template and analysed by gradient PCR. Specific amplification of the 5–6–7 splicing pattern was observed at temperatures > 67.1 °C (Fig. 3C);

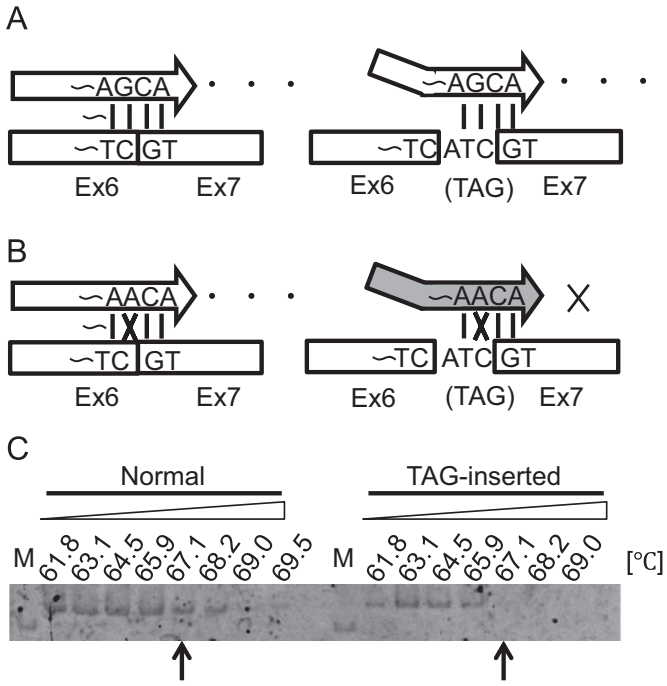
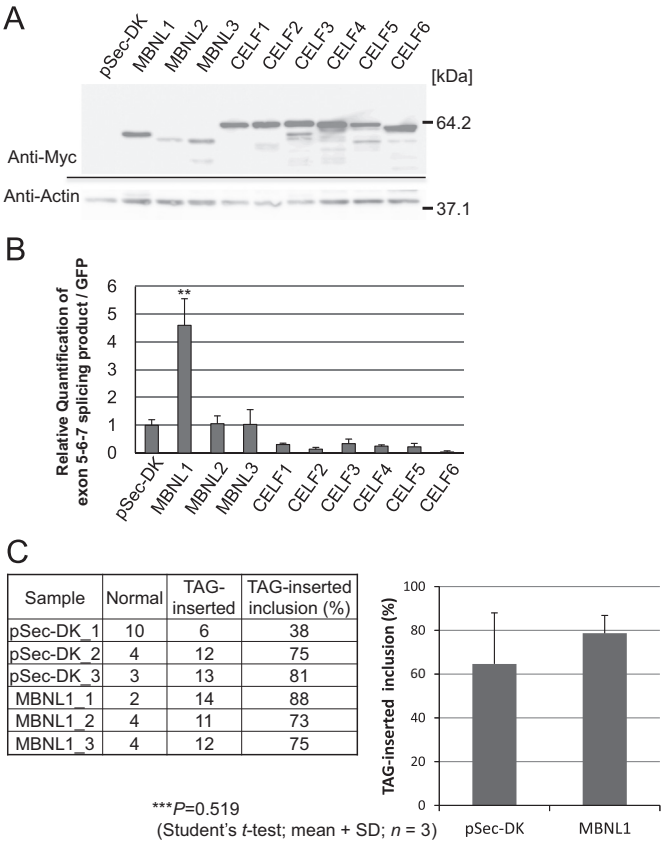


Fig. 3. The establishment of the assay system. (A) The original primer set. Theoretically, the forward primer should anneal to the junction of exons 6 and 7, resulting in specific amplification of the normal splicing pattern; however, this forward primer is complementary to a portion of the TAG-inserted pattern, resulting in amplification of this region under standard PCR conditions. (B) A schematic diagram of the *CLCN1* (5–7) forward primer. The original primer was modified to include one mismatch in the last four bases complementary to the TAG-inserted pattern, allowing for specific amplification of the normal splicing pattern. (C) Optimisation of the annealing and extension steps using the *CLCN1* (5–7) primer set. Gradient PCR was performed in two steps using a denaturation step of 96 °C for 30 s, followed by a 30 s annealing and extension step using the pGEM-TEasy plasmid vector containing the normal or TAG-inserted pattern as template. The following temperatures for annealing and extension were used: 61.8 °C, 63.1 °C, 64.5 °C, 65.9 °C, 67.1 °C, 68.2 °C, 69.0 °C and 69.5 °C. Of these conditions, 67.1 °C was chosen as the optimal temperature for specific amplification of the normal splicing pattern.



Sample	Normal	TAG-inserted	TAG-inserted inclusion (%)
pSec-DK_1	10	6	38
pSec-DK_2	4	12	75
pSec-DK_3	3	13	81
MBNL1_1	2	14	88
MBNL1_2	4	11	73
MBNL1_3	4	12	75

Fig. 4. Results of the cellular splicing assay in HEK293 cells. (A) The expression of each splicing factor was verified by Western blot. Splicing factor constructs (0.8 μg) and the *CLCN1* (5–7) minigene (0.2 μg) were co-transfected into HEK293 cells. Anti-Myc antibody was used to detect each splicing factor containing a Myc tag; anti-Actin was used as an internal control. (B) Expression of the *CLCN1* normal splicing pattern by real-time RT-PCR, relative to the expression of GFP in the *CLCN1* (5–7) minigene. *MBNL1* induced a 4.5-fold increase in the expression of the normal splicing pattern relative to controls; these effects were not seen with either *MBNL2* or *MBNL3*. In contrast, CELF proteins tended to downregulate the expression of the normal splicing pattern ($n=3$). Bars indicate the mean and SEM; statistical significance was evaluated using Dunnett's multiple comparison test ($^{**}p<0.05$). (C) The percentage of the TAG-inserted pattern in HEK293 cells co-transfected with *CLCN1* (5-7) minigene and MBNL1/pSec-DK (each $n=3$). We performed RT-PCR and sequenced the band corresponding to the normal splicing pattern 15–16 times for each sample as the experiment of Fig. 2B. But, the percentage of TAG-inserted inclusion did not change upon MBNL1 overexpression.

we therefore set the annealing and extension temperature for all subsequent PCRs at 67 °C when using the *CLCN1* (5–6–7) primer set. Suitability of these conditions was validated by real-time PCR (data not shown).

3.4. Quantification of the normal splicing pattern of CLCN1

To investigate the effects of splicing factors MBNL1-3 and CELF1-6, we performed a cellular splicing assay using the quantification method described above. Expression of each splicing factor was confirmed by Western blot (Fig. 4A). Expression of MBNL1 significantly increased the expression of 5–6–7 splicing pattern transcripts 4.5-fold relative to controls; these effects were not seen with either MBNL2 or MBNL3. These results are in stark contrast to that of a previous report performed using *Clcn1* [19], highlighting the difference between human and mouse transcripts. Moreover, CELF families tended to downregulate the expression of the 5–6–7 splicing pattern (Fig. 4B).

To confirm whether MBNL1 regulates TAG-insertion splicing, we performed normal RT-PCR and sequenced the band corresponding to the normal splicing pattern 15–16 times for each cell sample co-transfected with minigene and MBNL1/pSec-DK (Fig. 4C). The ratio of TAG-inserted inclusion condition did not change at all upon MBNL1 overexpression. MBNL1 increased not only normal isoform but also TAG-inserted isoform. Therefore, we conclude that MBNL1 does not regulate the TAG-insertion splicing, but promotes exon 6B and/or exon 7A skipping.

3.5. AONs induced exclusion of CLCN1 exons 6B and 7A

Next, we investigated whether AONs could induce 5–6–7 splicing of *CLCN1* using the quantification method described above (Fig. 5). Exon 7A (+63−8) AON significantly induced a 4-fold increase in the expression of the 5–6–7 splicing pattern relative to the control. Exon 7A (−10+15) AON also tends to increase the expression of 5–6–7 splicing product. But other AONs did not enhance 5–6–7 splicing. In the previous study, AON of exon 7a (+1+25) on *Clcn1* efficiently excluded exon 7a *in vitro* and *in vivo* [23]. However, AON of exon 7a (+1+25) did not induce 5–6–7 splicing of *CLCN1*.

4. Discussion

Here, we investigated human specific splicing of *CLCN1*, the gene responsible for myotonia in DM, using an *CLCN1* (5–7)

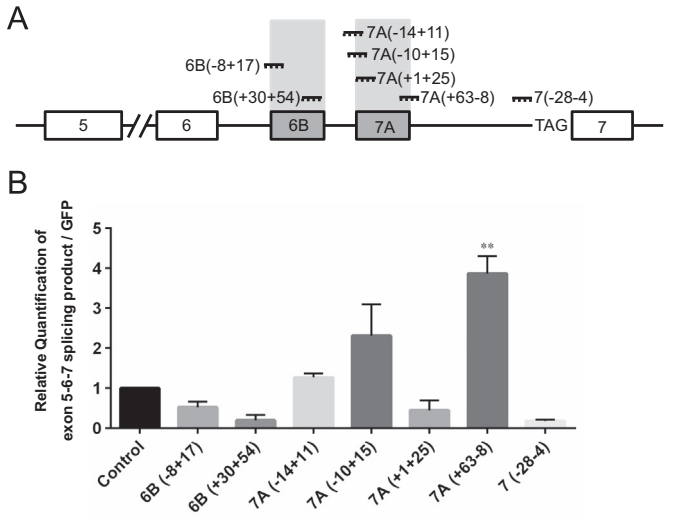


Fig. 5. AON-mediated exclusion of CLCN1 exons 6B and 7A in HEK293 cells. (A) Locations of the target sites of AONs (thick black lines) along the *CLCN1* pre-mRNA. (B) Results of the cellular splicing assay by AON in HEK293 cells. Expression of the *CLCN1* 5–6–7 splicing product by real-time RT-PCR, relative to the expression of all transcipts in the *CLCN1* (5–7) minigene, was shown. Exon 7A (+63−8) AON was the most successful AON for inducing 5–6–7 splicing of *CLCN1* minigene in HEK293 cells ($n=3$). Exon 7A (+63−8) AON induced a 4-fold increase in the expression of the 5–6–7 splicing pattern relative to controls. Also, Exon 7A (−10+15) AON tends to induce 5–6–7 splicing, whereas exon7A (+1+25) does not. Bars indicate the mean and SEM; statistical significance was evaluated using Dunnett's multiple comparison test ($^{**}p < 0.01$).

minigene expression construct. Expression of this minigene revealed various splicing patterns, including the TAG-inserted pattern, which encodes for a stop codon and is readily detected in human skeletal muscle biopsies. To distinguish between these various transcripts, we developed an RT-PCR assay specific for the 5–6–7 splicing pattern, regardless of the presence of other variants. This assay was then used to quantify cellular splicing. MBNL1 was shown to activate the expression of the 5–6–7 splicing pattern, with no effects seen for either MBNL2 or MBNL3. This result marks an important difference from that of our previous reports using mouse *Clcn1* [19]. In contrast to MBNL1, overexpression of each CELF isoform decreased the expression of the 5–6–7 splicing pattern.

The TAG-inserted pattern is likely the cause of myotonia, as it produces a stop codon just before exon 7 and can suppress the expression of the 5–6–7 splicing pattern. Although we detected the acceptor site responsible for this insertion, the overall function of the TAG-inserted pattern remains unclear. In terms of its role in DM, no significant differences were observed in the percentage of 5–6–7 and TAG-inserted patterns between DM and controls. However, as sequencing was performed only 15 times per individual, comparisons between these two groups may not be fully reliable. We therefore needed to establish an assay that could be used to specifically quantify the TAG-inserted pattern, as well as investigate the TAG-inserted pattern in more detail. In this study, we identified two tandemly repeated TAG sequences immediately upstream of exon 7, one of which served as the splice acceptor site for this exon. These two TAG sequences are conserved across a range of species, including chimpanzees, dogs and mice, and have been used in a variety of experiments investigating *Clcn1* [10]. Hence, a more accurate assay method like the one described here may be necessary for future examinations of *Clcn1*.

The assay system described here is able to directly quantify the production of 5–6–7 splicing pattern transcripts, an important distinction as the expression of this protein is directly related to the onset of myotonia. However, this assay was unable to quantify other splicing variants. We will therefore need to establish additional assays such as direct RNA sequencing as a means of quantifying the percentage of each splicing variant to better understand the effects of splicing in *CLCN1*. Furthermore, this assay relied on real-time PCR performed at relatively high annealing and extension temperatures to achieve transcript-specific amplification of the normal splicing pattern. As a result, variance in Ct-values between triplicates was detected. Further improvements will be necessary to fully quantify the various splicing products produced by this gene.

Using this new assay, we were able to detect differences in terms of *CLCN1* regulation between MBNL1 and MBNL2-3. All three MBNL proteins bind CHG/CHHG sequences of RNA and have the same amount of zinc finger domains, which are critical for recognising a common consensus sequence in pre-mRNA and mRNA targets [22]. Splicing efficacy therefore depends on differences in the target genes themselves, as opposed to any specific MBNL protein. In fact, our previous reports showed that the effects of each isoform differed based upon its target genes [13,14]. On the other hand, the expression levels of MBNL2 and MBNL3 are weaker than that of MBNL1 (Fig. 4A), which may have mediated the lower overall effects seen with these homologues. However, in our previous study using *Clcn1*, we observed a similar tendency in terms of protein expression; however, in this model, both MBNL2 and MBNL3 did enhance the expression of the 5–6–7 splicing pattern [19]. Moreover, the effects of MBNL are regulated by a variety of other factors, such as the secondary structure of mRNAs [22].

AON successfully alleviated the myotonic phenotype in DM model mice [18,23]. To screen for an optimal AON sequence, we used 25-mer phosphorothioate 2′ *O*-methyl RNA molecules that covered the exon 6B or exon 7A. Unexpectedly, AON 7A (+63−8) which covers the boundary of intron 7A and exon 7A enhanced the expression of 5–6–7 splicing product. Some AONs designed on exon 7A excluded not only exon 7A but also exon 6B (Fig. 5). Therefore we thought that the exclusion of exons 6B and 7A might be related. AON of exon 7A (+1+25) which was the most successful AON in mice did not enhance 5–6–7 splicing in human. We therefore hypothesise that the differences seen between mice and humans are the result of sequence differences between the human and mouse orthologues of *CLCN1*, as sequence similarity in exons 5–7 is only 75% according to BLAST analysis.

In this study, we described differences in splicing patterns of *Clcn1* and *CLCN1*. These observations are important, as they suggest that results obtained using *Clcn1* do not necessarily apply to *CLCN1*. Subsequent experiments should therefore focus on *CLCN1*, as opposed to the mouse *Clcn1* in investigations on *CLCN1* for DM medical treatments.

Acknowledgements

We thank Dr. Yoshihiro Kino for providing the *CLCN1* minigene. We also thank Dr. Satoshi Suo, Ms. Kurara Takagane, Ms. Shoin Tei, Mr. Takashi Nagashima, Mr. Ryo Yonezawa and Mr. Hiroshige Ishii for valuable discussions. This work was supported in part by an Intramural Research Grant (MHLW;26-8) for Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP, a research grant for Comprehensive Research on Disability Health and Welfare from the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW; H26-Sinkeikinn-ippan-004) and a Grant-in-Aid from the MHLW of Japan (to S.I.).

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrep.2015.11.006.

References

[1] G. Meola, R. Cardani, Myotonic dystrophies: an update on clinical aspects, genetic, pathology, and molecular pathomechanisms, Biochem. Biophys. Acta 1852 (2015) 594–606.
[2] P.S. Harper, Myotonic Dystrophy, third ed., W.B. Saunders, London, 2001.
[3] J.D. Brook, et al., Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3′ end of a transcript encoding a protein kinase family member, Cell 68 (1992) 799–808.
[4] Y.H. Fu, D.L. Friedman, S. Richard, J.A. Pearlman, R.A. Gibbs, A. Pizzuti, T. Ashizawa, M.B. Perryman, G. Scarlato, R.G. Fenwick, et al., Decreased expression of myotonin-protein kinase messenger RNA and protein in adult form of myotonic dystrophy, Science 260 (1993) 235–238.
[5] M. Mahadevan, C. Tshilfidis, L. Sabourin, G. Shutler, C. Amemiya, G. Jansen, C. Neville, M. Narang, J. Barcelo, K. O'Hoy, et al., Myotonic dystrophy mutation: an unstable CTG repeat in the 3′ untranslated region of the gene, Science 255 (1992) 1253–1255.
[6] C.L. Liquori, K. Ricker, M.L. Moseley, J.F. Jacobsen, W. Kress, S.L. Naylor, J. Day, L. P.W. Ranum, Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9, Science 293 (2001) 864–867.
[7] K.L. Taneja, M. McCurrach, M. Schalling, D. Housman, R.H. Singer, Foci of trinucleotide repeat transcripts in nuclei of myotonic dystrophy cells and tissues, J. Cell Biol. 128 (1995) 995–1002.
[8] B.M. Davis, M. McCurranch, K.L. Taneja, R.H. Singer, D.E. Housman, Expansion of a CUG trinucleotide repeat in the 3′ untranslated region of myotonic dystrophy protein kinase transcripts results in nuclear retention of transcripts, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94 (1997) 7388–7393.
[9] A. Mankodi, E. Logigian, L. Callahan, C. McClain, R. White, D. Henderson, M. Krym, C.A. Thornton, Myotonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat, Science 289 (2000) 1769–1773.
[10] A. Mankodi, M.P. Takahashi, H. Jiang, C.L. Beck, W.J. Bowers, R.T. Moxley, S. C. Cannon, C.A. Thornton, Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of ClC-1 chloride channel 1 pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy, Mol. Cell 10 (2002) 35–44.
[11] R.S. Savkur, A.V. Philips, T.A. Cooper, Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy, Nat. Genet. 29 (2001) 40–47.
[12] C. Fugier, A.F. Klein, C. Hammer, S. Vassilopoulos, Y. Ivarsson, A. Toussaint, V. Tosch, A. Vignaud, A. Ferry, N. Messaddeq, Y. Kokunai, R. Tsuburaya, P. de la Grange, D. Dembele, V. Francois, G. Precigout, C. Boulade-Ladame, M. C. Hummel, A. Lopez de Munain, N. Sergeant, A. Laquerriere, C. Thibault, F. Derychere, D. Auboeuf, L. Garcia, P. Zimmerann, B. Udd, B. Schoser, M. P. Takahashi, I. Nishino, G. Bassez, J. Laporte, D. Furling, N. Charlet-Berguerand, Misregulated alternative splicing of BIN1 is associated with T tubule alterations and muscle weakness in myotonic dystrophy, Nat. Med. 17 (2011) 720–725.
[13] M. Koebis, N. Ohsawa, Y. Kino, N. Sasagawa, I. Nishino, S. Ishiura, Alternative splicing of myomesin 1 gene is aberrantly regulated in myotonic dystrophy type 1, Genes Cells 16 (2010) 961–972.
[14] N. Ohsawa, M. Koebis, H. Mitsuhashi, I. Nishino, S. Ishiura, ABLIM1 splicing is abnormal in skeletal muscle of patients with DM1 and regulated by MBNL, CELF, and PTBP1, Genes Cells 20 (2015) 121–134.
[15] M. Fardaei, M.T. Rogers, H.M. Thorpe, K. Larkin, M.G. Hamshere, P.S. Harper, J. D. Brook, Three proteins, MBNL, MBLL and MBXL, co-localize *in vivo* with nuclear foci of expanded-repeat transcripts in DM1 and DM2 cells, Hum. Mol. Genet. 11 (2002) 805–814.
[16] R. Roberts, N.A. Timchenko, J.W. Miller, S. Reddy, C.T. Caskey, M.S. Swanson, L. T. Timchenko, Altered phosphorylation and intracellular distribution of a (CUG)n triplet repeat RNA-binding protein in patients with myotonic dystrophy and in myotonin protein kinase knockout mice, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94 (1997) 13221–13226.
[17] B.N. Charlet, R.S. Savkur, G. Singh, A.V. Philips, E.A. Grice, T.A. Cooper, Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing, Mol. Cell 10 (2002) 45–53.
[18] T.M. Wheeler, J.D. Lueck, M.S. Swanson, R.T. Dirksen, C.A. Thornton, Correction of ClC-1 splicing eliminates chloride channelopathy and myotonia in mouse models of myotonic dystrophy, J. Clin. Investig. 117 (2007) 3952–3957.
[19] Y. Kino, C. Washizu, Y. Oma, H. Onishi, Y. Nezu, N. Sasagawa, N. Nukina, S. Ishiura, MBNL and CELF proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1, Nucleic Acids Res. 37 (2009) 6477–6490.
[20] A. Ehralidze, Y. Wang, V. Petkova, K. Ehralidze, R.P. Junghaus, RNA leaching of transcription factors disrupts transcription in myotonic dystrophy, Science 303 (2004) 383–387.
[21] N. Ohsawa, M. Koebis, S. Suo, I. Nishino, S. Ishiura, Alternative splicing of PDLIM3/ALP, for alpha-actin-associated LIM protein 3, is aberrant in persons with myotonic dystrophy, Biochem. Biophys. Res. Commun. 409 (2011) 64–69.
[22] P. Konieczny, E. Stepniak-Konieczna, K. Sobczak, MBNL proteins and their target RNAs, interaction and splicing regulation, Nucleic Acids Res. 42 (2014) 10873–10887.
[23] M. Koebis, T. Kiyatake, H. Yamaura, K. Nagano, M. Higashihara, M. Sonoo, Y. Hayashi, Y. Negishi, Y. Endo-Takahashi, D. Yanagihara, R. Matsuda, M. P. Takahashi, I. Nishino, S. Ishiura, Ultrasound-enhanced delivery of morpholino with Bubble liposomes ameliorates the myotonia of myotonic dystrophy model mice, Sci. Rep. 3 (2013) 2242.

nature COMMUNICATIONS

ARTICLE

Received 2 Jun 2015 | Accepted 16 Feb 2016 | Published 11 Apr 2016

DOI: 10.1038/ncomms11067 OPEN

Splicing misregulation of *SCN5A* contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy

Fernande Freyermuth[1,*,†], Frédérique Rau[2,*], Yosuke Kokunai[3], Thomas Linke[4], Chantal Sellier[1], Masayuki Nakamori[3], Yoshihiro Kino[5], Ludovic Arandel[2], Arnaud Jollet[2], Christelle Thibault[1], Muriel Philipps[1], Serge Vicaire[1], Bernard Jost[1], Bjarne Udd[6,7,8], John W. Day[9], Denis Duboc[10], Karim Wahbi[10], Tsuyoshi Matsumura[11], Harutoshi Fujimura[11], Hideki Mochizuki[3], François Deryckere[12], Takashi Kimura[13], Nobuyuki Nukina[14], Shoichi Ishiura[15], Vincent Lacroix[16], Amandine Campan-Fournier[17], Vincent Navratil[18], Emilie Chautard[19], Didier Auboeuf[19], Minoru Horie[20], Keiji Imoto[21], Kuang-Yung Lee[22], Maurice S. Swanson[23], Adolfo Lopez de Munain[24], Shin Inada[25], Hideki Itoh[20], Kazuo Nakazawa[25], Takashi Ashihara[20], Eric Wang[23], Thomas Zimmer[4], Denis Furling[2], Masanori P. Takahashi[3] & Nicolas Charlet-Berguerand[1]

Myotonic dystrophy (DM) is caused by the expression of mutant RNAs containing expanded CUG repeats that sequester muscleblind-like (MBNL) proteins, leading to alternative splicing changes. Cardiac alterations, characterized by conduction delays and arrhythmia, are the second most common cause of death in DM. Using RNA sequencing, here we identify novel splicing alterations in DM heart samples, including a switch from adult exon 6B towards fetal exon 6A in the cardiac sodium channel, *SCN5A*. We find that MBNL1 regulates alternative splicing of *SCN5A* mRNA and that the splicing variant of *SCN5A* produced in DM presents a reduced excitability compared with the control adult isoform. Importantly, reproducing splicing alteration of *Scn5a* in mice is sufficient to promote heart arrhythmia and cardiac-conduction delay, two predominant features of myotonic dystrophy. In conclusion, misregulation of the alternative splicing of *SCN5A* may contribute to a subset of the cardiac dysfunctions observed in myotonic dystrophy.

[1] Department of Translational medicine and neurogenetics, IGBMC, CNRS UMR7104, INSERM U964, Université de Strasbourg, Illkirch 67400, France. [2] Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, Inserm, CNRS, Centre de Recherche en Myologie UMRS974/FRE3617, Institut de Myologie, GH Pitié-Salpêtrière, Paris 75013, France. [3] Department of Neurology, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka 565-0871, Japan. [4] Department of Physiology, Friedrich Schiller University Hospital, Jena 07743, Germany. [5] Department of Bioinformatics and Molecular Neuropathology, Meiji Pharmaceutical University, Kiyose 205-8588, Japan. [6] Neuromuscular Research Center, Tampere University and University Hospital, Tampere 33520, Finland. [7] Department of Medical Genetics, Folkhälsan Institute of Genetics, Helsinki University, Helsinki 00250, Finland. [8] Department of Neurology, Vaasa Central Hospital, Vaasa 65130, Finland. [9] Department of Neurology, Stanford University, Stanford, California 94304, USA. [10] Service de Cardiologie, Université Paris-Descartes, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris 75014, France. [11] Department of Neurology, Toneyama National Hospital, Toyonaka 560-8552, Japan. [12] CNRS UMR7175, Ecole Supérieure de Biotechnologies de Strasbourg, Illkirch 67400, France. [13] Division of Neurology, Hyogo Medical College, Nishinomiya 663-8501, Japan. [14] Laboratory of Structural Neuropathology, Doshisha University Graduate School of Brain Science, Kyoto 610-0394, Japan. [15] Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo, Tokyo 153-8902, Japan. [16] Université Lyon 1, CNRS, UMR5558 LBBE, Villeurbanne 69622, France. [17] Hospices civils de Lyon, Laboratoire de cytogénétique constitutionelle, Bron 69500, France. [18] Pôle Rhône Alpes de Bioinformatique, Université Lyon 1, Bâtiment Gregor Mendel, Villeurbanne 69100, France. [19] Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Lyon 69373, France. [20] Department of Cardiovascular and Respiratory Medicine, Shiga Medical University, Otsu 520-2192, Japan. [21] Department of Information Physiology, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki 444-8585, Japan. [22] Department of Neurology, Chang Gung Memorial Hospital, Keelung 20401, Taiwan. [23] Department of Molecular Genetics and Microbiology, Center for NeuroGenetics and the Genetics Institute, University of Florida, College of Medicine, Gainesville, Florida 32610, USA. [24] Department of Neurology, Hospital Universitario DONOSTIA, Neuroscience Area, Institute Biodonostia CIBERNED and University of Basque Country UPV-EHU, San Sebastián 20014, Spain. [25] Laboratory of Biomedical Sciences and Information Management, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Osaka 565-8565, Japan. * These authors contributed equally to the work. † Present address: Massachusetts General Hospital, MassGeneral Institute for Neurodegenerative Diseases, Charlestown, Massachusetts 02129, USA. Correspondence and requests for materials should be addressed to D.F. (email: denis.furling@upmc.fr) or to M.P.T. (email: mtakahas@neurol.med.osaka-u.ac.jp) or to N.C-B. (email: ncharlet@igbmc.fr).

Myotonic dystrophy (DM), the most common adult-onset muscular dystrophy, includes two genetically distinct forms. DM of type 1 (DM1) and its severe congenital form (CDM1) are caused by an expansion of CTG repeats in the 3′-untranslated region (UTR) of the *DMPK* gene[1–3]. In contrast, DM of type 2 (DM2) is caused by an expansion of CCTG repeats within the first intron of the *CNBP* (also known as *ZNF9*) gene[4].

The pathogenesis of DM involves a RNA gain-of-function mechanism caused by expression of mutant RNAs containing hundred to thousands of CUG or CCUG repeats that interfere with the splicing of other pre-mRNAs through dysfunction of two classes of RNA-binding proteins. MBNL proteins (MBNL1, MBNL2 and MBNL3) are sequestered within nuclear RNA foci formed by expanded CUG and CCUG repeats[5,6], whereas expression and phosphorylation of CUG-binding protein 1 (CUGBP1, encoded by the *CELF1* gene) are increased in DM1 heart samples[7]. MBNL and CUGBP1 proteins regulate alternative splicing, and alterations of their functional levels in myotonic dystrophic tissues results in reversion to fetal splicing patterns for several mRNAs, such as the insulin receptor (*INSR*) (ref. 8), the muscle chloride channel (*CLCN1*) (refs 9,10), dystrophin (*DMD*) (refs 11,12) and key components of the skeletal muscle excitation–contraction coupling process, including amphiphysin2 (*BIN1*) (ref. 13), ryanodine receptor 1 (*RYR1*) (ref. 14), sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase SERCA1 (*ATP2A1*) (ref. 14) and the muscle calcium channel $Ca_V1.1$ (*CACNA1S*) (ref. 15). Misregulation of the alternative splicing of the insulin receptor *INSR*, *CLCN1* and *DMD* mRNAs are associated with the insulin resistance[8], myotonia[9,10,16] and dystrophic process[12], respectively, while alterations of the alternative splicing of *BIN1*, *RYR1*, *ATP2A1* and *CACNA1S* may contribute to the skeletal muscle weakness observed in DM[13–15].

In contrast, the molecular mechanisms underlying the cardiac defects, which affect 80% of individuals with DM and represent the second most common cause of death in this disease[17,18], are yet to be defined. Cardiac involvements in DM are characterized by cardiac-conduction delay that may result in fatal atrio-ventricular block, and by atrial or ventricular tachycardia[17,18]. Electrocardiography (ECG) analyses in DM patients indicate prolonged conduction time from the sinoatrial node to the ventricles (PR interval) and elongated ventricular depolarization (QRS duration). Interestingly, cardiac dysfunctions in DM are reminiscent in some aspect to an alteration of the cardiac sodium current. The α-subunit of the cardiac voltage-gated Na^+ channel, $Na_v1.5$, is encoded by the *SCN5A* gene and plays a key role in the excitability of cardiomyocytes and for rapid propagation of the impulse through the cardiac-conduction system. Mutations in *SCN5A* lead to a variety of arrhythmic disorders, including long QT3, progressive and non-progressive cardiac-conduction disease (also known as Lev-Lenègre disease), atrial fibrillation, sick sinus syndrome, Brugada syndrome and numerous overlapping syndromes[19–21].

Using transcriptomic approaches, we identified various novel splicing changes in heart samples of DM1 individuals. Analysis of the RNA motifs enriched in the vicinity of these misregulated exons indicates that sequestration of the MBNL proteins is probably the main cause of splicing misregulation in heart of individuals with DM. Among these novel splicing alterations, we focused on misregulation of alternative splicing of the *SCN5A* pre-mRNA. This splicing alteration results in expression of a fetal isoform of *SCN5A* with altered electrophysiological properties. Of importance, we demonstrate that reproducing the splicing alteration of *Scn5a* in mouse is sufficient to cause heart arrhythmia and cardiac-conduction delay with elevated PR interval, which are key characteristics of the heart alterations observed in DM. These results suggest that altered splicing of *SCN5A* mRNA may participate to the electrical cardiac abnormalities observed in DM.

Results

Identification of splicing changes in DM heart samples. To determine novel splicing abnormalities in DM heart samples, we first used whole-genome microarrays (GeneChip Human Exon 1.0 ST array) on polyadenylated RNA extracted from left ventricle samples of three adult DM1 patients compared with three age-matched control individuals. Bioinformatic analyses predicted significant (Fold Change ≥ 2, Sudent *t*-test, *P* value ≤ 0.01) changes in the splicing of 24 exons between control and DM1 samples (Supplementary Table 1), including a misregulation of the alternative splicing of the *SCN5A* pre-mRNA. To extend this analysis, we performed paired-end RNA sequencing (RNA-seq) on the same DM1 and control heart samples, yielding 1,611 million of mapped 100 bp reads. DESeq and Cuffdiff were then applied to estimate differential gene expression and over or under-expressed mRNAs were selected by using the Benjamini and Hochberg adjusted *P* values (false discovery rate (FDR) ≤ 0.1). A total of 9 and 19 upregulated genes were predicted differentially expressed with DESeq and Cuffdiff, respectively, but none were confirmed by quantitative real-time RT-qPCR analyses. This low number of differentially expressed mRNAs suggests that cardiac pathology in DM is not associated with drastic modifications of gene expression levels. In contrast, DEXSeq (ref. 22), which tests differential exon usage between two conditions, predicted 134 significant (Log2 Fold Change ≥ 1.2, FDR ≤ 0.1) alternative splicing changes between control and DM1 heart samples (Supplementary Data 1). Similarly, MISO (ref. 23) analysis, which computes the fraction of mRNA that includes a given cassette alternative exon, predicted 259 significant (ΔPSI ≥ 0.3; *Z*-score ≥ 1.2) alternative splicing changes between control and DM1 heart samples (Fig. 1a and Supplementary Data 2), including a robust misregulation of the alternative splicing of *SCN5A* (Fig. 1b). MISO and DEXSeq predictions overlapped, but with some exceptions, such as the skipping of the consecutive exons 18, 19 and 20 of *CAMK2B* predicted by DEXSeq but not by MISO; or the shift of *SCN5A* exon 6B towards exon 6A identified by MISO but not by DEXSeq. These differences are inherent to their computation models, since MISO does not detect alterations of successive exons and DEXSeq does not identify mutually exclusive exons, highlighting that MISO and DEXSeq are complementary bioinformatics approaches. Next, we tested by PCR with reverse transcription (RT–PCR) forty candidate mRNAs having the highest probability of misregulation in DEXSeq and/or MISO analyses. We validated splicing alterations for 32 of them, including some that have been identified in previous studies (*TNNT2, TNNT3*, *ABLIM1, LDB3*, *MBNL1*, *CAMK2B*, *MAPT* and so on)[24–26], and 20 others that represent, to the best of our knowledge, novel alterations of alternative splicing (*ADD3*, *GOLGA4*, *CRTC2*, *ARHGEF10L*, *ANK3*, *DCLK2*, *EPN2*, *UNC13B*, *TECR*, *ARVCF*, *SOCS7*, *CELF1* and so on) in DM1 heart samples (Fig. 1c). Of interest, some of these splicing alterations may be of pathological consequence in DM. For example, knockout of the *Socs7* gene in mouse results in insulin resistance[27]. Whether the splicing misregulation of *SOCS7* in DM contributes to insulin resistance remains to be tested. Also, RNA sequencing predicts an increased retention of the penultimate intron of *FCGRT*, which encodes the Fc fragment of the IgG receptor transporter α (FCRN) protein, involved in IGG recycling[28]. Whether splicing alteration of *FCGRT* in DM is responsible to the decreased level of IGG in blood of these patients is an attractive hypothesis that remains to be tested.

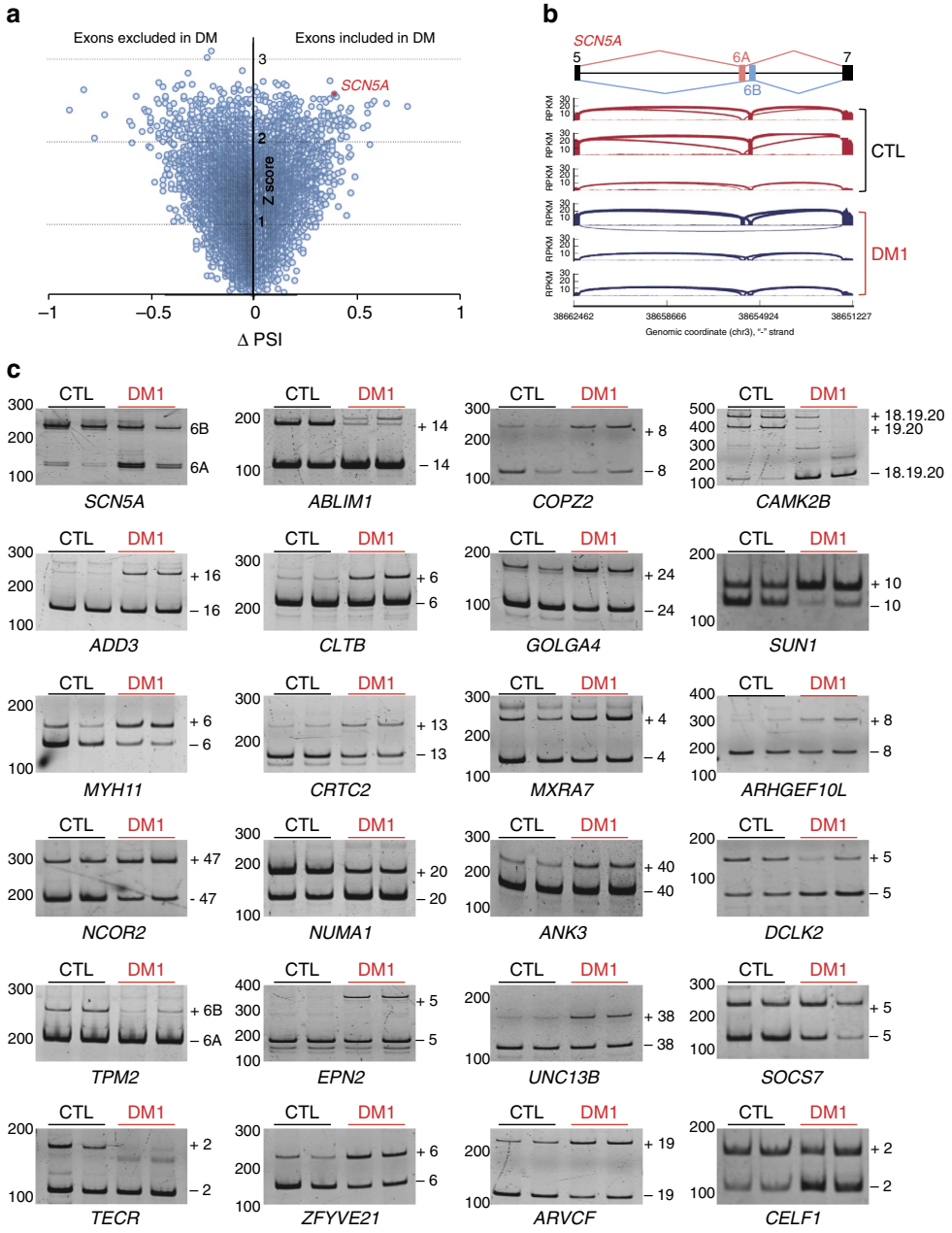


Figure 1 | Identification of novel splicing misregulations in DM1 heart samples. (**a**) Δ-PSI versus Z-score plot of exon cassettes misregulations predicted by MISO analysis. (**b**) Exons structure and coverage of RNA-seq reads across *SCN5A* exons 5–7 show increased inclusion of exon 6A and decreased inclusion of exon 6B in heart samples of three DM1 patients (bottom, blue) versus three control samples (top, red). (**c**) Validation by RT–PCR of RNA-seq predictions in human heart samples of normal adult individuals (CTL, black) versus adult DM1 patients (DM1, red). Molecular size markers in bps are reported to the left of each RT–PCR gels. bp, base pair.

Finally, RNA sequencing predicts misregulation of the alternative splicing of a cardiac-specific exon located in the 5′-UTR of *CELF1*, which encodes CUGBP1. Whether this alternative splicing may contribute to the increase levels of CUGBP1 protein observed in DM1 hearts remains also to be evaluated.

Splicing altered in DM are enriched for MBNL-binding sites. Mutants RNAs containing expanded CUG or CCUG repeats interfere with the functional levels of CUGBP1 and MBNL proteins. Earlier studies determined that MBNL proteins bind to YGC RNA motifs (where Y is a pyrimidine)[29–32], while CUGBP1 binds to UGU-enriched sequences[33,34]. To determine whether these RNA motifs are indeed present in the vicinity of exons misregulated in DM, we determined all 4-mer RNA motifs enriched within, upstream or downstream of the exons predicted as misregulated by MISO in DM1 heart samples, compared with 2,000 control exons (Fig. 2). Most RNA motifs significantly enriched (binomial test, P value $<1.0\ 10^{-7}$) contained YGC sequences, while none were found to contain UGU sequences. Furthermore, YGC sequences were enriched upstream of exons abnormally included in DM1, while YGC motifs were enriched downstream of exons repressed in DM1. These results matched the MBNL splicing regulatory map determined by CLIP experiments, where binding of MBNL upstream of an exon tends to inhibit exon inclusion whereas binding of MBNL downstream

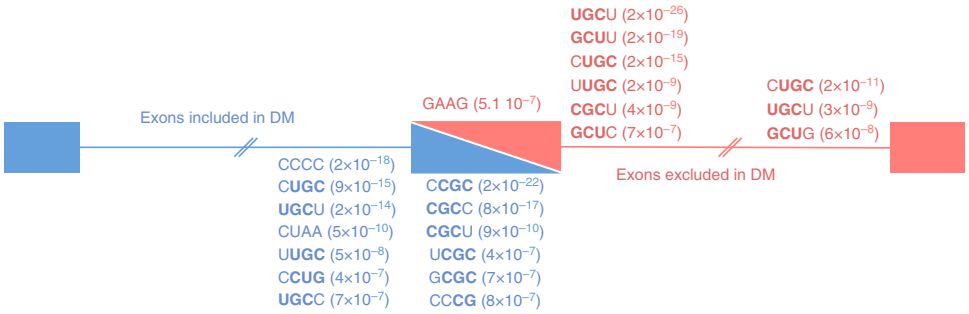


Figure 2 | MBNL-binding motifs are enriched in vicinity of exons misregulated in DM1. Sequence and binomial test *P* values of 4-mer RNA motifs enriched downstream, within and upstream of exons misregulated in DM1 heart samples. Sequences enriched in exons excluded in DM are indicated in red, while sequences enriched in exons included in DM are indicated in blue.

of an exon generally stimulates exon inclusion[35,36]. In contrast, we found no enriched motifs for other RNA-binding proteins, including CUGBP1, rbFOX1, hnRNP H or Staufen. These results, as well as previous data[36–38], support a model in which titration of MBNL proteins is the main cause of splicing change in DM1 heart, while misregulation of other RNA-binding proteins may contribute to a subset of splicing alterations.

Splicing of *SCN5A* is misregulated in DM heart samples. Both microarray and RNA-seq predicted misregulation of alternative splicing of *SCN5A* pre-mRNA in DM1 heart samples. Splicing of *SCN5A* is developmentally regulated, such that exon 6A is included in fetal heart but rapidly replaced by exon 6B after birth[39]. Consequently, *SCN5A* exon 6A is named as embryonic or fetal, while exon 6B is known as adult. Exons 6A and 6B are mutually exclusive exons encoding part of the voltage sensor, segments 3 and 4 located in the domain I of the sodium channel (Fig. 3a,b). These are key segments for the electrical activity of the sodium channel, and inclusion of either fetal exon 6A or adult exon 6B results in channel isoforms, named, respectively, $hNa_v1.5e$ and $hNa_v1.5$, with different electrophysiological properties[39–41]. We confirmed our microarray and RNA-seq predictions by RT–PCR and found that adult *SCN5A* exon 6B is partly replaced by its fetal exon 6A in heart samples of individuals with DM, including adult DM1 and adult DM2 cases (Fig. 3c). Note that to differentiate exon 6B from exon 6A that have the exact same length of 92 bp, we took advantage of a *Bstb*I restriction site present only in exon 6A, which thus appears as a *Bstb*I-digested doublet band in Fig. 3c. These results are consistent with the recent report of a splicing misregulation of *SCN5A* in one DM1 heart sample[42]. Although splicing of *SCN5A* is misregulated in DM1, we observed no correlation between the percentage of *SCN5A* exon 6A inclusion and the increased duration of the PR interval and only a very limited, if any, correlation between misregulation of *SCN5A* exon 6A splicing and alteration of the QRS duration in individuals with DM1 (R^2 of 0.2 with six DM1 samples; Supplementary Fig. 1). Misregulation of *SCN5A* splicing was specific to DM, as we did not observe inclusion of exon 6A in heart samples from individual affected with Duchenne muscular dystrophy (DMD), amyotrophic lateral sclerosis (ALS) or dilated cardiomyopathy (DCM) (Fig. 3d). Moreover, misregulation of splicing in DM1 was specific and not global, as we observed no splicing changes of *SCN5A* alternative exon 18, of *CACNA1C* mutually exclusive exons 8A and 8B, of *KCNAB1* alternative exons 2 and 11, or of *KCNQ1* alternative exons 2 and 5 (Supplementary Fig. 2). Finally, we observed no significant alteration of the expression level of *SCN5A* mRNA by quantitative real-time RT-qPCR (Fig. 3e). Overall, these results indicate a specific misregulation of alternative splicing of *SCN5A* resulting in expression of a fetal form of this channel in adult DM heart. These results are consistent with previous studies where alternative splicing changes in DM resume a MBNL-dependent fetal splicing pattern that persist in adult tissues[26,37].

Alternative splicing of *SCN5A* is regulated by MBNL1. To determine the mechanisms underlying misregulation of *SCN5A* splicing, we first determined its splicing pattern in cell models of DM. Since *SCN5A* is expressed at low level in culture of immature skeletal muscle cells, we investigated its splicing in primary cultures of differentiated skeletal muscle cells originating from muscle biopsies of control and DM1 individuals. RT–PCR experiments determined a switch of exon 6B towards exon 6A in DM1 muscle cells compared with control, reproducing the splicing alteration observed in cardiac tissue (Fig. 4a). Of technical interest, the basal level of exon 6A inclusion was higher in muscle cell cultures than in adult heart samples (compare Fig. 4a to Fig. 3c), which probably reflect the immature aspect of cell cultures. Since mutant RNAs containing expanded CUG or CCUG repeats interfere with alternative splicing through titration of MBNL proteins, we tested whether MBNL1 regulates *SCN5A* splicing. Reduction of *MBNL1* expression through a siRNA-mediated approach in human control primary muscle cells mimicked the effect of CUG repeats and promoted a switch from adult exon 6B towards fetal exon 6A (Fig. 4b). Western blotting analysis confirmed the successful depletion of MBNL1 expression (Supplementary Fig. 3A). Next, we assessed alternative splicing of *Scn5A* in heart samples of *Mbnl* knockout mice[43]. RT–PCR analysis shows that inclusion of the exon 6A of *Scn5a* is increased in heart samples of mice with no Mbnl1 and reduced level of Mbnl2 ($Mbnl1^{-/-}$, $Mbnl2^{+/-}$)(Fig. 4c). The increased inclusion of *Scn5a* exon 6A in *Mbnl* knockout mice is significant (Student *t*-test, *P* value ≤ 0.01) but rather mild, probably reflecting difference in regulation of alternative splicing between human and mouse or the compensatory effect of residual Mbnl2 expression[43]. This hypothesis is consistent with the mild splicing alteration of *Scn5A* observed in the sole *Mbnl1* knockout mice[44]. Overall, these results suggest that MBNL proteins regulate the alternative splicing of *SCN5A* exons 6A and 6B. To determine whether this regulation is direct or indirect, we constructed a minigene containing exons 6A and 6B of *SCN5A* bordered by their intronic regions. Expression of this construct in mouse C2C12 myoblasts reproduced a fetal pattern with mainly inclusion of exon 6A (Fig. 4d). Since inclusion of exon 6B was repressed, reduction of Mbnl1 activity through siRNA or expression of expanded CUG repeats had no further repressive effect on exon 6B. In contrast, expression of MBNL1 promoted a switch from fetal exon 6A towards adult exon 6B, while

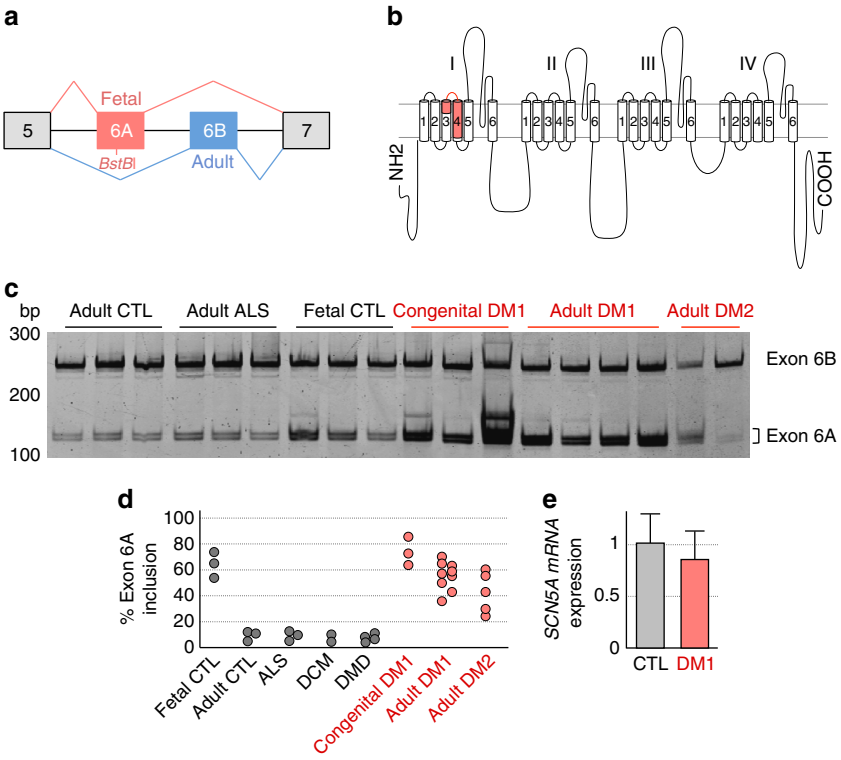


Figure 3 | Splicing of *SCN5A* exon 6A is altered in DM heart samples. (**a**) Schematic representation of mutually exclusive exons 6A and 6B of *SCN5A*. *SCN5A* mRNA includes exon 6A (red) in fetal heart, while *SCN5A* mRNA expresses exon 6B (blue) in adult heart. (**b**) Schematic representation of SCN5A topology expressing exon 6A (red). Exons 6A or 6B encodes part of segment 3, connecting loop between S3 and S4 and most part of the voltage-sensitive segment 4 of domain 1 of the sodium channel SCN5A. (**c**). Representative *BstB*I-digested RT–PCR analysis of endogenous *SCN5A* mRNA from human heart samples of normal adult (CTL), adult ALS, non-DM fetuses (20, 24 and 35 weeks), congenital DM1 fetuses (CDM1 of 22, 25 and 28 weeks), adults DM1 and DM2 individuals. Molecular size marker is indicated in bp. (**d**) Graphical representation of RT–PCR analysis depicting the percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6A in left ventricular heart samples from fetal and adult control, ALS, DCM, DMD, CDM1 and adult DM1 and DM2 individuals. (**e**) Graphical representation of quantitative real-time RT-qPCR depicting the mRNA expression of *SCN5A* relative to *RPLP0* in control normal adults ($n=5$) versus adult DM1 ($n=5$) heart samples. Bars indicate s.e.m. bp, base pairs.

expression or siRNA-mediated depletion of CUGBP1 had no effect (Fig. 4d). Western blotting analysis confirmed that siRNA transfection efficiently reduced endogenous Mbnl1 or Cugbp1 expression (Supplementary Fig. 3B and C). Next, gel-shift assays determined that recombinant purified GST-tagged MBNL1 bound to UGC RNA motifs located upstream of exon 6A (Fig. 4e). Of interest, this UGC sequence is absent from the mouse genome, which may explain the mild splicing alteration of *Scn5A* observed in mice knockout for Mbnl proteins. Mutation of these UGC motifs abolished MBNL1 binding (Fig. 4f), as well as the regulatory effect of MBNL1 on a mutant *SCN5A* minigene (Fig. 4g). Overall, these results establish that MBNL1 regulates directly alternative splicing of *SCN5A* exons 6A/6B.

***SCN5A* splicing forms present different electrical properties.** *SCN5A* encodes $Na_v1.5$, the main cardiac voltage-gated sodium channel, and loss-of-function mutations in *SCN5A* lead to a variety of arrhythmic disorders, which share some common pathological features with DM. Furthermore, exons 6A and 6B differ at seven amino acid positions, resulting in channel variants with different electrophysiological properties[39–41]. To investigate the consequences of the switch from *SCN5A* exon 6B towards exon 6A observed in DM, we first examined in *Xenopus* oocytes the sodium currents generated by either $hNa_v1.5e$, the splice variant of *SCN5A* containing the fetal exon 6A, or $hNa_v1.5$, encoded by *SCN5A* containing the adult control exon 6B (Fig. 5a and Supplementary Table 2). Injection of RNA encoding hNav1.5e, which is the splicing isoform of SCN5A found in DM, indicated a significant reduction of the sodium current amplitude of 45%, compared with $hNa_v1.5$, the normal adult *SCN5A* exon 6B form (Fig. 5b,c). Since, the extent of splicing misregulation varies among DM individuals, which typically express a mix of SCN5A splicing forms containing either exon 6A or exon 6B (cf. Fig. 3c), we analysed sodium currents generated by a mix of both *SCN5A* isoforms (Fig. 5a). Injecting *Xenopus* oocytes with an equimolar mix of RNA encoding each channel, namely 50% of $hNa_v1.5e$ (*SCN5A* containing fetal exon 6A) and 50% of $hNa_v1.5$ (SCN5A expressing adult exon 6B), resulted in a reduction of 30% of the current amplitude compared with the control $hNa_v1.5$ (Fig. 5b,c). Next, two-electrode voltage clamp recording experiments revealed that the steady-state activation of the fetal $hNa_v1.5e$ was shifted by 7 mV towards depolarized potential compared with the control adult $hNa_v1.5$ form (Fig. 5d and Supplementary Table 2). This shift is consistent with the shift observed previously in transfected mammalian cells[39–41], thus validating our approach in *Xenopus* oocytes. To better reproduce the situation observed in DM, we injected in *Xenopus* oocytes an equimolar mix of DM ($hNa_v1.5e$, fetal exon 6A) and control ($hNa_v1.5$, adult exon 6B) RNA isoforms of *SCN5A*. Importantly, this mix of splicing forms also presented a significant shift of steady-state activation towards depolarized potentials by 3.8 mV, compared with the control $hNa_v1.5$ form (Fig. 5d, Supplementary Table 2). Correspondingly, a similar shift

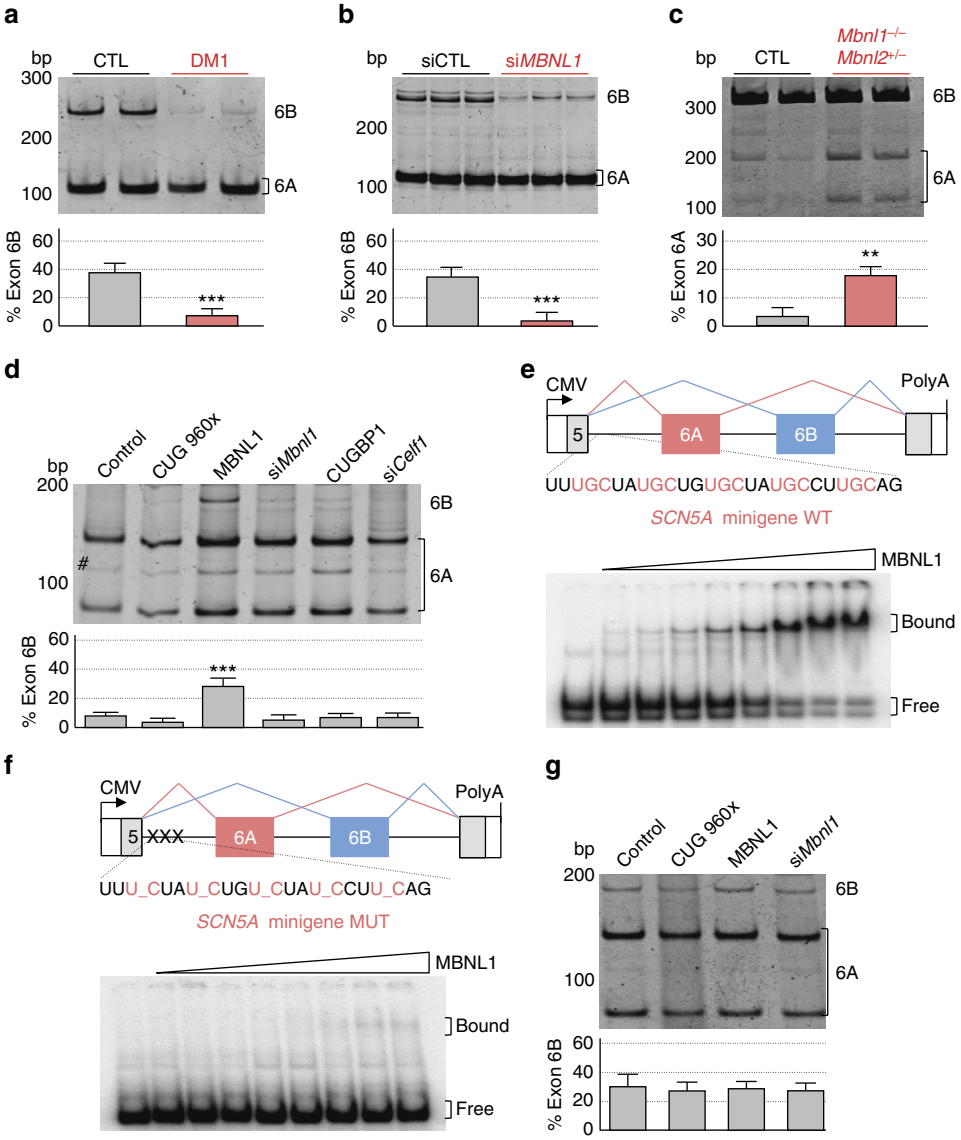


Figure 4 | MBNL1 regulates alternative splicing of *SCN5A*. (**a**) Upper panel, RT-PCR analysis of endogenous *SCN5A* mRNA from differentiated primary muscle cell cultures derived from biopsies of control or DM1 individuals. (lower) Quantification of the percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6B. (**b**, upper) RT-PCR analysis of endogenous *SCN5A* mRNA from human differentiated cultures of control primary muscle cells transfected with a scrambled siRNA (siCTL) or a siRNA targeting *MBNL1* mRNA (si*MBNL1*). (lower) Percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6B. (**c**, upper) RT-PCR analysis of endogenous *Scn5a* mRNA in heart samples of wild-type and compound *Mbnl1*$^{-/-}$, *Mbnl2*$^{+/-}$ double knockout mice. (lower) Percentage of *Scn5a* mRNA including exon 6A. (**d**, upper) RT-PCR analysis of exogenous *SCN5A* mRNA from differentiated C2C12 muscle cells co-transfected with a *SCN5A* minigene containing exons 6A and 6B bordered by their introns and with either a plasmid expressing 960 CTG repeats, MBNL1, CUGBP1 or with a siRNA directed against *Mbnl1* (si*Mbnl1*) or *Celf1* (encoding Cugbp1; si*Celf1*). # Indicates usage of a cryptic splice site inherent to the minigene. (lower) Percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6B. (**e**, upper) Schematic representation of *SCN5A* minigene, including the UGC-rich sequence used for binding assays. (lower) Gel-shift assays were performed using 5–1,000 nM of purified bacterial recombinant GST-MBNL1Δ^{101} and a uniformly ^{32}P-CTP labelled RNA. (**f**, upper) Schematic representation of mutant *SCN5A* minigene, including the mutant sequence, used for binding assays. (lower) Gel-shift assay performed as in **e**. (**g**, upper) RT-PCR analysis of exogenous *SCN5A* mRNA from differentiated C2C12 muscle cells co-transfected with mutant *SCN5A* minigene and with a plasmid expressing 960 CTG repeats or MBNL1 or with a siRNA directed against *Mbnl1* (si*Mbnl1*). (lower) Percentage of *SCN5A* mRNA including exon 6B. All transfection and gel-shift experiments were repeated three to five times. Molecular size markers are indicated in bp. Bars indicate s.e.m. Student test, ** indicates $P<0.01$, *** indicates $P<0.001$. bp, base pairs.

was observed for the time constant of inactivation (Fig. 5e). Consistent with previous electrophysiological studies[39–41], no significant differences were observed between hNa$_v$1.5 and hNa$_v$1.5e regarding steady-state inactivation and recovery from inactivation (Fig. 5f,g). Overall, our results are consistent with previous studies[39–41], and demonstrate that hNa$_v$1.5e, the splicing form of *SCN5A* expressed in DM and containing the fetal exon 6A, presents a reduced excitability compared with hNa$_v$1.5, which is the adult control *SCN5A* isoform containing exon 6B.

Alteration of *SCN5A* splicing leads to heart conduction defects. Misregulation of the alternative splicing of *SCN5A* in DM is one alteration identified among many others, thus questioning the

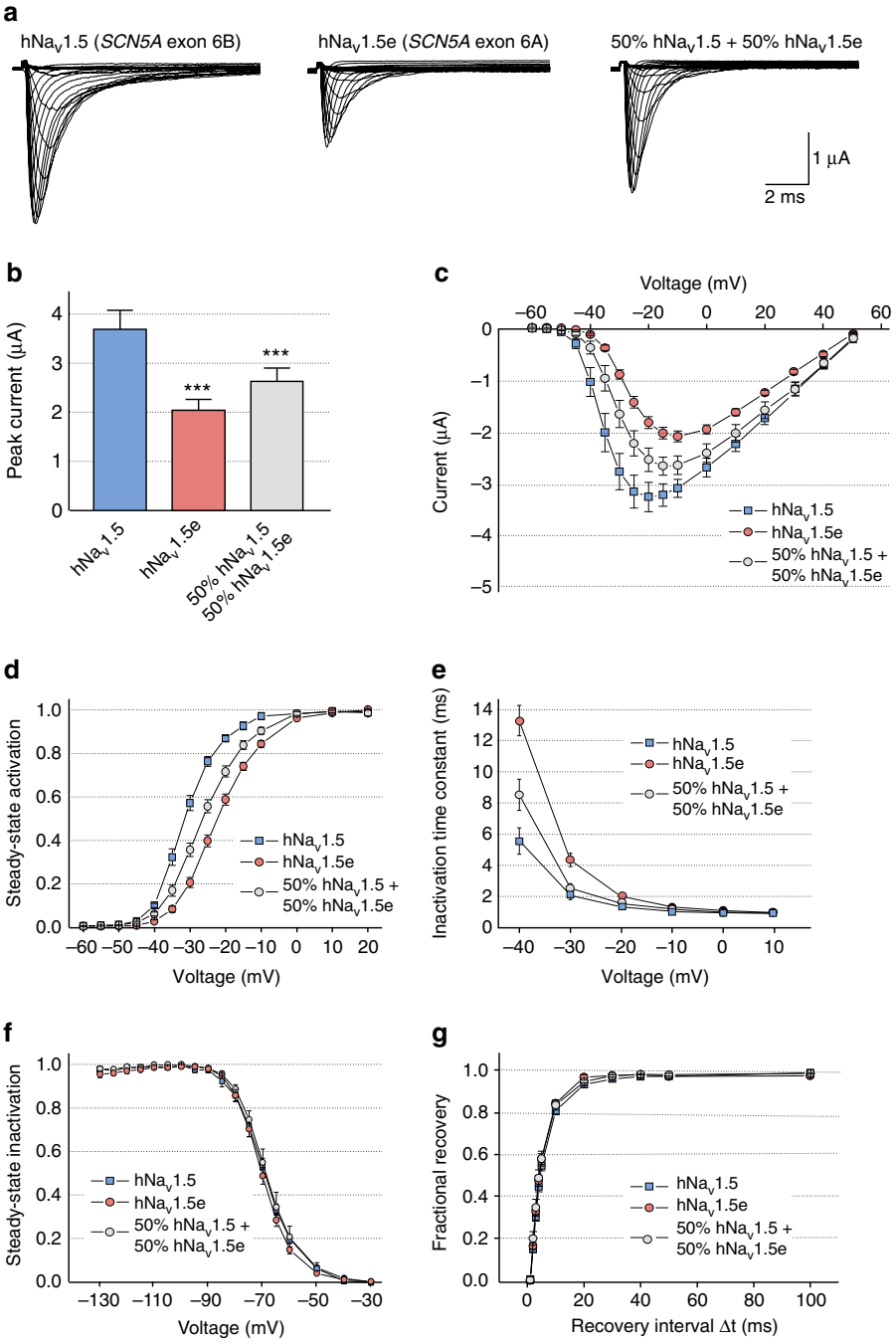


Figure 5 | Electrophysiological properties of hNa$_v$1.5 and hNa$_v$1.5e channels. (**a**) Representative Na^+ currents generated in *Xenopus* oocytes by hNa$_v$1.5 (encoded by *SCN5A* containing the adult exon 6B), hNa$_v$1.5e (encoded by *SCN5A* including the fetal exon 6A), and simultaneously expressed Na$_v$1.5 and Na$_v$1.5e channels at a 1:1 ratio. (**b**) Peak current amplitudes at the test potential of −10 mV in *Xenopus* oocytes injected with equimolar amount of cRNA encoding hNa$_v$1.5, hNa$_v$1.5e or 1:1 combination of Na$_v$1.5 and Na$_v$1.5e channels. (**c**) Current–voltage relationships. (**d**) Steady-state activation curves. (**e**) Inactivation time constants τh (ms) at different test pulses. (**f**) Steady-state inactivation curves. (**g**) Fractional recovery curves. Data were obtained from 11 different batches of oocytes. To illustrate steady-state activation, steady-state inactivation and recovery from inactivation, we used 3–5 representative measurements. For total number of measurements ($n = 25$–27) and for statistical data evaluation (Vm, s) see the Supplementary Table 2. Bars indicate s.e.m. Student test, *** indicates $P < 0.001$.

contribution of *SCN5A* misregulation to the cardiac symptoms observed in DM. To test the physiological importance of *SCN5A* splicing misregulation, we artificially forced the switch from adult exon 6B towards fetal exon 6A into wild-type adult mouse heart using an exon-skipping strategy (Fig. 6a). To insure efficient transduction of the cardiac muscle and continuous expression of nuclear antisense oligonucleotides, we engineered and produced adeno-associated virus (AAV2/9) expressing optimized U7-snRNA fused to *Scn5a* antisense sequences (U7-AS^{Scn5a}). Splicing analysis revealed that combination of two U7-AS constructs, spanning intron 6/exon 6B junction and exon 6B of *Scn5A*, promoted a switch from inclusion of adult exon 6B towards inclusion of the fetal exon 6A (Supplementary Fig. 4A). Thus, AAV2/9 expressing both U7-AS constructs

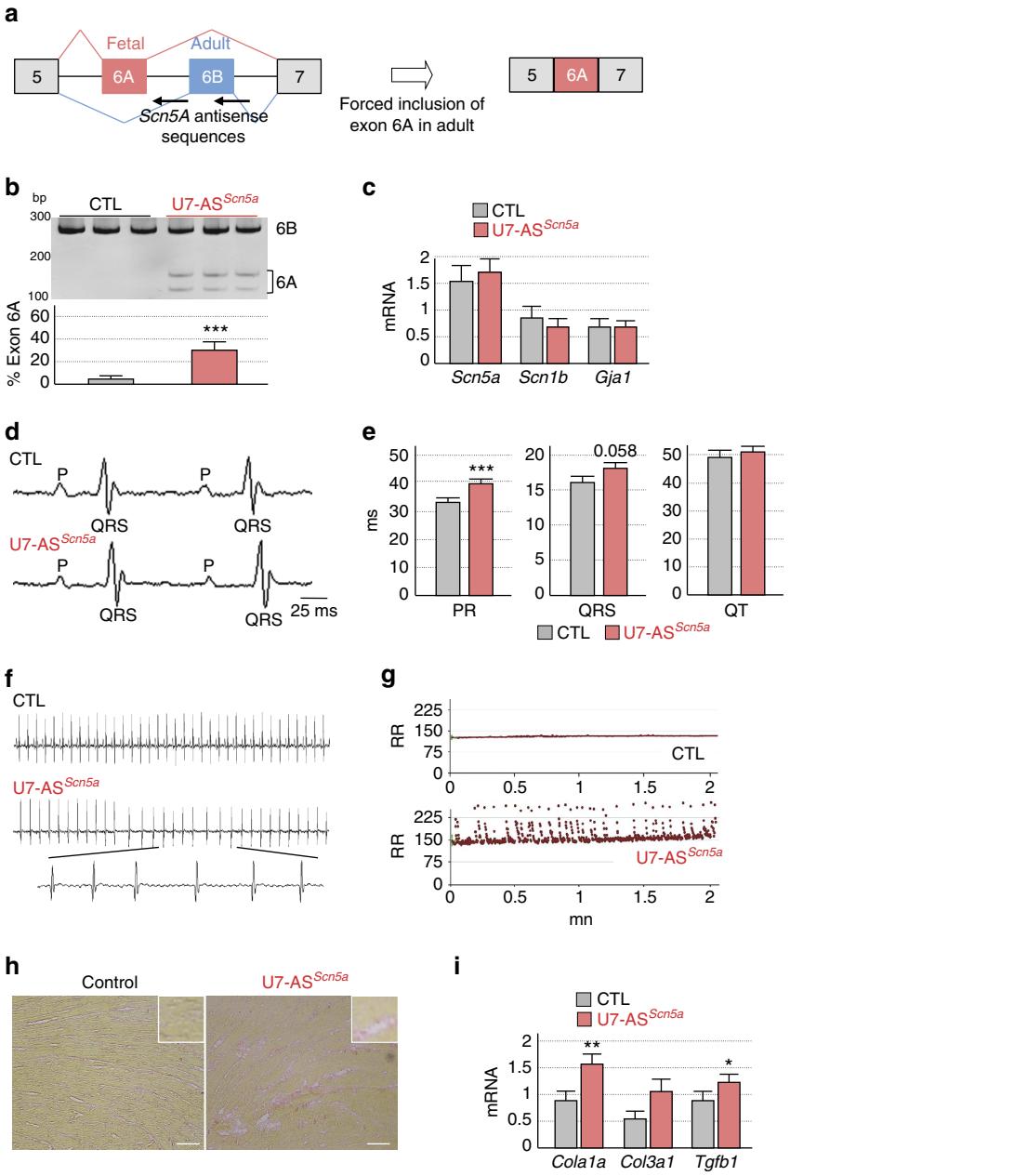


Figure 6 | Alteration of *Scn5a* splicing causes heart conduction defects and arrhythmias. (**a**) Schematic representation of mutually exclusive exons 6A and 6B of *Scn5a* and of antisense sequences driven by optimized U7-snRNAs (U7-AS^{Scn5a}) to force fetal exon 6A inclusion in adult wild-type mouse heart. (**b**, upper) RT–PCR analysis of the alternative splicing of endogenous *Scn5a* mRNA from heart samples of mice injected with AAV2/9 expressing U7-AS^{Scn5a} compared with control injected mice. Molecular size marker is indicated in bp. (lower) Percentage of *Scn5a* mRNA including exon 6A. (**c**) Real-time RT-qPCR quantification of the expression of *Scn5a, Scn1b* and *GJja1* (connexin 43) mRNAs in heart samples of mice expressing U7-AS^{Scn5a} ($n=6$) compared with control injected mice ($n=6$). (**d**) Representative ECG traces show prolongation of the PR interval in U7-AS^{Scn5a}-injected mice compared with control mice. (**e**) ECG measures of PR interval, QRS and QT intervals in 4-month-old mice injected with AAV2/9 expressing U7-AS^{Scn5a} ($n=25$) compared with age-matched control mice ($n=17$). (**f**) Representative ECG traces reveal atrial fibrillation in U7-AS^{Scn5a}-injected mice compared with control mice. (**g**) Variation of the RR interval indicates evidences of heart arrhythmias in U7-AS^{Scn5a}-injected mice ($n=25$) compared with control mice ($n=17$). (**h**) Representative image of six analysed heart samples showing mild fibrosis revealed by Red Sirius histology staining in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice. Scale bar, 100 µm. (**i**) Real-time RT-qPCR quantification of the expression of *Cola1a, Col3a1* and *Tgfb* mRNAs in heart of control ($n=6$) or AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice ($n=6$). Bars indicate s.e.m. Student test, * indicates $P<0.5$, ** indicates $P<0.01$, *** indicates $P<0.001$. bp, base pair.

(AAV-U7-AS^{Scn5a}) were injected systemically into newborn wild-type mice and cardiac functions were investigated 4 and 6 months post injection. Control animals injected either with saline or empty AAV2/9 presented no splicing alterations of *Scn5a* and normal cardiac functions. In contrast, mice injected with AAV-U7-AS^{Scn5a} presented a decreased inclusion of adult exon 6B with a concomitant 30–40% increase of the inclusion of exon 6A, thus reproducing the situation observed in DM (Fig. 6b). Quantitative RT–PCR demonstrated no changes in the expression of *Scn5a* mRNA or of its associated subunit *Scn1b* between control- and AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice (Fig. 6c). Importantly, AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice reproduce some of the key

pathological features of DM, including conduction defects and heart arrhythmias. Indeed, ECG performed 4 months post injection revealed a significant prolongation of the PR intervals (Student *t*-test, *P* value ≤ 0.001) in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice compared with control injected mice (Fig. 6d,e). In contrast, QT interval was not significantly altered, and we identified only a trend towards increased QRS duration (Student *t*-test, *P* value of 0.058 with 8 AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice on 25 presenting a QRS higher than 19 ms versus 16.5 ms in control mice) (Fig. 6e and Supplementary Fig. 4B). Similarly, analysis of heart functions in 6-month-old animals showed that AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice present a consistent increase of the PR interval compared with control injected mice (40.5 ms versus 34.8 ms respectively; Student *t*-test, *P* value ≤ 0.05), without significant changes of the QRS and QT intervals (Supplementary Fig. 4B). Of interest, a similar elongation of the PR interval was observed in *Scn5a*$^{+/-}$ mice, which are hemizygote for *Scn5a* expression and represent an established model for cardiac-conduction disease[45–47]. Furthermore, ECG analyses also revealed that 44% of AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice develop significant (Student *t*-test, $P<0{,}001$) heart arrhythmia at 4 months post injection with an average of five arrhythmic events, defined as variation of the RR interval, per minute whereas control injected animals showed no alterations (Fig. 6f,g). We did not detect ventricular fibrillations or second and third-degree heart blocks in any injected animals. In contrast, we observed supraventricular premature contractions and atrial fibrillation in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice (Fig. 6f), and five of these injected mice died suddenly between 4 and 6 months post injections (none of the control mice died). These electrical alterations were specific and not caused by global cardiac remodelling since we observed neither systolic nor diastolic alterations by doppler echocardiography (Supplementary Table 3) and no change in heart/body weight ratio ($4.4 \pm 0{,}1\ mg\,g^{-1}$ in control, $n=9$, versus $4{,}7 \pm 0{,}2\ mg\,g^{-1}$ in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected animals, $n=14$). As further control, H&E-staining revealed normal heart structures with no evident cardiomyopathy or dilation at 6 months post AAV injections (Supplementary Fig. 4C). Similarly, quantitative RT–PCR experiments show no alteration in the expression levels of *Nppa*, *Nppb* (encoding Anp and Bnp, respectively) and *Myh7* mRNAs (Supplementary Fig. 4D), suggesting no overt cardiac remodelling in antisense AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice. Moreover, Sirius Red staining confirmed normal heart structures but also revealed some mild fibrosis (Fig. 6h), which was confirmed by increased expression of collagen *Cola1a* and *Tgfb1* mRNAs (Fig. 6i). Interestingly, mild fibrosis is also observed in DM cardiac samples[17,18], as well as in individuals and mice models with loss-of-function mutations of the *SCN5A* gene[20,21,46,47]. Overall, heart arrhythmias and prolonged PR interval in AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected animals demonstrate that inclusion of the fetal exon 6A of *Scn5a* is inappropriate to adult mouse heart physiology. However, while we found a clear elongation of the PR interval, we did not detect a significant alteration of the QRS duration as only a third of AAV-U7-AS^{Scn5a}-injected mice present increased QRS duration (>19 ms). Interestingly, similar findings have been described in *Scn5a*$^{+/-}$ mice, which all show elongation of the PR interval, while only a subset of *Scn5a*$^{+/-}$ animals present a prolongation of the QRS interval[45]. Hence, elongation of the PR interval is not systematically associated with increased duration of the QRS in mouse model of Scn5a dysfunction. Thus, to strengthen our data, we mathematically tested whether human cardiac parameters would be altered by the electrophysiological differences caused by the switch from adult exon 6B towards fetal exon 6A of *SCN5A*. Simulation based on a modified O'Hara-Rudy model[48,49] predicted a change of the QRS duration from 72 ms with control adult $hNa_v1.5$ to 88 ms with fetal $hNa_v1.5e$, hence a 22% increase (Fig. 7a and Supplementary Fig. 5). Furthermore, we also tested extent of atrio-ventricular change[50]. Mathematical simulation predicted a change of the atrium-His interval from 81 ms with control $hNa_v1.5$ to 143 ms with fetal $hNa_v1.5e$ (Fig. 7b). Overall, these results support our mouse results and provide additional evidences that misregulation of *SCN5A* alternative splicing causes cardiac-conduction abnormalities, which is a key pathological feature of DM (Fig. 7c).

Discussion

Cardiac defects affect 80% of individuals with DM and represent the second most common cause of death in this disease[17,18]. However, the molecular mechanisms responsible for cardiac-conduction delay and ventricular tachycardia in DM are unclear. Using RNA sequencing we identified various novel splicing misregulation events in DM1 heart samples. Among these changes, the splicing switch from adult exon 6B to fetal exon 6A in *SCN5A* mRNA is of particular interest. Previous studies[39–41] as well as ours indicate that $hNa_v1.5e$, the splicing variant of *SCN5A* found in DM and that contains the fetal exon 6A, possesses a reduced excitability compared with the normal adult splicing form of *SCN5A* containing the exon 6B. Consequently, the switch from the $hNa_v1.5$ to the $hNa_v1.5e$ channel in DM may cause a slower upstroke velocity of the cardiac action potential, leading to conduction slowing. Importantly, this hypothesis is supported by mathematical simulation as well by animal model, since imposing a switch from inclusion of the control adult exon 6B towards using the fetal exon 6A of *Scn5A* in adult mouse heart led to cardiac-conduction delay and heart arrhythmias, two key features of DM. Moreover, clinical evidence also supports an alteration of the sodium current in DM. Indeed, the electrophysiological features[39–41] of the fetal isoform of *SCN5A* expressed in DM are similar to the electrophysiological characteristics observed with loss-of-function mutations of *SCN5A* causing cardiac-conduction disease[51–53]. Also, there are some similarities of ECG recording, including prolongation of the PR interval and of the QRS duration, between individuals with DM and individuals affected by cardiac-conduction disease caused by loss-of-function mutations in *SCN5A*[42,54]. Finally, the induction of abnormal ECG pattern in DM patients treated with ajmaline[55,56], a class Ia antiarrhythmic agent acting on the cardiac sodium channel and the abnormal sodium current observed in a mouse model of DM[57], are also evocative of a dysfunction of the sodium channel in DM. Overall, our results suggest that misregulation of the splicing of *SCN5A* participates in a subset of electrical cardiac alterations observed in DM, namely the cardiac-conduction delay and the heart arrhythmias. However, it is likely that other alternative splicing alterations and/or mechanisms[58–61] are participating to the full pattern of cardiac alterations in DM since knockout of *Mbnl1* and *Mbnl2* in mice leads to only mild alteration of *Scn5A* splicing, while these mice show severe conduction disease and cardiac dilatation[43,44].

In conclusion, this work may also have some clinical importance such as considering with caution the treatments of DM patients with pharmaceutical agents that reduce the activity of the cardiac sodium channel, including mexiletine, flecainide and other antiarrhythmic drugs of class I. In that aspect, this study may provide a molecular explanation to the adverse cardiac reaction of some patients with myotonic dystrophic to treatment with drugs reducing activity of SCN5A (refs 62,63). Involvement of the cardiac sodium channel in DM might also highlight the importance of considering polymorphism in the *SCN5A* gene, as

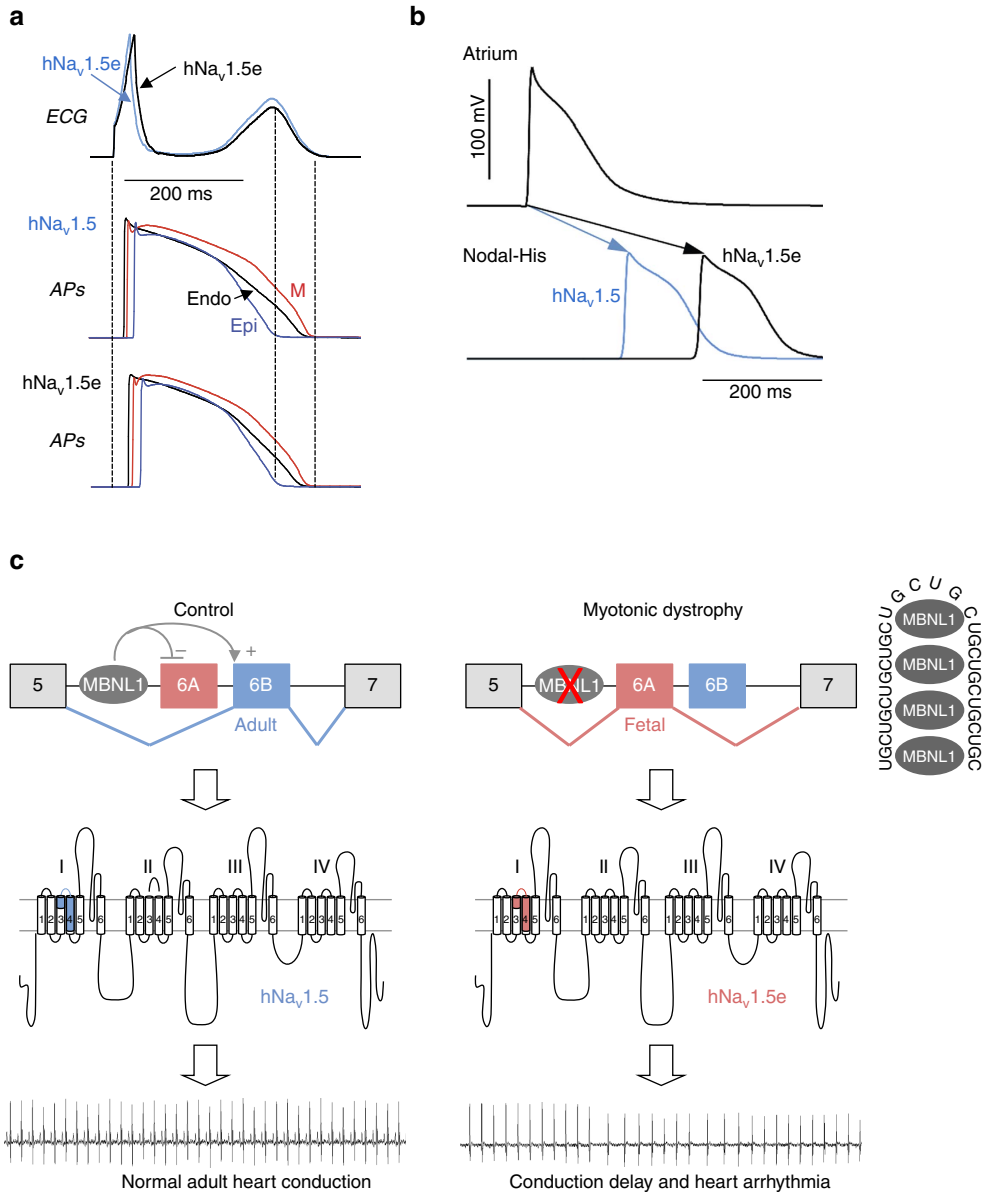


Figure 7 | Computer simulation predicts cardiac conduction abnormalities in DM. (**a**) Simulations of ECG (upper) and action potential (AP) alterations (middle and lower) caused by the switch from adult *SCN5A* exon 6B towards fetal exon 6A, using a modified human ventricular ORd model. (**b**) Simulations of the atrio-ventricular changes caused by inclusion of SCN5A fetal exon 6A instead of adult exon 6B, employing an atrio-ventricular nodal model. APs of atrial and AV node cells were simulated and atrium-His interval was measured as the difference in the latency of APs between atrial and nodal-His cells. (**c**) Model of splicing alteration of the cardiac sodium channel, *SCN5A*, in DM. MBNL proteins regulate the switch from *SCN5A* exon 6A in fetal heart to exon 6B in adult. In DM, titration of MBNL proteins by mutant RNA containing expanded CUG repeats leads to expression of a fetal splicing form of *SCN5A*, inappropriate to adult heart physiology, ultimately resulting in cardiac-conduction delay and heart arrhythmias, which are two keys features of DM.

well as in other genes such as *SCN10A*, as a possible cause of the clustering of cardiac alterations in some families of DM[64], an hypothesis supported by the recent report that DM exacerbates Brugada syndrome caused by a mutation in *SCN5A* (ref. 65). Inversely, it remains to be tested whether mutations in intronic regions regulating alternative splicing of *SCN5A* exon 6A/6B might be considered as a cause of cardiac-conduction abnormalities in patients in whom no mutations were identified in the coding sequence of *SCN5A*. Also, if dysfunction of the cardiac sodium channel in DM is comparable in some aspects to cardiac-conduction disease caused by mutations in *SCN5A*, an attractive supposition would be that therapeutic approaches developed for these diseases could be considered for DM. Finally, if cardiac-conduction defects in DM are associated with an alteration of the alternative splicing of *SCN5A*, one may hope that correction of splicing misregulations through approaches releasing MBNL1 from CUG expanded repeats or through approaches reducing the expression of pathogenic CUG RNA[66,67] may alleviate the cardiac symptoms of DM.

Methods

Human samples. All samples were heart left ventricles that were sampled with the informed consent of individuals and approved by the Institutional Review Board of the Pitié-Salpêtrière hospital, of the Neuromuscular Research Center of the Tampere University Hospital, of the Hospital Donostia and of the Toneyama National Hospital. Non-affected heart samples (CTL #1 to #3) were purchased at Ambion and Stratagene, respectively. DCM #1 and #2 were patients suffering from DCM of uncharacterized genetic origin. DMD #1 to #4 were patients affected with DMD. ALS #1 to #3 were patients with ALS described previously[68]. DM1 samples #1 and

2 were from cardiac transplantation for end stage heart failure with conduction system disease in a 45-year-old male and a 48-year-old female suffering from DM1. DM1 patient #3 is a 58-year-old female with 500 CTG repetitions in blood. DM1 patients #4 to #6 have been described previously[68] with expansion of 4,300 (female, 58 years); 4,800 (male, 63 years); 5,800 (female, 56 years); and ~6,000 CTG repeats in heart. DM1 samples #7 to #9 were patients with BAV1 and sadly unknown number of CTG repeats. DM2 patients #1 to 4 were described previously[69,70]. DM2 patients #5 heart sample was obtained at immediate autopsy after sudden bilateral renal thrombosis at the age of 71 years. He had ~4,800 CCTG repeats in leucocytes.

mRNA sequencing. RNA sequencing was performed on DM1 samples #4 to #6 described previously[68]. After isolation of total cellular RNA from human heart samples, libraries of template molecules suitable for high throughput DNA sequencing were created using 'TruSeq RNA Sample Preparation v2 Kit' (Illumina). Briefly, mRNA was purified from 1 µg total RNA using poly-T oligo-attached magnetic beads and fragmented using divalent cations at 94 °C for 8 min. The cleaved mRNA fragments were reverse transcribed to cDNA using random primers then the second strand of the cDNA was synthesized using DNA Polymerase I and RNase H. The double-stranded cDNA fragments were blunted using T4 DNA polymerase, Klenow DNA polymerase and T4 PNK. A single 'A' nucleotide was added to the 3′ ends of the blunt DNA fragments using a Klenow fragment (3′- to 5′-exo minus) enzyme. The cDNA fragments were ligated to double-stranded adapters using T4 DNA Ligase. The ligated products were enriched by PCR amplification (30 s at 98 °C; (10 s at 98 °C, 30 s at 60 °C, 30 s at 72 °C) × 12 cycles; 5 min at 72 °C). Then surplus PCR primers were removed by purification using AMPure XP beads (Agencourt Biosciences Corporation). DNA libraries were checked for quality and quantified using 2100 Bioanalyzer (Agilent). The libraries were loaded in the flow cell at 7pM concentration and clusters were generated in the Cbot and sequenced in the Illumina Hiseq 2000 as paired-end 2 × 100 base reads. FASTQ files were generated with CASAVA v1.8.2.

Bioinformatic analysis. A total of 1.857.442.522 short reads were mapped onto the human genome (hg19 assembly) by using Tophat2 software[71] (release v2.0.5) with a mapping rate ranging from 83 to 90%. Htseq-count (release 0.5.3p3). The Cufflinks software[72] (release 2.0.2) was used to call the gene expression level according to the ensembl gene annotation (release 66). DEXseq software[22] (release v1.4.0) was then used to identify differential exons usage and significant over and under-expressed genes were selected by using Benjamini & Hochberg adjusted *P* value (FDR ≤0.1).

Computer simulation of action potential durations and ECG. Two mathematical models, O'Hara-Rudy (ORd) dynamic model[48,49] of ventricular myocytes and rabbit atrio-ventricular node model[50], were employed to simulate action potential of cardiac cells and ECG. For the simulation, parameters of the activation gates for control hNav1.5, an equimolar mix of hNav1.5 and hNav1.5e, and hNav1.5e were estimated to match the experimental data obtained with Xenopus oocytes. Na currents and curves of voltage dependence of control hNav1.5, an equimolar mix of hNav1.5 and hNav1.5e, and hNav1.5e were reconstructed using these estimated parameters (Supplementary Fig. 5A–D). The parameters for the inactivation gate were unchanged. To get ECG similar to the left precordial ECG, a unipolar recording electrode was located 2.6 cm far from the epicardial border of the ventricular wedge preparation model (Supplementary Fig. 5E). The model consists of endocardial (Endo), midmyocardial (M) and epicardial (Epi) layers of thicknesses 0.12, 0.65 and 0.24 cm, respectively. The membrane kinetics and the transmural heterogeneity were based on the ORd model[48] with twice sodium channel conductance to reproduce physiological ranges of both ventricular conduction velocity (~60 cm s^{-1} along the fibre) and tissue excitability. The pacing stimuli of 2 ms and twice diastolic threshold were applied transmembranously to the part of endocardial border at 1 Hz to achieve steady state. The action potentials of Endo, M and Epi are recorded at the centre of each myocardial layer. Temperature employed in the simulation was 37 °C. Ionic concentrations employed in the simulation were 96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1.8 mM CaCl2, 1 mM MgCl2, 10 mM HEPES/KOH and pH 7.4. Other model parameters and the numerical approach have been described elsewhere[49]. One-dimensional mathematical model[50] of atrio-ventricular node was employed to simulate the conduction between atrium to ventricle. Although this model was based on the experimental data in rabbit heart, this is, in our knowledge, the only model for AV conduction. The simulation parameters for the equimolar mix of hNav1.5 and hNav1.5e and hNav1.5e were set to reproduce the shift inactivation and the decrease of peak Na current observed in oocytes. The multicellular model consisted of atrium and AV node, and action potentials of atrium and AV node cells were simulated with the stimulus intervals of 350 ms.

Construction and analysis of the SCN5A minigenes. Exons 5, 6A, 6B and 7 were PCR amplified from human DNA (Clontech) with FWD primer: 5′-aaaagctagcgtac accttcaccgccatttacacc-3′ and REV primer: 5′-aaaagcggccgcggatcactgaggtaaaggtcca gg-3′, and inserted between the NheI and NotI restriction sites of pCDNA3.1 + (Invitrogen). Mutations in *SCN5A* intron 5 were introduced by primer-directed PCR mutagenesis. C2C12 cells plated in 6-well plates were co-transfected with Lipofectamine 2000 (Invitrogen) according to the manufacturer's instructions with SCN5A minigene and DMPKS DT960, V5-CUGBP1, V5-MBNL1 40 kDa (NM_207292) and siRNA directed against MBNL1 (5′-CACGGAAUGUAAAUU UGCAdTdT-3′; Eurogentec) or against CUGBP1 (NM_198700; NM_006560; NM_001025596; NM_001172640; NM_001172639; Thermo Scientific) in DMEM medium containing 1 g per l glucose and 2% horse serum (37 °C, 5% CO_2) during 24 h. Total RNAs were extracted using Tri Reagent (MRC) and subjected to reverse transcription using Transcriptor Reverse Transcriptase kit (Roche). PCR were performed using Taq polymerase (Roche), one denaturation step at 94 °C for 2 min, 26 cycles of amplification 94 °C for 1 min, 58 °C for 30 s., 72 °C for 45 s and a final step at 72 °C for 7 min using the forward primer (5′-cttctgcctgcacgcgttcac-3′) and the reverse (5′-acgggccctctagactcg-3′) specific to pCDNA3.1- SCN5A minigene. The PCR products were digested by *BstBI* enzyme. PCR products of mRNAs including exon 6A and 6B are of 116 + 71 bp and 187 bp, respectively. PCR products were precipitated, analysed by electrophoresis on 6,5% polyacrylamide gel, BET labelled and quantified using Typhoon scanner.

Electrophysiological measurements. Ovarian lobes were obtained from *Xenopus laevis* under anaesthesia (0.4% 3-aminobenzoic acid ethyl ester) and transferred to Ca^{2+}-free Barth medium (84 mM NaCl, 1 mM, 2.4 mM NaHCO3, 0.82 mM MgSO4 and 7.5 mM Tris/HCl pH 7.4). Oocytes in stages V and VI were incubated in Ca^{2+}-free Barth medium containing 1.2 mg ml^{-1} collagenase for 60 min. After washing repeatedly with Barth medium, the oocytes were isolated and defolliculated mechanically. Plasmids containing cDNAs of hNav1.5 or hNav1.5e were linearized using the *Not*I restriction enzyme and *in vitro* transcribed using the T7 RNA polymerase. Concentrations of the cRNA variants were adjusted to ~0.002 µg $µl^{-1}$ using the gel documentation system from Herolab (Wiesloch, Germany) and a reference RNA sample (0.24–9.5 kb RNA ladder, Invitrogen Life Technologies), before injecting ~50–80 nl cRNA per oocyte. After 3 days incubation at 18 °C in Barth medium, the peak current amplitude of the whole-cell Na^+ current was between 0.5 and 7.5 µA, depending on the quality of the oocyte batch. Cells producing currents larger than 6 µA were not selected for the evaluation of the channel kinetics. Measurements were performed in totally 11 different batches of oocytes. Whole-cell Na^+ currents were recorded with the two-microelectrode voltage-clamp technique using the TEC-05-S amplifier (npi electronic GmbH, Tamm, Germany) and the following bath solution (96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1.8 mM CaCl2, 1 mM MgCl2, 10 mM HEPES/KOH and pH 7.4). Currents were elicited by test potentials from −80 to 20 mV in 5 or 10 mV increments at a pulsing frequency of 1.0 Hz (holding potential −120 mV). Steady-state activation (m_∞) was evaluated by fitting the Boltzmann equation $m_\infty = \{1 + \exp[-(V - Vm) \text{ per } s]\} - 1$ to the normalized conductance as function of voltage, where *V* is the test potential, Vm the mid-activation potential, and *s* the slope factor in mV. Recording and analysis of the data was performed on a personal computer with the ISO3 software (MFK, Niedernhausen, Germany). The sampling rate was 50 kHz. Student's *t*-test was used to test for statistical significance. Statistical significance was assumed for $P < 0.05$.

***In vivo* gene transfer.** All mouse procedures were done according to protocol approved by the Committee on Animal Resources at the Centre d'Exploration Fonctionnelle of UPMC animal facility and under appropriate biological containment. AAV2/9 vectors expressing *Scn5a* antisense sequences driven by an optimized U7-snRNA (U7-AS) construct described previously[73] were produced by co-transfection in HEK293 cells of pAAV2(U7-AS), pAD-DELTA-F16 encoding adenovirus helper functions and p5E18-VD2/9. Vector particles were purified on iodixanol gradients from cell lysates obtained 72 h after transfection, and titres were measured by RT-qPCR. The vector preparation used in this study had a titer of 1 × 10EXP13 vector genomes (vg) ml^{-1}. U7-AS constructs that contain antisense sequences to target intron 6/exon 6B border or exon 6B of *Scn5A* were cloned in the same AAV backbone. 2 days old C57BL/6 mice were injected in the temporal vein for systemic delivery with 50 µl of either with saline, empty AAV2/9 or AAV2/9-U7-AS (1×10^{12} vector genomes ml^{-1}). Six months after injections, mice were killed, hearts were collected and snap-frozen in liquid nitrogen-cooled isopentane and stored at −80 °C.

ECG recordings and echocardiographic examination. Mice were anaesthetized with isoflurane and surface ECG was recorded using 23-gauge, subcutaneous needle electrodes (Gould Instrument Systems), affixed to each limb. ECG was continuously monitored for 3 min (software IOX 2, EMKA Technologies, Paris France). Heart rate, PR and QRS duration were measured from recording traces using ECG auto V.1.5.7 software (Emka Technologies). Non-invasive measurements of left ventricular dimensions were evaluated under isoflurane anaesthesia, using echocardiography-Doppler (General Electric Medical systems Co, Vivid 7 Dimension/Vivid 7 PRO) with a probe emitting ultrasounds with 9–14 MHz frequency. The two-dimensionally guided Time Motion mode recording of the left ventricle provided the following measurements: diastolic and systolic septal and posterior wall thicknesses, internal end-diastolic and end-systolic diameters, ejection fraction, fractional shortening of left ventricular diameter. Each set of

measurements was obtained from a same cardiac cycle. At least three sets of measures were obtained from three different cardiac cycles.

Recombinant protein production and purification. *Escherichia coli* BL21(RIL) pRARE competent cells (Invitrogen) were transformed with peGEX-MBNL1Δ^{101}, which is a C-terminal truncated form of MBNL1 with higher solubility but identical affinity than MBNL1 full-length, (gift from Prof. C. Branlant), grown at 37 °C in 400 ml of LB medium supplemented with Kanamycin until OD600 = 0.5, 0.5 mM IPTG was added and the culture was further incubated 4 h at 30 °C. Harvested cells were sonicated in 50 mM Tris-Cl pH 7.5, 300 mM NaCl, 5% glycerol, 1 mM DTT, 5 mM EDTA, centrifuged 20 min at 20,000*g* and recombinant GST-MBNL1$^{\Delta 101}$, protein was purified using GST-Kits (Novagen) and store in 20% glycerol.

RNA transcription and gel-shift assays. Templates for transcription were obtained by PCR with pCDNA3.1-SCN5A or pCDNA3.1-SCN5A mutant minigenes and the primers (FWD that include a T7 promoter sequence: 5′-TAA TACGACTCACTATAGGGCCATGGAACTGGCTGGACTTT-3′ and REV: 5′-AGAAAGAGAGGGGTGGTCG-3′). Transcription reaction was performed using T7 transcription kit (Ambion) in presence of 1 µl of αP32-CTP (10µCi, 800 Ci per mmole, Perkin Elmer), analysed on 8% denaturing polyacrylamide and quantified with LS-6500 counter (Beckman). After transcription, 1 unit of DNase I (Invitrogen, Carlsbad, CA) was added, and the sample was incubated for additional 30 min at 37 °C. Transcribed RNAs were then purified by micro Bio-Spin 6 chromatography columns (Bio-rad) according to the manufacturer's instructions. The sizes of RNAs were checked by gel electrophoresis on a denaturing 6% polyacrylamide gel. For gel shift, 1 µl of labelled RNA was annealed in binding buffer (BB, 50 mM Tris-HCl (pH 7.0), 75.0 mM NaCl, 37.5 mM KCl, 5.25 mM DTT, 0.1 mg ml^{-1} BSA, 0.1 mg ml^{-1} *E. Coli* tRNA) at 90 °C for 5 min. and allowed to cool to room temperature by placing on a bench top. After cooling, MgCl2 and RNAsin were added to a final concentration of 0.75 mM and 0.4 U µl^{-1} respectively. GST-MBNL1-Δ101 protein was then added to the above solution and the mixture was incubated at 25 °C for 20 min. The solution mixture was loaded onto a non-denaturing 6.0% (w/v) polyacrylamide gel (acrylamide/bisacrylamide, 40:1, w/w) containing 0.5 × TBE (1X TBE is 90 mM Tris-base, 89 mM Boric acid and 2 mM EDTA (pH 8.0)), which had been pre-electrophoresed at 110 V for 20 min. at 4 °C. The gel was electrophoresed at 110 V at 4 °C for 3 h. The gel was then dried and exposed to a phosphorimager screen and imaged using a Typhoon 9410 variable mode imager. The data were fit to the following equation: $y = \min + ((\max - \min))/(1 + (x/IC50)\text{-HillSlope}))$, where y is the percentage of RNA bound to MBNL1, x is the concentration of MBNL1, min and max are the minimum and maximum percentage of RNA bound to MBNL1 (0–100%) and IC50 is the concentration where 50% of maximum binding is achieved.

RT–PCR analyzes. Total RNA was isolated by TriReagent (Molecular Research Center). A total of 1 µg of total RNA isolated from heart samples of control or DM individual was subjected to reverse transcription using random hexanucleotide and the Transcriptor High Fidelity cDNA synthesis kit (Roche Diagnostics). PCR was performed with Taq polymerase (Roche), using the following protocol: one denaturation step at 94 °C for 2 min, 30 cycles of amplification 94 °C for 1 min, 60 °C for 1 min, 72 °C for 2 min and a final step at 72 °C for 5 min using primers described in the Supplementary Table 4. The PCR products were precipitated, analysed by electrophoresis on a 6.5% polyacrylamide gel, stained with ethidium bromide and quantified using a PhosphorImager Typhoon scanner (GE Healthcare) and the ImageQuaNT software. Concerning analysis of alternative splicing of human *SCN5A*, the forward primer was located within *SCN5A* exon 5 (FWD: 5′-CTTCT GCCTGCACGCGTTCAC-3′) and the reverse primer within *SCN5A* exon 7 (REV: 5′-CAGAAGACTGTGAGGACCATC-3′). Since *SCN5A* exons 6A or 6B are of similar size (92 nts), PCR products were digested by *BstB*I enzyme before loading on 6.5% polyacrylamide gel, resulting in PCR products of 240 bp (exon 6B) and a doublet of 115 bp and 125 bp (exon 6A digested by *BstB*I).

Quantitative real-time PCR analyzes. Total RNA was isolated by TriReagent (Molecular Research Center). cDNAs were generated using using the Transcriptor High Fidelity cDNA synthesis kit (Roche Diagnostics). Real-time qPCR were realized using the LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche) in a Lightcycler 480 (Roche) with 15 min at 94 °C followed by 50 cycles of 15 s at 94 °C, 20 s at 58 °C and 20 s at 72 °C using primers described in the Supplementary Table 5. *Rplpo* mRNA was used as standard and data were analysed using the Lightcycler 480 analysis software (2ΔCt method).

References

1. Brook, J. D. *et al.* Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* **68,** 799–808 (1992).
2. Fu, Y. H. *et al.* An unstable triplet repeat in a gene related to myotonic muscular dystrophy. *Science* **255,** 1256–1258 (1992).
3. Mahadevan, M. *et al.* Myotonic dystrophy mutation: an unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene. *Science* **255,** 1253–1255 (1992).
4. Liquori, C. L. *et al.* Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. *Science* **293,** 864–867 (2001).
5. Miller, J. W. *et al.* Recruitment of human muscleblind proteins to (CUG)n expansions associated with myotonic dystrophy. *EMBO J.* **19,** 4439–4448 (2000).
6. Kanadia, R. N. *et al.* A muscleblind knockout model for myotonic dystrophy. *Science* **302,** 1978–1980 (2003).
7. Kuyumcu-Martinez, N. M., Wang, G. S. & Cooper, T. A. Increased steady-state levels of CUGBP1 in myotonic dystrophy 1 are due to PKC-mediated hyperphosphorylation. *Mol. Cell* **28,** 68–78 (2007).
8. Savkur, R. S., Philips, A. V. & Cooper, T. A. Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat. Genet.* **29,** 40–47 (2001).
9. Mankodi, A. *et al.* Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of ClC-1 chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. *Mol. Cell* **10,** 35–44 (2002).
10. Charlet-B, N. *et al.* Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alternative splicing. *Mol. Cell* **10,** 45–53 (2002).
11. Nakamori, M., Kimura, T., Fujimura, H., Takahashi, M. P. & Sakoda, S. Altered mRNA splicing of dystrophin in type 1 myotonic dystrophy. *Muscle Nerve* **36,** 251–257 (2007).
12. Rau, F. *et al.* Abnormal splicing switch of DMD's penultimate exon compromises muscle fibre maintenance in myotonic dystrophy. *Nat. Commun.* **6,** 7205 (2015).
13. Fugier, C. *et al.* Misregulated alternative splicing of BIN1 is associated with T tubule alterations and muscle weakness in myotonic dystrophy. *Nat. Med.* **17,** 720–725 (2011).
14. Kimura, T. *et al.* Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca2 + -ATPase in myotonic dystrophy type 1. *Hum. Mol. Genet.* **14,** 2189–2200 (2005).
15. Tang, Z. Z. *et al.* Muscle weakness in myotonic dystrophy associated with misregulated splicing and altered gating of Ca(V)1.1 calcium channel. *Hum. Mol. Genet.* **21,** 1312–1324 (2012).
16. Wheeler, T. M., Lueck, J. D., Swanson, M. S., Dirksen, R. T. & Thornton, C. A. Correction of ClC-1 splicing eliminates chloride channelopathy and myotonia in mouse models of myotonic dystrophy. *J. Clin. Invest.* **117,** 3952–3957 (2007).
17. Groh, W. J. *et al.* Electrocardiographic abnormalities and sudden death in myotonic dystrophy type 1. *N. Engl. J. Med.* **358,** 2688–2697 (2008).
18. Lazarus, A. *et al.* Long-term follow-up of arrhythmias in patients with myotonic dystrophy treated by pacing: a multicenter diagnostic pacemaker study. *J. Am. Coll. Cardiol.* **40,** 1645–1652 (2002).
19. Chen, Q. *et al.* Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* **392,** 293–296 (1998).
20. Tan, H. L. *et al.* A sodium-channel mutation causes isolated cardiac conduction disease. *Nature* **409,** 1043–1047 (2001).
21. Schott, J. J. *et al.* Cardiac conduction defects associate with mutations in SCN5A. *Nat. Genet.* **23,** 20–21 (1999).
22. Anders, S., Reyes, A. & Huber, W. Detecting differential usage of exons from RNA-seq data. *Genome Res.* **22,** 2008–2017 (2012).
23. Katz, Y., Wang, E. T., Airoldi, E. M. & Burge, C. B. Analysis and design of RNA sequencing experiments for identifying isoform regulation. *Nat. Methods* **7,** 1009–1015 (2010).
24. Philips, A. V., Timchenko, L. T. & Cooper, T. A. Disruption of splicing regulated by a CUG-binding protein in myotonic dystrophy. *Science* **280,** 737–741 (1998).
25. Nakamori, M. *et al.* Splicing biomarkers of disease severity in myotonic dystrophy. *Ann. Neurol.* **74,** 862–872 (2013).
26. Kalsotra, A. *et al.* A postnatal switch of CELF and MBNL proteins reprograms alternative splicing in the developing heart. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **105,** 20333–20338 (2008).
27. Banks, A. S. *et al.* Deletion of SOCS7 leads to enhanced insulin action and enlarged islets of Langerhans. *J. Clin. Invest.* **115,** 2462–2471 (2005).
28. Wani, M. A. *et al.* Familial hypercatabolic hypoproteinemia caused by deficiency of the neonatal Fc receptor, FcRn, due to a mutant beta2-microglobulin gene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **103,** 5084–5089 (2006).
29. Yuan, Y. *et al.* Muscleblind-like 1 interacts with RNA hairpins in splicing target and pathogenic RNAs. *Nucleic Acids Res.* **35,** 5474–5486 (2007).
30. Kino, Y. *et al.* Muscleblind protein, MBNL1/EXP, binds specifically to CHHG repeats. *Hum. Mol. Genet.* **13,** 495–507 (2004).
31. Goers, E. S., Purcell, J., Voelker, R. B., Gates, D. P. & Berglund, J. A. MBNL1 binds GC motifs embedded in pyrimidines to regulate alternative splicing. *Nucleic Acids Res.* **38,** 2467–2484 (2010).
32. Teplova, M. & Patel, D. J. Structural insights into RNA recognition by the alternative-splicing regulator muscleblind-like MBNL1. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **15,** 1343–1351 (2008).

33. Marquis, J. *et al.* CUG-BP1/CELF1 requires UGU-rich sequences for high-affinity binding. *Biochem. J.* **400,** 291–301 (2006).
34. Teplova, M., Song, J., Gaw, H. Y., Teplov, A. & Patel, D. J. Structural insights into RNA recognition by the alternate-splicing regulator CUG-binding protein 1. *Structure* **18,** 1364–1377 (2010).
35. Wang, E. T. *et al.* Transcriptome-wide regulation of pre-mRNA splicing and mRNA localization by muscleblind proteins. *Cell* **150,** 710–724 (2012).
36. Goodwin, M. *et al.* MBNL sequestration by toxic RNAs and RNA misprocessing in the myotonic dystrophy brain. *Cell Rep.* **12,** 1159–1168 (2015).
37. Lin, X. *et al.* Failure of MBNL1-dependent post-natal splicing transitions in myotonic dystrophy. *Hum. Mol. Genet.* **15,** 2087–2097 (2006).
38. Kanadia, R. *et al.* Reversal of RNA missplicing and myotonia after muscleblind overexpression in a mouse poly(CUG) model for myotonic dystrophy. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **103,** 11748–11753 (2006).
39. Murphy, L. L. *et al.* Developmentally regulated SCN5A splice variant potentiates dysfunction of a novel mutation associated with severe fetal arrhythmia. *Heart Rhythm.* **9,** 590–597 (2012).
40. Walzik, S., Schroeter, A., Benndorf, K. & Zimmer, T. Alternative splicing of the cardiac sodium channel creates multiple variants of mutant T1620K channels. *PLoS ONE* **6,** e19188 (2011).
41. Onkal, R. *et al.* Alternative splicing of $Na_v1.5$: an electrophysiological comparison of 'neonatal' and 'adult' isoforms and critical involvement of a lysine residue. *J. Cell. Physiol.* **216,** 716–726 (2008).
42. Wahbi, K. *et al.* Brugada syndrome and abnormal splicing of SCN5A in myotonic dystrophy type 1. *Arch. Cardiovasc. Dis.* **106,** 635–643 (2013).
43. Lee, K. Y. *et al.* Compound loss of muscleblind-like function in myotonic dystrophy. *EMBO Mol. Med.* **5,** 1887–1900 (2013).
44. Dixon, D. M. *et al.* Loss of muscleblind-like 1 results in cardiac pathology and persistence of fetal splice isoforms. *Sci. Rep.* **5,** 9042 (2015).
45. Leoni, A. L. *et al.* Variable Na(v)1.5 protein expression from the wild-type allele correlates with the penetrance of cardiac conduction disease in the Scn5a(+/-) mouse model. *PLoS ONE* **5,** e9298 (2010).
46. Royer, A. *et al.* Mouse model of SCN5A-linked hereditary Lenègre's disease: age-related conduction slowing and myocardial fibrosis. *Circulation* **111,** 1738–1746 (2005).
47. van Veen, T. A. *et al.* Impaired impulse propagation in Scn5a-knockout mice: combined contribution of excitability, connexin expression, and tissue architecture in relation to aging. *Circulation* **112,** 1927–1935 (2005).
48. O'Hara, T., Virág, L., Varró, A. & Rudy, Y. Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. *PLoS Comput. Biol.* **7**, e1002061 (2011).
49. Tsuji-Wakisaka, K. *et al.* Identification and functional characterization of KCNQ1 mutations around the exon 7-intron 7 junction affecting the splicing process. *Biochim. Biophys. Acta* **1812,** 1452–1459 (2011).
50. Inada, S., Hancox, J. C., Zhang, H. & Boyett, M. R. One-dimensional mathematical model of the atrioventricular node including atrio-nodal, nodal, and nodal-his cells. *Biophys. J.* **97,** 2117–2127 (2009).
51. Probst, V. *et al.* Progressive cardiac conduction defect is the prevailing phenotype in carriers of a Brugada syndrome SCN5A mutation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **17,** 270–275 (2006).
52. Zhang, Z. S., Tranquillo, J., Nepliouева, V., Bursac, N. & Grant, A. O. Sodium channel kinetic changes that produce Brugada syndrome or progressive cardiac conduction system disease. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **292,** H399–H407 (2007).
53. Wang, D. W., Viswanathan, P. C., Balser, J. R., George, Jr A. L. & Benson, D. W. Clinical, genetic, and biophysical characterization of SCN5A mutations associated with atrioventricular conduction block. *Circulation* **105,** 341–346 (2002).
54. Rudnik-Schöneborn, S. *et al.* Brugada-like cardiac disease in myotonic dystrophy type 2: report of two unrelated patients. *Eur. J. Neurol.* **18,** 191–194 (2011).
55. Pambrun, T. *et al.* Unmasked Brugada pattern by Ajmaline challenge in patients with myotonic dystrophy type 1. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* **20**, 28–36 (2015).
56. Maury, P. *et al.* Prevalence of type 1 Brugada-ECG pattern following administration of Class 1C drugs in patients with type 1 myotonic dystrophy: myotonic dystrophy as a part of the Brugada syndrome. *Heart Rhythm.* **11**, 1721–1727 (2014).
57. Algalarrondo, V. *et al.* Abnormal sodium current properties contribute to cardiac electrical and contractile dysfunction in a mouse model of myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscul. Disord.* **25,** 308–320 (2014).
58. Yadava, R. S. *et al.* RNA toxicity in myotonic muscular dystrophy induces NKX2-5 expression. *Nat. Genet.* **40,** 61–68 (2008).
59. Koshelev, M., Sarma, S., Price, R. E., Wehrens, X. H. & Cooper, T. A. Heart-specific overexpression of CUGBP1 reproduces functional and molecular abnormalities of myotonic dystrophy type 1. *Hum. Mol. Genet.* **19,** 1066–1075 (2010).
60. Kalsotra, A. *et al.* The Mef2 transcription network is disrupted in myotonic dystrophy heart tissue, dramatically altering miRNA and mRNA expression. *Cell Rep.* **6,** 336–345 (2014).
61. Rau, F. *et al.* Misregulation of miR-1 processing is associated with heart defects in myotonic dystrophy. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18,** 840–845 (2011).
62. Gorog, D. A., Russell, G., Casian, A. & Peters, N. S. A cautionary tale: the risks of flecainide treatment for myotonic dystrophy. *J. Clin. Neuromuscul. Dis.* **7,** 25–28 (2005).
63. Otten, R. F. *et al.* Arrhythmia exacerbation after sodium channel blockade in myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* **40,** 901–902 (2009).
64. Groh, W. J., Lowe, M. R., Simmons, Z., Bhakta, D. & Pascuzzi, R. M. Familial clustering of muscular and cardiac involvement in myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* **31,** 719–724 (2005).
65. Pambrun, T. *et al.* Myotonic dystrophy type 1 mimics and exacerbates Brugada phenotype induced by Nav1.5 sodium channel loss-of-function mutation. *Heart Rhythm.* **11,** 1393–1400 (2014).
66. Childs-Disney, J. L. *et al.* Induction and reversal of myotonic dystrophy type 1 pre-mRNA splicing defects by small molecules. *Nat. Commun.* **4,** 2044 (2013).
67. Wheeler, T. M. *et al.* Targeting nuclear RNA for *in vivo* correction of myotonic dystrophy. *Nature* **488,** 111–115 (2012).
68. Nakamori, M. *et al.* Aberrantly spliced alpha-dystrobrevin alters alpha-syntrophin binding in myotonic dystrophy type 1. *Neurology* **70,** 677–685 (2008).
69. Schoser, B. G. *et al.* Sudden cardiac death in myotonic dystrophy type 2. *Neurology* **63,** 2402–2404 (2004).
70. Udd, B., Krahe, R., Wallgren-Pettersson, C., Falck, B. & Kalimo, H. Proximal myotonic dystrophy--a family with autosomal dominant muscular dystrophy, cataracts, hearing loss and hypogonadism: heterogeneity of proximal myotonic syndromes? *Neuromuscul. Disord.* **7,** 217–228 (1997).
71. Kim, D. *et al.* TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biol.* **14,** R36 (2013).
72. Trapnell, C. *et al.* Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nat. Biotechnol.* **28,** 511–515 (2010).
73. Goyenvalle, A. *et al.* Rescue of dystrophic muscle through U7 snRNA-mediated exon skipping. *Science* **306,** 1796–1799 (2004).

Acknowledgements

We thank Tom Cooper (Baylor College of Medicine, Houston, USA) for the gift of the DT960 and tgCUGBP1 plasmids, Christiane Branlant (CNRS, Nancy, France) for the gift of the pGEX-MBNL1Δ^{101} vector, the Research Resource Network Japan and the Myobank of the Institute of Myology for providing human heart tissue samples, Feriel Azibani (UMRS974, Paris, France) and all members of the French DM Network for fruitful discussion. We also deeply thank the IGBMC Microarray and Sequencing platform, the informatics resources of the PRABI, Nathalie Mougenot from the UPMC PECMV-CEF facility, the Fédération de Recherche en Imagerie Multimodalité (www.bichat.inserm.fr), the AAV platform of the Centre de Recherche en Myologie, the Penn Vector Core, Gene Therapy Program, University of Pennsylvania (Philadelphia) for providing the pAAV2/9 plasmid (p5E18-VD29), members of the France Genomique program for RNA sequencing and all IGBMC common facilities for assistance. This work was supported by UPMC/INSERM/CNRS/AIM (D.F.); ANR-12-RARE-0005-01 E-RARE 'HEART DM' (N.C.-B. and D.F.); AFM #18833, ERC-2012-StG #310659 'RNA DISEASES' and ANR-10-LABX-0030-INRT and ANR-10-IDEX-0002-02 (N.C.-B.); Research Grants for Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases and for Comprehensive Research on Persons with Disabilities from AMED (H.M., M.P.T.); Grants-in-Aids from MEXT (25136705) (H.I.); Grants-in-Aids from JSPS (25713034 (M.N.) and 15K09314 (M.P.T.)); and Intramural Research Grant of NCNP 26-8 (M.P.T.).

Author contributions

Experiments were performed by F.F., F.R., Y.K., T.L., E.C., F.D., M.N., H.M., Y.K., N.N., C.S., L.A., A.J., C.T., M.P, S.V. and B.J. Bioinformatic analyses were performed by S.I., T.A., K.N., H.I., M.H., K.I., V.L., A.F., V.N., E.W., C.B. and D.A. Clinical samples and patient data were obtained from A.L.d.M., B.U., J.W.D., D.D., K.W., T.M., H.F. and D.F. Data were collected and analysed by F.F., F.R., T.K., S.I., M.S., D.F., T.Z., M.P.T and N.C.B. The study was designed, coordinated and written by E.W., T.Z., D.F., M.P.T and N.C.B.

Additional information

Accession codes: ExonArray and RNA-Seq data have been deposited in Gene Expression Omnibus (GEO) data base under accession codes GSE67067 and GSE67812, respectively.

Supplementary Information accompanies this paper at http://www.nature.com/naturecommunications

Competing financial interests: The authors declare no competing financial interests.

Reprints and permission information is available online at http://npg.nature.com/reprintsandpermissions/

How to cite this article: Freyermuth, F. *et al.* Splicing misregulation of *SCN5A* contributes to cardiac-conduction delay and heart arrhythmia in myotonic dystrophy. *Nat. Commun.* 7:11067 doi: 10.1038/ncomms11067 (2016).

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Biochimica et Biophysica Acta 1852 (2015) 2042–2047

Contents lists available at ScienceDirect

Biochimica et Biophysica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbadis

Functional analysis of SERCA1b, a highly expressed SERCA1 variant in myotonic dystrophy type 1 muscle

Yimeng Zhao [a], Haruo Ogawa [b], Shin-Ichiro Yonekura [b], Hiroaki Mitsuhashi [a], Satomi Mitsuhashi [c], Ichizo Nishino [c], Chikashi Toyoshima [b], Shoichi Ishiura [a,*]

[a] Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8902, Japan
[b] Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, 1-1-1, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan
[c] Department of Neuromuscular Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry, Kodaira, Tokyo 187-8551, Japan

ARTICLE INFO

Article history:
Received 11 April 2015
Received in revised form 23 June 2015
Accepted 6 July 2015
Available online 11 July 2015

Keywords:
SERCA1a
SERCA1b
Myotonic dystrophy
P-type ATPase
Alternative splicing

ABSTRACT

Myotonic dystrophy type 1 (DM1) is a genetic disorder in which multiple genes are aberrantly spliced. *Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase 1* (*SERCA1*) is one of these genes, and it encodes a P-type ATPase. SERCA1 transports Ca^{2+} from the cytosol to the lumen, and is involved in muscular relaxation. It has two splice variants (SERCA1a and SERCA1b) that differ in the last eight amino acids, and the contribution of these variants to DM1 pathology is unclear. Here, we show that SERCA1b protein is highly expressed in DM1 muscle tissue, mainly localised at fast twitch fibres. Additionally, when SERCA1a and SERCA1b were overexpressed in cells, we found that the ATPase and Ca^{2+} uptake activity of SERCA1a was almost double that of SERCA1b. Although the affinity for both ATP and Ca^{2+} was similar between the two variants, SERCA1b was more sensitive to the inner microsomal environment. Thus, we hypothesise that aberrant expression of SERCA1b in DM1 patients is the cause of abnormal intracellular Ca^{2+} homeostasis.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Myotonic dystrophy type 1 (DM1) is a multisystem disorder. The symptoms of DM1 include muscle symptoms such as weakness and myotonia. Cardiac and cognitive defects, cataracts, insulin resistance, and hormone deficiency in multiple organs are also important symptoms in DM1. The genomic mutation that results in DM1 is an aberrant elongation of CTG triplet repeats located in the 3′-UTR region of the *Dystrophia myotonica protein kinase* (*DMPK*) gene [1]. When elongated CTG repeats are transcribed into mRNA, they inhibit normal function of RNA-binding splicing factors by interacting with those factors, and hence result in RNA toxicity [2]. This subsequently leads to abnormal splicing of multiple genes throughout the body.

ATP2A1 is one of the genes that is aberrantly spliced in DM1 muscle. *ATP2A1* encodes Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase 1 (SERCA1). SERCA1 has two isoforms (SERCA1a, the adult form, and SERCA1b, the neonatal form) produced by the alternative splicing of exon 22, which is included in SERCA1a, but not in SERCA1b (Fig. 1A). During development, the expression of SERCA1 migrates from the SERCA1b form to the SERCA1a form. Thus, in adult skeletal muscle tissue, only SERCA1a is expressed. However, *SERCA1b* mRNA has been detected in adult skeletal muscle from DM1 patients [3].

SERCA1 protein is a representative member of P-type ATPase transporter that is exclusively located in the sarcoplasmic reticulum (SR) of fast-twitch skeletal muscle; it functions to transport Ca^{2+} from the cytosol to the lumen of the SR. Because it is the only pump that uptakes Ca^{2+} to SR in fast-twitch skeletal muscle, SERCA1 is crucial for maintaining intracellular Ca^{2+} homeostasis. Mutations in the *ATP2A1* gene cause Brody disease, which is characterised by abnormalities in muscle relaxation after exercise [4]. The SR of Brody patients has half, or less, Ca^{2+}-dependent ATPase activity compared with the control group.

Because exon 22 contains a stop codon, SERCA1a is shorter (994 amino acids) than SERCA1b (1001 amino acids), with the last eight amino acids differing between the two. The last eight amino acids (DPEDERRK) of SERCA1b are rich in hydrophilic amino acids, suggesting a specific role in the SR. In earlier studies, the two isoforms were compared to determine whether they have functional differences. The results were contrary to expectations; ATPase and Ca^{2+} uptake activities were similar between the two SERCA1 isoforms [5]. As large amounts of SERCA1a protein can be easily purified from rabbit thigh muscle, its properties have been well characterised [6–8]. SERCA1b has received less attention, most likely because it has similar activity to SERCA1a and has a limited expression period.

The discovery of *SERCA1* aberrant splicing in DM1 muscle has raised questions about the possible importance of SERCA1b. Additionally, in DM1, cytosolic Ca^{2+} concentrations were reported to be increased [9], indicating a functional difference, and a series of intracellular Ca^{2+}

* Corresponding author.
E-mail address: cishiura@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp (S. Ishiura).

http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.07.006
0925-4439/© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

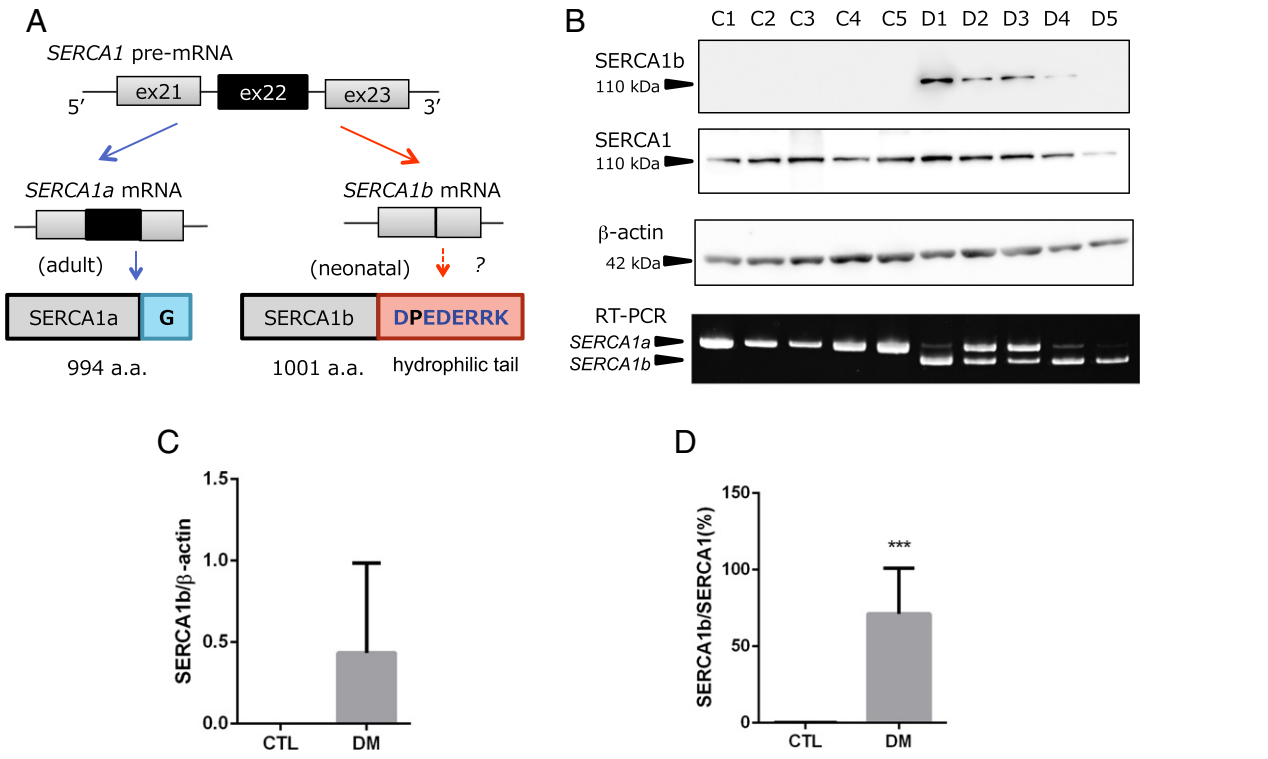


Fig. 1. Detection of SERCA1b in DM1. A. Schematic diagram showing two *SERCA1* splicing patterns in DM1 patients. Dotted line, unverified; solid line, verified. B. Western blot analysis of SERCA1b and SERCA1 expressed in DM1 patients' biopsies detected by specific SERCA1b antibody or SERCA1 antibody. β-actin was used as a loading control. C1-5 indicates non-DM individuals; D1-5 indicates DM1 patients. 5 μg protein per lane was loaded. RT-PCR analysis on *SERCA1* splicing patterns of each individual was shown at the lowest panel. Black arrows indicate *SERCA1a* or *SERCA1b*. C. SERCA1b specific band intensity of Western blot analysis in B. $p = 0.167$, ($n = 5$, Student's *t*-test, mean ± SD). D. *SERCA1b* specific band intensity of RT-PCR in B. $^{***}p < 0.0001$, ($n = 5$, Student's *t*-test, mean ± SD).

homeostasis disturbances in DM1 patients have been reported [10,11]. Hence, identification of the specific function of SERCA1b is needed.

Here, we re-examine the functional differences between SERCA1a and SERCA1b. We first analyse SERCA1b protein levels in muscle tissue from DM1 patients. Next, we attempt to dissect the functional differences between the two isoforms by overexpressing them in cultured cells, and we conduct further biochemical analyses on the ATPase activity of SERCA1b. Finally, we propose a new, *SRECA1* splice-dependent pathway in DM1 pathology.

2. Methods

2.1. DM1 muscles

Biopsies were obtained from the skeletal muscle of five patients with DM1 and five non-DM individuals (see Table S1). The individuals' range in age is from 15 to 55. All samples were stored at −80 °C.

2.2. Western blot analysis

Biopsied muscles were homogenised with 10 times volume of buffer A (10 mM MOPS-KOH pH 7.0, 10% sucrose, 0.1 mM EDTA, 1% NP-40, and 0.1% protease inhibitor). Microsomes expressing SERCA1a or SERCA1b were used as a protein sample directly. Proteins were separated by SDS-PAGE on 10% polyacrylamide gels and transferred onto polyvinylidene fluoride (PVDF) membranes. SERCA1 antibody (1:2500, MA3-912, Thermo Scientific, USA), SERCA1b antibody (mentioned below, 1:2500), and Actin antibody (1:2500, A2066, Sigma-Aldrich, USA) were used to detect each protein. Membranes were analysed using a LAS3000 imager (Fujifilm, Japan). The intensities of band signals were quantified using MultiGauge software (Fujifilm, Japan). The polyclonal antibody against SERCA1b was made to order by MBL, Japan, and generated by immunising rabbits (specific pathogen free) with a synthesised peptide, CLEDPEDERRK, conjugated containing Keyhole limpet hemocyanin at its N-terminus.

2.3. SERCA1 splicing assay

Total RNA was extracted from frozen sections using TRIzol reagent (Life Technologies, USA) according to the manufacturers' instructions. 0.5 μg of total RNA was reverse transcribed using a PrimeScript 1st Strand cDNA Synthesis kit (TAKARA BIO, Japan) with a 1:1 mixture of oligo dT and random hexamer as primers. Splicing assay of *SERCA1* was performed as described previously [12]. PCR cycles were modified to 24 amplification cycles. Band intensities were digitized and quantified using Multi-gauge (Fujifilm, Japan).

2.4. Immunohistochemistry

Frozen sections (10 μm) of muscle biopsy specimens were fixed in 4% paraformaldehyde in PBS for 15 min at room temperature. Slides were incubated with blocking buffer containing 3% BSA and 5% goat serum in PBS for 15 min at 37 °C. Primary antibodies were diluted in blocking buffer to an appropriate concentration and incubated for 2 h at 37 °C. Primary antibody concentrations used in immunohistochemistry are as follows: SERCA1b (the same antibody used at Western blot analysis), 1:100; SERCA1 (the same antibody used at Western blot analysis), 1:100; MHCf (NCL-MHCf, Leica Biosystems, UK), 1:50; MHCs (NCL-MHCs, Leica Biosystems, UK) 1:80; Laminin (ab11576, abcam, USA), 1:50. Slides were then washed with PBS. Secondary antibodies are Alexa-488 or Alexa-568 conjugated secondary goat antibodies against mouse, rabbit and rat. All from Invitrogen, USA were diluted in 3% BSA in PBS at 1:500 for 1 h at room temperature. Images were acquired with a confocal laser scanning microscope (FluoView FV10i; Olympus, Japan).

2.5. Plasmid construction

Human *SERCA1* cDNA (pFN21AE0051, Kazusa DNA Research Institute, Japan) was sequenced and identified as *SERCA1b*. The *SERCA1b* coding sequence was amplified by PCR (forward: 5′-gcggatcGCTAGCagggag cacaATGGAGGCCGCTCATGCT-3′; reverse: 5′-GGATCCgtcgacTCACTT CCTTCTTTCATCTTCTGGATCCT-3′, Fasmac, Japan). Human *SERCA1a* cDNA was obtained by modifying the 5′-end of human *SERCA1b* using the same forward primer as for *SERCA1b* amplification and a reverse primer (5′-GGATCCgtcgacTTATCCCTCTAGGTAGTTCCGAGCAACGAA-3′). Both sequences were subcloned into pIRES2-AcGFP vectors (Clontech, USA).

2.6. Cell culture and transfection

HEK293 cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing 10% fetal bovine serum (FBS) and incubated in 5% CO_2 at 37 °C. Constructs were transfected using CalPhos Mammalian Transfection Kit (Clontech, USA) according to the manufacturer's procedure. Cells were cultured for 48 h after transfection.

2.7. Microsome preparation

Microsomal fractions were prepared as previously reported [5]. To avoid Ca^{2+} contamination from the buffer, final buffer concentrations were modified to 20 mM MOPS-NaOH (pH 7.0), 0.25 M sucrose, and 1 mM $MgCl_2$ without Ca^{2+}. The final suspension was stored in small aliquots in liquid N_2 or at −80 °C.

2.8. Activity measurements

To confirm that the amounts of SERCA1a and SERCA1b used in activity measurements are the same, the ratio of SERCA1a and SERCA1b expressed in microsomes were determined by making a standard curve measured by Western blot analysis on a diluted series of each microsome fraction. Both SERCA1 isoforms were detected by SERCA1 antibody. ATPase activity was assayed as reported previously [5]. The reaction mixture consisted of 40 mM MOPS-KOH (pH 7.0), 100 mM KCl, 5 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA, 0.1 mM ouabain, 5 mM NaN_3, 5 mM oxalate-KOH, 4 mM ATP (Ca^{2+}-free), 15 μM thapsigargin (+/−), 10 μM Ca^{2+}, and 80–100 μg/ml of microsomal protein. The reaction was initiated by adding ATP and oxalate-KOH at 37 °C. At 2, 4, 6, and 8 min, 15 μl of the sample was removed. Released Pi (inorganic phosphate) was quantified using a Malachite Green Phosphate Assay Kit (BioAssay Systems, USA). Ca^{2+} uptake activity was assayed according to [5], using the same reaction mixture as in ATPase activity measurements. At different time points (0, 2, 5 min), 50 μl of sample was filtered through a 0.45-μm millipore membrane (HAWP01300, Merk-Millipore, USA) and washed with 40 mM MOPS-KOH (pH 7.0), 100 mM KCl, and 2 mM $LaCl_3$. The amount of Ca^{2+} transported into the microsomes was quantified using a Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrophotometer (Z2710, Hitachi High-Technologies, Japan). For the measurements of Ca^{2+} dependency, free Ca^{2+} concentrations were calculated by WinMAXC 32 v2.51 (C. Patthon, Stanford University, USA).

2.9. Statistical analysis

All statistical analysis was performed using GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, USA) with methods described in each legend.

3. Results

3.1. SERCA1b is aberrantly expressed in skeletal muscle of DM1 patients

Previous reports have shown that SERCA1b mRNA levels are not always correlated with protein levels [13]. Thus, before examining the role of SERCA1b, we needed to confirm its protein expression in DM1 patients. We first conducted a Western blot analysis on biopsies of skeletal muscle tissue from DM1 patients. Western blot analysis was conducted using a SERCA1b specific antibody (produced according to [13]). Its specificity to SERCA1b was verified by using SERCA1a or SERCA1b overexpressing HEK293 cells (mentioned below; see Fig. 3B). SERCA1b protein was detected in skeletal muscle tissues of DM1 patients, but not in tissue from non-DM individuals (Figs. 1B, C; for molecular marker, see S1A, B). Expression of SERCA1b was not detected in Western blots of D5 muscle tissue, however, its expression was confirmed by an immunohistochemistry analysis (S1C). These results indicate that the SERCA1b mRNA detected in DM1 patients (Fig. 1B, D, [3]) is translated into protein. Because SERCA1a has only one specific amino acid at the C-terminus, it was difficult to produce a SERCA1a-specific antibody. As an alternative, we used pan-SERCA1 antibody that reacts with both SERCA1a and SERCA1b. Using this antibody, SERCA1 was detected in all samples, as expected (Figs. 1B and S1D).

3.2. SERCA1b mainly localises at type II fibres in DM1 muscle tissue

To investigate the fibre type that SERCA1b expresses, we co-stained slices of biopsies with SERCA1b and myosin heavy chain antibodies. As a result, SERCA1b mainly co-localised with myosin fast type heavy chain (Fig. 2). This result showed that SERCA1b has similar localisation with SERCA1a. We also noticed that lower degree of SERCA1b co-localised with myosin slow type heavy chain (see the asterisk at the middle panel in Fig. 2).

3.3. SERCA1b has a half the ATPase and Ca^{2+} uptake activities of SERCA1a

We hypothesised that the aberrant expression of SERCA1b protein in DM1 patients might result in abnormal intracellular Ca^{2+} homeostasis, so we attempted to compare functional differences by overexpressing the two isoforms in cultured cells. To avoid any influence on SERCA1 activity, we expressed SERCA1a and SERCA1b without tag sequences (Fig. 3A). Constructs were transfected into HEK293 cells, which express no endogenous SERCA1a or SERCA1b protein (Fig. 3B, lane c). The overexpression of both variants was confirmed by Western blot analysis (Fig. 3B, lane 1a, b).

Microsomal fractions were purified as described previously [5]. Previous studies have shown that under certain conditions, ATPase and Ca^{2+} uptake activities can be uncoupled [14]. Therefore, we measured two activities separately. Measurements of SERCA1b ATPase and Ca^{2+} uptake activity were approximately half of what was measured for SERCA1a (Fig. 3C, D), which implies that the decrease in Ca^{2+} uptake activity in SERCA1b is ATPase activity dependent. To confirm that the measured activities were not due to endogenous SERCA expression, SERCA2 protein was analysed by Western blot, but no signal was detected (Fig. S3). Thus, we concluded that the activities measured in Fig. 3 were due to the overexpression of SERCA1.

3.4. SERCA1b has similar ATP-, Ca^{2+}-, and pH-related ATPase activity to SERCA1a, but has lower activity when the inner microsomal Ca^{2+} concentration is high

To further investigate the biochemical properties of SERCA1b, we focused on the ATP- and Ca^{2+}-dependent ATPase activities (Fig. 4A,B). The K_m of SERCA1b for ATP is 0.32 ± 0.04 μM, and the $K_{0.5}$ for Ca^{2+} is 0.22 ± 0.04 μM; these values are almost the same as those for SERCA1a measured under the same condition (0.35 ± 0.05 μM for ATP and 0.22 ± 0.04 μM for Ca^{2+} (see Table 1)). For SERCA1a, these data are consistent with previous reports [6,15]. However, the maximum velocity of SERCA1b is approximately half that of SERCA1a (52 ± 2.0% for ATP, 57 ± 3.4% for Ca^{2+}). As a result of this, the ATPase activity of SERCA1b displayed ATP and Ca^{2+}concentration dependence similar to that of SERCA1a, but with half the V_{max}.

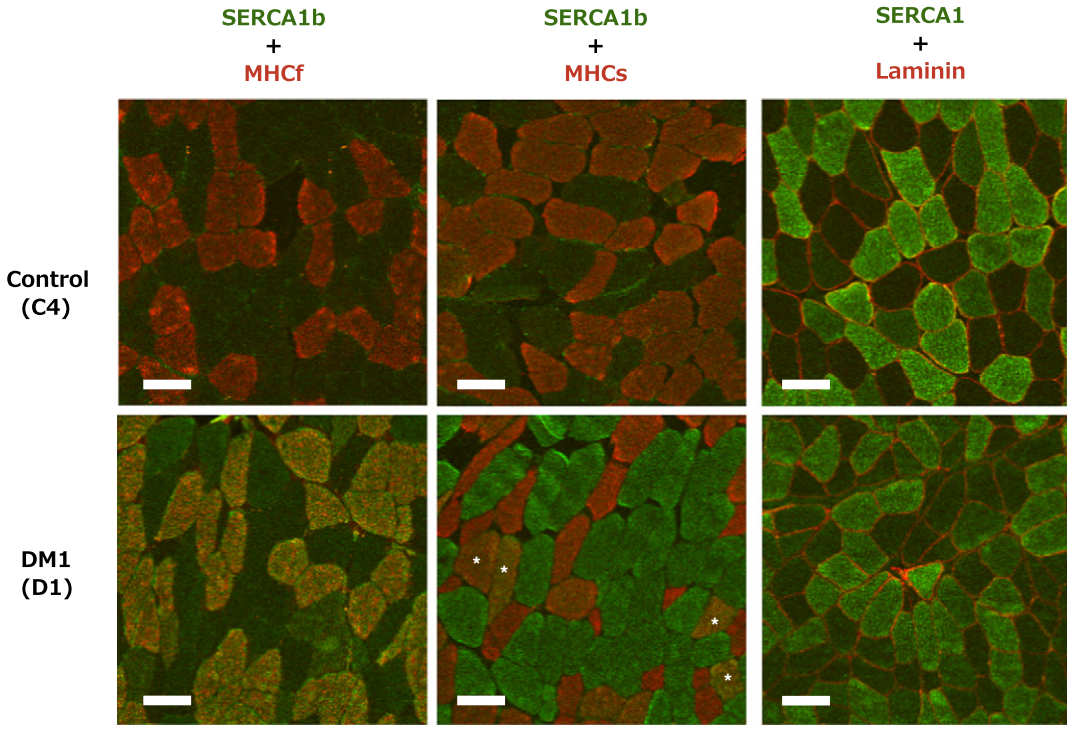


Fig. 2. SERCA1b mainly localise at type II fibres in DM1 muscle tissue. Immunohistochemistry staining of SERCA1b in DM1 muscle tissue (D1, quadriceps femoris) with control (C4, biceps brachii). Samples used at each panel were indicated at the left of the column. Primary antibodies used in each panel were indicated at the top of the column with appropriate colour that corresponding to secondary antibodies. MHCf, myosin fast type heavy chain; MHCs, myosin slow type heavy chain; asterisk, SERCA1b expressed type I fibres. Laminin were stained to indicate outline of fibres. Scale bar, 100 μm.

We also tried to find the optimum pH for the ATPase activity of SERCA1b. By changing the pH of the reaction buffer from pH 6.0 to pH 7.9, we determined that the optimal pH was pH 7.0 (Fig. 4C). This result is consistent with SERCA1a, which was measured under the same conditions (Fig. 4C, [6,16]).

We were curious as to why SERCA1b has 50% lower activity compared with SERCA1a, yet has approximately the same affinity for ATP and Ca^{2+} and the same optimum pH. To investigate the activity of SERCA1b without influence from the inner microsomal environment, we used A23187, a Ca^{2+} ionophore, to measure the ATPase activity. To our surprise, the ATPase activities of SERCA1b and SERCA1a were similar with the addition of A23187 (Fig. 4D). This result indicates that the lower activity of SERCA1b is caused by a high Ca^{2+} concentration in the microsome.

4. Discussion

In this study, we identified functional differences between *SERCA1* splicing variants, which were previously considered to have no functional difference other than the well-conserved eight-amino-acid

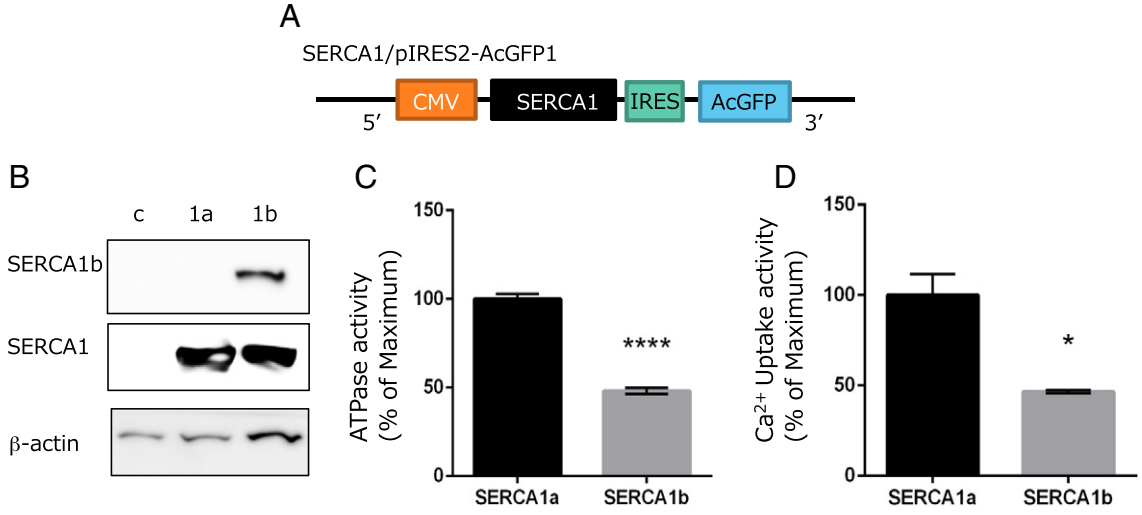


Fig. 3. Comparison of ATPase and Ca^{2+} uptake activity of SERCA1a and SERCA1b. A. Schematic diagram showing SERCA1a or SERCA1b vector construction. B. Western blot analysis of SERCA1a and SERCA1b expressed in HEK293 cells detected by SERCA1b, while SERCA1 and b-actin antibodies. c, control cells (transfected with pIRES2-AcGFP vector); 1a, cells transfected with SERCA1a/pIRES2-AcGFP vector; 1b, cells transfected with SERCA1b/pIRES2-AcGFP vector. ATPase activity (C) and Ca^{2+} uptake activity (D) of SERCA1a and SERCA1b. ****$p < 0.0001$ (C), *$p < 0.05$ (D) ($n = 3$, Student's *t*-test, mean ± SE).

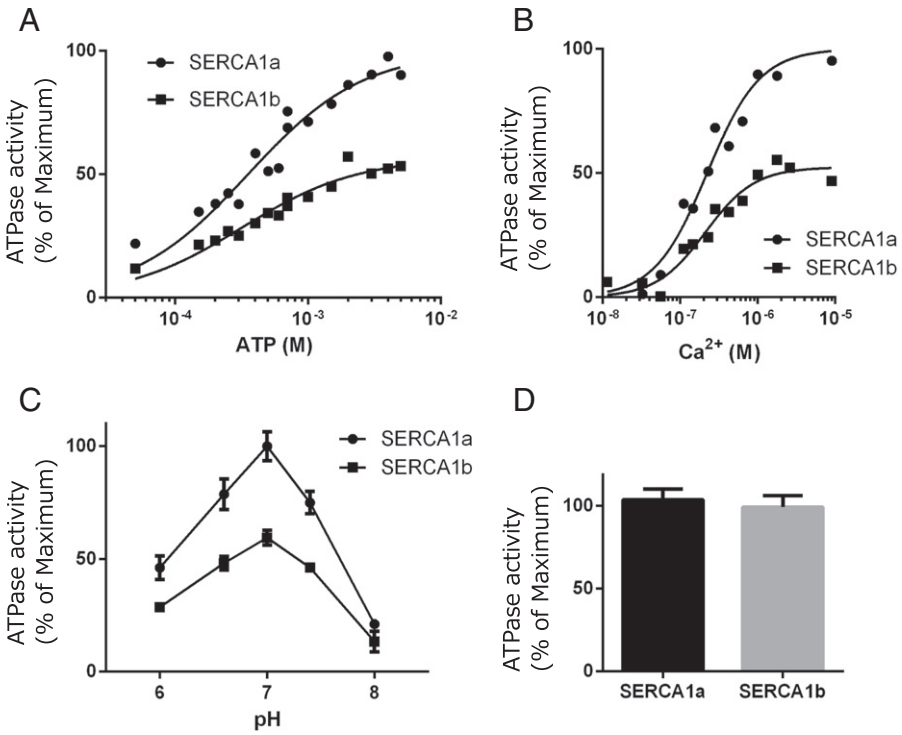


Fig. 4. Biochemical analysis of ATPase activity of SERCA1b. ATP(A), Ca^{2+} (B) concentration dependence of SERCA1b ATPase activity. SERCA1a (●), SERCA1b (■). Approximate formula: $Y = V_{max}{}^{*}X/(K_m + X)$, $R^2 = 0.94$, $n = 16$ (A). $Y = V_{max}{}^{*}X^h/(K_{0.5}^h + X^h)$, $h = 1.3 \pm 0.2$, $R^2 = 0.96$ (SERCA1a), 0.95 (SERCA1b), $n = 13$ (B). V_{max} = mean ± SE. C. pH- (6.0, 6.6, 7.0, 7.4, 7.9) dependent SERCA1b ATPase activity ($n = 3$). At pH 6.0, MES-KOH buffer was used instead of MOPS-KOH. D. ATPase activity of SERCA1a and SERCA1b in the presence of A23187. $p = 0.45$ ($n = 3$, Student's t-test, mean ± SE).

difference in the C-terminus (Table S2). We first identified that the SERCA1b protein was abnormally expressed in DM1 patients using patient biopsies (Fig. 1B–D). We also showed that SERCA1b localises mainly at fast twitch skeletal muscle tissue in vivo (Fig. 2). We noticed that some slow-twitch fibres express SERCA1b. This result suggests that the regulation system of SERCA1 expression is affected in DM1. Next, by overexpressing SERCA1 variants at HEK293 cells, we successfully measured the activity of both SERCA1b and SERCA1a, and determined that SERCA1b has approximately half the ATPase and Ca^{2+} uptake activity of SERCA1a (Fig. 3C,D). These results are inconsistent with previous research [5]. However, we tested SERCA activity using its specific inhibitor, namely thapsigargin, which was not available at the time of the prior study [5] in 1988. Furthermore, the sensitivity to thapsigargin was reported to be the same for SERCA1a and SERCA1b [17]. Thus, the effect of thapsigargin may explain the difference between the two reports.

We then tried to determine the specifics of SERCA1b ATPase activity, and found that its ATP-, Ca^{2+}-, and pH-dependent ATPase activity was similar to that of SERCA1a, but with half the V_{max} (Fig. 4A–C, Table 1). However, these results could not explain differences between the two variants. Therefore, we used A23187 to test whether the inner microsomal environment would change the activity ratio of the two isoforms. Because A23187 makes holes in membranes, allowing Ca^{2+} to migrate freely, the change in activity ratio observed in Fig. 4D could be explained by the different reaction of two isoforms to inner microsomal Ca^{2+} concentrations. In other words, when the inner microsomal Ca^{2+} concentration is high (experiments with oxalic acid), SERCA1b has only half the activity of SERCA1a, but when inner microsomal Ca^{2+} concentration is low (experiments with A23187), the two isoforms have similar activities. One possible explanation for this is that the reverse reaction of ATP hydrolysis, ATP synthesis, may be facilitated in the presence of C-terminal of SERCA1b. These results strongly indicate that, compared with SERCA1a, SERCA1b cannot fully uptake Ca^{2+} to the microsome.

Table 1
Apparent affinities and maximum velocities calculated according to Fig. 4A, B.

		SERCA1a	SERCA1b
ATP	k_m(mM)	0.35 ± 0.05	0.32 ± 0.04
	V_{max} (%)	100 ± 4.1	52 ± 2.0
Ca^{2+}	$K_{0.5}$ (μM)	0.22 ± 0.04	0.22 ± 0.04
	V_{max} (%)	100 ± 6.1	57 ± 3.4

The ratio of protein expression of the two isoforms in DM1 is unclear at present because SERCA1a has only one specific amino acid, so it is hard to produce a specific antibody. However, the expression level of SERCA1b is completely absent in control individuals (Fig. 1B). In Fig. 4D, we can see that SERCA1b is more sensitive to inner microsomal Ca^{2+}. As SERCA1b cannot uptake as much Ca^{2+} as SERCA1a can, the cytosolic high Ca^{2+} concentration reported in [9] may be due to aberrant expression of SERCA1b. This may introduce many abnormalities in DM1.

One possible result of high Ca^{2+} concentration in the cytosol in DM1 is the hyper phosphorylation of CUGBP Elav-like family member 1 (CELF1 or CUGBP1), a splicing factor. In DM1 patients, it is known that CTG repeats cause the hyperphosphorylation of CELF1 [18]. Hyperphosphorylation of CELF1 increases its steady-state level, resulting in over-activation of CELF1 [19]. Although this phosphorylation alters multiple splicing events [20–22], the phosphorylation pathway remains unclear. Our study in this paper may explain one of the phosphorylation pathways of CELF1 (Fig. 5). The aberrant splicing of *SERCA1* is due to the muscle blind-like protein 1 (MBNL1) sequestration induced by CTG repeats [23]. This splicing alteration results in aberrant expression of SERCA1b at a protein level, and the low activity of SERCA1b may induce high Ca^{2+} concentration in cytosol. Due to this, protein kinase C (PKC), whose activation is introduced by Ca^{2+} binding, will be activated. As it is known that PKC can hyperphosphorylate CELF1 [19], we hypothesise that the alternative splicing of *SERCA1* can regulate the hyperphosphorylation of CELF1 in an indirect manner, via Ca^{2+} and

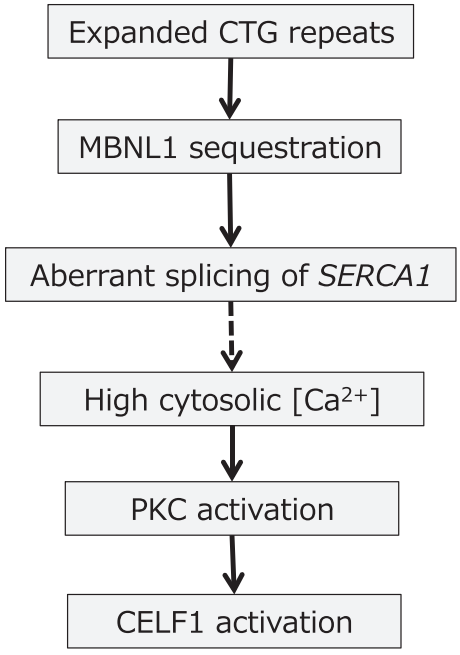


Fig. 5. The hypothesis that a *SERCA1* splicing-dependent pathway that leads to CELF1 activation in DM1. Dotted line, verified insufficiently; solid line, reported previously.

PKC (Fig. 5). Thus, it is possible that SERCA1b expression contributes to the Ca^{2+} abnormalities in DM1 patients, resulting in myotonia and other symptoms.

5. Conclusions

To summarise, this is the first report to identify SERCA1b protein expression and its localisation in DM1 patients and to show that the two SRECA1 isoforms have functional differences. We have identified that the underlying reason for the variants' differences may not be the affinities to ATP, Ca^{2+}, or pH, but rather the inner microsomal environment, specifically, the inner microsomal Ca^{2+} concentration. These findings suggest the existence of a *SERCA1* splicing-dependent pathway that leads to abnormal Ca^{2+} homeostasis. In conclusion, we have identified not only the functional differences in SERCA1 variants but also one possible explanation for Ca^{2+} abnormalities in DM1 patients.

Supplementary data to this article can be found online at http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.07.006.

Transparency document

The Transparency document associated with this article can be found, in the online version.

Acknowledgements

We would like to thank Dr. Yukiko Hayashi for providing DM patients' biopsies. We also thank Dr. Yoshiki Kabashima for valuable discussions. This work was supported by JSPS Grant-in-Aid for JSPS Fellows, grant no. 13J08957. This work was also supported in part by an Intramural Research Grant (26-8) for Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP, a research grant for Comprehensive Research on Disability Health and Welfare from the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW; H26-Sinkeikinn-ippan-004) and a Grant-in-Aid from the MHLW of Japan (to S.I.).

References

[1] J.D. Brook, M.E. McCurrach, H.G. Harley, A.J. Buckler, D. Church, H. Aburatani, et al., Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3′ end of a transcript encoding a protein kinase family member, Cell 68 (4) (1992) 799–808.
[2] T.H. Ho, R.S. Savkur, M.G. Poulos, M.A. Mancini, M.S. Swanson, T.A. Cooper, Colocalization of muscleblind with RNA foci is separable from mis-regulation of alternative splicing in myotonic dystrophy, J. Cell Sci. 118 (13) (2005) 2923–2933.
[3] T. Kimura, M. Nakamori, J.D. Lueck, P. Pouliquin, F. Aoike, H. Fujimura, et al., Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase in myotonic dystrophy type 1, Hum. Mol. Genet. 14 (15) (2005) 2189–2200.
[4] A. Odermatt, P.E. Taschner, V.K. Khanna, H.F. Busch, G. Karpati, C.K. Jablecki, et al., Mutations in the gene-encoding SERCA1, the fast-twitch skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase, are associated with Brody disease, Nat. Genet. 14 (2) (1996) 191–194.
[5] K. Maruyama, D.H. MacLennan, Mutation of aspartic acid-351, lysine-352, and lysine-515 alters the Ca^{2+} transport activity of the Ca^{2+}-ATPase expressed in COS-1 cells, Proc. Natl. Acad. Sci. 85 (10) (1988) 3314–3318.
[6] L. Dode, B. Vilsen, K. Van Baelen, F. Wuytack, J.D. Clausen, J.P. Andersen, Dissection of the functional differences between sarco (endo) plasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase (SERCA) 1 and 3 isoforms by steady-state and transient kinetic analyses, J. Biol. Chem. 277 (47) (2002) 45579–45591.
[7] C. Toyoshima, M. Nakasako, H. Nomura, H. Ogawa, Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 Å resolution, Nature 405 (6787) (2000) 647–655.
[8] D.H. MacLennan, W.J. Rice, N.M. Green, The mechanism of Ca^{2+} transport by sarco (endo) plasmic reticulum Ca^{2+}-ATPases, J. Biol. Chem. 272 (46) (1997) 28815–28818.
[9] A.E. Jacobs, A.A. Benders, A. Oosterhof, J.H. Veerkamp, P. van Mier, R.A. Wevers, et al., The calcium homeostasis and the membrane potential of cultured muscle cells from patients with myotonic dystrophy, Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis. 1096 (1) (1990) 14–19.
[10] A. Botta, A. Malena, E. Loro, G. Del Moro, M. Suman, B. Pantic, et al., Altered Ca^{2+} homeostasis and endoplasmic reticulum stress in myotonic dystrophy type 1 muscle cells, Genes 4 (2) (2013) 275–292.
[11] M. Santoro, R. Piacentini, M. Masciullo, M.L.E. Bianchi, A. Modoni, M.V. Podda, et al., Alternative splicing alterations of Ca^{2+} handling genes are associated with Ca^{2+} signal dysregulation in myotonic dystrophy type 1 (DM1) and type 2 (DM2) myotubes, Neuropathol. Appl. Neurobiol. 40 (4) (2014) 464–476.
[12] Y. Zhao, M. Koebis, S. Suo, S. Ohno, S. Ishiura, Regulation of the alternative splicing of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase1 (SERCA1) by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) via a PKC pathway, Biochem. Biophys. Res. Commun. 423 (2) (2012) 212–217.
[13] E. Zádor, P. Vangheluwe, F. Wuytack, The expression of the neonatal sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} pump (SERCA1b) hints to a role in muscle growth and development, Cell Calcium 41 (4) (2007) 379–388.
[14] L. de Meis, Brown adipose tissue Ca^{2+}-ATPase uncoupled ATP hydrolysis and thermogenic activity, J. Biol. Chem. 278 (43) (2003) 41856–41861.
[15] V. Sharov, E. Dremina, N. Galeva, T. Williams, C. Schoneich, Quantitative mapping of oxidation-sensitive cysteine residues in SERCA in vivo and in vitro by HPLC–electrospray–tandem MS: selective protein oxidation during biological aging, Biochem. J. 394 (2006) 605–615.
[16] Y. Ji, E. Loukianov, T. Loukianova, L.R. Jones, M. Periasamy, SERCA1a can functionally substitute for SERCA2a in the heart, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 276 (1) (1999) H89–H97.
[17] L.L. Wootton, F. Michelangeli, The effects of the phenylalanine 256 to valine mutation on the sensitivity of sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase (SERCA) Ca^{2+} pump isoforms 1, 2, and 3 to thapsigargin and other inhibitors, J. Biol. Chem. 281 (11) (2006) 6970–6976.
[18] R. Roberts, N.A. Timchenko, J.W. Miller, S. Reddy, C.T. Caskey, M.S. Swanson, et al., Altered phosphorylation and intracellular distribution of a $(CUG)_n$ triplet repeat RNA-binding protein in patients with myotonic dystrophy and in myotonin protein kinase knockout mice, Proc. Natl. Acad. Sci. 94 (24) (1997) 13221–13226.
[19] N.M. Kuyumcu-Martinez, G.S. Wang, T.A. Cooper, Increased steady-state levels of CUGBP1 in myotonic dystrophy 1 are due to PKC-mediated hyperphosphorylation, Mol. Cell 28 (1) (2007) 68–78.
[20] A.V. Philips, L.T. Timchenko, T.A. Cooper, Disruption of splicing regulated by a CUG-binding protein in myotonic dystrophy, Science 280 (5364) (1998) 737–741.
[21] Y. Kino, C. Washizu, Y. Oma, H. Onishi, Y. Nezu, N. Sasagawa, et al., MBNL and CELF proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1, Nucleic Acids Res. 37 (19) (2009) 6477–6490.
[22] M. Koebis, N. Ohsawa, Y. Kino, N. Sasagawa, I. Nishino, S. Ishiura, Alternative splicing of myomesin 1 gene is aberrantly regulated in myotonic dystrophy type 1, Genes Cells 16 (9) (2011) 961–972.
[23] S. Hino, S. Kondo, H. Sekiya, A. Saito, S. Kanemoto, T. Murakami, et al., Molecular mechanisms responsible for aberrant splicing of SERCA1 in myotonic dystrophy type 1, Hum. Mol. Genet. 16 (23) (2007) 2834–2843.

JACOBS PUBLISHERS

OPEN ACCESS

Jacobs Journal of Genetics

Research Article

A Short Morpholino CAG15 Corrects Aberrant Alternative Splicing of *Clcn1* and *Serca1 In Vivo*

Kanako Nagano[1,2#], Kurara Takagane[1,2#], Michinori Koebis[1], Kosuke Oana[1], Natsumi Ohsawa -Yoshida[1], Yimeng Zhao[1], Hiroaki Mitsuhashi[1], Shoichi Ishiura[1,2*]

[1]*Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8902, Japan*

[2]*Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan*

**Corresponding author: Dr. Shoichi Ishiura, Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8902, Japan, Tel/Fax:+81-3-5454-6739; E-mail: cishiura@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp*

[#]Kanako Nagano and Kurara Takagane are equallly contributed to this work.

Received: 06-19-2015

Accepted: 07-10-2015

Published: 08-25-2015

Copyright: © 2015 Shoichi

Abstract

Myotonic dystrophy type 1 (DM1) is a hereditary disease associated with multisystemic disorders including myotonia, muscle weakness, and cataracts. DM1 cells express DMPK mRNA harboring expanded CUG repeats, which are responsible for sequestering MBNL1, an RNA-binding protein. MBNL1 regulates alternative splicing of several genes, and sequestration of MBNL1 in the nucleus possibly causes DM-specific symptoms such as myotonia. Therefore, it has been suggested that blocking the interaction between MBNL1 and the RNA CUG repeats would be a promising therapeutic strategy for DM1. A CAG-repeat morpholino oligonucleotide (MO) is expected to bind to expanded CUG repeats in RNA, thus preventing MBNL1 sequestration. In the present report, we optimized the lengths of relevant MOs. We introduced 15-mer, 20-mer, and 25-mer MOs into Neuro 2a cells, which express CUG repeat-containing RNA. We also injected MOs into mice with DM1 (the HSA^{LR} line). Such work showed that the 15-mer MO most effectively corrected aberrant splicing of *Clcn1* and *Serca1*. To increase MO permeability, a 15-mer vivo-MO was administered intravenously and resulted in corrected aberrant *Clcn1* splicing in the quadriceps of HSA^{LR} mice. These results suggest that the short 15-mer MO most efficiently corrects aberrant splicing.

Abbreviations

DM1: Myotonic Dystrophy Type 1;

MBNL: Muscleblind-Like Protein 1;

DMPK: Myotonic Dystrophy Protein Kinase;

CELF: CUG-BP, and ETR-3-like factor, embryonic lethal abnormal vision-type RNA-binding protein 3-like factor;

MO: Morpholino Oligonucleotide;

TA muscle: Tibialis Anterior Muscle

Keywords: Myotonic dystrophy (DM1); Antisense; *Clcn1*; *Serca1*; Alternative Splicing

Introduction

Myotonic dystrophy (DM), an autosomal-dominant disorder, is the most common type of adult muscular dystrophy. There are two types of DM: DM1 and DM2. We focused on DM1, which is caused by expansion of CTG repeats in the 3′ untranslated region (UTR) of the *DMPK* gene [1]. The symptoms of DM1 patients include myotonia, muscle weakness, cataracts, insulin-resistance, and cognitive impairment [2]. The cells of DM1 patients express DMPK mRNA with expanded CUG repeat sequences; such RNA sequesters MBNL1, an RNA-binding protein [3, 4]. Protein dysfunction causes aberrant splicing of several genes and is thought to trigger certain symptoms such as myotonia. Some abnormal splicings are evident in DM1 patients. Abnormal splicing of *CLCN1* is thought to cause electrical discharge in muscles [5]. Abnormal splicing of *SERCA1* may affect intracellular Ca^{2+} homeostasis (Zhao et al., Biochim.Biophys. Acta, in press submitted). *MBNL* exon 5 is highly conserved between birds and mammals, and its regulation is thought to be important for modulation of MBNL1 function during embryonic development [6].

Both antisense materials and various small molecules [7,8] have been investigated as DM1 therapies. Efforts have been made to optimize the lengths of antisense materials. The presence of a minimum of five CAG triplets was required when a 2′-O-methyl antisense oligonucleotide was used to correct aberrant splicing in cell models of DM [9]. Very short 8- or 10-unit antisense-locked nucleic acids also resulted in corrected aberrant alternative splicing [10].

In the present study, morpholino oligonucleotides (MOs), which are thought to be safer than 2′-O-methyl oligonucleotides, were administered to mice with DM1. We optimized MO length. To increase the permeability of antisense materials, we used a 15-mer vivo-MO, which was previously shown to yield promising results [11-13]; vivo-MOs carry cell-penetrating octaguanidium dendrimers, and their uptake is thought to be high. We also intravenously injected a vivo-MO into HSA^{LR} mice and found a beneficial effect thereof on splicing.

Materials and Methods

Morpholino oligonucleotides (MOs) and vivo-MOs

MOs and vivo-MOs were purchased from Gene Tools (Philomath, OR, USA). The oligonucleotide sequences were (5′to3′) as follows: CAG15, CAGCAGCAGCAGCAG; CAG20, CAGCAGCAGCAGCAGCAGCA; and CAG25, CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC. All MOs were dissolved in water.

Constructs

The *Clcn1* construct has been described previously [14]. The DM480 construct contains a fragment of the 3′ region of DMPK with interrupted CTG480 repeats and has also been described previously [15].

Cell culture and transfection

Neuro 2a cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 10% (v/v) fetal bovine serum at 37°C under 5% (v/v) CO_2. Neuro 2a is a mouse neuroblast line. It is suitable transfection host and has been used for studies on the mechanism of cellular machinery. The cells were transfected with 0.6 μg of the plasmids (ratio, *Clcn1* minigene:DM480 = 1:5) using FuGENE 6 (Madison, Wisconsin, USA, Promega). After 24 h, MOs were transfected (2 μM) using Endo-Porter (Gene Tools). The cells were harvested 48 h after transfection and total RNAs purified using a GenElute Mammalian Total Miniprep kit (Sigma-Aldrich). The cells were cultured in 12-well plates.

Animals

HSA^{LR} mice [16] were used. These animals express human skeletal actin mRNA with 250 CUG repeats in the 3′ UTR. All animal experiments were conducted in accordance with the Regulations for Animal Experimentation of the University of Tokyo (Tokyo, Japan).

Administration of MOs with bubble liposomes

We injected 5 μg of a 15-mer, 20-mer, or 25-mer MO into the tibialis anterior (TA) muscles of mice in combination with 30 μL bubble liposomes, prepared as described previously [17]. Ultrasonic energy (frequency 1 MHz; duty cycle 50%; intensity 2.0 W/cm^2; time 60 s) was delivered transdermally downstream of the injection site immediately after liposome administration, using a 6-mm diameter probe fitted with a Sonitron 1000 device (Rich-Mar, Chattanooga, TN, USA). Liposomes were administered once weekly for 3 weeks, and 2 weeks after the last administration, the TA muscles were harvested.

Administration of vivo-MO

Seven-week-old mice were injected with 6 mg/kg CAG15 vivo-MO once a week for 3 weeks. Two weeks after the last administration, the skeletal muscles were harvested and preserved at –80°C.

Identification of splice variants

Total muscle RNAs were extracted using TRIzol reagent (Life Technologies). Total RNA (1 μg) was reverse-transcribed using a PrimeScript first-strand cDNA synthesis kit (TaKaRa). PCR was performed using the following primer pairs: *Clcn1* minigene Forward (Fw): 5′-AAGTCCGGACTCAGATCTCG-3′, *Clcn1* minigene Reverse (Rv): 5′-CATCTCCATCTCCAGCTCCT-3′; *Clcn1* Fw: 5′-GTCCTCAGCAAGTTTATGTCC-3′, *Clcn1* Rv: 5′- GAATCCTCGCCAGTAATTCC-3′; *Serca1* Fw: 5′-GCTCATGGTCCTCAAGATCTCAC-3′, *Serca1* Rv: 5′-GGGTCAGTGCCTCAGCTTTG-3′; and *Mbnl1* Fw: 5′-GCTGCCCAATACCAGGTCAAC-3′, *Mbnl1* Rv: 5′-TG-

GTGGGAGAAATGCTGTATGC-3′. PCR products were resolved on 8% (w/v) polyacrylamide gels, stained with ethidium bromide, and detected using LAS-3000 (Fujifilm); band intensities were measured using the Multigauge system (Fujifilm). The ratio of exon 7A inclusion within *Clcn1* was calculated as (7A inclusion)/(7A inclusion + 7A exclusion) × 100. The ratio of exon 22 exclusion from *Serca1* was calculated as (22 exclusion)/(22 inclusion + 22 exclusion) × 100. The ratio of exon 5 inclusion in *Mbnl1* was calculated as (5 inclusion)/(5 inclusion + 5 exclusion) × 100.

Statistical analysis

Statistical analyses were calculated using the Prism (ver.4) statistical software.

Results

Splicing assay using Neuro2a cells

Neuro 2a cells were transfected with minigene and (CUG)480 repeat constructs, followed by a 15-mer (CAG15), 20-mer (CAG20), or 25-mer (CAG25) MO. CAG15 decreased the extent of abnormal splicing by around 14%. However, this difference was not significant, although shorter MOs tended to decrease the proportion of abnormal exon 7A splicing (Fig. 1).

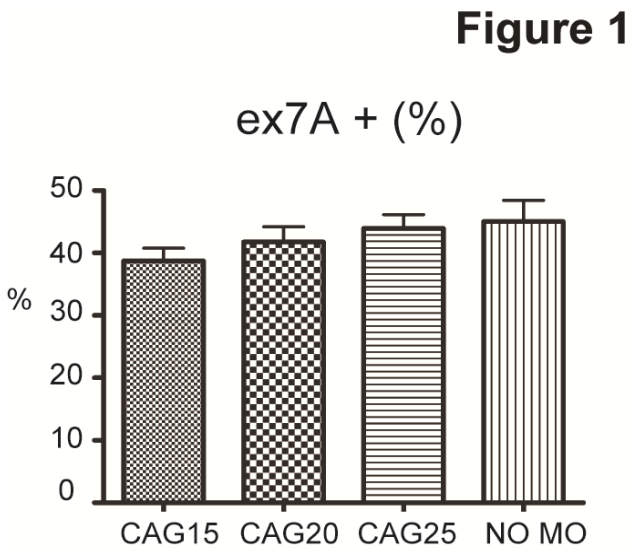


Figure 1. Effect of CAG MOs on splicing of *Clcn1* in Neuro 2a cells.

Splicing efficiencies were calculated as described in Methods. Statistical significance was assessed using the aid of Dunnett's multiple comparison test (p>0.05, n=5).

MO injection into HSA^{LR} mice

After the first injection of MOs and bubble liposomes into the TA muscles of HSA^{LR} mice, the 15-mer (p<0.01) and 20-mer (p<0.05) MOs significantly reduced the extent of exon 7A inclusion within *Clcn1*, and the 15-mer MO significantly (p<0.05) reduced the extent of exon 22 exclusion from *Serca1,* compared with the splicing patterns in saline-injected mice (data not shown).

Next, we injected MOs twice more. The CAG15 MO significantly reduced the extent of exon 7A inclusion within *Clcn1*. Moreover, the CAG15, CAG20, and CAG25 MOs significantly reduced the extent of exon 22 exclusion from *Serca1*. CAG MOs did not affect splicing of *Mbnl1* (Fig. 2).

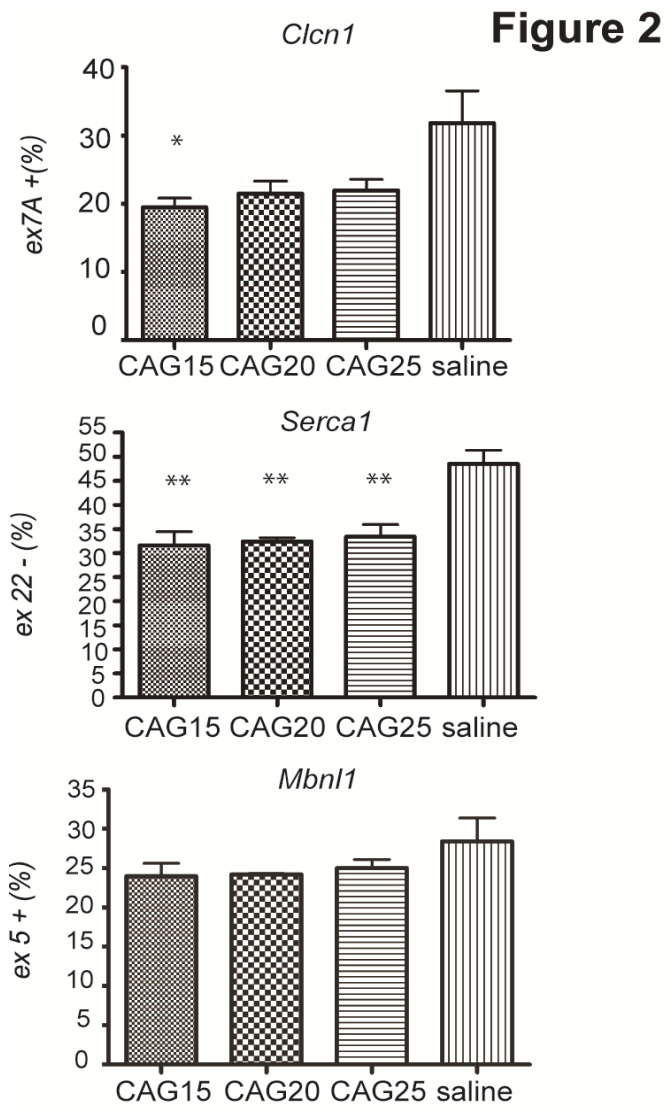


Figure 2. Effect of CAG MOs on the splicing levels of several genes in muscles of HSA^{LR} mice.

A 15-mer MO (CAG15) significantly corrected abnormal splicing of *Clcn1*. Also, 15-mer (CAG15), 20-mer (CAG20), and 25-mer (CAG25)

MOs significantly reduced abnormal splicing of *Serca1*. Abnormal splicing of *Mbnl1* was not affected. Statistical significance was assessed using the aid of Dunnett's multiple comparison test (**p<0.01, *p<0.05, n=3).

Administration of a vivo-MO to HSA^{LR} mice

Next, a 15 mer vivo-MO (or saline) was injected intravenously into HSA^{LR} mice. The vivo-MO significantly reduced exon 7A inclusion in the quadriceps (Fig. 3). No differences were seen among the TA, gastrocnemius, or diaphragm muscles (data not shown).

Figure 3

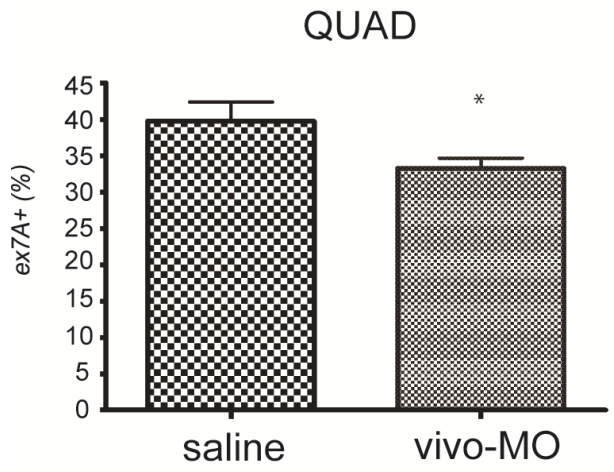


Figure 3. Effect of intravenous injection of vivo-MOs into HSA^{LR} mice.

Injection of a 15-mer vivo-MO corrected aberrant splicing of *Clcn1* to a significantly greater extent than did injection of saline. Statistical significance was assessed using Student's *t* test (*p<0.05, n=10) .

Discussion

Shorter MOs did not significantly reduce the degree of exon 7A inclusion within *Clcn1* in Neuro 2a cells. We explored other cell lines and varied the minigene amounts and transfection agents, but no significant effect was noted. One reason for this is that MOs are impermeable; we suggest that poor MO uptake affected the correction of aberrant splicing [18].

However, a 15-mer vivo-MO significantly corrected aberrant splicing of *Clcn1* and *Serca1*. Vivo-MOs are more permeable than are MOs but are also slightly toxic. An effective concentration devoid of side effects should be sought in the future.

Aberrant splicing of *Clcn1* and *Serca1* was corrected to significant extents by the 15-mer MO (Fig. 2) *in vivo*. However, neither the 15-mer MO nor the 15-mer vivo MO corrected aberrant splicing of *Mbnl1*. As *Mbnl1* knockout mice exhibit aberrant splicing of *Mbnl1* exon 5, such splicing may be regulated by MBNL1 per se [19]. Therefore, it was unexpected that the 15-mer MO did not correct the alternative splicing of *Mbnl1*. It is possible that MBNL1 differentially affects the alternative splicing of *Clcn1*, *Serca1,* and *Mbnl1*. Aberrant splicing of *Clcn1* and *Serca1* may be corrected by low levels of MBNL1; however, that of *Mbnl1* may require higher MBNL1 levels. Second, alternative splicing of *Mbnl1* may be regulated by other factors, rendering the 15-mer MO incapable of correcting the aberration. One such factor may be the RNA-binding protein CELF1 (CUGBP, Elav-like family 1). CELF1 is activated by RNA CUG repeat extension in the cells of DM1 patients, suggesting a close relationship between aberrant CELF1 splicing and DM1 [20]. However, activation of CELF family genes was not evident in DM1 mice, indicating that CELF1 may not regulate the splicing of MBNL1. Several RNA-binding proteins are reported to function abnormally in DM1 patients, but the protein(s) regulating *Mbnl1* splicing is/are unknown. Targeted therapy of DM1 would be feasible if the alternative splicing mechanism of *Mbnl1* was understood.

Vivo-MOs were more effective than were MOs when used to treat facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD) [21]. Vivo-MOs were used to knock down PLTX1 (paired-like homeodomain transcription factor 1). Vivo-MOs were more permeable than were MOs but were not optimally effective when administered intravenously. In the cited work, intravenous injection of vivo-MOs corrected aberrant splicing of *Clcn1* in the quadriceps but not other muscles. We increased the concentration of vivo-MO administered to 12.5 mg/kg, but two of the six mice died. The expression levels of CUG vary among different muscles, explaining why the effectiveness of antisense oligonucleotides also varies. We injected vivo-MO directly into the mouse TA muscle and observed improved correction of aberrant splicing compared with that afforded by MOs. Intravenous administration of peptide-conjugated PMOs over 1 year triggered dystrophin expression in all skeletal muscles of a *mdx* mouse model [22]. If MOs could be modified (for example) by addition of penetrating peptides, splicing correction efficiencies would increase.

Methods facilitating delivery of antisense materials, and modifications thereof to improve permeability, are required.

Authors' contributions

K.N. and S.I. contributed to the concept, design, execution and analysis of the experiments. K.T. contributed to analysis of the experiments, and wrote the manuscript. M.K., K.O., N.O., Y.Z., and H.M. contributed to analysis of the experiments and provided advice and technical expertise. S.I. supervised the project and contributed to the concept and design of the experiments, provided funding, and wrote the manuscript.

Competing interest: The authors declare no competing financial interests.

Acknowledgements

We thank Dr. Satoshi Suo for the valuable discussions. This work was supported in part by an Intramural Research Grant (no. 26-8) for Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP; a research grant for Comprehensive Research on Disability Health and Welfare from the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW; H26-Sinkeikinn-ippan-004); and a Grant-in-Aid from the MHLW of Japan (to S.I.).

The FUGAKU TRUST FOR MEDICAL RESEARCH.

References

1. Taneja KL, McCurrach M, Schalling M, Housman D, Singer RH et al. Foci of trinucleotide repeat transcripts in nuclei of myotonic dystrophy cells and tissues. J Cell Biol. 1995, 128(6): 995-1002.

2. Machuca-Tzili L, D Brook, D Hilton-Jones, Clinical and molecular aspects of the myotonic dystrophies: a review. Muscle Nerve. 2005, 32(1): 1-18.

3. Miller JW, et al., Recruitment of human muscleblind proteins to (CUG)(n) expansions associated with myotonic dystrophy. EMBO J. 2000, 19(17): 4439-4448.

4. Holt I, Jacquemin V, Fardaei M, Sewry CA, Butler-Browne GS et al., Muscleblind-like proteins: similarities and differences in normal and myotonic dystrophy muscle. Am J Pathol, 2009. 174(1): 216-227.

5. Mankodi A, Takahashi MP, Jiang H, Beck CL, Bowers WJ et al. Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of ClC-1 chloride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skeletal muscle in myotonic dystrophy. Mol Cell. 2002, 10(1): 35-44.

6. Terenzi, F, AN Ladd. Conserved developmental alternative splicing of muscleblind-like (MBNL) transcripts regulates MBNL localization and activity. RNA Biol. 2010, 7(1): 43-55.

7. Oana K, Oma Y, Suo S, Takahashi MP, Nishino I et al. Manumycin A corrects aberrant splicing of Clcn1 in myotonic dystrophy type 1 (DM1) mice. Sci Rep, 2013. 3: 2142.

8. Zhao Y, Koebis M, Suo S, Ohno S, Ishiura S et al. Regulation of the alternative splicing of sarcoplasmic reticulum Ca(2)(+)-ATPase1 (SERCA1) by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) via a PKC pathway. Biochem Biophys Res Commun, 2012. 423(2): 212-227.

9. Gonzalez-Barriga A, Mulders SA, van de Giessen J, Hooijer JD, Bijl S et al., Design and analysis of effects of triplet repeat oligonucleotides in cell models for myotonic dystrophy. Mol Ther Nucleic Acids. 2013,(19)2: e81.

10. Wojtkowiak-Szlachcic A, Taylor K, Stepniak-Konieczna E, Sznajder LJ, Mykowska A et al. Short antisense-locked nucleic acids (all-LNAs) correct alternative splicing abnormalities in myotonic dystrophy. Nucleic Acids Res. 2015, 43(6): 3318-3331.

11. Morcos PA, Y Li, S Jiang. Vivo-Morpholinos: a non-peptide transporter delivers Morpholinos into a wide array of mouse tissues. Biotechniques. 2008, 45(6): 613-624, 616, 618 passim.

12. Yokota T, Nakamura A, Nagata T, Saito T, Kobayashi M et al. Extensive and prolonged restoration of dystrophin expression with vivo-morpholino-mediated multiple exon skipping in dystrophic dogs. Nucleic Acid Ther. 2012, 22(5): 306-315.

13. Echigoya Y, Aoki Y2, Miskew B, Panesar D, Touznik A et al. Long-term efficacy of systemic multiexon skipping targeting dystrophin exons 45-55 with a cocktail of vivo-morpholinos in mdx52 mice. Mol Ther Nucleic Acids. 2015, 4: e225.

14. Kino Y, Washizu C, Oma Y, Onishi H, Nezu Y et al. MBNL and CELF proteins regulate alternative splicing of the skeletal muscle chloride channel CLCN1. Nucleic Acids Res. 2009, 37(19): 6477-6490.

15. Kanadia RN, Shin J, Yuan Y, Beattie SG, Wheeler TM et al. Reversal of RNA missplicing and myotonia after muscleblind overexpression in a mouse poly(CUG) model for myotonic dystrophy. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006, 103(31): 11748-1153.

16. Mankodi A, Logigian E, Callahan L, McClain C, White R et al. Myotonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat. Science. 2000, 289(5485): 1769-1773.

17. Koebis M, Kiyatake T, Yamaura H, Nagano K, Higashihara M, et al. Ultrasound-enhanced delivery of morpholino with Bubble liposomes ameliorates the myotonia of myotonic dystrophy model mice. Sci Rep. 2013, 3: 2242.

18. Wheeler TM, Leger AJ, Pandey SK, MacLeod AR, Nakamori M et al. Targeting nuclear RNA for in vivo correction of myotonic dystrophy. Nature. 2012, 488(7409): 111-115.

19. Kanadia RN, Johnstone KA, Mankodi A, Lungu C, Thornton CA et al. A muscleblind knockout model for myotonic dystrophy. Science. 2003, 302(5652): 1978-1980.

20. Roberts R, Timchenko NA, Miller JW, Reddy S, Caskey CT et al. Altered phosphorylation and intracellular distribution of a (CUG)n triplet repeat RNA-binding protein in patients with myotonic dystrophy and in myotonin protein kinase knockout mice. Proc Natl Acad Sci U S A.1997, 94(24): 13221-13226.

21. Pandey SN, Lee YC2, Yokota T3, Chen YW et al., Morpholino treatment improves muscle function and pathology of Pitx1 transgenic mice. Mol Ther. 2014, 22(2): 390-396.

22. Wu B, Li Y, Morcos PA, Doran TJ, Lu P et al. Octa-guanidine morpholino restores dystrophin expression in cardiac and skeletal muscles and ameliorates pathology in dystrophic mdx mice. Mol Ther. 2009, 17(5): 864-871.

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		国立精神・神経医療研究センター
研究開発担当者	所属 役職	精神保健研究所精神薬理研究部客員研究員
	氏名	米本直裕
実施期間		平成　27 年　4 月　1　日　～　平成　28 年　3 月　31　日

Ⅰ．研究開発目的及び内容

Ⅱ．実施内容

１．研究開発の概要

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（１）研究開発代表者　所属　：

研究開発代表者　役職　氏名：

分担研究開発課題名（実施内容）：

①研究開発成果の内容

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

（２）研究開発分担者　所属　：国立精神・神経医療研究センター

研究開発分担者　役職　氏名：精神保健研究所精神薬理研究部客員研究員　米本直裕

分担研究開発課題名（実施内容）：筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床研究方法論に関

する研究

①研究開発成果の内容

1）筋強直性ジストロフィー治験推進に関連する臨床研究方法論についてのガイダンス、報告書を調査し、本邦における課題を明確にした。

2）研究班で実施している臨床研究の計画、実施、解析における方法論的課題について、統計学的見地からの提言を行った。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

1）2015 年に米国 FDA からドラフト版が示された「希少疾病：薬剤開発における共通課題に関するガイダンス（Rare Diseases :Common Issues in Drug Development）」及び「デュシェンヌ型筋ジストロフィーの治療薬開発に関するガイダンス(Duchenne Muscular Dystrophy and Related Dystrophinopathies: Developing Drugs for Treatment Guidance for Industry)」について検討を行い、課題抽出を行った。治療法開発における適切な対象者の選択、有効性と安全性の評価のための対照群の設定、病態理解のためのマーカーの開発、標準化されたアウトカム（エンドポイント）の開発などの課題が明らかになった。

2）研究班の臨床研究の進捗に伴い、適宜実施している。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
なし				

（２）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
なし				

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
なし				

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。

http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）

報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

なし

Ⅳ．実施体制

研究開発参加者リストの通り

（報告様式４別添）

事業名		障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野
研究開発課題名		筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究
機関名		一般社団法人日本筋ジストロフィー協会
研究開発担当者	所属 役職	理事長
	氏名	貝谷久宣
実施期間		平成　27 年　4　月　1　日　～　平成　28　年　3　月　31　日

２．成果（研究開発計画書のⅡ.２．担当別　研究開発概要に対応）

（２）研究開発分担者　所属　：一般社団法人日本筋ジストロフィー協会

研究開発分担者　役職　氏名：貝谷　久宣

分担研究開発課題名（実施内容）：患者代表、アウトリーチ活動、他

①研究開発成果の内容

患者の中には、筋強直性ジストロフィー患者登録システムを知らなかったり、パソコンにアクセスできる環境になかったりする者も少なくない。このため、筋強直性ジストロフィー患者登録システムを協会会員に普及啓発する目的で、患者登録の手引き（冊子）を作成した。

また、日本筋ジストロフィー協会関東甲信越地方本部東京大会において、患者登録を呼びかける講演会を実施した。

②研究開発項目の実施状況及びマイルストーンの達成状況

冊子は患者登録サイトの登録に関する部分をダウンロードして、ホチキス止めした「医学情報登録の手続きについて（筋強直性ジストロフィー）」を３３０部作成して、５５か所（４２支部、１３親の会）へ発送した。各支部、親の会を通じて、ほぼすべての筋強直性ジストロフィー患者の手元に患者登録の情報が伝達できた。

講演会は、日本筋ジストロフィー協会専属医の石原傳幸医師に講師を依頼し、平成２７年１０月３１日に、東京・豊島区の福祉財団ビルにおいて実施した。参加者は約５０人。

３．成果の外部への発表

（１）学会誌・雑誌等における論文一覧

掲載した論文（発表題目）	著者氏名	学会誌・雑誌等名	発表した時期	国内・外の別
なし				

（2）学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
なし				

（3）「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

発表した演題等	発表者氏名	発表した場所（シンポジウム名等）	発表した時期	国内・外の別
なし				

『「国民との科学・技術対話」の推進について(基本的取組方針)』(平成 22 年 6 月 19 日科学技術政策担当大臣、総合科学技術会議有識者議員)において、「研究活動の内容や成果を社会・国民に対して分かりやすく説明する、未来への希望を抱かせる心の通った双方向コミュニケーション活動」を「国民との科学・技術対話」と位置づけています。1 件あたり年間 3,000 万円以上の公的研究費の配分を受ける場合には、「国民との科学・技術対話」への積極的な取組みが求められています。詳しくは以下をご参照ください。
http://www8.cao.go.jp/cstp/output/20100619taiwa.pdf

（4）特許出願一覧（発明の名称）
報告様式４別紙１の通り

Ⅲ．活動（運営委員会等の活動等）

Ⅳ．実施体制
研究開発参加者リストの通り

医学情報登録の手続きについて
（筋強直性ジストロフィー）

平成28年1月

一般社団法人日本筋ジストロフィー協会

この冊子は、長寿・障害総合研究事業　障害者対策総合研究開発事業「筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班」（松村班）の研究費を受けて作成されました。

平成28年1月

筋強直性ジストロフィーの医学情報登録を希望する会員の皆様へ

一般社団法人日本筋ジストロフィー協会
代表理事　貝谷　久宣

日頃は、協会の活動にご尽力いただき、心よりお礼申し上げます。

さて、協会は平成21年に筋ジストロフィーの患者登録システムとして、『神経・筋疾患医学情報登録・管理機構』を設立し、国立精神・神経医療研究センターと登録システムを一元化して運営しております。これまでに、ジストロフィノパチー（デュシェンヌ型、ベッカー型）、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー、福山型の登録が進んでいますが、平成26年10月より、新たに筋強直性ジストロフィーの登録が始まりました。

筋強直性ジストロフィーの登録の事務局は、大阪大学大学院の高橋正紀先生が担当され、昨年末（平成27年12月31日）現在、３９１人の登録を数えています。筋強直性ジストロフィーの登録方法はホームページで紹介されていますが、協会としても筋強直性ジストロフィーの患者登録を広く普及させるため、ホームページの情報をもとにしてこの「医学情報登録の手続きについて（筋強直性ジストロフィー）」の冊子を作成しました。

筋強直性ジストロフィーの患者さんで、自宅にパソコンをお持ちでない会員の方、インターネットの取り扱いが苦手な会員の方にこの冊子を活用いただくことを期待しています。

繰り返しですが、筋強直性ジストロフィーの患者登録の担当事務局は大阪大学大学院ですので、詳細は、直接に下のお問い合わせ先へお願いいたします。

お問合せ先
神経・筋疾患患者登録部門Remudy（レムディー）
筋強直性ｼﾞｽﾄﾛﾌｨｰ 担当事務局

〒565-0871大阪府吹田市山田丘2-2　D-4
大阪大学大学院医学系研究科
神経内科学

TEL ： 06-6879-3573　（月～水 10時～15時）
FAX ： 06-6879-3579

筋強直性ジストロフィー　Myotonic Dystrophy

登録について

◆患者の皆様へ◆

筋強直性ジストロフィーに関する研究は非常に進んでいます。新しい治療法が開発され、臨床試験／治験が始まっています。患者さんの数が少ない筋強直性ジストロフィーでは、臨床試験／治験に適した条件を満たす患者さんを十分な人数確保することがきわめて困難と思われます。臨床試験／治験を円滑に進めるためには、対象となる患者さんをすみやかに見つけられるようにすることが重要と考えられ、例えばフランスやアメリカを中心として、多数の国で患者さんの登録が進んでいます。このような中で、日本でも臨床試験／治験を遅れることなく実施するために、患者さんの登録を行うことが必要になると考えられました。また、このような登録によって、臨床試験／治験 を円滑に進めるだけでなく、患者さんの実態調査なども行うことができるため、病気の研究がより進んでいくこと も期待されます。

患者さんの患者情報登録には、患者さん御自身のご協力が何より大切になります。登録することの主旨と意義をよくご理解の上でご登録いただきますよう、どうぞよろしくお願いいたします。

◆主治医の皆様へ◆

このたび、筋強直性ジストロフィーさんの患者情報登録が始まりました。患者情報の登録は、疾病の研究や治療法の開発の促進を目的としております。

本登録システムでは情報の登録は患者さまが自身の自由意思に基づいて行います。ただし、登録内容には、検査データなど患者さまだけでは正確に記載することが困難な内容も含まれます。担当の先生には、ご面倒をおかけしますが、患者登録用紙への正確な記入ができるよう、ご協力ご確認をお願いする次第です。担当医の皆さまには、お忙しい日常診療の中で登録に必要な情報提供などお手数をおかけすることは大変心苦しいのですが、本登録の主旨と意義をご理解の上、ご協力賜りますようお願いいたします。

◆登録できる患者さんについて◆

本登録システムに登録できるのは、遺伝子検査で診断が確定している、筋強直性ジストロフィーの方々です。

登録の流れについて

書類の確認
書類 A) B) C) E)の記入及び内容を主治医/専門医に確認、修正。書類 D) を受け取る

書類郵送
書類 A) B) C) D) E)をRemudy事務局へ郵送（簡易書留）

内容確認
Remudy事務局で書類の内容確認。問題があった場合は確認のお電話又はお手紙を郵送します。

登録完了
登録完了した患者様へは本登録カードをお送りします。

新規登録

A) 筋強直性ジストロフィー　患者登録用紙　→　(PDF)
この情報を元に患者登録センター患者情報登録部門にて登録が行われます。患者さまご自身で記入できる箇所を記入し、一部、主治医・専門医師のご協力にて記入、署名をいただいてください。

B) 筋強直性ジストロフィー 患者登録システムへの参加同意書（患者さん用）
→　(PDF)
患者さまご本人の署名と捺印が必要です。同意撤回書も含まれます。

C) 筋強直性ジストロフィー 患者登録システムへの協力説明及び同意文書（医師用）
→　(PDF)
主治医・専門医の署名が必要です。一部、患者さまの署名も必要です。同意撤回書も含まれます。

D) 遺伝子診断結果のコピー
主治医/専門医より入手してください。

E) 筋強直性ジストロフィー患者登録システムのチェックリスト　→　(PDF)
登録の際に必要となる書類のチェックリストです。

郵送先

「筋ジストロフィー患者登録システムへの本登録に必要な書類」A, B, C, D, Eの全てを患者さまご本人が下記まで書留にて郵送してください。

〒565-0871
大阪府吹田市山田丘2-2　D-4
大阪大学大学院　医学系研究科　神経内科学
　神経・筋疾患患者登録センター
Remudy患者登録部門
　筋強直性ジストロフィー　担当事務局　宛

※必ず簡易書留にて郵送して下さい。

筋強直性ジストロフィー　患者登録用紙

2015 年 7 月版

記入日　西暦（　　）年（　　）月（　　）日

患者様のお名前　漢字名（　　）　ふりがな（　　）

生年月日・性別　西暦（　　）年（　　）月（　　）日　□ 男性　□ 女性

連絡先　□ 自宅　□ 施設(長期入所中)　□ 病院(長期入院中)　□ その他（　　）

郵便番号　〒（　　）－（　　）

住所（　　）

電話（　　）－（　　）－（　　）

メールアドレス（　　）

登録センターからの連絡方法(必ず連絡のつく方法をチェック下さい・複数選択可)

□ 手紙　□ 電話(自宅・携帯・留守番電話)　□ メール(PC アドレス・携帯アドレス)

人種：あなた(患者様)は日本人ですか　□ はい　□ いいえ（差し支えなければ具体的にご記入下さい：　　）

他のデータベースに登録をしたことがありますか　□ ない　□ ある　□ 不明

患者会などへ参加していますか

□ 参加していない　□ 参加している（□ 筋ジストロフィー協会　□ その他：　　）

家族歴(血縁者に同じような症状の方がおられますか)

□ なし　□ あり（続柄：　　）

登録予定、登録済みの血縁者を了解の得られる範囲でご記入下さい

お名前：　続柄：　年齢：　歳、お名前：　続柄：　年齢：　歳

お名前：　続柄：　年齢：　歳、お名前：　続柄：　年齢：　歳

患者様に該当する治験の情報があれば情報を提供して欲しいですか

□ 提供して欲しい　□ 必要ない　□ 今は分からない

年齢が 15 歳以上の場合、患者様本人に同意能力がありますか　□ ある　□ ない　□ 15 歳未満である

現在治験に参加していますか　□ いいえ　□ はい（治験名：　　）

臨床診断名（必ず遺伝子検査の結果報告書のコピーを同封して下さい）

□ 先天性筋強直性ジストロフィーI 型（生後 4 週以内の発症）

□ 筋強直性ジストロフィーI 型（DM1）　発症(初めて症状に気づいた)年齢（　　）歳(概数でも可)

□ 非発症筋強直性ジストロフィーI 型（遺伝子変異は確認されているが無症状な場合）

□ 筋強直性ジストロフィーII 型（DM2）　発症(初めて症状に気づいた)年齢（　　）歳(概数でも可)

身長・体重　測定日（　　）年（　　）月　身長（　　）cm　体重（　　）kg

歩行能力（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ 支えなしで歩行可能（手すりや杖などの装具も不要）

□ 装具を利用して歩ける（歩行器、下肢装具、杖、手すりの使用 etc）

□ 歩行不能　歩行不能年齢(　　)歳　（ □ 不明　□ 歩行を獲得していない）

車椅子を使っていますか

□ ない　□ 以前使用　使用年齢(　　)歳～(　　)歳

□ 現在使用：使用開始年齢(　　)歳

□ 一日のうち部分的に使用　□ 一日中使用：一日中使用になった年齢(　　)歳

握力　測定日（　　）年（　　）月　□ 未検

右（　　）kg　左（　　）kg　□ 測定不能（測定可能下限：　　）kg

手指の障害で(フタを開ける、シートから薬を取り出すなど)日常生活に援助が必要ですか（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ 日常生活に援助が必要　□ 不自由はあるが日常生活に援助不要　□ 不自由を感じない

筋強直現象(手を強く握るとすばやく開きにくい etc)はありますか（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ 強い（日常生活に支障が有る）　□ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし）　□ 無い

筋強直現象に対して投薬を受けていますか（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ いいえ　□ 不明　□ はい(処方箋コピー可)（薬品名：　　）

嚥下機能障害(食べ物・飲み物が飲み込みにくい・引っかかる・詰まる etc)がありますか（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ ある　発症年齢(　　)歳　□ これまでない　□ 以前あった　(　　)歳～(　　)歳　□ 不明

胃瘻、経管栄養を受けていますか（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ ある　開始年齢(　　)歳　□ これまでない　□ 以前受けた　(　　)歳～(　　)歳　□ 不明

便秘で困っていますか（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ 強い（下剤や浣腸を使用している）　□ 軽い（症状はあるが治療はしていない）　□ 無い

注意　　：患者様が記入する欄　　：担当医師に確認して記入する欄　　：15 歳未満の患者様のみ記入する欄

目や耳に不自由を感じますか

見えにくさ　□ 強い（日常生活に支障が有る）　□ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし）　□ 無い

聞こえにくさ　□ 強い（日常生活に支障が有る）　□ 軽い（症状はあるが日常生活に支障なし）　□ 無い

白内障の手術を受けましたか　□ 受けた　初回手術時年齢（　　）歳　□ 受けていない　□ 不明

疲れやすい、日中の眠気がありますか（記入日時点の状態でご評価下さい）

疲れやすさ　□ 強い（日常生活に支障あり）　□ 軽い（日常生活に支障なし）　□ 無い

日中の眠気　□ 強い（日常生活に支障あり）　□ 軽い（日常生活に支障なし）　□ 無い

疲れやすさ、日中の眠気に対して投薬を受けていますか（記入日時点の状態で評価ください）

□ 受けていない　□ 受けている(処方箋コピー可)（薬品名：　　）　□ 不明

人工呼吸器を使用していますか（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ ない　□ 以前使用　使用年齢(　　)歳～(　　)歳

□ 現在使用　使用頻度（□ 一日中使用　□ 一日のうち部分的に使用）

□ 非侵襲的呼吸管理(BiPAP, CPAP, etc)　開始年齢（　　）歳

□ 侵襲的(気管切開下)呼吸管理　開始年齢（　　）歳

心臓合併症はありますか　□ なし　□ 不明

□ 不整脈（洞不全症候群、期外収縮等）　発症(最初に指摘された)年齢（　　）歳

□ 心伝導障害（房室ブロック、脚ブロック等）　発症(最初に指摘された)年齢（　　）歳

□ 心筋症（心不全）　発症(最初に指摘された)年齢（　　）歳

心電図(自動診断のコピーでも可)　最終検査日（　　）年（　　）月　□ 心電図未検　□ 不明

洞調律（□ はい　□ いいえ）　PR 間隔（　　）ms　QRS 間隔（　　）ms　QTc（　　）ms

心臓合併症の投薬を受けていますか（記入日時点の状態でご評価下さい）

□ ない　□ 以前ある(薬が分かれば下記をチェックして下さい)　□ 不明

□ 現在ある(服薬中の薬をチェックして下さい：処方箋コピー可)　服薬開始(何らかの薬を服薬した)年齢（　　）歳

□ ACE 阻害剤　□ ARB　□ β遮断薬　□ 利尿剤

□ 抗不整脈剤（　　）□ その他（　　）

ペースメーカー埋め込み、埋め込み式除細動装置、カテーテルアブレーションを受けましたか

□ ペースメーカー埋め込み　実施時年齢（　　）歳（最初に実施した年齢をご記入下さい）

□ 埋め込み式除細動装置　実施時年齢（　　）歳（最初に実施した年齢をご記入下さい）

□ カテーテルアブレーション　実施時年齢（　　）歳（最初に実施した年齢をご記入下さい）

□ いずれもなし　□ 不明

その他の合併症で指摘されたことがあるものをチェックして下さい　□ 特記すべきものなし

□ 耐糖能障害（糖尿病、高インスリン血症など）

治療内容　□ 食事指導　□ 内服薬(処方箋コピー可)（　　）□ インスリン

□ 高次脳機能障害・認知障害　□ 腫瘍（　　）

□ 手術歴（　　）□ その他（　　）

呼吸機能(所見のコピーでも可)　最終検査日（　　）年（　　）月　□ 呼吸機能未検　□ 不明

FVC（　　）ml　%FVC（　　）%　FEV1%（　　）%

心エコー(所見のコピーでも可)　最終検査日（　　）年（　　）月　□ 心エコー未検　□ 不明

左室拡張期径:LVDd（　　）mm　左室駆出率:EF（　　）%

血液検査（コピーでも可）　最終検査日（　　）年（　　）月　未検査、不明など必ず明記下さい

CK(　　)IU/L　AST(　　)IU/L　ALT(　　)IU/L　γ-GTP(　　)IU/L　HbA1c(NGSP)(　　)%

15歳未満の方

出生　出生（　　）週　（　　）g　□ 不明

周産期異常　□なし　□あり（□羊水過多　□仮死・呼吸障害　□嚥下障害　□筋緊張低下　□関節拘縮）　□不明

分娩異常　□なし　□あり（□帝王切開　□ 遷延分娩　□ 吸引分娩　□ その他）　□不明

発達歴　□ 不明

首のすわり　（　　）か月　独り座り（　　）か月　独り歩き　（　　）か月

単語　（　　）か月　二語文　（　　）か月

知的・精神面での問題　□なし　□あり（□自閉症　□注意欠陥多動性障害　□学習障害　□知的障害　□その他）

このデータは原情報に忠実に記入されており、医師の確認のもとに作成されたものであることを証明します

病院名　（　　）診療科（　　）　患者様カルテ番号（　　）

医師署名（自筆）（　　）西暦（　　）年（　　）月（　　）日

よろしければメールアドレスをお教えください（　　）

送付先　〒565-0871　大阪府吹田市山田丘2-2 D-4

大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学　神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）　患者情報登録部門

未検査、不明など必ず明記下さい。空欄ですとお問合せさせていただくことになります。　筋強直性ジストロフィー担当事務局

筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの参加同意書（患者さん用）

大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）　患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー　担当事務局　高橋　正紀　殿　（研究責任者）

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター
神経・筋疾患患者登録センター(Remudy)　患者情報登録部門
責任者　木村　円　殿

わたし　（氏名）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿（生年月日）＿＿＿＿年＿＿月＿＿日生

（住所）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿は、

筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの登録について、説明文書を十分に理解したうえで、
下の１－９に記す全ての項目に、チェック☑をつけ、同意します。

－　記　－

☐1　登録システムの目的

筋強直性ジストロフィーの疫学調査を含む臨床研究、治療法開発のための臨床試験・治験の実施を促進することを主な目的とした筋強直性ジストロフィー患者登録システムを構築し、患者データベースを作成します。

☐2　登録する情報の内容

日常診療でえられた患者さんの情報の中から、別紙の患者登録用紙もしくはウェブサイトに記載されているような臨床情報を収集いたします。その中には遺伝子情報などの個人情報も含まれます。

☐3　登録の方法

患者さんご本人に、登録に必要な書類をご準備頂き、大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学にある筋強直性ジストロフィー患者情報登録事務局にお送りいただきます。今後一部の情報はウェブサイトから入力することもできます。お送り頂いた登録情報の確認のため、患者さん及び情報登録にご協力いただいた先生に直接確認することがあります。登録に必要な情報が確認された段階で、お送り頂いた登録情報を国立精神・神経医療研究センターが管理運営する Remudy のデータベースへ入力し登録情報を分析いたします。

☐4　危険性ならびに副作用等

患者さんの臨床情報を収集する研究ですので、患者さん自身に対する身体的な危険性はありません。

☐5　費用

登録は無料ですが、患者登録用紙に記入する際の医師への受診、登録に必要な書類の郵送費用は患者さんの負担となります。

☐6　登録された情報の使われ方

登録情報を分析し、疫学調査を含む臨床研究、臨床試験・治験の実施に向けた情報の作成をします。
個人情報が特定されないように配慮したうえで、学術的な場での公表を行います。
個人情報が特定されないように配慮したうえで、場合により臨床試験・治験を計画している研究者や製薬企業にも登録情報が開示される場合があります。
個人情報が特定されないように配慮したうえで、国際的な患者登録ネットワークへ、登録情報が登録される場合があります。
また、以下でご希望された場合には、電子メール等で臨床試験・治験の対象となる可能性のある患者さんに直接お知らせすることがあります。

☐7　登録された情報の通知

ご希望に応じて、ご本人の登録されている情報の提供を行います。もし誤りがある場合には訂正することができます。成果については、研究班のホームページ等を通じても公表いたします。

☐8　プライバシーの保護、訂正

個人が特定できる情報は公開されません。
個人情報については、後で訂正することができます。
臨床情報などの登録内容を毎年更新することが必要です。このため患者登録部門より連絡させていただくことがあります。

☐9　研究に参加しないことによる不利益

本研究に参加することに同意しても、それはいつでも撤回できます。
研究に参加しなくても、また、同意を撤回しても、日常の治療上いかなる不利益も受けません。

以上

上の１から９の全てのチェック項目に印をつけていただけない場合には、本研究に同意されたとみなされません。

そのうえで、以下については希望するかどうかのチェックをします。

臨床試験・治験が計画された場合に、自身が対象になる可能性がある場合に、患者情報登録部門からご本人（あるいは保護者もしくは代諾者）に直接ご連絡させていただくこと

☐希望します　　☐希望しません

同意年月日　平成　　年　　月　　日

署名　（本人）　　印（自署であれば印は不要）

2015.07 版

本人が

□知的障害等により同意能力がないと客観的に判断される場合

□20 歳未満の場合　（16 歳から 19 歳の場合には本人も署名ください）

□筆記が困難な場合

（保護者もしくは代筆者氏名）　前ページの署名欄にも患者様氏名をご記入ください

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿印（続柄　　）

※ここまでの書類（３枚）を、必ず下記の患者情報登録部門にお送りください

〒565-0871

大阪府吹田市山田丘２－２　Ｄ－４

大阪大学大学院　医学系研究科　神経内科学

神経・筋疾患患者登録センター（Remudy（レムディー））　患者情報登録部門

筋強直性ジストロフィー　担当事務局

※筋強直性ジストロフィーの登録窓口は、大阪大学になります。
送付の際は、十分にご注意ください。

神経・筋疾患患者登録
Remudy Registry of Muscular Dystrophy

筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの協力説明及び同意文書（医師用）

平素より、神経筋疾患患者情報登録システムの構築及び効率的な運用に関する研究の活動にご協力いただきありがとうございます。この度は、筋強直性ジストロフィー患者さんの情報登録へのご協力、誠にありがとうございます。

本研究においては、ご協力いただいた登録用紙を患者さんご自身が、大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学講座にあります神経筋疾患患者情報登録システムの筋強直性ジストロフィー　担当事務局へお送りいただくことになっています。また今後、ウェブ上で入力できるようにもなる予定です。事務局では、患者さんの情報について確認したうえで、独立行政法人国立精神・神経医療研究センターの運営する神経筋疾患患者情報登録システム Remudy のデータベースに登録させていただきます。この過程で、患者さんの情報確認に際しまして不明な点がありました場合に、患者情報登録部門より先生に内容の確認のためのご連絡をさせていただきたく存じます。

神経筋疾患（筋強直性ジストロフィーなどの）患者情報登録システムの構築及び効率的な運用に関する研究にご賛同いただき、以下にご署名のうえ、ご協力いただきますようよろしくお願いいたします。

大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）　患者情報登録部門　筋強直性ジストロフィー担当事務局　高橋正紀（研究責任者）
国立精神・神経医療研究センター
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）　患者情報登録部門　　責任者　木村　円

---------- 担当の先生記入箇所（施設名、電話番号などは印鑑でもかまいません） ----------

わたし（医師）
（施設名）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（医師氏名）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿は、

（患者さん氏名）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿様の件につき、
神経・筋疾患患者情報登録センター　筋強直性ジストロフィー　担当事務局より問い合わせがありました場合には登録内容に関することについてのみ、お答えすることに協力いたします。

同意年月日　平成＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

---------- 患者さん記入箇所 ----------

わたし（本人）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿印（自署であれば印は不要）

本人が
- □ 知的障害等により同意能力がないと客観的に判断される場合
- □ 20歳未満の場合　（16歳から19歳の場合には本人も署名ください）
- □ 筆記が困難な場合

（保護者もしくは代筆者氏名）

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿印（続柄＿＿＿＿＿＿）

は、神経・筋疾患患者情報登録センター　筋強直性ジストロフィー　担当事務局より、私自身についての医学情報について問い合わせがありました場合には、上記医師が登録内容に関することについて、私の情報を説明することに同意いたします。

同意年月日　平成＿＿＿年＿＿＿月＿＿＿日

※ご登録の際には、このページ、「提出用」のみをご返送下さい。

注意事項　：　枠　内　→　患者さん　記入欄
その他　→　医師　記入欄

神経・筋疾患患者登録
Remudy

郵送同封書類チェックリスト

筋ジストロフィー患者登録システム（新規登録）をされる際、同封していただく書類は下記の通りになります。

- ☐ 筋強直性ジストロフィー患者登録用紙
- ☐ 筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの協力説明及び同意文書（医師用）
- ☐ 筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの参加同意書（患者様用）
- ☐ 遺伝子診断結果のコピー
- ☐ その他　※上記の書類以外に同封するものがございましたら、ご明記下さい。

［　　］

以上、各書類にご記入漏れ箇所はございませんか？　医師のご署名は入っておりますでしょうか？
未記入箇所が一つでもある場合は、こちらからお電話等にてご確認させていただいたり、書留にて再度郵送していただいたりする場合がございます。
また、上記の書類は本登録後、更新の際に必要となる場合がございますので、**必ずコピーをして、お手元に保存**していただくようお願いいたします。

こちらのチェックリストの☑欄にチェックを入れ、上記書類と一緒に同封し**必ず簡易書留**にて郵送してください。

患者さまのお名前　：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

ご郵送される日　：＿＿＿＿＿＿年＿＿＿＿＿＿月＿＿＿＿＿＿日

筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの登録に対する患者さんとご家族への説明書

1） 筋強直性ジストロフィー患者登録システムの目的について

近年、筋強直性ジストロフィーをはじめとする神経筋疾患に対する治療研究は、原因となる遺伝子の発見や機能解析に基づく病態解明がなされ進んでいます。これまで動物実験で効果が証明されてきた筋強直性ジストロフィーの治療が、近い将来には、患者さんに応用できるようになることが期待されています。

新しい治療法が医療現場で現実に提供できるようになるには、その治療法が本当に患者さんに有効で安全性に問題がないことを証明することが必要です。このように新しい治療法を患者さんに試すことを臨床試験といい、その中で新しいお薬や医療機器を国に承認してもらうことを目的としている臨床試験を治験とよびます。新しい治療法が早く臨床で使えるようにするためには、一定の数の患者さんにご協力をいただいて臨床試験・治験を円滑に実施することが必要です。高血圧や糖尿病など患者さんの数が多い疾患では、臨床研究や臨床試験・治験の参加者を集めることは比較的容易ですが、筋強直性ジストロフィーはそもそも日本にどのくらいの数の患者さんがいるのかわかっていないため、臨床試験・治験の実施にあたって困難が予想されます。患者数の確保ができないために、せっかく開発された有効な治療法がいつまでも臨床で使えない、もしくは日本国内で臨床試験・治験が行われないために諸外国ではじまる新しい治療を日本の患者さんが受けられない、となれば大きな問題です。

このような問題を克服するため、ヨーロッパを中心とした世界的な患者登録システムが構築されてきています。世界規模で患者さんの情報を登録し、患者さんの数や状態、対象となる患者さんを速やかに把握し、必要な患者数を確保することで、臨床試験・治験の計画および実施が円滑に進むことが期待されています。日本でもこのような情勢を踏まえ、神経筋疾患患者情報登録システムRemudyではデュシェンヌ型およびベッカー型筋ジストロフィーおよびGNEミオパチー（縁どり空胞を伴う遠位型ミオパチー）の登録を進め、臨床試験・治験の計画および実施を円滑に進めており、今回、筋強直性ジストロフィーの患者登録システムを構築することとしました。

この登録システムは、近い将来に実施が予想される筋強直性ジストロフィーへの新しい治療法の臨床試験・治験に際して、前もって倫理的にかつ個人情報に問題のない形で患者さんの情報を登録しておくことで、効率的に臨床試験・治験を実施できるようにすることが目的です。また、ご登録いただいた患者さんに臨床試験・治験の情報をお知らせすることで広く公平に臨床試験・治験に参加できる機会をご提供するものです。

なお、本登録システムへの登録をされたからといって、新しい治療法の臨床試験・治験に参加する義務を負うものではありません。また、登録しなくても、臨床試験・治験に参加できる場合があります。現時点では新たな治療法の臨床試験・治験に参加されるお考えはなくても、登録のみ行うことは可能です。実際に臨床試験・治験が行われる際には、別途説明を受けたうえで参加するかどうかをお考えいただくことになります。

2） 実施内容について

この登録システムでは、患者さんの現在の状況や、日常診療で行われている検査結果、遺伝子診断を受けて判明している異常について、患者情報登録部門に登録していただきます。患者さんの遺伝子異常がすでに確定していることが必要ですので、主治医の先生に必ずご確認ください。

3） 登録システムに登録できる患者さんについて

まず登録いただく前に、本登録システムの主旨と内容を十分にご理解ください。本登録システムへの参加は、強制ではありませんので、患者さん自らの自由意思に基づいて決定してください。ご参加されなくても、日常の診療において患者さんの不利益になることはございません。

登録していただける患者さんは、遺伝子異常が確認された筋強直性ジストロフィーの患者さんです。したがって、すでに遺伝子異常が確認されている患者さんの場合には、登録に必要な書類を手に入れていただいた上で、直ちにご登録いただくことができます。

しかしながら、現時点で遺伝子の異常が明確でない患者さんについては、まず主治医の先生にこの検査を行っていないかどうかをご確認ください。遺伝子異常が確認されていない患者さんの場合には、日本国内では保険診療で遺伝子検査が行えますが、遺伝カウンセリングなどの専門的な診療が必要となりますので、しかるべき専門施設や専門医を受診してご相談ください。

なお、ご登録頂いた情報に不備や確認の必要がある場合、患者さんや記入にご協力いただいた主治医の先生に患者情報登録部門から連絡を差し上げることがありますので、ご承知おきください。

ご不明な点に関しては、筋強直性ジストロフィー患者登録ウェブサイト（http://square.umin.ac.jp/channel/DM_registry.html）あるいは神経筋疾患患者情報登録システム Remudy（http://www.remudy.jp/）や国立精神・神経医療研究センター（http://www.ncnp.go.jp/index.html）のホームページ、もしくは下記の問合せ先にお問い合わせください。

4） 登録の方法について

この研究に参加を希望される患者さんは、まず登録に必要な書類を手に入れて下さい。これらの書類は、筋強直性ジストロフィー患者登録ウェブサイト（http://square.umin.ac.jp/channel/DM_registry.html）、神経筋疾患患者情報登録システム(Remudy)のホームページ（http://www.remudy.jp/）からダウンロードすることができます。（日本筋ジストロフィー協会（http://www.jmda.or.jp/）や国立精神・神経医療研究センター（http://www.ncnp.go.jp/index.html）のホームページにもリンクがあります。）また、下記の問合せ先にお問い合わせください。

登録いただく項目は、記入日、受診されている病院のカルテ番号、患者さんの氏名、生年月日、住所、電話番号、メールアドレス、診断名、現在の運動機能、車いす使用開始年齢、歩行可能かどうか、心電図所見、心臓合併症治療の内容、呼吸機能、人工呼吸器使用の有無、嚥下障害、白内障手術歴、臨床試験参加希望の有無、患者さん御本人の同意能力、体重、遺伝子診断の方法、遺伝子診断の結果、記入担当医師所属施設、記入担当医師などです。これらの情報を患者登録用紙に記入します。これらの情報は、いずれも通常の診療内容に準じた項目ですので、登録のために患者さんに特別な負担を強いるものではありません。

患者登録用紙を患者さんで分かる範囲で御記入頂いた上で、医師による診察を受けて必要項目をすべて記載します。この際に、遺伝子検査の結果は、その結果が記載されている原本のコピーも必ず手に入れ患者登録用紙と一緒に、下記の患者情報登録部門へ必ず書留で郵送してください。一部の登録情報はウェブサイトで入力することもできるようになる予定です。

なお、お送り頂いた登録情報に何らかの不明な点や不備があった場合には、患者さんご本人及び先生方に、ご確認をさせていただくことがございますのでご承知ください。

5） 登録参加に当たっての利益および危険性、不利益について

この登録システムでは、日常診療で一般的に行われている臨床検査の結果についてもご登録いただくため、それらの検査を受けていただく必要があります。また、遺伝子異常が確認されていない場合には、診断確定のための検査が必要になります。これらの検査は、筋強直性ジストロフィーの診断や日常診療で一般的に行われているもので、本登録システムに登録する目的のためだけに、特別な危険や不利益を与えるものではありません。

また登録されることにより、治験の情報などが得られる可能性があるというメリットはありますが、治験への参加が保障されているわけではありません。

ご登録いただく患者さんの情報は、遺伝子解析の結果を含む個人情報でありますので、厳重に管理いたします。患者さんの氏名などの個人情報は担当事務局（大阪大学）で符号をつけたうえで（連結可能匿名化）、インターネットに接続しないコンピューターで厳重に保管されます。患者さんの氏名などの個人情報を含まない臨床情報だけを、その符号と一緒に国立精神・神経医療研究センターの管理するサーバー（コンピューター）に登録します。登録情報が公開される場合には、いかなる場合であっても、それぞれの患者さんを特定できるような情報を公開することはありません。

また、登録を行わない場合にも、日常の診療において不利益になることは発生しません。

6） 登録にかかる費用について

本登録システムの運営にかかる資金は、厚生労働省などの公的研究費によって賄われるため、本登録システムへの登録に対する費用はかかりません。しかし、登録に必要な書類（無料）の入手、患者登録用紙に記入する際の医師への受診、登録用紙の郵送費用などは患者さんの負担となります。

7） 登録された情報の使われ方について

本登録システムの目的は、新たな治療法の開発のために、患者さんに対する有効性や安全性を検討するための臨床試験・治験を効率よく行うことを目的としています。登録された情報は、学術的な意義だけでなく、臨床試験・治験を計画して実行をしようとしている研究者の方々、薬の開発をしようとしている製薬企業の方々にとっても重要です。学術的な場（学会や研究班、論文など）以外での情報の公開に関しては、情報公開のための委員会をつくり、十分に議論された後に、そこで承認を受けた場合のみに情報が公開されることになります。

また、現在ヨーロッパを中心とした TREAT-NMD alliance（トリート・エヌエムディー アライアンス）が主導する世界的な患者登録システムがあります。神経筋疾患の多くは患者さんの数が非常に少ない疾患ですから、世界的な規模での協力が必要になります。日本の患者さんの情報についても、世界的な登録システムへ登録することを予定しています。

なお、いかなる場合であっても、それぞれの患者さんを特定できるような情報を公開することはありません。

8） 登録内容の報告について

ご希望いただければ、ご本人の登録内容をお知らせいたします。

9） 登録情報の保存及び廃棄について

登録いただいた情報の保存期間は、本研究計画終了後 5 年の 2023 年 12 月 31 日までを予定していますが、研究そのものを延長し継続保存する可能性があります。なお、一旦ご同意なさっ

ても、患者さんのご意思によりその同意はいつでも撤回でき、それ以降は研究には用いません。しかしながら、同意を取り消した時点ですでに公表論文となっている場合や、研究者や製薬企業などに情報が公開されている場合には、公開された情報から全ての情報を取り除くことはできない場合があります。

なお、患者さんの症状の変化を把握するため、ご登録いただいた患者さんは毎年臨床情報を更新していただくことが必要です。このために、患者登録部門より連絡を差し上げることがありますのでご了承ください。

10）実施結果の報告について

ご希望いただければ、ご本人の登録内容をお知らせいたします。

11）プライバシーの保護及び訂正について

登録情報が公開される場合には、いかなる場合であっても、それぞれの患者さんを特定できるような情報を公開することはありません。

登録情報の問い合わせや訂正については、以下にある問合せ先にご連絡ください。

12）実施協力に同意しないことによる不利益について

一旦ご同意なさっても、患者さんのご意思によりそのご同意はいつでも撤回できます。ご登録の撤回にあたっては、同意撤回書にご署名いただくことになります。

本登録へご希望されない場合、ならびにご登録を途中で撤回された場合、そのために患者さんの通常の日常診療に不利益が生じることはありません。

【 問合せ先 】

〒187-8551
東京都小平市小川東町４丁目１番１号
国立精神・神経医療研究センター TMC
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy（レムディー））患者情報登録部門
電話・FAX：０４２－３４６－２３０９ E-mail：remudy@ncnp.go.jp

〒565-0871
大阪府吹田市山田丘２－２ Ｄ－４
大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy（レムディー））患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー 担当事務局
電話：０６－６８７９－３５７３

※筋強直性ジストロフィーの登録窓口は、大阪大学になります。
郵送の際はご注意ください。

2014.02版

同意撤回書

大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）　患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー　担当事務局　高橋正紀　殿

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター
神経・筋疾患患者登録センター(Remudy)　患者情報登録部門
責任者　木村　円　殿

わたし＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿は、＿＿＿＿年＿＿＿＿月＿＿＿＿日、筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの登録について同意しましたが、その同意を撤回することにしました。

住　　所：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

電話番号：＿＿＿＿＿＿（＿＿＿＿＿＿）＿＿＿＿＿＿

署　　名　（本人）

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿印（以下、自署であれば印は不要）

本人が

□知的障害等により同意能力がないと客観的に判断される場合
□20 歳未満の場合　（16 歳から 19 歳の場合には本人も署名ください）
□筆記が困難な場合

（保護者もしくは代筆者氏名）

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿印（続柄＿＿＿＿＿＿）

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿年＿＿＿＿月＿＿＿＿日

＊　同意の撤回は原則として同意書に署名した人が行います。

【　送付先　】

〒565-0871
大阪府吹田市山田丘2－2　D-4
大阪大学大学院　医学系研究科　神経内科学
神経・筋疾患患者登録センター　（Remudy）　患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー　担当事務局
電話　　:06-6879-5111(代)

筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの登録に対する担当医師への説明書

1） 筋強直性ジストロフィー患者登録システム構築の目的

近年、筋強直性ジストロフィーに関する研究は非常に進んでおり、近い将来、新しい治療法が開発され、臨床試験・治験が始められようとしています。しかしながら筋強直性ジストロフィーは国内における患者数が未だに不明であり、また現状も把握できていません。筋強直性ジストロフィーの疫学調査を含む臨床研究を進め、臨床試験・治験を円滑に行うため対象となる患者さんの情報を集積し速やかにリクルートするシステムの構築が重要と考えられます。このような目的のため、ヨーロッパを中心として、現在世界的な患者登録システムが構築されつつあります。私たちは、本邦でも世界同時治験を含む臨床試験・治験を遅滞なく実施するために、患者登録システムの構築が必要と考えました。このようなシステムは、臨床試験・治験を円滑に進め、疫学的研究、治療法・治療薬の開発など様々な分野に貴重な情報をもたらし、疾病の研究や治療法の開発が促進される効果も期待されます。

2） 登録する情報の内容について

この登録システムでは、患者さんの連絡先や身体状況、日常診療で行われている検査結果、遺伝子診断結果について、大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学の患者情報登録部門　筋強直性ジストロフィー　担当事務局にお送りいただき、独立行政法人国立精神・神経医療研究センターの神経・筋疾患患者登録センターRemudy が管理運営するデータベースに登録いたします。登録する内容には遺伝情報など高度の個人情報が含まれますので、本登録システムでは情報の登録は患者さんが自身の自由意思に基づいて行うこととしました。ただし、登録内容には、検査データなど患者さんだけでは正確に記載することが困難な内容も含まれます。担当の先生には、ご面倒をおかけしますが、患者さまの正確な情報が登録されますよう、ご協力ご確認をお願いする次第です。

3） 本登録システムに登録できる患者さんについて

本登録システムに登録できるのは、遺伝子異常が確認された筋強直性ジストロフィー症の患者さんです。

すでに、遺伝子異常が確認されている患者さんの場合には、患者さんに登録に必要な書類を手に入れていただいた上で、先生には患者さんがお持ち頂いた登録用紙の必要事項をご記入いただくだけで構いません。ウェブ上で患者さまが入力した登録情報の確認、追記、修正もできます。また、その際には遺伝子検査結果のコピーが必要になりますので、患者さまがお持ちでない場合にはお渡しください。

現時点で遺伝子の異常が確認されていない患者さんについては、保険診療でサザンブロット法によるリピート異常伸長解析を御検討ください。患者さんへの対応が困難な場合は、しかるべき専門施設や専門医を受診してご相談いただくようにお伝えください。

4） 登録の方法について

この登録システムは、原則として患者さんご自身の手で、患者情報登録部門に登録に必要な書類一式をお送りいただくことで、行われます。近日中には一部の情報はウェブサイトで入力することもできます。したがって、先生方には、患者さんがお持ち頂いた患者登録用紙の記入に必要な情報の提供・記載内容の確認をお願いします。近い将来にはウェブ上でご確認いただくこともできるように準備を進めています。

登録いただく項目は、主に入力日、病院カルテ番号、患者さんの氏名、生年月日、住所、電話番号、メールアドレス、診断名、現在の運動機能、車いす使用開始年齢、歩行可能かどうか、心電図所見、心臓合併症治療の内容、呼吸機能、人工呼吸器使用の有無、嚥下障害、白内障手術歴、臨床試験参加希望の有無、患者さんご本人の同意能力、体重、遺伝子診断の方法、遺伝子診断の結果、記入担当医師所属施設、記入担当医師です。この際に、遺伝子検査の結果の確認のため、その結果が記載されている原本のコピーを患者さんにお渡しください。

なお、最終的にお送り頂いた、もしくはウェブで入力された登録情報に何らかの不明な点や不備があった場合には、患者さんご本人及び先生方にご確認をさせていただくことがございます。患者さんには、登録への同意書において、主治医の先生に直接問い合わせする場合があることのご同意をいただいています。このような問い合わせにご同意いただきましたら同

意書に御署名いただければ幸いです。

5) 登録実施に当たっての危険性、不利益について

本登録システムが必要とする情報は、正確な診断についての情報と筋強直性ジストロフィーの日常診療で実施されている一般的な臨床検査情報であり、このために特別な危険性や不利益を患者さんに生じさせることは無いと考えています。ご登録いただく患者さんの情報は、遺伝子解析の結果を含む個人情報でありますので、厳重に管理いたします。登録情報が公開される場合には、いかなる場合であっても、それぞれの患者さんを特定できるような情報を公開することはありません。担当医の皆様には、お忙しい日常診療の中で、本システム登録に必要な情報提供などお手数をおかけすることは大変心苦しいのですが、本登録システムの主旨と意義をご理解の上ご協力賜りますようお願いいたします。

6) 登録にかかる費用について

本登録システムの運営にかかる資金は、公的研究費によって賄われるため、本登録システムへの登録において患者さんに特別な費用はかかりません。なお、申し訳ありませんが、患者情報提供用紙記載のための情報提供に対する特別な費用請求はできませんので、通常の保険診療と同様に取り扱いいただきますようお願いします。遺伝子検索は保険診療で可能で、その結果説明の際に遺伝カウンセリング料が保険請求可能です。

7) 登録された情報の使われ方について

本登録システムの目的は、新たな治療法の開発にために、患者さんに対する有効性や安全性を検討するための臨床試験・治験を効率よく行うことを目的としています。登録された情報は学術的な意義だけでなく、臨床試験・治験を計画して実行をしようとしている研究者の方々、薬の開発をしようとしている製薬企業の方々にとっても重要です。学術的な場（学会や研究班、論文など）以外での情報の公開に関しては、情報公開のための委員会において、十分に議論された後に承認を受けた場合のみに情報が公開されることになります。

またヨーロッパを中心とした世界的な患者登録システム（TREAT-NMD グローバルレジストリー）があります。日本の患者さんの情報についても個人が特定されないように匿名化された上で世界的な登録システムへ登録されることがあります。なお、いかなる場合であっても、それぞれの患者さんを特定できるような情報を公開することはありません。

8) 協力に同意しないことについて

本研究へのご協力に関して、一旦ご同意なさっても、先生のご意思によりそのご同意はいつでも撤回いただけます。撤回にあたっては、同意撤回書にご署名いただくことになります。ご協力のご同意が得られない場合、ならびにご登録が途中で撤回された場合にも、患者さん・先生双方に不利益が生じることはありません。なお、先生から同意いただけない場合でも、患者さまから直接先生が問い合わせをお受けになるかもしれません。

【 問合せ先 】

〒187-8551 東京都小平市小川東町４丁目１番１号
国立精神・神経医療研究センター TMC
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）患者情報登録部門
電話・FAX：042-346-2309 E-mail：remudy@ncnp.go.jp

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘２－２ Ｄ－４
大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）（レムディー） 患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー 担当事務局 責任者 ： 高橋 正紀
電 話 ： 06-6879-5111（代）

※筋強直性ジストロフィーの登録窓口は、大阪大学になります。
送付の際は、十分にご注意ください。

同 意 撤 回 書

大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）　患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー　担当事務局　高橋　正紀　殿

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy）　患者情報登録部門
責任者　木村　円　殿

わたし＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿は、＿＿＿＿年＿＿＿＿月＿＿＿＿日、
筋強直性ジストロフィー患者登録システムへの登録において、患者さんの問い合わせに際してはご協力することについて同意しましたが、その同意を撤回することにしました。

住　　所：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

電話番号：＿＿＿＿＿＿（＿＿＿＿＿＿）＿＿＿＿＿＿

署　　名　（本人）

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿印（以下、自署であれば印は不要）

＿＿＿＿＿＿＿＿年＿＿＿＿月＿＿＿＿日

＊　同意の撤回は原則として同意書に署名した人が行います。

〒565-0871
大阪府吹田市山田丘２－２　Ｄ－４
大阪大学大学院　医学系研究科　神経内科学
神経・筋疾患患者登録センター（Remudy（レムディー））　患者情報登録部門
筋強直性ジストロフィー　担当事務局　責任者　：高橋　正紀
電話　：　06-6879-5111（代）

※筋強直性ジストロフィーの登録窓口は、大阪大学になります。
送付の際は、十分にご注意ください。

研究班 WS・班会議・研究会・市民公開講座コンテンツ

WS・班会議

2015 年 7 月 18 日　2015 年度ワークショップ（東京八重洲ホール)

　WS 班員会議議事録

　WS 抄録集

2016 年 1 月 8 日　合同班会議　(JA 共済ビル)

　合同班会議プログラム

2016 年 1 月 16 日　班会議（国立病院機構大牟田病院)

　班会議議事

　班会議議事録

　班会議個別研究抄録集

研究会

2016 年 1 月 9 日　筋ジストロフィーの CNS 障害研究会（東大弥生講堂)

　抄録集

市民公開講座ポスター・アンケート結果・記事

研究班主催

2015 年 5 月 24 日　じょいあす新潟会館

2015 年 7 月 19 日　国立病院機構本部大ホール

2015 年 10 月 4 日　札幌国際ビル国際ホール

2016 年 1 月 17 日　福岡県中小企業振興センター

2016 年 3 月 26 日　高知市文化プラザかるぽーと

他機関共済

2015 年 6 月 27 日　青森県筋ジストロフィー市民公開講座 in 青森市（青森県観光物産館アスパム)

2015 年 7 月 12 日　ミオパチーの会オリーブ難病医療講演会(広島市南区地域福祉センター)

2015 年 11 月 15 日　筋強直性ジストロフィー市民公開講座 2015@秋田(国立病院機構あきた病院)

国立研究開発法人日本医療研究開発機構
脳と心の研究課　障害対策総合研究開発事業
「筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究」
2015 年度ワークショップ　班員会議議事録

日時：2015 年 7 月 18 日
場所：東京八重洲ホール 701 号会議室

参加者

松村　剛(刀根山病院)、荒畑　創(大牟田病院)、石垣景子(東京女子医大)、井村　修(大阪大学)、岩橋博見(大阪大学)、奥村　謙(弘前大学)、久留　聡(鈴鹿病院)、諏訪園秀吾(沖縄病院)、瀬川和彦(国立精神・神経医療研究センター)、高田博仁(青森病院)、高橋俊明(仙台西多賀病院)、高橋正紀(大阪大学)、鈴木幹也(東埼玉病院)、伊藤英樹(滋賀医科大学)、和田千鶴(あきた病院)、木村　隆(旭川医療センター)、齊藤利雄(刀根山病院)、

１．事務連絡

(ア) 研究費配分について

原則として分担 40 万円、分担研究者・研究協力者複数の施設は 50 万円
研究協力者の旅費等は中央管理にて支弁します。
プロジェクトにおける検査費用(糖代謝 : センサー、GLP-1, GIP 測定)、先天性 DM 医療管理アンケート、呼吸・不整脈プロジェクトの班員外施設からの協力金 etc は中央にて支弁。研究上必要なコストについては中央に相談下さい。

(イ) スケジュールについて(資料別添)

委託契約手続きを 7 月に開始、8 月中旬頃各分担者への振り込み実施予定
中間検査が 10-11 月予定、2 月 20 日実績報告書仮締切り、3 月下旬成果物提出
3 月末研究費使用期限
各プロジェクト研究は主幹施設の倫理審査は終了しているため、研究の実施を進めていただくようお願いします。チーム以外の研究についても、可能なものについてはご協力をお願いします。
随時進捗状況確認、書類作成をお願いしますのでよろしくお願いします。

(ウ) 2014 年度業務成果報告書

報告書作成が遅れたため、印刷物作成が間に合わず。PDF にてお送りした物を本日の資料の中にハードコピーにて添付させていただきました。

２．プロジェクト研究進捗状況報告

(ア) 中枢神経グループ

たで 25-30 名を目標に幅広い内容で評価実施。この結果を踏まえて評価項目を絞った上で、来年度施設を拡大して n を増やす予定。その準備段階として、各施設のスタッフ(ST,臨床心理士 etc)や検査可能な検査項目等について調査実施予定。

(イ) 呼吸障害グループ

筋ジストロフィー入院患者データベースを基に登録患者の人工呼吸器の使用状況、経過、予後、死因の解析等を分析。鈴鹿、東埼玉、仙台西多賀、刀根山病院では倫理委員会承認受けており、研究開始予定。循環器グループの調査と患者が重なるため、他施設への協力依頼は合わせて行う方が良いと思う

→中央から班員外施設へ合わせて協力依頼を行う

(ウ) 循環器グループ

心電図の経時的分析を実施予定。主幹施設の滋賀医科大学で倫理審査承認を得た。現在ゲノム倫理指針に準拠するよう修正申請中。班員施設で倫理承認を得られ次第順次研究開始予定。

→班員外施設についての協力依頼は呼吸と合わせて中央から実施する

(エ) 代謝グループ

持続血糖測定器を用いた詳細な血糖変動、OGTT 時の血糖・インスリン・グルカゴン・GIP/GLP-1 測定を実施。適応患者では DPP-4 阻害薬の有効性の検討も実施。青森病院、大牟田病院、大阪大学、刀根山病院に加え旭川医療センター、兵庫中央病院が参加予定。参加希望施設があればご連絡下さい。

(オ) 先天性 DM 医療管理

先天性 DM の医療管理についてのアンケート調査を、全国の産婦人科・小児科施設に実施予定(5400 件程度)。二次調査については、協力施設で倫理審査が必要となる可能性があり、どのような形で実施すべきか検討中。

国立研究開発法人日本医療研究開発機構
脳と心の研究課
障害者対策総合研究開発事業

筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究

2015 年度ワークショップ

抄録集

日時：2015 年 7 月 18 日(土)　9:50-15:00
場所：東京八重洲ホール 701 会議室

プログラム

9:50-10:00　挨拶　　松村　剛

第一部 筋強直性ジストロフィーの心筋障害　　座長　瀬川　和彦

10:00-10:40 心疾患診療のオーバービュー

国立精神・神経医療研究センター病院循環器科　　瀬川　和彦

10:40-11:20　チャネル病としての心筋疾患

滋賀医科大学呼吸循環器内科　　伊藤　英樹

11:20-12:00　デバイスをいかに使うか

弘前大学大学院医学研究科不整脈先進治療学講座　　佐々木真吾

12:00-13:00　昼休み

班員・研究協力者のみ　事務連絡

第二部 筋強直性ジストロフィーの代謝障害　　座長　高田　博仁

13:00-13:40　糖尿病治療の原則と最近の薬剤選択について

大阪大学大学院医学系研究科糖尿病病態医療学寄附講座 岩橋　博見

13:40-14:20　筋強直性ジストロフィーにおける糖代謝異常

国立病院機構大牟田病院神経内科　　荒畑　創

14:20-15:00　日常診療で気をつけたいエピソード & 代謝障害プロジェクト

国立病院機構青森病院神経内科　　高田　博仁

心疾患診療のオーバービュー

国立精神・神経医療研究センター　循環器科　瀬川和彦

筋強直性ジストロフィーは骨格筋障害を主体とする多臓器に障害をもたらす常染色体優性遺伝の疾患である。心臓では、不整脈と心機能障害が問題となるが、早期には通常、無症状である。心疾患の重症度は、年齢、筋症状発症からの年数に相関するという。CTG リピート数と相関するとの報告がある一方、相関しないとの報告もあり、その理由として末梢血白血球の CTG リピート数が骨格筋や心筋のそれより少ない可能性が指摘されている(somatic mosaicism)。筋強直性ジストロフィー患者の平均生存期間は 53 歳と短く、死因の約 30%が心疾患である。最も一般的な心病変は不整脈である。刺激伝導系の障害と心房性不整脈（心房細動、心房粗動）が特徴的であり、突然死の予測因子である。His-Purkinje 系の障害が一般的であるが、洞結節、房室結節も障害される。以前は伝導障害による徐脈性不整脈が突然死の原因と考えられていたが、ペースメーカー植え込み後にも突然死がみられることから心室性頻脈性不整脈（心室頻拍、心室細動）も原因となることが明らかになった。また、障害された脚をリエントリー回路とする脚間リエントリー性心室頻拍が報告されている。睡眠時無呼吸症候群では、無呼吸による酸素飽和度低下が頻脈性不整脈と関連する。睡眠中に徐脈性不整脈がみられることがあり、Holter 心電図が診断に有用であるが、治療方針は確立されていない。左室機能障害は報告により頻度が異なるが、Bhakta らは左室肥大 19.8%、左室拡大 18.6%、左室収縮異常 14.0%と報告している。不整脈や心不全の治療は、一般的なガイドラインに従って行われる。しかし、無症状でペースメーカーや植え込み型除細動器の適応となる不整脈が認められない患者に対するリスク評価や予防的な治療については結論がでていない。12 誘導心電図、心エコー、Holter 心電図を定期的に行い、軽微な症状や所見にも注意を払うことが大切である。心電図の PR interval と QRS duration の延長はもっともよくみられる異常所見であり、加齢とともに進行する。突然死の予測因子として洞調律以外の調律、PR interval＞240ms、QRS duration＞120ms、2 または 3 度房室ブロックが示されている(Groh criteria)。植え込み型ループレコーダーは、無症状、症候性の不整脈の診断に有用である。筋強直性ジストロフィーの最も一般的な伝導障害はヒス束心電図の HV interval の延長であり、心臓電気生理学的検査が HV interval を正確に知る唯一の方法である。侵襲的検査であり、心電図異常や症状からデバイス適応を検討する目的で行われる。HV interval＞70ms、HV block ではペースメーカーが推奨される。心機能障害に対しては通常、ACE

阻害薬とβ遮断薬による治療が行われるが、筋強直性ジストロフィーに対するエビデンスはない。徐脈、血圧低下に注意し、症例ごとに治療法を選択すべきである。

参考文献

J.K. Lau, R.W.Sy, A.Corbett, L.Kritharides. Myotonic dystrophy and the heart: A systematic review of evaluation and management. Int, J. Cardiol. 184 (2015) 600-608

チャネル病としての心筋疾患

滋賀医科大学呼吸循環器内科　伊藤　英樹

心筋イオンチャネル病はQT延長症候群、ブルガダ症候群、カテコラミン感受性心室頻拍など若年突然死に関係するものから、心房細動などのcommon diseaseまで多彩な不整脈疾患を含む。原因となる遺伝子変異の同定法は連鎖解析法に始まり、現在では次世代シークエンサーの登場で多くのイオンチャネルが不整脈疾患に関与していることが明らかになってきている。筋強直性ジストロフィー症の心伝導障害は、イオンチャネルの遺伝子変異が直接の原因ではないが、延長したCTGリピートによって心筋イオンチャネルの発現パターンが変化することが言われており、二次性の心筋イオンチャネル病といえる。この機能変化を検討することで、新たな治療法の発見に結び付くことが期待される。

デバイスをいかに使うか

弘前大学大学院医学研究科不整脈先進治療学講座　佐々木真吾
弘前大学大学院医学研究科循環器腎臓内科学講座　奥村　謙

強直性ジストロフィー（Myotonic dystrophy:MD）は多臓器障害をきたす疾患であり、健常成人に比し死亡年齢が低く、突然死の多いことが知られている。MD のうち 19q21.3 染色体の CTG ヌクレオシドのリピート数の異常で規定される MD type1 (MD1) は心疾患合併率が高く、房室伝導障害や頻脈性不整脈による心臓突然死（sudden cardiac death;SCD）が一因とされている。SCD のリスク因子として心臓電気生理検査 (EPS) における HV 間隔の延長 (≥70ms) [1]、あるいは 12 誘導心電図でのリズム異常（非洞調律）、PR 間隔の延長 (≥240ms)、QRS 幅の延長（≥120ms)、II 度以上の房室ブロックなどが既に報告されている[2]。また最近これらのリスク因子を有し、一次予防として植込み型除細動器 (ICD) が植え込まれた MD 症例の約 33%で観察期間中（平均 22 か月間）に心室頻拍に対するショック作動が確認され、MD1 に対するデバイス治療の必要性が再認識される結果が示された [3]。一方、本邦における MD1 の心疾患合併率や SCD についての検討は未だ不十分であり、SCD 予防を目的とした EPS 実施時期や検査回数、検査内容についてはガイドラインにおいて明示されていない。また、デバイス選択基準も不明確であり、例え dual-chamber ICD を全例に適用したとしても、ICD 不適切作動という負の側面もある。本研究において MD1 の経時的心電図変化を解析し、遺伝子変異や合併症との関連性を検討することは、MD1 症例における SCD リスクの層別化、さらにはデバイスを用いた新たな治療戦略の確立に大きく貢献するものと思われる。

参考文献

1) Lazarus A, et al. J Am Coll Cardiol 2002; 40: 1645-1652.
2) Groh WJ, et al. N Engl J Med 2008; 358: 2688-2697.
3) Benhayon D, et al. J Cardiovasc Electrophysiol 2015; 26: 305-310.

糖尿病治療の原則と最近の薬剤選択について

大阪大学大学院医学系研究科　糖尿病病態医療学寄附講座　岩橋博見

ここ 20 年余りになされた多くの大規模臨床研究から、糖尿病治療の原則といったものが明らかになりつつある。

1 型糖尿病患者を対象にした DCCT では、インスリン強化療法によって HbA1c を 9%から 7%にまで下げると、網膜症の進行を 50%～70%抑制できることがわかり、細小血管障害の予防には血糖コントロールが重要であることが証明された。同様に、新規発症の 2 型糖尿病患者を対象にした UKPDS では、薬剤を用いて HbA1c を 8%から 7%にまで下げると、細小血管障害は有意に抑制された。しかし、糖尿病関連死や心血管疾患の発症については、低下傾向は認めるものの有意差はなかった。有意差がつかなかった理由の一つに、薬剤を用いると体重増加が助長されるという点があげられる。確かに、使用薬剤の中でもビグアナイド薬を使用した患者では、体重増加は比較的抑えられ、かつ心血管疾患の発症も有意に抑制されていた。体重増加をきたさないことが大切であること、また使用薬剤によって合併症予防の効果に違いのあることが示唆された。

一方、ACCORD 試験では、糖尿病の罹病期間が長く（10 年以上)、糖尿病以外にも動脈硬化のリスク因子をいくつか有する糖尿病患者（平均 HbA1c が 8%）に対し、薬剤をどんどん投与して HbA1c6%未満を目標に治療した強化治療群と、低血糖をおこしにくい範囲の HbA1c（7%前後）を治療目標にした通常治療群とで比較したところ、強化療法群の方で、かえって心血管疾患による死亡率が高くなった。このことは、罹病期間が比較的長く、血糖コントロールが困難な患者に対し、無理やり HbA1c を正常に近づけようとして治療を行うと、かえって危険であることを示唆している。なぜ強化治療群で心血管疾患による死亡が増加したのかは明らかでないが、体重や重症低血糖の増加が強化治療群では著しく、主に低血糖の増加が死亡率を上昇させた理由として推察されている。

他にも重要なエビデンスが蓄積され、現在の糖尿病治療の原則は、①早期介入の重要性、②HbA1c7.0%未満を目標とする、③低血糖回避の重要性、④体重、血圧、脂質を含めた統合的治療の必要性、以上のことに集約される。現在、経口血糖降下薬として使用可能なものは 7 種類あり、それぞれに特徴があるが、欧米人に比べてインスリン分泌能が低いとされている日本では、インスリン分泌促進薬に分類される DPP-4 阻害薬が、極めて多く使用されている。

その理由の一つに、本薬剤では体重増加や低血糖を引き起こしにくく、原則にそった治療を行いやすいという点があげられる。

今回、こうしたエビデンスに基づく糖尿病治療の原則と最近の薬剤選択の基準、そして中でもインクレチン関連薬である DPP-4 阻害薬の特徴について、詳しく紹介させていただきたいと思います。

筋強直性ジストロフィーにおける糖代謝異常

国立病院機構大牟田病院神経内科　荒畑　創

筋強直性ジストロフィー患者における糖代謝異常について、お話をさせていただきます。研究計画そのものの詳細は、次の高田先生の発表にて提示されますので、ここでは、実際にこの計画で使用されます、血糖持続測定（CGM）システムのデータをおみせしたいと考えております。

筋強直性ジストロフィーにおいては、先行研究で頻度に言及するものは多くないものの、高血糖および高インスリン血症の存在が示唆されており、臨床上、糖代謝異常を合併症として治療を考慮することが重要である。この糖代謝異常は、既にいわれているインスリン受容体のスプライシング異常のみで説明できるのか、また以前よりいわれている骨格筋の減少による糖代謝への影響があり得るのか、は不明である。しかしながらこれらを検討することは、治療法を選択、開始する上できわめて重要である。

また高田先生の報告では、上記に加えて更に空腹時低血糖の存在が報告されている。本研究では、各病院での倫理委員会の承認を経て、患者同意のもと、詳細な糖代謝の評価を行う予定である。

現在までに、当院での筋強直性ジストロフィー患者の評価は実施できていないものの、2 名の ALS 患者における、CGM を実施したために、このデータを提示いたします。2 名の ALS 患者は、全介助、気切、人工呼吸器 24 時間使用の患者であり、骨格筋が著しく減少している患者である。2 名は HbA1c がともに正常範囲内であった。しかしながら、1 名の血糖は 11 時より 17 時にかけて 300 以上の高血糖を示し、0 時より 5 時にかけての血糖は 140 以下であった。もう 1 名の血糖は 24 時間の間に 80-180 の間を推移していた。これらの結果のみで結論を出すことはできないものの、HbA1c のみでの耐糖能障害について評価ができうると今までの自分の認識を変えざるを得ないことと思われた。

日常診療で気をつけたいエピソード＆代謝障害プロジェクト

国立病院機構青森病院神経内科　髙田博仁

筋強直性ジストロフィー 1 型 （DM1）にみられる多彩な合併症の一つに糖代謝異常がある。DM1 の耐糖能障害は、インスリン感受性低下が主因とされているが、インスリン分泌の障害や筋萎縮、運動機能障害などが加わり複雑な病態を呈する。現状では、まだ、DM1 における血糖変動の詳細や耐糖能障害の自然経過も解明されておらず、DM1 の耐糖能障害に対する標準的治療法も確立していない。松村班代謝障害研究プロジェクトチームでは、DM1 における糖代謝異常に関する研究を実施し、DM1 の耐糖能障害に対する治療法を提唱することを最終的な目標にしている。本ワークショップでは、DM1 の糖代謝異常に関する様々な情報を提供したい。

本セッションでは、DM1 の糖代謝異常 follow up 中に、実際にベッドサイドで経験された、注意したいピットフォール的エピソードを紹介する。症例１；経過中に空腹時血糖低下がみられた例のその後。症例２；摂食量に変化がないのに血糖コントロールが悪化した例。症例３；日中の睡眠傾向や反応性の低下がみられた例。症例４；偽りの血糖コントロール改善がみられた例。症例５；急な意識レベルの低下がみられた例。

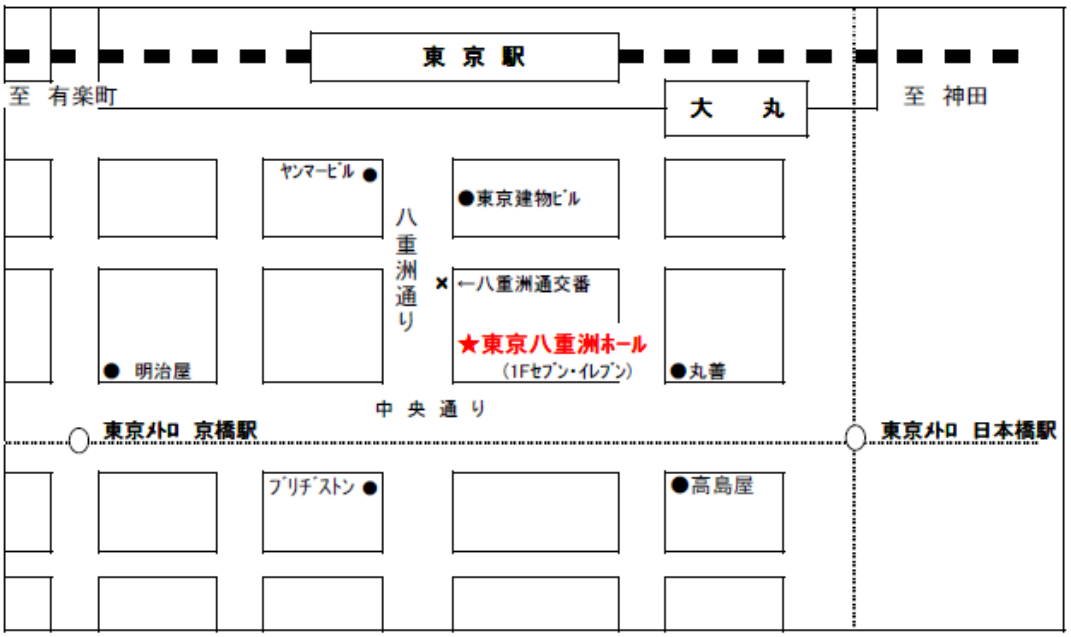
セッションの後半では、本プロジェクトチームが進めている研究プロジェクトに関して解説する。近年、一般糖尿病診療では、皮下の組織間質液中の糖濃度を 24 時間以上継続して測定することができる血糖持続測定（CGM）システムが開発され、通常の治療に利用されている。本プロジェクトでは、この CGM を用いて、DM1 における詳細な血糖変動を明らかにするとともに、DM1 に合併した糖尿病の治療に有用ではないかと推測されるインクレチン療法など新しい糖尿病治療の有効性を評価し、DM1 の耐糖能障害治療の提唱につなげたいと考えている。具体的には、同意の得られた DM1 例および筋委縮性神経筋疾患例を対象にして、72 時間の CGM 記録を実施、平均血糖・血糖の偏差・M 値・血糖振幅の平均・血糖変動幅総面積・低血糖割合・高血糖割合などの指標を算出、経口糖負荷試験における血清インクレチン値とともに解析するという「持続血糖測定器を用いた筋強直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の解析」、および、治療が必要であると考えられる糖尿病合併 DM1 例を対象として、DPP-4 阻害薬を導入、その前後で CGM 記録を実施、上記のような指標を解析し、DDP-4 阻害薬の有効性を検討するという「糖尿病を合併した筋強直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」の 2 つ

の臨床研究を計画している。現在、研究担当者の所属施設における倫理委委員会の審査を終了し、研究参加者の協力を得て、CGM 研究を開始するところである。

東京八重洲ホール案内図

【所 在 地】　東京都中央区日本橋3丁目4番13番
TEL 03－3201－3631

【J　　R】　東京駅八重洲中央口より徒歩約3分
【東京メトロ】　銀座線日本橋駅･京橋駅より徒歩約3分
東西線日本橋駅より徒歩約7分



東京駅寄りに「東京建物八重洲ホール」があります。名称が類似しておりますので、お間違えない様ご注意下さい。

東京駅からは、八重洲地下街をご利用になると便利です。

八重洲地下1番通りの
22番出口の右側階段を上がると
セブンイレブンが見えます。
そのビルが、
東京八重洲ホールです。

2014.04

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター

平成 27 年度精神・神経疾患研究開発費

筋ジストロフィー合同班会議

平成 28 年1月 8 日(金)

JA 共済ビル　カンファレンス・ホール(A-D)

〒102-0093　東京都千代田区平河町 2-7-9

TEL 03-3265-8716

http://www.jankb.co.jp/conference-access.htm

◇午前の部◇

■9:50　開会挨拶

西野　一三（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部）

■10:00 筋ジストロフィーモデル動物を用いた新たな治療法の開発

班長 武田 伸一
（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部）

1） ストレッチ感受性チャネル（TRPV2）を標的とした筋ジストロフィー・心筋症治療薬の開発
岩田 裕子 （国立循環器病研究センター 分子生理部）
2） エクソソーム分泌抑制による筋特異的マイクロ RNAs の筋再生効果と脳神経保護効果の検討
松坂 恭成 （国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 RI 管理室）
3） 患者由来 iPS 細胞を活用した筋ジストロフィーに対する新規治療薬開発
－細胞移植治療法開発の現状－
櫻井 英俊 （京都大学 iPS 細胞研究所）
4） 間葉系前駆細胞による骨格筋組織維持機構の解明
－サルコペニアの予防法開発を目指して－
上住 聡芳 （藤田保健衛生大学 総合医科学研究所 難病治療学）

■11:00 筋ジストロフィー関連疾患の基盤的診断・治療開発研究

班長 西野 一三
（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部）

1） 次世代シークエンサーを用いた肢帯型筋ジストロフィー関連疾患の分子病態解明と診断・治療法開発
西野 一三 （国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部）
2） 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの治療と分子病態
三橋 里美 （国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部）
3） 筋ジストロフィー関連疾患における TGF-β シグナルの解明と標的医薬の開発
大澤　裕 （川崎医科大学 神経内科学）
4） ドラッグリポジショニング戦略による筋強直性ジストロフィーモデルマウス治療
大野 欽司 （名古屋大学医学系研究科 神経遺伝情報学）

■12:00 合同幹事会 （JA 共済ビル カンファレンス・ホール （E） ）

◇午後の部◇

■13:00 国際協調に基づく臨床研究基盤としての神経筋疾患ナショナルレジストリーの活用と希少な難治性疾患への展開を目指した研究

班長 木村 円
（国立精神・神経医療研究センター トランスレーショナル・メディカルセンター（TMC））

1）「国際協調に基づく臨床研究基盤としての神経筋疾患ナショナルレジストリーの活用と希少な難治性疾患への展開を目指した研究」の概要
木村 円（国立精神・神経医療研究センター TMC 臨床研究支援部）

2） 神経筋疾患レジストリーシステムの活用や展開についての臨床医からの支援活動
－女性ジストロフィン異常症患者の健康管理と登録に関するアンケート調査－
小林 道雄（国立病院機構 あきた病院 神経内科）

3） IonPGM 次世代シークエンサーを用いた DMD 遺伝子解析
三橋 里美（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）

4） Remudy の今後の発展について、クリニカルイノベーションネットワークを見据えて
中村 治雅（国立精神・神経医療研究センター TMC 臨床研究支援部）

■13:40 筋ジストロフィーのエビデンス創出を目的とした臨床研究と体制整備

班長 小牧 宏文
（国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科）

1） 研究班の概要、アウトカムメジャー研究の重要性
小牧 宏文（国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科）

2） デュシェンヌ型筋ジストロフィーの臨床試験におけるアウトカムメジャー研究
竹下 絵里（国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科）

3） 福山型先天性筋ジストロフィーにおける臨床評価指標の開発
石垣 景子（東京女子医科大学 小児科）

■14:20 休 憩 コーヒーブレイク

■14:50 筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究

（厚生労働科学研究委託費 −障害者対策総合事業−）
研究代表者 松村 剛（国立病院機構刀根山病院 神経内科）

1） 2015 年度の活動報告
松村 剛（国立病院機構刀根山病院 神経内科）

2） 筋強直性ジストロフィー患者登録データの解析
高橋 正紀（大阪大学大学院 医学研究科 神経内科学）

3） INQoL、MDHI 日本語版作成について
藤野 陽生（大阪大学大学院 人間科学研究科）

4） 筋強直性ジストロフィー認知機能障害の特徴
諏訪園 秀吾（国立病院機構沖縄病院 神経内科）

■15:30 閉会挨拶

木村 円（国立精神・神経医療研究センター TMC 臨床研究支援部）

◇市民公開講座◇

■15:40 開会挨拶

小牧 宏文 （国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科）

■15:45 筋ジストロフィーを対象とする臨床試験の動向

青木 吉嗣 （国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部）

■16:25 BMD の遺伝型－表現型の関連性の検討と診療への応用・展開

中村 昭則 （信州大学医学部附属病院 難病診療センター）

■16:55 閉会挨拶

武田 伸一 （国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部）

2015 年度

筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班

班会議

2016 年 1 月 16 日(土)

国立病院機構大牟田病院

議事

１．中間評価報告

２．事務連絡

３．プロジェクト進捗のお願い

４．来年度の活動予定について

５．レビュー作成について

６．HP コンテンツについて

７．その他

１．中間評価会の報告

色んな課題に取り組んでいることは評価

3 年間でのゴールが不明瞭

患者登録からの二次的研究が無い(リサーチデータベース構築)

治験・臨床研究で使えるアウトカム指標の構築を目指した研究が必要では

介入試験を考慮してはどうか

２．事務的処理スケジュール(別紙)

会計処理

研究成果報告書

３．来年度予定(スケジュール相談)

①研究班行事

7 月 16 or 23 or 30 日(土)　WS (仙台西多賀病院)

テーマ：呼吸障害、中枢神経障害、先天性医療管理

DM の臨床評価法？

12 月 3, 10, 17 日(土)？　班会議(大阪)

12 月 4, 11, 18 日(日)？　筋ジストロフィーの CNS 障害研究会(大阪)

1 月 6 日(金)？？ 合同班会議(東京)

②市民公開講座

3 月 26 日(土)　高知(高知市文化プラザかるぽーと)(AM：一般向け、PM：医師向け)

5 月 22 日(日)　神戸(神経学会総会)(招待講師：芦澤哲夫先生)

6 月 11 日(土)　宮崎(ホテルマリックス)(JMDA 九州ブロック大会)(持ち時間 3hr)

7 月 17 or 24 or 31 日(日)　仙台(WS)

8 月？　　山口?

9 月？　　金沢?

10 月 1(土),2 日(日)　鳥取(JMDA 研修会)

10 月 16 日(日)　名古屋(筋ジス医療研究会)

1 月 7 日(土)？？　関東(横浜 or NHO 本部)(合同班会議)

③その他(未定)

4 月 23(土), 24 日(日) MDHI validation (講演会　大阪)

5 月 21(土), 22 日(日) 芦澤哲夫先生講演(医療者向け)

④関連学会・研究班

2 月 4 日(木) 厚労科研木村班班会議(NCNP)

3 月 14-18 日(月-金) Myology (リヨン)

4 月 3-7 日(日-木)　国際人類遺伝学会(京都国際会議場)

5 月 18-21 日(水-土) 日本神経学会(神戸国際会議場)

5 月 26-28 日(木-土)　AOMC(台湾新竹)(abstract 1/31)

5 月 28-31 日(土-火)　EAN(コペンハーゲン)(abstract 1/13)

6 月 1-3 日(水-金)　日本神経病理学会(弘前市　ホテルニューキャッスル)

6 月 3-5 日(金-土)　日本小児神経学会(京王プラザホテル)

6 月 9-11 日(木-土)　日本リハビリテーション医学会(京都国際会議場)

6 月 29 日-7 月 2 日(水-土) New Directions in Biology and Disease of Skeletal Muscle Conference (Orland Florida)

7 月 5-9 日(火-土)　ICNMD(トロント)(abstract 3/1)

7 月 22 or 29 日(金)？？木村班 WS

7 月 30 日(土)？？　MDCTN WS

8 月 5-6 日(金-土)　日本筋学会(NCNP)

10 月 4-8 日(火-土)　WMS(グラナダ)(abstract 4/4)

10 月 14-15 日(金-土) 筋ジストロフィー医療研究会(名古屋国際会議場)

10 月 27-29 日(木-土)　日本臨床神経生理学会(郡山　ホテルハマツ)

11 月 3-5 日(木-土)　日本神経治療学会(米子コンベンションセンター)

11 月 11-12 日(金-土)　国立病院総合医学会(沖縄コンベンションセンター)

11 月 18-19 日(金-土)　日本難病医療ネットワーク学会(ウィンク愛知)

11 月 24-25 日(木-金)　木村班班会議

11 月 25-26 日(金-土)　小牧班班会議

12 月 5-6 日(月-火)　西野班班会議

12 月 7-8 日(水-木)　武田班班会議

各グループでご相談の上できるだけ多くの機会で成果を発表いただく様お願いします(特に周辺領域学会)

４．プロジェクト進捗のお願い

来年度中のデータ解析・発表を念頭に進捗をお願いします

５．レビュー作成について

神経内科特集号 2016 年 9 月: Vol 85 (3)

特集／筋強直性ジストロフィーの標準的医療

1. 多臓器疾患としての筋強直性ジストロフィー　松村　剛
2. 筋強直性ジストロフィーの新規治療開発の動向と標準的医療の意義　高橋正紀
3. 筋強直性ジストロフィーの呼吸機能障害の医療管理　久留　聡
4. 筋強直性ジストロフィーの心筋障害の医療管理　田村拓久
5. 筋強直性ジストロフィーの代謝・内分泌障害の医療管理 高田博仁
6. 筋強直性ジストロフィーの消化管障害の医療管理　荒畑　創
7. 筋強直性ジストロフィーの中枢神経障害の医療管理　諏訪園秀吾
8. 筋強直性ジストロフィーの妊娠・周産期管理　七字美延
9. 先天性筋強直性ジストロフィーの医療管理　石垣景子

難病と在宅ケア 2016 年 12 月号
特集／転換期の筋強直性ジストロフィー医療
1. 筋強直性ジストロフィーとはどんな病気か　松村　剛
2. 筋強直性ジストロフィー呼吸障害の特徴と対策　高橋俊明
3. 筋強直性ジストロフィー心筋障害の特徴と対策　瀬川和彦
4. 筋強直性ジストロフィー食と代謝に関わる問題と対策　荒畑　創
5. 筋強直性ジストロフィー中枢神経障害の特徴と対策　和田千鶴
6. 筋強直性ジストロフィー治療開発の現状と患者登録　高橋正紀

６．HP コンテンツについて
①専門医療機関情報掲載について(ご相談)
　患者様からの要望として、専門医療機関がどこにあるか教えて欲しいとの要望は強い
　研究班として医療機関に優劣をつける形になるのは難しい
　現案 : 専門病棟を有する施設(八雲病院以外了承済み)＋MDCTN 加盟施設、コメントとして「掲載を希望する施設があればご連絡下さい」とする
②HP コンテンツ作成のお願い
　a. 医療者向けコンテンツが欠如
　　レビュー作成に合わせて医療者向けコンテンツの充実を
　b. コンテンツ充実に向けた協力のお願い
　　患者向け：合併症管理や日常生活に役立つ情報
　　医療者向け：まだほとんど無し
　　　レビュー作成等に合わせてコンテンツ作成・更新をお願いします

７．その他

①アウトカム指標構築に向けた取り組み

a. 国際標準的評価法(治験に採用される可能性大)：日本語版作成

INQoL(完成), MDHI(予定)

b. OMMYD-1 推奨項目検討・独自作成

c. 評価者研修

②登録患者データを元にした二次的研究の検討

③ガイドライン作成に向けたエビデンス構築・連携強化

④Drug repositioning 候補薬の扱いについて

⑤研究成果公表時のお願い

研究班名称

和文

筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究

英文

Research on establishing clinical platforms to facilitate clinical trials for myotonic dystrophy

グラント名

和文

2014 年度

厚生労働科学研究障害者対策総合研究事業神経･筋疾患分野(H26-神経･筋-一般-004)

2015 年度

国立研究開発法人日本医療研究開発機構障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野(15Adk0310043h0002)

2016 年度(予定)

国立研究開発法人日本医療研究開発機構難治性疾患実用化研究事業

英文

2014 年度

Research Grant for Comprehensive Research on Disability Health and Welfare from the Ministry of Health, Labour and Welfare (H26-shinkei･kin-ippan-004)

2015 年度

Health and Labour Sciences Research Grants for Comprehensive Research on Persons with Disabilities from Japan Agency for Medical Research and Development (15Adk0310043h0002)

2016 年度(予定)

Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases from Japan Agency for Medical Research and Development

国立研究開発法人日本医療研究開発機構
脳と心の研究課　障害対策総合研究開発事業
筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班
2015 年度班会議議事録

日時：2016 年 1 月 16 日(土)
場所：国立病院機構大牟田病院
出席者
荒畑　創（大牟田病院)、伊藤秀樹（滋賀医科大学：堀江代理)、木村　円（ＮＣＮＰ）
木村　隆（旭川医療センター)、久留　聡（鈴鹿病院)、小牧宏文（ＮＣＮＰ)、齊藤利雄（刀根山病院)、鈴木幹也（東埼玉病院)、諏訪園秀吾（沖縄病院)、瀬川和彦（ＮＣＮＰ)、髙田博仁（青森病院)、高橋俊明（仙台西多賀病院)、高橋正紀（大阪大学)、武田伸一（ＮＣＮＰ)、和田千鶴（あきた病院)、鴻山訓一（兵庫中央病院：二村代理）米本直伸（ＮＣＮＰ)、藤野陽生（大阪大学：井村代理)、新垣ほのか（大阪大学）矢澤健司（日本筋ジストロフィー協会)、妹尾みどり（日本筋ジストロフィー協会）松村剛（刀根山病院）

議事
１．中間評価報告
２．事務連絡
３．来年度予定
４．プロジェクト進捗のお願い
５．来年度の活動予定について
６．レビュー作成について
７．HP コンテンツについて
８．その他

議事録
1. 中間評価会の内容について松村より報告を行った
2. 事務処理スケジュール(会計処理、報告書作成 etc.)について事務局より説明を行ない、スケジュール通りの処理を依頼した。
3. 研究班行事、市民公開講座 etc.について、報告および協議。7 月 WS までの活動日程を確定。スケジュールの確保を依頼。
4. 心臓・呼吸プロジェクトについて、各施設からの協力を依頼。データ提供件数に応じて協力金を支払うことを説明。

5. 2016 年度に、雑誌「神経内科」に特集「筋強直性ジストロフィーの標準的医療」を、雑誌「難病と在宅ケア」に特集「転換期の筋強直性ジストロフィー医療」を掲載すること、各執筆者には期限通りの執筆を依頼。
6. ①研究班ホームページに対する要望として専門医療機関の掲載があること、専門医療機関の定義・基準が不明瞭なまま班のホームページに掲載することには問題が生じるおそれがあることから、協議。自施設掲載への反対意見は無かったものの、慎重な対応を求める意見があった。
   ②一般向けコンテンツが増えたものの、医療者向けのコンテンツが不足しており、レビュー作成に合わせて協力をお願いした。
7. その他
   患者登録数が増えてきており、登録データを基にした二次的研究を考えていく必要があることを説明。Drug repositioning 候補薬が出てきていることから、きちんとしたエビデンスを出すため、多施設共同研究・医師主導治験の形で実施して頂きたいことを説明。研究成果発表時の研究班名称の記載方法について年度毎に呈示した。

筋強直性ジストロフィー治験推進のための
臨床基盤整備の研究

2015 年度班会議議事録

参加者：

１．中間評価会の報告
いろいろな課題に取り組んでいることは評価できるが，3 年間でのゴールが不明瞭
患者登録からの二次的研究が無い(リサーチデータベース構築)
治験・臨床研究で使えるアウトカム指標の構築を目指した研究が必要ではないか
介入試験を考慮してはどうか

２．事務的処理スケジュール(別紙)
会計処理について
研究成果報告書について

３．来年度予定
①研究班行事
7 月 16 日(土)　WS (仙台西多賀病院)
　　テーマ：呼吸障害、中枢神経障害、先天性医療管理
12 月 3, 10, 17 日(土)？　班会議(大阪)
12 月 4, 11, 18 日(日)？　筋ジストロフィーの CNS 障害研究会(大阪)
1 月 6 日(金)？？ 合同班会議(東京)

②市民公開講座
3 月 26 日(土)　高知(高知市文化プラザかるぽーと)(AM：一般向け、PM：医師向け)
5 月 22 日(日)　神戸(神経学会総会)(招待講師：芦澤哲夫先生)
6 月 11 日(土)　宮崎(ホテルマリックス)(JMDA 九州ブロック大会)(持ち時間 3hr)
7 月 17 日(日)　　仙台(WS)
8 月？　　山口?
9 月？　　金沢?
10 月 1(土),2 日(日)　鳥取(JMDA 研修会)

10 月 16 日(日) 名古屋(筋ジス医療研究会)
1 月 7 日(土)？？　関東(横浜 or NHO 本部)(合同班会議)

③その他(未定)
4 月 23(土), 24 日(日) MDHI validation (講演会 大阪)
5 月 21(土), 22 日(日) 芦澤哲夫先生講演(医療者向け)

④関連学会・研究班
2 月 4 日(木) 厚労科研木村班班会議(NCNP)
3 月 14-18 日(月-金) Myology (リヨン)
4 月 3-7 日(日-木)　国際人類遺伝学会(京都国際会議場)
5 月 18-21 日(水-土) 日本神経学会(神戸国際会議場)
5 月 26-28 日(木-土)　AOMC(台湾新竹)(abstract 1/31)
5 月 28-31 日(土-火)　EAN(コペンハーゲン)(abstract 1/13)
6 月 1-3 日(水-金)　日本神経病理学会(弘前市　ホテルニューキャッスル)
6 月 3-5 日(金-土)　日本小児神経学会(京王プラザホテル)
6 月 9-11 日(木-土)　日本リハビリテーション医学会(京都国際会議場)
6 月 29 日-7 月 2 日(水-土) New Directions in Biology and Disease of Skeletal Muscle Conference (Orland Florida)
7 月 5-9 日(火-土)　ICNMD(トロント)(abstract 3/1)
7 月 22 or 29 日(金)？？木村班 WS
7 月 30 日(土)？？　MDCTN WS
8 月 5-6 日(金-土)　日本筋学会(NCNP)
10 月 4-8 日(火-土)　WMS(グラナダ)(abstract 4/4)
10 月 14-15 日(金-土) 筋ジストロフィー医療研究会(名古屋国際会議場)
10 月 27-29 日(木-土)　日本臨床神経生理学会(郡山　ホテルハマツ)
11 月 3-5 日(木-土)　日本神経治療学会(米子コンベンションセンター)
11 月 11-12 日(金-土)　国立病院総合医学会(沖縄コンベンションセンター)
11 月 18-19 日(金-土)　日本難病医療ネットワーク学会(ウィンク愛知)
11 月 24-25 日(木-金)　木村班班会議
11 月 25-26 日(金-土)　小牧班班会議
12 月 5-6 日(月-火)　西野班班会議
12 月 7-8 日(水-木)　武田班班会議
各グループでご相談の上できるだけ多くの機会で成果を発表いただく様お願いします(特に周辺領域学会)

４．プロジェクト進捗のお願い

来年度中のデータ解析・発表を念頭に進捗をお願いします

５．レビュー作成について

神経内科特集号 2016 年 9 月: Vol 85 (3)

特集／筋強直性ジストロフィーの標準的医療

1. 多臓器疾患としての筋強直性ジストロフィー　松村　剛
2. 筋強直性ジストロフィーの新規治療開発の動向と標準的医療の意義　高橋正紀
3. 筋強直性ジストロフィーの呼吸機能障害の医療管理　久留　聡
4. 筋強直性ジストロフィーの心筋障害の医療管理　田村拓久
5. 筋強直性ジストロフィーの代謝・内分泌障害の医療管理 高田博仁
6. 筋強直性ジストロフィーの消化管障害の医療管理　荒畑　創
7. 筋強直性ジストロフィーの中枢神経障害の医療管理　諏訪園秀吾
8. 筋強直性ジストロフィーの妊娠・周産期管理　七字美延
9. 先天性筋強直性ジストロフィーの医療管理　石垣景子

難病と在宅ケア 2016 年 12 月号

特集／転換期の筋強直性ジストロフィー医療

1. 筋強直性ジストロフィーとはどんな病気か　松村　剛
2. 筋強直性ジストロフィー呼吸障害の特徴と対策　高橋俊明
3. 筋強直性ジストロフィー心筋障害の特徴と対策　瀬川和彦
4. 筋強直性ジストロフィー食と代謝に関わる問題と対策　荒畑　創
5. 筋強直性ジストロフィー中枢神経障害の特徴と対策　和田千鶴
6. 筋強直性ジストロフィー治療開発の現状と患者登録　高橋正紀

６．HP コンテンツについて

①専門医療機関情報掲載について(ご相談)

患者様からの要望として、専門医療機関がどこにあるか教えて欲しいとの要望は強い

研究班として医療機関に優劣をつける形になるのは難しい

現案 : 専門病棟を有する施設(八雲病院以外了承済み)＋MDCTN 加盟施設、コメントとして「掲載を希望する施設があればご連絡下さい」とする

②HP コンテンツ作成のお願い

a. 医療者向けコンテンツが欠如

レビュー作成に合わせて医療者向けコンテンツの充実を

b. コンテンツ充実に向けた協力のお願い

患者向け：合併症管理や日常生活に役立つ情報

医療者向け：まだほとんど無し

レビュー作成等に合わせてコンテンツ作成・更新をお願いします

７．その他

①アウトカム指標構築に向けた取り組み

a. 国際標準的評価法(治験に採用される可能性大)：日本語版作成

INQoL(完成), MDHI(予定)

b. OMMYD-1 推奨項目検討・独自作成

c. 評価者研修

②登録患者データを元にした二次的研究の検討

③ガイドライン作成に向けたエビデンス構築・連携強化

④Drug repositioning 候補薬の扱いについて

⑤研究成果公表時のお願い

研究班名称

和文

筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究

英文

Research on establishing clinical platforms to facilitate clinical trials for myotonic dystrophy

グラント名

和文

2014 年度

厚生労働科学研究障害者対策総合研究事業神経･筋疾患分野(H26-神経･筋-一般-004)

2015 年度

国立研究開発法人日本医療研究開発機構障害者対策総合研究開発事業神経・筋疾患分野(15Adk0310043h0002)

2016 年度(予定)

国立研究開発法人日本医療研究開発機構難治性疾患実用化研究事業

英文

2014 年度

Research Grant for Comprehensive Research on Disability Health and Welfare from the Ministry of Health, Labour and Welfare (H26-shinkei･kin-ippan-004)

2015 年度

Health and Labour Sciences Research Grants for Comprehensive Research on

Persons with Disabilities from Japan Agency for Medical Research and Development
(15Adk0310043h0002)
2016 年度(予定)
Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases from Japan Agency for Medical Research and Development

国立研究開発法人日本医療研究開発機構
脳と心の研究課
障害者対策総合研究開発事業
神経・筋疾患分野
(15Adk0310043h0002)

筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究

2015 年度班会議

個別研究抄録集

日時：2016 年 1 月 16 日(土)　12:00-15:00
場所：国立病院機構大牟田病院

筋強直性ジストロフィー患者登録データの解析

高橋正紀
大阪大学大学院医学系研究科　神経内科学

希少疾患の臨床開発は希少性ゆえに様々な困難さがある。ジストロフィン異常症をはじめとする疾患で患者登録が開始され、治験・臨床研究の促進、ナショナルレジストリとして国際協調に基づく研究に貢献している。患者登録は、臨床開発における患者リクルートのみならず、疫学や自然歴を明らかにすること、医療状況を把握し標準的治療確立することにも寄与することが期待されている。筋強直性ジストロフィー（DM）は、筋強直・筋萎縮といった筋症状のほか、心臓伝導障害、耐糖能異常、白内障、高次機能障害など様々な症状を呈する全身疾患であり、複雑で多様な病態、様々な重症度などから、標準的治療が確立されていない。そこで、患者登録データを用い本症患者の現在の医療状況を把握し、標準的治療確立の基礎資料とすることを目指した。

2014 年 10 月から登録を開始し 1 年余が経過したが、約 400 名の登録患者がある。古典的 DM1 が 85%、先天性 DM15%である。平均年齢は 41 歳。独歩可能が約半数、装具歩行、歩行不能がそれぞれ約 1/4 である。

遺伝学的な面では、CTG リピート数と発症年齢には従来から指摘されているように、逆相関を認めた。検査施行機関による検査データの違いについて検討するため、大手検査会社二社の患者データについて、別々に CTG リピート数と発症年齢の関係を検討したが、有意な差異は認めなかった。

治療面では、登録患者のうち 28%が補助換気を用いていたが、ペースメーカー(PM)/埋込型除細動器(ICD)の装着は 1.5%のみであった。PM/ICD 非装着者のうち、25%は積極的検査・治療が推奨される PR＞240ms あるいは QRS＞120ms であった。糖尿病の治療薬剤としては DDP4 阻害薬やビグアナイドの使用が多かった。

患者登録データを用いて筋強直性ジストロフィー患者の遺伝学的現況、医療の状況の解析が可能だった。今後経時的なデータ蓄積により、自然歴の解明、標準的治療の確立に寄与することが期待される。

筋強直性ジストロフィーでは腎機能障害が多い

松村　剛、齊藤利雄、藤村晴俊、佐古田三郎
独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科

神経筋疾患では、筋萎縮により creatinine が低下するため腎機能障害が見過ごされやすい。このため、筋疾患の腎機能評価においては、骨格筋の影響を受けない cystatin C (CysC)等の指標を用いることが重要である。以前、われわれは Duchenne muscular dystrophy (DMD)進行例に CysC 高値例が多く、腎不全による死亡が増加していることを報告した。一方、福山型先天性ジストロフィーでは腎機能障害はまれとの報告もある。神経筋疾患における腎機能障害に疾患による違いが存在するか、腎機能に影響を及ぼす因子は何かを検索する目的で後方視的検討を行った。対象は当院を受診した神経筋疾患患者 584 名で、内訳は congenital muscular dystrophy (CMD) 31 名、DMD 156 名、その他 dystrophin 異常症(Dys) 114 名、myotonic dystrophy (DM) 139 名、その他 muscular dystrophy (MD) 84 名、motor neuron diseases (MND) 60 名。カルテから年齢、性、遺伝子解析データ、運動機能、血液・心エコーデータを収集した。CysC が高値を示したのは、CMD 0.0%、DMD 9.0%、Dys 10.5%、DM 26.6%、MD 8.3%、MND 25.0%だった。CysC は年齢と相関し、女性は男性より低値だった。年齢を補正すると DM は CMD と MD より高値を示し、DMD、Dys も高い傾向を示したが、男女別に検討すると、男性では有意差が消失し、女性では DM は CMD、MD、MND より高値だった。多変量線形回帰分析では、DMD は心筋トロポニンと左室短縮率が、Dys では心筋トロポニンと左室拡張期径が影響したのに対し、DM では CTG が影響していた。CysC は筋疾患でも一般と同様に年齢や性の影響を受け、DMD/Dys では心機能に加え性比の偏りが影響している一方、DM においては原疾患との関連が示唆された。剖検体を用いた検索では DM 患者では 40 歳代でも腎硬化性病変が強く認められた。疾患により腎機能障害のメカニズムが異なることが示唆された。詳細な病態解明には症例の蓄積と多角的な検討が必要である。

インターネット Q&A サイトへの質問内容からみた情報ニーズ分析

中嶋容子[1)]、松村　剛[1)]、大平香織[2)]、高田博仁[2)]、森田瑞樹[3)]
1）国立病院機構刀根山病院
2）国立病院機構青森病院
3）岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

希少疾病患者は、症状や環境の変化、日常生活について様々な不安を抱えるものの、身近に相談できる人が少なく、遺伝性疾患などの場合は他人に知られたくない思いから公に相談できないこともある。近年のインターネット普及は多様な情報へのアクセスを可能としたが、患者・家族が必要としている情報に適切にアクセスできているかは明らかでない。研究班ではホームページで信頼性の高いコンテンツ発信に努めているが、ウェブでアクセスする方のニーズに着いての情報は乏しい。発信チャネルによって求められる情報の内容には違いがあることが推測されるため、我々はインターネット上の Q&A サイトに書き込まれた質問に着目し、患者や患者家族がどのような環境で、どのような情報を求めているのかといった患者ニーズを明らかにすることを試みた。筋強直性ジストロフィーを対象とし、回答者が限定されていない Q&A サイト（発言小町，OKWave, Yahoo!知恵袋）と回答者が専門家に限定された Q&A サイト（JustAnswer, AskDoctors）に過去 5 年間で投稿された 35 の質問を検討した。主に質問が投稿されたサイトは Yahoo!知恵袋(17/35), AskDoctors (16/35), その他(2/35)であった。投稿するタイミングとしては病気の疑いが出たとき(16/35)、次にライフステージの転換期(6/35)が多かった。質問の種類としては病気の可能性・心配に関する質問が最多であり、家族歴のない相談者からの投稿も多くみられた。患者や患者家族から投稿される質問としては、出産や子供への遺伝の不安など遺伝に関する内容が多い傾向であった。また初期の治療に関する質問の投稿はみられたが、進行期の治療に関する質問はなかった。これは進行期には医療機関に定期的な受診をしておりインターネットから情報収集する必要性がない、といった環境の要因も考えられるが、筋強直性ジストロフィーの進行とともに出現する中枢神経症状を反映している可能性もあり、情報提供の手段に関しても病期に合わせて変化させていく必要があると思われた。解析結果に基づき、研究班ホームページに「妊娠・出産に関する注意事項」や「筋強直性ジストロフィーと診断された方へ」等のコンテンツを追加した。今後もアクセスデータの解析や市民公開講座のアンケート結果などを踏まえ、患者ニーズに対する適切な情報提供につなげていきたい。

南東北地方の筋強直性ジストロフィー患者のインターネット使用状況

髙橋俊明[1)]、相沢祐一[2)]、鈴木茉耶[2)]、佐藤詩織[2)]、尾方克久[3)]、谷口さやか[1)]、下瀬川康子[4)]、大泉英樹[1)]、田中洋康[1)]、吉岡 勝[1)]、今野秀彦[1)]、武田 篤[1)]、髙橋正紀[5)]

1）国立病院機構仙台西多賀病院神経内科
2）国立病院機構仙台西多賀病院医療福祉相談室
3）国立病院機構東埼玉病院神経内科
4）国立病院機構仙台西多賀病院脳神経外科
5）大阪大学大学院医学系研究科神経内科

【目的】神経筋疾患の治療法の研究が進み治験を行う動きも出てきている。IT化が進む中で患者登録を簡便に行たためインターネットの利用が想定される。そのため神経筋疾患患者の情報通信機器の使用状況を調べ今後の患者登録事業に役立てる事を目的とする。全国で共同研究を行い、はじめに当院の結果を分析した。

【対象及び方法】対象は国立病院機構仙台西多賀病院神経内科に通院している神経筋疾患患者とした。研究期間は平成26年1月～平成26年3月。外来診察時に主治医から研究目的の説明を行い、本研究に対して同意が得られた76人に対して面接によるｱﾝｹｰﾄ調査を実施した。

【結果】回収率100%（男50人・女性26人)。平均年齢46.5歳。パソコン及び携帯電話・スマートフォンの所有及び利用状況について自己・世帯で調査し下記の結果が得られた。

パソコン：自己所有率 56%、世帯 72%。自己でのインターネット情報検索は36%、世帯47%。自己でのﾒｰﾙ利用30%、世帯38%。未所持者が今後所持したいかは「わからない」「持ちたくない」61%。

携帯電話・スマートフォン：自己所有率70%、世帯84%。自己でのインターネット情報検索は34%、世帯39%。自己でのﾒｰﾙ利用51%、世帯60%。未所持者が今後所持したいかは「わからない」「持ちたくない」は73%。

【考察】疾患ごと検証を行うとパソコンの使用状況に顕著に差があった。筋強直性ジストロフィー(MyD)は情報通信機器の所有者は28人中17人。そのうちインターネット使用者は 6 人だった。一方でデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は 12 人中 9 人が情報通信機器を所有しインターネットも行っていた。DMD にとってパソコンは補装具としてのコミュニケーションツールであるため利用頻度が高いことは予想されたが、MyD患者はあまりインターネットを利用出来ていない実態が明らかとなった。

【結論】今後、患者登録を行うにあたっては疾患ごとの特性に応じた支援が重要

である。特に MyD の支援に際してはインターネット使用において家族をはじめ医療関係者・施設の職員の協力等が必要である。

筋強直性ジストロフィー患者への支援：外来通院患者のインタビュー調査から

大平香織[1)]、髙田博仁[2)]、福地　香[1)]、日照田綾子[1)]、松村　剛[3)]
1）国立病院機構青森病院　地域医療連携室
2）国立病院機構青森病院　神経内科
3）国立病院機構刀根山病院　神経内科

【背景】神経筋疾患患者登録（Remudy）の開始や筋ジストロフィーの指定難病選定など、筋強直性ジストロフィー（DM1）患者を取り巻く情勢の変化が著しい。「困り感」が乏しいとされる DM1 患者だが、様々な制度変遷下で、気がかりと考えていること、どのような支援を必要としているかを捉えることは、DM1 患者への支援に際しては重要と考えられる。
【対象】平成 26 年度以降当院で短期検査入院を受けた外来通院 DM1 患者 31 名。
【方法】ソーシャルワーカーが対象患者へ電話又は面接により、①気がかりなこと・相談したいこと等を自由回答式質問法によりインタビュー、②指定難病に DM1 が含まれたことと Remudy の認知に関する選択式回答法による質問を実施。
【結果】①61%が「特にない」と答えた。具体的な回答のあった 39%の内訳は「身体機能に関すること」30%、「症状に関すること」25%、「社会福祉制度に関すること」15%だった。「特にない」と答えた 61%にさらに回答を促したところ、その内の 74%が先の回答群と同様の内容を同様の順位で答えた。②指定難病の選定については 61%が知っており、Remudy については 16%が登録申請済み、42%が説明を受けたものの未登録、42%は聞いたことがないと回答した。
【考察】通院中の DM1 患者では「困り感」の乏しい例が多いことが確認された一方で、身体機能の低下や合併症に伴う症状への関心は高く、自身を取り巻く制度に対しても関心があることがわかった。指定難病については 61%が、Remudy については 58%が、情報を得ていた。しかし、情報のない患者は決して少なくなく、Remudy 未登録例からは、「具体的な申請方法がわからない」「手続きが大変」「再度説明して欲しい」等の声が聞かれ、情報が制度活用に結びついていない例も少なくないことが明らかになった。今後の課題として、患者の特性に合わせた相談（面接）技術により、表面化（表出）されにくい DM1 患者の「困り感」やニーズを引き出し、適切な支援に結びつけていくことが必要と考える。

筋強直性ジストロフィーにおける肝機能障害と糖脂質代謝異常に関する研究

髙田博仁[1)]、今　清覚[1)]、小山慶信[1)]、木村珠喜[1)]、長畑史子[2)]
1）国立病院機構青森病院　神経内科
2）国立病院機構青森病院　放射線科

【背景】筋強直性ジストロフィー type 1（DM1）では、糖代謝異常の合併がよく知られており、脂質代謝異常の存在も指摘されている。近年、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の合併例が報告された。先に我々は、DM1 における肝機能障害と糖代謝異常・内臓脂肪の蓄積・CTG リピート数（CTGn）に関連性があることを報告した。しかし DM1 の肝機能障害が非アルコール性脂肪肝（NAFLD）に準じて生じる変化なのか疾患特異的なものかは不明である。
【方法】対象は DM1 患者 80 例（女性 39 例・男性 41 例、年齢中央値 50 歳、CTGn 中央値 1000）。一般採血と CTGn 検査を施行。腹部 CT にて内臓脂肪面積（Vfat；100cm2 以上を過剰蓄積）と肝脾 CT 値比（LSR；1.0 未満を脂肪肝(FL)）を測定。これらの項目について、回帰分析を実施、耐糖能障害により分類した三群間（正常型・境界型・糖尿病型）および FL の有無・ALT 異常の有無で分類した二群間で比較検討した。
【結果】内臓脂肪過剰蓄積は 59%、FL は 15%に認められた。AST・ALT・γGTP の異常値は 36%・38%・80%に、HDL・LDL・TG の異常値は 21%・18%・41%に認められた。CTGn と Vfat の間には有意な正の相関が認められた。Vfat と LSR・LDL・TG の間、LSR と HbA1c の間にも有意な相関が認められた。Vfat は糖尿病型で境界型よりも有意に大きく、境界型で正常型よりも有意に大きかった。LSR は境界型並びに糖尿病型で正常型より有意に低かった。FL 合併群は非合併群に比して Vfat・AST・ALT が有意に高かったが、CTGn に各群間で有意差はみられなかった。ALT 異常群と正常群との間では、CTGn・Vfat に有意差は認められなかった。
【考察】DM1 における肝機能障害と糖代謝異常・内臓脂肪蓄積・CTGn の間には深い関連性があることが再確認された。一方、画像上 FL を呈する例は 15%程度であり、ALT と CTGn との間に有意な関連性は認められなかった。DMI の肝機能障害は疾患特異的なものではなく、糖脂質代謝異常が関与する NAFLD 発現進展の機序に準じて生じている可能性が示唆された。

松村班呼吸障害プロジェクト

久留　聡[1)]、高橋俊明[2)]、鈴木幹也[3)]
1）国立病院機構鈴鹿病院
2）国立病院機構仙台西多賀病院
3）国立病院機構東埼玉病院

本プロジェクト研究の目的はNHO筋ジストロフィーデータベース（斉藤DB）を用いて、筋ジス専門施設における筋強直性ジストロフィー（DM）の呼吸療法の現状を把握し、課題と問題点を明らかにすることである。昨年度は現在のデータベースにあるDM患者の情報を整理した。DMの総登録者は1150例であり、最終的に無治療594例、NIV274例、TIV282例であった。生存曲線を作成し解析すると平均死亡年齢は62.3歳であった。最終的な呼吸状態別死亡年齢はTIV（63.4歳）と無治療群（61.4歳）の間で有意差を認めた（$p < 0.05$）

今年度は追加調査を行って、より詳しい解析を行うことにした。追加項目は、身長、発症年齢、CTGリピート数、呼吸器導入理由、呼吸器導入時の肺機能、血液ガス、夜間パルスオキシメーターのデータ、自覚症状の有無、CPAPやミニトラックの使用状況、人工呼吸器使用状況（常時か間歇か）、ペースメーカー植込みの有無、他の合併症である。

（１）調査票回収状況

平成２８年１月時点で３施設より97例の調査票が得られた。うち３例は当初定めた対象外であったため除外した。

（２）症例内訳

94例中男性が63例、女性が31例、うち先天型は5例（男1、女4）であった。遺伝子診断確定例は67例であり、CTGリピ―ト数1000未満が17例（男12、女5、先天型1)、1000以上が50例（男31、女19、先天型3例）であった。

（３）結果

① 呼吸器使用状況

データベース登録期間中人工呼吸治療未施行が18例、施行が76例。施行例のうちNIVのみが35例、最初NIVで後にTIV移行が20例、TIVのみが21例であった。

② 呼吸器導入理由

NIVの開始理由は高度夜間低酸素が最も多く25、次いで高CO_2血症が7、以下難治性肺炎、去痰困難の順であった。TIVの理由は難治性肺炎が最も多く14、次いで高度夜間低酸素10、高CO_2血症8であったが、手術後抜

管困難、誤嚥・窒息、去痰困難、心肺停止後などの様々な理由が挙げられていた。

（4）今後の方針

さらに症例数を増やして詳しい解析を行う予定である。班員の皆様の御協力をよろしくお願い致します。

筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討

滋賀医科大学　呼吸循環器内科	伊藤英樹、藤居祐介、堀江　稔
国立精神神経医療研究センター	瀬川和彦、村田美穂、大矢 寧、森まどか
国立病院機構東埼玉病院	田村拓久
国立病院機構あきた病院	和田千鶴
国立病院機構鈴鹿病院	久留 聡
国立病院機構沖縄病院	諏訪園秀吾
国立病院機構青森病院	髙田博仁
弘前大学不整脈先進治療学講座	佐々木真吾
滋賀医科大学　アジア疫学センター	久松隆史
大阪大学神経内科	高橋正紀
国立病院機構刀根山病院	松村 剛

データ収集施設である滋賀医科大学で 2015 年 10 月 19 日に倫理委員会による承認を受けた(承認番号 27-58)。参加施設である 8 施設の各倫理委員会で承認を受けた後に、症例データを現在送っていただいている段階であるが、今後参加施設が増える予定である。

2015 年 12 月 24 日時点で 28 例の症例が収集されている（平均年齢 46 歳)。男性が 16 例で、CTG リピートは 170-2150 回である。補助換気を受けている症例が半数存在したが、BNP 値は 28±25pg/mL と心不全は軽度であった。平均追跡期間は 86±85 ヶ月で、5 例に不整脈デバイスが植え込まれた。死亡例は 5 例であるが（平均死亡年齢 61 歳)、全例不整脈デバイスによる治療をされておらず、また心臓死はいない。348 枚の心電図を収集したが（1 人平均 12 回）PDF 画像上で ECG を計測し、計測データが残ったままで保存している（現在計測中)。

現在までにフランスと米国から筋強直性ジストロフィー症の予後に関するコホート研究が報告されているが、今後データを集積して、日本人における心臓伝導障害と不整脈、心臓死との関係を多変量解析で明らかにする予定である。

Author	Groh WJ, et al	Wahbi K, et al	Our study	
Journal	N Engl J Med	JAMA		
Reported year	2008	2012	2015	
Country	The United States	France	Japan	
Subjects	406	486	28	
Mean follow-up period (months)	68	70	86	
Death (% of total death)	81	80	5	
sudden death	27(33%)	26(32%)	1(20%)	intraabdominal bleeding
respiratory failure	32(40%)	32(40%)	2(40%)	
heart failure etc.	5(6%)	3(4%)	0	
cancer	17(21%)	10(13%)	1(20%)	uterine cancer
others		9(11%)	1(20%)	pneumoniae

筋強直性ジストロフィー患者の認知機能と QoL の関連の探索的検討

藤野陽生[1)]、新垣ほのか[1)]、榎本聖香[1)]、長山卓弘[1)]、宮本真衣[1)]、齊藤利雄[2)]、藤村晴俊[2)]、高橋正紀[3)]、田路智子[4)]、加藤亜希子[4)]、松原梨絵子[4)]、和田千鶴[5)]、諏訪園秀吾[6)]、奥間めぐみ[6)]、上田幸彦[7)]、松村　剛[2)]、井村　修[1)]

1）大阪大学大学院人間科学研究科
2）国立病院機構刀根山病院神経内科
3）大阪大学大学院医学系研究科神経内科学
4）国立病院機構あきた病院リハビリテーション科
5）国立病院機構あきた病院神経内科
6）国立病院機構沖縄病院
7）沖縄国際大学

【背景】筋強直性ジストロフィー(DM1)は、日常生活動作の困難以外にも、眼、心臓、内分泌臓器、中枢神経系など多臓器を侵す全身疾患である。それゆえ、中枢神経系の機能変化が患者の社会生活にも影響を及ぼすことが考えられる。本研究は、DM1 患者の認知機能の特徴と彼らの Quality of Life(QoL)と関連する要因を探索することを目的として実施した。

【方法】研究参加者：DM1 患者 40 名(男性 24 名、女性 16 名)の協力を得て実施された。平均年齢は 46.9 歳(SD=12.1)で、外来(在宅)患者 8 名、短期入院患者 17 名、契約入院患者 15 名であった。

検査内容：認知機能検査として、MMSE, Trail Making Test part A, B (TMT-A, B), 語流暢性課題(VF), WAIS-III 下位検査(絵画完成、類似、積木、類似), Frontal Assessment Battery(FAB), ADAS の構成行為(図形模写), ウィスコンシンカード分類テスト, 標準注意検査(CAT), 標準高次視知覚検査改訂版(VPTA)を実施した。また、自記式の質問紙として Apathy Scale(アパシー), PHQ9(抑うつ), Epworth 眠気スケール(ESS), 疲労感尺度(MFI), 対人応答性尺度(SRS-2), MDQoL60, SF-36, INQoL を実施した。ただし、患者の病状、検査日程のために全ての検査が実施できていない場合もあった。本研究は、各施設における倫理委員会において承認を得て実施された。

【結果】認知機能検査では、多様な領域で、一般人口において期待される水準よりも低下していた。MDQoL60 の 11 の下位領域との関連を検討したところ、全ての下位領域で 1 つ以上の認知機能検査の結果と相関があった($p<0.05$)。心理的安定、環境、希望、人間関係の領域では、多様な認知機能との関連が見られた。

【考察】DM1 患者における認知機能と QoL には関連があることが見出された。認知機能の低下による影響が日常生活および社会生活上の困難に結びつき、QoL に影響している可能性が示唆された。QoL 向上につなげるためには、さら

に詳細な検討が必要と考えられる。

筋強直性ジストロフィー症タイプ１の比較的早期症例における認知機能の検討 –注意かワーキングメモリか

諏訪園秀吾[1)]、上田幸彦[2)]、前堂志乃[2)]
1）独立行政法人国立病院機構沖縄病院　脳・神経・筋疾患研究センター
2）沖縄国際大学

【はじめに】筋強直性ジストロフィー症(以下 DM1)においては様々な認知機能の特徴が報告されているが(文献 1, 2)、その変化をなるべく早期にとらえることは、受診コンプライアンス維持のために極めて重要である。しかしながら、既報では、注意機能に注目して検討した報告はごくわずかであり(文献 1, 3)、さらにワーキングメモリモデルで異常を十分に説明できるか、あるいは注意機能障害として説明したほうがよいかの検討はみられない。そこで本研究では、標準注意機能検査(以下 CAT)を施行した数例について、ワーキングメモリの負荷が比較的高い検査と実行機能に強く依存する検査とを追加し、比較検討した。
【方法】長谷川式簡易認知機能検査(以下 HDSR)、Frontal assessment battery(以下 FAB)、CAT、遂行機能障害症候群の行動評価(Behabioral Assessment of the Dysexecutive Syndrome; BADS)を既に施行してある症例のうち、比較的若年である DM1 患者 7 例(年齢平均 32.1 歳、標準偏差 9.0 歳、男性 6 名女性 1 名)。ワーキングメモリモデルのなかで visual sketch pad への負荷が強いと想定されるベントン視覚記銘力検査(以下 Benton)、phonological loop への負荷が強いと思われる聴覚性言語学習検査(auditory verbal learning test; AVLT)と、実行機能特に set shift を見ることのできる検査としてウィスコンシンカード分類課題(Wisconsin card sorting test; 以下 WCST)を追加して比較検討した。
【結果】HDSR は 38 歳の 1 例でのみ 24 点であったが他症例は 28 点以上であった。この症例群における CAT の成績は、例えば symbol digit modality test(以下「SDMT」)・position stroop の達成時間・visual cancellation(「３」及び「か」)の達成時間には全例低下があり、auditory detection の正答率および的中率・PASAT2 秒条件の正答率は 5 例で低下がみられた。Benton では 3 例で 6~7 点とボーダーラインと考えられたが、明らかな低下は MMSE も低下していた例に限られていた。AVLT は全例で極めて良い成績であった。
【考察】対象例は比較的若年で HDSR・MMSE の低下が疑われる例は 1 例しか含まれておらず、比較的早期軽症例と考えられた。この症例群で、CAT では視覚抹消, 聴覚検出, PASAT といった複数の項目に低下が見られ、ワーキングメモリ and/or 注意機能の低下が疑われた。しかし Benton や AVLT といったワーキングメモリへの負荷が高い項目では(Benton は一部ボーダーラインであるが)

顕著な低下はみられない。WCST も良好であり遂行機能障害として捉える(文献1)にも無理がある。従って、今回の対象例はワーキングメモリの障害として捉えるより注意機能低下として捉える方がよいと考えられた。単純に異常率から考えると CAT(特に PASAT や SDMT) > BADS > FAB > MMSE・HDSR といった順であり、DM1 の認知機能変化はこの順番で悪化していく可能性が示唆される。症例数を増やして種々の指標の相関の在り方に関する詳細な検討が必要であると考えられる。

【結論】DM1 の早期症例では、遂行機能障害ではなく注意障害が主である時期が存在する可能性がある。

【文献】

1) Peric S, et al. J Neurol 262(1);142-8, 2015
2) Modoni A, et al.　Arch Neurol. 61; 1943-, 2004
3) Sansone V, et al.　Neurol Sci 28:9, 2007.

筋強直性ジストロフィー症タイプ１の比較的早期症例における COGNISTAT による社会認知機能の評価

諏訪園秀吾[1)]、上田幸彦[2)]、前堂志乃[2)]
1）独立行政法人国立病院機構沖縄病院　脳・神経・筋疾患研究センター
2）沖縄国際大学

【はじめに】筋萎縮性側索硬化症を含む様々な神経変性疾患で社会認知(social cognition)の問題がクローズアップされてきている。前頭側頭葉変性症のみならず、遂行機能障害をきたすとの既報のある筋強直性ジストロフィー症タイプ１(以下 MD1)においても、社会的に適切な行動がとれるかどうかは、在宅スタッフとの良好な関係が維持できるかにおいて密接に関係し、大変重要な指標を与えることが期待される。しかしこのような評価はこれまでに報告がない。我々は若干例ではあるが社会的認知に関する検討を行った。

【方法】対象は CTG リピートの確認された 6 例の男性 MD1(年齢 17~51 歳)。学歴は高卒以上で就労しているもの 3 名、外来 4 名、入院 2 名で、入院している 2 名はともに気管切開し終日レスピレーター管理となっているが、会話が可能である。どの症例も中枢神経興奮薬や抗うつ薬・抗不安薬は用いていない。この症例に COGNISTAT のなかから「判断」の検査項目を施行した。この検査は口頭による質問を３つ行い回答を得ることになっている。ひとつ目の質問は「8 時に医者の予約があったのに、目が覚めた時間が 8 時１分前だった場合、あなたはどうなさいますか」というものである(以下、「受診遅刻」)。２つめの質問は「湖のそばを歩いているとき、2 歳ぐらいの子供が水際で 1 人で遊んでいるのを見かけた場合、あなたはどうなさいますか」というものである(以下「水辺の２歳児」)。３つ目の質問は「家に帰ったとき、水道管が破裂して台所が水浸しになっていた場合、あなたはどうなさいますか」というものである(以下「水道管破裂」)。いずれも模範解答としてはすぐその場で処置をしなければならないことを答え(例えば「水道管破裂」であれば「元栓を閉める」)、さらに再発予防としてどのような行動をとるかが答えられなければならない(例えば「水道管破裂」であれば「業者または大家など修理に責任を持つ人に連絡する」など)。それぞれの質問について両方が答えられて２点、片方のみでは１点、合計６点が満点とされ、3 点以上が正常とされている。

【結果】６点満点が取れた症例はなかった。１７歳症例が５点と最高得点であり、３点が２例あったが、半数となる３例が２点と異常値を示した。「水辺の２歳児」では「すぐに水辺から子供を離し、親を探す」という満点を取れた症例は皆無で、「そのままみる」と答えた症例もあった。「水道管破裂」においても正解は１例のみで、業者等に連絡する行動は答えられたり濡れないように貴重品や電子機

器を動かすなどの行動を答える症例はあっても、元栓を閉める行動が答えられたのは１例のみであった。本人の行動できる範囲に回答を制限している可能性を考え、「もしあなたが歩けて 20kg の荷物を持てるとしたらどうなさいますか？」という追加質問を行ったが回答は６例とも不変であった。

【考察】COGNISTAT の「判断」は口頭で提示された困難状況を的確に理解し、その状況を解決するための合理的な方法を考える課題であり、場面や状況の理解・分析力、社会的判断、一般常識、現実生活での問題解決能力を反映するとされている。社会認知を検討することにおいて、既報のある表情認知よりはるかに簡便で、問題解決の有りかたについて推測ができる。この機能に比較的早期症例の６例中３例で異常値を認めたことは、この疾患における認知的特徴の一つである可能性があり、社会生活を送る上での問題との関連が考えられる。今後、検討する症例数を増やし、他疾患との比較・リピート数との比較・生育歴を含めた環境要因の関与の検討が必要であろう。

【結論】COGNISTAT の「判断」は DM1 の一部にみられる社会認知に問題を抱える症例においても、評価に役立ち有用である可能性がある。この指標に異常がある症例では、日常生活の問題解決場面において客観的に見て誤りと思われるような行動を選択する可能性があり、治療方針決定を含めた判断の材料となる情報の提供方法に留意が必要である。

筋強直性ジストロフィー症タイプ１の比較的早期症例における認知機能とSPECTの検討

諏訪園秀吾[1)]□上田幸彦[2)]
1）独立行政法人国立病院機構沖縄病院　脳・神経・筋疾患研究センター
2）沖縄国際大学

【はじめに】筋強直性ジストロフィー症タイプ１（以下「DM1」）において「標準注意機能検査」を含むいくつかの神経心理検査で複数の異常項目が指摘されている。これらの異常が、大脳のどの部位での異常によるものに帰せられるものであるかどうかを、ECD を用いた SPECT 画像により検討した。
【方法】対象患者は 18 歳～４０歳の DM1 患者 9 名(男性 6 例)。SPECT 画像は 600Mbq の 99mTc-ECD(以下 ECD), 機種名 SYMBIA, matrix サイズ 128x128, 拡大率 1.45, エネルギーウィンドウ 140keV±10%(sub7%), ダイナミックストモグラフィー, 収集時間 15 分, 再構成処理;butterworth フィルタ order8, Ramp フィルタ使用, 減弱補正 Chang 法,μ 値 0.15, 産卵補正 TEW 法を用いて撮像された。標準脳に変換・投射することにより個人差を吸収して比較しやすくするように推定・計算された局所推定集積値(以下「推定値」)を、AQCEL(文献 1)ソフトを用いた 3DSRT(文献 2)、特に検討部位を増やした FineSRT を用いて求め、年齢群のほぼ等しい正常値(文献 3)と比較した。
【結果】FineSRT で評価した 104 部位のうち、14 部位では正常範囲とされる値より低い推定値がえられたが、むしろ大多数の 90 部位では患者群のほうが平均値は正常を上回っていた。低下の方向にあった部位としては、一次視覚野・一次聴覚野・黒質・視床下部・尾状核頭などがあった。増加の方向にあったもののうち、特に差が大きい部位とては、右中側頭回・両側下側頭回・右傍海馬回・左橋などであった。神経心理検査項目との相関を検討したが、MMSE のような比較的遅くに悪化することが想定される指標とは負の相関の方向にあり、PASAT のような比較的早期に悪化することが想定される項目とは正の相関にあった。
【考察】DM1 における SPECT の既報では、核種の記載のあるものでは本研究と同じ ECD が用いられており、低下という報告は複数あるが(文献 4-9)、増加という報告はない。これは本報告の対象症例が既報の中では最も若い平均年齢であることに起因する可能性がある。さらに、神経心理検査との相関検討(9 例というわずかな数ではあるが)から想像されることは、障害により既に機能低下している部位と、代償として機能亢進が起きている部位とが混在している可能性を考えなければ説明困難と考えられた。
【結論】DM1 では、比較的早期に ECD による FineSRT を用いて検討した局所推定集積値が、年齢正常値を上回っている時期が存在する可能性があり、機能低

下と代償による変化とを合わせた結果を観察している可能性が考えられた。これより、神経心理検査項目と同時に評価していくことで、ECD を用いた SPECT は経過観察・治療効果判定に役立つ指標である可能性が示唆された。

【文献】

1) 高木明浩ら　日本放射線技術学会雑誌 62(5)729, 2006
2) Takeuchi et al.　J Cereb Blood Flow Metab17;1020, 1997
3) 松田博史　画像診断 22;718, 2002
4) JNeurol 257; 1246 RomeoV, 2010
5) NeurolSci 31; 757 RomeoV, 2010
6) JNeurolSci280; 35 Takeda, 2009
7) Neuromuscul.Disord 13; 813, MeolaG, 2004
8) PsychiatrClinNeurosci53_51Mizukami, 1999
9) ArchNeurol50(9)917-23, ChangL, 1993

筋強直性ジストロフィータイプ 1 患者における認知機能障害と脳血流低下の分布に関する検討

和田千鶴[1)]、田路智子[2)]、加藤亜希子[2)]、松原梨絵子[2)]、武田房子[1)]、畠山知之[1)]、小原講二[1)]、阿部エリカ[1)]、小林道雄[1)]、豊島 至[1)]
1) 国立病院機構あきた病院神経内科
2) 同リハビリテーション科

【背景】筋強直性ジストロフィータイプ1(以下MD1)では、自閉症スペクトラム障害、知的機能低下、病識の乏しさなどに加え、注意障害、遂行機能障害、構成障害、視空間認知障害の報告が散見される。当院での予備的検討でも、一部のMD1患者において、FAB得点の低下と図形の模写課題での視覚構成障害を認めた。今回、MD1患者の認知機能障害のタイプと脳血流低下の分布の関連性について検討した。【対象･方法】遺伝子診断で確定したMD1患者16名(先天性，明らかな脳血管障害の既往のある患者は除外し検査可能な視力･聴力を有する患者。全員右利き)。1)全例に^{123}I-IMP-脳血流SPECTを施行した。2)FAB, 語想起課題(カテゴリー；動物，語；ふ･あ･に)；14名に施行。3)ADAS-jcogの構成行為課題(円・2つの重なった長方形・ひし形・立方体)，VPTA(図形の模写・錯綜図)；14名(視野異常や半側空間無視がない症例)に施行。4)^{123}I-IMP-脳血流SPECTで得られたデータから3D-SSP解析を行った。iSSP3.5 2tZを用いて画像を比較した。【結果】MD1 16名と正常コントロール群との2群間比較では、MD1群で前頭前野、前頭極、前部帯状回、上側頭葉周辺、側頭葉下面、一次視覚野、視覚連合野の血流低下を認めた。FAB低得点群は、正常コントロール群との比較では16名全例の所見と同様であったが、高得点群との解析では、左Broca野、右補足運動野、両側内側前頭前野(BA9の内側深部)、左一次視覚野に血流低下を認めた。語想起の低得点群は正常コントロール群と比べ、背外側前頭前野の上部、内側前頭前野の表層の血流低下が目立った。高得点群との比較では、背外側前頭前野(BA46､9)、内側前頭前野(BA9のより表層)の血流低下を認めた。視覚構成障害(+)群は正常コントロール群に比べ、前頭側頭葉の所見の他に一次視覚野･視覚連合野の血流低下を､視覚構成障害(-)群との比較では、より明確に一次視覚野､視覚連合野とくにBA39､一部37も含む中･下側頭回後部の血流低下を認めた。【考察】MD1患者のFAB, 語想起、視覚構成課題について脳血流低下部位との関連性が示唆された。視覚構成についてはBA39が立体視にも関係しており視覚の背腹側経路の障害の関与も示唆した。MD1の脳血流SPECTでは､外背側前頭前野､内側前頭前野､前頭極､ブローカ野､前部帯状回の血流低下が顕著であったが、一次聴覚野、一次視覚野・視覚連合野、一次味覚野にも血流低下を認めた。MD1患者の中枢神経症状と脳血流低下部位との関連性については、白質病変との関連も含め今後さらに検討が必要と思われた。

先天性筋強直性ジストロフィー全国調査

七字美延、石垣　景子
東京女子医科大学医学部小児科

＜背景＞先天性筋強直性筋ジストロフィー(Congenital myotonic dystrophy:CDM)は，全身性筋緊張低下，呼吸・哺乳障害等，成人とは異なる臨床的特徴を示し，最重症型である．父由来は非常に稀であり、95%の患児の母がDM 患者とされる．胎生期からの児自身の筋緊張の低下，筋力低下があり，かつ母体の罹患に伴う子宮機能低下に伴う分娩の遷延より，しばしばハイリスク分娩となる．また母自身が妊娠・出産を契機に自身の DM の診断に至ることも少なくない．児および母自身の診断の受け入れ，疾患に伴う育児困難等，複数の問題に直面するため，母に対しての医療，心理，社会的側面の多方面からの支援が必要であり，小児科医、内科医、産婦人科医などと連携することが非常に重要である．全国規模で先天性筋強直性ジストロフィーの発症頻度，患者数を調査するとともに，母体の周産期異常の有無，母子の診断時期，児の合併症など実態把握を行う．

＜対象と方法＞筋強直性ジストロフィーの出産，診断に立ち会うであろう，産科医師，新生児科医師，小児神経専門医を対象に一次，および二次調査を行う．産科依頼施設は分娩可能施設 2484 件，新生児科専門医 200 件，小児神経専門医約 1000 名を対象とした．分娩可能施設は把握している機関がないため，ネット上より個別に情報を集め，新生児科及び小児神経科専門医は，各学会に調査を依頼し審査を経た上で宛名シールを譲りうけた．一次調査は郵送で情報保護シールをつけた往復葉書により行う．依頼文の中に，Web アンケートによる二次調査を前提としていることを記載した．現時点で，産科依頼施設は、2484 件、新生児科およそ 200 件、小児神経科医約 1000 名の予定である．一次調査は東京女子医科大学倫理委員会の承認を得ている．

＜結果＞発送準備が整ったため，1 月下旬，発送とする．

筋強直性ジストロフィー情報集(DM-info)と最近の活動

貝谷久宣、矢澤健司、妹尾みどり、佐藤隆雄、竹田 保、田口智久，新宮武徳、小林喜三重、白木 洋
一般社団法人日本筋ジストロフィー協会

・はじめに：筋強直性ジストロフィー情報集(DM-info)について

筆者(妹尾みどり)の妹は筋強直性ジストロフィー(DM)患者である。2013 年 7 月、DM 治療法に関する報道を最後に、国内では DM 患者に向けた情報が極めて少ない状況にあった。何ら医療知識を持たない筆者がこの問題にどう対応したらいいか？そこで客観的で確度が高いと考えられる情報へのリンク集を提供しようと考え、2014 年 7 月に「筋強直性ジストロフィー情報集(DM-info)」を開始した。誰もが読めるリンク集として手軽に制作しやすい Facebook ページを使用し、内容紹介のための簡単なサマリーを付ける構造とした。

また、DM 患者はすなわち筋ジストロフィー患者・難病患者でもあるため、治療法以外の内容はあえて DM に限定しない方針とした。

・NPO 法人「筋強直性ジストロフィー患者会(DM-family)」設立に向けて

2015 年 1 月、妹と市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー」に出席した。「受診に来ない患者」の話が強く印象に残った妹は「受診に来ない患者に、患者登録の情報をどうやって知らせるのか」と疑問を持ち、2015 年 7 月、自らの意思で「患者目線の患者会」設立を思い立った。

NPO 法人「筋強直性ジストロフィー患者会(DM-family)」は、国際共同治験を視野に患者登録を推進し、病気の啓発や患者と家族の連携を目指す。こうした趣旨に賛同した患者と家族で、2016 年春の正式設立に向けて活動を開始した。

・日本筋ジストロフィー協会　筋強直性ジストロフィー(DM)分科会について

DM-family の NPO 法人設立申請後、日本筋ジストロフィー協会への挨拶の席で「協会内の DM 分科会」について打診があった。いずれの組織であっても患者と家族には情報と対話が必要であり、また筋ジストロフィー全般にかかわる課題が発生した場合、組織を超えた連携も必要となろう。そこで筆者は日本筋ジストロフィー協会に DM 分科会の立ち上げを申請した。DM-family 事務局長と DM 分科会代表を兼務し、両組織の友情と緩やかなつながりを育てていきたい。

・終わりに：

筆者は、1 病型の患者会と、神経筋疾患全般を包括する筋ジストロフィー協会とでは役割の違いがあると考えている。病気を持つ患者ならではの患者会と、大局観を持って運営する協会。欧米諸国で成功しているこの構造を日本でも実現すべく、患者の家族のひとりとして寄与できれば幸いである。

第２回
筋ジストロフィーの CNS 障害研究会

日時：2016 年 1 月 9 日 （土） 10:00～16:30

場所：東京大学弥生講堂

抄録集

共催
筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班
筋ジストロフィーのエビデンス創出を目的とした臨床研究と体制整備班

プログラム

敬称略

10:00～10:05 挨拶

＜Session 1＞　　座長　白石一浩

1-1. 10:05～10:20　性差が臨床症状に影響していると推測される福山型筋ジストロフィー2 家系

白石一浩[1],、石垣景子[2]

1）　国立病院機構宇多野病院小児科

2）　東京女子医科大学小児科

1-2. 10:20～10:35　長期入院している DMD 患者への心理療法の試み

山内貴恵、家田薫

国立病院機構長良医療センター

1-3. 10:35～10:50　デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者の母親の QoL 調査と神経心理学的検査の検討

小林道雄[1]、佐藤裕美[2]、加藤亜希子[2]、田路智子[2]、松原梨絵子[2]、畠山知之[1]、武田芳子[1]、小原講二[1]、阿部エリカ[1]、和田千鶴[1]、石原傳幸[1]、石崎雅俊[3]、足立克仁[4]、松村　剛[5]、木村　円[6]、豊島　至[1]

1）　国立病院機構あきた病院神経内科

2）　国立病院機構あきた病院リハビリテーション部

3）　国立病院機構熊本再春荘病院神経内科

4）　国立病院機構徳島病院・四国神経筋センター

5）　国立病院機構刀根山病院 神経内科

6）　国立精神・神経医療研究センター

＜Session 2＞　　座長　関口正幸

2-1. 10:50～11:05　重度精神運動発達遅滞を呈したジストロフィン遺伝子の一部を含む 3.36Mb の Xp21.1 微細欠失の 1 男児例

柴直子[1]、古庄知己[2]、涌井敬子[2]、中村昭則[3]

1）　信州大学小児医学教室

2）　信州大学医学部附属病院遺伝子診療部

3）　信州大学医学部附属病院難病診療センター

2-2. 11:05～11:20　Duchenne 型筋ジストロフィー死後脳の免疫組織化学的研究 : ブロードマン 35 野の検討

小田桐紗織[1]、齊藤祐子[2]、尾方克久[3]、松村　剛[4]、小牧宏文[5]、武田伸一[6]、和田圭司[1]、関口正幸[1]

1）　国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部

2）　国立精神・神経医療研究センター病院臨床検査部病理検査室

3)　国立病院機構東埼玉病院臨床研究部
4)　国立病院機構刀根山病院神経内科
5)　国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科
6)　国立精神・神経医療研究センター遺伝子疾患治療研究部

2-3. 11:20～11:35　Duchenne 型筋ジストロフィー患者における遂行機能の年齢による変化―Wisconsin Card Sorting Test 慶応 F-S version の視点から―
柴山直之[1)]、後藤清恵[1)]、芳賀まゆき[1)]、鈴木雄治[2)]、中島孝[3)]
1)　国立病院機構新潟病院心理療法室
2) 新潟大学脳研究所
3) 国立病院機構新潟病院　神経内科

＜特別講演 1＞　　座長　松村　剛

11:35～12:05　Dystrophinopathy の精神医学小論
貝谷久宣
日本筋ジストロフィー協会、医療法人和楽会パニック症研究センター

12:05～13:15　昼休み

＜Session 3＞　　座長　中山貴博

3-1. 13:15～13:30　筋強直性ジストロフィータイプ 1 患者における認知機能障害と脳血流低下の分布に関する検討
和田千鶴[1)]、田路智子[2)]、加藤亜希子[2)]、松原梨絵子[2)]、武田房子[1)]、畠山知之[1)]、小原講二[1)]、阿部エリカ[1)]、小林道雄[1)]、豊島　至[1)]
1)　国立病院機構あきた病院神経内科
2)　国立病院機構あきた病院リハビリテーション科

3-2. 13:30～13:45　筋強直性ジストロフィー症タイプ 1 の比較的若年 6 例における高次脳機能検査と脳血流 SPECT の関連
田代雄一[1,2)]、諏訪園秀吾[1)]、安藤匡宏[1,2)]、奥間めぐみ[1)]、上田幸彦[3)]
1)　独立行政法人国立病院機構沖縄病院神経内科
2)　鹿児島大学医学部神経内科
3)　沖縄国際大学

3-3. 13:45～14:00　筋強直性ジストロフィー患者における脳萎縮の定量的検討
中山貴博[1)]、久留　聡[2)]
1)　横浜労災病院神経内科
2)　国立病院機構鈴鹿病院臨床研究部

＜特別講演 2＞　　座長　諏訪園秀吾

14:00～14:30　筋強直性ジストロフィー1 型における中枢神経障害の MRS による検討
高堂裕平
放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター

14:30～15:00　休憩

＜特別講演 3＞　　座長　久留　聡

15:00～15:30　MRI を主とした脳内神経回路解析研究の現状

渡辺宏久

名古屋大学　脳とこころの研究センター

＜Session 4＞　　座長　井村　修

4-1. 15:30～15:45　筋強直性ジストロフィー患者における認知機能と QoL の関連の探索的検討

藤野陽生[1(]、新垣ほのか[1)]、榎本聖香[1)]、長山卓弘[1)]、宮本真衣[1)]、齊藤利雄[2)]、藤村晴俊[2)]、高橋正紀[3)]、田路智子[4)]、加藤亜希子[4)]、松原梨絵子[4)]、和田千鶴[5)]、諏訪園秀吾[6)]、奥間めぐみ[6)]、上田幸彦[7)]、松村　剛[2)]、井村　修[1)]

1) 大阪大学大学院人間科学研究科

2) 国立病院機構刀根山病院神経内科；

3) 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学；

4) 国立病院機構あきた病院リハビリテーション科

5) 国立病院機　構あきた病院神経内科

6) 国立病院機構沖縄病院；7沖縄国際大学

4-2. 15:45～16:00　FAB を用いた筋強直性ジストロフィーの認知機能評価

久留　聡[1)]、酒井素子[1)]、村松順子[2)]、村山晴香[2)]、蒔田千里[2)]、山内慎吾[2)]、小笠原昭彦[3)]、竹村真紀[4)]、小長谷正明[1)]

1) 国立病院機構鈴鹿病院神経内科

2) 国立病院機構鈴鹿病院療育指導室

3) 桑名発達臨床研究室

4) 国立病院機構豊橋医療センター

4-3. 16:00～16:15　筋強直性ジストロフィー患者における注意機能、視空間認知機能の特徴

上田幸彦[1)]、諏訪園秀吾[2)]、奥間めぐみ[2)]、松村　剛[3)]、齊藤利雄[3)]、藤村晴俊[3)]、井村　修[4)]、藤野陽生[4)]、新垣ほのか[4)]、榎本聖香[4)]、長山卓弘[4)]、宮本真衣[4)]、高橋正紀[5)]、田路智子[6)]、加藤亜希子[6)]、松原梨絵子[6)]、和田千鶴[7)]

1) 沖縄国際大学

2) 国立病院機構沖縄病院

3) 国立病院機構刀根山病院神経内科

4) 大阪大学大学院人間科学研究科

5) 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学

6) 国立病院機構あきた病院リハビリテーション科

7) 国立病院機構あきた病院神経内科

4-4. 16:15～16:30　筋強直性ジストロフィー症タイプ 1 の 5 症例における Benton と AVLT の検討－working memory か注意の問題か－

安藤匡宏[1,2]、◯諏訪園秀吾[1]、奥間めぐみ[1]、田代雄一[1,2]、前堂志乃[3]、上田幸彦[3]

1）国立病院機構沖縄病院神経内科

2）鹿児島大学医学部神経内科

3）沖縄国際大学

1-1. 性差が臨床症状に影響していると推測される福山型筋ジストロフィー2 家系

○白石一浩[1]，石垣景子[2]
1. 国立病院機構宇多野病院小児科
2. 東京女子医科大学小児科

＜はじめに＞福山型筋ジストロフィー（FCMD）は、糖鎖修飾酵素と推測されている fukutin をコードする遺伝子変異による先天性筋ジストロフィーで脳奇形を伴い、日本人に多い疾患である。創始者変異と言われる *FKTN* の 3'非翻訳領域における 3kb の挿入変異は，FCMD 患者の 87%にホモ接合体として認められ，FCMD ではこの創始者変異のホモ接合体，またはナンセンス変異やミスセンス変異，フレームシフト変異など他の変異と創始者変異の複合ヘテロ接合体により生じる。創始者変異のホモ接合体では，臨床型は典型または軽症となるが，創始者変異と点変異のヘテロ接合体により，重症型、軽症など非典型例を生じる。一方，同じ家系内でも同胞の重症度の程度が異なる家系が存在し、何らかの要因が fukutin 活性に影響し、同じ genotype であっても、臨床的に異なるのであろうと考えられている。 今回、その要因の一つとして、性差が関係しているのではないかと思われる家系を経験したので紹介する。

<家系1＞3kb の挿入変異のホモ接合家系

（第1子女児）：17 歳時死亡。熱性痙攣あり。 最大獲得運動能力はいざりばい、知的には 2 語文可能。 14 歳から鼻マスクによる呼吸器使用。 16 歳から経管栄養。 17 歳時の心機能は正常範囲。

（第 3 子男児）：現在 22 歳。熱性痙攣あり。 最大獲得運動能力は支え坐位、知的には数語の単語。15 歳時肺炎をきっかけに、気管切開、終日呼吸器管理、胃瘻造設。 17 歳時より、心機能低下みられ内服開始。

（第 5 子女児）：現在 16 歳。熱性痙攣あり。 最大獲得運動能力はいざりばい、知的には 2 語文可能。呼吸機能、心機能正常。

＜家系 2＞3kb 挿入と他の変異との複合ヘテロ接合家系

（第 1、2 子、一卵性双生児、女児）：現在 14 歳。熱性痙攣あり。 最大獲得運動能力は装具装着にて、歩行器で歩行。 知的には 3 語文可能。呼吸機能、心機能正常。

（第 3 子男児）：現在 9 歳。無熱性痙攣あり。最大獲得運動能力は支え坐位、知的には単語未。心機能正常。

＜考察＞いずれの家系でも、最大獲得運動能力、知的発達は女児の方がよく、男児が遅れていた。男女の違いが fukutin 活性に影響を与える可能性が示唆された。今後症例を集めて検討を続けたい。

1-2. 長期入院している DMD 患者への心理療法の試み

〇山内貴恵，家田　薫
国立病院機構長良医療センター

【はじめに】筋ジストロフィー患者は、病状の進行によりこれまで出来ていたことが出来なくなるなど様々な喪失体験が繰り返されていく。そのため不安や恐怖を抱えており、それらから怒りや悲しみなどさまざまな感情が表出される。また、長期入院している方が多く、体験や経験が少ないため、社会性が育みづらい。その結果、スタッフや他患者とトラブルになることもあり、心理ケアでの情緒的な関わりは重要になってくる。当院では 2013 年度より、臨床心理士が筋ジストロフィー患者への心理療法を行っている。今回は今年度の試みを報告する。

【実際】対象：当院入院中の DMD 患者

①A さん　31 歳(入院時 9 歳)　主訴：不安になることばかりを考えてしまうのを何とかしたい

②B さん　29 歳(入院時 12 歳)　主訴：怒ってしまうのを何とかしたい

面接の形態：1/W　30 分　心理面接

面接の場所：ベッドサイド

経過：①スタッフへの不満や抱えている不安の話をする。頑張りなど肯定的な評価をすることで、気持ちは安定してきているが、時折「僕はもうダメだ」などの発言が聞かれる。

②不安、イライラからスタッフに暴言を吐いてしまう事を繰り返していると話される。自分が暴言を吐いてしまうのは、何か精神的な病気があるのではないかと気にされている。

結果：主訴を解決することを意識して心理療法を実施していたが、1 つ解決しても次の不安や怒りが湧き出てきた。

【考察】不安や怒りが湧き出てくるのは、進行していく病状への不安を別の不安や怒りに置き換えて表現しているように考えられる。今抱えている不安や怒りを受容的に聴き、今できていることや頑張っていることを代弁し、支持する関わりは大切になってくるだろう。また、不安や怒りをなくすのではなく、不安や怒りを抱えながらどう生きていくかサポートしていくことが重要であると考える。

【課題】ベッドサイドでの面接のため、同室の患者やスタッフが気になり、話したいことを十分に話せていないように感じる。病棟内での面接室の確保が必要になってくる。

長期入院で、他者と接することがあまりないため、社会性を育む機会が少ない。コミュニケーションを円滑にとっていけるよう Social Skills Training(SST)の導入を検討していきたい。

QOL の質を高めることに関して患者とスタッフの思いは一致しているが、対応方法にはズレが生じているように感じる。カンファレンスに心理士が参加し、見立てをスタッフに伝え、よりよい援助のあり方について話し合っていきたい。

1-3. デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者の母親のQoL調査と神経心理学的検査の検討

○小林道雄[1], 佐藤裕美[2], 加藤亜希子[2], 田路智子[2], 松原梨絵子[2], 畠山知之[1], 武田芳子[1], 小原講二[1], 阿部エリカ[1], 和田千鶴[1], 石原傳幸[1], 石崎雅俊[3], 足立克仁[4], 松村　剛[5], 木村　円[6], 豊島　至[1]

1. 国立病院機構あきた病院神経内科
2. 国立病院機構あきた病院リハビリテーション部
3. 国立病院機構熊本再春荘病院神経内科
4. 国立病院機構徳島病院・四国神経筋センター
5. 国立病院機構刀根山病院 神経内科
6. 国立精神・神経医療研究センター

【目的】DMD 患者の母の QoL について調査し、これに影響する心理的な問題がないか検討する。

【対象】あきた病院および熊本再春荘病院で診療されている DMD 患者の母親 13 名。遺伝子診断で保因者と確定したものが 4 名，保因者ではなかったものが 2 名、遺伝子診断はしていないが高 CK 血症を認めたものが 4 名，遺伝子も CK も検査していないものが 3 名。

【方法】SF36 を用いて QoL を調査し、WAIS(Wechsler Adult Intelligence Scale)-III, SDS (self-rating depression scale), AQ (Autism-Spectrum Quotient)との関連を検討した。

【結果】13 名に施行した各検査の平均と標準偏差(SD)は、SF36(norm-based scoring)が身体的健康度 44.5±8.5，精神的健康度 49.4±10.4，役割/社会的健康度 53.1±7.8, SDS が 43.3±5.3, AQ が 20.9±5.4。健常者の平均+1SD を超えたものが SDS で 2 名, AQ では 4 名いたが、カットオフ値を超えるものはいなかった。WAIS-III は 9 名に施行し、IQ および群指数の平均と SD は VIQ 99±19, PIQ 94±19, FIQ 97±20，言語理解 102±18，知覚統合 92.1±21，作動記憶 95±15，処理速度 96±12 であった。FIQ で健常者の平均-1SD を超えて低かったものが 3 名いた。SF36 と他の検査の間に有意な相関をみとめなかった。

【考察】DMD 患者の母は、身体的健康度に関する QoL がやや低かったが、精神的健康度や役割/社会的健康度は比較的国民標準値に近かった。ただし、一部の DMD 患者の母は、心理的な問題を抱えている可能性がある。これらのことに留意して DMD 患者の母をサポートしていくことが大切と考えた。

2-1. 重度発達遅滞を呈したジストロフィン遺伝子の一部を含む 3.4Mb の Xp21.1 微細欠失の 1 男児例

○柴直子[1], 稲葉雄二[1], 涌井敬子[2], 古庄知己[2], 中村昭則[3]

1. 信州大学小児医学教室
2. 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部
3. 信州大学医学部附属病院難病診療センター

【はじめに】Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）は知的障害を高頻度で合併するが、軽度から境界領域であることが多い. 我々は、重度の精神運動発達遅滞を呈する DMD 男児例において CGH アレイで Xp21.1 の微細欠失を同定した. ジストロフィン遺伝子（*DMD*）に隣接する機能不明遺伝子の中枢神経の発達への関与が示唆されたため報告する.

【症例】2 歳男児. 周産期異常なし. 生後 8 か月時に未定頸を指摘され小児科を受診した. 発育障害なし. 固視追視は乏しく、四肢筋トーヌスの低下と後弓反張を認めた. 高 CK 血症、頭部 MRI では軽度の大脳萎縮を認め、*DMD* 遺伝子検査（MLPA 法）でプロモーター領域からエクソン 55 までの out of frame 型の欠失を検出し、CGH アレイにて *DMD* の 5’側に隣接する 3 つの機能不明遺伝子（*TMEM47*、*FAM47A*、*FAM47B*）を含む 3.4 Mb の微細欠失を同定した. 2 歳現在、寝返りは未、あやし笑いや喃語は乏しく DQ25（遠城寺式）である.

【考察】Xp21 隣接遺伝子症候群とは *DMD*、*GK*、*NR0B1* を含む領域の微細欠失により DMD、グリセロールキナーゼ欠損、先天性副腎低形成を呈するものと定義されており、欠失のサイズによっては慢性肉芽腫症や McLeod 症候群、OTC 欠損等も合併する. ほぼ全例で中等度以上の知的障害を認め、その原因として *DMD*、*OTC*、*GK*、*IL1RAPL1* などの知的障害関連遺伝子の欠失の影響が考えられている. 本症例は、*DMD* およびその隣接遺伝子を含む領域の微細欠失としては既報告例の中では欠失範囲が最も狭く、*DMD* 以外の既知の知的障害関連遺伝子は含まれなかったが、重度知的障害は DMD としては非典型的であった. 欠失領域に含まれる *TMEM47* は胎生期から中枢神経で発現することが確認されており、知的障害への関与が疑われた.

2-2. Duchenne 型筋ジストロフィー死後脳の免疫組織化学的研究 : ブロードマン 35 野の検討

○小田桐紗織 [1]，齊藤祐子 [2]，尾方克久 [3]，松村　剛 [4]，小牧宏文 [5]，武田伸一 [6]、和田圭司 [1]，関口正幸 [1]

1. 国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部
2. 国立精神・神経医療研究センター病院臨床検査部病理検査室
3. 国立病院機構東埼玉病院臨床研究部
4. 国立病院機構刀根山病院神経内科
5. 国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科
6. 国立精神・神経医療研究センター遺伝子疾患治療研究部

全長ジストロフィン（Dp427）とそのイソフォームである Dp140 や Dp71 は中枢にも発現しており、Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）では精神遅滞、自閉症、うつ等の中枢症状の併発が報告されているが、そのメカニズムは未だよくわかっていない。

DMD 患者では新規環境への適応不良が報告されている。新規物体・環境の認知に関与する脳部位については、既に神経科学的にリッチな研究があり、特に Perirhinal cortex の重要性に関しては意見が一致している。そこで、DMD 患者死後脳のブロードマン 35 野（BA35、Perirhinal cortex を構成する領域）を GABA 作動性ニューロンのマーカーで染色した。その結果、皮質第 3 層において、GABA 作動性ニューロンマーカーcalbindin-D28K（カルシウム結合タンパク）陽性細胞の有意な増加が認められた。

我々はまた異なる 2 タイプの DMD モデルマウス（mdx、mdx52）においても、同様の染色性の特徴と新規環境への応答の変容、不安様行動が見られることを確認した。さらに同モデルマウスを用いた免疫組織化学的検討により、perirhinal cortex における染色性の異常は parvalbumin や calretinin といった他のカルシウム結合タンパクに対する抗体では見られないこと、また perirhinal cortex と隣接する ectorhinal cortex や遠位に位置する primary visual cortex では calbindin-D28K 陽性細胞数の変化は認められないことを確認した。

本研究結果は、DMD 患者死後脳切片から初めて得られた病理学的所見と思われる。

2-3. Duchenne 型筋ジストロフィー患者における遂行機能の年齢による変化
—Wisconsin Card Sorting Test 慶応 F-S version の視点から—

○柴山直之[1]，後藤清恵[1]，芳賀まゆき[1]，鈴木雄治[2]，中島　孝[3]
1. 国立病院機構新潟病院　心理療法室
2. 新潟大学脳研究所
3. 国立病院機構新潟病院　神経内科

【はじめに】

Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)患者の遂行機能に関して，柴山ら(2010)は，DMD 患者に Wisconsin Card Sorting Test 慶応 F-S version(KWCST)を実施したところ，遂行機能に低下がみられ，さらに高年齢群が低年齢群よりも遂行機能低下が顕著であった。しかし、横断的研究では被検者の等質性を保つことが困難であったため、今回、縦断的研究を行うこととした。

【目的】

本研究では，KWCST を約 3 年の期間をおいて 2 回実施し，年齢による遂行機能の変化を検討する。また，年齢以外の遂行機能への影響を探るため，入院期間・外出頻度と遂行機能の関連を検討する。

【方法】

対象：DMD と診断され，知的能力障害のない男性 14 名(18～38 歳, 25.8±7.8 歳)。

検査法：KWCST を実施　1 回目　2009 年 10 月～2010 年 1 月，

2 回目　2012 年　8 月～2013 年 3 月

【結果】

KWCST における Category achievement(CA)は1回目より 2 回目が有意に低値であった(p＜.05)。入院期間・外出頻度と CA に相関はみられなかった。

【考察】

KWCST における CA は 2 回目の方が低値であることから，DMD 患者の遂行機能は，年齢により低下することが示唆された。これは横断的な手法により，DMD の年齢による遂行機能低下を示した柴山ら(2010)の結果を支持する。また，DMD 患者は高齢なほど入院期間が長い傾向にあるが，入院期間は遂行機能とは関連はみられなかった。入院患者にとって家族交流の機会の1つである外出頻度も遂行機能と関連はみられなかった。

今後，DMD 患者の遂行機能低下を精査するために，より長期間の調査が必要である。

【参考文献】

柴山直之　藤田基　鈴木雄治　清水満美　2010　Duchenne 型筋ジストロフィーにおける高次脳機能障害の解析　第 34 回神経心理学会学術集会抄録集

特別講演 1.　Dystrophinopathy の精神医学小論

〇貝谷久宣
日本筋ジストロフィー協会
医療法人和楽会パニック症研究センター

1986 年に Kunkel らにより DMD 遺伝子が同定され、その翌年に Hoffman, Kunkel らの dystrophin が細胞レベル化で分取され、遺伝子同定 2 年後には筋肉以外の身体各部位にも dystrophin が見つけられた。3 年後には dystrophin　遺伝子の転写破片が人体の 13 か所で見つかった（Chelly ら、1988）。その翌年には Miike ら(1989)は dystrophin が脳内のシナプスに存在することを免疫組織化学で証明した。このように dystrophin が脳機能に関与する可能性が示唆される以前に、臨床では既に、DMD における言語性知能指数の低下が報告されている（Leibowitz と Dubowitz、1981）。また、岡山大学精神科から 11 歳 2 か月の DMD 男児の自閉症についての症例報告がなされている（Komoto ら、1984）。

本報告では DMD にみられる、認知機能障害、発達障害、不安・抑うつ障害、および精神病性障害について最近の知見をまとめて述べる予定である。

3-1. 筋強直性ジストロフィータイプ 1 患者における認知機能障害と脳血流低下の分布に関する検討

和田千鶴[1]，〇田路智子[2]，加藤亜希子[2]，松原梨絵子[2]，武田芳子[1]，畠山知之[1]，
小原講二[1]，阿部エリカ[1]，小林道雄[1]，豊島　至[1]
1. 国立病院機構あきた病院神経内科
2. 国立病院機構あきた病院リハビリテーション科

【背景】筋強直性ジストロフィータイプ1（以下MD1）では、自閉症スペクトラム障害、知的機能低下、病識の乏しさなどに加え、注意障害、遂行機能障害、構成障害、視空間認知障害の報告が散見される。当院での予備的検討でも、一部のMD1患者において、FAB得点の低下と図形の模写課題での視覚構成障害を認めた。同時期に行った脳血流SPECTでは、前頭側頭葉の血流低下と一次視覚野、視覚連合野から頭頂葉にかけての血流低下を認めた。今回、MD1患者の認知機能障害のタイプと脳血流低下の分布の関連性について検討した。

【方法】対象は当院の遺伝子診断で確定したMD1患者（先天性、明らかな脳血管障害の既往のある患者は除外し、検査可能な視力・聴力を有する患者を対象とした)。１）前頭葉機能障害の評価としてMD1患者11名に対し、FAB、語想起（カテゴリー；動物、語；ふ・あ・に）を行なった。語想起を点数化しFAB得点との合計点を求めた。２）視覚構成障害の評価として、MD1患者14名にADAS-jcogの構成行為課題とVPTAを行い視覚構成障害の有無を判定した。３）対象者全例に^{123}I-IMP-脳血流SPECTを施行し、得られたデータから3D-SSP解析を行った。また、iSSP 2tZにて上記１） ２）の2群間比較を行った。

【結果】１）11 名に行った FAB と語想起の総点で 2 群に分け iSSP 2tZ にて群間比較した結果、低得点群で前頭前野の血流低下を認めた。２）視覚構成障害の評価を行った 14 名中、9 名で明らかな構成障害を認めた。同様に群間比較を行い、構成障害群で一次視覚野、視覚連合野、前部帯状回に血流低下を認めた。

【考察】DM1 患者の多様な認知機能障害の中で、前頭葉機能障害と視覚構成障害に関して脳血流低下部位との関連性が示唆された。

3-2. 筋強直性ジストロフィー症タイプ 1 の比較的若年 6 例における高次脳機能検査と脳血流 SPECT の関連

田代雄一[1,2]，◯諏訪園秀吾[1]，安藤匡宏[1,2]，奥間めぐみ[1]，上田幸彦[3]

1. 独立行政法人国立病院機構沖縄病院神経内科
2. 鹿児島大学医学部神経内科
3. 沖縄国際大学

【目的】筋強直性ジストロフィー(MyD)では記憶・注意・遂行機能・構成などの高次脳機能に障害がみられる症例がある。これらの障害と関連する脳局在があるかを検討するため、高次脳機能検査と脳血流局在との相関の有無を検討する。

【方法】筋強直性ジストロフィーtype1と診断され、脳血流 ECD-SPECTと高次脳機能検査; HDS-R、MMSE、FAB、Benton 視覚記銘検査、浜松式高次脳機能スケール(HHBFS)、標準注意検査法(CAT)、Trail making test(TMT)、遂行機能障害群の行動評価(BADS)とを施行した男性 6 例を抽出した(平均年齢 31 歳)。この症例において、3DSRT により得られた局所脳血流評価量(以下血流評価量)が年齢別正常値に比較して低下しているかどうかを検討した。さらに血流評価量と高次脳機能検査との相関の有無を、ピアソン相関係数を用いて検討した。

【結果】血流評価量は正常コントロール(松田ら 2002)と比して全体的に高い傾向にあり、特に脳梁周囲、両側視床、海馬で高い傾向にあった。逆に、有意差はないものの、両側角回動脈・側頭動脈領域で低下傾向にあった。高次脳機能検査と血流評価量が最も強い関連を示した部位は、CAT 下位項目の Position Stroop time と右視床動脈領域(有意水準 α <0.01)、 次に関連が強い(α <0.02)のは HHBFS 下位項目の数唱問題と右視床動脈領域であった。相関を認めた(α <0.05)項目は、1)PASAT2 秒達成率と左頭頂動脈領域、右後大脳動脈領域、左レンズ核線条体動脈領域、2)Visual Cancellation3 達成率と左視床、3)MMSE と左視床動脈領域、4)浜松式 5 単語想起(直後)と左視床、5)TMT Part B と左視床、6)Benton 視覚記銘力検査と左小脳であった。BADS と相関する血流評価量の局在は認めなかった。

【考察】今回対象とした比較的若年の MyD 群では正常コントロールに比し 3DSRT による ECD の局所脳血流評価量は上昇している部位がみられた。いくつかの部位で PASAT2 秒達成率低下といった神経心理学的異常と相関の可能性を認めており、なんらかの病的過程と関連している可能性が示唆される。若年例で神経心理学的異常との対応の検討を重ね経過を観察していくことが重要と考えられた。

3-3. 筋強直性ジストロフィー患者における脳萎縮の定量的検討

○中山貴博[1]，久留　聡[2]

1. 横浜労災病院神経筋疾患部

2. 国立病院機構鈴鹿病院臨床研究部

【目的】筋強直性ジストロフィー(MyD)患者の大脳では，側頭葉や島回，頭頂葉の萎縮が報告されているが，患者群での評価や CTG リピートの関連については判明していない．そこで大脳の萎縮を定量的に評価する方法を提案し，少数の患者群での評価について報告したい．

【対象】(1) 頭部打撲等で当院を受診した，非神経疾患患者の頭部 CT 画像を正常対照とした．30-69 歳までの合計 63 名を当院の画像データベースから抽出した．(2) 筋強直性ジストロフィー患者では，頭部 CT を撮影したことがあり，当院に通院したことがある 11 名と国立病院機構鈴鹿病院を受診したことがある 5 名，合計 16 名（平均年齢 53.8 歳，33-77 歳）を対象とした．診断は，CTG リピートの延長を検出した 11 名と，臨床及び電気生理学的診断をした 5 名であった．

【方法】(1) 上記対象の DICOM 画像を Onis Viewer を使用し匿名化して収集した．(2) Image/J を使用し，DICOM 画像の Window 幅を下限値 32758-上限値 32848 として色調補正をした．頭蓋外物質を除去後に 8 bit の白黒画像化し，Analyze フォーマット化し保存した．(3) MRIcro を用いて前交連の座標をヘッダーファイルに書き込んだ．(4) Matlab 上で SPM 5 を用いて Scct.nii をテンプレートとして標準化(Normalize)した．(5) NifTI フォーマットのファイルを Analyze フォーマット化し，それらを eZIS Ver3.2 のデータベースとした．(6) 10 歳毎の年代に分類し，正常対照群に比較した患者脳の萎縮を検討した．

【結果】MyD 患者では，前頭葉下面，シルビウツ裂周辺の前頭側頭葉の萎縮と側脳室前角優位の拡大傾向をみとめた．しかしこの傾向は，患者毎に異なり，リピート数が多いと脳萎縮が強い傾向にあったが，比例関係にはなく，罹患年数も無関係であった．

【考察】標準脳のデータベースを作成し，MyD 患者脳の脳萎縮を観察できた．脳萎縮は患者によって異なる傾向があり，CTG リピート延長の臓器差が考えられた．本研究では経年的な評価が実施できなかったことが問題である．本研究では MRI との比較は実施しなかった．頭部 MRI を撮影した非神経疾患患者の例数が少なく今後の検討を要する．

特別講演 2. 筋強直性ジストロフィー1 型における中枢神経障害の MRS による検討

〇高堂裕平
放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター
takado@nirs.go.jp

筋強直性ジストロフィー（Myotonic dystrophy type1:DM1）における中枢神経症状はよく知られた症状の一つであるが、その病態機序には不明な点が多く残されている。その原因のひとつに、実際の症状に比し病理所見が軽微であることが挙げられる。DM1 における軽微とはいえない中枢神経症状を鑑みると、病理検索では評価が困難な病変の存在が推測される。DM1 における中枢神経症状の病態機序の解明には、病理情報を補うことができる脳機能評価手法が必要である。

磁気共鳴スペクトロメトリー（MRS）は、生体において侵襲なく代謝物濃度を測定することで病理情報を推測することのできる、磁気共鳴による脳機能計測手法である。近年、3T 以上の高磁場 MRI および MRS 定量解析手法の普及により、臨床の場において着実にその有用性が増している。

本講演では、DM1 における中枢神経症状の病態解明を目指した MRS による研究について既報も含めて概説する。さらに、これまでの MRS 研究により見えてくる DM1 中枢神経症状の代謝イメージング研究の次の課題についても述べてみたい。

特別講演 3. MRI を主とした脳内神経回路解析研究の現状

○渡辺宏久[1,2]，勝野雅央[2]，祖父江元[1,3]
1. 名古屋大学脳とこころの研究センター、
2. 名古屋大学神経内科、
3. 名古屋大学医学系研究科

脳内ネットワーク変化の可視化は、脳とこころの疾患における早期診断バイオマーカー、進行にかかわるバイオマーカー、画期的治療法の開発という観点から大変注目されている。ネットワークという立場で病態を捉えることにより、様々な高次脳機能障害の発現機序に新規視点が得られる可能性があり、脳とこころの疾患におけるそれぞれの超早期神経回路変化がどうなっているのかという疑問、中核回路がどうなっているかという疑問、さらには蓄積する病的タンパク質がどのように神経回路破綻を引き起こし、神経症状を出すのかという病態解明と治療法開発につながる疑問など、様々な未解明で重要な疑問に対する解決の糸口を提供してくれる可能性が期待されている。ヒトにおけるマクロレベルの脳内神経ネットワーク解析方法としては、拡散テンソル画像を用いた解剖学的ネットワーク、安静時機能的 MRI（rs-fMRI）や脳磁図（MEG） を用いた機能的ネットワーク、脳波や脳磁図を用いた effective connectivity 等の評価が行われ、様々な新知見がある。中でも rs-fMRI は、幅広い施設で利用可能で、短時間で非侵襲的に機能的ネットワークを評価可能であり特に注目されている。我々は、安静時機能的 MRI (fMRI)、拡散テンソル MRI、3D MPRAGE、脳磁図を用いて、健常者、神経変性疾患、てんかん、脳腫瘍などの脳内ネットワークの変化を調べてきている。健常コホート 200 例の予備的な検討では、加齢に伴う変化として、脳萎縮は辺縁系を中心に認め、TBSS 解析による解剖学的ネットワークの破綻は側脳室周囲に認めた。しかし、安静時 fMRI では、デフォルトモードネットワークをはじめとする基本的な安静時ネットワーク内における結合性の低下を認める一方で、安静時ネットワークを構成する 90 の領域間（基本的ネットワーク間）における結合性は増加していた。これらの結果は、年齢に伴う脳萎縮や解剖学的ネットワークに対する機能的神経回路の代償現象を観察している可能性があると考えている。またパーキンソン病、多系統萎縮症、前頭側頭葉変性症、筋萎縮性側索硬化症をはじめ、早期ネットワーク破綻の状況や、以前より考えられているよりもダイナミックな解剖学的および機能的ネットワークのリモデリングがより広く生じている可能性があるなどの多彩な所見が得られてきている。

4-1. 筋強直性ジストロフィー患者における認知機能とQoLの関連の探索的検討

○藤野陽生[1]，新垣ほのか[1]，榎本聖香[1]，長山卓弘[1]，宮本真衣[1]，齊藤利雄[2]，藤村晴俊[2]，高橋正紀[3]，田路智子[4]，加藤亜希子[4]，松原梨絵子[4]，和田千鶴[5]，諏訪園秀吾[6]，奥間めぐみ[6]，上田幸彦[7]，松村　剛[2]，井村　修[1]

1. 大阪大学大学院人間科学研究
2. 国立病院機構刀根山病院神経内科
3. 大阪大学大学院医学系研究科神経内科学
4. 国立病院機構あきた病院リハビリテーション科
5. 国立病院機構あきた病院神経内科
6. 国立病院機構沖縄病院
7. 沖縄国際大学

【背景】筋強直性ジストロフィー（DM1）は、日常生活動作の困難以外にも、眼、心臓、内分泌臓器、中枢神経系など多臓器を侵す全身疾患である。それゆえ、中枢神経系の機能変化が患者の社会生活にも影響を及ぼすことが考えられる。本研究は、DM1 患者の認知機能の特徴と彼らの Quality of Life（QoL）と関連する要因を探索することを目的として実施した。

【方法】研究参加者 : DM1 患者 40 名（男性 24 名、女性 16 名）の協力を得て実施された。平均年齢は 46.9 歳（SD=12.1）で、外来（在宅）患者 8 名、短期入院患者 17 名、契約入院患者 15 名であった。

検査内容：認知機能検査として、MMSE、Trail Making Test part A, B （TMT-A, B)、語流暢性課題（VF)、WAIS-III 下位検査（絵画完成、類似、積木、類似)、Frontal Assessment Battery（FAB)、ADAS の構成行為（図形模写)、ウィスコンシンカード分類テスト、標準注意検査（CAT)、標準高次視知覚検査 改訂版（VPTA）を実施した。また、自記式の質問紙として Apathy Scale（アパシー)、PHQ9（抑うつ)、Epworth 眠気スケール（ESS)、疲労感尺度（MFI)、対人応答性尺度（SRS-2）MDQoL60、SF-36、INQoL を実施した。ただし、患者の病状、検査日程のために全ての検査が実施できていない場合もあった。本研究は、各施設における倫理委員会において承認を得て実施された。

【結果】認知機能検査では、多様な領域で、一般人口において期待される水準よりも低下していた。MDQoL60 の 11 の下位領域との関連を検討したところ、全ての下位領域で 1 つ以上の認知機能検査の結果と相関があった（$p<0.05$)。心理的安定、環境、希望、人間関係の領域では、多様な認知機能との関連が見られた。また、推定 IQ、CAT の視覚性スパン（forward)、視覚性抹消課題（遂行時間)、PHQ9（抑うつ)、MFI（疲労感）は 4 つ以上の下位領域と有意な相関があり（$p<0.05$)、多様な領域の QoL と関連していた。

【考察】DM1 患者における認知機能と QoL には関連があることが見出された。認知機能の低下による影響が日常生活および社会生活上の困難に結びつき、QoL に影響している可能性が示唆された。QoL 向上につなげるためには、さらに詳細な検討が必要と考えられる。

4-2. FAB を用いた筋強直性ジストロフィーの認知機能評価

〇久留　聡[1]，酒井素子[1]，村松順子[2]，村山晴香[2]，蒔田千里[2]，山内慎吾[2]，小笠原昭彦[3]，竹村真紀[4]，小長谷正明[1]

1. 国立病院機構鈴鹿病院神経内科
2. 国立病院機構鈴鹿病院療育指導室
3. 桑名発達臨床研究室
4. 国立病院機構豊橋医療センター

【目的】筋強直性ジストロフィー（以下 MyD）の知的・認知特性や行動特徴は、これまでの研究で「記憶力や注意力の弱さ」「概念転換の困難性」「機転のきかない行動」「成り行き任せ」などが挙げられており、前頭葉機能障害との関連が指摘されている。そこで MyD の認知機能について評価するため、前頭葉機能検査（FAB）を実施した。

【対象・方法】

2014 年度に当院に入院していた MyD 患者 19 名（男性 11 名、女性 8 名、平均 54.3±7.0 歳）を対象に（1）HDS-R と FAB を実施、（2）HDS-R21 点以上を MyD 群として、FAB 総得点・下位項目得点について健常対照データ（寺田ら、2009）と比較・検討した。FAB は 12 点以上を正常とした。

【結果】

（1）MyD 全体での得点平均は HDS-R-20.3±11.5 点、FAB9.1±5.7 点、HDS-R と FAB との間に有意な正の相関を認めた。MyD 群（HDS-R27.4±2.1 点）は 13 名、その内 FAB 正常域は 6 名であった。

（2）MyD 群の FAB 得点平均は、総得点 11.9±3.3 点、類似性 1.62±0.87 点、流暢性 1.38±0.96 点、運動系列 2.62±0.65 点、葛藤指示 1.85±1.28 点、Go-No-Go1.54±1.33 点、把握行動 3.00±0.00 点であり、健常者との比較では総得点、流暢性、葛藤指示、Go-No-Go が MyD で有意に低かった（$p < 0.05$）。

【考察】

MyD 群の半数以上が FAB で異常と判定されたことは、知的能力が保たれた患者に前頭葉機能障害が存在することを示すと考えられた。また流暢性、葛藤指示、Go-No-Go が低得点であったが、これらにはそれぞれ「思考の柔軟性、想起力」「反応を選択する力や保続」「行動抑制力や注意力」が関与するとされ、従来から指摘されている MyD の認知特徴と一致すると考えられた。FAB を用いた先行研究において、高齢者では類似性と流暢性の低下、ALS では流暢性と Go-No-Go が低下すると報告されており、本研究の MyD の低得点の傾向とは異なっていた。

【結語】

MyD 患者には前頭葉機能障害がみられ、流暢性、葛藤指示、Go-No-G の低下が本症の特徴である。

4-3. 筋強直性ジストロフィー患者における注意機能、視空間認知機能の特徴

〇上田幸彦[1]，諏訪園秀吾[2]，奥間めぐみ[2]，松村　剛[3]，齊藤利雄[3]，藤村晴俊[3]，井村　修[4]，藤野陽生[4]，新垣ほのか[4]，榎本聖香[4]，長山卓弘[4]，宮本真衣[4]，高橋正紀[5]，田路智子[6]，加藤亜希子[6]，松原梨絵子[6]，和田千鶴[6]

1. 沖縄国際大学
2. 国立病院機構沖縄病院
3. 国立病院機構刀根山病院
4. 大阪大学大学院人間科学研究科
5. 大阪大学大学院医学系研究科
6. 国立病院機構あきた病院

【背景】筋強直性ジストロフィー(DM1)は、日常生活動作の困難以外にも、眼、心臓、内分泌臓器、中枢神経系など多臓器を侵す全身疾患である。それゆえ、中枢神経系の機能変化が患者の社会生活にも影響を及ぼすことが考えられる。本研究は、DM1 患者の認知機能，その中でも特に注意機能と視空間認知機能の特徴をとらえることを目的として実施した。

【方法】研究参加者 : DM1 患者 40 名(男性 24 名、女性 16 名)。平均年齢は 46.9 歳(SD=12.1)で、外来(在宅)患者 8 名、短期入院患者 17 名、契約入院患者 15 名であった。

検査内容：注意機能検査として標準注意検査(CAT)、視空間認知機能検査として標準高次視知覚検査 改訂版(VPTA)を実施した。また、自記式の質問紙として Apathy Scale(アパシー)、PHQ9(抑うつ)疲労感尺度(MFI)を実施した。本研究は、各施設における倫理委員会において承認を得て実施された。

【結果】**平均値** : CAT は 40 代の健常母集団の平均値と VPTA は全年代の平均値と比較した。CAT においては視覚性抹消の 1 検査以外のすべての検査：ディジットスパン、タッピングスパン、視覚性抹消、聴覚性検出、シンボルディジットモダリティテスト、記憶更新、PASAT、ポジションストループにおける正答率は健常群より有意に低く、視覚性抹消とポジションストループの所要時間は有意に長かった。VPTA においては、色相の分類と線分の 2 等分以外のすべての検査 : 線分の長さの分別、形の分別、線分の傾き、錯綜図、図形の模写、絵の呼称、物品の呼称、状況図、線分の抹消、模写、数字の音読、自発画が健常群より成績が有意に良かった。

相関 : 年齢とディジットスパン、タッピングスパン、視覚性抹消、聴覚性検出、シンボルディジット、記憶更新の正答率が負の相関を示し、視覚性抹消とポジションストループの所用時間は正の相関を示した。PASAT との相関は見られなかった。またアパシーとタッピングスパン、視覚性抹消、聴覚性検出は負の相関、疲労感とは線分 2 等分が負の相関、線分抹消が正の相関を示した。抑うつと相関を示すものはなかった。

【考察】DM1 患者では注意機能と情報処理速度が健常群より低下しているが、視空間認知機能には低下がみられない。年齢とともに注意機能は低下し情報処理速度は遅くなるが、PASAT に示される認知機能：ワーキングメモリーは年齢に関わらず低い。またこれらの注意機能の低下とアパシーが関連していることが示唆される。

4-4. 筋強直性ジストロフィー症タイプ 1 の 5 症例における Benton と AVLT の検討-working memory か注意の問題か-

安藤匡宏[1,2]，◯諏訪園秀吾[1]，奥間めぐみ[1]，田代雄一[1,2]，前堂志乃[3]，上田幸彦[3]

1. 独立行政法人国立病院機構沖縄病院神経内科
2. 鹿児島大学医学部神経内科
3. 沖縄国際大学

【はじめに】本研究会で上田らが報告するように筋強直性ジストロフィー症タイプ 1 患者(DM1)では注意機能 and/or ワーキングメモリに異常がある可能性がある。しかしこの報告のみではこれが注意機能であるかワーキングメモリの問題であるかを判別するのは困難である。これに示唆を与える課題を追加検査したので報告する。

【方法】CAT を施行し auditory detection や PASAT に異常を認めた DM1 患者 5 例(平均年齢 36.6 歳、男性4例)においてベントン視覚記銘力検査(以下 Benton)・聴覚性言語学習検査(auditory verbal learning test; 以下 AVLT)を検討した。

【結果】Benton は MMSE23 点を示した1例で 4 個と低下を認めたが AVLT は今回検討した患者群では明らかな異常は示さなかった。

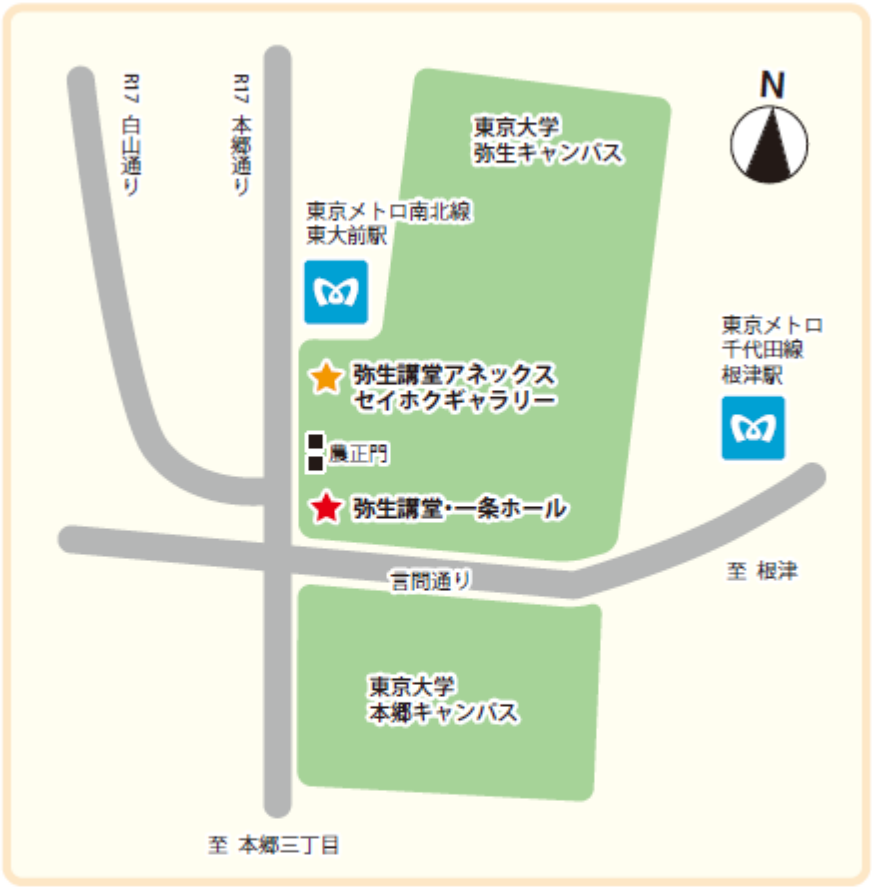
【考察】聴覚ワーキングメモリへの負荷がかなり高い AVLT が保たれていたことはこの症例群において phonological loop の機能はかなり保たれていることを示唆しており、視覚性ワーキングメモリへの負荷が高い Benton が 5 例中 4 例で正常であったことは visual sketch pad の機能はさほど悪くないことを示唆する。

【結論】少数例での検討ではあるが、DM1 の高次機能障害のひとつには working memory よりも注意機能の問題が大きなウェイトを占めている可能性があり、これは比較的若年から認められる可能性がある。

会場アクセス

東京大学弥生講堂 一条ホール/アネックス

THE UNIVERSITY OF TOKYO
YAYOI AUDITORIUM ,ICHIJO HALL/ANNEX



【地下鉄】

・東京メトロ 南北線「東大前」駅下車 徒歩 1 分
・東京メトロ 千代田線「根津」駅下車 徒歩 8 分

【都バス】

・御茶ノ水駅（JR 中央線、総武線）より
茶 51 駒込駅南口又は東 43 荒川土手操車所前行
東大（農学部前バス停）下車徒歩 1 分

東京大学 弥生講堂事務室

〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1 東京大学弥生キャンパス内
TEL.:03-5841-8205
FAX.:03-5841-8206
E-mail :yayoi@ofc.a.u.tokyo.ac.jp

知っておきたい筋強直性ジストロフィー @新潟

日時：2015 年 5 月 24 日（日）9：50～15：20（開場 9：20）
場所：じょいあす新潟会館
定員：120 名

プログラム

1部. 変わりつつある筋強直性ジストロフィーの医療

病気のメカニズムと治療開発の現状	大阪大学大学院医学系研究科神経内科学	高橋正紀
新しいリハビリ機器 (ロボットスーツ HAL)	国立病院機構新潟病院	中島　孝

2部. 現在の医療でもできることは多い
知っておこう　筋強直性ジストロフィーは全身の病気

運動・呼吸機能障害	国立病院機構鈴鹿病院	久留　聡
心臓の問題	国立精神・神経医療研究センター	瀬川和彦
食事・栄養・胃瘻に関わる問題	国立病院機構新潟病院	会田　泉
まだある合併症	国立病院機構大牟田病院	荒畑　創

3部. その他にもある　知っておきたいこと

遺伝・妊娠･子供に関わる問題	国立病院機構新潟病院	小澤哲夫
病気があっても健康に暮らすために	東京大学大学院総合文化研究科	石浦章一

4部. みんなで変えよう筋強直性ジストロフィーの医療

患者レジストリー	国立精神・神経医療研究センター	木村　円
臨床研究・治験への協力のお願い	国立病院機構刀根山病院	松村　剛

終了後に個別医療相談を予定
(事前予約が必要です。希望者は下記【問い合わせ先】に連絡下さい。)

Web にて配信予定▶http://ustre.am/1mo2A

【問い合わせ先】刀根山病院　担当：萩原
MAIL：office@dmctg.jp　TEL：06-6853-2001
※お問い合わせはできるだけメールにてお願いします。

【共催】筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班
難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした疾患レジストリー研究班
国立病院機構新潟病院

じょいあす新潟会館へのアクセス

新潟空港 ……タクシー30分…… じょいあす新潟会館 ……タクシー5分…… 佐渡汽船

JR 新潟駅 ……徒歩20分 or タクシー5分…… じょいあす新潟会館 ……車10分…… 新潟西 IC

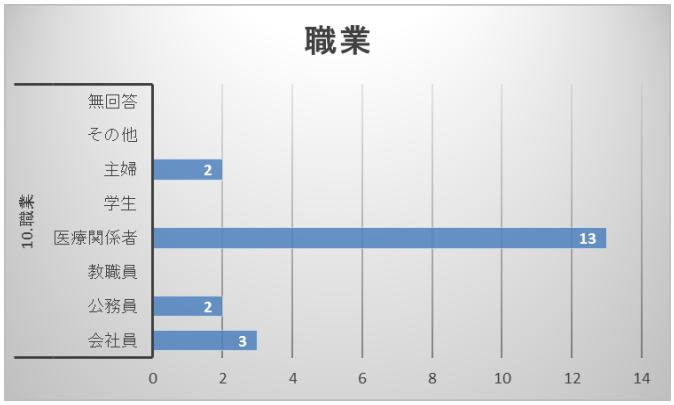
JR 新潟駅 ……バス10分…… 南高校前 ……徒歩1分…… じょいあす新潟会館 ……車10分…… 新潟中央 IC

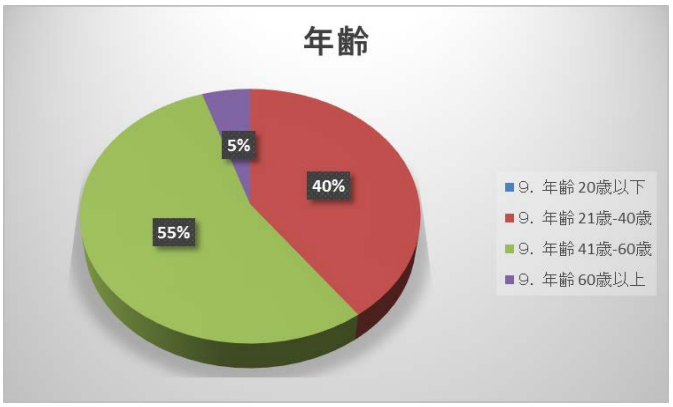
※駐車場 70 台収容

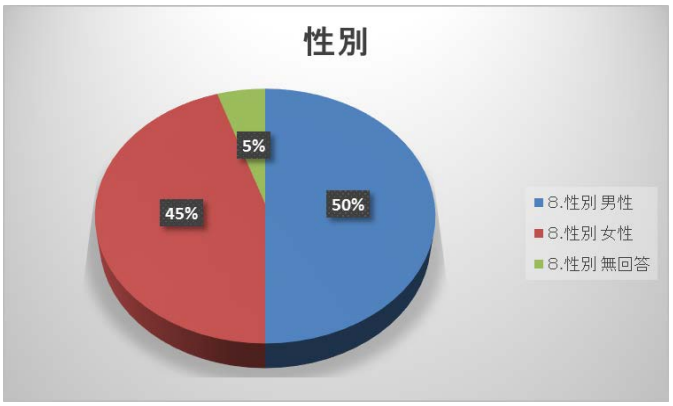
【バス】	新潟駅万代口バスターミナルから 「昭和大橋・古町・入船町行き」に乗車10分、「南高校前」下車徒歩1分
【車】	新潟バイパス、桜木I・Cから昭和大橋方向へ約1.7km
【タクシー】	新潟駅から5分、新潟空港から30分、佐渡汽船から5分
【駐車場】	70台収容

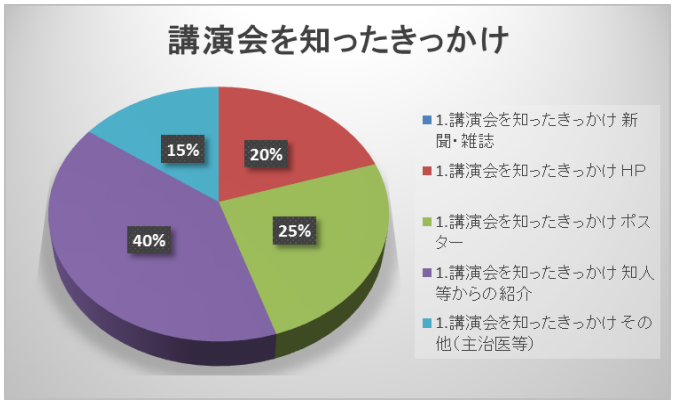
● ・・・ ガソリンスタンド

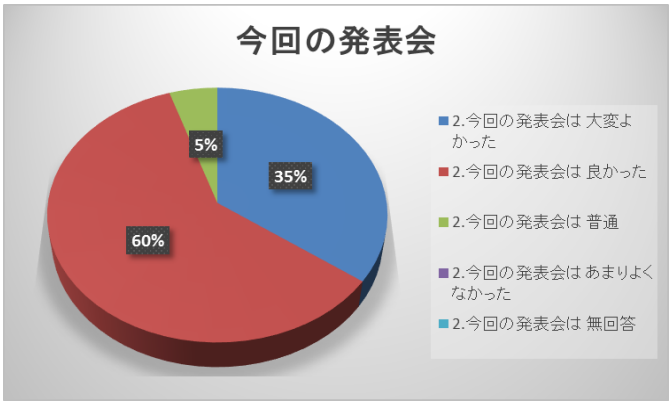
知っておきたい筋強直性ジストロフィー市民公開講座　アンケート集計　（2015.5.24　じょいあす新潟）26名参加（20名回収）

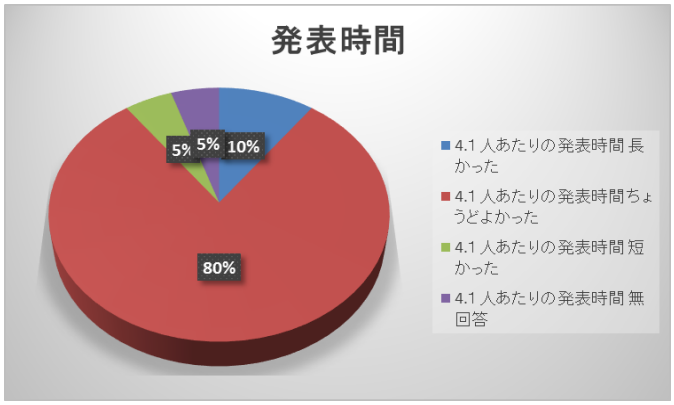


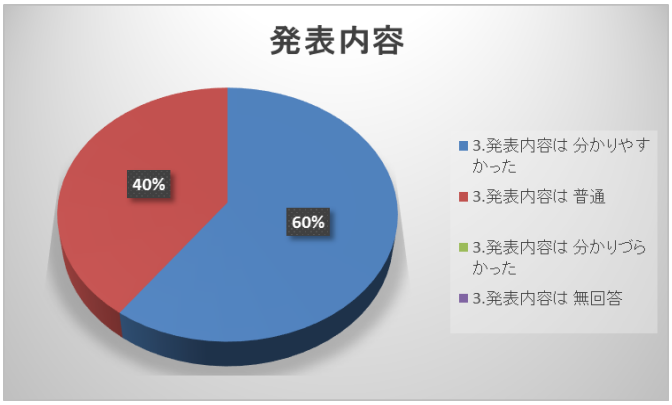


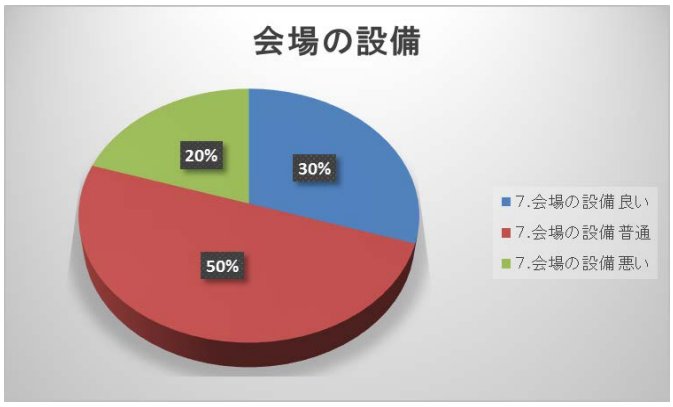


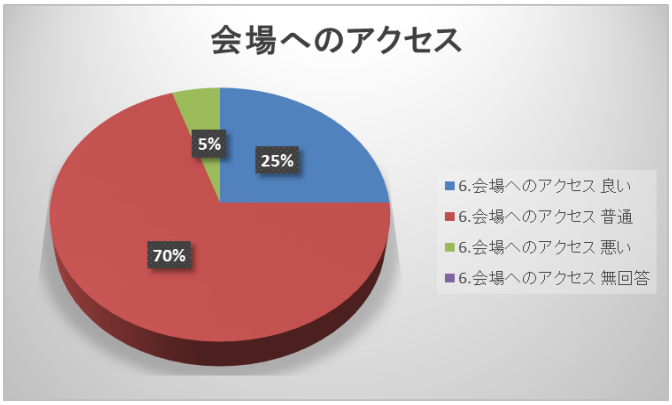


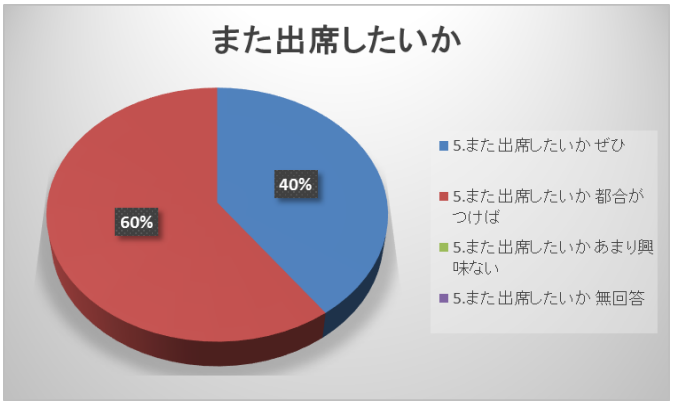


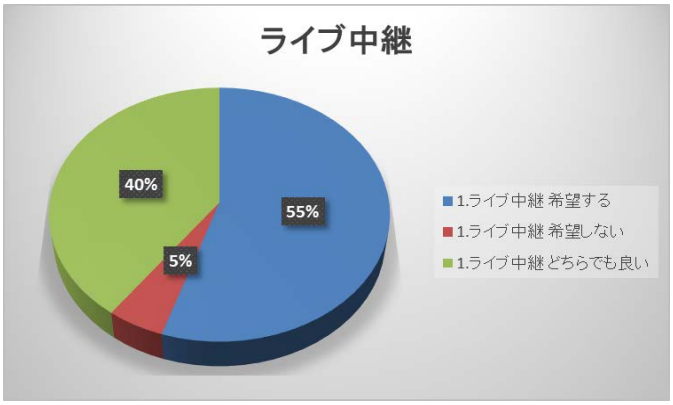












感想・要望

・講演者の演者は医師の方が多いですが、PT、ST、MSW等色々な知識提供の広がりがあっても良いかもしれません。
・ライブ中継について、今日こられなかった知り合いに見せたいです。
・妻、子供が筋強直性なので、このような特化した講座はありがたい。
・個人で悩んでいる方も多いので、この様な講座はありがたい。登録させていただきたく思っています。
・今後も新しい情報を教えてもらえる場があるとありがたいと思います。
・インターネット上からの質問とかが受けられると良いと思います。
・ライブ中継が少し切れることがあったようです。
・希少疾患なので講演があって勉強できた
・新潟県内で市民公開講座は少ないように思います。高名な先生方が患者さんに話していただける機会が増えるとうれしいです。

要望（設備等に関して）

・会場内が寒かった　　5名

知っておきたい
筋強直性ジストロフィー
@東京

1．筋強直性ジストロフィーの医療を変えるために

病気のメカニズムと治療開発の現状
大阪大学医学部神経内科　高橋正紀

患者登録は新しい時代への第一歩
国立精神・神経医療研究センター　木村　円

研究班の活動と臨床研究・治験への協力お願い
国立病院機構刀根山病院　松村　剛

仲間のつながりも大きな力
妹尾みどり

2．今できることをしっかりと　～全身の合併症と対応～

病気があっても健康に暮らすために
東京大学大学院総合文化研究科　石浦章一

運動・嚥下・呼吸機能障害
国立病院機構鈴鹿病院　久留　聡

心臓の問題
国立精神・神経医療研究センター　瀬川和彦

代謝の問題
国立病院機構大牟田病院　荒畑　創

他にもある色んな合併症
国立病院機構青森病院　高田博仁

妊娠･出産に関わる問題
東京女子医科大学小児科　石垣景子

※WEBにてライブ中継あり　http://ustre.am/1mo2A

日時　2015年7月19日（日）
9:50▶16:10（開場9:20）

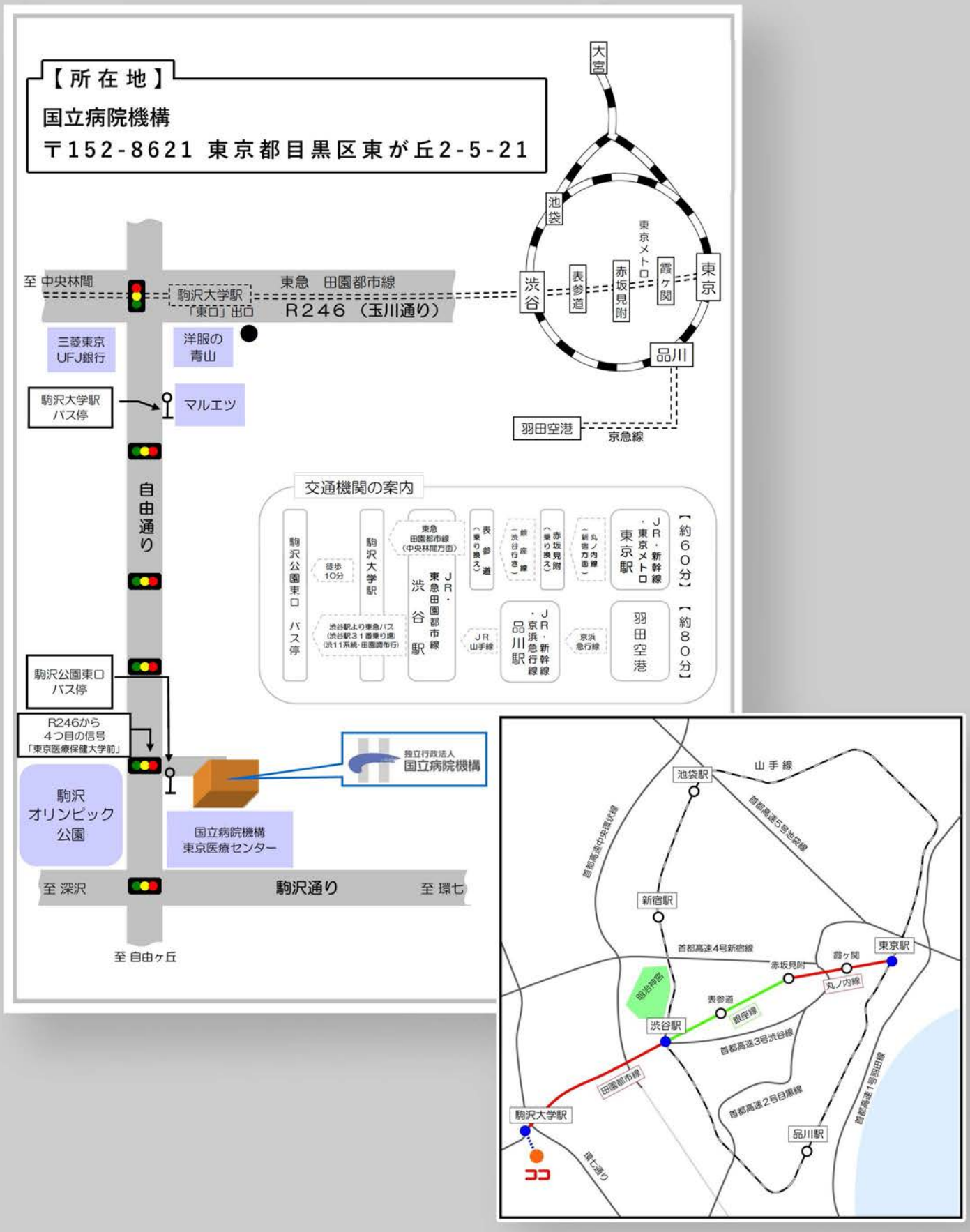
場所　国立病院機構本部大ホール

終了後に個別医療相談を予定しています。
（事前予約が必要です。希望者は下記【お問い合わせ先】にご連絡ください。）

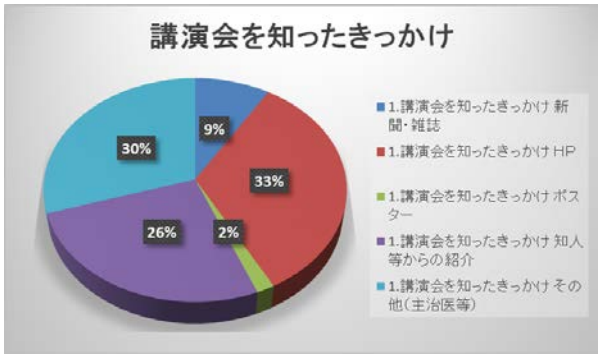
【お問い合わせ】
MAIL：office@dmctg.jp　TEL：06-6853-2001
刀根山病院　担当：萩原　※お問い合わせはできるだけメールにてお願いします。

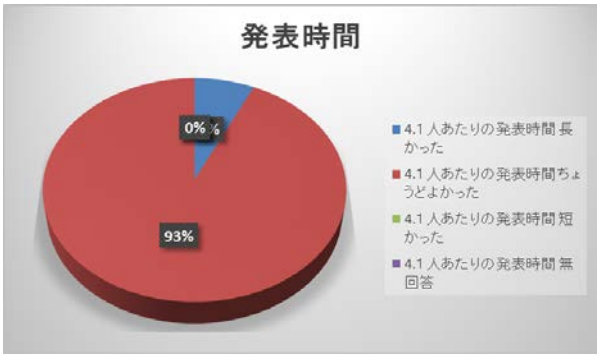
【共済】筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班
難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした疾患レジストリー研究班

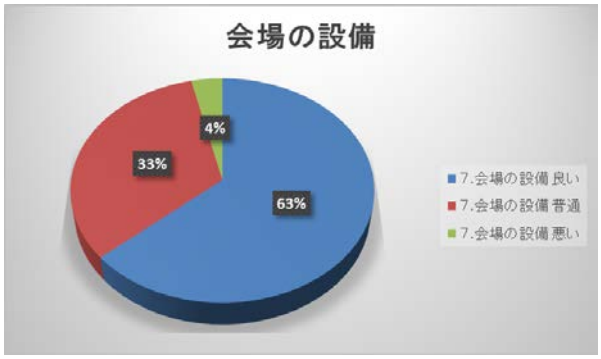
国立病院機構本部へのアクセス

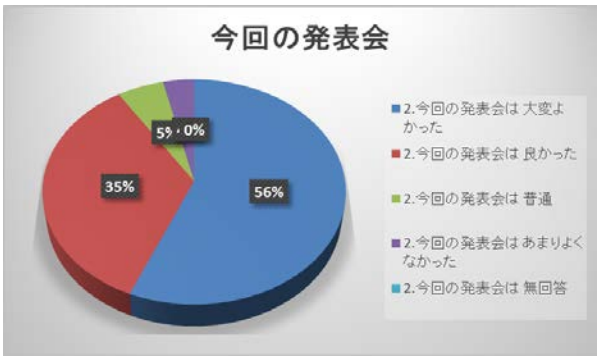


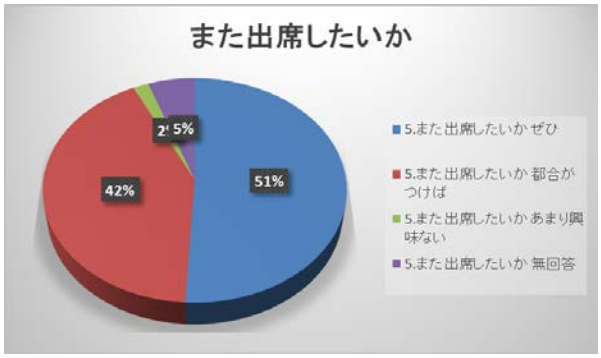
知っておきたい筋強直性ジストロフィー市民公開講座　アンケート集計　(2015.7.19　国立病院機構本部)74名参加(56名回収)

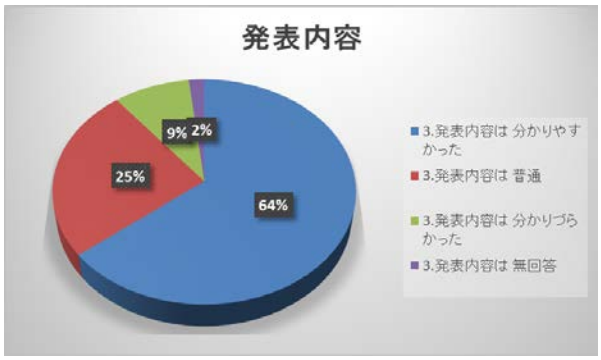


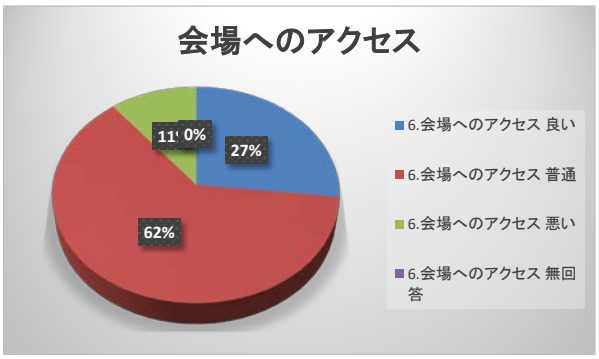


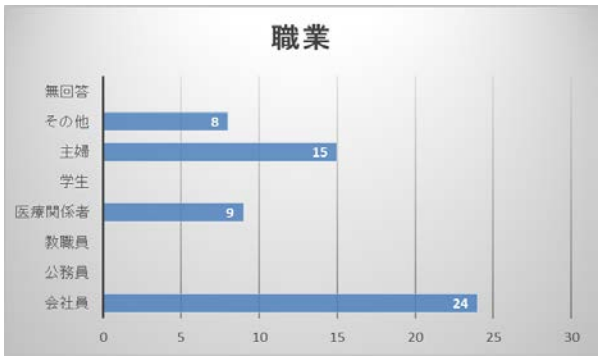












感想・要望

・最新の情報を知ることが出来た

・患者登録や治験に向けて現在の研究の取組など全体像を知ることが出来た、患者さんの治験に対する期待にも触れられる貴重な機会となった

・DMの詳しいDrのいる病院を教えて欲しい

・医師間で話し合うことが必要であることが改めて分かった。また東京での公演を希望します

・治らない病気とあきらめていましたが、希望が持てました

・患者さんにとっては長時間で疲れるので、ライブ中継で見れることはとても良いことだと思います。

・患者登録の重要性を再認識しました。木村先生の講演がとても分かりやすかった

・先天性のたどる経過をしりたい。情報量の少なさ、認知度の低さが残念です。

・先天性に関するのみの講座を開いて欲しい
・自分の子供が対象なのか分からなかった。どんな病院で治療したら良いか教えて欲しい
・先生によっては専門的な言葉が多く分かりずらかった
・2時間毎に5分の休憩が欲しかった
・口元がだらしないと言わないで、傷つくと思います。
・心のケアにも注意していただきたい。主治医に「余生を考えてください」と言われ傷つきました
・次回の講演もぜひライブ中継してください。見させていただきます
・公演後は質問しにくい雰囲気でした。事前に質問をさせていただいて、時間があれば回答するようにして欲しい
・ライブ中継はインターネット環境が良くないとみられた物ではなかった。録画したものをいつでも見られるようにした方がより多くの患者のためになる
・市民公開講座が行われることが告知不足である
・妊娠、出産の部分のボリュームが多く時間が足りていない様な気がした。重要な話だけにもったいない。
・一部資料がなかったことが残念
・専門的な話が多く感じた、もう少し基礎的な講演が必要でないか。介護・看護の部分の話があってもよかったのではないか。
・ありがとうございました等感謝の意見（5名）

要望（設備等に関して）
・ホームページで案内が見つけられなかった
・大阪より会場が広く、机もあってよかった

長崎 被爆の苦しみ撮る

30年間の記録70点展示

長崎市で原爆の爪痕や被爆者らを撮影してきた写真家の松村明さん(68)の作品展が千代田区一番町のJCIIフォトサロンで開かれている。原爆によって破壊された旧浦上天主堂外壁の天使の石像などのモノクロ写真約70点を展示している。

松村さんは毎日新聞写真部の元記者。妻が長崎出身だった縁で、30年ほど前から長崎に通い、撮影を続けてきた。2010年には、長崎の人たちの日常をとらえた写真集「ありふれた長崎」を出版。今年5月には、爆心地から半径1キロ以内の原爆遺構を、クローズアップ撮影した写真集「Evidence NAGASAKI」を出した。

今回は、写真集から原爆の熱風で溶けたガラス瓶や、台座の欠けた灯籠などの写真を展示した。8月9日に毎年同じ場所で手を合わせる女性の姿や、やけど跡が残る足を撮影した写真など、被爆者たちの苦しみを切り取った作品も並んでいる。モデルになった被爆者の中には、撮影後に亡くなった人も多い。松村さんは「写真を通して、特に若い人たちにも被爆の実態を伝えたい」と語る。

来場した大学生の下村富実さん(22)は「手を合わせて祈るおばあちゃんが、悔しそうな顔をしている写真が印象的だった。戦争と原爆について考えるきっかけになった」と話していた。

20日まで。午前10時～午後5時、入場無料。問い合わせはJCIIフォトサロン(03・3261・0300)。

被爆者の表情を切り取った写真など約70点が並ぶ（千代田区一番町で）

危険ドラッグ撲滅 ももクロ「大使」に

「危険ドラッグ撲滅都民大会」（警視庁主催）が14日、千代田区有楽町のよみうりホールで開かれた。

高綱直良警視総監や舛添知事、危険ドラッグの撲滅に取り組む民間団体メンバーなど計約900人が参加。アイドルグループ「ももいろクローバーZ」＝写真＝が「撲滅大使」を委嘱され、リーダーの百田夏菜子さんは「東京からすべての危険ドラッグを撲滅させます」と誓った。

筋肉の難病 19日に講演会 目黒で

筋肉のこわばりなどが特徴的な難病・筋強直性ジストロフィーの症状や治療法を説明する講演会が19日、目黒区の国立病院機構本部で開かれる。

主催者の一人で、この病を研究する刀根山病院（大阪）の松村剛医師によると、国内の推定患者数は1万人程度だが、患者登録をしているのは約230人にとどまる。病に気付かず、不整脈や睡眠時無呼吸などの合併症で突然死につながるケースもある。

「新品のペットボトルのふたが自力で開けられない」「あおむけから手を使わずに起きあがれない」など、筋力が弱いと感じている人は受診した方がよいという。松村医師は「少しでも思い当たる症状がある人は、ぜひ講演会に参加してほしい」と話す。

午前9時50分～午後4時10分。終了後、専門医らによる個別相談会もある。参加無料。相談を受けたい場合は申し込みが必要。問い合わせはメール（office@dmctg.jp）で。

ロウソクで地上絵 お台場で19、20日

「海の灯まつりinお台場2015」が19、20日、港区のお台場海浜公園おだいばビーチで開かれる。約4万個のペーパーランプを富る力士な夜のビー絵を作り出

両日とも午後1時か ともすのは で、どちら 遠鏡で星空 ナーや、宮 販売（両日 などもある

午後6時 雨決行。開

枝肉　14日（単位円）
【東京・芝浦】（骨付き、キロ）

	高値	安値	平均
極上	—	—	—
上	720	630	663

補聴器

市民公開講座

知っておきたい 筋強直性ジストロフィー

@ 札幌

1. 筋強直性ジストロフィーについて知ろう

筋強直性ジストロフィーってどんな病気?
国立病院機構旭川医療センター　木村　隆

指定難病で医療が受けやすくなりました
国立病院機構刀根山病院　松村　剛

2. 今できる治療をきちんと受けよう

運動・嚥下・呼吸機能障害
国立病院機構仙台西多賀病院　高橋俊明

代謝の問題
国立病院機構青森病院　高田博仁

心臓・その他の問題
国立精神・神経医療研究センター　瀬川和彦

先天性患者の医療管理
国立病院機構八雲病院　石川悠加

3. 生活の工夫も大切

病気があっても健康に暮らすために
東京大学　石浦章一

病院で行っているこんな工夫
国立病院機構旭川医療センター　看護師

4. 新しい時代を迎えるために

患者登録は未来を開く扉
国立病院機構青森病院　高田博仁

治療開発の現状と患者登録
国立病院機構刀根山病院　松村　剛

Q&Aコーナー

※WEB にてライブ中継あり　http://ustre.am/1mo2A

日　時　2015年10月4日(日)
9:50～15:20（開場9:20）

場　所　札幌国際ビル 国際ホール

終了後に個別医療相談を予定しています。
（事前予約が必要です。希望者は下記【お問い合わせ先】にご連絡ください。）

- 問い合わせ先 -
MAIL　office@dmctg.jp　TEL　06-6853-2001
刀根山病院　担当：萩原　※お問い合わせは出来る限りメールでお願い致します。

新規治療薬の実現
標準的医療の確立

- 共　催 -
筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班
難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした疾患レジストリー研究班
国立病院機構旭川医療センター、国立病院機構八雲病院

札幌国際ビル 国際ホール

北海道札幌市中央区北４条西４丁目１番地　札幌国際ビル８階

最寄り駅：地下鉄さっぽろ駅・ＪＲ札幌駅、バスターミナルと地下街で直結（駅前通り沿い）徒歩２分

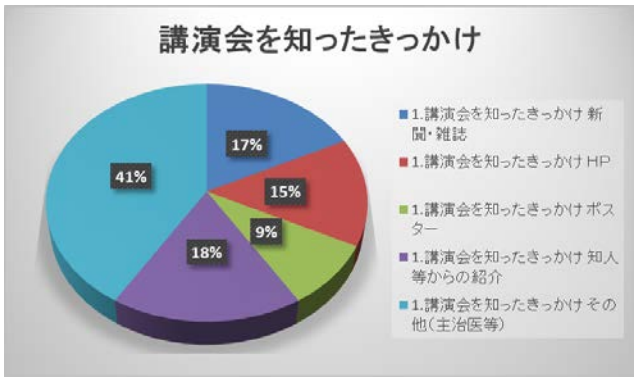
地上から

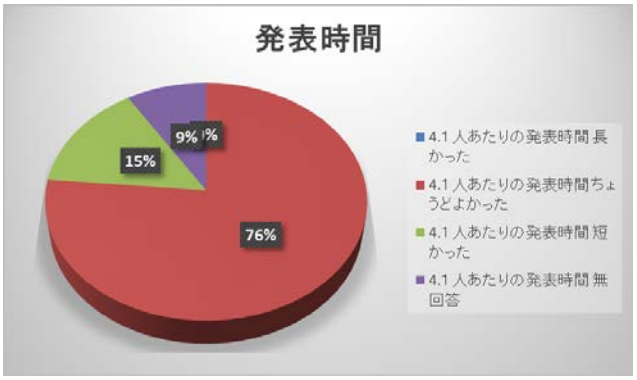
さっぽろ駅8番出口横が札幌国際ビルの入り口となります。
駐車場はご用意しておりませんので、最寄りの有料駐車場をご利用ください。

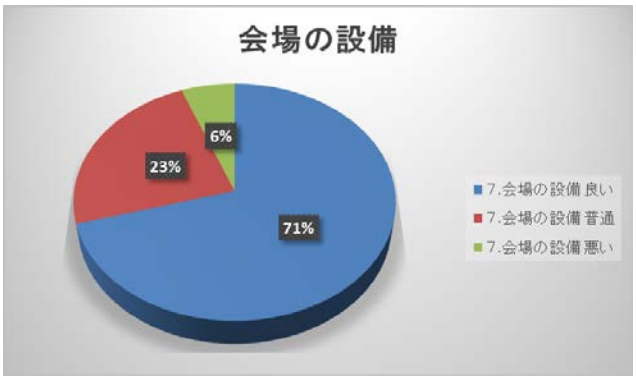
地下から

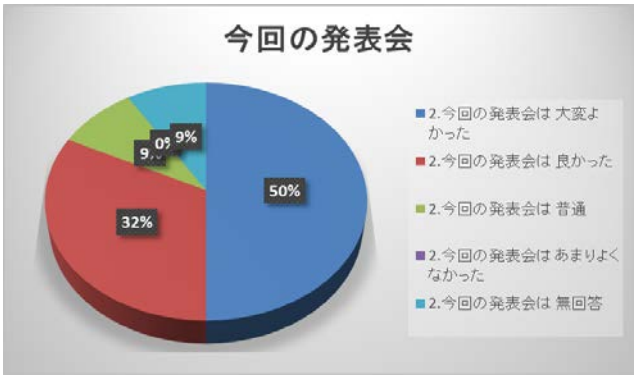
札幌市営地下鉄南北線さっぽろ駅コンコースを出て、すぐに見えるサンクスが目印です。
国際ビル飲食店街に入り、左手のエレベータをご利用ください。

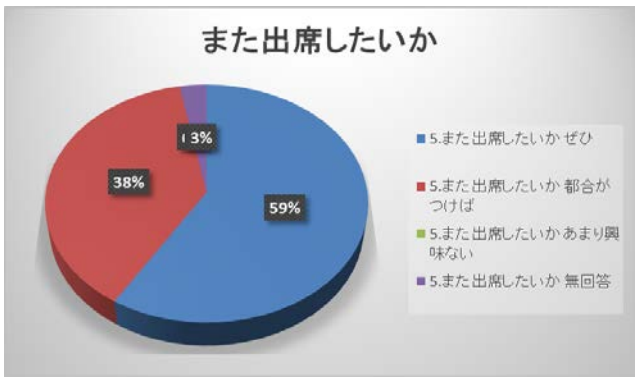
知っておきたい筋強直性ジストロフィー市民公開講座　アンケート集計　（2015.10.4　札幌国際ビル）54名参加（34名回収）

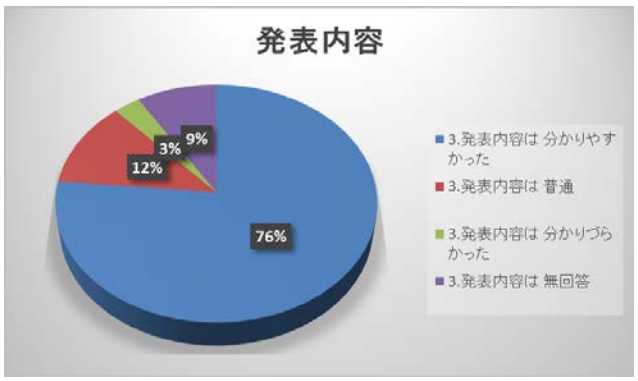


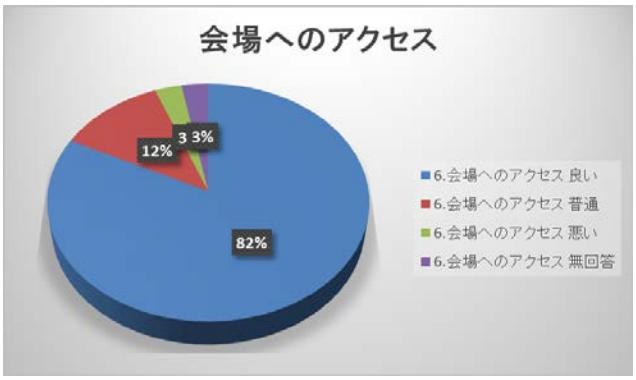


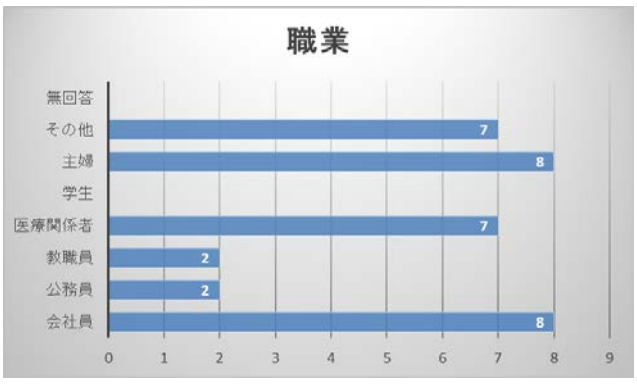


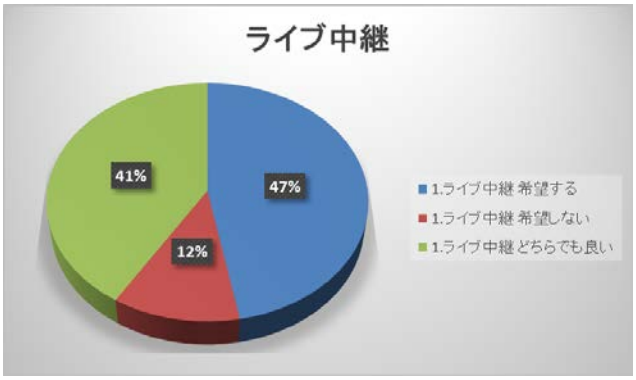












感想・要望

・遺伝子レベルの研究がこれからであることが分かった

・公演中マイクのレベルが低い場面が時々あった。地域毎に推薦できるDrを紹介していただけるとありがたい

・ライブ中継だけでなく録画したものをダウンロードできるようにして欲しい

・患者さんが期待することと現実のメリット・デメリットがあわない。

・合併症の多さに驚いた。

・北海道では筋ジスの研修会が少ないので感謝しています。もう少し臨床的な見地での話を聞きたかった

・情報が少ないので、こういう機会があるとありがたい。

・このような講演会を長い間待っていました。少し未来が見えてきたように思います。

・一部資料が無いのが残念でした。話が早く聞きづらいところがあった。

・資料の字を出来るだけ大きく、英語は訳していただけると幸いです

・ありがとうございました等感謝の意見（6名）

要望（設備等に関して）

・駐車場の案内があると助かります。

■市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー」

10月４日午前10時、札幌国際ビル（札幌市中央区北４西４）。国立病院機構刀根山病院（大阪）などの主催。全国各地の専門医などが訪れて講演する。筋ジストロフィーの一つ、筋強直性ジストロフィーについて、旭川医療センターの木村隆医師が症状などを解説。刀根山病院の松村剛医師は指定難病に追加され、受けられるようになった医療サービスを説明する。運動障害や呼吸機能障害、先天性患者の治療、生活する上での工夫などのアドバイスもある。参加無料で直接会場へ。講座終了後に個別医療相談を行う（希望者は事前予約が必要）。問い合わせや医療相談の予約は同機構刀根山病院へ電子メールoffice@dmctg.jpか、☎06・6853・2001で。

知っておきたい 筋強直性ジストロフィー ＠福岡

日時：2016年1月17日(日) 9:50～15:30（開場 9:20）

場所：福岡県中小企業振興センター

1．筋強直性ジストロフィーについて知ろう

筋強直性ジストロフィーってどんな病気？
東京大学大学院総合文化研究科　石浦章一

重要な機能障害･合併症～呼吸障害～
国立病院機構西別府病院神経内科　後藤勝政

重要な機能障害･合併症～心臓の問題～
国立病院機構長崎川棚医療センター神経内科　福留隆泰

重要な機能障害･合併症～嚥下機能障害 OT の立場から～
西九州大学リハビリテーション科　植田友貴

重要な機能障害･合併症～嚥下機能障害 ST の立場から～
国立病院機構大牟田病院リハビリテーション科　酒井光明

重要な機能障害･合併症～筋強直性ジストロフィーと糖尿病～
大阪大学大学院医学研究科糖尿病病態医療学　岩橋博見

先天性患者の医療管理
熊本大学医学部小児科　小篠史郎

2．健康な生活を送るための工夫

在宅療養とポートサービス
国立病院機構大牟田病院神経内科　荒畑　創

日常生活での注意点
国立病院機構大牟田病院看護師　桑原寿佳子

3．新しい時代を迎えるために

薬の開発研究の現状と治験の仕組み
大阪大学大学院医学研究科神経内科学　高橋正紀

患者登録・臨床研究への協力のお願い
国立病院機構刀根山病院神経内科　松村　剛

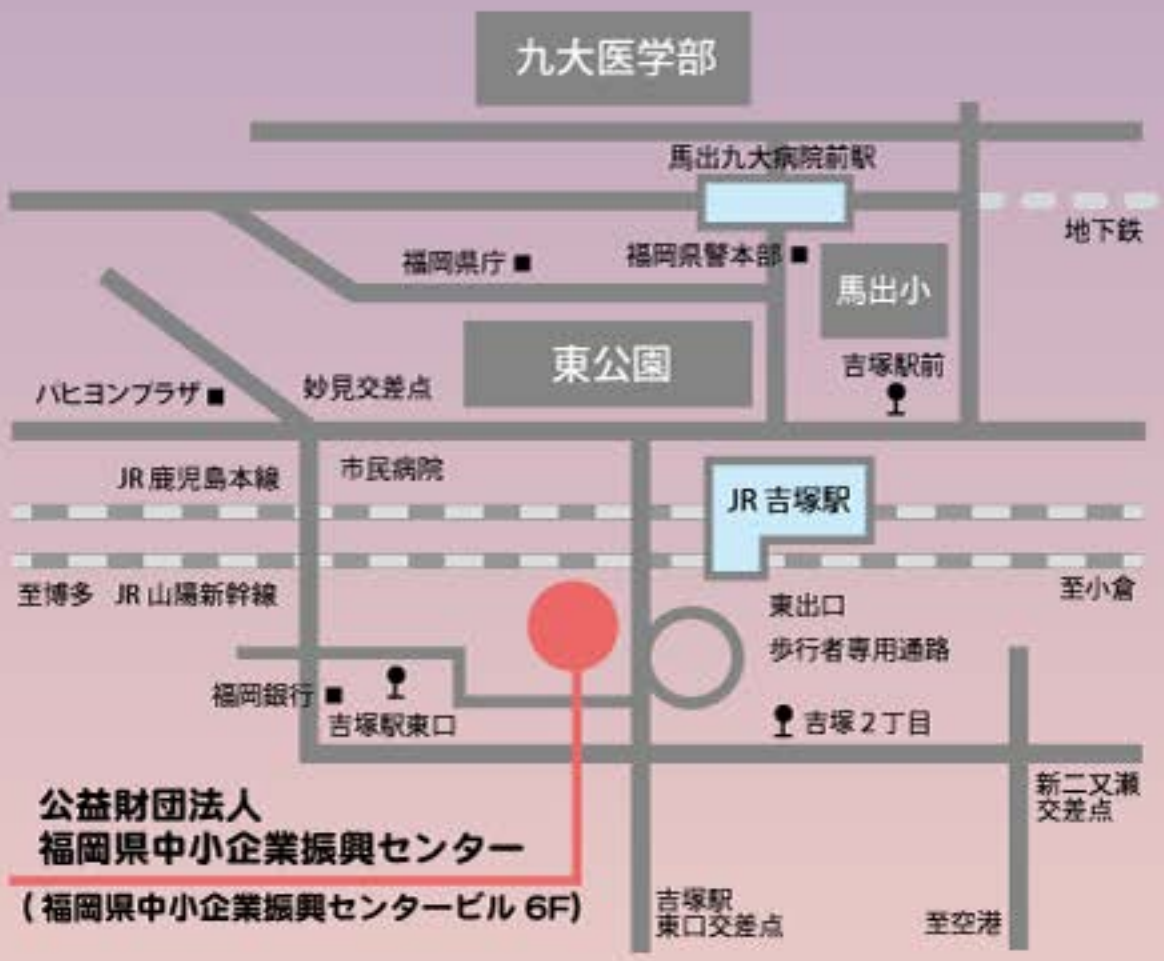
※WEB にてライブ中継あり http://ustre.am/1mo2A

終了後、個別医療相談を予定しております。
事前予約が必要ですので、下記のお問い合わせ先にご連絡ください。※お問い合わせはできる限りメールでお願い致します。

【共催】
筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班
難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした疾患レジストリー研究班
国立病院機構大牟田病院

【問い合わせ先】刀根山病院　担当：萩原
MAIL：office@dmctg.jp　TEL：06-6853-2001

福岡県中小企業振興センターへのアクセス



※駐車場（有料）はありますが、台数に限りがございます。満車の場合はＪＲ吉塚駅前の駐車場をご利用ください。

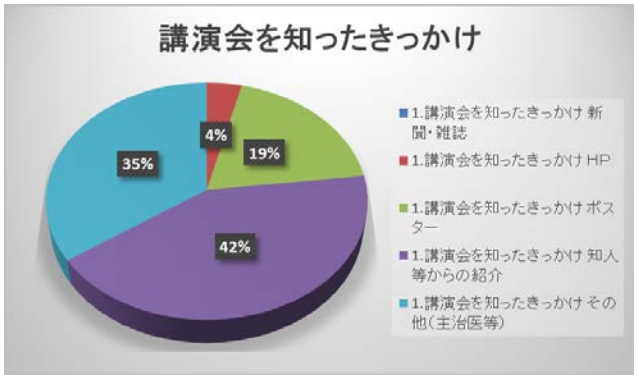
公益財団法人　福岡県中小企業振興センター　情報取引推進課

住所／〒812-0046　福岡市博多区吉塚本町 9-15
福岡県中小企業振興センタービル 6F

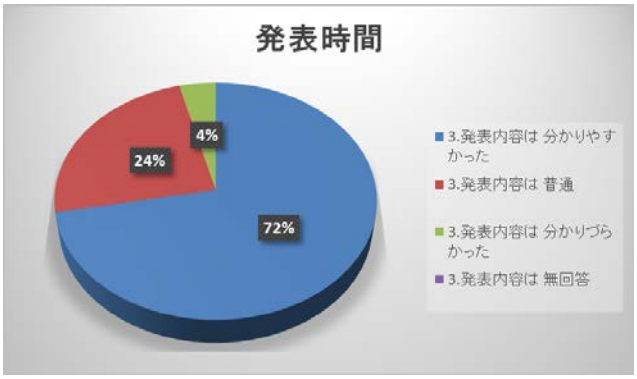
TEL ／ 092-622-6680　FAX ／ 092-624-3300

知っておきたい筋強直性ジストロフィー市民公開講座　アンケート集計　（2016.1.17　福岡県中小企業振興センター）61名参加（25名回収）

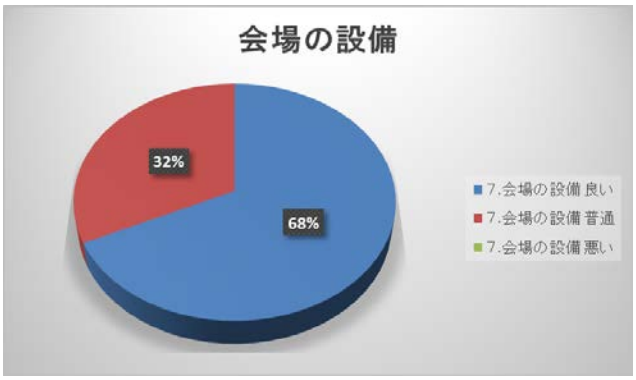
講演会を知ったきっかけ



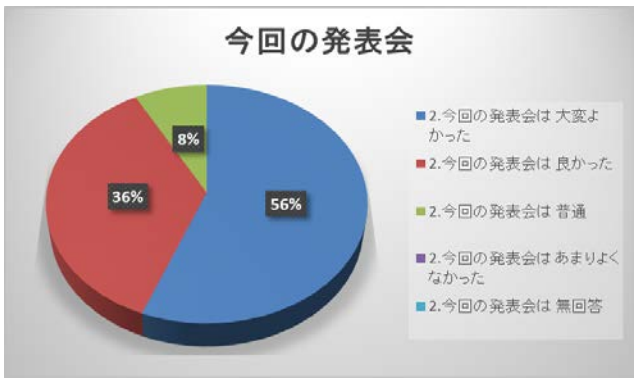
発表時間



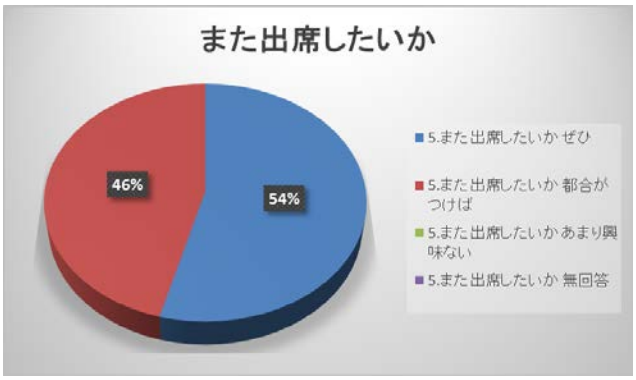
会場の設備



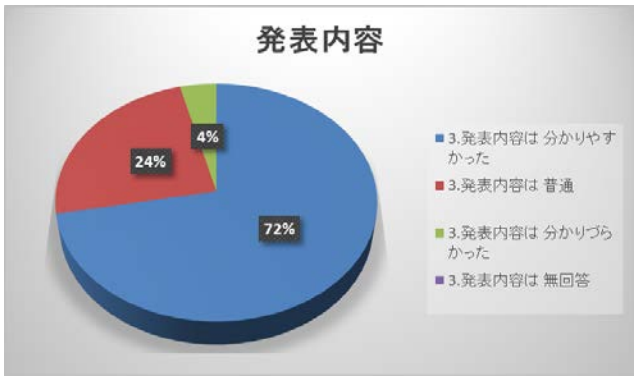
今回の発表会



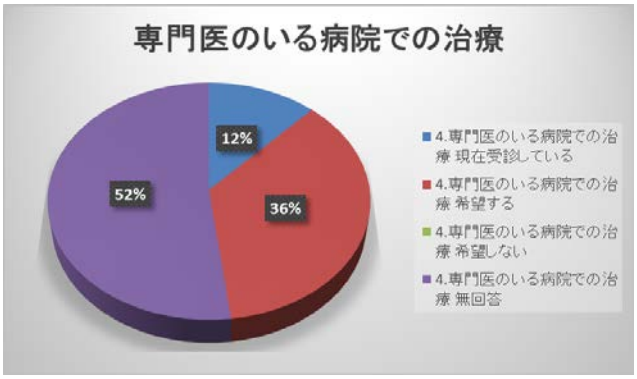
また出席したいか



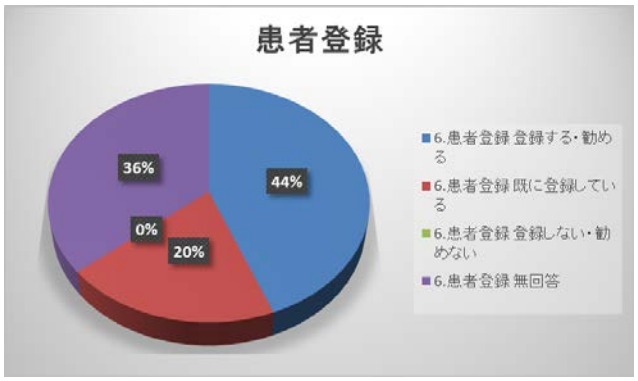
発表内容



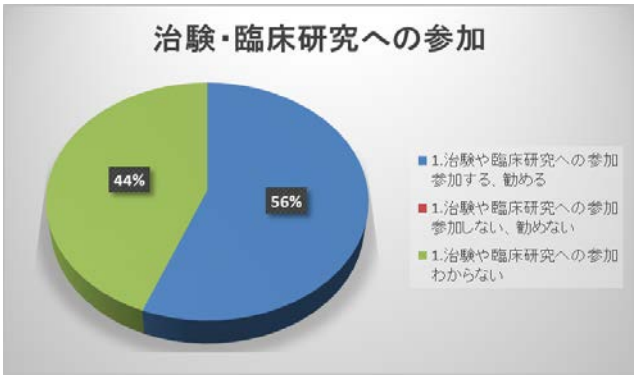
専門医のいる病院での治療



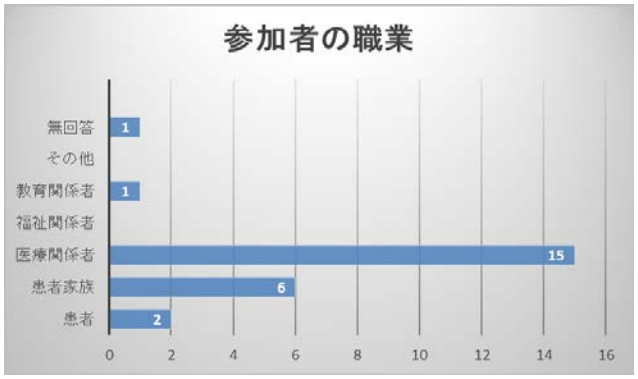
患者登録



治験・臨床研究への参加



参加者の職業



感想・要望

・専門用語は患者・家族にはわかりにくいと感じた

・配付資料が全部なくわかりにくい部分があった

・実際の患者さまが、どのような事で困っているかなどの声が聞ければ良いと感じた

・栄養や運動の専門家の話があった方がよい

・患者の意思決定について学びたかった

・講演内容で知らないこともあったので大変役に立った。理学療法士などと連携したい

・福祉サービスに関する情報について知りたい

・筋強直性ジストロフィー患者に特化した、生活動作などについて知りたい

・予定時間をオーバーしている先生が多かった、また話が一部聞き取りにくかった。

・患者家族は基本的な知識は持っている。実際に怒った症状に対する対処方法が重要。誤嚥・転倒時・入浴の事故対策など具体的に講演してほしい

・遠隔のため一般病院で受診しているが、一般病院には専門的な情報は伝わっているのでしょうか

9日、同市二日市中央の二日市コミュニティセンターであった＝写真。

成年後見制度は判断能力が不十分になった高齢者、障害者の人権を尊重しながら財産管理など生活支援を行う。福岡市に本部をおくNPO法人「高齢者・障害者安心サポートネット」(森山彰理事長)は、制度をより多くの人が利用できるように、市民ボランティアによる後見人育成研修に10年前から取り組んでいる。筑紫野市の研究会はその初期メンバーらが中心になり、実際に後見人となって直面した課題などを話し合い、高め合う狙いがある。この日は相続や財産管理などについて、実践問題形式で意見を出し合った。

同法人は、今月23日から8回にわたって開く育成研修の受講者を15日まで募集している。同法人＝092(737)2345。

中央区の佐伯さん 母校に絵寄贈
「夢に向かって挑戦を」

寄贈した絵を披露する佐伯和子さん(右)

中央区在住の美術家佐伯和子さん(66)が8日、母校の久留米市出身で、福岡市明星中(久留米市高良内町)に絵画を寄贈した。佐伯さんは後輩たちに「夢に向かって挑戦してほしい」とエールを送った。

佐伯さんは1964年3月に同校を卒業。子育てが一段落した45歳ごろ、彫金を習い始めたことをきっかけに、絵画とジュエリーを制作するようになった。2011年に日本美術家連盟の会員となり、国内外で作品を展示している。

寄贈したのは10年ほど前に制作した油絵で、タイトルは「避暑地 夢よばばたけ」。大分と熊本両県にまたがる涌蓋山を背景に、ブランコに乗る少女を描いている。「人は何歳になっても成長できることを、絵を通して伝えたい」と寄贈を決めたという。

同校での寄贈式では荒巻達也校長が佐伯さんに感謝状を贈呈。生徒を代表して2年生の長井夕佳さん(14)が「みんなで大切にします」と礼を述べた。

水道メーター盗難 東、博多区で相次ぐ
福岡市が注意喚起

福岡市は12日、市が設置している青銅製の水道メーターの盗難が東区と博多区で相次いでいるとして、注意を呼びかけた。市水道局によると、12日までの1月間で計52個盗まれ、ほとんどが集合住宅の貯水槽やごみ置き場など共用スペースにある水道のメーター集合住宅全体が断水した

「伝統構法」住
30、31日

開しているNPO法人「森林をつくろう」(佐賀県神埼市)。無料。

木造住宅に住みたい人や、伝統構法に関心のある建築関係者などを対象に開で)。家主の好意で開放するため、問い合わせのあった人にだけ、詳しい住所を教える。事務局・佐藤さん＝0952(65)4176。

木組みの技術や土壁住宅の内部

■フェミニンに装うおしゃれ帽子展　15日までの午前10時半～午後6時、早良区西新1丁目のあとりえ木綿子パークサイドギャラリー。愛知県一宮市で創作帽子を作る片山康子さんの作品展。シンプルでかぶりやすいおしゃれ帽子約100点を展示、販売する。最終日は午後4時まで。あとりえ木綿子＝092(846)6663。

■矢山昭子　陶彩画展　17日までの午前11～午後7時、中央区天神2丁目の村岡屋ギャラリー3階。佐賀県で創作活動をする画家の矢山昭子さんの作品展。陶板に有田焼の技法を用いて彩色する「陶彩画」の作品＝写真は「Grandmother」＝約20点を展示、販売する。期間中は矢山さん本人が在廊する。最終日は午後5時まで。同ギャラリー＝092(711)1187。

まちナビ

■市民公開講座「知っておきたい筋強直性ジストロフィー」　17日午前9時50分～午後3時半、博多区吉塚本町の県中小企業振興センター。筋ジストロフィーの中で、筋力低下のほか糖尿病などさまざまな合併症を伴う「筋強直性ジストロフィー」について、その症状や、日常生活での注意点などを国立病院機構大牟田病院の酒井光明医師ら11人の専門医と看護師が説明する。終了後に個別医療相談を実施(事前予約が必要)。刀根山病院・萩原さん＝06(6853)2001。

■地域コミュニティー「社会とつながるアカデミック・カフェ」第26回講演と交流　17日午後2時半～4時半、東区千早5丁目の香椎みゆき通り商店街みゆきビル2階コミュニティーギャラリー。福岡市香椎振興整備事務所計画調整係長の牧野和幸さんが「香椎駅周辺のまちづくり～土地区画整理事業」と題し、現在進められている同事業の内容や進み具合、目的などを話す。定員30人。予約優先。永井さん＝090(5932)9234。

■鹿谷敏文作陶展　20～26日午前10～午後8時(最終日は午後5時まで)、中央区天神1丁目の博多大丸6階アートギャラリー。鹿谷敏文さん(41)は福岡市出身で、高校卒業後に佐賀県有田町の、轆轤(ろく

知っておきたい
筋強直性ジストロフィー
@高知

筋強直性ジストロフィーってどんな病気？
高知大学医学部老年病・循環器・神経内科学　古谷博和

色々ある合併症～定期受診は健康管理の第一歩～
独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科　松村　剛

健康維持にリハビリテーションができること
国立病院機構徳島病院リハビリテーション科　藪田英吾

薬の開発研究の現状と治験の仕組み
大阪大学大学院医学研究科神経内科学　高橋正紀

患者登録は未来への第一歩
国立精神・神経医療研究センター TMC　木村　円

日 時：2016 年 3 月 26 日（ 土 ）
10:00～12:05（開場 9:20）

場 所：高知市文化プラザ かるぽーと
9F 特別学習室

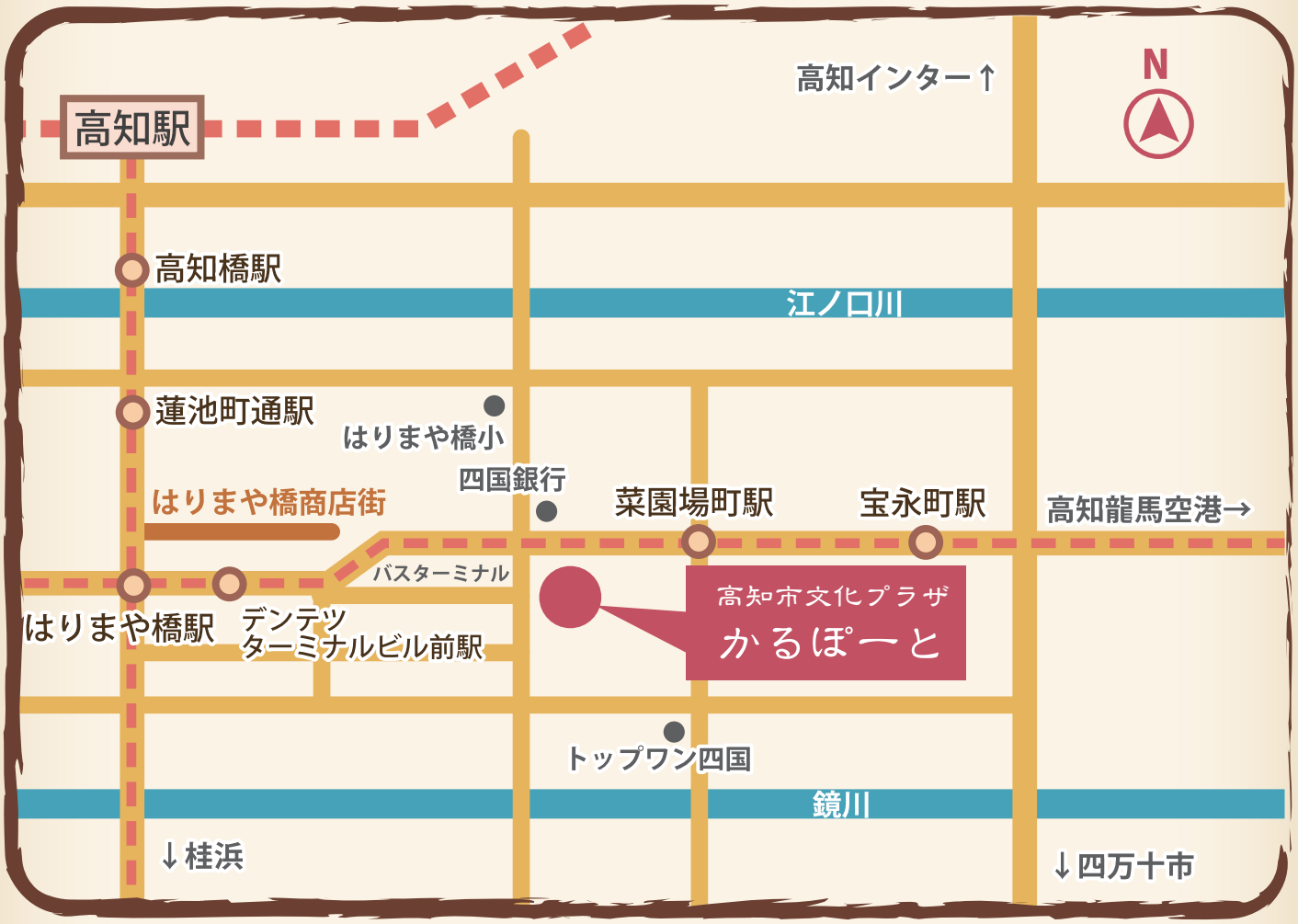
終了後、個別医療相談を予定しております。
事前予約が必要ですので、下記のお問い合わせ先にご連絡ください。
※お問い合わせはできる限りメールでお願い致します。

【問い合わせ先】
刀根山病院　担当：萩原
MAIL：office@dmctg.jp TEL：06-6853-2001

【共催】
筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班
難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした疾患レジストリー研究班
高知大学医学部老年病･循環器･神経内科学、国立病院機構徳島病院

高知市文化プラザ　かるぽーと

アクセス▽



高知駅より
◯電車で　とさでん交通　はりまや橋下車　徒歩5分　/　菜園場町下車　徒歩3分
◯バスで　とさでん交通　はりまや橋下車　徒歩5分
◯車で　5分

高知インターチェンジより
◯車で10分

※お車でお越しの方は地下有料駐車場をご利用ください。
通常料金（8:30～22:00）＝　30分ごと150円

高知龍馬空港より
◯車で30分
◯空港連絡バスで30分　はりまや橋観光バスターミナル下車　徒歩1分

高知市文化プラザ共同企業体

住所／〒780-8529　高知市九反田2-1　　電話／088-883-5011

参加者　　32名

何で知ったか	
新聞･雑誌	1
ﾎｰﾑﾍﾟｰｼﾞ	3
ポスター	1
病院で医師に勧められた	2
患者会からの案内	5
知人からの紹介	4
その他	1
手紙	1
大阪大学	2
facebook	1
息子から	1
無回答	1

講演会はどうだったか	
大変良か	13
良かった	6
普通	4
あまり良くなかった	

発表内容	
分かりやす	13
普通	9
分かりづらかった	

専門医のいる病院での治療	
現在受診している	13
希望する	5
希望しない	1
その他	2
無回答	2

患者登録	
登録する･	12
既に登録し	6
登録しない･勧めない	
分からない	1
無回答	4

治験や臨床研究	
参加する･	13
参加しない	1
分からない	6
無回答	3

性別	
男	12
女	10
無回答	1

年齢	
<20	1
21-40	4
41-60	11
60<	5
無回答	2

患者	6
患者家族	10
医療関係	2
福祉関係	1
教育関係者	
無回答	3

大変分かりやすく参考になりました　有り難うございました
以前大阪の講演に参加したものです　治療薬について少し進歩していることがありました　有り難うご
兄妹患者の母です　もっと専門の病院を知らせて下さい
患者会に寄附すると税金の控除がありますか
iPSとの連携はあるのですか　情報収集の環境の充実　早く薬が出来ますようお願いします
先天性筋強直性ジストロフィーについてもう少し詳しく後援していただきたい　小児科医の視点からの
各専門の先生のお話分かりやすく希望が出てきました　患者登録東湖の病気について一般の方にも
52歳の息子今一生懸命頑張っております　26年5月に近森病院に入院し退院でき27年4月～又仕事復
患者家族の声が聞ける講演もお願いしたい

又出席したいか
是非出席し　　12
都合がつ　　11
あまり興味なし

会場の設備
良い　　12
普通　　9
悪い　　1
少し狭いですねスライドが大きい方が良いです
無回答　　1

ざいました

意見を聞きたい
知ってもらえるよう協力していきたいと思います
復帰し嬉しく思い私も勉強し助けていこうと頑張っています

校了□・□内校・□同時 | 1人目 | 2人目 | 常識校 | チャンネル
日 時迄・作業時間

00 C 00 M 00 Y 00 K 50% C 50% M 50% Y 50% K

国立青森病院様　2015 筋ジストロフィー市民公開講座リーフレット／A4／A面／4c　3校
tkm_tp_KINGIS2015A_3

青森県 筋ジストロフィー 市民公開講座 in 青森市

平成27年

6月27日(土) 13:00~16:00

独立行政法人国立病院機構青森病院では、筋ジストロフィー医療の向上のため、広く、市民の方々、患者様、ご家族、医療・福祉・教育関係者の方などを対象に市民公開講座を行っております。みなさまのご参加をお待ちしております。

プログラム(予定)

13:00~13:05 開会の挨拶
一般社団法人日本筋ジストロフィー協会青森県支部 支部長　中山 博秀

13:05~13:40 筋ジストロフィーとはなんだろう?
独立行政法人国立病院機構 鈴鹿病院 病院長　小長谷 正明

13:40~14:15 筋ジストロフィーの治療
独立行政法人国立病院機構 刀根山病院 神経内科部長　松村 剛

14:15~14:50 よりよい筋ジストロフィーの療養のために
独立行政法人国立病院機構 青森病院 副院長　髙田 博仁

15:00~15:10 患者体験談
一般社団法人日本筋ジストロフィー協会青森県支部 会員　丸井 美津子
一般社団法人日本筋ジストロフィー協会青森県支部 会員　平田 榮子

15:10~15:20 療養介護病棟について
独立行政法人国立病院機構 青森病院 療育指導室 主任児童指導員/
サービス管理責任者　小野 亮平

15:20~15:55 新しい未来のために、みなで作る患者登録 Remudy を通して
NCNP トランスレーショナル・メディカルセンター 臨床研究支援室長　中村 治雅

15:55~16:00 閉会の挨拶
独立行政法人国立病院機構 青森病院 事務部長　齋藤 侯智

16:00~16:20 医療相談(事前予約制)

会 場

青森県観光物産館アスパム 4階 十和田
〒030-0803 青森県青森市安方一丁目1番40号
TEL:017-735-5311　FAX:017-735-2067
※駐車場は有料となります。(半額チケットを配布いたします)

画像提供:(公社)青森観光コンベンション協会

お問い合わせ 独立行政法人国立病院機構青森病院　地域医療連携室
〒038-1331 青森県青森市浪岡大字女鹿沢字平野155-1
TEL:0172-62-4055(内線 1134/5584/5560)　FAX:0172-62-7534　e-mail:msw@aomori-hosp.jp

お申し込み 裏面の参加申込用紙に必要事項をご記入の上、平成27年6月19日(金)までに、FAXにてお申し込みいただきますようお願いいたします。

主 催 独立行政法人国立病院機構青森病院

後 援 一般社団法人日本筋ジストロフィー協会青森県支部・青森県難病団体等連絡協議会
「国際協調に基づく臨床研究基盤としての神経筋疾患ナショナルレジストリーの活用と希少な難治性疾患への展開を目指した研究」班(木村班)
「筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究」班(松村班)

ミオパチー(筋疾患)の会オリーブ

難 病 医 療 講 演 会

開催日：２０１５年 7月１２日（日）

場　所：広島市南区地域福祉センター４階 大会議室

プログラム

講演Ⅰ 13:00～14:00

「福山型筋ジストロフィーと最新治療研究開発」

神戸大学大学院医学研究科神経内科学／分子脳科学　教授

戸 田 達 史 先生

講演Ⅱ 14:15～15:15

「知っておきたい筋強直性ジストロフィー@広島」

刀根山病院　神経内科　部長

松 村　　剛 先生

質疑応答 15:30～16:00

資料代：５００円

無料医療相談（要予約）

埜 中 征 哉先生（国立精神・神経医療研究ｾﾝﾀｰ病院名誉院長）ほか顧問医師による個別の相談を行います。相談は無料ですが、事前の予約申込が必要となります。詳しくは裏面のお問合せ先までご連絡下さい。

主催：ミオパチー（筋疾患）の会オリーブ
後援：広島県、広島市、難病対策センター、広島県医師会、広島県看護協会、広島市社会福祉協議会、広島市南区社会福祉協 議会、広島県社会福祉士会、広島難病団体連絡協議会(申請中)
協賛：フィリップス・レスピロニクス、山脇酸素、COVIDIEN（予定）

参加申込書

2015年　月　日

ミオパチー（筋疾患）の会オリーブ　行

FAX番号：082-255-7733

お名前		ご住所	
ご所属	〒	ご連絡先	電話・携帯電話
通信欄			

※ただいた個人情報は慎重に管理し、本件講演会の参加管理のために使用します。

お問合せ先：
携帯電話　090－7501－3081
メール　mio-olive-125@ezweb.ne.jp

以下を切り取ってFAX送信してください

南区地域福祉センター（南区役所別館）

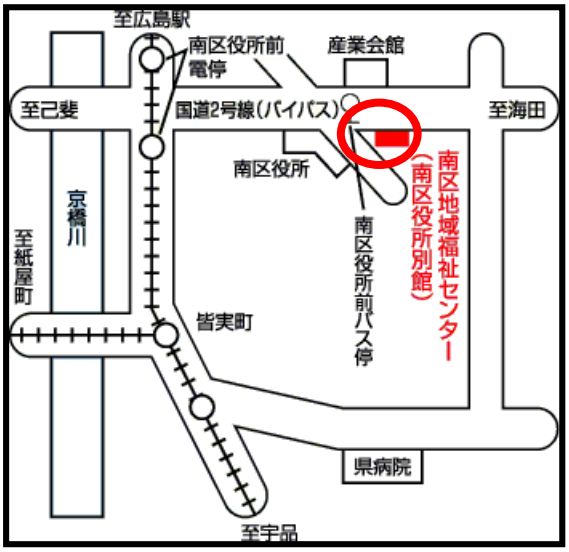
広島市南区皆実町1-4-46　電話 082-251-0525

【バス・度面電車利用の場合】

広島バス：
- **大学病院行（10号線・23号線）に乗車、「皆実町一丁目（産業会館前）」下車徒歩２分**
- **旭町行（26号線）に乗車、「皆実町一丁目（産業会館前）」下車正面**

広電バス：
- **仁保車庫前行（７号線）に乗車、「南区役所前」下車　徒歩５分**

広島電鉄：
- **比治山下経由広島港行(5番線)に乗車、「南区役所前」下車　徒歩５分**



筋強直性ジストロフィー市民公開講座2015@秋田のご案内

知っておきたい 筋強直性ジストロフィー

日時　2015年11日15日(日) 10：30～12：15（開場10：00）
場所　国立病院機構あきた病院　2階 大会議室

第一部
「みんなで変えよう筋強直性ジストロフィーの医療」
国立病院機構刀根山病院 神経内科
松村 剛先生

第二部
「筋強直性ジストロフィーの未来に向けて
～Remudyのご紹介～ 」
国立病院機構青森病院 神経内科
高田 博仁先生

【問い合わせ先】　国立病院機構あきた病院　　担当；医療連携室
〒018-1393 由利本荘市岩城内道川字井戸ノ沢84-40
E-mail：RenkeiAkita@hosp.go.jp　TEL：0184-73-2002

【共催】
筋ジストロフィー診療における医療の質の向上ための多職種協働研究班
難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした疾患レジストリー研究班
国立病院機構あきた病院

河北新報
2015年(平成27年)10月30日(金曜日)
(25) くらし

全身疾患「筋強直性ジストロフィー」

基礎知識や最新治療紹介

来月・あきた病院で講座

筋萎縮や筋力低下のほか、臓器にも合併症を起こす全身疾患「筋強直性ジストロフィー」への理解を深めてもらおうと、国立病院機構あきた病院（由利本荘市）は11月15日、同病院で市民公開講座を開く。

この病気は筋ジストロフィー症の一つで、白内障や糖尿病など幅広い合併症を起こすが、神経内科医でないと確定診断が難しく、この病気とは気付かれにくい場合があるという。認知機能が低下することもあるため病気の認識を持ちにくいとされ、未受診の潜在的患者が少なくない。家族や医療従事者らも含め、正しい知識を広めたいとして企画した。

当日は大阪と青森の専門医が講師を務め、病気の基礎知識や治療の最新情報を紹介。また、神経・筋疾患患者向けに薬の治験といった最新情報を提供しているウェブサイト「Remudy（レムディ）」を紹介し、登録を呼び掛ける。

あきた病院の和田千鶴神経内科部長は「医療現場でもあまり知られていない病気。確定診断ができれば、将来起きうる症状や対処法を助言できる」と話す。

15日午前10時半～午後0時。参加無料で事前申し込み不要。連絡先は同病院地域医療連携室018(73)2002。

くらし

研究班ホームページ 2015 年度更新コンテンツ

http://dmctg.jp

ホームページトップページ

新規コンテンツ(掲載日)

「一般の方へ」ページ

１．筋強直性ジストロフィーの多臓器症状 (2016 年 1 月 10 日)

２．筋強直性ジストロフィーと診断された方へ (2015 年 8 月 19 日)

３．妊娠･出産に関する注意事項 (2015 年 8 月 31 日)

４．手術･麻酔(鎮静)に関する注意事項 (2016 年 2 月 28 日)

(ア) 筋強直性ジストロフィーの手術･麻酔に関する注意(一般･医療者向け)

(イ) 筋強直性ジストロフィーの麻酔･鎮静に関するメモ(医療者向け)

５．IDMC-10 レポート (2015 年 6 月 29 日)

(ア) IDMC レポート～IDMC に参加して～

(イ) Family Day レポートから AFM テレソンを見学して～

６．AFM テレソン Q&A 和訳 (2015 年 10 月 30 日)

７．日常に役立つヒント集 (2015 年 8 月 19 日)

「医療関係者の方へ」ページ

１．手術･麻酔(鎮静)に関する注意事項 (2016 年 2 月 28 日) (一般の方へ-４と共通)

２．神経筋疾患患者での栄養所要量推定の工夫 (2016 年 3 月 17 日)

３．指定難病関連資料 (2015 年 6 月 29 日)

※ファクトシート(昨年報告書に添付のため添付略)

「研究班の紹介」ページ

１．実施中の臨床研究 (2015 年 10 月 7 日)

(ア) 呼吸障害グループ

(イ) 循環器障害グループ

(ウ) 代謝障害グループ

(エ) 中枢神経障害グループ

２．2014 年度実績報告書 (2015 年 10 月 7 日)

※昨年度報告書のため添付略

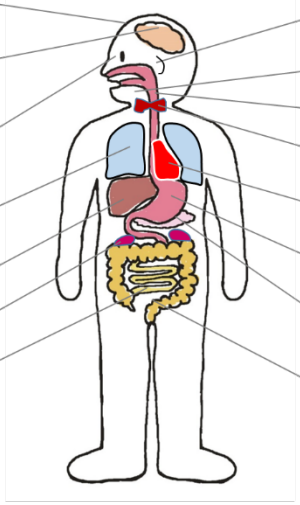
筋強直性ジストロフィーで見られる多臓器の症状

筋強直性ジストロフィーで頻度の高い多臓器症状としては以下のようなものがあります

１．骨格筋障害：筋強直現象、筋力低下、筋痛
２．呼吸障害：低酸素血症、睡眠時無呼吸、日中過眠、呼吸不全、排痰能力低下・無気肺
３．心障害：心伝導障害、不整脈・洞不全症候群、心不全
４．構音・嚥下障害：咀嚼嚥下障害、鼻咽頭閉鎖不全、歯列不整・虫歯
５．代謝障害：耐糖能障害(インスリン抵抗性、糖尿病)、脂質異常症(高脂血症)
６．消化管障害：便秘、巨大結腸・腸閉塞、食道拡張、胃拡張､胃食道逆流等
７．眼症状：白内障、網膜色素変性症、眼瞼下垂・兎眼、眼球運動障害
８．耳鼻科的障害：難聴、中耳炎・副鼻腔炎、真珠腫
９．中枢神経障害：易疲労感、日中過眠症
１０．内分泌障害：甲状腺、性腺等
１１．肝・胆道系障害：脂肪肝、胆石・胆嚢炎等
１２．腎機能障害
１３．腫瘍
１４．骨異常：骨肥大等、頚椎症
１５．末梢神経障害
１６．免疫異常(免疫グロブリン:IgG 低値)
１７．皮膚症状(禿頭、石灰化上皮腫等)

それぞれの、概要と注意点を記しました。これらの症状は、一人の患者様に全てが見られるわけではありませんが、比較的頻度の高いものです。早めに対処することで、より良い状態を維持できるものも多いのですが、ご本人が症状に気付いていない場合が多い こと、検査をしないと発見できないものが多いことなどのため、病状が進行してからの発見が多い、突然死が多いなどの問題があります。専門医療機関への受診と定期的な検査、生活指導やリハビリテーション、投薬など必要な処置を受けられることをお勧めします。

多臓器の症状



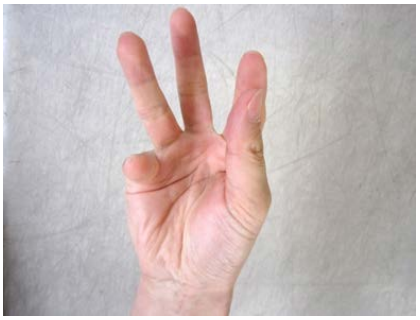
- 禿頭、石灰化上皮腫
- 白質脳症、認知症、過眠症、神経原性変化
- 白内障、網膜色素変性症、眼瞼下垂、外眼筋麻痺
- 低酸素血症、睡眠時無呼吸、呼吸不全、無気肺
- 脂肪肝、胆石・胆嚢炎
- 腎機能障害
- 便秘・イレウス、巨大結腸
- 骨肥大、後縦靱帯骨化症、副鼻腔拡大
- 末梢神経障害
- 難聴、中耳炎、真珠腫、副鼻腔炎
- 嚥下障害
- 食道拡大、胃食道逆流
- 甲状腺機能障害
- 心伝導障害、不整脈、洞不全症候群、心不全
- 胃拡張
- インスリン抵抗性、糖尿病、高脂血症、慢性膵炎
- 子宮筋腫、卵巣腫瘍、精巣萎縮
- 良性・悪性腫瘍(諸臓器)
- 免疫グロブリン低下

骨格筋障害

１．筋強直現象(ミオトニア)

筋肉がスムーズに動くには、興奮(収縮)と弛緩が速やかに生じることが大切ですが筋強直性ジストロフィーでは興奮が収まりにくく、収縮が弛緩しにくい(強直)特徴が有ります。このため手を強く握った後にパッと開きにくい(把握ミオトニア)、筋腹をハンマーでたたくと筋肉の収縮が起きる(叩打ミオトニア)といった現象が見られます。また、筋電図では筋肉に針を刺した時に興奮が長時間持続するミオトニア放電が特徴的です。

把握ミオトニア



手を強く握って開こうとしたところ

筋強直現象は本症を特徴付ける症状ですが、日常生活に重篤な影響を及ぼすことは多く有りません。抗痙攣剤や抗不整脈剤が筋強直現象に対して用いられることがありますが、心伝導障害を増悪させる、眠気やふらつきなどが問題になることがあります。薬の必要性を十分に踏まえた上で使用すること、服用する場合は心電図や肝機能など副作用のチェックを定期的に行うことが大切です。

２．筋力低下・筋痛

筋強直性ジストロフィーでは筋力低下の部位に特徴が有ります。筋疾患では通常大きな力がかかる近位筋(腰帯部、肩甲帯部)から冒されやすいのですが、本症では、咀嚼筋(側頭筋)、遠位筋(手指、足底)、体幹筋(胸鎖乳突筋、背筋、腹筋)等から冒されやすい特徴があります。このため、本症で初期に見られやすい症状としては、ペットボトルの蓋を開けにくい、片足立ちがしにくい、つまずきやすい、堅い物が噛みにくい、臥位で頭が持ち上げにくい、臥位から起き上がりにくい、といったものがあります。腰痛など筋肉痛を訴える方も多く見られます。

日常生活でどのような動作に気をつけるべきか、どの程度の活動が望ましいのか、適切な装具や自助具、環境調整の方法などについて、主治医やリハビリテーション科で相談されると良いでしょう。学校や職場での配慮についてはソーシャルワーカーなどが相談に当たれる場合もあります。

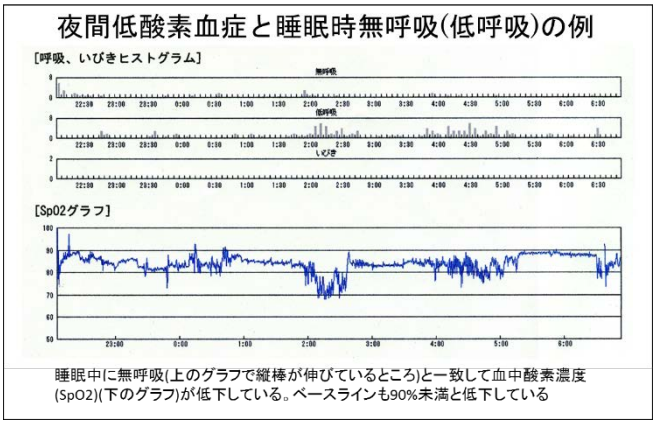
３．手術・分娩を予定される場合

筋強直性ジストロフィーでは筋肉の易興奮性が存在するため、一部の麻酔薬や子宮収縮抑制剤で重篤な副作用が出ることがあります。手術や分娩を予定される場合は、担当医に本症に罹患していることを必ず伝えるようにしてください。

呼吸障害

１．低酸素血症、睡眠時無呼吸、日中過眠、呼吸不全

筋強直性ジストロフィーでは呼吸調節障害があるため、呼吸機能(肺活量)が保たれていても血中の酸素濃度が低下していることがあります。また、睡眠中に無呼吸が高頻度に見られます。睡眠の質が低下するため、日中に眠気(日中過眠)や疲労感が出やすくなります。呼吸筋力が低下すると二酸化炭素の増加も加わります。低酸素血症は様々な臓器に悪影響を及ぼしますが、自覚症状は無く患者様自身が気付かれることはほとんど有りません。しかし、酸素の余裕が乏しいと、軽い感冒でも呼吸状態が急性増悪し生命に危機が及ぶこともあるため要注意です。肺活量などの呼吸機能検査に加え、睡眠中の呼吸状態を定期的に検査することが重要です。また、運動により低酸素血症が改善するか増悪するかを検査するために、運動中の血中酸素濃度や不整脈を検査する(6 分間歩行試験、トレッドミル etc)ことも大切です。



睡眠中に無呼吸(上のグラフで縦棒が伸びているところ)と一致して血中酸素濃度(SpO2)(下のグラフ)が低下している。ベースラインも90%未満と低下している

治療は非侵襲的呼吸管理(マスクを用いた呼吸管理)が基本ですが、自覚症状が乏しいため治療を面倒に感じて中断する方が多いことが問題です。酸素の投与は呼吸を抑制するリスクがあること、低酸素血症事態の改善も乏しいことから勧められません。一部の薬剤も有効性が報告されていますが保険適応のものはありません。

２．呼吸機能低下、排痰能力低下

病気の進行に伴い呼吸筋力が低下し、肺活量など呼吸機能も低下します。本症では臥位では立位・座位に比べて肺活量が低下することが知られています。また、喉頭機能(喉の機能)が初期から障害されるため、強い咳をすることが困難で痰が出しにくくなります 。このため無気肺が生じやすく、レントゲンでは横隔膜の近く(下肺野)に線状の無気肺が多く見られます。こうしたことから、本症では肺をきれいに保つことが困難になります。呼吸理学療法(肺胞拡張訓練、咳嗽(がいそう) 補助訓練等)が二次性肺障害の予防に重要で、必要に応じ蘇生バックや排痰補助装置の使用も考慮します。

板状無気肺例
右下肺(写真左下)に白い線のような無気肺が見られる

３．手術の予定がある場合

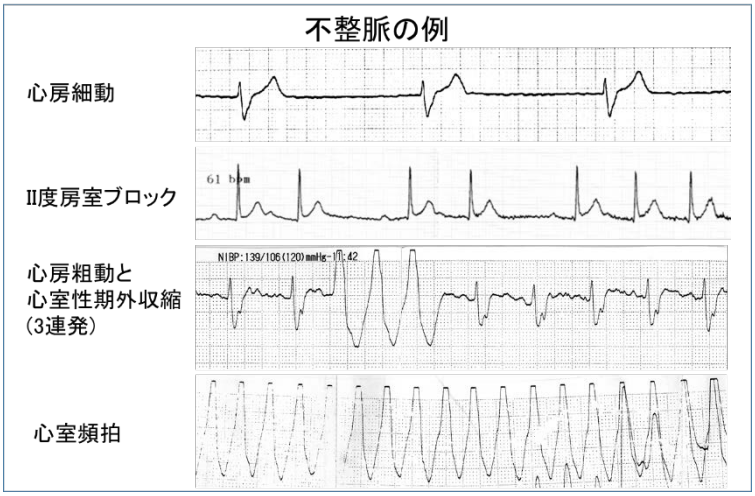
全身麻酔を伴う手術を予定される場合は、一般的な呼吸機能検査に加え、排痰能力(咳をする力)の検査(ピークフロー)や就寝中の呼吸状態評価の検査を受けましょう。胸部レントゲンや CT 等で、肺の状態を確認しておくことも大切です。術前から咳嗽(がいそう) 訓練など呼吸理

学療法を実施、就寝中の酸素が不安定な患者様では非侵襲的人工呼吸管理の練習をしておかれることを勧めます。

心障害

１．心伝導障害、不整脈、洞不全症候群

心臓は心房にあるペースメーカーで一定のリズムで信号を発生させ、心伝導路を通じてその信号を心房から心室に伝えることで拍動が生じます。筋強直性ジストロフィーでは、ペースメーカーの機能障害、心伝導路の障害が生じるため不整脈が起きやすくなります。不整脈は自覚されることは少ないですが、生命に関わる場合もあります。定期的な心電図検査・24 時間心電図(ホルター心電図)などで、早期に異常を発見し適切な処置をとることが大切です。一部の薬剤、低酸素血症や電解質異常も不整脈を誘発することがあるため注意が必要です。治療としては薬物、カテーテル焼灼(アブレーション)、ペースメーカー埋込、埋込式除細動器などがあります。



２．心不全

筋強直性ジストロフィーでも心不全(心臓のポンプ障害)が見られることがありますが、多くありません。低酸素血症や徐脈などが心不全の一因となりますので、呼吸器装着やペースメーカー埋込など適切な処置を執ることが大切です。

３．手術を予定される場合

手術を予定される場合、12 誘導心電図、24 時間心電図、心エコー検査は必ず受けましょう。車いすの患者様などでは下肢の血栓が見られることもあるため、下肢静脈エコーなど血栓の検索も受けられておくことをお勧めします。

構音嚥下障害

１．咀嚼(そしゃく)嚥下障害

筋強直性ジストロフィーでは咀嚼(そしゃく)筋や咽喉頭筋の障害が早期から見られます。また、歯並びの悪さ(歯列不整)、高口蓋・鼻咽頭閉鎖不全、舌機能障害(舌萎縮・運動障害)など歯科学的異常も見られます。これらのため、本症の患者様は堅い物が噛みにくく、飲み込みが下手になります。食べたものが咽頭(梨状窩、喉頭蓋谷)に貯まる、間違って気道に入る(誤嚥)ことも多く見られます。誤嚥してもムセが起きない患者様も多く、レントゲンで初めて誤嚥に気付かれる場合もあります。食べ物を丸呑みすることも珍しくなく、窒息の危険性が高くなります。咀嚼(そしゃく)嚥下障害も自覚症状に乏しく、誤嚥してもムセが起こらないことが多いため、ご自身が気付かれることはほとんど有りません。誤嚥性肺炎の原因、低酸素血症の増悪因子としても重要で、定期的な嚥下機能評価や言語療法士による嚥下訓練、嚥下機能にあわせた食形態の工夫、定期的歯科受診による口腔衛生維持、口腔吸引などを考慮します。

慢性不顕性誤嚥例
右下肺(写真左下)に浸潤影
(白い部分)を認める

２．構音障害

唇を閉じる力が弱い(口唇閉鎖不全)、口腔と鼻腔の間の軟口蓋を持ち上げる力が弱い(鼻咽頭閉鎖不全)、舌が小さく動きが悪い、高口蓋のため舌が上顎に届きにくい、喉頭を閉じる力が弱い等のため、鼻声(開鼻声)や明瞭さの低下(呂律障害)が見られることがあります。言語治療士による訓練や、装具を用いることで改善がえられることもあります。

３．手術を予定される場合

嚥下障害がある場合、全身麻酔からの回復期(抜管後)に誤嚥性肺炎を起こす場合があります 。明らかな誤嚥があっても、自覚されている方は少数です。手術前には言語治療士や嚥下造影検査など嚥下機能評価を受けておきましょう。歯科を受診して、歯石除去や虫歯の治療など口腔衛生を良い状態にしておくことも大切です。

代謝障害

１．耐糖能障害

筋強直性ジストロフィーではインスリン受容体に異常が見られ、インスリンの効き目が悪くなります(インスリン抵抗性)。このため、本症の患者様は病初期にはインスリンを沢山分泌して血糖を維持しています(高インスリン血症)。加齢や運動機能低下、肥満などはインスリンの効き目をさらに低下させ糖尿病のリスクが高くなります。一方、筋肉は糖分の貯蔵庫としても大きな役割を果たしています。筋肉が萎縮(減少)すると糖分の貯蔵能力が低下するため、食後には血糖が高く、空腹時には血糖が低くなるなど血糖変動が大きくなります。このため、糖尿病でも空腹時の血糖は正常な場合があるため、糖負荷試験や日内血糖変動を測定することが重要です。何よりも、適切な栄養管理が重要で、糖分の摂取を控えめにすることが大切です。

２．脂質代謝障害

筋強直性ジストロフィーでは中性脂肪やコレステロールが上昇していることが多く見られます。体脂肪率は上昇し、内臓脂肪も多く、脂肪肝が多く見られます。高脂血症治療薬の多くは骨格筋に影響を及ぼすことが有り、本症の患者様ではそのリスクが高くなると言われています。糖尿病と同様に適切な栄養管理が最も重要です。高脂血症の薬剤を服用する場合は、投与前後で採血してもらい血清 CK 値(骨格筋の障害を測定する検査)に変化が無いか確認していただくと共に、筋肉痛などに注意して普段より強い症状が出たときは主治医に相談し検査や適切な処置を受けるようにしましょう。

３．必要栄養量についての注意点

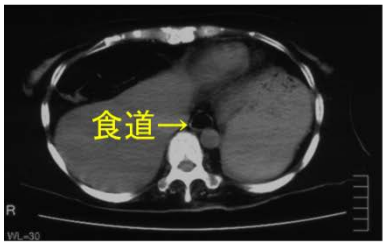
筋肉が萎縮する病気では運動量の減少、体脂肪率の上昇などのため、同じ身長・体重・性の一般人に比べると必要栄養量が低下します。適切な必要栄養量および栄養素の構成については栄養士と適宜相談ください。レントゲンや体脂肪計等を用いた体組成分析を受けるとより適切な栄養指導が行いやすくなります。日常生活においては、こまめに体重測定することが大切です。できれば毎日体重測定して食事量を調整しましょう。

消化管障害

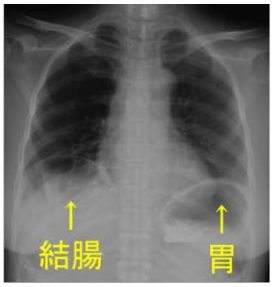
平滑筋の障害により消化管運動(蠕動)も低下します。食べた物が便として排泄されるまでの時間は、一般には 24 時間程度といわれていますが、筋強直性ジストロフィーの患者様では 72 時間以上かかる方もおられます。咀嚼(そしゃく)筋が弱いため線維質の食べ物を避ける傾向が強いことや、腹筋の力が弱いためいきむ力が弱いことも一因です。

食道拡張や食道での通過障害のため食べた物が長時間食道にとどまっていることがあります。また、一度胃に入った食べ物が食道に逆流することもあります(胃食道逆流)。食後直ぐに横になると食道の中にたまった食べ物が喉まで上がって誤嚥することがあります。食後直ぐに横になることは避けましょう。

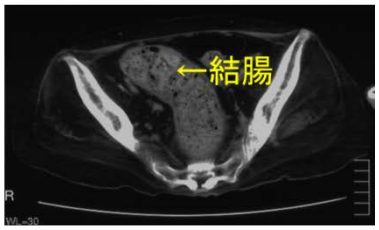
食べ物の通過時間が長いので、毎日排便していても便秘であることが多いことに注意しましょう。一般的な便秘対策(適度な運動、水分摂取など)で応用可能なものはできるだけ取り入れましょう。食物線維はパウダー(薬局で購入できます)などで補うことが可能です。



食道が拡張し内腔の空洞が見える



胃と結腸がガスで拡張し
横隔膜を挙上している



結腸の拡大と便の充満を認める

眼症状

１．白内障、網膜色素変性症

筋強直性ジストロフィーでは若年から白内障が見られることが知られています。また、網膜色素変性症が見られることもあるます。徐々に進むため、異常に気付いておられない方も多く見られます。定期的に眼科を受診して検査してもらうことをお勧めします。

２．眼瞼下垂・兎眼、外眼筋麻痺

目を閉じる力が弱いため、寝ている時に薄目を開けていることが多くなります(兎眼)。目が乾燥しやすく(ドライアイ)、角膜を傷つけやすくなります。必要に応じ、目薬・眼軟膏や眼帯・ゴーグルなどの使用を考慮しましょう。

上眼瞼が垂れてきて瞳孔にかぶさって視野を妨げる状態になることもあります(眼瞼下垂)。手術で瞼を持ち上げる処置もありますが、兎眼を合併している場合、手術により兎眼が増悪しないか確認して実施することが大切です。手術で一旦改善しても、時間の経過と共に再発することも多いことを知っておきましょう。一時的な対応策としては、二重瞼を作るための化粧道具(アイプチ®など)を使う方法もあります。

眼球運動に障害が出ると(外眼筋麻痺)、目の位置がずれる(斜視)、物がダブって見える(複視)などの症状が出ることがあります。プリズム眼鏡などが有効なことがありますので、眼科で相談下さい。

耳鼻科的障害

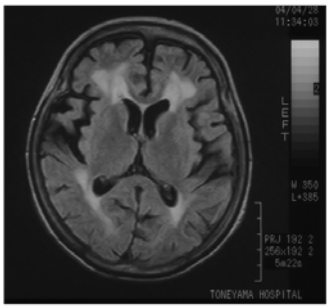
筋強直性ジストロフィーでは難聴が多く見られ、高音域から障害されます。中耳炎の頻度も高く、真珠腫も見られることがあり、これらが難聴の原因である場合は適切な処置が大切です。自覚されていない事も多いため、耳の異常を感じた時は耳鼻科を受診されること、定期的な聴力検査をお勧めします。

副鼻腔炎も頻度の高い合併症です。放置すると肺炎などの原因にもなります。声の調子が変わったなど、違和感をおぼえた時は耳鼻科を受診して下さい。

中枢神経障害

先天性筋強直性ジストロフィー(出生時から症状のある患者様)では、精神発達障害がほぼ必発です。健常児に比べると精神発達に時間がかかるのですが、長期間にわたって知的発達を遂げることが多いので、根気強くアプローチすることが大切です。

成人発症の患者様では、MRI などの画像検査で白質の異常信号域を認める、病理でタウ蛋白やアミロイドの蓄積を認めるなどの異常があり、こうした変化は慢性進行性に経過します。性格的にも無欲状、自発性の乏しさなどといった特有の雰囲気が見られることが多く、病気の進行に伴い認知機能も低下します。大切なスケジュールは家族で共有する、などの工夫を心がけましょう。



MRI白質異常信号像

内分泌障害

様々なホルモンの異常が報告されています。比較的頻度の高いものとして、甲状腺機能異常や性腺機能異常があります。甲状腺機能障害は甲状腺の腫瘍による場合もあるので、エコーや CT 等の検査も必要に応じて受けましょう。

肝・胆道系障害

代謝障害の影響もあって脂肪肝が多く見られます。また、胆石や胆嚢炎も比較的頻度の高い合併症です。定期的に腹部エコーなどの検査を受けられることをお勧めします。

腎機能障害

私達が調べたところでは、筋強直性ジストロフィーの患者様では腎機能が低下している方が多いことが分かりました。一般に用いられる腎機能指標(クレアチニン)は骨格筋量の影響を受けるため、筋肉の萎縮した患者様では数値が低下して、腎機能異常が見過ごされやすい危険性があります。シスタチン C など骨格筋の影響を受けない腎機能指標を用いて定期的な腎機能評価を受けておきましょう。造影剤を使った検査などでは事前に腎機能の評価を受けましょう。

腫瘍

腫瘍の発生率が一般より高いと言われています。私達が調べたところでは、女性患者様では子宮筋腫や卵巣嚢腫など生殖器腫瘍が 60%以上で認められました。皮膚では石灰化上皮腫(芯のある丘疹)が頭皮などに多く見られることも知られています。腫瘍の種類は特定の臓器に集注しているわけではなく、良性腫瘍も悪性腫瘍も認められます。成人病検診や人間ドックなど全身の定期的な検索をお勧めします。

骨代謝異常

一般に運動能力が低下すると骨はもろくなる(骨粗鬆症)のですが、筋強直性ジストロフィーの患者様ではむしろ骨肥大が多く見られます。骨の加齢的変化が起きやすく、頚椎症や腰椎症(後縦靱帯骨化症、脊柱管狭窄症など)も多い合併症です。稀ですが、首の上部で環軸椎亜脱臼がみられることも有ります。こうした骨の変形がある患者様では、むち打ちや転倒などで強い力を受けると脊髄や神経を圧迫損傷することがあります。定期的な画像検査を受けること、必要に応じてカラーやコルセット装着など安定を図ることに注意しましょう。原疾患による遠位筋優位の障害があるため、異常に気付くのが遅れる場合があり

ます。しびれ感や脱力感の進行が見られた場合には頚椎症や腰椎症についても疑ってみることが大切です。

末梢神経障害

　末梢神経も障害されることが報告されています。しびれなどが見られた場合は末梢神経障害も検査してみることが大切です。

免疫異常

　筋強直性ジストロフィーでは免疫蛋白の一部(IgG)が低値を示す方が多く見られます。感染の起きやすさに影響しているかどうかは明らかとなっていませんが、うがいや手洗い、ワクチン接種など一般的な感染予防対策はしっかりと行いましょう

皮膚症状

　前頭部優位の禿頭が多く見られます。石灰化上皮腫も多く、必要に応じて切除等の処置をします。

筋強直性ジストロフィーと診断された方へ(定期受診のお勧め)

多くの患者様が今できる治療を受けておられない！

筋強直性ジストロフィー医療における重要な問題の一つは、患者様の専門医療機関への受診率が低い(受診中断率が高い)ことです。本症ではデュシェンヌ型筋ジストロフィーなどに比べて、生命予後の改善が乏しい現実があります。これは、本症に多彩な合併症が併発することにもよりますが、できる治療をきちんと受けておられない(病院を受診されない・受診を中断される)方が多いことも大きな理由です。

患者様が、受診を中断されるには色々な理由があると思います。代表的と思われるものを挙げてみました。

１．筋強直性ジストロフィーの根本的治療法がない
２．症状や機能障害に対する自覚が乏しい(困った感が乏しい)
３．治療を受けても改善したという自覚が乏しい(２の裏返し、元々苦しい感じが乏しいため治療しても楽になった感じが無く、治療の効果が感じにくい)
４．受診や検査にお金と手間がかかる(指定難病に認定されたことで、一定の基準を満たした患者様は医療費助成を受けられるようになりました)

このように考えると、病院を受診する意義を感じにくいことにも、無理からぬ点があると思います。しかし、それは明らかな間違いです。魔法の薬を求める人には現在の医療は不満足なレベルかもしれませんが、できることは沢山有ります。きちんと医療機関を受診し、今できる治療をきちんと受けましょう。

専門科(神経内科・小児神経科)を核とした集学的医療が重要です！

私達は筋強直性ジストロフィーこそ、定期的な専門医療機関の受診が大切と考えています。その理由は、本症の患者様では自覚症状が無くても、治療を必要とする機能障害・合併症を認める方が多いこと、運動機能障害が軽くても合併症が見られる方が多いこと、それらの多くは定期的な機能評価・検査により早期対応が可能なためです。本症で見られる合併症については別項(「一般の方へ」「筋強直性ジストロフィーとは」「筋強直性ジストロフィーは全身の病気」)でも述べていますが、生命予後への影響が大きいものには以下のようなものがあります

１．低酸素血症、睡眠時無呼吸: (呼吸機能とは無関係に生じる)
２．心伝導障害・不整脈
３．嚥下障害、誤嚥性肺炎
４．代謝障害(糖尿病、高脂血症等)
５．腫瘍

これらは、無自覚に進行していくため定期的な検査を受けなければ、重篤な段階まで見過ごされ、突然死の原因ともなります。また、こうした問題を抱えた患者様は、ふだん普通に暮らしておられても、軽い風邪で重篤な呼吸不全を呈す、全身麻酔手術でトラブルを起こすこと等があります。分かっていれば予防可能な問題ですが、気付いていなければ深刻な事態を招きかねません。早期発見と早期対応により、最善の健康状態を維持することが大切です。

本症には様々な合併症がありますが、本症の全体像について最も理解しているのは専門科(神経内科・小児神経科)です。合併症のために複数の診療科を受診されている患者様も多いですが、神経内科・小児神経科を核として連携を取ることで、集学的医療が容易になります。

リハビリテーションも大切です

定期受診に合わせてリハビリテーションも受けましょう。本症でのリハビリテーションの目的は、いわゆる筋力増強や運動機能改善では無く、機能障害に合わせた訓練(運動、呼吸、嚥下訓練等)や装具・自助具の処方，環境調整等により安全を図りつつ生活レベルを維持することや、誤嚥性肺炎・栄養障害など二次性の障害を予防することにあります。学校や職場との調整も、できるだけ無理をかけずに生活レベルを維持するために、リハビリテーションが関わることのできる重要な仕事です。

ローマは一日にしてならず(継続的な医療が大切です)

筋強直性ジストロフィーに対して、現在の医療ができることは決して少なくありませんが、その一つ一つは地道なものであり、単独でめざましい効果をもたらせるものはありません。しかし、地道なことをきちんと積み重ねることでより良い状態を維持することができます。これは、生活習慣病など慢性疾患の治療全体に通じることです。時として、治療や処置がうっとうしいと感じることがあるかもしれませんが、きちんと治療を継続して受けましょう。本症のような稀少疾患では疾患に精通した医師も貴重な存在です。できれば専門医療機関を受診し、疾患全体を把握してもらいながら、様々な診療科や職種に関わってもらうことが望まれます。さまざまな保健福祉制度が利用可能な場合もあります。指定難病になったことで、基準を満たす方は医療費助成も受けられるようになりました。ソーシャルワーカーや保健師、行政などへの相談も考えてみましょう。

仲間とのつながりも大きな力

同じ病気の仲間と連絡を取り合うことは、他人に理解されにくい悩みを理解できて心の支えになる他、知識や生活の工夫など情報交換が図れることなど大きなメリットがあります。本ホームページに掲載している「筋強直性ジストロフィー　日常に役立つヒント集」はイギリスの患者団体が作成したものです。さらに、社会に対する病気の理解や治療開発を進めていくためにも、患者様と医療者・研究者が協力していくことは重要です。本邦における筋強直性ジストロフィーの支援団体としては、日本筋ジストロフィー協会(HP: www.jmda.or.jp)に加え、筋強直性ジストロフィー患者会(DM-family)(連絡先メール:myotonica.info@gmail.com)も設立準備中です。各地域でもサポートグループが作られていることがあります。関心のある方はご連絡してみてはどうでしょうか。

明日を変えるために

筋強直性ジストロフィーでも、現在新しい治療法が開発されつつあります。新薬が保健薬として承認されるためには、その有効性と安全性を患者様で確認する「治験」という作業が必要です(詳細は「一般の方へ」「治療開発の現状」を参照下さい)。筋強直性ジストロフィーのような稀少疾患での治験には多くの困難があり、円滑な成功には以下のような条件が必要です。

稀少疾患治験成功の条件

１．製薬会社による新薬開発
２．(国際協調的な)患者登録
３．治験を遂行できる医療機関・スタッフ
４．標準的医療の実践
５．自然歴データ(疾患、機能障害、合併症等)
６．鋭敏な臨床評価法・検査法

本症の患者登録は本邦でも 2014 年 10 月から開始されました(詳細は「一般の方へ」「患者登録について」を参照下さい)。患者登録は治験推進だけで無く、自然歴データの蓄積や標準的医療の構築を目指した臨床研究にも必須のものです。本症の医療は変革期を迎えつつありますが、医療者と患者様の双方が協力しなければ扉は開きません。患者登録や臨床研究・治験に対する皆様のご理解とご協力をお願いします。皆様と共に努力し新しい医療を「一日も早く」届けられることを期待しています。

妊娠・出産に関して

妊娠や出産は健康な方においても一定のリスクを伴うものです。筋強直性ジストロフィーの患者さんは、妊娠・出産に関する様々なリスクを有するため、妊娠前からリスクを理解し、十分な準備と態勢を整えて臨むことが大切です。ここで書かれていることを読んで、医療者とよく相談していただくことで、安全に妊娠・出産を行うことができるよう願っています。

1．妊娠前に気を付けることは何ですか？

ご夫婦どちらかが筋強直性ジストロフィーと診断されている場合には，お子さんを希望された段階で，**「妊娠をする前に」ご夫婦で遺伝カウンセリングを受けて頂く**ことが大切です．遺伝カウンセリングでは，出生前診断に関する情報も得ることができます．この疾患では，50%の確率で，生まれてくるお子さんが同じ疾患である可能性があります．お母さんからお子さんに遺伝する場合，お母さんよりも症状が強くなり，生まれてすぐに症状が出てしまう**重症な場合（先天型）**もあります（表現促進現象といいます）．お父さんからお子さんに遺伝する場合は，お母さんからの遺伝の場合に比べて軽度の場合が多いですが，中にはお父さんより重症になる場合もあります．お子さんが非常に重症な場合，妊娠途中で流産することがあります．

2．妊娠管理，出産をする病院を選ぶ場合に気を付けることはありますか？

妊娠・出産は通常よりも，様々なリスクが伴います．
このため，自宅出産や新生児科のない産院などでの出産は避けるべきです．
少なくとも**神経内科**，すぐに**帝王切開の対応が可能な産婦人科**，出生したお子さんを安全に管理してくれる**新生児科**（新生児集中治療室）の 3 つを備えた医療機関での妊娠管理，出産をする必要があります．
妊娠中はお母さんの症状，筋痛，ミオトニアや高 CK 血症などが悪化することがありますので，すぐ相談できる神経内科があると，産婦人科の先生たちも安心できます．
また，出産の時間が長引いたり，出血が多くなったりすると，お腹の赤ちゃんの具合が悪くなってしまうことがあります．この場合は，赤ちゃんとお母さんの命を守るために，帝王切開に切り替える必要があります．この対応が可能な産婦人科を選ぶことが必要です．最後に，赤ちゃんが予定よりずっと早く小さく生まれてしまったり，出産の時のストレスで赤ちゃんが疲れてしまったり，赤ちゃん自体が同じ病気である場合，症状が重く，呼吸が不十分な場合があります**（先天型）**．このような時に備えて，すぐ，赤ちゃんに対応してもらえる新生児科(新生児集中治療室：NICU)をそなえた医療機関で出産する必要があります．

3．病気が妊娠のしやすさ（受胎能力）に影響することはありますか？

これは意見が分かれているところです．この病気では，性腺の機能が悪くなることが知られていますので，月経不順や排卵誘発への反応が悪いことが予測されています．ですが，実際調べてみると，そのようなデータはなく，あまり影響はないと現在は考えられています．男性不妊に関しては頻度が高く，男性の患者さんの 2/3 が精巣萎縮や，精子の数が少なくなると報告されています．
一方で，**子宮外妊娠**が一般の 5-10 倍多いことが最近報告されています．

4．赤ちゃんへの実際のリスクはどのくらいですか？

妊娠中，出生後の赤ちゃんの死亡率は15％と通常の10倍以上高いと報告されています．しかし，これは赤ちゃんが重症な**先天型**にかかっている場合です．その場合，赤ちゃん自体の筋力が弱く，呼吸ができないなどの理由で助からないことがあります．もし，このように赤ちゃんの筋力が弱い場合でも，新生児科やNICU（新生児集中治療室）が早期に対応することができれば，リスクを軽減することができます．赤ちゃんが同じ病気でも軽症な場合や，病気にかかっていない場合は，赤ちゃんへのリスクはそれほど高くないと言われています．

5．自然流産や早産のリスクは高いのでしょうか？

流産に関しても意見が分かれています．自然流産が多いという報告もありますが，実際の報告では，13%程度と一般の12～15%とそう変わりがありません．
一方で，**早産**は非常に多く，50%が早産（38週より前の出産）になってしまいます．早産になってしまった例の6割は比較的安全な35週以後の出産ですが，4割は危険が伴う35週前（27週から34週）の早産になってしまうとされています．赤ちゃんが重症な先天型の場合に多くみられます．早く生まれてしまった場合に備えて，新生児科のある医療機関で妊娠管理を行いましょう．

6．妊娠中の合併症で気を付けることは何でしょうか？

妊娠中毒症の合併は通常と比べても，それほど多くはないと言われています．最近注目されているのは**尿路感染症**で，報告では13%ものお母さんが合併したとされています．中には，重症化して手術で腎臓を摘出する必要があったり，血液に菌が入ってしまって，敗血症という重症な状態になったりすることもあり，注意が必要です．
また，**前置胎盤**が通常の10倍以上起こりやすいこともよく知られています．これは，子宮内の胎盤（お母さんとお子さんをつなぐもの）ができる場所が通常よりも下側，出口に近い側にあるため，出血を起こしやすく，出産も通常分娩による出産は危険であるため，帝王切開による出産が必要となります．前置胎盤が多い理由は，お母さんの子宮がうまく動かないことや子宮の中の膜がうまくつくられないためと考えられています．
妊娠中に**羊水過多**といって，子宮の中にある水が多くなる異常が10～20%にみられると言われていますが，これはお母さんの問題ではなく，赤ちゃんが先天型である場合にみられます．羊水過多の症状が出てきたら，医療機関で赤ちゃんの状態を注意深く診てもらいましょう．
他，妊娠中に糖尿病が発症したり，悪化したりすることも知られています．また，気分の落ち込みやマタニティーブルーが強く出てしまうこともあるので，よくご家族やかかりつけの先生に相談にのってもらうようにしましょう．

7．妊娠中にお母さんの病気の症状は悪くなりますか？

30％のお母さんが，筋痛や筋力低下，ミオトニアの症状が妊娠中に悪化したと言っています．また同時に高CK血症が指摘されることも度々あります．ですが，多くの場合は急激に体重が増えたことなどが原因になると言われており，一過性で症状は改善します．極一部のお母さんの中には，筋痛，筋力低下の症状が急激に悪くなってしま

うこともあります．

8．妊娠や分娩の管理で，他に気を付ける点はなんですか？

不整脈に気を付けて，定期的に心電図をとる必要があります．また，筋力低下に伴って，呼吸筋力の低下，飲み込みのしにくさ，胃から腸への排出の遅れなどの症状が強くなると，肺炎を起こすことがあるので注意が必要です．

9．分娩のリスクはどんなものがありますか？

分娩第 I 期（始まってから，子宮口が全開大するまで）の時には，子宮の動きが悪く，陣痛が弱かったり（**微弱陣痛**），長引いたりしてしまうことがあります（**遷延分娩**）．
II 期（赤ちゃんが出てくるとき）にも同様に，陣痛が弱かったり，お母さんのいきみが弱いために，分娩が長引いたりしてしまうことがあります．この時に注意しなければならないのが，なかなか出てこられないことにより，赤ちゃんが疲労してしまい危険な状態になってしまうことです．赤ちゃんの心臓の動きが悪くなったり（胎児心音低下），時に**胎児仮死**と言って，酸素が足りなくなったりする重症な状態になってしまうことがあります．そんな時には，ためらわず帝王切開で赤ちゃんを助けてあげる必要があります．
III 期（出産後から胎盤が出るまで）になっても油断は禁物です．子宮の収縮が悪いために**大出血**を起こしてしまうことや，胎盤の位置やくっつき方が異常でやはり大出血してしまうことがあるので，注意が必要です．

10．　産後に気を付けることはありますか？

子宮の収縮が悪いため，後陣痛（拡張した子宮が産後にもとに戻ろうとして強く収縮する）が長引くことがあります．妊娠中に悪化した，筋痛や筋力低下が持続することもあります．
また，疲れやすさがあり，疲労回復にも時間がかかるため，時に日常生活や育児をするほど体力が戻らないこともあります．
お父さん，ご家族は，この点をよく理解して頂き，お母さんを精神的にも支えてあげてください．

11．妊娠中，分娩時に使ってはいけない薬はありますか？

とても大事なポイントです．
早産を起こしやすいのが特徴のひとつですが，早産防止目的の**子宮収縮抑制薬**には注意が必要です．日本でよく用いられる子宮収縮抑制薬は，**硫酸マグネシウム（マグネゾール）**と**塩酸リトドリン（ウテメリン）**があります．塩酸リトドリンでは，横紋筋融解といって，筋肉が壊れてしまい，異常に血清の CK 値が上昇する病態を起こしやすいため，投与は注意が必要です．一方の硫酸マグネシウムも，呼吸を抑制してしまう重大な副作用があり，こちらも慎重投与が必要です．このため，海外ではインドメサシンの使用が推奨されていますが，日本では妊娠中の使用は禁忌であり承認されていません．どちらの薬を使用するにしても，副作用に注意が必要です．
また，帝王切開時の**麻酔薬，筋弛緩薬**は必要最低限とすることが基本です．特に，**バルビツール酸系**の麻酔薬で，呼吸が抑制される重篤な副作用が知られています．また，**脱分極型の筋弛緩薬**を使うことにより，筋痙攣やミオトニアの増悪が知られており，

あらかじめ，これらの薬の使用に関しては，主治医の先生と確認をしておく必要があります．

筋強直性ジストロフィーの手術・麻酔に関する注意
（一般・医療者向け）

麻酔管理に関して

筋強直性ジストロフィーの人の麻酔管理は難しいとされています。

麻酔管理に伴って生じる合併症の危険性は、必ずしも日常生活動作における運動機能障害の重症度と比例しません。軽症の方にも起こり得ます。よく知られている周術期の合併症としては、

①気道クリアランス能力低下による抜管困難や呼吸器感染症・無気肺形成
②呼吸調節障害による低酸素血症・呼吸機能低下による高炭酸ガス血症
③咽喉頭筋麻痺による気道の閉塞
④唾液の誤嚥や食道・胃内容物の逆流による誤嚥
⑤心伝導障害に伴う致死的不整脈

などがあります。

リスクを回避する意味では、その手術が本当に全身麻酔下に必要か、局所麻酔で代用できないか、より侵襲の小さい手術方法を選択できないかといったことを考慮する必要もあるでしょう。手術に際しては、全身麻酔に関する様々なリスクを理解し、十分な準備と体制を整えて臨むことが大切です。以下の内容をご覧になって、医療スタッフとよく相談していただくことで、少しでも安全な手術・全身麻酔が行われることを願っています。また、緊急処置を受けなければならなくなるような事態に備えて、自分が筋強直性ジストロフィーであることや麻酔・鎮静に関する注意を記した緊急カードを携帯されることも役に立つことでしょう。

骨格筋

筋強直性ジストロフィーでは、筋の変性による骨格筋の筋力低下とミオトニア（筋収縮後に筋肉が弛緩するのに異常に時間がかかる現象）がみられます。ミオトニアは、ある種の薬剤やカリウム、低体温、悪寒、機械的あるいは電気的刺激などによって誘発されます。ミオトニアのために気管挿管に支障をきたしたとの報告もあります。筋強直性ジストロフィーでは、筋の易興奮性やある種の麻酔薬・筋弛緩薬への感受性亢進のため、薬剤が強く効きすぎたり、長時間にわたって効果が遷延したりすることがあります。また、悪寒戦慄（ふるえ）や筋硬直、さらには悪性高熱が生じたとの報告もあります。まずは、筋強直性ジストロフィーに罹患していることを担当医に確実に伝えることが、周術期合併症予防の一助になるでしょう。

呼吸器系

筋強直性ジストロフィーでは、呼吸器系における問題がしばしばみられ、呼吸筋の筋力低下による肺活量の低下（拘束性換気障害）を生じたり、咳をするのに十分な呼気の流速が得られずに痰が喀出できなくなったりします。また、肺活量が正常でも低酸素血症が見られることが多く、低酸素および高炭酸ガスへの呼吸の反応性低下がみられます。これらによる麻酔・鎮静に伴う呼吸器系の合併症は深刻で、術後の抜管困難、呼吸不全、無気肺、さらには肺炎などの呼吸器感染症の合併が生じ得ます。こうした合併症を避けるために、近年では、呼吸機能検査・ピークフロー検査・夜間酸素飽和度記録や胸部レントゲン・CT などの術前評価をしっかり行って、呼吸器系のリスクの高い例では、術前から咳嗽訓練などの呼吸理学療法を実施する、非侵襲的人工呼吸療法の練習を行うなどの積極的な対策を取ることが推奨されています。

心循環系

筋強直性ジストロフィーでは、心伝導障害や洞不全(ペースメーカーの異常)による不整脈がしばしばみられ、突然死に至ることもあります。また、心伝導障害に影響する薬剤もあります。手術を受ける際には、12 誘導心電図、24 時間心電図、心エコー検査などの心循環系の評価を実施する必要があります。さらに、時として、下肢を中心とした血栓がみられる場合もあり、静脈エコーなど血栓の検索も受けておいた方がいいでしょう。手術に際しては、酸素飽和度や心電図・血圧など、バイタルサインの十分なモニタリングが必須です。

中枢神経系

筋強直性ジストロフィーの人では、認知や行動の問題がみられる場合があり、ご自身の障害や苦痛をあまり強く訴えない方が多く見られます。このため、周術期のフォローアップには、ご本人だけではなく、ご家族の協力など、より多くのサポートを必要とすることがあります。また、日中の眠気や自発性・反応性の低下がみられることがあり、術後の意識レベルや苦痛の評価には、この点を考慮しなければならない場合もあります。ご家族の温かい協力が大切ですが、これら中枢神経障害を伴う患者様の場合には、手術に関係する医療スタッフにその存在を理解してもらうことも重要です。

嚥下・消化管系

筋強直性ジストロフィーでは、しばしば嚥下障害が認められます。嚥下障害がある場合は、全身麻酔からの回復期に誤嚥性肺炎を生じる可能性が高まります。明らかな誤嚥があっても、自覚されている方が少ないため、手術前には言語療法士や嚥下造影検査・嚥下内視鏡検査などによる嚥下機能評価が必要です。定期的に歯科を受診して、歯石の除去や虫歯の治療など口腔衛生を良い状態に保つことも大切です。また、筋強直性ジストロフィーでは、平滑筋の障害により腸管の運動も低下します。麻酔や手術侵襲が引き金になって腸閉塞状態に陥ることもあり、術後の栄養摂取にも影響しますので注意が必要です、さらには、食道拡張・

通過障害のため食べた物が長時間食道にとどまることがあるほか、一度胃に入った食べ物が食道に逆流することもあります(胃食道逆流)。麻酔に際しては、胃内容物の逆流は誤嚥や窒息につながり、非常に危険です。念頭においておくべきリスクの一つです。

代表的な薬剤について

筋強直性ジストロフィーの人は、麻酔薬による呼吸抑制の影響に対して鋭敏です。呼吸抑制作用のある薬剤を使用する場合には、適切な気道確保とバイタルサインのモニタリング、抜管可能になるまで術後の人工呼吸療法を行える準備をしておくことが必須です。

術後の疼痛管理に際しては、消炎鎮痛剤（NSAID）や局所麻酔、可能であればアセトアミノフェンを用いて痛みのコントロールを行うのが望ましく、できる限りオピオイドは使用しないことが推奨されています。

筋弛緩薬では、脱分極性神経筋接合部遮断薬のスキサメトニウムは、効果が予測できず筋固縮・喉頭スパズム遅延・チアノーゼ・高カリウム血症出現例の報告があり、拮抗薬のネオスチグミンにも周術期合併症の報告があることから、使用を避けるべきであるといわれています。短時間作用型の非脱分極性神経筋接合部遮断薬(ベクロニウム、ロクロニウム)を用いるのがよいとされていますが、ベクロニウムも周術期合併症との関連が報告されています。

麻酔薬としては、ハロタンなど吸入麻酔薬はできるだけ避けることが望ましいとされています。静脈麻酔薬でもチオペンタールの使用と周術期合併症との関連性が報告されています。

周術期合併症発症のリスク

219 例の筋強直性ジストロフィーの人の周術期合併症を検討した報告（Mathieu, 1997）では、手術時の年齢が 37 歳以上、近位筋にまでおよぶ筋力低下、上腹部の手術、の 3 つがリスク因子としてあげられています。この研究によると、筋強直性ジストロフィーにおける周術期合併症全体の発症頻度は 8.2%、合併症の多くは呼吸器系のものであったとのことです。

手術前の準備

手術の可能性を提示された際には、ぜひ考えていただきたいことがあります。

①その手術は本当に必要ですか？

②全身麻酔ではなく局所麻酔や局部麻酔(硬膜外麻酔など)では実施できませんか？

③手術を受ける施設には HCU（高度治療室）や ICU（集中治療室）の類がありますか？

良く考えて、担当医と十分に話し合って、答えを出してください。

さて、手術を受けることになったら、きちんとした術前評価がとても大切です。十分な準備をして安心して手術に臨むために、担当医とよく相談して、必要な検査を受け、場合によ

っては循環器科など各科専門医によるアドヴァイスをもらいましょう。検査項目としては、一般的肺機能検査・ピークフロー・夜間酸素飽和度記録、胸部レントゲン・CT、12 誘導心電図・24 時間心電図・心エコー検査（下肢静脈エコー）、言語療法士や嚥下造影検査・嚥下内視鏡検査による嚥下機能評価、などがあげられます。腎機能に関しては、筋萎縮によりクレアチニンが低値を呈してしまうことから、シスタチン C を指標として評価するのがよいでしょう。さらには、呼吸器系に問題があると判断された方は、咳嗽訓練や肺理学療法、非侵襲的人工呼吸療法の練習に取り組みましょう。術前からの取り組みが術後に役立ちます。

手術後の注意

術後は疼痛管理が大きな問題になります。薬剤を使わないようにと、痛みを必要以上に我慢する必要はありませんが、鎮痛薬の過量投与は身体能力の過剰な抑制につながる可能性があり、筋強直性ジストロフィーの人の鎮痛・鎮静には充分な注意が必要です。なるべくオピオイドなどを用いないなど、担当医と相談しながら、痛みをコントロールしましょう。

術後の合併症で一番問題になるのが、呼吸器系の合併症です。厳格な呼吸管理が必要ですので、全身麻酔が予定される場合には HCU（高度治療室）や ICU（集中治療室）のような設備を有している施設で手術を受けることが望まれます。さらに、術後早くから積極的な肺理学療法を取り入れて、必要であれば非侵襲人工呼吸療法を行うことができるように、呼吸管理とリハビリテーションとの連携も重要です。

術後においては、栄養管理も重要となります。嚥下障害や消化管の問題も関わってきますので、術後の各段階における栄養摂取に際しては、食事内容や形態など、医療スタッフとよく相談して進めて行きましょう。

術後のリハビリテーションも大切です。長期臥床に伴う廃用性変化から、術後に運動機能が低下してしまう場合も少なくありません。術後の経過や個々の合併症によっても変わってきますし、過度の運動負荷は筋に悪影響を与えますので、担当医との相談が必要ですが、可能な状態であれば、術後早期からの積極的なリハビリテーションを考慮しましょう。

最後に

本稿は、日本麻酔科学会安全委員会に監修していただきました。ここに深謝いたします。
手術を考えられた場合には、麻酔科専門医に相談していただくか、麻酔科専門医がいる麻酔科学会認定病院で手術を受けられることをお勧めします。

筋強直性ジストロフィーの麻酔・鎮静に関するメモ（医療者向け）

I. 麻酔に際して考慮すべき事項

1. ミオトニア現象
2. 顎関節不全脱臼
3. 不整脈・心不全（心筋障害）
4. 低血圧
5. 呼吸機能障害（肺活量低下・咳嗽力低下）、
   呼吸調節障害（低酸素血症・無呼吸）
6. 嚥下障害
7. 噴門括約筋障害
8. 耐糖能障害

II. ハイリスク例

1. 未診断例
   症状はあるもののまだ診断されていない例：危険が予測できないためスクリーニング問診票（http://dmctg.jp/）を活用する
2. 重症例
3. 妊娠例

III. リスクを軽減させる代案

1. 局所麻酔
2. 区域麻酔
   （脊髄くも膜下麻酔・硬膜外麻酔・神経ブロック・静脈内区域麻酔）
3. 全身麻酔を必要としない内視鏡手術の可能性を考慮

IV. 術前

1. きちんとした術前評価とまとめを行う
   一般的肺機能検査、ピークフロー、就寝中の呼吸状態評価
   胸部レントゲンやCT等で肺の状態を確認
   12誘導心電図、24時間心電図、心エコー検査、下肢静脈エコーなど血栓の検索
   必要に応じて言語治療士や嚥下造影検査による嚥下機能評価
   腎機能に関してはシスタチンCで評価（筋委縮によりクレアチニンは低値を呈す）
2. 鎮静的な前投薬はできるだけ使用しない

V. 術中

1. 麻酔薬の使用は必要最低限度にする
2. 温熱パッドや温熱補液の利用により体温保持に努め、術後の悪寒戦慄を避けるよう努力する
3. カリウム含有補液の過度の使用を避ける
4. 脱分極性神経筋接合部遮断薬の使用を避ける
5. 短時間作用型の非脱分極性神経筋接合部遮断薬は拮抗薬を準備した上で、適切に使用するために筋弛緩モニターを使用する（ベクロニウム、ロクロニウム）
6. 気道を確保し誤嚥のリスクを最小限にする（特に妊娠例）

VI. 術後

1. 鎮痛
2. オピオイドの使用は拮抗薬を準備した上で、適切に使用する
3. 鎮静には十分注意する（睡眠薬の使用は避ける）
4. 鎮痛に際しては局所麻酔薬や区域麻酔（硬膜外麻酔等）の併用も考慮する
5. 一過性に精神症状 が出現することがあるので注意する
6. HCU（高度治療室）やICU（集中治療室）との連携、呼吸理学療法や排痰補助装置・非侵襲的呼吸療法を積極的に活用する
7. 感染の合併を予測し積極的な対策を行う
8. 酸素飽和度などのバイタルサインのモニタリングを実施する
9. 神経筋接合部遮断薬の作用の再発現に注意し、必要なら拮抗薬を使用する

VII. 予測される潜在的合併症

1. 誤嚥には気管挿管時の輪状軟骨圧、胃液の逆流にはH2受容体拮抗薬・プロトンポンプ阻害薬が有効な場合がある
2. 産後出血に注意する

VIII. そのほか

1. 意識レベル確認に際して、難聴・構音障害・中枢神経障害により意思疎通が困難な場合や筋力低下・ミオトニアにより開眼・頭部挙上・握手が困難な場合がある
2. 術前からの呼吸理学療法（咳嗽訓練）や非侵襲的人工呼吸（訓練）導入が有効な例も少なくない
3. 中心静脈栄養・経管栄養等を施行する場合には血糖値にも注意が必要

※本稿は、日本麻酔科学会安全委員会に監修していただきました。ここに深謝いたします。

全身麻酔を伴う手術においては、麻酔科専門医に相談していただくか、麻酔科専門医がいる麻酔科学会認定病院で 手術を実施されることをお勧めします。

【麻酔参考文献】

1) Bennun M et al. Continuous propofol anaesthesia for patients with myotonic dystrophy. Br J Anaesth 85、407-9、2000.
2) Veyckemans F and Scholtes J-L. Myotonic Dystrophy type 1 and 2: anesthetic care. Pediatr Anesth、23、794-803、2013
3) Matieu J et al. Anesthetic and surrrgical complications in 219 cases of myotonic dystrophy. Neurology. 49、1646-50、1997.
4) Campbell N et al. Practical suggestions for the anesthetic management of a myotonic dystrophy patient. Myotonic dystrophy foundation. (http://www.myotonic.org/)
5) Haper P S、van Engelen B G M、et al. 99th ENMC international workshop: myotonic dystrophy: present management、future therapy Neuromuscul Disord 12、596-599、2002.

出 典：筋強直性ジストロフィー治験推進のための臨床基盤整備の研究班
http://dmctg.jp/

発 行：特定非営利活動法人 筋強直性ジストロフィー患者会（DM-family）

IDMC-10 に参加して

2015/6/8-12 パリ大学にて筋強直性ジストロフィーの国際学会である ICDM-10 が開催されました。ICDM は筋強直性ジストロフィーだけをテーマとしていること、患者会も運営に参加されているユニークな学会です。今回の学会では、Rochester 大学の Thornton 教授から ISIS 社が実施している治験の第 2 相治験が 40 名程度の患者様を対象に昨年 12 月から開始された報告がなされた他、基礎から臨床までの様々な発表がありました。日本からも、患者登録開始の報告など 7 件の発表が行われました。英国の患者団体(myotonic dystrophy support group)が世界の研究グループを載せた来年のカレンダーを作成、大阪大学と共に大阪での市民公開講座の時の写真掲載していただきました。

AFM テレソンを見学して

2015 年 6 月 12 日 パリ郊外のヴァンセンヌの森にあるパリ花公園にて、AFM テレソン主催の family day に参加しました。フランス国内外から 2200 人以上もの患者様や御家族が参加した大きなイベントでした。世界中の患者様から寄せられた質問に、エキスパートの先生方が答えるコーナーや、ステージでのイベントに加え、様々な福祉機器の展示、医療相談、さらにはフランス各地の料理がビュッフェスタイルで振る舞われるなど楽しいイベントが沢山でした。福祉機器では、座位・リクライニングに加えて昇降、立位補助機能を備えた電動車椅子や、車椅子のまま乗車し運転できる自動車などが当たり前のように展示されており、日本との違いを感じました。日本でも、このようなイベントが盛んになり、筋ジストロフィーに対する社会的認知や関心を高めて行くことができればと感じました。

AFM theleson Q&A

2015 年 6 月フランスで開かれた AFM テレソンに参加してきました。その時に各国の患者会から寄せられた質問に、筋強直性ジストロフィー国際学会(IDMC-10)に参加していたエキスパート達が答えておられました。班員の皆様のご協力をいただいて、Q&A を翻訳してみました。できるだけ、実際の応答に基づいて訳していますが、聞き取りにくい部分や本邦の実情に合わない部分については追記や訳者の理解に基づいて記載されている部分があることをご了解下さい。

ビデオについては YouTube (https://www.youtube.com/watch?v=k3ipCOtXKsY)でも視聴可能です(英語)。

Q1: Fatigue, hypersomnia: effects at school, and social contacts. Effect of Ritaline or else? Wide difference of prescripted drugs from one country to another

Q1: 疲れやすさ・過眠に対してリタリンという薬は効果がありますか？

A: リタリンは過眠や疲労に効果がありますが、短期的に限定して使用しており、継続的には使用しません。患者さんに、その薬はパーティーへ行くために目を覚まさなければならないような時に用いるようにお伝えしています。なぜなら、これらの薬剤には依存性があるので、毎日、継続して使用するべきではないからです。しかし、効果はあり、特に使用当初、「疲労」と「過眠」にはよいです。

＜追記＞

リタリン®（一般名メチルフェニデート）という薬剤は、日本での保険適応病名としてはナルコレプシーという病気のみであり、さらに、処方できる医師や施設が限定されています。使用の可能性については主治医とよく相談して下さい。

Q3: Are there average life expectancy charts for people with DM?

Q3. 筋強直性ジストロフィーの平均余命はどの程度ですか

A: 一般の人と比べると患者様の平均寿命は短くなります。しかし、症例により様々で、高齢発症例は生命予後も良好であるのに対し、若年発症例では多くの併発症により生命予後も不良です。近年ケアの質が向上しており、心臓の定期検査により突然死が予防され、呼吸や消化管の症状に対する治療も適切に行われることで、予防可能な死亡が減少すると予後が改善すると期待されます。先天性あるいは小児発症例においても、重症者に対する医療管理の進歩により、従来であれば死亡していたような症例の生存も増えています。平均すると寿命は短いですが、今後はさらなる予後の改善が期待されています。

Q4: I there a specific dermatologic affect in DM1?

Q4. 筋強直性ジストロフィー(1 型)に特徴的な皮膚の合併症はありますか？

A: 男性では前頭の禿頭が早期から多く見られます。色素沈着、脂漏性皮膚炎、マルヘルベ

石灰化上皮腫(後頭部に多い)または毛母腫などの良性腫瘍も合併することがあります。悪性腫瘍や悪性黒色腫が一般に比べて多いという証拠はありません。

Q7: Synthesis of questions about infections
Q7: 感染についての質問
A: 筋強直性ジストロフィーの患者さんでは、感染症の予防が非常に重要です。呼吸器感染症で命を失う方もおり、病気の予後に深刻な影響をあたえる可能性があります。感染症の予防には充分注意しましょう。
筋強直性ジストロフィーの患者さんでは、免疫を担うタンパク質の免疫グロブリンが低下するといわれていますが、その値の程度と感染症の合併との間には、関連性があるという証拠はみつかっていません。

Q8: Synthesis of questions about cancers
Q8: 悪性腫瘍(癌)についての質問
A: 正確な答は判りません。
筋強直性ジストロフィーと腫瘍の関連性を示す報告がありますが、ほとんどは良性腫瘍に関するもので、悪性腫瘍に関するものは少しみられるだけです。
筋強直性ジストロフィーと癌の関連性を調べることは非常に困難です。筋強直性ジストロフィーに癌の合併が多いかどうかをある施設で調べようとしても、専門施設には患者さんが多く集まるけれども、一般の病院では患者さんが少なく、調査を行う施設によってバイアスがかかってくるという問題があるからです。
正確な結論を導き出すには、しっかりした疫学調査や癌の発生と筋強直性ジストロフィーの発症機序にリンクした研究を進めて行くことが求められています。従って、現時点においては筋強直性ジストロフィーと癌の関連については正確なことは判っていない、というのが回答です。

Q9: Synthesis of questions about exercise and muscle fatigue
Q9. 運動や疲労感について
A: 強い負荷をかける運動や過用は好ましくありませんが、無理のない軽い運動は心肺機能にも良い効果をもたらし QOL 改善や疲労感の軽減にも有効です。週 3-4 回 20 分以上の軽い運動を行うことを勧めています。

Q10: Is it common to be unbalanced?
Q10. バランスを崩しやすいですか？
A: バランスを崩しやすいことが多く有ります。足底の筋力低下によるバランス低下、足の挙上不良によるつまずき、膝折れ、などが原因としてあげられます。

Q12: Is early hearing loss attribute in any way to DM? If yes, can you explain how the ears are affected?
Q12. 筋強直性ジストロフィーでは早くから難聴が起きますか？もしそうなら、なぜ耳が冒されるのですか？
A: 難聴は重要な合併症です。頻度は明らかでありませんが、筋強直性ジストロフィー2 型では筋強直性ジストロフィー1 型より高頻度に見られます。鼓膜の障害では無く、内耳が冒されます。難聴を認めた場合、筋強直性ジストロフィー以外の原因がないか耳鼻科を受診して調べてもらうことが大切です。複数の人が別々にしゃべった場合は聞き取れても、同時にしゃべると聞き分けるのが困難になります。難聴のある患者ではバランスの障害を認めることもあります。

Q13: People with DM, are their throat constricted (different shape of mouth)
Q13: 筋強直性ジストロフィー患者は喉が狭くなっていますか
A: 誤嚥が見られることが多いため、食形態や姿勢に注意して下さい。食事中には他のことに気を取られないようにしてください。液体と固体を同時に飲み込むのは危険です。嚥下機能の検査を受けて食形態のアドバイスを受けて下さい。

Q14: I easily become short of breath. Is it due to heart or lung?
Q14. 息切れがしやすいが、これは心臓によるものか肺によるものか？
A: 本症では、患者様ご自身が呼吸障害を自覚されることは少ないのが特徴です。

Q15: Efficiency of breath physiotherapy in a preventive mode?
Q15. 予防的な意味での呼吸理学療法の効果
A: 呼吸理学療法により、咳の改善、感染の減少、突然死の予防が期待されるので大いに推奨されます。

Q16: Synthesis of questions about GI problems
Q16. 消化器症状についての質問
A: 消化器症状としては、便秘、腹痛、下痢などがみられ、非常に頻度が高いです。疾患自体による腸の平滑筋や神経機能障害などの一次的要因と、歩行障害や食事制限などの二次的要因によるものが考えられます。1000 人を超える全国的な大規模調査によれば 84%の筋強直性ジストロフィー患者様が消化器症状を示していましたが、消化器専門医に診てもらっている例は少数でした。専門医の問診および検査により消化器症状の原因が容易に判明し有効に治療できることがあります。腸管運動が低下することが多いです。消化管の通過時間を改善させるためにポリエチレングリコールやネオスチグミンといった薬が、上部消化

管症状に対しドンペリドンなどの薬が使用されています。まれに通過時間の亢進による症状を有する患者もおられます。消化器内科専門医へ相談することも重要です。

Q18: I have trouble keeping my eyelids closed and it makes it difficult to sleep. Is there anything that can be done?
Q18.目を閉じ続けることが難しいため睡眠に障害があります。何かできることがありますか?
A. 目が開いてしまう人では、角膜の乾燥を防ぐために眼軟膏や点眼薬を使用します。就寝時に眼帯などで目を覆うこともあります。高度な場合は手術も考慮します。

Q19: What cause cardiomyopathy in DM? Is it treatable by new drugs?
Q19: 筋強直性ジストロフィーの心筋症の原因は何ですか？　新しい薬で治りますか？
A: 心筋症とは、さまざまな原因で起こる病態です。筋強直性ジストロフィーでは、心筋症は合併しますが、頻度は少ないです。心筋症とは心臓の筋肉に障害が起こり収縮の低下した状態です。非常に稀ですが、心臓移植を必要とするような重症例も存在します。心臓の筋肉の収縮低下とは別に、心拍が乱れる、時には心臓が停止してしまうことがあります。その場合にはペースメーカーや、稀ですがペースメーカーに似た装置で頻脈のコントロールもできる除細動器が用いられます。心筋収縮低下に対する薬物治療としては、アンジオテンシン変換酵素阻害薬とβ遮断薬があります。筋強直性ジストロフィーの心筋症は少ないため、効果は証明されていませんが、一般的な心不全に対しては有効であることが示されています。しかし、心筋症を完治させるものではなく、治癒可能な新薬は今のところありません。

Q20: Pacemaker/ defibrillator. How to make homogeneous the practices?
Q20: ペースメーカーと除細動器はどのように使われていますか
A: ペースメーカーの有用性は明らかです。徐脈性の不整脈のコントロールができます。除細動器は頻脈性の不整脈を治療する装置ですが、対象となるのは心室の心筋障害があり致死的不整脈の危険性が想定される少数の患者です。除細動器は手術や植え込み後の合併症があり、適応は慎重にすべきです。実際、多くの不整脈の問題はペースメーカーで解決します。

Q21: How to handle pain of skeletal muscle and back pain?
Q21: 筋肉痛や腰痛はどの程度で見られますか？
A. 筋強直性ジストロフィー1 型では筋肉痛の頻度は 5-6 割で認められ、腰痛が多く見られます。

Q23: Neuropsychological treatment for children and young adults to handle

communication problems? Alternative ways of communication to overcome lack of reactivity of the face

Q:表情が乏しいなどコミュニケーションに問題があります、どのように対処したら良いでしょうか？

A: コミュニケーションとは二人の間の交流を意味します。コミュニケーションは通常、言語により伝えられたメッセージにもとづきますが、潜在的なものとして言葉以外により伝達されるものも含まれます。

表情は、我々に他者が何を考えているかヒントを与えてくれます。筋強直性ジストロフィー症では表情が乏しくなるので、コミュニケーションに影響します。重要な事は、何を言語化しようとしたのかを説明することです。これにより全ての伝えられるサインを明示的にすることです。人々は表情により伝えられた潜在的なものを明示的なものとして理解できるようになります。

患児に、なぜ構音が難しくなるのか、顔面筋を動かしにくくなるのか、なぜ表情が乏しくなるのか、場合によっては学習障害の理由や困っている症状を理解しておいたほうがよいことを説明するのは重要です。

Q24. When and how do you explain DM to a child who has congenital DM1?

Q24. 先天性筋ジストロフィーの子供にいつ・どのように病気のことを伝えるのが良いですか？

A: 小さな子供はきちんと表現できなくても、障害について様々なことを感じています。彼らの理解できる範囲で、彼らの障害(なぜ不自由な筋があるのか、表情が乏しいのかなど)を説明することが大切です

Q25. How to cope with loss of independence? How to cope with not being able to plan?

Q25. 自立能力を失うことにどう対処すれば良いのでしょうか？計画を立てられないことにどう対処すれば良いのでしょうか？

A:　私達は筋強直性ジストロフィーの患者様が計画を立てられないことをどのようにサポートできるか研究を行ってきました。多くの患者は主導権をとることが苦手です。認知行動療法がこうしたことの改善に有効であると考えて研究を続けています。

Q26: Do brain and thinking problems get worse?

Q:脳や考える機能は次第に悪化していきますか？

A: 筋強直性ジストロフィー症では認知機能障害が出現します。また精神科的な変化も出現することがあります。しかし、非常によいニュースとして、今回の国際学会で報告されたことは、認知プロフィールには大きな障害はないことで、これはとても重要な点です。私の知る限りでは、ドイツの研究者達が頭部 MRI でも大きな障害はないことを示しています。こ

れはとても重要なメッセージです。

Q28: What are some ways that we can get better support for developing accurate cognitive profiles in schools for children with congenital DM
Q28. 先天性筋強直性ジストロフィーの子供が学校で認知機能発達をサポートしてもらうのに良い方法はありませんか
A: これは難しい質問です。先天性筋強直性ジストロフィーの子供は認知機能に色々な程度の障害を持っています。障害が重度から中等度の場合、障害の特徴を明確にする事がサポートの上で大切です。われわれが行った研究の結果では、情報処理能力や視空間認知が障害されやすいようです。個々のレベルでは、詳しく認知機能の程度を調べて、それに合わせたサポートを考慮することが大切です。

Q31: Specificity of DM1 versus other neuromuscular diseases
Q31: 筋強直性ジストロフィー(1 型)と他の神経筋疾患の違いは？
A. 筋強直性ジストロフィーが他の神経筋疾患と異なる点は、筋強直性ジストロフィー(1型)は中枢神経疾患でもあることで、顔面肩甲上腕型、デュシェンヌ型や脊髄性筋萎縮症では中枢神経が冒されないことと対照的。特に先天性・小児期・若年発症の筋強直性ジストロフィーでは中枢神経障害が障害されることが多いが、気付かれていないことも多いので、その存在に注意して適切に診断しケアすることが大切。
Q. 筋強直性ジストロフィーが中枢神経系を冒す疾患だとすると、どのような機能が冒されるのでしょう。どのような記憶が障害されるのですか
A. 筋強直性ジストロフィーでは認知機能が冒されます。特に重症の小児で顕著に見られます。成人では障害の程度は幅がありますが Alzheimer 病などと同様に記憶力の低下が見られます。一度に複数のことを同時に記憶するワーキングメモリーが障害されるので、多数の仕事を並行して行うことが苦手です。実行機能の障害によりスケジュールを管理や計画等複雑な作業が苦手です。認知機能障害がある患者様でも決まった作業は上手くこなせ、イベント記憶は保たれていることが多いです。現在中枢神経障害に対する単純な治療はありませんが、これらを補う手段として、メモをとる、アイホンなどスケジュール管理できるデバイスを利用して、すべきことを思い出せるようにすることを勧めます。喜ばしいニュースとして IDMC では神経障害の著明な進行は見られないとの報告があったため、将来治療により中枢神経症状が改善する可能性が期待できるかもしれません。
Q. 中枢神経障害では新しい画像検査の進歩も重要です。筋強直性ジストロフィーでおこる中枢神経の変化を鋭敏に評価するどのような新しい技術が開発されているのですか？
A. 通常の MRI 検査でも筋強直性ジストロフィーの脳の構造異常を検出しますが機能障害の検出感度は高くありません。より鋭敏な検査法として DTI (diffusion tensor imaging)が開発されています。まだ現在のところ研究目的で実施されており、臨床段階ではありません。

Q32: Does the disease affect memory? If yes, which kind of memory is most affected? Is there any way of action?
Q:この病気は記憶機能に影響しますか？もし影響するとしたらどのような記憶に影響しますか。何か対応方法はありますか？
A:筋強直性ジストロフィー症は認知機能や行動に大きな影響をもたらします。これは特に障害の程度の強い小児で顕著です。成人ではどの程度障害がおきるかは非常にバリエーションがありますが、記憶機能については、アルツハイマー病やその他の認知症と同様なタイプの記憶障害はみられません。専門用語で作業記憶(ワーキングメモリー)と呼ばれるタイプの記憶の問題が起こりえます。作業記憶とは二つ以上の事柄を同時に心のなかに保持する機能です。これが障害されると、一度に複数のことを行うこと(マルチタスキング)・考えをまとめることが困難になります。あるいはまた専門用語で「実行機能」と呼ばれる機能に問題がある場合には、スケジュールをたてたり、複雑な仕事をまとめたりすることが難しくなります。筋強直性ジストロフィー症患者さんで認知機能障害が有意に存在する方でも、ある出来事に関する記憶はよく保たれていたりします。作業記憶の障害に対して一つの対処法で有効なものは現在得られていません。私達が患者さんにお勧めすることは、書き留めておくことや、スマホのようなスケジュールを記憶してくれて必要なタイミングでアラームしてくれるデバイスを有効利用することで、困っている機能低下を代償していくことです。実行機能障害については現時点でよい治療法がありません。しかし非常によいニュースは、この学会で複数回報告されてきたことですが、ある決まった領域の脳や神経が減少しているわけではないことです。私たちは、どのように治療すればよいかについて研究が進めば、脳機能の問題の多くは様々な治療に反応する可能性があるという希望をまだ持っています。認知機能障害は患者さんにより様々であり、全員に起こるわけではないと思いますが、起きてもいくらかの対処方法は現在存在しており、近い将来に治療法もみつかると希望を持っています。

Q33: Are researchers looking at lifestyle factors in the manifestation of symptoms or even as a therapeutic strategy?
Q33:症状に影響するライフスタイル、あるいは治療戦略としてとるべきライフスタイルが検討されていますか？
A:年齢を重ねるにつれて、比較的長い期間、変化がない人もいれば、機能低下を経験する人もいます。1-2 年の期間だけむしろ機能が改善する人もいます。このような差が何によりもたらされるかを見出すための研究は、現在たくさんなされているところで、どのように生活を組み立てるべきか、どうしたら進行を遅らせることができるかについて確定的なお勧めの方法はまだありません。私が思うに大事なことは、いつものペースで定期的な運動を行うことです(言うは易しく、行うのは難しいことですが)。栄養については、この病気について

良いとされるものはありませんので、一般的なお勧めになりますが、ヘルシーな食事をして体重コントロールを心がけることが重要です。なぜなら、筋力低下があるうえに体重増加があると日々の行動が制限されるからです。

Q34: How can two identical twins brothers be so differently affected? Could environmental and lifestyle choices play a role in how this genetic condition affects people? Would the gene repeats have expand faster in one twin than the other?
34 どうして一卵性双生児で症状が異なるのでしょう？環境やライフスタイルの違いが症状の違いにつながるのでしょうか？リピート数の伸び方が二人の間で異なるのでしょうか？
A: この問いに答える前に、まず筋強直性ジストロフィーの症状がなぜこれほど違いがあるのかということを理解しないといけません。すでに聞かれたように、筋強直性ジストロフィーは CTG の繰り返しの数の増大と関係する遺伝性疾患です。一般の人は 50 回以下、患者さんでは 50 回以上です。この繰り返しの長さと重症度が相関することが知られています。より長い繰り返しを受け継いだ人は、より重症となります。この繰り返しの長さは世代を重ねるごとに長くなる傾向があることが分かっています。これにより先ほどのビデオに出てきたドミノ効果が説明できます。また、この繰り返しの長さは、同じ患者さんの中でも生きている間により長くなっていくこともわかっています。特に筋肉などで速く長くなっていくことから、筋肉に症状が出やすいのではと考えられていますし、人生の中で症状が進行していくことにも関係しているのではと考えられています。
　質問に戻ります。一卵性双生児は、一つの精子と、一つの卵子が一つの受精卵を形成し、通常一つの個体がつくられるところ、発生の初期に二つに分かれてしまい、二つの個体になったものです。ですから、遺伝的には全く同じと考えられ、病気の症状も同じと予想されるところです。筋強直性ジストロフィーの双子に関する研究はあまりありませんが、リピート数が同じで症状も似ていたという報告に加え、リピート数が異なり症状が異なっていたという報告があります。どうして症状が異なったのか、どうしてリピート数が異なっていたか、いくつかの可能性があります。発生の初期の細胞分裂の際に何らかの原因でリピート数が異なるようになってしまった可能性、先ほど話に出てきたライフスタイル、食事・運動などがリピート数の変化するメカニズムに影響を与えた可能性がありますし、ライフスタイルそのものが遺伝的なものとは全く別のメカニズムで症状を変化させたというような可能性もあります。

Q36: I am very close to the threshold limit of 50 CTG. Do I need to make the test several times in my life to check that I am still on the good side?
Q36　50 回の近いリピートの場合、年を取ってから何回か検査して、50 未満であることを確認すべきでしょうか。

A: 50 というのは大体です。51 なら症状が必ず出て、49 なら絶対症状がでないというようなものではありません。50 回付近では、どんな症状が出てくるとしても、非常に年を取ってからですし、症状が出たとしても非常に軽いことは間違いないです。そのような非常に少ないリピート数の場合には、深刻な症状が出てくる危険性は非常に低いです。

リピートの数が変化するのではということに関してですが、人生の間にリピートの数が伸びていくと先ほど述べました。確かに数百以上のリピートの場合にはリピートの数は明らかに伸びていきますが、80 回以下のリピートでは非常にゆっくりしか伸びませんし、伸びていくスピードも遅いです。

ですから境界の 50 を若干下回る方が、再度検査する必要はありません。再検査しても大きく変わっている可能性はないです。そのような可能性も考慮に入れて境界の 50 を決めています。

Q37: What is the accuracy of the blood test?

Q37　血液での遺伝子検査の正確さは

A: 正確性には二つの面があります。まずひとつは、発症する可能性があるかどうかを予測できるかについてですが、先ほども述べたように 50 回を超える方は人生の間に何らかの症状が出てくる可能性は非常に高いです。そういう面では、大変正確です。なお、まれですが検査で陰性になる患者さんがいますが、ほかの方法で確認することが出来ます。

もう一つの面は、リピートの数の正確さについてです。リピート数は生きていくうちに変化しますし、細胞ごとにリピート数が違いますので、解析しているのはその時点での血液での平均のリピート数です。この数は症状の相対的な重症度予測するのにある程度は有用ですが完全ではありません。どうしたら重症度を正確に予測できるか、研究が進められています。

Q38: Is the ISIS drug expected to be efficient the same way everywhere in the body or is it targeted to dedicated parts?

Q38　治験されている ISIS の薬は筋肉だけに効くのでしょうか。

A: この薬は、腕や足などの皮膚 1 か所に注射されます。注射された薬は、そこから血液循環系に取り込まれ、全身に広がります。これが意味する重要なことは、薬を 1 か所にのみ投与したとしても、すべての筋に薬が届く可能性があるということです。筋肉ほどではないにしても、心臓にも入る可能性があり、心臓でよい効果がみられる可能性があります。腸にも入る可能性があり、腸で効果が認められる可能性があります。皮下注射した場合に 1 か所だけ薬剤が届かない場所があります。それは脳神経系です。脳にはいろいろな薬が入ってこないように守る特別なシステムがあり、この薬も脳に到達しません。もし、この薬がほかの組織で良い効果が認めら、脳に何とか薬を到達させたい場合には、方法はあります。それは、脳をひたしている脳脊髄液に直接投与するという方法です。極端なように聞こえるかもし

れませんが、ほかの病気の治療でおなじような核酸医薬（アンチセンス薬）の投与方法として実際に使われていますので、可能性はあります。

「筋強直性ジストロフィー　日常に役立つヒント集」日本語版を作ってみました

イギリスの筋強直性ジストロフィー患者会(Myotonic dystrophy support group)が作られた、「筋強直性ジストロフィー　日常に役立つヒント集」(“100 Helpful Hints and Tips to help people who have myotonic dystrophy and their families”)を見て、こんな物が日本にもあったら良いと思いました。生活習慣の違いや国による制度の違いのため、日本では通用しないものもありますが、役立つヒントも多いと思い日本語に訳してみました。和訳は国立病院機構刀根山病院神経内科の皆様にご協力をいただきました。手作業のため。まちがいや不適切な表現があるかもしれませんがご容赦下さい。番号は原本通りですが、必要な情報に早くたどり着けるよう、項目を追加してみました。一部、項目と内容が不一致の部分がありますが、この点もご容赦下さい。また、分かりやすくするため、できるだけ図を添付しましたが、これも原本からではなくウェブから引用した物です。使用許諾確認の取れていない物もありますが主旨をご理解の上ご了解いただければ幸いです。

皆様が日頃工夫されていることで、これは便利と思うものがありましたら事務局(office@dmctg.jp)へお送り下さい。良い物が集まれば当ホームページにて紹介させていただきたいと考えています。

スケジュール管理

1. ホワイトボードに「やることリスト」を書いて、家族全員に家事や片付けるべき用事といつまでに済ませる必要があるかを知ってもらいましょう
2. 一週間・一月の予定が一目で分かる週単位・月単位のカレンダーを使って、病院の受診日など予定を書き込みましょう。そのカレンダーは家族全員が集まる部屋(居間など)の壁に掛けて、家族全員が情報を共有しましょう。病院の予約をもらったら、直ぐに予定日に書き込みましょう。もし、通院のために交通手段(介護タクシーなど)やヘルパーの手配が必要な場合は、そのカレンダーに予約を取る日も書き込みましょう。カレンダーや手帳に受診日を書いたら、予約の変更が必要な時に備えて電話番号も書いておくと良いでしょう。
3. 休日に外出する準備をする時に、手紙を出す時のために宛先を書いたシールを作っておくと良いでしょう。アドレス帳を持ち歩くより軽くて済みますし、時間の節約にもなります。特に、子供さんだけで旅行する場合に、自宅に手紙を書かせるのに良いですよ。国内旅行であれば、切手も準備しておくとさらに良いですね

骨折時の対応

4. 骨折してギブス固定が必要な場合には、できるだけ軽いもの(石膏)を使ってもらえないか頼んでみましょう。

外出時の工夫

5. 電気毛布の膝掛けがあると、長時間座っている時や寒い日に外から帰った時に足や手を暖かく保つのに役立ちます
6. 小さな懐炉は数時間(色々なタイプがあります)発熱します。使い捨ての物、再利用可能なものがあります。スポーツ観戦や買い物、旅行など外出の時に持参すると良いでしょう。
7. “ライ麦袋”はライ麦を入れた織物袋で、電子レンジで短時間(通常 2.5 分程度)に温めることができます。注意書きを丁寧に読みましょう。湯たんぽと同様に使えて、お湯よりも安全で素早く使えます。温めた”ライ麦袋”は寒い日の車椅子や車での外出時に手を温めるのに役立つでしょう。帰宅の際にも誰かに温め直してもらうことを忘れないようにしましょう。(日本では使い捨てカイロが役立ちます)
8. クッショントレイ(またはラップトレイ；トレイの下にクッションが付いた物：例右図)は膝の上に置ける快適な小さなトレイです。トレイの下のポリス

チレンビーズが膝の上にトレイを快適に固定してくれます。トレイは織物で覆われていることもあり、物を書いたり、カードゲームをしたりするのに便利です。お菓子や飲み物も縁を持って綺麗に拭き取れます。あちこちのお店を物色してみて下さい。デザインや値段も様々なものがあります。(日本でも通販等で購入可能です)

家の中の工夫

9. 大きなポケットの付いたエプロンやジャケットはコードレス電話やその他の小物をポケットに入れて持ち運べるので、部屋の移動の時に手がふさがれることがなく、安全に移動できます
10. ショルダーバッグは階段の上り下りや部屋の移動の際に色んなものを入れて運べ、手がふさがれないので便利です
11. 昼間居眠りしても，真っ暗な部屋で目が覚めることのないように、光感知式かタイマー式の照明を使いましょう。真っ暗な部屋で目が覚めて、十分に目が覚めるまでに照明のスイッチを付けるために移動する際に転倒がよく起きるのです。
12. 背もたれの高い椅子は頭や首を支えてくれるのに役立ちます。
13. 肘掛け椅子に深く腰掛けるようにすると、背中や首を支えてくれて、頭が垂れ下がるのを防いでくれます。
14. a) 肘掛け椅子に座る・肘掛け椅子から起き上がるのを補助するのにプラスチック製の高さ調整具(4 個セットで売っています)を使いましょう。これにより安楽椅子へ座る・安楽椅子から起き上がることに役立ちます。

    b) 車椅子を使っている人は屋内ではもっと快適な椅子に移ることを好むことがあります。他人の家を訪問するときは，あなたの車椅子のクッションを使って、安楽椅子の高さを高くするようにしてください。
15. 他人の家を訪問した場合、ソファーや床ではなく、起立が容易な食卓椅子や背の高い肘掛け椅子に座らせてもらうよう頼みましょう。
16. 椅子の肘は立ち上がる時につかむに十分な長さがあるか確認しましょう。背もたれから椅子の前端まである長い肘掛けがベストです．短い、または斜めになっている肘掛けはおすすめではありません．
17. 読書の時に、壁掛け照明やスポットライトを使って、背中側から本に十分な明るさの光が当たるようにしましょう。ライトは椅子や他の室内調度品から十分離しておきましょう。火事にならないようにね。
18. 寝室には小さな明かりや床照明があると、トイレに降りる時に安全です。具

合の悪い時には明かりが有った方が安心ですし、介護の時にも助かります

19. タッチセンサー式のベッドサイドやテーブル照明はスイッチを探して迷うことを防いでくれます。

目覚まし

20. 朝起きるのが苦手なら、家族の方に決まった時間に電話をかけてもらって電話に出るのを確かめてもらいましょう。特に若者が学校に遅刻することや早い時間の約束を守るのに有効です。
21. 振動式の目覚まし時計を枕の下に置いておくととても役立ちます。この方法は、耳が聞こえにくい人に限らず、みんなに有効です。
22. 可能であれば、ベッドの傍に電話を置いておきましょう。そして家族や仲間に番号を知っておいてもらいましょう。その電話を目覚まし時計代わりに使う場合は、電話の後にまた居眠りしてしまわないように、両足を床に下ろしてから電話に出るようにしましょう。
23. 普段電話する相手には、あなたが電話に出るのに長い時間がかかることがあることを伝えておきましょう

寝具

24. ベッドの購入を計画する時には、あらゆる選択枝を考慮しましょう。高さ調節の幅が広いとベッドに入る時やベッドから立ち上がる時に助けになるだけで無く、ベッド上でケアしてもらう時にも役立ちます。頭を持ち上げられるベッドでも、膝の部分も挙上できるかどうか確認しましょう。この機能があると頭を上げた時に体がずり下がるのを防いでくれます。スライドシーツはベッド上で体の向きを変えるのに役立ちます。購入前にベッドの長さや幅、高さ(最小・最大)、附属機能について実際に試して評価させてもらえるようお願いしましょう。
25. 光沢のあるサテン生地の寝衣やシートはベッドで体の向きを変えるのを楽にしてくれます
26. 夜中によだれが多い場合は、枕をビニールでカバーしてから枕カバーをすると良いでしょう。マイクロファイバーの布が便利で頻繁に交換するのに適しています
27. シープスキンの布を敷布として、また、車椅子のクッションや背もたれの上に使うと心地よく暖かくしてくれます。

衣類の工夫

28. ボタンや複雑な留め具の付いた服はできるだけ避け、かぶり服を選びましょ

う

29. シャツやブラウスのボタンをマジックテープに変えましょう
30. ゴムのウエストバンドが付いたジョギングパンツはズボンより履いたり脱いだりするのが楽です。軽いものはパジャマのズボンとしても使えます
31. 女性は、平底かローヒールの靴を履く方がハイヒールよりも安全ですし，ファッショナブルです.
32. a) ファスナーはつまんで引っ張るのが難しい時があります。キーホルダー(革製のタグはあなたの好みで有っても無くても)の輪をファスナーの金属製タグの穴に着けましょう。こうすることでファスナーをキーホルダーの輪や革製のタグを使って簡単に引っ張ることができるようになります。
    b) 服のファスナーのタグに細い紐か糸を通しておき、使ったら見えないように隠しておきましょう。きれいなナイロンやシリコン製のファスナー引き手(例：右図)も入手可能です。

視聴覚障害の工夫

33. 眼鏡を作る時には、転倒して割っても顔を傷つけないように、ガラスレンズよりプラスチックレンズにしましょう。
34. 眼鏡には、首にかける紐かチェーンを着けている方がいいでしょう。そうすればあなたがうたた寝しているときにも眼鏡は転がり落ちません。
35. a) 近所の図書館には大きな字で印刷された本や、オーディオ、テープや CD, DVD が有り、貸し出しもしてくれるでしょう
    b) 録音図書の定期購読を考えてみましょう。色々なジャンルの本がありますよ。
36. 抱えるのが大変な大きな本を読む時、本を膝の上に置いて読むと頭を前に傾けないといけません。高いテーブルの上に本を置いて良い姿勢で読むように心がけましょう。ダイニングチェアを使うともっと快適に読めますよ。本立てやブックチェーンを使うと本を開いた状態で保てます。
37. 電話機はダイアルボタンが大きい物が便利です。あなたが使いやすくなる機補助器具や改造品が無いか尋ねてみましょう。携帯電話もボタンが大きい物が便利ですよ
38. 障害のために電話を使うのが難しい時は、電話の補助制度で利用できるものが無いか調べてみましょう

書字の工夫

39. a) 字を書く時はペンを持っていない方の手を紙の上に置いて、紙が動かないようにしましょう。これが難しい場合は粘着ゴムやテープを使うと良いでし

ょう。

b) 粘着テープを取り出しにくいストレスを避けるため、テープの引き出しやすいテープカッター(例：右図)を探しましょう。

40. ペンは握りの太い物が良いです。滑り止めの付いた握りもあります。他には(リウマチの人が使う)握り手を大きくしたプラスチック製のペンやシャープペンシルもあります。こうした物を使うことでペンが使いやすく、読みやすい均一な字が書きやすくなります。
41. ボールペンを使う時は垂直に立てると、インクの流れがよくなり、ペン先にむらのない力がかかるようになります。

自宅の転倒防止対策

42. じゅうたん、ゆるいカーペットやマットは自宅での転倒の原因になります。できるだけこれらは取り払いましょう。お風呂のマットも同様です。使ったら片付けましょう！
43. 家の中や外に高い段差がある場合には、作業療法士と「半分の踏み段」を作るべきか相談しましょう。場所によって木製でもコンクリート製でもかまいませんが、段の幅全体をカバーするものが理想的です。段の両側に手すりがあると役立ちます。
44. 段の上からかがみこんで(牛乳)瓶を取り上げるようなことは避けましょう。長い取っ手のついた(牛乳)瓶入れ(例：右図)を使うことで、あなたと(牛乳)瓶が倒れることを防げます。

45. コンセントの位置を腰の高さまで上げることができますが、日曜大工のレベルではありません。コンセントの近くに椅子を置きましょう。そうすれば、座ってからプラグの抜き差しができます。
46. プラグをコンセントに差し込んだり抜き取ったりしやすいようにしっかりした取っ手をつけましょう。
47. 腰の高さにフック(留め具)を取り付けてコンセントに差し込まれていないコードとプラグを引っかけておきましょう。こうすることで、プラグが必要な時に床を探す必要がなくなります。プラグを探してテレビや他の電子機器の後ろにかがみ込むことは避けましょう。
48. a) 雑誌の山や色んなものを床に置かないようにしましょう。つまずいて転ぶ原因となりますよ。

    b) 階段には物を置かないようにしましょう。
49. 転びやすい人が家にいる場合には、たまにしか使わない(ガラス板天板の)テーブルなどは片付けておくべきでしょう。もっと言えば、不必要な家具はできるだけ減らして、動きやすいすっきりした部屋にしましょう。

取っ手・手摺り

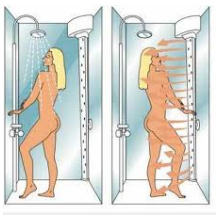
50. 窓のブラインドの「引き手」を長くして、遠くに手を伸ばさなくてもすむようにしましょう。これは単純に、固定された部品にコードやひもを取り付けるだけでできます。

51. 蛇口にフィットしたプラスチックの蛇口レバー(例：右図)を用意しましょう
52. 蛇口の取っ手を(病院で見られるような)レバー式のものに付け替えることを検討しましょう。力を使わずに楽に操作できますし、たくさんの種類から選ぶことができます。
53. 階段の手摺りは片側だけでなく両側にある方がいいです。作業療法士にあなたの自宅の階段に適したものがないか相談しましょう。
54. a) 手摺りはつるつるしたものより、ざらざらまたは突起のある物のほうがつかみやすいです。手摺りは便利なものですが、しっかり固定されていなくてはいけません。あなたの安全を支える大切なもののですから、あなたのいる時に取り付けてもらうようにしましょう。

    b) お風呂場やトイレに手摺りを取り付ける時は、座った時と立った時の両方に適した高さを確かめましょう。将来シャワーチェアーを使う可能性があることを考えて、お風呂場に椅子を持ってきて、座った時の手の届く範囲と高さを確かめましょう。つるつるした手摺りは避けましょう。ざらざらしたものの方が、濡れた手でも滑りにくいです。

浴室関係

55. 脱衣室と浴室（シャワールーム）の間には段差がない方が安全です。初めて風呂場を改修するのであれば、長い先のことも考えて行い、高価な無駄遣いを避けるようにしましょう。(作業療法士が相談に乗ることができます)
56. 浴室用全身乾燥機(全身を温風で乾燥させる物：例右図)には、足で使える(電動でない)安全なコントローラーが付いていることがあります。浴室乾燥機を使って、入浴前に浴室(脱衣所ではなく)を温めておくこともできます。



57. 安全な滑り止めマットをお風呂場とシャワー室にしきましょう。滑りやすい全ての範囲に敷き詰めるようにしましょう
58. タッチセンサー式のコントローラーを使うとシャワーを一人でしやすくなります。

衛生用品

59. 衛生用品では、薬局やスーパーで買えるウェットティッシュを使いましょう。値段や１パックの枚数、品質には様々な種類がありますがトイレでとても役立ち、あらゆる年齢の方に使えて、トイレに流すこともできます。
60. 旅行用にはポケットやカバンに入れて持ち運べる個別包装の折りたたみ式ボトルやおしりふきがあります。衛生用品は、作業療法士にアドバイスを求める最優先項目の一つです。
61. あなたのニーズに応えてくれるトイレがありますよ！洗浄・乾燥機能は個人に合わせた調整が可能です。昇降式便座(例：右図)も利用可能です。こうしたトイレは簡単に操作でき、動きづらくても簡単に操作でき、通常のトイレとしても使えます。

62. 電動歯ブラシや歯石除去剤は口腔衛生を簡単で効果的にしてくれ、歯磨きの苦労を軽減してくれます。歯医者さんで相談すると良いですよ。

家事用品

63. 電動缶切り器(例：右図)は便利ですが、色々な種類があるので試用してみましょう。電池を入れるとかなり重くなるものもあります。磁石の蓋ホルダーが着いているかどうかも確認しましょう。

64. プルトップの缶を空けるのが大変ですか？多くのプルトップ缶は缶切り器でも開けることができます。台所用品にも、プルトップのリングをレバーで持ち上げて蓋を開ける物(例：右図)があります。メールオーダーやカタログ通販で取り寄せることもできます。

65. 野菜の皮むき器や他の台所用品は大きくて握りやすい持ち手が付いた物を探しましょう。作業療法士がアドバイスしてくれます。
66. 電気器具を使う時はキッチンタイマーを使う習慣を身につけましょう。部屋を離れる時はタイマーを持って動きましょう。鍋やフライパンを火にかけっぱなしにすると、食べ物が焦げたり台無しになったりするだけで無く火事の危険もあります。
67. ジャガイモ皮むき器は可動刃の方が、固定刃のものより使いやすく、軽い力でむくことができます。
68. ナイフやフォーク、スプーンは太い柄のものが握りやすいでしょう。重さやバランスも確かめましょう。
69. ナイフは鋸刃のものの方が簡単に切ることができます

70. 小さくて軽い鍋を選びましょう、中身の入った重たい鍋を抱えるのは持てたとしても避けましょう。鍋を流し台に移す前に、食べ物を穴あき杓子で取り出しておきましょう。安全のため直ぐに水で冷やしましょう。調理(煮炊き)に水を使わないよう蒸し器の利用も考えましょう。
71. コップの大きさや取っ手が握りやすいかどうか確認しましょう。重心が上になるようなデザインの食器もあります。陶器類の食器は扱いやすい重さかどうか確認しましょう。
72. 取っ手の大きい断熱性のマグカップは、熱い飲み物を入れても、指や手のやけどを防いでくれます。
73. 取っ手の大きい軽い断熱性のプラスチック製マグカップを選ぶとよいでしょう。マグカップを一杯に注ぐとどれくらい重くなるか思い出して下さい。カップにあふれるほど満たす必要はありませんよ！
74. (ミルクティーを作るときは) 牛乳を先にカップに入れましょう。そうすれば、熱い紅茶をカップからあふれさせることなく適量混ぜることができます。
75. (全周に)縁のある、持ち手つきのトレイを使えば、こぼしてしまうのを減らせますし、ひっくり返した飲み物でカーペットを台無しにしてしまうのを防げます。滑り止めシートの利用も考慮しましょう。
76. 慣習にとらわれず、重さを気にしてください！重い陶器類は、使う時も収納する時も抱えるのが大変です。ガラス食器や全ての陶器に同じことが言えます。賢く選びましょう。ピクニック用品は軽量ですし、日常使いに適した様々なデザインのものがあります。
77. 台所の作業台の上は、日々使うやかんやお鍋のためにスペースを空けておきましょう。そうすれば、食器棚から持ってくる労力を節約できます。
78. a)　大型の炭酸飲料ボトルは開けにくいばかりでなく、持ち上げて注ぐにも重いものです。通信販売会社で、ボトルに取り付けて、持ち上げたり傾けて注いだりしやすくする、再使用可能なハンドルを販売しています。より小さい容器、缶、ボトルを使用することも考えましょう。

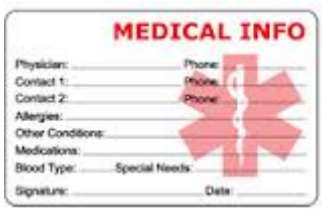
    b)　ボトルを開けやすくするための道具には、様々なデザインのものがあります。購入する前に試して見ましょう。缶のプルタブのリングを持ち上げるための道具(例：右図)は、大変安価で購入できます。
79. しゃっくりは時に悩ましいものです。試しに、泡立つレモネードドリンクや、炭酸飲料を飲んで見てください。こうすれば「げっぷ」が出て、しゃっくり発作もおそらく治まるでしょう。

80. 洗濯物を外に干すときは、ドリーペグ（伝統的な木製の人形型の洗濯ばさみ:右図）を使いましょう。バネ式の洗濯ばさみは使いにくいかもしれません。寒い日には洗濯物を外に干すのは避けた方がよいでしょう。乾燥機を投資するか、家族や友人に協力を求めましょう。協力してくれる人たちには、洗濯物はまた出てくるものだということを覚えておいてもらいましょう！

転倒・事故予防法・対策、その他の工夫

81. 手をポケット(内ポケット・外ポケットどちらも)に入れて歩き回ってはいけません。転びそうになって手で支えないといけないことがあります。
82. 階段の縁が目立つように白いテープを貼りましょう。外の階段は縁を白く塗りましょう
83. 鍵を回すのが困難な時、楽にしてくれるキーホルダーがあります。ハンドルがレバーになって鍵を楽に開けられるようにしてくれます。作業療法士に尋ねてみましょう。
84. 常に足場の悪いところを避けるようにしましょう､特に石畳やあれた舗装路、コンクリートの細道など。深い芝や泥地を避けることも転倒を防いでくれます。
85. T 字型の取っ手のねじ回し(例:右図)は日曜大工を作業しやすくしてくれます

86. 連絡を取り合いましょう。もし、入院する予定がある場合、宛名を書いて切手を貼った封筒と、便箋を用意しておきましょう。これがあると手紙を書きやすくなります。(または、病院の公衆電話が使えるよう小銭を用意しましょう)。病棟で携帯電話が使えるか確認しましょう。
87. a) 病院に行く時は筋強直性ジストロフィーについての情報を携帯しましょう。Alart Card(特定の疾患や緊急処置に特殊な配慮が必要なことを知らせるカード：右図)の情報を赤い紙に書いておくと簡単に見つけてもらえます。このようなものがあると、関心のある他の医療スタッフにも配ることができ、Alart Card を作るより安上がりです。一つはベッド脇の机の上やベッドに掛けておくと良いですよ。



b) こうした赤い紙は看護スタッフや学校でも使うことができます。

88. 時計バンドは伸縮式の物が通常のベルトより便利です
89. ネックレースは短い物より、継いだまま頭が通る長い物を選ぶと結んだまま

着け外しできて良いです

90. a) Alart Card を常にファスナー付きのポケットかバックに入れて携帯しましょう。緊急の際に役立ちます。

b) 緊急時に備えて医療緊急用ネックレースやブレスレット(必要な医療情報を刻印したもの：例右図)を着けても良いでしょう。(学校の体育など)これらを体から外さなければならない時はブラやベストの紐に鎖で取り付けるか、ポケットなど邪魔にならないところにしまっておきましょう。こうした利用が快適にできるスポーツウェアを探しましょう。

※刻印例イメージ画像
（注：刻印例画像の素材はチタンです）

あるいは、Alert Card を上着やズボンのファスナー付ポケットに入れておきましょう。

91. お出かけした時、その場でちょっと座りたいな、と思うことはありませんか？2 輪の軽量買い物カート(例：右図)は、座面が折りたためるようになっていて背もたれもついていれば、外出した時、しょっちゅう、ちょっとだけ「休憩」が必要な人にとって、理想的な必携品になります。他にも、折りたためる座面つきの歩行介助具があります。買う前に、ご自分で使いやすいかどうか試してみること、もっといいのは作業療法士にチェックしてもらうことです。歩行介助具にブレーキをかけるのが難しい方の場合は、専門家のアドバイスを受けましょう。

92. 衣類は軽くて薄いものを重ね着した方が、分厚いものを一枚着るより暖かいですよ。

93. 入浴やシャワーの時には、声が聞こえる範囲に誰かにいてもらうようにしましょう。何か助けが必要な場合に備えて。

94. 浴槽から出るのが難しい場合、下向きになって、膝立ちになります。そうすると、手で身体を引っ張り上げるのから、押し上げる形になります。適切な高さに手摺りを着けておくことはとても大切です。

95. お風呂から出られなくなった時は、お湯が冷める前にまず抜いてしまって、手の届くところにあるタオルや衣服を体に巻きつけで、誰かが助けに来るまでできるだけ体を冷やさないようにしましょう。

96. 貴重品はジャケットやコートのチャックつきポケットに入れるようにしましょう。小銭はマジックテープの付いた袋やチャックのついたかばんの大きなポケットを利用してもよいです。コートの深いポケットに財布を入れると取り出すのが大変ですよ。

97. 歩行用ストックは歩行介助具の代替品として役立ちます。歩行の補助だけで無く、上体を起こしてもくれます。使用については作業療法士と相談しましょう。様々な種類があり、値段も様々です。買う前に試してみましょう。
98. 公衆トイレにいつでも入れるレーダーキーを、障害者なら安く買うことができます。それを外出する時に持ち歩くとよいですよ。詳しくはレーダーキーカンパニー（01395 22588）にお電話を。(英国の制度で、日本にはありません)
99. ベッドサイドにしびんやポータブルトイレを置くと、夜トイレまで歩かなくてすみます。特に、外泊する時には検討しましょう。安全第一ですよ。
100. 英国赤十字は医療貸付金、必要物品の提供、基本的に 24 時間対応の救急サービスを用意しています。具体的には、車いす、背もたれ、バスマット、ポータブルトイレ、上昇式トイレシートなどです。貸付は無料ですが、赤十字への寄付はいつでも大歓迎。くわしくはお近くの赤十字センターまでお電話を。(英国の制度ですが、日本にも様々な制度があります。保健師や行政、ソーシャルワーカーなどにご相談下さい)
101. 長い折れ曲がりストロー(右図)が市販されていますが見つけにくい場合があります。これがあれば重い飲み物を持ち上げなくていいし、こぼれにくいし、なにより見かけがかっこいいです。

102. 処方箋の注意書きは大きな字で印刷して下さい、と頼みましょう。
103. 蓋が開く形のコインケースはとても便利です。

翻訳に協力いただいた人々
独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科
中嶋容子、松井未紗、森　千晃、齋藤朋子、山寺みさき、遠藤卓行、齊藤利雄、松村　剛

神経筋疾患患者での栄養所要量推定法

神経筋疾患患者では必要以上に栄養を摂取することは、体重を増加させて筋肉に負担をかけるだけでなく、心肺機能への負荷も増大させます。このため、栄養所要量を適切に推定することが大切です。一方、神経筋疾患では筋肉量の減少や運動機能の低下、呼吸器装着など、特殊な要因があるため、一般と同じ栄養所要量推定法を用いると過剰に推定されることが多いのが現実です。栄養消費には個人差が大きいので、正確な測定は間質カロリメトリーなどで実測することが望ましいのですが、現実には困難です。多くの場合、推定式を用いた推定を行っていますが、神経筋疾患における注意点を述べたいと思います。栄養所要量推定はあくまで目安に過ぎませんが、適切な栄養管理にお役立ていただければ幸いです。
ず、体重測定や体組成測定、血清学的指標を用いて常に修正する必要がありますが、適切な推定が大切です。

栄養所要量の推定式では
基礎代謝量を幾つかのパラメータ(年齢、性、身長、体重、体組成 etc)から推定し
栄養所要量＝基礎代謝量×活動係数×ストレス係数
により算出します。
私達は以下の点に配慮して栄養所要量推定する方法を提唱しています。

１．日本人データに基づいた推定式を用いる

広く使用されている基礎代謝量推定式として Harris-Bennedict 式があります。しかし、これは欧米人のデータに基づいているため、日本人に適応すると過剰に推定する傾向があります。日本人データに基づいた推定式としては。国立栄養研究所が作成した Ganpule 式があります。これには、身長・体重を用いるものと、体組成データを用いるものの 2 種類があります。

①．身長・体重、年齢、性別に基づく推定式(体格推定式)

基礎代謝量=29.57+11.49×体重(kg)+5.59×身長(cm)-3.30×年齢-性別

(性別：女性=0.5473×2)

②．体組成、年齢、性別に基づく推定式(体組成推定式)

基礎代謝量=572.34+18.80×徐脂肪量(kg)-2.60×年齢(歳)+6.40×脂肪量(kg)-79.17×(男:1, 女:2)

２．基礎代謝に及ぼす因子

①．骨格筋量

神経筋疾患では、骨格筋の量が減少します。筋肉は一般的な成人男性では体重の 40%を占める最大の臓器であり、筋肉が萎縮することは、体組成を変化させ、生体のエネルギー消費と貯蔵に大きな影響を及ぼします。一般成人男性では、安静時栄養所要量の約 20%を筋肉が占めるため、筋肉量に応じた調整が大切です。

DEXA(二重エネルギーX 線吸収法)やインピーダンス法により全身の体組成を測定できれば、体組成推定式を用いることで特別な補正は不要です。神経筋疾患の患者様は筋萎縮に伴い体脂肪率が高い患者様が多いため、栄養所要量把握の点からも定期的な体組成データの測定を推奨します。体組成データが得られない場合、運動機能から残存筋肉量を推定し、体格推定式を補正する方法があります。

骨格筋量は運動機能を目安した場合、おおよそ以下の程度とされています。

階段に手摺りを要するレベル：　50%程度

階段昇降不能・平地歩行可能なレベル：　20%程度

歩行不能・這行可能なレベル：10%程度

這行不能なレベル：5%未満

②．意識障害がある患者様の場合

脳は、安静時エネルギー消費の 20%を占めるため、昏睡や著しく脳の活動が低下した患者様では、この分を調整することが必要になります。

３．活動係数に影響を及ぼす因子

神経筋疾患において活動係数に影響を及ぼす最大の要素は、呼吸不全です。呼吸機能低下による努力呼吸はエネルギー消費を増大させ、人工呼吸管理は呼吸努力を低下させ栄養所要量を減少させます。

①．人工呼吸管理

神経筋疾患では、病気の進行に伴い呼吸機能が低下し、呼吸器を装着される患者様もおられます。人工呼吸管理は呼吸努力を低下させエネルギー消費を軽減します。この程度は、呼吸器にどの程度依存しているかと、装着時間によって変化します。大まかな目安は、以下のようにしています。

気管切開で呼吸器に完全に依存している場合：0.1 活動指数を減ずる

終日非侵襲的陽圧換気を実施している患者：0.05 活動指数を減ずる

②．努力性呼吸

呼吸に努力を要する患者では、エネルギー消費が著しく増大し、るいそうの原因となります。消費量に合わせた栄養供与には、活動係数を努力呼吸の程度に合わせて増加することが必要ですが、呼吸不全状態では栄養を投与しても、吸収に必要な代謝造増加分に見合う酸素供給増加(呼吸増加)ができません。この場合は、栄養供与を増やす前に、人工換気の導入を図ることが大切です。

４．実際の推定法

①基礎代謝量の推定

体組成データがある場合：体組成推定式×(1-意識障害調整)

体組成データがない場合：体格推定式×(0.8+残存筋肉調整-意識障害調整)

意識障害調整：深昏睡レベルの場合:0.2

残存筋肉調整：0.2×運動機能レベル(上記参照：例 階段昇降不能・平地歩行可能レベル：0.2)

②栄養所要量の推定

活動係数、ストレス係数は原則として一般と同じに扱う

ただし、移動等活動に大きな努力を要する患者では、運動量と努力の程度を加味して活動係数を設定する

呼吸器装着患者は上記に基づき、活動係数を調整

最後に

エネルギー消費量は個人差が大きいのが実際です。本方式による栄養所要量推定はあくまで目安に過ぎません。また、栄養所要量だけでなく、栄養構成にも留意する必要があります。それでもこのような推定法は、過度な栄養投与による負荷を避ける上で大切と考えます。体重変化や体組成、血液学的指標によるモニタリングにより適切な栄養管理に努められることを願います。

参考文献

松村　剛、森　千晃、豊岡圭子、藤村晴俊、佐古田三郎．神経筋疾患患者の栄養所要量推定では体組成を用いた基礎代謝量推定と呼吸管理・意識障害による補正が有用である．神経治療学 2013; 30 (6): 763-768

Ganpule AA, Tanaka S, Ishikawa-Takata K, Tabata I. Interindividual variability in sleeping metabolic rate in Japanese subjects. Eur J Clin Nutr. 2007; 61(11): 1256-61.

筋強直性ジストロフィーにおける最適な呼吸療法に関する研究

研究組織

実施責任者　　国立病院機構鈴鹿病院臨床研究部（神経内科）　久留　聡
国立病院機構仙台西多賀病院神経内科　　高橋俊明
国立病院機構東埼玉病院神経内科　　鈴木幹也
国立病院機構刀根山病院神経内科　　松村　剛、斉藤利雄
その他

背景

筋強直性ジストロフィー（DM）の治療の中でも、呼吸療法は極めて重要な位置を占め生命予後に大きな影響を与えると考えられます。しかしながら、本邦の筋ジス専門施設においてどのような呼吸療法がなされ、どの程度の効果が得られているか、どのような問題点があるのかについては、まだ十分には調べられていません。

目的

筋ジストロフィー専門施設におけるDMの呼吸療法の現状を把握し、課題と問題点を明らかにすることです

対象と方法

国立病院機構を中心とする筋ジストロフィー専門27施設では1999年以降、毎年10月1日に筋ジストロフィー病棟に入院中の患者様の状態を把握しデータベースを作成してきました。1999年～2013年に筋ジストロフィーデータベースに登録されたDM症例（約1100例）を対象とします。既にデータベースにある情報に加え、データベース参加施設に追加調査票を送付してより詳細な情報を取得し、人工呼吸器の使用状況、経過、予後、死因の解析を行い、本症における最適な呼吸療法についての基礎データを得ます。

本研究における個人情報保護について

本研究では参加各施設であらかじめ倫理委員会の承認を得て実施します。本研究においては、過去に臨床目的で実施されたデータのみを用いるため、患者様に新たなご負担を求めることはありません。また、データは連結可能匿名化の上個人情報(氏

名、生年月日、住所など)が分からない形で提供されるなど、個人情報保護に配慮した形で実施します。研究成果は学会や論文等で発表を行う予定ですが、この際においても個人情報が公表されることはありません。このため、本研究においては個々の患者様に直接研究参加への同意をいただくことは行わず、研究参加各施設やこのようなホームページによるお知らせを行っています。皆様方におかれましては、本研究の主旨をご理解いただきご了解いただきますようお願い申し上げます。ご自身のデータがこのような研究に活用されることに同意できない方は、診療を受けた施設が本研究に参加しているかご確認の上、本研究に協力できない旨ご連絡下さい。

本プロジェクト問い合わせ先
国立病院機構鈴鹿病院神経内科　久留　聡
〒513-0004
三重県鈴鹿市加佐登3-2-1
TEL: 059-378-1321

循環器障害研究プロジェクトチーム　研究内容紹介

タイトル
「筋強直性ジストロフィー患者の心電図の経時的分析による致死性不整脈の因子分析とデバイス適応の検討」

研究組織
実施責任者　滋賀医科大学　呼吸循環器内科　伊藤　英樹
国立精神神経医療研究センター神経内科　瀬川和彦
滋賀医科大学呼吸循環内科学講座　堀江　稔
弘前大学不整脈先進治療学講座　佐々木真吾、奥村　謙
国立病院機構東埼玉病院難治性疾患部　田村拓久
国立病院機構刀根山病院神経内科　松村　剛
その他

背景
筋強直性ジストロフィー(DM)は、多臓器に障害をきたす疾患ですが、その臨床症状はさまざまであることが知られています。心病変については伝導障害、不整脈がみられることが多く、いくつかの心電図異常と心房性頻脈性不整脈が突然死の予測因子であるとの報告もあります。一方、心臓死を予防するための検査の開始時期、頻度、検査の内容について、また治療についてのガイドラインは確立しておらず、一般の人とは予後、突然死のリスクなどに対する意義が異なると考えられます。DMの心イベント、突然死の予測因子を探索し、予防策を検討することはこの疾患の診療向上に重要であると考えています。

目的
DM 患者様の経時的心電図変化と心イベント、遺伝子変異、呼吸不全・その他の合併症との関連等を検索し、致死性不整脈が生じる因子の分析と適切なデバイス適応を確立したいと考えています

方法
研究参加施設で過去10年間に診療されたDM患者で、遺伝学的に確定診断され、CTGリピート数が判明している患者様（36回以上、正常者　25回未満）を対象に年齢、性別、CTGリピート数、心電図と心エコー、呼吸状態などの臨床情報を解析し、予後と心臓不整脈に関与する因子を解析します。

本研究における個人情報保護について
本研究では参加各施設であらかじめ倫理委員会の承認を得て実施します。本研究においては、過去に臨床目的で実施されたデータのみを用いるため、患者様に新たなご負担を求めることはありません。また、データは連結可能匿名化の上個人情報(氏名、生年月日、住所など)が分からない形で提供されるなど、個人情報保護に配慮した形で実施します。研究成果は学会や論文等で発表を行う予定ですが、この際においても個人情報が公表されることはありません。このため、本研究においては個々の患者様に直接研究参加への同意をいただくことは行わず、研究参加各施設やこのようなホームページによるお知らせを行っています。皆様方におかれましては、本研究の主旨をご理解いただきご了解いただきますようお願い申し上げます。ご自身のデータがこのような研究に活用されることに同意できない方は、診療を受けた施設が本研究に参加しているかご確認の上、本研究に協力できない旨ご連絡下さい。

問い合わせ先

滋賀医科大学　呼吸循環器内科　伊藤英樹
住所：520-2192　滋賀県大津市瀬田月輪町
電話番号：　077-548-2213

代謝障害研究プロジェクトチーム　研究内容紹介

タイトル

「持続血糖測定器を用いた筋強直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の解析」

「糖尿病を合併した筋強直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」

「糖尿病のコントロールによる予後に関する前向き研究」

研究組織

実施責任者　国立病院機構青森病院神経内科　高田博仁

国立病院機構刀根山病院神経内科　松村　剛

国立病院機構大牟田病院神経内科　荒畑　創

大阪大学大学院医学系研究科糖尿病病態医療学寄附講座　岩橋博見

大阪大学大学院医学系研究科神経内科学講座　高橋正紀

国立病院機構兵庫中央病院神経内科　二村直伸

国立病院機構旭川医療センター神経内科　木村　隆

その他

背景

筋強直性ジストロフィー(DM) にみられる多彩な合併症の一つに糖代謝異常があります。DM の耐糖能障害は、インスリン感受性低下が主因とされていますが、インスリン分泌の障害や筋萎縮、運動機能障害などが加わり複雑な病態を呈します。現状では、まだ、DM における血糖変動の詳細や耐糖能障害がどのような経過をたどるのか、詳しくはわかっていない点もあり、DM の耐糖能障害に対する最も適した治療法がどんなものか、議論のあるところです。

目的

代謝障害研究プロジェクトチームでは、DM における糖代謝異常に関する研究を実施し、DM の耐糖能障害に対する最適な治療法を提唱することを最終的な目標と考えています。

現在、血糖持続測定 (CGM) システムを活用した研究を 2 つ、DM 患者情報登録に関連した糖尿病のコントロールによる予後に関する前向き研究を 1 つ企画しています。

CGM を活用した研究の概要

CGM とは、皮下の組織間質液中の糖濃度を 24 時間以上継続して測定することができるシステムで、一般糖尿病診療においては、既に一部の医療機関で診療に利用されています。我々の進めようとしている CGM を用いた研究とは、DM における詳細な血糖変動を明らかにすることを目的とした「持続血糖測定器を用いた筋強直性ジストロフィーにおける詳細な血糖変動の解析」と、DM に合併した糖尿病の治療に有用ではないかと推測されるインクレチン療法など新しい糖尿病治療の有効性を評価する「糖尿病を合併

した筋強直性ジストロフィーにおける持続血糖測定器を用いた DPP-4 阻害薬の有効性に関する検討」です。

これらは、現在、研究担当者の所属施設における倫理委委員会の審査を終了し、研究参加者の協力を得て、研究を開始する段階にあります。本ホームページにより詳細な内容(ファイル)を掲載してありますので興味を持たれた方は是非お読み下さい。患者の皆様のご協力を心からお願い申し上げる次第です。

糖尿病コントロールによる予後に関する前向き研究の概要

予後に関する前向き研究とは、糖尿病合併 DM に対する糖尿病のコントロールは HbA1c がどの位の値を目安にすべきかを明らかにすることを目的として、筋強直性ジストロフィー患者登録に登録された臨床情報から HbA1c や脂質・血圧・BMI、イベントなどの項目に関する二次調査を施行するもので、患者登録の集積を待ちながら、具体的方法につき検討している状況にあります。研究計画書が確定しましたら、本ホームページ上で公開する予定です。

本研究における個人情報保護について

本研究は参加各施設であらかじめ倫理委員会の承認を得て実施します。研究に参加いただく患者様には、本研究の主旨をご理解いただき同意を得た上で実施します。臨床情報および検査データは連結可能匿名化の上個人情報(氏名、生年月日、住所など)が分からない形で提供して解析を行うなど、個人情報保護に配慮した形で実施します。研究成果は学会や論文等で発表を行う予定ですが、この際においても個人情報が公表されることはありません。皆様方におかれましては、本研究の主旨をご理解いただきご了解いただきますようお願い申し上げます。

このような疫学・臨床研究を進め、エビデンスに基づいた治療法を提唱していくためには、患者登録や臨床研究への患者様のご協力がぜひとも必要です。医療レベルの向上を目指した主旨をご理解いただき、何卒よろしくご協力頂けますよう、重ねてお願い申し上げます。

本プロジェクト問い合わせ先
国立病院機構青森病院神経内科　高田博仁
〒038-1331
青森県青森市浪岡女鹿沢平野155
TEL: 0172-62-4055

中枢神経系障害研究プロジェクトチーム　研究内容紹介

タイトル

「筋強直性ジストロフィーにおける神経心理学的特徴の解明」

研究組織

実施責任者　　国立病院機構沖縄病院神経内科　諏訪園秀吾

国立病院機構あきた病院神経内科　　和田千鶴

国立病院機構刀根山病院神経内科　　松村　剛

大阪大学大学院人間学部臨床心理学　　井村　修

その他

背景

筋強直性ジストロフィー（DM）においては、MRI等の画像検査で白質に異常信号が見られる、病理所見でタウ蛋白の蓄積が見られるなどの中枢神経病変が知られていました。臨床的にも無欲的な性格や認知症の存在が知られていましたが、近年様々な神経心理学的検索により、視空間認知や実行機能の障害など本症の特徴が明らかにされつつあります。中枢神経障害を正しく認識することは、生活の質向上や適切な受療を勧める上でも重要な他、適切な評価方法の確立は、新しい治療の有効性を評価する上でも重要です。

目的

様々な神経心理学的評価を用いてDM患者様の評価を行い、遺伝子変異、年齢・性・罹病期間等の関連も検索することにより、本症の神経心理学的特徴を明らかにすると共に、簡易で鋭敏な本症の神経心理学的評価方法を確立したいと考えています。

方法

研究実施施設を受診中のDM患者様で、本研究の主旨をご理解いただき承諾を得られた方で、様々な評価法を用いて神経心理学的評価と臨床情報の収集を行います。
神経心理学的検査の内容としては、MMSE, FAS, FAB, CAT, VPTA, ADAS, WCST (Keio板)、WAIS-III(一部)、自記式尺度として、やる気スコア、PHQ-9, Epworth Sleepiness scale, MFI-20, MDQoL60、他者評価尺度としてSRS-2等を予定しています。

臨床情報としては、CTGリピート数、年齢、性、発症年齢、最終学歴、就労状況、服薬内容、生活機能(modified Rankin scale)等の臨床情報を収集します。

　これらの情報を解析し、DMの神経心理学的特徴を明らかにするとともに、簡易で鋭敏なDMの神経心理学的検査法を確立するための基礎データを得ます

本研究における個人情報保護について

本研究は参加各施設であらかじめ倫理委員会の承認を得て実施します。研究に参加いただく患者様には、本研究の主旨をご理解いただき同意を得た上で実施します。臨床情報および神経心理学的検査データは連結可能匿名化の上個人情報(氏名、生年月日、住所など)が分からない形で提供して解析を行うなど、個人情報保護に配慮した形で実施します。研究成果は学会や論文等で発表を行う予定ですが、この際においても個人情報が公表されることはありません。皆様方におかれましては、本研究の主旨をご理解いただきご了解いただきますようお願い申し上げます。

本プロジェクト問い合わせ先
国立病院機構沖縄病院神経内科　諏訪園秀吾
〒901-2214
沖縄県宜野湾市我如古3-20-14
TEL: 098-898-2121