

## 症例報告

# CLCN1 遺伝子に新規変異 p.F343C を同定した先天性ミオトニアの 1 家系

中村 善胤<sup>1)\*</sup>, 佐藤 秀則<sup>2)</sup>, 垣内 謙祐<sup>1)</sup>, 宮野 佑樹<sup>2)</sup>, 細川 隆史<sup>1)</sup>, 荒若 繁樹<sup>1)</sup>

1) 大阪医科薬科大学内科学 IV 教室脳神経内科

2) 山形大学 Well-Being 研究所マルチオミクス研究部門

**要旨:** 症例は 42 歳女性。10 歳代より動き出しが悪く妊娠中に手の開きにくさが出現した。筋力低下や筋萎縮や寒冷時症状悪化や一過性四肢脱力は無いがウォームアップ現象を伴う把握ミオトニアを認めた。針筋電図検査で第一背側骨間筋と前脛骨筋にミオトニア放電を認め全エクソーム解析で CLCN1 遺伝子にヘテロ接合性一塩基置換 (c.1028T>G, p.F343C) を認めた。同置換は症状のある母と弟に認め無症状の父と別の弟になかった。細胞外 I-V ループ領域アミノ酸置換を伴う新規の CLCN1 遺伝子変異による先天性ミオトニア (Thomsen 病) と診断した。顕性遺伝形式で同領域の変異は少なく本疾患の病態理解に貴重な家系と考えた。

**Key words:** 先天性ミオトニア, Thomsen 病, CLCN1 遺伝子, CLC-1 クロライドチャンネル, 新規変異

## はじめに

ミオトニア現象は、随意的あるいは機械的に誘発されて収縮した骨格筋の弛緩が遅延する現象である。先天性筋強直症はミオトニア現象を主徴とする筋の変性を伴わない遺伝性疾患の一つであり、第 7 染色体長腕 35 に局在する骨格筋クロライドチャンネル遺伝子 (CLCN1) の変異により発症する。常染色体顕性遺伝形式をとる Thomsen 病と、常染色体潜性遺伝形式をとる Becker 病に分けられ、Becker 病の方がより重症である<sup>1)2)</sup>。

CLCN1 遺伝子がコードする骨格筋クロライドチャンネル (CLC-1) は膜を 8 回貫通し 13 個のドメインから構成されるタンパク質である<sup>3)</sup>。CLC-1 は相同な二つのサブユニットから形成され、筋の脱分極後の再分極に作用する。CLCN1 遺伝子の変異により CLC-1 の機能異常が起こると、再分極の遅延によって骨格筋弛緩が遅延し筋の強直が生じる。

先天性ミオトニアとの関連が示唆されている CLCN1 遺伝子変異は、アミノ酸置換や早期終止コドンを生ずる点変異や塩基の欠失や挿入などが、遺伝子全体にわたり 200 種類以上報告されている<sup>1)4)</sup>。しかし、同じ遺伝子変異が顕性遺伝形式の家系と潜性遺伝形式の家系の両方に認められることがある。また、機能解析の結果がその臨床症状や遺伝形式と一致しない例もあるなど、CLCN1 遺伝子の変異がどのような機序で先天性ミオトニアを起こすのか不明な部分が多い<sup>1)</sup>。さらに、先天性ミオトニアは圧倒的に欧米に多く、本邦におけるその臨床的特徴、遺伝学的特徴には不明な部分が多く残されている<sup>5)</sup>。

我々は、本邦の先天性ミオトニア (Thomsen 病) の家系において全エクソーム解析を行うことで CLCN1 遺伝子に新規変異 c.T1028G, p.F343C を同定した。その臨床的特徴を報告し、今回認められた新規変異の病的意義を考察する。

## 症 例

症例 1: 42 歳女性 (Fig. 1, IV-3)

主訴: 両手が開きにくい

既往歴: 特になし。出生発達に問題はなかった。

家族歴 (Fig. 1): 秋田県の出身である母 (III-4)、下の弟 (IV-5) は小学生の頃より動き出しがしづらく、しばらく動いていると改善するといった症状があった。日常生活に支障はないためこれまで医療機関を受診したことはなかったが、診察すると軽度の把握ミオトニアを認めた。それ以外の神経学的所見に異常を認めなかった。

生活歴: 秋田県出身。

現病歴: 10 歳代前半の時、動き出しが悪い、一歩踏み出そうとするとなかなか足が前に出ない、声を出そうとする際に顎が動きづらい、といった症状が出現した。39 歳の第 1 子妊娠時、手足の動き出しが悪くなる頻度が増えた。41 歳の第 2 子妊娠時、両手が開きにくい症状が出現し、42 歳時に脳神経内科を受診した。

神経学的所見: 神経診察上、顔貌は正常、筋力は正常で筋萎縮や筋肥大はなかった。脳神経系、四肢腱反射、感覚系、歩行は正常で、パーキンソニズムや失調も認めなかった。両手に把握ミオトニアを認めた。繰り返す動作によりミオトニアが軽くなるウォームアップ現象を認めた。顔面のミオトニアや叩打ミオトニアは認めなかった。寒冷による症状の増悪はなく、一過性四肢麻痺の病歴もなかった。ミオトニア症状発現時に痛みは伴わなかった。

検査所見: 血液検査でカリウム値、CK 値、甲状腺機能は正常範囲であった。心電図検査、呼吸機能検査で異常所見を認めなかった。頭部 MRI 所見は正常であった。神経伝導検査、short



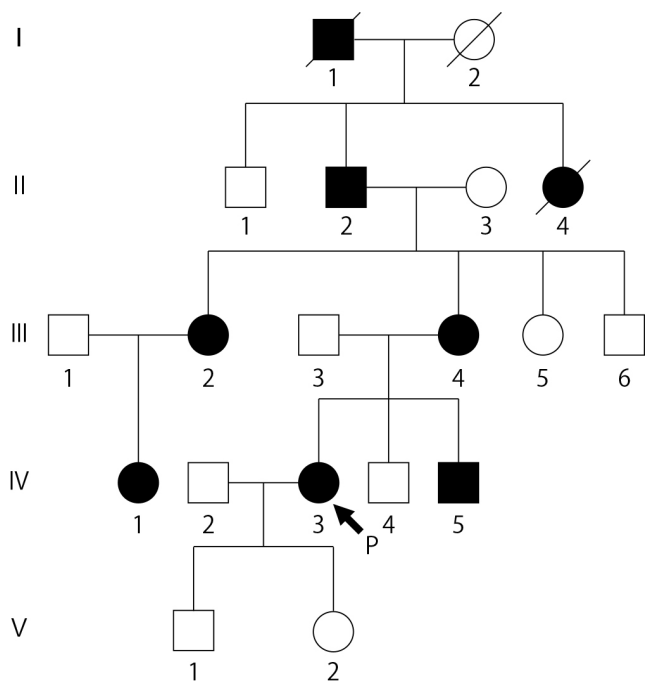


Fig. 1 Pedigree of the proband's family.

Squares indicate men and circles indicate women. Open symbols indicate unaffected members and filled symbols indicate affected members. Strike-through symbols indicate deceased members. The proband is shown as P (IV-3). Generations are denoted by Roman numerals.

exercise test, prolonged exercise test, 反復刺激試験はいずれも正常であった。針筋電図検査で右第一背側骨間筋, 右前脛骨筋に豊富なミオトニー放電を認めた。線維自発電位は認めず, 個々の運動単位電位も正常であった。

遺伝学的検査: 家系内に同じ症状を持つ方が複数いることより, 遺伝性の筋強直症候群の可能性を考えた (Fig. 1)。臨床症状から先天性ミオトニアを鑑別に挙げて, 発端者の血液 (IV-3) を用いて全エクソーム解析を行うこととした。解析にあたって大阪医科薬科大学の倫理委員会の承認を得た (#2297-4, 2020年7月8日承認)。ゲノムDNAを末梢血より抽出し, アンプリコンベースの全エクソーム解析を Ion Proton™ System (Thermo Fisher Scientific) を用いて行った。先天性ミオトニアに関連する CLCN1 遺伝子において, ヘテロ接合性に遺伝子変異 c.1028T>G, p.F343C (NM\_000083) を同定した。ヒト遺伝子変異データベース The Human Gene Mutation Database で検索したところこれまで報告されていない未知の遺伝子変異であった<sup>6)</sup>。さらに, この遺伝子変異は, 健常人のパリアントデータベースである The Genome Aggregation Database<sup>7)</sup> や Japanese Multi Omics Reference Panel<sup>8)</sup> には存在しない遺伝子変異である一方, 遺伝子変異の機能予測のスコアである CADD\_phred スコアが 27.8 (一般的に >20 で有害変異と判断) と高値であり病的変異と考えた。また, CLCN1 遺伝子と SCA4A 遺伝子の両方にヘテロ接合性遺伝子変異を有しミオトニア症状を示す例が報告されているが<sup>9)</sup>, 本症例において SCA4A 遺伝子に既知の病的変

異は認めなかった。

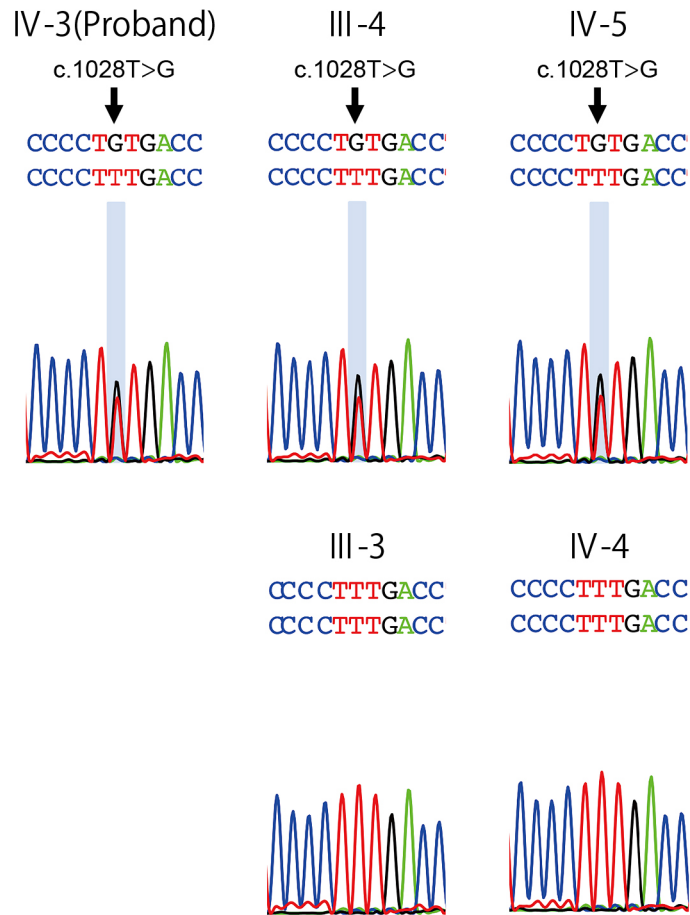
次に母 (III-4), 弟 (IV-5) の CLCN1 遺伝子をサンガーシーケンス法で解析した。アレル比 0.3 の解析条件における遺伝子異常として, 発端者と同様のヘテロ接合性 c.1028T>G, p.F343C の遺伝子変異を認めた。症状のない父 (III-3), 別の弟 (IV-4) には CLCN1 遺伝子に変異を認めなかった (Fig. 2)。常染色体顕性遺伝形式に従って家系内で有症状者と遺伝子変異が一致していることより, CLCN1 遺伝子の新規変異 c.1028T>G, p.F343C による先天性ミオトニア (Thomsen 病) と診断した<sup>2)</sup>。ミオトニア症状自体は軽度であり, 日常生活への支障は大きくなかったため, 無治療で経過をみることにした。

### 考 察

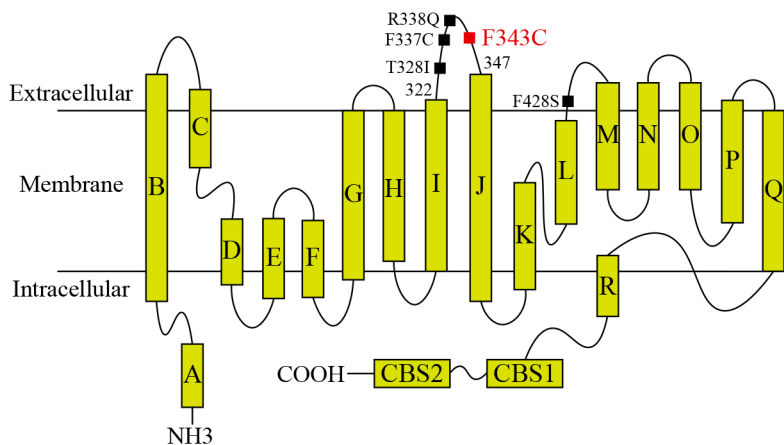
今回, 全エクソーム解析を行うことで先天性ミオトニアの家系において CLCN1 遺伝子に新規変異 p.F343C を同定した。発端者の母, 弟にミオトニア症状と同じ遺伝子変異を認めていることから, 常染色体顕性遺伝形式の Thomsen 病と考えた。また, 本家系の発症者の症状はいずれも軽微であり, 発端者は妊娠中に症状が増悪するなど, 臨床症状は Thomsen 病に典型的と考えられた。

CLCN1 遺伝子がコードする CLC-1 クロライドチャンネルの 343 番目のフェニルアラニン (F343) は複数回膜貫通型 CLC-1 タンパク質の細胞外ループ (I-J) 領域に位置する (Fig. 3)<sup>3)</sup>。I-J 領域の遺伝子変異では, CLC-1 の電位依存性の活性化がより陽性電位で起こるようにシフトすることが示されている<sup>1)10)</sup>。一般的に細胞外領域のアミノ酸変異でその機能に影響を与えるには大きな構造変化を要する。そのため, 細胞外領域に遺伝子変異を持つ先天性ミオトニア家系は, 両アレルの変異である常染色体潜性遺伝形式をとることが多い<sup>4)</sup>。顕性遺伝形式では CLC-1 の膜貫通及び細胞質領域に遺伝子変異を持つことが多く<sup>11)</sup>, 本例のように顕性遺伝形式で細胞外ループ領域に遺伝子変異を有するのは 5 例目 (本邦初) であった (Fig. 3B, Table 1)<sup>1)10)12)13)</sup>。既報告 4 例のうち 3 例は本例と同様に I-J 領域に遺伝子変異を持ち, 先天性ミオトニアの臨床徴候を示した<sup>1)10)12)</sup>。I-J 領域では二つのサブユニットが近接しており, 細胞外領域でありながら, 骨格筋クロライドチャンネルの活性化において重要な役割を持つとされる<sup>1)</sup>。細胞外ループ領域であっても F343 変異を含む I-J 領域の遺伝子変異は, サブユニットの位置関係によって片方のアレル異常で機能障害をもたらすのかもしれない。細胞外ループ領域の変異が先天性ミオトニアの発症にどのように関与しているか考える上で貴重な家系と考える。また, L-M 領域の顕性遺伝形式の遺伝子変異は先天性パラミオトニア様の臨床徴候を示した<sup>13)</sup>。顕性遺伝形式の遺伝子変異の存在する細胞外ループ領域の違いが表現型の差につながる可能性があり, 今後の検討が必要と考える<sup>13)</sup>。

先天性ミオトニアは欧米に多く本邦からの報告は限られる<sup>5)14)</sup>。しかし, 本家系のように症状が軽微なため医療機関を受診していない例も存在すると考えられる。最近の報告ではミオトニア症状は QOL に影響を及ぼすことが示されている<sup>5)</sup>。さらに, 先天性ミオトニアを含む筋チャンネル病はいずれも週周期の合併症・症状悪化, 妊娠中の症状増悪があり得る<sup>2)</sup>。そのた



**Fig. 2** Analysis of the *CLCN1* mutation in family members by Sanger sequencing. A heterozygous single-base substitution, c.1028T>G, in the *CLCN1* gene was identified in affected members (III-4, IV-3 and IV-5). Healthy members (III-3 and IV-4) showed a wild-type *CLCN1* sequence. The substitution segregated with the disease phenotype in an autosomal-dominant fashion.



**Fig. 3** Membrane topology model of *CLCN1*<sup>3)</sup>. The *CLCN1* chloride channel is a multi-span transmembrane protein. A topology model of *CLCN1* is shown. *CLCN1* extracellular loop mutations with autosomal-dominant inheritance are shown. F343C is located in the extracellular loop between I and J transmembrane domains. This I-J loop region consists of residues 322 to 347 of the human *CLCN1* amino acid sequence. Modified from reference 3.

**Table 1** Genetic, clinical and demographic features of patients with autosomal-dominant inheritance of *CLCN1* extracellular loop mutations.

Patient	Variant		Inheritance	Exon	Topology	Clinical manifestation	Nationality	Reference
	Protein	Nucleotide						
1	p.R338Q	c.1013G>A	AD or AR	9	I-J linker	Myotonia congenita	Germany	12)
2	p.F337C	c.1010T>G	AD	9	I-J linker	Myotonia congenita	Belgium	10)
3	p.T328I	c.983C>T	AD	9	I-J linker	Myotonia congenita	UK	1)
4	p.F343C	c.1028T>G	AD	9	I-J linker	Myotonia congenita	Japan	Present patient
5	p.F428S	c.1283T>C	AD	12	L-M linker	Paramyotonia congenita like	USA	13)

AD, autosomal dominant; AR, autosomal recessive.

め、症状が軽微であったとしても診断をつける意義は大きいと考えられる。ミオトニア現象を主徴とする症例において、筋強直性ジストロフィーを示唆する臨床徴候に乏しい場合は、先天性ミオトニアなどの筋チャンネル病を念頭に置き、非ジストロフィー性ミオトニー症候群の遺伝学的検査を検討する必要があると考える<sup>15)</sup>。本症例は全エクソーム解析を行ったが、現在、非ジストロフィー性ミオトニー症候群の遺伝学的検査は保険収載され、かずさ DNA 研究所で施行されている<sup>16)</sup>。そして、検出された遺伝子変異が未知のものであった場合、その変異が病的意義を持つかどうか確かめるために、本症例のように家系内の有症候者と無症候者の遺伝子検査を行う家系調査は重要であると考えられる。

## 文 献

- Suetterlin K, Matthews E, Sud R, et al. Translating genetic and functional data into clinical practice: a series of 223 families with myotonia. *Brain* 2022;145:607-620.
- Stunnenberg BC, LoRusso S, Arnold WD, et al. Guidelines on clinical presentation and management of nondystrophic myotonias. *Muscle Nerve* 2020;62:430-444.
- Wang K, Preisler SS, Zhang L, et al. Structure of the human ClC-1 chloride channel. *PLoS Biol* 2019;17:e3000218.
- Lossin C, George AL Jr. Myotonia congenita. *Adv Genet* 2008;63:25-55.
- Sasaki R, Nakaza M, Furuta M, et al. Mutation spectrum and health status in skeletal muscle channelopathies in Japan. *Neuromuscul Disord* 2020;30:546-553.
- The Human Gene Mutation Database [Internet]. Cardiff: The Institute of Medical Genetics; 2007. [cited 2023 Sep 21]. Available from: <https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>.
- Genome aggregation database [Internet]. [cited 2023 Oct 20]. Available from: <https://gnomad.broadinstitute.org>.
- Japanese Multi Omics Reference Panel [Internet]. Sendai: Tohoku University Tohoku Medical Megabank Organization; 2015 Jul. [cited 2023 Oct 20]. Available from: <https://jmorp.megabank.tohoku.ac.jp/>.
- Yuan JH, Higuchi Y, Hashiguchi A, et al. Genetic spectrum and founder effect of non-dystrophic myotonia: a Japanese case series study. *J Neurol* 2022;269:6406-6415.
- Jehasse K, Jacquerie K, Froidmont A, et al. Functional analysis of the F337C mutation in the *CLCN1* gene associated with dominant myotonia congenita reveals an alteration of the macroscopic conductance and voltage dependence. *Mol Genet Genomic Med* 2021;9:e1588.
- Fialho D, Schorge S, Pucovska U, et al. Chloride channel myotonia: exon 8 hot-spot for dominant-negative interactions. *Brain* 2007;130:3265-3274.
- Kubisch C, Schmidt-Rose T, Fontaine B, et al. ClC-1 chloride channel mutations in myotonia congenita: variable penetrance of mutations shifting the voltage dependence. *Hum Mol Genet* 1998;7:1753-1760.
- Wu FF, Ryan A, Devaney J, et al. Novel *CLCN1* mutations with unique clinical and electrophysiological consequences. *Brain* 2002;125:2392-2407.
- Sasaki R, Ito N, Shimamura M, et al. A novel *CLCN1* mutation: P480T in a Japanese family with Thomsen's myotonia congenita. *Muscle Nerve* 2001;24:357-363.
- 厚生労働科学研究費 難治性疾患等政策研究事業「希少難治性筋疾患に関する調査研究」班. 筋チャンネル病 診療の手引き (案). 第二版. 東京: 日本神経学会; 2021. p. 25.
- 公益財団法人 かずさ DNA 研究所 遺伝子検査室 [Internet]. 千葉: バイオ共同研究開発センター; 2017. [cited 2023 Aug 23]. Available from: <https://www.kazusa.or.jp/genetest/>.

**COI** : 著者全員に本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれもありません。

\*Corresponding author : 中村善胤

大阪医科薬科大学内科学 IV 教室脳神経内科 (〒 569-8686 高槻市大学町 2-7)

## A pedigree of myotonia congenita with a novel mutation p.F343C of the *CLCN1* gene

Yoshitsugu Nakamura, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup>, Hidenori Sato, M.D., Ph.D.<sup>2)</sup>, Kensuke Kakiuchi, M.D.<sup>1)</sup>, Yuki Miyano, M.D.<sup>2)</sup>, Takafumi Hosokawa, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup> and Shigeki Arawaka, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup>

1) Department of Internal Medicine IV, Division of Neurology, Osaka Medical and Pharmaceutical University Faculty of Medicine

2) Department of Multiomics, Institute of Well-being, Yamagata University

**Abstract:** A Japanese woman experienced slowness of movement in her early teens and difficulty in opening her hands during pregnancy. On admission to our hospital at 42 years of age, she showed grip myotonia with warm-up phenomenon. However, she had neither muscle weakness, muscle atrophy, cold-induced symptomatic worsening nor episodes of transient weakness of the extremities. Needle electromyography of the first dorsal interosseous and anterior tibial muscles demonstrated myotonic discharges. Whole exome sequencing of the patient revealed a heterozygous single-base substitution in the *CLCN1* gene (c.1028T>G, p.F343C). The same substitution was identified in affected members of her family (mother and brother) by Sanger sequencing, but not in healthy family members (father and a different brother). We diagnosed myotonia congenita (Thomsen disease) with a novel *CLCN1* mutation in this pedigree. This mutation causes a single amino acid substitution in the I–J extracellular loop region of CLCN1. Amino acid changes in the I–J loop region are rare in an autosomal-dominantly inherited form of myotonia congenita. We think that this pedigree is precious to understand the pathogenesis of myotonia congenita.

**Key words:** myotonia congenita, Thomsen disease, *CLCN1* gene, CLC-1 chloride channel, novel mutation

Rinsho Shinkeigaku (Clin Neurol) 2024;64:344-348

doi: 10.5692/clinicalneurology-001929