

## タンジール病

### 概要

タンジール病 (OMIM205400) は家族性低～無 HDL コレステロール (HDL-C) 血症の 1 つで、細胞の脂質から HDL 粒子の形成に必要な膜蛋白質 ATP 結合カセットトランスポーターA1 (*ATP-binding cassette transporter A1: ABCA1*) の遺伝子の機能障害型変異に基づく疾患である。常染色体潜性 (劣性) 遺伝疾患で、顕在疾患であるホモ型の HDL-C は通常 5 mg/dL 未満 ( $3 \pm 3$  mg/dL)、アポリポ蛋白質 A-I も 10 mg/dL 以下の表現型を示す。文献上、本邦ではこれまでに 35 例、世界的には 109 例の症例報告があり、稀な疾患とも考えられるが、未診断例が多い可能性もある。臨床身体所見として、オレンジ色の咽頭扁桃腫大、肝脾腫、角膜混濁、リンパ節腫脹、末梢神経障害を認める。LDL-コレステロール (LDL-C) が低下する (約 37%) にもかかわらず、早発性冠動脈疾患の頻度が高い。現在のところ根治的治療法はなく、早期発見による動脈硬化性疾患の発症防止が主要な対策である。LDL-C、高血圧や喫煙などの危険因子の管理が重要であり、膵β細胞からの ABCA1 を介したインスリン分泌不全による耐糖能異常の合併も多いことが報告されているので、その治療も必要である。

## はじめに

タンジール病 (OMIM205400) は家族性低～無 HDL-コレステロール (HDL-C) に属する常染色体潜性 (劣性) 遺伝を示す疾患であり、HDL-C やアポリポ蛋白 A-I 濃度の著しい低下が主要な表現型となる<sup>1)</sup>。タンジール病の名前は、1959 年に最初の患者が発見・報告され、疾患の集積が見いだされたアメリカ合衆国バージニア州のチェサピーク湾にある島の名前に由来する<sup>2)</sup>。その後 NIH の研究者により病態生理の解析がなされてきた。1991 年に、細胞と  $\alpha$ ヘリックス型 HDL アポ蛋白質との直接作用によって、細胞のコレステロールやリン脂質がアポ蛋白質 (アポ) A-I に引き抜かれ、HDL 粒子が新生されることが発見され<sup>3)</sup>、1995 年に本疾患由来の細胞において、この HDL 粒子新生反応が欠損することが発見された<sup>4)</sup>。1999 年には、その原因となる遺伝子異常が *ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1)* の機能障害型変異であることが同定された<sup>5-7)</sup>。これにより、このアポ A-I と ABCA1 の相互作用を介した細胞からのコレステロール・リン脂質引き抜き反応が、HDL の主要な起源であることが証明された。この *ABCA1* 遺伝子変異のホモ接合体あるいは複合ヘテロ接合体がタンジール病の疾患表現型を示す。ヘテロ接合体においても HDL-C の低下は認められるが、その程度は一定しない。

## 1. 疾患の頻度

タンジール病の症例は、2020 年までに本邦では 35 例<sup>8, 9)</sup>、国外では 109 例の症例報告<sup>8)</sup>があり、重複を含む可能性があるが、稀な疾患とも考えられる。しかしながら、疾患を起こす *ABCA1* 遺伝子の機能障害型変異の一般人口における頻度は明らかではない。Exome Aggregation Consortium のデータベースを用いた最近の論文<sup>10)</sup>では、機能障害型変異 (フレームシフト変異、ナンセンス変異、スプライシング変異のみで、ミスセンス変異を除く) の allele 頻度に基づくと、一般人口の 400 人に 1 人が *ABCA1* 遺伝子の機能欠失型変異のヘテロ接合体であり、世界的に見て少なくとも 640,000 人に 1 人は本疾患であると考えられる。従って、かなりの数の症例が未診断であると思われる。

## 2. 遺伝的背景と病態生理

ABCA1 は ATP 結合カセットトランスポーターファミリーに属する膜タンパクの 1 つで、ABCA1 は細胞外の  $\alpha$ ヘリックス型アポ蛋白質による、細胞内のリン脂質やコレステロールの細胞外への搬出により、原始 HDL 粒子の形成に必須の因子である (図 1)。この反応は血漿 HDL 粒子の主たる産生源であり、コレステロール分子を異化できないほ乳類の体細胞において、その最終処理の経路である細胞からのコレステロール搬出の主要な機構の一つである。末梢細胞では、細胞内コレステロールレベルを感知して ABCA1 発現が増強し、コレステロールを搬出させる<sup>11)</sup>。一方、肝細胞では末梢から回収したコレステロールの血流中

への逆流を防ぐため、ABCA1は双方向性の制御を受ける<sup>12, 13)</sup>。ABCA1の機能欠損により球状のHDLが産生されず、血漿HDL-Cの濃度は極端に低下する。また、タンジール病の患者では血漿LDL-C濃度も正常の1/3程度にまで低下が見られる。その詳細な機序は不明であるが、ヒトではHDL中のコレステロールがアシルエステル化され、VLDL/LDLに転送されることにより、LDL中のコレステロールのかなりの部分はHDL由来と考えられることから、HDL-Cの顕著な減少がLDL-Cレベルの減少につながる可能性が想定されている。

タンジール病の患者では、末梢組織細胞でのABCA1欠損により、細胞内コレステロールが搬出されないため、マクロファージやシュワン細胞などにコレステロールが滞留し、エステル型コレステロールとなって蓄積し、オレンジ色の咽頭扁桃腫大、角膜混濁、肝脾腫、リンパ節腫脹、末梢神経障害をきたす。タンジール病の患者では、このコレステロール逆転送系の最初のステップの障害により、血漿LDL-C濃度の低下にもかかわらず、粥状動脈硬化性疾患を発症させるリスクとなっていると考えられる。

一方、ABCA1は細胞形質膜のコレステロールに富んだドメインであるラフト構造を不安定化させるようであり<sup>14, 15)</sup>、その機能欠損は“脂質ラフト”の増加をもたらして、これが炎症性サイトカインの分泌が亢進することも示唆されている<sup>16)</sup>。さらに、タンジール病患者では、膵β細胞のABCA1欠損によるコレステロール蓄積に起因して、インスリン分泌指数 (insulinogenic index) が低下することも報告されており糖尿病 (耐糖能異常) を合併することが多い<sup>17, 18)</sup>。これらの代謝異常も、本症における早発性冠動脈疾患の発症増加に関わっている可能性が考えられる<sup>8)</sup>。

タンジール病の早期の研究で、Schaeferらは放射標識したHDLの静注によって、血漿リポ蛋白の代謝動態を解析し、患者ではアポA-Iの異化が著しく増加していることを報告した<sup>19)</sup>。しかしながら、このアポA-Iの異化過剰のデータは、ABCA1欠損に基づいて、細胞外HDLの異化の観点から再解釈されるべきであろう。ヒトの多機能幹細胞由来の肝細胞を用いた最近の研究では、ABCA1欠損がangiopoietin-like protein 3 (Angptl3)の分泌を増加させることが報告されており、このことはタンジール病患者の血漿トリグリセライド (TG) の増加と合致している<sup>20)</sup>。

### 3. 臨床的所見

#### 1) 血漿リポ蛋白の異常

タンジール病患者では、血漿HDL-Cは通常5mg/dL以下 (同定された症例の平均 $3 \pm 3$  mg/dL)、アポA-Iは10 mg/dL以下の著明な低値を示す<sup>21)</sup>。血漿

LDL-C も平均正常値の 37 % 程度に低下している。TG に富んだいわゆるレムナントリポ蛋白質粒子 (VLDL から LDL への代謝の中間産物) の出現を認めることも報告されている<sup>8)</sup>。ABCA1 遺伝子変異のヘテロ接合体では、血中 HDL-C 及びアポ A-I 値は正常者の約 50% に低下することが多いが、HDL-C レベル低下の程度は一定していない。

## 2) 理学的所見

タンジール病患者では、HDL 生合成の障害による臓器細胞からのコレステロール搬出の低下により、種々の細胞において脂質の蓄積が認められる。本症の代表的かつ典型的所見はいわゆるオレンジ扁桃である (図 2)<sup>8)</sup>。扁桃は分葉・腫大し、明るいオレンジ又は黄～灰色の表面を呈する<sup>8)</sup>。再発性扁桃炎や扁桃摘出の病歴がしばしば認められる。さらに、脾腫 (図 3) とそれに伴う血小板減少症と網状赤血球増加を認めることがある。約 3 分の 1 の症例に肝腫大も認められるが、肝機能障害は通常は認めない<sup>22)</sup>。その他の臓器へのコレステロール蓄積は、リンパ節、胸腺、腸管粘膜、皮膚などにもみられ、角膜へのコレステロール蓄積により角膜混濁を来す。

## 3) 末梢神経障害

タンジール病患者では、軽度から重症まで様々な末梢神経障害が報告されている。知覚障害、運動障害あるいは混合障害が、一過性にあるいは持続性に出現する。深部知覚や腱反射の低下はまれで、脳神経を含む末梢神経の再発性非対称性障害や、下肢に強い対称性の末梢神経障害や脊髄空洞症様の末梢神経障害として出現する<sup>23, 24)</sup>。

## 4) 心血管疾患

これまでの文献上の症例報告によれば、本邦のタンジール病患者 35 例中 12 例 (34.3%)、海外での 109 例中 34 例 (31.2%) が、何らかの心血管疾患 (図 4) を合併していると報告されており、本症における粥状動脈硬化の進行が示唆されている<sup>8)</sup>。血管内超音波法 (IVUS: intravascular ultrasound) による観察では、びまん性の石灰化の強い冠動脈病変が報告<sup>25)</sup>されており、これは HDL 欠損症と耐糖能異常<sup>17)</sup>に起因すると推定される。

## 4. 診断基準と鑑別診断

### 1) 診断基準

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患政策研究事業) 原発性高脂血症調査研究班において検討されたタンジール病の診断基準を表 1 に示す。

### 2) 鑑別診断

低 HDL-C 血症の鑑別診断におけるタンジール病診断のためのフローチャートを図 5 に示した。低 HDL-C 血症 (Familial hypoalphalipoproteinemia) をきたす遺伝性疾患として、古典的レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) 欠損症、魚眼病、家族性アポリポ蛋白質 A-I 欠損症が挙げられる。

角膜混濁はこれらに共通して見られるが、扁桃腫大、末梢神経障害は本疾患に特異的で、黄色腫はアポリポタンパク A-I 欠損症にだけ認められる<sup>24,26)</sup>。

鑑別すべき二次性低 HDL-C 血症としては、重度の肝疾患（肝硬変症など）、薬剤起因性低 HDL-C 血症の鑑別を行う。薬剤起因性低 HDL-C 血症としては、プロブコールによる低 HDL 血症があるが、特にプロブコールとフィブラート系薬剤との併用時に顕著な低 HDL-C 血症が起こることがあるので、留意する。プロブコールは中止後も影響が数ヶ月残ることがあり、プロブコールからフィブラート系薬や選択的 PPAR $\alpha$  モジュレーターへの切り替え使用例で HDL-C が著しく低下する例があることに注意する。

### 5. タンジール病に対する現在の治療法

本邦においてこれまでに報告されている患者の報告<sup>8,9)</sup>によれば、諸外国における患者と臨床像や遺伝的プロフィールに大きな差は認められていない。現在のところ、遺伝子治療による *ABCA1* の補充などの根治的治療法は未確立である。粥状動脈硬化性疾患の著しい増加が主たる問題であるので、合併症としての動脈硬化性疾患の有無を慎重に評価することが重要である。そのために、運動負荷心電図、経胸壁心臓超音波検査、冠動脈 CT スキャン<sup>8)</sup>などを含めた評価を行い、動脈硬化性疾患の発症防止と早期発見に努める。糖尿病（耐糖能異常）を合併することが多いことからその治療や、高血圧、喫煙などの危険因子の管理が重要である<sup>27)</sup>。本症の血漿 LDL-C レベルは一般に低いですが、もしそうでない場合はスタチンあるいはその他の薬剤で LDL-C レベルを低下させるべきである。本症でしばしば認められる耐糖能異常は 75 g 経口ブドウ糖負荷試験を行うことにより、*insulinogenic index* を評価すべきであろう<sup>17)</sup>。

### 6. 結論と将来展望

*ABCA1* 遺伝子に対する遺伝子治療は将来的に可能性がある。肝臓における *ABCA1* 遺伝子発現の補充は血漿 HDL-C レベルを増加させるであろうが、細胞からのコレステロール搬出促進や、粥状動脈硬化巣のマクロファージ、平滑筋細胞や内皮細胞などの細胞における過剰な脂質蓄積の抑制には十分ではないと思われる。従って、本症に対する根治的治療法を開発することは容易ではないであろう。

### 文献

1. Assmann G, Eckardstein A, Brewer HB. Familial analphalipoproteinemia: Tangier disease. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases* (McGraw Hill), 2001; 8th ed. vol 2: 2937-2960
2. Fredrickson DS, Altrocchi PH, Avioli LV, Goodman DS, Goodman HC. Tangier disease—Combined clinical staff conference at the National Institutes of Health. *Ann Intern Med*, 1961; 55: 1016-1031
3. Hara H, Yokoyama S. Interaction of free apolipoproteins with macrophages.

- Formation of high-density lipoprotein-like lipoproteins and reduction of cellular cholesterol. *J Biol Chem*, 1991; 266: 3080-3086
4. Francis GA, Knopp RH, Oram JF. Defective removal of cellular cholesterol and phospholipids by apolipoprotein A-I in Tangier disease. *J Clin Invest*, 1995; 96: 78-87
  5. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, van Dam M, Yu L, Brewer C, Collins JA, Molhuizen HO, Loubser O, Ouelette BF, Fichter K, Ashbourne-Excoffon KJ, Sensen CW, Scherer S, Mott S, Denis M, Martindale D, Frohlich J, Morgan K, Koop B, Pimstone S, Kastelein JJ, Genest J Jr, Hayden MR. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. *Nat Genet*, 1999; 22: 336-345
  6. Bodzioch M, Orsó E, Klucken J, Langmann T, Böttcher A, Diederich W, Drobnik W, Barlage S, Büchler C, Porsch-Ozcürümez M, Kaminski WE, Hahmann HW, Oette K, Rothe G, Aslanidis C, Lackner KJ, Schmitz G. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. *Nat Genet*, 1999; 22: 347-351
  7. Rust S, Rosier M, Funke H, Real J, Amoura Z, Piette JC, Deleuze JF, Brewer HB, Duverger N, Denèfle P, Assmann G. Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1. *Nat Genet*, 1999; 22: 352-355
  8. Muratsu J, Koseki M, Masuda D, Yasuga Y, Tomoyama S, Ataka K, Yagi Y, Nakagawa A, Hamada H, Fujita S, Hattori H, Ohama T, Nishida M, Hiraoka H, Matsuzawa Y, Yamashita S. Accelerated atherogenicity in Tangier disease. *J Atheroscler Thromb*, 2018; 25: 1076-1085
  9. Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Bujo H, Takahashi K, Saito Y, Ishibashi S, Ohashi K, Shionoiri F, Gotoda T, Yamada N, Kita T; Research Committee on Primary Hyperlipidemia of the Ministry of Health and Welfare of Japan. Mutations in Japanese subjects with primary hyperlipidemia; Results from the Research Committee of the Ministry of Health and Welfare of Japan since 1996. *J Atheroscler Thromb*, 2004; 11: 131-145
  10. Hooper AJ, McCormick S, Hegele RA, Burnett JR. Clinical utility gene card for: Tangier disease. *Eur J Hum Genet*, 2017; 25: e1–e3
  11. Costet P, Luo Y, Wang N, Tall AR. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J Biol Chem*, 2000; 275: 28240-28245
  12. Tamehiro N, Shigemoto-Mogami Y, Takeya T, Okuhira K, Suzuki K, Sato R, Nagao T, Nishimaki-Mogami T. Sterol regulatory element-binding protein-2- and liver X receptor-driven dual promoter regulation of hepatic ABC transporter A1 gene expression: mechanism underlying the unique response to cellular cholesterol status. *J Biol Chem*, 2007; 282: 21090-21099
  13. Ohoka N, Okuhira K, Cui H, Wu W, Sato R, Naito M, Nishimaki-Mogami T. HNF4 $\alpha$  increases liver-specific human ATP-binding cassette transporter A1 expression and cholesterol efflux to apolipoprotein A-I in response to cholesterol

- depletion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012; 32: 1005-1014
14. Ito J, Nagayasu Y, Yokoyama S. Cholesterol-sphingomyelin interaction in membrane and apolipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux. *J Lipid Res*, 2000; 41: 894-904
  15. Yamauchi Y, Iwamoto N, Rogers MA, Abe-Dohmae S, Fujimoto T, Chang CC, Ishigami M, Kishimoto T, Kobayashi T, Ueda K, Furukawa K, Chang TY, Yokoyama S. Deficiency in the lipid exporter ABCA1 impairs retrograde sterol movement and disrupts sterol sensing at the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*, 2015; 290: 23464-23477
  16. Koseki M, Hirano K, Masuda D, Ikegami C, Tanaka M, Ota A, Sandoval JC, Nakagawa-Toyama Y, Sato SB, Kobayashi T, Shimada Y, Ohno-Iwashita Y, Matsuura F, Shimomura I, Yamashita S. Increased lipid rafts and accelerated lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha secretion in Abca1-deficient macrophages. *J Lipid Res*, 2007; 48: 299-306
  17. Koseki M, Matsuyama A, Nakatani K, Inagaki M, Nakaoka H, Kawase R, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, Masuda D, Sandoval JC, Ohama T, Nakagawa-Toyama Y, Matsuura F, Nishida M, Ishigami M, Hirano K, Sakane N, Kumon Y, Suehiro T, Nakamura T, Shimomura I, Yamashita S. Impaired insulin secretion in four Tangier disease patients with ABCA1 mutations. *J Atheroscler Thromb*, 2009; 16: 292-296
  18. Brunham LR, Kruit JK, Pape TD, Timmins JM, Reuwer AQ, VasANJI Z, Marsh BJ, Rodrigues B, Johnson JD, Parks JS, Verchere CB, Hayden MR. Beta-cell ABCA1 influences insulin secretion, glucose homeostasis and response to thiazolidinedione treatment. *Nat Med*, 2007; 13: 340-347
  19. Schaefer EJ, Blum CB, Levy RI, Jenkins LL, Alaupovic P, Foster DM, Brewer HB Jr. Metabolism of high-density lipoprotein apolipoproteins in Tangier disease. *N Engl J Med*, 1978; 299: 905-910
  20. Bi X, Pashos EE, Cuchel M, Lyssenko NN, Hernandez M, Picataggi A, McParland J, Yang W, Liu Y, Yan R, Yu C, DerOhannessian SL, Phillips MC, Morrissey EE, Duncan SA, Rader DJ. ATP-binding cassette transporter A1 deficiency in human induced pluripotent stem cell-derived hepatocytes abrogates HDL biogenesis and enhances triglyceride secretion. *EBioMedicine*, 2017; 18: 139-145
  21. Serfaty-Lacrosniere C, Civeira F, Lanzberg A, Isaia P, Berg J, Janus ED, Smith MP Jr, Pritchard PH, Frohlich J, Lees RS, Barnard FF, Ordovas JM, Schaefer EJ. Homozygous Tangier disease and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 1994; 107: 85-98
  22. Puntoni M, Sbrana F, Bigazzi F, Sampietro T. Tangier disease: epidemiology, pathophysiology, and management. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2012; 12: 303-311
  23. Zyss J, Béhin A, Couvert P, Bouhour F, Sassolas A, Kolev I, Denys V, Vial C, Lacour A, Carrié A, Stojkovic T. Clinical and electrophysiological characteristics

- of neuropathy associated with Tangier disease. *J Neurol*, 2012; 259, 1222-1226
24. Amanda AJ, Hegele RA, Burnett JR. Tangier disease: update for 2020. *Curr Opin Lipidol*, 2020; 31: 80-84
  25. Komuro R, Yamashita S, Sumitsuji S, Hirano K, Maruyama T, Nishida M, Matsuura F, Matsuyama A, Sugimoto T, Ouchi N, Sakai N, Nakamura T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Tangier disease with continuous massive and longitudinal diffuse calcification in the coronary arteries: demonstration by the sagittal images of intravascular ultrasonography. *Circulation*, 2000; 101: 2446-2448
  26. Zanoni P, von Eckardstein A. Inborn errors of apolipoprotein A-I metabolism: implications for disease, research and development. *Curr Opin Lipidol*, 2020; 31: 62-70
  27. Kinoshita M, Yokote K, Arai H, Iida M, Ishigaki Y, Ishibashi S, Umemoto S, Egusa G, Ohmura H, Okamura T, Kihara S, Koba S, Saito I, Shoji T, Daida H, Tsukamoto K, Deguchi J, Dohi S, Dobashi K, Hamaguchi H, Hara M, Hiro T, Biro S, Fujioka Y, Maruyama C, Miyamoto Y, Murakami Y, Yokode M, Yoshida H, Rakugi H, Wakatsuki A, Yamashita S; Committee for Epidemiology and Clinical Management of Atherosclerosis. Japan Atherosclerosis Society (JAS) Guidelines for Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Diseases 2017. *J Atheroscler Thromb*, 2018; 25: 846-984



図1. コレステロール逆転送系における ABCA1 の役割とタンジール病の病態

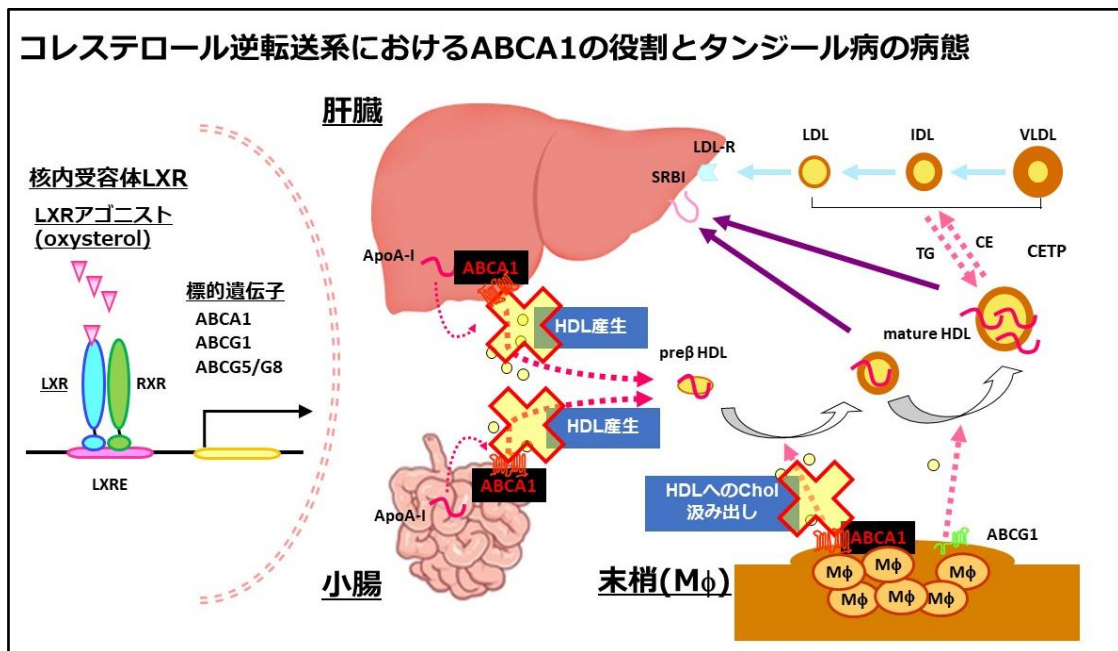


図2. タンジール病患者に認められたオレンジ扁桃 (文献8より引用)



図3. 40才代の女性タンジール病患者に認められた脾腫の腹部CT像  
(岩手医科大学、石垣 泰先生よりご提供)

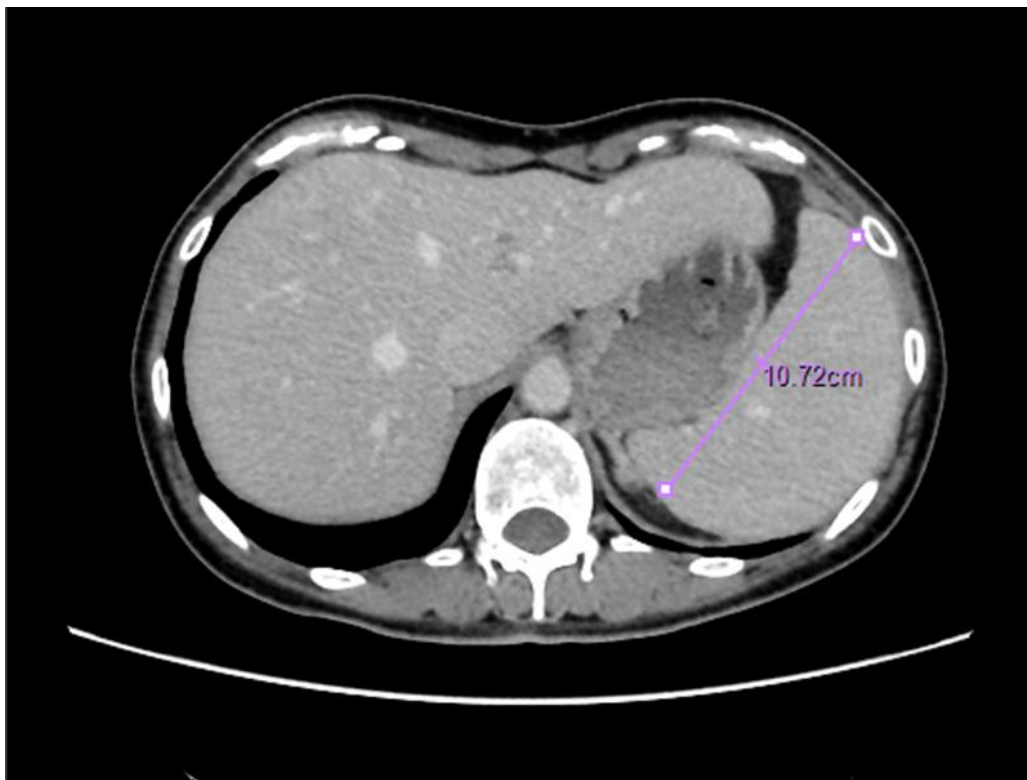


図4. 50歳台の男性タンジール病患者に認められた全身性の著しい動脈硬化性病変

矢印は動脈の狭窄や閉塞部位を示す。

(A: 左冠動脈, B: 右冠動脈, C: 腕頭動脈, D: 左腸骨動脈, E: 右外腸骨動脈)

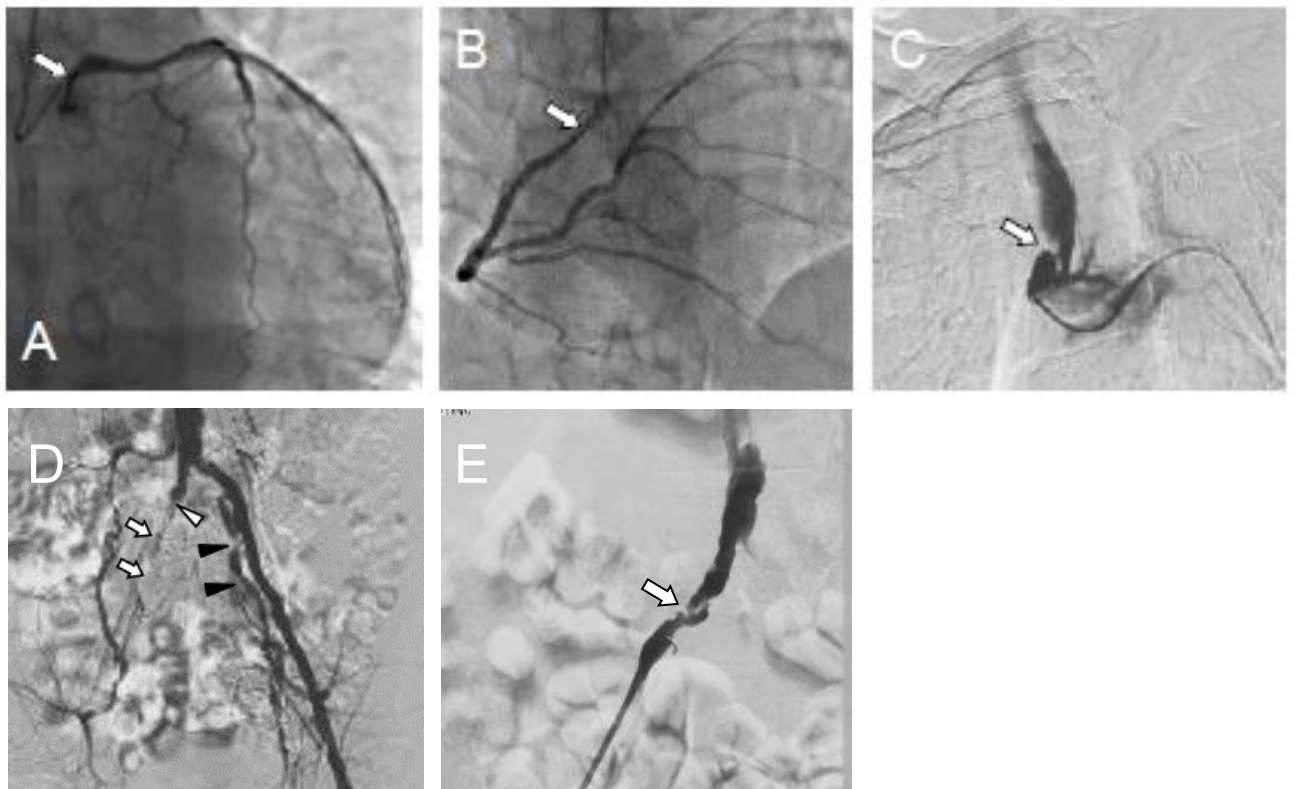


図5. 低HDL-C血症を認めた場合の診断フローチャート



※1  $CE/TC = (TC - FC) / TC \times 100 (\%)$  による計算値

※2 タンジール病やアポリポタンパクA-I欠損症のヘテロ接合体の可能性あり

表 1. タンジール病の診断基準

---

**A. 必須検査項目**

1. 血漿（血清）HDL コレステロール 25 mg/dL 未満
2. 血漿（血清）アポ A-I 濃度 20 mg/dL 未満

**B. 臨床症状**

1. オレンジ色の特徴的な扁桃腫大
2. 肝腫大かつ/または脾腫
3. 角膜混濁
4. 末梢神経障害
5. 心血管疾患

**C. 鑑別診断**

以下の疾患を鑑別する。

LCAT 欠損症、アポリポタンパク A-I 欠損症、二次性低 HDL コレステロール血症\*

**D. 遺伝子検査\*\***

*ABCA1* の遺伝子の病原性変異の同定

**<診断のカテゴリー>**

Definite: 必須項目の 2 項目を全て満たす例のうち、B の 1 項目以上を満たし、C の鑑別すべき疾患を除外し、D を満たすもの

Probable: 必須項目の 2 項目を全て満たす例のうち、B の 2 項目以上を満たし、C の鑑別すべき疾患を除外したもの

Definite、Probable を対象とする。

---

\*外科手術後、肝障害（特に肝硬変や重症肝炎、回復期を含む）、全身性炎症性疾患の急性期、がん等の消耗性疾患など、過去 6 か月以内のプロブコールの内服歴、プロブコールとフィブラート系薬の併用（プロブコール服用中止後のフィブラート系薬の処方も含む）

\*\*鑑別診断が困難な場合は *ABCA1* 遺伝子検査を実施する。*ABCA1* 遺伝子の病原性変異が確認された場合は診断が可能である。遺伝子診断の方法については

（執筆責任者：小関正博、山下静也）