

平成11-13年度

厚生労働省精神・神経疾患研究依託費

**筋ジストロフィーの遺伝相談法及び
病態に基づく治療法の開発に関する研究**

研究報告（班長 石原 傳幸）

**Reports of National Research Group for Establishment of Genetic
Counseling and Development of Treatments based on the
Pathophysiology in Muscular Dystrophy Patients**

Tadayuki Ishihara M.D.

1999-2001

平成14年3月

序

筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究班報告書をまとめ上げることができたことは班員の皆様方の協力はもちろんたくさんの方々の辛抱強い協力のたまものともまず感謝申し上げたい。

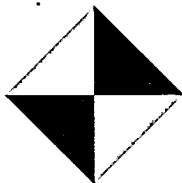
Kunkelがジストロフィン遺伝子を発見したのが1986年頃であるから、すでに16年を経過したことになる、それ以前の時代には筋ジストロフィーの本態が自分が生きている間に判明するなどはとても思えなかった。当時は研究といっても群盲が象をなでる状態であり、何を研究してもそこそこの異常がでたし、本質とは関係なくとも、それはそれで許されたし、治療などという演題はあまり聞かれないというのんびりした時代であった。私は現在の福永班の前身の研究班運営幹事を10年、この班の班長を6年つとめさせていただいた。途中からは研究班といえば治療と名乗らないとおかしい時代に進化しえたことは本当によかったと思う。

この間の日本の貢献はジストロフィンの局在を明らかにしたこと（荒畑ら）、小澤によるdystroglycanやsarcoglycanの研究、埜中等によるMELASの遺伝子異常の発見、戸田等による福山型筋ジストロフィーの遺伝子異常発見、近くは当班における樋口らのUllrich型先天性筋ジストロフィーの遺伝子異常発見と華々しい業績を上げてきた。また我々の班においてもmanagementについては世界的な貢献をしてきたと思う。しかし、最近では若い研究者の参入がなく、元気が無さそうに見えることが気がかりである。元気を出してもらいたいのである、全部の病気がわかってしまったわけではないし、まだ診断の付かない患者さんも数が多い、またmanagementにおいても左心不全の治療にはまだまだ解決すべき問題点を含んでいる。また嚥下困難対策や消化管対策もまだまだである。次期班長川井充先生の手腕に期待する次第である。

最後にこれまで私の至らなさをよくカバーしてくれた歴代の事務局職員永山聖子、中山奈津子、増田恵子の諸姉に深く感謝の意を表してこの研究班報告書の序の言葉とさせていただく。

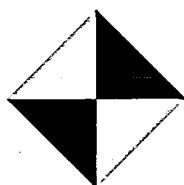
班長 石原 傳幸

平成14年4月



目次

班長の総括	
班長の英文総括	
各班の3年間のまとめ	
各班員の平成11年度の報告	
各班員の平成12年度の報告	
各班員の平成13年度の報告	
各班員のfull paper	
遺伝子相談パンフレット	
筋ジストロフィー研究第1班・分担研究者一覧表	
筋ジストロフィー研究第1班・班構成	
平成11年度ワークショップ・プログラム	
平成12年度ワークショップ・プログラム	
平成13年度ワークショップ・プログラム	



筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究

主任研究者 石原 博幸

目的：

本研究は平成8年より平成10年度にかけて行われた「筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班」に続いて3年間にわたり行われた。研究の重点主眼は遺伝相談法の確立、血栓塞栓症の治療法確立、及び脊柱側弯症外科治療の普及であった。第1と2の点については前身の研究班からの継続であったが、第3の点については前身の研究班での研究中に側弯症による重篤な合併症が気づかれるようになり、その対策として手術療法の普及促進を重点項目として加えた。

結果：

各年度のプロジェク別研究発表題数は下記の表に示す。

	平成11年度	平成12年度	平成13年度
遺伝子診断・出生前診断	7	8	4
遺伝相談	4	3	10
先天性筋ジストロフィー	3	4	4
筋強直性ジストロフィー	9	6	9
画像診断	5	7	3
臨床病態	6	7	9
心肺不全	9	9	5
凝固異常	5	5	4
薬物療法	8	8	5
外科療法	4	3	4
疫学・データベース	6	2	1
総計	66	62	58

以下には各プロジェクト別にまとめて記す。

1. 遺伝子診断・出生前診断プロジェクト

遺伝子診断法の研究として東埼玉の川村がジストロフィン遺伝子の微小変異を詳細に研究し欠失、重複、点変異家系での保因者診断が技術的に可能であることを立証した。他病型の筋ジストロフィーの遺伝子診断については、平成13年度に西多賀の高橋らが日本人dysferlin遺伝子変異の特徴はこの遺伝子の全体に変異が見られ、C末に変異が集中する外国人とは差があることを報告した。また東埼玉の加藤らは福山型先天性筋ジストロフィー患者及び保因者における遺伝子変異をLA PCR法で解析し従来よりも早く、簡便に解析する方法を開発し注目された。

未岡(慶大産婦人科)が受精卵診断に関するパンフレットを作成し、今年度からは日本筋ジストロフィー協会のホームページに受精卵診断フォーラムと名付け公開し患者・家族からの反響を調査した。まだ受精卵診断が議論されるようになって日が浅く、ますますの啓蒙が必要であることが痛感される調査内容であった。出生前診断についても確たるコンセンサスが無い現状にある我が国では受精卵診断については今後の各界の議論の収束を待たねばならないが、受精卵診断の具体的な情報を社会に向けて発信したという点では当班の業績の一つと考えたい。

2. 遺伝相談プロジェクト

毎年の夏に行われたワークショップでは遺伝相談について基礎、具体的なロールプレイ、現時点で適当と思われる方法の具体的提示を行い全国的に同じレベルの遺伝相談が行われることを期待してきた。前身の班では当事者能力のない子供の遺伝子診断について議論し、そのICフォームを作成し、国立病院・療養所のみではなく各大学の小児科や神経内科に配付した。今回の班では未成年者の女子における保因者診断について3年間の討議が行われた。その結果12歳以下の小学生までは保因者診断を原則的に行われたいというコンセンサスを得た。まだ未成年者で生殖については全く意見が固まっていない女子にたとえ親の理解があったとしてもDNA検索による保因者診断を施行することは適

当ではないというのが、当班の医師・倫理研究者・法律家の一致した意見となった。最終年度にはこの際に使用するICフォームが完成したので、前回と同じように各方面に配付する予定である。

このプロジェクトの構成員は小児科医師・産婦人科医師・倫理研究者・法学者、患者代表などであり意見の完全な一致を見ることは困難であったが、この研究班は他の研究班と異なり、社会とのインターフェイスの役割を担うという自覚があり困難な研究を継続した。患者代表の筋ジストロフィー協会の貝谷らは患者のアンケート調査を行い国立療養所での遺伝相談がまだ十分でないことを報告した。このプロジェクトからは遺伝相談を行うには臨床医は多忙すぎて遺伝相談には時間が割けない、外国には遺伝相談カウンセラーがこの役割をはたしているという指摘があり、今後日本でも遺伝相談カウンセラーが、各療養所で遺伝相談を実施するようになれば、もっと患者・家族の悩みに対処できるであろうと思われる。遺伝相談カウンセラーの筋ジストロフィー床を持つ施設への定員化を提言する。

3. 先天性筋ジストロフィープロジェクト

当初の目的は既知の病型とは異なる患者の集積を目的にしたが、主に福山型先天性筋ジストロフィーの表現型についての研究が目立った。平成12年度からは樋口(沖縄、鹿大)よりUllrich型先天性筋ジストロフィーがcollagen 6の完全欠損であるという発表がなされて衝撃を与え、今年は遺伝子異常まで検索が進み確実な研究成果であることが証明された。Bethlem myopathyと同じ遺伝子異常ではあるが、どうして表現型が全く異なるのかは未だ不明であるが、世界的な研究成果と評価できる。最初の目的であった非福山型先天性筋ジストロフィーの症例も神戸の吉岡を中心として少しずつ集積されている。

4. 筋強直性ジストロフィープロジェクト

現在国立療養所筋ジストロフィー病棟ではDuchenne型筋ジストロフィー入院患者が減少し筋強直性ジストロフィー入院患者数が増加している。このために療養所医師の関心は筋強直性ジストロフィーに向かっており発表演題数も多く全演題の13%を占めた。遺伝子診断から病理、電気生理、核医学、生理学的研究と幅広く研究が行われた。Duchenne型筋ジストロフィーと異なり中枢神経系を含めた全身的な病気であり、その病態の解析は困難である。しかし、川棚の田村らの偽性心不全の概念提唱など少しずつ病態解析につながる研究が行われてきている。本症の大部分に見られる呼吸不全対策について鈴鹿の松岡らは少数例ながらも鼻マスクによるNIPPV成功例を報告している。本病においては気管切開による人工呼吸治療を行ってもDuchenne型筋ジストロフィーのようにQOLが上昇しないことから人工呼吸治療に踏み切れないと言うのが大多数の意見であり、今後の治療のガイドライン作成が望まれる。

5. 画像診断プロジェクト

CTやMRIを用いて骨格筋障害進展過程の解析や病型間の骨格筋障害の差などの研究が行われた。LGMD2Aでは下腿ではGastrocnemiusよりもSoleusが侵されるという点でdytrophinopathyと異なり、LGMD2C、2Dではdytrophinopathyに比べ障害が軽度であった。またLGMD2Bでは遠位筋が特徴的に侵されていた。またLGMD2Bとして1986年にBrainに記載された症例のdyferlin染色でdysferlinは欠損し、ヘテロ接合体では減少していることが明らかにされ、臨床的表現型と符合していたことが報告された。以上は徳島の足立らの研究成果である。平成13年度には下志津の清水が大きな筋バンクを検索し、dysferlin染色を行った結果を報告している。高CK血症と診断された筋でdysferlinが欠損していた症例が呈示されて今後dytrophinopathyの臨床的概念が変遷してゆくであろうと予感させた。下志津の中山らはMRIを使い運動制限がどのような効果を生み出すかをLGMD兄弟例で3年間に渡り検討した。その結果筋痛を生じない程度の運動制限は筋萎縮の進行を抑えたと結論し運動制限を推奨した。

6. 臨床病態

筋音図や胃電図などの新しい解析法が導入された、未だこれらの方法が無いと治療できないという時点まで至っていないが今後の臨床面での活用が期待される。Duchenne型Becker型における知能や精神症状の検討も行われた。従来より判明していた通りDuchenne型で半数がFIQ70以下であった(兵庫中央 高橋ら)。これまでと違いさらに遺伝子異常との関係が神戸大の竹島らにより検索された。DystrophinのisoformのひとつであるDP140の有無と知能低下の関連性が検討されてきたが、彼らの研究では関連性は無いと断定された。鈴鹿の松岡らはdytrophinopathyの精神症状と遺伝子異常の関係を調べたがここでも一定の関係は見いだせなかった。

7. 心肺不全プロジェクト

呼吸不全については以前よりも演題数が減少してきているのは、治療法が確立されてきたことを示している。東埼玉の谷田部らによりminitracheostomy tubeによる人工呼吸法の治療経過が示された。この方法では術式が簡単で短時間で終了する。また早期より食事摂取が可能で、発声も全例で可能であるという利点がある一方で、カフ付きカニューレではないことから人工呼吸としての効率はよくないという欠点を持つ、気管の一部が狭小化して通常の太さカニューレが挿入できなかったがminitracheostomy tubeで救命し得た症例を報告し、複数の治療メニューを持つことが重要であるとした。平成12年度夏のワークショップではDuchenne型における呼吸不全治療の第一選択であるNIPPVの治療期間は平均5年程度であろうという結論であった。

心不全治療については、未だに有効な治療法が確立されていないため報告は多い。左心不全のマーカーとしてのBNP測定の有用性については確立され、左心不全治療の第一選択薬としてのACE阻害剤の有用性も確立された。今後は β ブロッカーの投与時期・投与方法などについて研究する必要がある。脳血管障害や心筋梗塞を起こした症例などの報告もされた。

8. 凝固亢進プロジェクト

当研究班の主眼として出発した。研究中に主な原因の一つとして脱水状態が関与するとの指摘があり、病棟では水分摂取を注意するようになった。その結果最近では典型的な出血性肺梗塞はほとんど見られなくなった。プロジェクトとしては西奈良の安藤を中心として全国的に血液を研究し、warfarin投与試験を行うべく努力してみたが、「凝固線溶系検査で血栓準備状態が示唆された患者で、過去に血栓塞栓症の既往があるか、心機能障害が確認された患者」という条件に適合する症例が全国で10例しか集まらず断念した。しかし、TATやd-dimerといった凝固線溶系の検査所見の異常が認められており、この面での研究の必要性が減じたわけではない。今後はeconomy class症候群と同一なのかどうかの面からもう一度見直す必要がある。VEGF(vascular endothelial growth factor)の高値が存在することを刀根山の斎藤らが報告した。

9. 薬物療法プロジェクト

副腎皮質ステロイドの効果は刀根山の神野、東京女子医大の大澤らを中心に研究され、確立された治療法となった。他に筋強直性ジストロフィーの呼吸障害に対するセロトニンセプターアゴニスト投与(医王)、clenbuterol(神経センター)、グリチルリチン(筑波)などが投与された。再春荘の大林らにより胃蠕動を促すクエン酸モサプリドの効果は胃電図を用いて証明された。現在アメリカで試験されているクレアチン投与の試みも発表された(川棚)。

10. 外科療法

重点目標の一つ脊柱手術については3年で千葉東の中田らは10例の手術を行った。手術時間も長く出血量も多い、また1ヶ月以上の入院を必要とするなど大手術であるが、徐々に例数を増しつつある。また患者家族からも手術はどうかといった問いも聞かれるようになり、今後例数は増加するものと思われる。手術結果は現在のところは重篤な合併症もなくQOLも改善し、患者家族からは肯定的な反応が見られる。岩木の山田らはRideauの腸腰韧带切除術を行い良好な結果を得ている。今後も手術療法も平行して治療法の中に取り入れられるべきであると考え。以上が3年間の総括であるが、これまでに成し遂げられず今後の研究により克服されなければならない点も多く存在するので列挙しておく。

1. 遺伝子診断

dysstrophin遺伝子診断については詳細な研究が一部の施設で可能とはなったが、研究者の動向によっては確立された方法が瞬時に無くなる可能性がある。新しい成果があまり期待できない分野となってしまったからである。また将来に姉妹が保因者診断を希望する場面を想定して、生存している間に患者のDNAを保存しておく必要がある。全国に数カ所センターを作りこのような機能を果たすべきであると提言する。

2. 遺伝相談

これまではDuchenne型の遺伝相談に絞って研究を進めてきたが、他の病型について具体的な相談法を確立すべく研究する必要がある。また遺伝相談カウンセラーを養成し配置する必要がある。

3. 先天性筋ジストロフィー

非福山型で、かつ非merosin欠損型、かつ非ullrich型症例を全国的に集積して検討する必要がある。この点については国立療養所のスケールメリットが発揮しうる。

4. 心肺不全

左心不全薬物療法の具体的ガイドラインを作成しなければならない、また筋強直性ジストロフィーの呼吸不全の治療ガイドラインの作成も必要。

特に筋強直性ジストロフィーについては今後も大きな努力を傾けて研究する必要がある。

5. 凝固亢進

今後も凝固線溶系異常メカニズムの検討が必要である、筋ジストロフィー患者のみではなく健常人の治療にも通じるようなメカニズムが発見される可能性があるからである。

Summary of national research group for establishment of genetic counseling and development of treatments on the pathophysiology in muscular dystrophy patients.

Tadayuki Ishihara
National Higashisaitama Hospital

Objectives :

This research group were carried out from 1999 until 2001. About 40 researchers (not only clinical researchers of national hospitals, but also a few basic researchers of universities) joined to this research group.

Aims of this research group were divided into 3 categories;

1. Establishment of genetic counseling

In our country, there are few genetic counselors in hospitals, so clinical doctors must take their rolls for genetic counseling, which is very important part of daily work. To average the genetic counsellings in outpatient clinic all over Japan, we decided to have a workshop on this item every year. We have made informed consent for genetic diagnosis in adult patient, in this research we will make a informed consent for children .

2. Introduction of spinal surgery in patients with muscular dystrophy :

In Japan, there have been a few spinal surgeries for correction of scoliosis among muscular dystrophy patients so far, and problems of not only spinal deformities but also deformities of trachea became more and more important factor for elongation of their lives. We concluded to introduce the spinal surgery in our country. To improve these problems, we have planned a workshop for spinal surgery in these disorders.

3. To develop therapies which is based upon pathophysiology :

Former research group has studied the thrombosis in muscular dystrophy patients. And the conclusion was thrombotic(embolic) phenomena are not rare in patients at terminal stage. We will prepare for the challenge of the warfarin and aspirin therapy in near future. Other therapies for cardiovascular systems will be studied in this group.

Researchers were divided into 11 subgroups, and 186 papers were presented at annual meetings.

	1999	2000	2001
DNA diagnosis	7	8	4
Genetic Counseling	4	3	10
Congenital Dystrophy	3	4	4
Myotonic Dystrophy	9	6	9
X-ray Diagnosis	5	7	3
Pathophysiology	6	7	9
Cardiopulmonary System	9	9	5
Blood Coagulation	5	5	4
Drug Therapy	8	8	5
Surgical Therapy	4	3	4
Database	6	2	1
Total	66	62	58

Summary of these 3 years :

1. Subgroup for DNA diagnosis*

Over 20 cases of point mutation in dystrophin gene were found in National Higashisaitama Hospital by direct

sequence method of this gene. These data will be useful in near future, because gentamicin (drug for point mutation) became a promising drug for DMD recently (Kawamura et al). Kato of the same Hospital arranged a new and rapid diagnostic PCR method for Fukuyama congenital muscular dystrophy. She could diagnose by this method not only patients with Fukuyama dystrophy, but also carrier state. Takahashi (Nishitaga Hospital) reported that abnormality in the dysferlin genes of the LGMD2B patients located every site compared with preferentially located at C-end in other countries.

Sueoka (Keio University) reported protocol for preimplantation diagnosis for Duchenne dystrophy, and they informed this protocol to the family and patients in the homepage of the Japanese Muscular Dystrophy Association (JAMDA). As there is no consensus in Japan about preimplantation diagnosis at present, we should attempt to make many discussions with societies vigorously in future.

2. Genetic Counseling

In summer, we had a workshop for genetic counseling annually to educate clinicians. And Osawa (Tokyo Womens Medical College) and their colleagues made several documents for informed consent for counseling in Duchenne dystrophy.

3. Congenital Dystrophy

Many reports of clinical phenotype of the Fukuyama dystrophy were presented. And Higuchi (Kagoshima University) found the deficiency of collagen 6 in Ullrich congenital muscular dystrophy in 2000. In 2001 he reported the gene abnormality of this disease. At present every person wonders the reason why the different phenotypes between this disease and Bethlem myopathy, because the 2 diseases have the abnormality in the same gene.

4. Myotonic dystrophy

Numbers of the patients with myotonic dystrophy grow more and more recently in Hospitals, so this disease has become important for us, attending doctors. Many studies were done including DNA analysis, cardiopulmonary study, electrodiagnosis, X-ray diagnosis and pathological study etc. Respiratory failure is the most common complication in this disease, but respirator therapy (with tracheostomy) is usually avoided in Japan. Compared with the nearly 100% of the respiratory failure in Duchenne dystrophy is treated by respirators now in Japan, the environment for myotonic dystrophy patients is hard. Matsuoka (Suzuka Hospital) reported successfully treated cases by NIPPV treatment, NIPPV will be challenged more in near future.

5. X-ray diagnosis

Adachi (Tokushima Hospital) reported the difference in MRI and CT among the patients with LGMD2A, 2A, 2C, 2D). Shimizu (Shimosizu Hospital) studied many cases by immunohistochemical method using antidysferlin antibody. He pointed out that the clinical phenotype is wider than we thought.

6. Pathophysiology

Electrodiagnosis of gastric movement was introduced in Duchenne dystrophy, and it was useful for the analysis of the effectiveness of a drug. Correlation between Intellectual impairment and dystrophin gene abnormalities were studied, but results were negative (Takeshima et al).

7. Cardiopulmonary Problem

Respirator treatment prevailed in our country, so little problem is present now for Duchenne dystrophy. Mean duration of the NIPPV treatment is around 5 years at present, this time will become more in near future. Compared with successful results in pulmonary failure treatment, cardiac failure is difficult to treat still. BNP became a useful marker for cardiac failure. ACE inhibitors became drugs of first-choice.

8. Coagulation

We scheduled double blind study of warfarin to prevent the thromboembolic phenomena in terminal stage. But we gathered too small numbers of patients for double blind, and moreover few thromboembolic accidents occur at present after we gave much water to the patients. It became rare to see the typical hemorrhagic pulmonary infarction. So we bring to a close of the double blind study.

9. Drug therapy

Shinnno (Toneyama Hospital) reported successful treatment by steroid in Duchenne dystrophy. Agonist of serotonin receptor was given for treatment of nocturnal apnea in myotonic dystrophy, clenbuterol and creatin were given for Duchenne dystrophy, though their effect is not contributory at present.

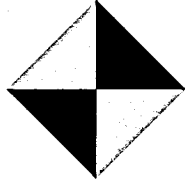
10. Surgical Therapy

Promotion of the spinal surgery is now challenged vigorously. Numbers of treated patients are not so large, but re increasing now. Yamada (Iwaki Hospital) reported the results of the resection of iliotibial bands. They reported good consequences of this operation.

Conclusion :

There are no genetic counselors in hospitals in Japan, counselors are important in genetic counseling. Govenment should make counselors and offer them to National Hospitals which have Muscular dystrophy wards.

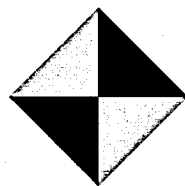
Gene banks for muscular dystrophy should be established in near fufure. Usually genetic counseling for family members is necessary after the patients die. Although DNA or RNA is necessary for sisters and cousins, patient's DNA or RNA are lost at that time usually. I hope government will make 2 or 3 gene banks in National Hospitals.



3年間のまとめ

(平成11年度～平成13年度)

実績報告書



国立療養所東埼玉病院3年間の研究のまとめ

班 員：石原博幸

協力者：川村潤、花山耕三、重山俊喜、中山可奈、
加藤るみ子

最近の当院の特徴として川村がジストロフィン遺伝子研究を精力的に行ってきたことである。川村はジストロフィン遺伝子の微小変異の研究では日本のトップに位置するようになった。点変異などの微小変異家系での保因者診断を確立したのは彼の業績である。平成13年度は彼の共同研究者である加藤が福山型先天性筋ジストロフィーの遺伝子診断をPCRで行なえるように新しい方法を開発した。この方法は本症の保因者診断も可能であり、迅速簡便な方法であるため、広く注目を集めつつある。

中山は臨床研究を進めており、呼吸不全の研究を行ってきた、minitracheostomyによる呼吸器療法の開発はよいQOLの生活を患者にもたらした意味で功績が大であると自負している。中山はさらにこれまでの呼吸器治療データをまとめワークショップで発表し、NIPPVでの平均治療期間は5年程度であることを発表した。

花山は強直性筋ジストロフィーにおける嚥下困難のメカニズム解明に取り組んでおり注目を集めている。

石原は筋組織化学に取り組んできており強直性筋ジストロフィーの呼吸筋病理について発表した。DMDでは下部肋間筋が強く障害されるが強直性筋ジストロフィーでは下部より上部肋間筋が強く障害されることを明らかにした。最近では剖検数が少なくなってきており、国立療養所東埼玉病院において蓄積された剖検筋肉は大変貴重になっている現状である。

筋ジストロフィーにおける 可溶性接着分子・VEGF

分担研究者 神野 進

(国立療養所刀根山病院・神経内科)

緒言

筋ジストロフィーには潜在的な血液凝固線溶異常があり、筋崩壊と密接に関連している¹⁾。われわれは、血液凝固線溶系活性化・筋崩壊に関連する因子として、可溶性接着分子およびVascular endothelial growth factor (VEGF)を測定し、筋ジストロフィーの病態との関連を探った。

平成11年度

目的

筋ジストロフィー患者の血清中可溶性接着分子を測定し、その意義を検討する。

対象・方法

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)29例, Becker型筋ジストロフィー(BMD)8例, 福山型筋ジストロフィー(FCMD)7例, 非福山型筋ジストロフィー5例, 筋強直性ジストロフィー7例, 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー1例, 肢帯型筋ジストロフィー2例, 脊髄性筋萎縮症2型(SMA type 2)5例, 計64例(2歳~31歳, 平均14.3歳)の血清creatinine kinase (CK), fibrin and fibrinogen degradation products (FDP), soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sICAM-1), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sVCAM-1), soluble (s)E-selectinを測定した。接着分子の測定はR&D systems (ELISA)のキットを用いた。

結果

CKは21~37,442 U/l (Mean±SD; 4,541±6,568), FDPは0.7~49.6 μg/ml (11.0±13.0), sICAM-1は0.2~907.0 ng/ml (264.9±169.5), sVCAM-1は33.5~85.2 ng/ml (50.6±11.0), sE-selectinは16.9~193.0 ng/ml (50.4±33.1)であった。いずれも若年齢ほど高値を示す傾向にあったが, SMA type 2で異常値例は認められなかった。SMA type 2以外の疾患群間での差異は明らかでなかった。筋ジストロフィー群のCK, FDP, 可溶性接着分子の間には有意な関係はなかった。

考察

一般に接着分子は、炎症細胞の血管内皮細胞への接着、炎症局所への浸潤に関与し、病巣の組織破壊に関連する²⁾。CK, FDPとの関連は有意ではなかったが、筋ジ

ストロフィー群の若年例ほど可溶性接着分子は高値であり、筋ジストロフィーにおいても接着分子は病巣破壊に影響していると考えられる。

なお、後の再検討でDMDのsVCAM-1, sE-selectinと年齢の間には有意な相関を認めた³⁾。

平成12年度

目的

筋ジストロフィー患者の血清中可溶性接着分子の6カ月間での変動を検討する。

対象・方法

検体採取時に明らかな炎症所見がないDMD 11例, BMD 2例, FCMD 2例, SMA type 2 1例, 計16例(5歳~15歳, 平均10.9歳)の血清CK, FDP, sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectinをbaselineとその6カ月後(6month)で測定した。

結果

DMDのsICAM-1はbaseline 227.6±67.9 ng/ml (Mean±SEM), 6 month 292.0±68.6ng/ml, sVCAM-1はbaseline 513.0±32.0 ng/ml, 6 month 558.0±47.0 ng/ml, E-selectinはbaseline 59.7±14.0 ng/ml, 6 month 64.4±14.0 ng/mlであった。いずれも若年例ほど高値の傾向であったが、各接着分子の6ヶ月間での変動は有意でなかった。Baseline, 6 monthともCK, FDPとの相関は有意でなかった。他疾患でも同様の傾向であった。

考察

感染などの炎症所見がなければ、筋ジストロフィーの可溶性接着分子の値は、筋病巣で発現している接着分子を反映すると考えられるが³⁾、6カ月程度の短期間での症状の変動では、可溶性接着分子に有意な変動をもたらさなかった。個別症例では年単位の検討が必要と考えられる。

平成13年度

目的

筋ジストロフィーにおける血清VEGFの意義を検討する。

対象・方法

DMD 17例, BMD 5例, FCMD 12例, SMA type 2 4例, 計38例(男性30例, 女性8例, 4歳~23歳, 平均14.6歳)の血清CK, FDP, VEGFを測定した。また、対照として健常成人5例(女性)の血清VEGFを測定した。VEGFの測定はR&D systems (ELISA)のキットを用いた。

結 果

血清VEGFは、DMD 209.7pg/ml (SE, 34.6), BMD 188.0 pg/ml(39.1), FCMD 189.4pg/ml(48.8), SMA type 2 117.7 pg/ml (19.4), 対照 161.3 pg/ml (38.0)と、筋ジストロフィー群で高値の傾向であったが、群間の有意差はなかった(ANOVA). CK, FDPとの間に有意な関係は認めなかった.

考 察

筋ジストロフィー群ではVEGFが上昇しており、血管内皮細胞活性化などの変化があることが推測される。これは筋崩壊に伴う二次的変化である可能性が高いが、筋崩壊増悪因子である可能性は否定できない。VEGFとCK, FDPとの関連は有意ではなかったが、VEGFは筋ジストロフィーの筋崩壊・凝固線溶異常の病態に関連すると考えられる。

結 論

血液凝固線溶系活性化, 接着分子発現, 血管内皮細胞およびその活性化を促すVEGFは, 筋崩壊に密接に関連している。

参考文献

- 1) Saito T, Takenaka M, Miyai I, et al. : Coagulation and Fibrinolysis Disorder in Muscular Dystrophy. Muscle Nerve 2001; 24: 399-402.
- 2) Gearing A J H, Newman W. : Circulating adhesion molecules in disease. Immunology Today1993; 14: 506-12.
- 3) 斉藤利雄, 山本裕子, 神野 進. : 筋ジストロフィーにおける可溶性接着分子. 脳と発達 2002; 34: in press.

共同研究者 斉藤利雄 山本裕子*
衛藤昌樹 疋田太刀夫
横江 勝 国富厚宏
松村 剛 宮井一郎
野崎園子

(国立療養所刀根山病院・神経内科・研究検査科*)

筋強直性ジストロフィーの呼吸障害と人工呼吸療法

松岡幸彦

国立療養所鈴鹿病院

デュシェンヌ型筋ジストロフィーにおいては、鼻マスク式陽圧式人工呼吸器(NIPPV)を主体とした呼吸療法がほぼ確立され、それにより患者の寿命が大幅に延長している。導入の基準なども、マニュアル化されてきている。それに対し、筋強直性ジストロフィー(MyD)については、呼吸障害の実態も十分に明らかでなく、それに対する治療法に関しても、十分な研究はなされていない。そこでわれわれは、このような点に関し、検討を行った。

1. MyDに対する人工呼吸療法の全国調査

全国の筋ジストロフィー病棟を有する国立療養所および国立精神・神経センターの計27施設を対象に、MyD入院患者数、人工呼吸療法の種類・機種、本症の人工呼吸療法についての意見などをアンケート調査した。

回答は、26施設から得られた(回収率96.3%)。

入院中の筋ジストロフィー患者数は、1,874例であった。そのうちMyD患者数は、320例であり、筋ジストロフィー全体の17.1%を占めていた。内訳は、男184例、女136例、先天性25例、非先天性295例であった。施設ごとにみると、MyD患者は1~32例にわたり、5例以下の施設が5施設、6~10例が8施設、11~15例が5施設、16~20例が3施設、20~25例が3施設、26~30例が1施設、31例以上が1施設であった。

人工呼吸療法は、22施設で79例に施行されていた。施設ごとにみると、1例に実施されているのが7施設、2例が3施設、3例が5施設、4例が3施設で、そのほか6例、7例、10例、16例に対し1施設ずつが実施していた。人工呼吸療法をされているMyD患者の率は平均24.7%が0%が、4施設、10%未満が4施設、10%台が6施設、20%台が3施設、30%台が3施設、40%台が1施設、50%台が5施設、60%台が2施設であった。

人工呼吸療法の種類としては、非侵襲的陽圧式(NIPPV)が16施設で実施されており、うち従量式が22例、従圧式が24例であった。多数例にNIPPVを行っている施設でも、従量式を主体にしているところと、従圧式を主体にしているところがあった。気管切開による陽圧式(TIPPV)は18施設で33例に実施されていた。自由記載による意見としては、1)本症では自覚症状が乏しいことや、知能障害があるため、導入が困難なこ

とが多い。2)実施しても、閉口困難などのためか、自覚症状や検査データの改善が得られにくいことが多い。3)適応や導入の基準がないので、戸惑っている。4)インフォームドコンセントを得ようとしても、説明する根拠が乏しいので困る。5)本症には人工呼吸療法の適応はないと考えている、などが寄せられた。

2. 当院における人工呼吸療法実施状況

当院において最近10年間に人工呼吸療法を導入したMyD16例で、男性14例、女性2例、すべて成人型であった。人工呼吸療法の種類としては、NIPPV10例、TIPPVが4例、NIPPVからTIPPVへの移行が2例であった。

NIPPVの開始年齢は、平均48.7±5.3歳(43~60歳)であった。導入時に呼吸不全ないし夜間睡眠時の呼吸異常に伴う何らかの自覚症状を有するものが、4例、ほとんど無症状であるが、血液ガス、夜間パルスオキシメーターなどの検査上、低酸素血症、高炭酸ガス血症、睡眠時無呼吸などがみられるものが7例であった。SpO₂が90%未満となる時間が全睡眠時間に占める割合が、20%を超える例が9例と、大部分であった。夜間低酸素指数(NHI)が130以上の例も8例と、多くを占めた。

NIPPV導入により、自覚症状は全例で、改善ないし消失した。NHIを導入前後で比較すると、推計学的に有意の改善が認められた。

経過としては、当院で導入のみを行ったものが3例、現在も継続中が6例、死亡が2例であった。平均観察期間は3.3±3.6年で、最長10年である。死亡例のうち、開始時51歳の女性は、当初CPAPで開始し、症状と検査値の改善がみられていたが、経過とともに夜間の呼吸異常が徐々に悪化したために、4年目にBiPAP、7年目には従量式レスピレーターへの変更が必要になった。9年目に肺炎を併発して気管切開を施行、その半年後に死亡した。もう1例は48歳の女性で、SpO₂が90%未満となる時間が全睡眠時間に占める割合が、98.7%にも達し、NHIも352.9と、全例の中で最高値を示した最重症例である。当院では導入のみを行ったが、転院後はほとんど装着されておらず、6年後に突然死した。

合併症としては、鼻根部の潰瘍が多く、マスクの適合が悪い例や、上気道閉塞が強くて導入が困難な例もみられた。患者の理解度の問題もあり、コンプライアンスは必ずしも良くなかった。TIPPVの開始年齢は、平均60.0±4.4歳(53~65歳)であった。うち1例では、食物による窒息のため緊急挿管がされ、ついで気管切開が施行され、そのまま人工呼吸管理へ移行した。観察期間は平均1.5±1.5年(2ヶ月~4年)である。2例が死亡、残り3例が現在も継続中である。

3. 当院におけるMyDの呼吸障害の経年的変化

当院に入院中、あるいは外来通院中のMyD患者のうち、3年以上にわたって各種呼吸機能検査を施行できた23例を対象とした。スパイログラム、血液ガス所見、NHI、CTGリピート数などを検討した。

その結果、まずスパイログラムでは、拘束性換気障害のパターンを呈した。%VCと年齢は、有意な負の相関を示した。血液ガス所見では、ほとんどの例で初期から、PCO₂が50mmHg以上の高値を示した。NHIと年齢との間には、有意な相関は見られなかったし、%VC、PCO₂との間にも、一定の傾向は見られなかった。CTGリピートが2000以上と、延長が著しい症例では、初期から呼吸不全が悪化する例がみられた。

4. 考察

当院受診中のMyD患者における呼吸障害の経年的推移を検討した結果をみると、加齢とともに呼吸障害は悪化していた。早い例では40歳代から、多くの例では50歳代後半までには、呼吸不全により生命の危機に瀕すると考えられた。

これに対し当院では、NIPPVを主体とした人工呼吸療法を積極的に行っており、導入前後でNHIが推計的に有意に改善することを認めた。今後は生命予後に對し、この治療法がどのような改善効果があるか、検証を進める必要があると考えられる。

全国アンケート調査の結果によると、MyDに対する人工呼吸療法については、実施状況においても、適応に関する考え方においても、施設ごとの違いがかなり大きかった。呼吸不全が進行していても自覚症状が乏しい、知能障害があるなどの理由から、インフォームドコンセントを得られにくい、コンプライアンスが悪いなどの問題点があることは事実である。しかし、死に瀕していることが分かっているながら、手をこまねいていて良い理由にはならない。

医師ばかりでなく、看護婦、指導員、保母、理学療法士など、多職種の職員が、MyD患者の延命およびQOLの向上を目標に、人工呼吸器の導入にかかわることが重要であると考えられる。

筋ジストロフィーにおける心・骨格筋障害に関する研究—とくにsarcoglycanopathy, calpainopathy, dysferlinopathyそしてDuchenne型女性保因者について—

足立克仁

国立療養所徳島病院内科

はじめに

筋ジストロフィーは骨格筋のみならず、心筋にも病変がみられる。本研究は、筋ジストロフィーの各病型(保因者も含む)について骨格筋障害と心障害の関係について調べたものである。

1. SarcoglycanopathyとDuchenne型筋ジストロフィーの心筋・骨格筋の障害における比較検討

幼小児期発症の筋ジストロフィーにおいて、患者が男児の場合にサルコグリカノパチーとDuchenne型との鑑別は難しいことが多い。本研究では両者の心筋・骨格筋の障害についてそれぞれの特徴を比較検討する。

対象は γ -サルコグリカノパチー1例(13歳女児), α -サルコグリカノパチー 4例(11, 31, 56歳女性, 15歳男性)である。一方、Duchenne型は10例(10~16歳男性)である。

結果は1. 臨床症状:サルコグリカノパチーでは、発症は3~6歳で、13~16歳で歩行不能となり、20歳以降に座位保持可能となり、その後は緩徐進行性であった。一方、Duchenne型では、発症は2,3歳であり、歩行不能年齢は10~12歳であり、20歳前後で座位保持不能となった。2. 筋萎縮の分布:両病型ともに四肢近位部に優位な筋萎縮を示し、下肢筋CT像では、ほぼ同じ障害パターンを示した。3. 血清CK活性値:幼少時サルコグリカノパチーはDuchenne型の高度上昇に比べるとやや低く、正常の18~25倍であった。4. 骨格筋免疫組織化学:サルコグリカノパチーでは、ジストロフィンに正常に染色されたが、サルコグリカン複合体は陰性であった。Duchenne型ではその逆であった。5. 心機能:サルコグリカノパチー(11~56歳)では心胸郭比の拡大はみられず、心エコー検査も正常範囲であった。血漿ANP値と血漿BNP値もほぼ正常であった。しかし、Duchenne型では高度障害例が多くみられた。6. 剖検心所見: α -サルコグリカノパチーでは、主として左室後下壁に筋線維の変性が認められ、Duchenne型の所見と類似していた。免疫組織化学では α -サルコグリカノパチーではジストロフィンに正常に染色されたが、 α -サルコグリカンは欠損していた。

サルコグリカノパチーがDuchenne型に比べ予後がよいのは心筋障害がDuchenne型に比べ軽いことが一因と思われた¹⁾。

2. CalpainopathyとBecker型筋ジストロフィーの心筋・骨格筋の障害における比較検討

肢帯型筋萎縮を示す青年期筋ジストロフィーでは、患者が男性の場合、カルパインパチーとBecker型とを臨床的に鑑別することは難しいことが多い。本研究では両者の心筋・骨格筋の障害について検討する。

対象はカルパイン3の遺伝子異常が確認された4家系6症例、年齢は55~64歳で、男4例、女2例ある。一方、Becker型は男性5症例で、41~64歳である。

結果は1. 臨床症状:カルパインパチーでは、発症は約10歳で、約40歳で歩行不能となり、経過は互いに類似していた。一方、Becker型では、発症は7~23歳であり、歩行不能年齢は15~50歳まで、と幅がみられた。2. 下肢筋CT像:カルパインパチーは下腿最大径部では腓腹筋に比べヒラメ筋の障害が強くみられ、この障害はBecker型とは逆の関係であった。また、腓腹筋の仮性肥大は全例明らかでなかった。3. 血清CK活性値:本対象患者の年齢では、両病型とも正常あるいは正常の3,4倍程度であったが、青年期では、カルパインパチーはBecker型の高度上昇に比べるとやや低く、最高値で正常の10倍であった。4. 筋生検所見:カルパインパチーの免疫組織化学では、ジストロフィンに正常に染色された。一方、Becker型ではジストロフィンに軽微あるいはpatchyに染まった。5. 心機能:カルパインパチーは心胸郭比の拡大はみられなく、心エコーも正常範囲であった。血漿ANP値と血漿BNP値もほぼ正常であった。しかし、Becker型の心機能は正常例から高度障害例までみられた。

カルパインパチーの心障害はBecker型に比べ軽く、このことが本症の予後を良くしている一因と思われた。これはカルパイン3が骨格筋に特異的に発現するためと考えられた²⁾。

3. Dysferlinopathyにおける骨格筋障害と心筋障害との関係

三好型遠位型筋ジストロフィー、LGMD2Bの遺伝子産物はdysferlinであり、これは種々の組織で発現するが、特に骨格筋、心筋、胎盤で多く認められる。我々はdysferlinの免疫組織化学で確認した症例とその家系員について、骨格筋障害と心筋障害との関係を臨床・病理学的に検討した。

対象は2家系4症例である。年齢は49~68歳で、男性2例、女性2例である。うち1例(68歳、男性)は剖検所見を調べた。

結果は1. 臨床症状・経過:発症は12歳~25歳で、34歳~67歳で歩行不能となり、臨床経過は緩徐進行性で、症例により幅がみられた。2. 筋萎縮の分布と血清CK活性値:本対象患者の年齢では、ほぼ全身の筋萎縮がみられ、遠位筋に優位な萎縮は明らかでな

った。血清CK活性値は305~1036 IU/L(正常<200)と上昇は軽度であった。3. 筋生検所見：筋線維の大小不同、変性、壊死、再生像がみられジストロフィー性変化を示した。免疫組織化学ではジストロフィン免疫反応は筋細胞膜に正常に染色されたが、ジスフェリンは陰性であった。4. 心機能：心胸郭比は48~54%と著明な拡大はみられなく、心エコーは正常範囲内であり、さらに血漿ANP値は5~21pg/ml、血漿BNP値は8~36pg/mlと著明な上昇はみられなかった。5. 剖検心所見：心重量360gと肥大はなく、心のう液の貯留もなかった。心筋線維はやや萎縮していたが、肥大した線維も混在していた。骨格筋にみられた変性、壊死所見はなく、脂肪細胞の浸潤も軽度であった。

本症の心障害は、病理学的にはわずかに認められるものの臨床的には認められない。これは心筋でのdysferlinの役割が骨格筋に比べ小さいことを示唆する。

4. Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者の骨格筋障害と心障害の関係

Duchenne型筋ジストロフィーの母親には、しばしば骨格筋症状や心症状を呈する方がみられる³⁾。われわれは平成6年度より毎年一回、当院入院Duchenne型患者の母親の検診を行い、Duchenne型の女性保因者の中には骨格筋障害に加え心機能障害が多くみられることを当班会議で発表してきたが、今回8年間のまとめを報告した。

対象はDuchenne型患者の母親40名(34~61歳)について、家系図と血清CK活性値にて、さらに一部では生検筋のジストロフィン免疫組織化学、サザン法によるジストロフィン遺伝子検索にて保因者か非保因者かの検討を行った。そしてこの40名について、骨格筋機能としては血清CK値と最も障害される大腿二頭筋のCT値を、心機能としては心エコーと血漿ナトリウム利尿ペプチドである心房性ペプチド(ANP)値と脳性ペプチド(BNP)値を調べた。

結果は1. 40名の母親のうち確実な保因者は24名(34~61歳)であった。2. 確実な保因者24例の血清CK活性値は83~2,925U/L(962.5±920.2, mean±SD)(正常値<200)であり、19例(79%)が上昇を示していた。経過は、低値例ではほぼ横這いであったが、高値例では変動が著しかった。3. 確実19例の大腿二頭筋CT値は56~50(9.3±35.7)(正常値>40)であり、16例(84%)が低値を示した。経過は少しずつ減少し、障害は緩徐に進行した。血清CK値とCT値とは負の相関($r=-0.79, p<0.001$)を示した。4. 確実22例の左室拡張末期径(LVDd)は38~62mm(50.1±6.0)(正常値<50)であり、11例(50%)が拡張していた。左室短縮率(FS)は39.9~9.4%(25.6±8.6)(正常値>27)であり、14例(64%)が低値であった。経過は一定していなかった。5. 確実16例の

血漿ANP値は8~110pg/ml(37.8±31.8)(正常値<43)であり、3例(19%)が高値であった。18例の血漿BNP値は4~210pg/ml(42.9±48.3)(正常値<18.4)であり、12例(67%)が低値であった。経過は変動がみられ、利尿剤、ACE阻害剤等の治療3例では治療初期で改善がみられた。6. 血清CK値とLVDdとは正の相関($r=0.51, p<0.05$)を、血清CK値とFSとは負の相関($r=-0.53, p<0.05$)を示した。

Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者では、骨格筋障害の強い例で心障害が強く、筋力低下のある母親は心機能の定期的な評価により心不全を未然に防ぐ必要がある。

まとめ

本研究は、筋ジストロフィー各病型について骨格筋障害と心障害の病態を明らかにし、さらに両者の関係を述べた。本研究の成績は心・呼吸障害の早期発見、早期治療に有用であり、本症の生命予後の延長に資するものである。

参考文献

- 1) 足立克仁ほか：悪性肢帯型筋ジストロフィー (三好) 患者におけるサルコグリカンの遺伝子異常ならびに臨床像と剖検心所見。医療54:419-423, 2000.
- 2) 足立克仁、川井尚臣：Calpainopathy(LGMD2A)の臨床像 - Becker型筋ジストロフィーとの比較 -。医療55:144-147, 2001
- 3) Adachi K, et al. : Plasma levels of brain natriuretic peptide as index for evaluation of cardiac function in female gene carriers of Duchenne muscular dystrophy. Int Med, 36: 497, 1997.

筋ジストロフィー心不全に対する ACE阻害剤無効例の検討及び DMD(BMD)の血液凝固障害に関する研究

福田 清貴

国立療養所原病院

緒言

ACE阻害剤が筋ジストロフィーの心不全に対してかなりの頻度で用いられ、その有効性が認識される中で無効例が散見されることがわかった。そこでACE阻害剤無効例についての頻度や対処法に関する検討を行った。

一方、DMD(BMD)において、肺梗塞等の血液凝固障害に起因すると考えられる血管閉塞の病変存在が指摘されている。全国規模での多数例による血液凝固状態の検討の必要性から、DMD(BMD)を対象として血液凝固線溶系の検査を全国レベルで行った。

(協力病院：国立精神・神経センター武蔵病院、国立療養所東埼玉病院、国立療養所長良病院、国立療養所宇多野病院、国立療養所西奈良病院、国立療養所刀根山病院、国立療養所徳島病院、国立療養所西別府病院、国立療養所川棚病院、国立療養所再春荘病院、国立療養所南九州病院、国立療養所沖繩病院)

また、水分摂取に気をつけることにより血液凝固障害による疾病が減少した印象がある。以前に2度の脳梗塞の既往のあるBMD患者に抗血小板薬を投与したところ、5年以上1度も梗塞症状をおこしていない。水分摂取や抗血小板薬の投与によりDMD(BMD)の血液凝固障害に起因する疾病は予防できるのか検討する。

方法

主にDMD(BMD)心不全例に対するACE阻害剤に関するアンケート調査を筋ジス研究石原班の班員に対し行った。

一般凝固系検査としてAPTT、PT、凝固系分子マーカーとしてTATⅢ複合体、PTF1+2、線溶系分子マーカーとしてDダイマー、 α 2PI、PM複合体を用いた。検査は1つの検査センターに集め同時に測定した。対象はDMD(BMD)44例、対照には神経原性筋疾患の患者31例を用いた。それぞれの検査結果についてDMD(BMD)と神経原性筋疾患の間で有意の差が認められるか検討した。

採血前1週間の尿量の平均の多少と血液凝固線溶系検査データとの間に関係があるのかを検討した。また、ジピリダモール(25mg×3/日)の投与の有無により血液凝固線溶系のデータに変化があるか検討した。

結果

アンケートの回収率は76.0%であった。ACE阻害剤を使用するようになってからのDMD(BMD)の心不全患者のうち治療中の患者は160名であった。そのうちACE阻害剤を使用したことのある患者は135名(84.4%)であった。このうちACE阻害剤無効例は21名(15.6%)であった。ACE阻害剤無効例に対してとった対策は、①悪化なければ継続投与、②強心配糖体+利尿剤の投与、③ β -blockerの投与、④カテコラミンの投与、⑤A-II antagonistの投与であった。無効例の頻度に関する感想・印象は、①急激に心不全が進行する様な症例には効果が少ない、②剖検で全周性の心筋の線維化がみられる症例には効果が少ない、③DMDの1~2割は無効ではないか、④無効例にはACE阻害剤がもともと効かないタイプと心不全が末期だから効かなかったタイプの2つがあると思う、であった。DMD(BMD)以外の筋ジストロフィー心不全に対するACE阻害剤の使用経験は、①肢帯型に使用して効果があった、②悪性肢帯型及び筋強直性ジストロフィーに有効か？③福山型に使用したが少なくとも著効ではなかった、④先天性ミオパチーに使用したが有効とも無効ともいいにくい、であった。

神経原性筋疾患はKugelberg-Welander病が8例、Werdnig-Hoffmann病が19例、Charcot-Marie-Tooth病が4例で、平均年齢は35.4歳、障害度の平均は7.4、男：女=1.9：1であった。DMD(BMD)の平均年齢は26.0歳、障害度の平均は7.1、DMD：BMD=6.3：1であった。APTTの平均値はDMD(BMD)で37.1秒、神経原性筋疾患で34.6秒で、t検査ではDMD(BMD)で有意に($P<0.01$)延長していた。PTの平均値はDMD(BMD)で11.7秒、神経原性筋疾患で11.4秒と有意の差はなかった。TATⅢ複合体は両者とも異常高値を示す例があったが、Mann-Whitney法にて両者間に有意の差は認められなかった。PTF1+2の平均値はDMD(BMD)では1.08mol/l 神経原性筋疾患では0.81mol/l 両者間に有意の差を認めなかったが、DMD(BMD)において異常高値を示す例がかなり認められた。Dダイマーの平均値はDMD(BMD)で0.65ng/ml、神経原性筋疾患で0.52ng/mlと正常であった。 α 2PI、PM複合体は両者とも異常高値を示す例が多数あったがMann-Whitney法では両者間に有意の差を認めなかった。

尿量の少ない患者にPTF1+2の値が低い傾向が見られたが、統計学的に有意な差は認められなかった(表1)。ジピリダモール投与患者と非投与患者の間に有意な差は認められなかったが、非投与群でTATが亢進している例が3例あった(表2)。

表1. 尿量の多少と血液凝固線溶系の関係

症例	1日尿量	DD	PIC	TAT	PTF1+2
		1.0未満	0.8以下	3.0以下	0.4-1.4
		(線溶系)		(凝固系)	
1	1636	1.53 ↑	0.8	2.8	0.46
2	1563	0.5以下	0.5	1.3	0.44
3	1517	0.5以下	1.0 ↑	2.4	0.51
4	1234	0.5以下	0.7	53.0 ↑	1.09
5	1079	0.5以下	1.1 ↑	1.3	0.52
6	921	0.5以下	1.2 ↑	7.0 ↑	0.50
7	909	0.5以下	0.5	1.0以下	0.37 ↓
8	799	0.5以下	0.7	3.7 ↑	0.36 ↓
9	679	0.5以下	0.6	1.0以下	0.24 ↓
10	653	0.5以下	0.8	2.7	0.35 ↓

表2. ジピリダモール投与・非投与と血液凝固線溶系の関係

症例	ジピリダモール	DD	PIC	TAT	PTF1+2
		1.0未満	0.8以下	3.0以下	0.4-1.4
		(線溶系)		(凝固系)	
1	(+)	1.53 ↑	0.8	2.8	0.46
②	(+)	0.5以下	1.1 ↑	1.3	0.452
3	(+)	0.5以下	0.5	1.0以下	0.37 ↓
4	(+)	0.5以下	0.6	1.5	0.40
1	(-)	0.5以下	0.5	1.3	0.44
2	(-)	0.5以下	1.0 ↑	2.4	0.51
3	(-)	0.5以下	0.7	53.0 ↑	1.09
4	(-)	0.5以下	1.2 ↑	7.0 ↑	0.50
5	(-)	0.5以下	0.7	3.7 ↑	0.36 ↓
6	(-)	0.5以下	0.6	1.0以下	0.24 ↓
7	(-)	0.5以下	0.8	2.7	0.35 ↓

考 察

DMD (BMD)心不全の15.6%がACE阻害剤が無効であることがわかった。無効例には急激に心不全が進行する例などACE阻害剤がもともと効かないタイプと、心不全が末期だから効かなかったタイプの2つがあると考えられた。無効例に対する対策としてはβ-blockerやA-II antagonistの使用が考慮されるべきと思われた。また、DMD (BMD)以外の筋ジストロフィー心不全例に対するACE阻害剤の使用はまだ数が限られており今後の検討が必要と思われた。

DMD (BMD)と神経原性筋疾患とも凝固線溶系検査において異常を示す症例が認められた。その異常はDMD (BMD)において神経原性筋疾患に比し統計学的に有意差が認められたのは一部であった。今回の検討では個々の症例の臨床病態が加味されていないためはっきりとしたことは言えないが、不動性がこれら凝固線溶系検査の異常に関与している可能性があると思わ

れる。

尿量及びジピリダモールと凝固線溶系検査との関係は障害度、年齢、心不全の有無等の因子が加味されておらず、今後症例数を増やして再度検討するべきと考えられた。

国立療養所箱根病院 3年間の研究のまとめ

班 員：理学診療科 荒巻晴道、
協力者：神経内科 土屋一郎、伊籐博明、横山照夫、
石原傳幸

平成10年と11年度は春原経彦が班員で平成12年度後半より荒巻が班員として交代した。当院の特徴として強直性筋ジストロフィー患者の入院が多いことから、この疾患の研究を主に行ってきた。

平成11年度は女性化乳房を伴った症例の性ホルモン値、及び酸素吸入療法について報告した。後者の報告では0.51の経鼻カニューレからの吸入ならば炭酸ガス蓄積を来さないことを報告した、この結果は今後の病棟での日常治療に参考になる成果である。

平成12年度は人工呼吸器治療中の顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの自発呼吸について検討した。呼吸器離脱後に呼吸困難となる時期の血液ガスに異常が無いことから他の要因で呼吸困難になるのであろうと推察した。また強直性筋ジストロフィー患者の骨代謝を検討して骨吸収が亢進していると結論した。

平成13年度は強直性筋ジストロフィーにおける後縦靭帯骨化症を検討し脊髄損傷を引き起こしやすいことに注意を喚起した。本症の入院患者数は今後増加することは確実に大切な研究であると確信している。

以上のような研究で3年間が経過してしまっただが、今後も強直性筋ジストロフィーの内分泌異常や呼吸不全についての研究を行ってゆきたい。

筋強直性ジストロフィー症における心機能・呼吸筋に関する研究

班 員 箭原 修

国立療養所道北病院 神経内科

共同研究者 澤田 潤、榎本 (中谷) 雪

榎本博之、木村 隆、橋本和季

国立療養所道北病院 神経内科

牧田圭弘

国立療養所名寄病院

1.筋強直性ジストロフィーにおける核医学による心機能評価

緒 言

筋強直性ジストロフィーにおける心合併症としては房室伝導ブロックをはじめとする刺激伝導系の異常が以前より注目されている。一方、剖検心筋の病理学的検討では種々の心筋変性所見が刺激伝導系以外にも認められることが指摘されており、刺激伝導系異常以外の心筋症としての心合併症の評価も生命予後を検討する上で必要と思われる。そこで今回我々は、比較的軽侵襲の検査法である、心筋シンチグラフィを用い、心機能について検討した。

対象と方法

当院入院中の筋強直性ジストロフィー患者23名を対象とし、患者本人又は家族に検査について説明し、同意を得た上で行った。経胸壁心超音波検査、胸部線写真、12誘導心電図、Holter心電図及び、血中BNP (brain natriuretic peptide) 及びANP (atrial natriuretic peptide)を測定し、心不全及び不整脈について評価した。

心筋シンチグラフィとしては、SPECTを用いて5つのSegment(心尖部、前壁、後壁、中隔、外側)にわけ、各々のSegmentでの集積異常を4段階評価のDefect Scoreを用いて、評価した。また、核種は99mTc-MIBI(血流シンチグラフィ)、123I-BMIPP(脂肪酸代謝シンチグラフィ)、123 L-MIBG(交感神経機能シンチグラフィ)を使用した。

結 果

臨床徴候及び心筋シンチグラフィ以外の諸検査で心不全徴候を認めない症例においても、CTGリピート数が2000を越える群では何れの核種においても部分的な集積低下を認めた。また、血流シンチグラフィと

されている99m Tc-MIBIで明らかな集積低下を認めるにもかかわらず、123I-BMIPP、123I-MIBGで集積異常を認めない症例が20例中2例にあった。

考 察

CTGリピート数に相関する何らかの心筋変性所見が心筋シンチグラフィによって評価されうると考えられた。また、従来血流シンチとされている99m Tc-MIBIは、変性心筋においては血流に依存しない、何らかの心筋の変性を評価しうる可能性が示唆された。

結 論

筋強直性ジストロフィー患者の心筋変性の評価法として心筋シンチグラフィは有用と考えられ、心筋変性の病理学的所見と心筋シンチグラフィの所見との対応付けが、今後必要と考えられた。

文 献

- 1) Kumita S, et al. : Evaluation of left ventricular function using gated planar myocardial imaging with Tc-99m-MIBI. Nucl.Med.28:591-7,1991
- 2) Imai K, et al. : Property of electrocardiogram gated single photon emission tomography by Tc-99m-methoxy isobutyl isonitril. Nucl. Med. 29: 695-9,1992
- 3) 大槻克一：99m Tc-MIBI心筋シンチグラフィによる心筋還流および壁運動の同時評価。映像情報：24、89-94、1992

2.筋強直性ジストロフィーにおける横隔膜の呼吸運動について

緒 言

筋強直性ジストロフィー患者(MyD)で呼吸筋の評価をする方法としては生理学的検査のスパイロや動脈血ガス分析などが用いられている。呼吸筋の筋力の画像的な評価方法としては胸部単純X線写真上から検討であった。呼吸筋(横隔膜や肋間筋)の動きから胸郭の評価を判定することは、呼吸機能との関連だけでなく病状の進行や予後を知る上で重要と思われる。しかしながら、今まではこれについての検討は非常に少ない。さらに、呼吸筋の筋力の低下が認められた時に、どのような呼吸運動をするのか大変興味ある。今回我々は、連続撮影法で横隔膜運動と胸郭運動を動的に解析し、呼吸機能検査・血液ガスの結果も含めて検討し評価し、一側横隔膜神経麻痺の患者とMyD患者との横隔膜の動きを比較検討し、そこからDMにおける横隔膜の筋力低下について検討した。

対象・方法

対象は当院に入院しているMyD 10例、成人対照(control)7例である。さらに一側性横隔膜神経麻痺患者4人(特発性3人、post op(MG)1人)である。

方法は血管造影に使用されているDSA装置(GE社製 Advantx-E-LCX)を用いて最大吸気・呼気動作を臥位・坐位に分けて連続撮影し、画像をコンピュータに取り込み解析した。呼吸運動は正面像・側面像でそれぞれ連続3回の吸気・呼気動作を行わせた。これらの画像から最大呼気と最大吸気における横隔膜をトレースし、基準点を決めてそれを基準にして重ねあわせた。また、横隔膜の形状の相似性については、吸気と呼気の横隔膜のトレースを重ねあわせ、検討した。

結 果

血管撮影で得られた対照とMyD群における胸郭と横隔膜の側面画像である。対照では吸気と呼気での横隔膜の動きでは形状が違っている。一方MyD群ではその形状には呼吸運動で違いは目立たない。

横隔膜の形状について、正面像と側面像から呼吸運動における相似性について、検討した。対照群との比較でMyD群では側面像や正面像ともに形状の変化がなく、呼気でも吸気でも上に凸の形状が示された。一方対照群では呼気と吸気での違いが明らかであり、横隔膜に十分な運動力があり、筋力があると思われた。

MyDにおける横隔膜筋力の低下が示唆されたので、一側横隔膜神経麻痺の患者における横隔膜の呼吸運動における形状について検討を行った。

一側性横隔膜神経麻痺では麻痺側の横隔膜の呼吸運動は呼気と吸気ではほとんど形状を変えないで、上に凸の形状を示していた。これらの所見は一側性横隔膜神経麻痺の全症例で認めた。

考 案

連続撮影法を用いた方法では、胸郭・横隔膜運動を観察すると横隔膜運動が見られるうえに、側面像では胸郭の前後の運動が維持されている。

一般的に横隔膜は呼吸運動では吸位では平坦で呼位では上方に凸の形状を示す。今回の検討ではMyD群の横隔膜は横隔膜神経麻痺と同じ動きを示した。

横隔膜の形状が最大吸位でも下方に凸にならないので、最大呼位と最大吸位における横隔膜の形状がほぼ同じに示したことは、横隔膜の筋力低下を示すものである。しかし石原らはMyDの横隔膜の剖検でALSやDMD(Duchenne dystrophy)のそれと比較して横隔膜や呼吸筋が保たれていると報告しているが、病状のレベルや腹筋等の比較検討が必要である。

呼吸運動についてMyD患者が検査の目的を充分理解して上で、努力をしたかどうかの問題になるが、検査前に最大吸位と最大呼位の呼吸運動を行い、血管造影

撮影時も数回の呼吸運動から適した画像を検討に用いた。呼吸運動は努力しているものと判断した。

これはMyDの横隔膜は筋力が低下を示すものと思われる。この原因として横隔膜自体の筋萎縮が強いのか、それとも神経原性によって筋力低下が生じたのが問題となるが今後のさらなる検討が必要である。呼吸機能の肺活量に関わる横隔膜の関与である。横隔膜は呼気では弛緩し、吸気では活動する。吸気における胸郭の動きでは、まず前胸郭が前方に移動始め、その後横隔膜が下方に移動しながら活動する。しかし、スパイロやpeak flow curveではおもに呼気の運動に関与したものであり、横隔膜の機能をこれらの検査から直接判定するのは現状では難しいと思われる。

結 論

筋強直性ジストロフィー症において横隔膜は病状と関連なく、筋力低下を示す。この原因として、神経性に由来するものか、筋自体の萎縮によるかは現段階では明らかにできない。血管造影装置を用いた呼吸筋の評価は有用である。

文 献

- 1) 箭原 修ら：筋緊張性ジストロフィーの呼吸機能と動脈血ガスについて、神経内科、24：287、1986
- 2) 石原傳幸ら：筋強直性ジストロフィー症の呼吸筋病理。医療49(増刊号3)：765.
- 3) 橋本和季ら：筋強直性ジストロフィー症の横隔膜誘発電位と呼吸機能について。平成8年度厚生省精神・神経疾患研究委託費による研究報告書、1997、p246
- 4) William A. Whitelaw：Topography of the diaphragm. In the Thrax, ed by Charis Roussors. New York, Marcek Dekker, Inc. 1995, p590

筋ジストロフィーの遺伝相談及び病態に基づく 治療法の開発に関する研究 — 3年間のまとめ—

分担研究者 石川幸辰

国立療養所八雲病院小児科

はじめに

当研究班における私共のプロジェクト研究は、「Duchenne筋ジストロフィーの迅速な遺伝子変異解析法及び遺伝相談を含む包括医療システム」である。過去3年間の演題数は、遺伝子診断・出生前診断(3)、心肺不全(3)、疫学・データベース(2)の計6題であり、遺伝子診断、心不全の病態を中心に研究を行った。

【遺伝子診断・出生前診断】

Duchenne型筋ジストロフィー(以下、DMD)におけるジストロフィン遺伝子変異は、本邦では40~50%に欠失、5~10%に重複によることが確認されている。残り30~45%が点変異、微小変異と考えられる。しかし、ジストロフィン遺伝子は、ゲノムDNAで2.5Mb、cDNAで14kb、79個のexonより成る巨大遺伝子であるため、点変異、微小変異の同定は容易ではない。私共は、平成7年度より、DMDの点変異に多く認められるpremature translational terminationをin vitro transcription、in vitro translationにより効率的に検出可能なnon-radioactive Protein Truncation Test (PTT)を試みてきた。しかし、実際にDMD十数症例の解析を試みたが変異を確定できたのは、5症例に過ぎなかった。この原因として、末梢血リンパ球よりdystrophin cDNAをRT-nested-PCRにて合成したが、DMD症例では正常対照と比べ、mRNA発現が著減しているため(nonsense-mediated mRNA decay)、non-radioactive PTTに十分量のcDNA(0.5-1.0 μ g)を得ることが出来なかった。私共は、煩雑なelectrophoresis、Western blottingを簡略にするため、全自動電気泳動システムPhastSystem™、PhastTransfer™(Pharmacia)を導入し、少量のcDNAでも解析可能なRT-nested-PCR /PTT条件の再検討を行なった。末梢血リンパ球で発現するexon X(exon 1-2)を避けるために新しいprimer 1-Cx(nt-296-315)を設定した。1~5CFのサイズは、2.1~2.5 kb、推定される蛋白の分子量は82~93KDaであり、SDS-PAGEゲルの上端で明瞭に確認された。このため、このbandのシフトが認められると、そのexon領域でのpremature terminationを示すことになる。RT-nested-PCRは、cDNA合成条件の再検討により感度が向上したが、場合により、従来の1-5CD/EFのprimer setで

3rd PCRを行なうことも可能である(平成12年度)。

1989年、Mendellらは、少量のステロイド投与がDMDの運動機能低下を一過性ではあるが軽減すると報告し、以後、少量ステロイド投与の有効性が報告されている。私共は、生検筋に代わりDMDの遺伝子解析に充分量の培養筋管細胞を得ることと、さらに、DMDに対するステロイドの分子レベルでの作用機序を探る目的で、ヒト正常およびDMD由来培養筋細胞におけるジストロフィンmRNA発現に対するメチルプレドニゾロンの効果について検討した。Dystrophin/ β -Glucuronidase比で表した相対的なジストロフィンmRNA発現は、メチルプレドニゾロン添加すると、無添加と比較し正常筋では1.6~4.8倍にエンハンスされた。この結果は、過去に報告されたメチルプレドニゾロンによるジストロフィン蛋白レベルでのエンハンス効果が、分子レベルでは、メチルプレドニゾロンにより選択的にジストロフィンmRNA発現がエンハンスされたことによることが証明された。DMD筋では、正常コントロールで認められるメチルプレドニゾロンのエンハンス効果は認められず、逆に、抑制されていた。DMD筋でのDystrophin mRNA相対量は、正常筋と比較して3.7~18%と減少しており、メチルプレドニゾロン添加の方でコントロールのエンハンス効果のためその減少が著しかった(3.7~4.3%)。今回の結果は、最近、報告されている少量のステロイド投与がDMDの運動機能低下を軽減するという臨床的効果の機序として、ジストロフィンmRNAのエンハンス効果は関与していないことを示唆する。但し、BMDでは、メチルプレドニゾロン添加により選択的にジストロフィン蛋白の発現がエンハンスされるとした報告より、生検筋で残存するreading-frameの復元された” revertant fibers”(ジストロフィン陽性線維)に対してはこのエンハンス効果が作用する可能性がある(平成11年度)。

筋分化制御因子であるMyoDを非筋細胞である線維芽細胞など中胚葉系細胞に遺伝子導入することにより筋芽細胞へ分化誘導することが可能になった。私共は、市販で入手可能なレトロウイルス(pFB-Neo Retroviral Vector)を用い、分化誘導を試みた。ベクターにマウス由来MyoD cDNA(熊本大学医学部発達小児科 藤井績先生より御恵与)を挿入し、組み換えベクターを作成後、Competent Cell JM109(Promega)に導入した。組み換えベクターとポリカチオンであるLipofectAMINE (BRL)を混合し複合体を作成し、この複合体を細胞の食作用によりパッケージング細胞 μ 2(同種指向性)に導入し、さらに、一過性に産生されたウイルスをパッケージング細胞PA317(両種指向性)に感染させた。ポリブレン加培養、数日後、薬剤(G418)による選別を行い出現した耐性コロニーを培養した。ウイルス力価の高いものを正常ヒト線維芽細胞に感染させMyoD遺伝子

の導入を行った。組み換え細胞において細胞融合が認められ、免疫染色によりジストロフィン蛋白の発現が確認できた。これらの手法により、筋生検が入手又は施行不能な年長症例に対して、RNAを分析の出発材料にする遺伝子解析を可能にするほか、抽出蛋白の生化学的分析も可能なため、遺伝子変異の不明なDMD症例での直接的な出生前診断にも応用可能である(平成13年度)。

【臨床病態/心肺不全】

DMDでは10歳代から高率に拡張型心筋症様の心病変を合併し、時に重篤となるため早期からの経過観察が必要である。拡張型心筋症(以下、DCM)では慢性に収縮異常が起こるのが一般的である。我々はDMDでは心エコー図検査(以下、UCG)を必須の検査としているが、DCMと比較して局所の壁運動異常をより強く認める例を経験してきた。DCMでも時に局所において高度の収縮異常が出現する場合があるが、DMDではその出現頻度や程度はDCMより著しいようである。DMDでは後下壁の壁異常運動を示す例が多く認められた。特に左室長軸像で認められる左室後壁のこぶ様の突出はDCMでは認め難く、本症における心病変の特徴の一つと思われた。今後、UCGのカラーキネシス、心臓核医学検査等も含めた壁運動の客観的評価法を考慮する必要があると思われた。

DMDにおける心筋障害の経過を4年間にわたり観察している1例(14歳。ジストロフィン遺伝子点変異 del 6132A)を報告した。本例は未だ明らかな心不全症状を呈していないが初診時より心機能は低下しており、この1年間で急速に心機能障害が進行した。本例では心筋障害の鋭敏な指標と言われるヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド(以下BNP)のわずかな上昇に着目して治療を開始した。治療はQOLの維持に有効であったと思われるが心筋障害は進行した。本症におけるBNPの意義については十分に検討されていないが、本症のような心不全のハイリスク群では症状の出現以前からわずかではあってもBNPの値に変動がみられる可能性がある。本症においてはかなり早期から心筋障害を予測して経過を観察し、その進行を予防する治療の早期開始が必要であると痛感させられた一例と思われた(平成12年度)。以上の経験から、DMD患者について血漿BNP濃度とUCGによる心機能指標の関係につき検討した。血漿BNP濃度は左室収縮能の低下につれて上昇することが知られている。今回の検討ではBNPはLVEF及び%FSがかなり低下してから急速に上昇する傾向がみられた。DMDでは心筋障害が進行してからBNPが上昇する可能性があり、本症においてはBNPは心筋障害の指標として不十分な面もありうると思われた。心不全患者では運動負荷によりBNPが上昇することが知られ

ている。本症では骨格筋障害のため車椅子を使用しており、心負荷が軽減している事もBNPの上昇の遅延に関係する可能性があると思われる(平成13年度)。

【疫学・データベース】

私共は、平成4年度、8年度、12年度と、4年おきに北海道におけるDMDの疫学調査を行ない、過去8年間の推移について比較検討した。平成4年(調査数 12施設)、8年(調査数 14施設)、12年度(調査数 22施設)の推移は、生存確認DMD患者は、131名、153名、169名、有病率は、2.73、3.11、3.33と明らかに増加の傾向を示した。一方、発生率は、18.18、19.60、19.64と平成4年度では低かったが、平成8、12年度はほぼ同率であり、調査範囲の誤差と思われ、発生率の減少傾向は認められなかった。入院/外来および他施設の平均年齢は、平成4年度19.5/11.0歳、8年度21.8/12.3歳、12年度24.4/14.0歳と入院、外来および他施設とも高齢化が認められ、人工呼吸器装着率も入院/外来で、平成4年度33.8/1.8%、8年度53.7/6.8%、12年度63.1/11.8%と顕著に増加してきている。八雲外来と他施設の平均年齢は、14.1、14.0歳と差を認めなかった。過去8年間の推移を見ると、発生率は、19.6と一定の傾向を示した。一方、有病率は、人工呼吸器装着率の上昇から見てわかるように、DMDでのケアの進歩により、着実に上昇しており、長期生存の傾向が伺えた。入院では、ほぼ病棟の6割が人工呼吸器を装着しており、8年前と比べ倍増している。外来、他施設での人工呼吸器装着率はまだ低いが、今後、10年以内に倍増するものと予想され、当院を中心とした連携が必要となると予想される。

各個研究

大澤真木子

東京女子医科大学小児科

1) 福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)

A 眼病変：網膜病変の有無を明確にすることが、Walker-Warburg症候群、Muscle - Eye -Brain diseaseとの重要。14週胎児～14歳のFCMD児の網膜病変の免疫組織化学的解析・病理学的検討を1999年度、2000年度に報告した。FCMDの創始者染色体とexon3の突然変異を持つ乳児例では小眼球を呈し、特にその異常が強かったこと、また、歩行が一過性に可能であり、創始者染色体のホモ接合体で臨床的に近視以外は異常なかった14歳死亡例でも、病理的には網膜剥離を認めたことは、世界で初めての知見である。

B 心機能：心機能については、殆ど明らかにされてこなかったが、27例、延べ35回(6ヶ月～30.5歳)の心エコーMモードの結果を、創始者染色体のホモ、ヘテロ各13例で検討した。左室収縮率(LVSF)と左室平均円周短縮速度-収縮末期壁応力、左室拡張末期径と左室後壁厚を計測した。心筋収縮性の低下例が多く、形態異常は少なかった。加齢に伴いLVSFは低下し、年長児でその頻度は高かったが、臨床的重症度とLVSF低下に相関はなかった。左室拡大や肥大を認める頻度は少なかった。FCMDの運動障害は幅があるが、心機能低下は運動障害の重症度とは一致せず、加齢に伴い出現する。年長FCMD児の管理上、心エコー検査は有用である。このように多数例の報告は過去にない。

C ウイルス感染に伴う急性筋融解症：感染症後に一過性の筋力低下を呈し、時に呼吸器管理を要することを報告し、過去の幼少時急死例との関係も推測してきた。2001年には、同エピソードを呈したFCMD30例で、ステロイド投与群と非投与群の比較を中心に、治療効果を検討した。

発症前後の運動機能レベル、血清CK値の変化、ミオグロビン尿の有無、原因ウイルスを検討した。ステロイド投与の効果、運動機能回復に要した期間およびCKの低下率で比較した。また急性期と回復期で血清を採取しえた例と血清CK上昇を伴わないウイルス感染例の発熱時血清を対照にIK-6を測定した。ウイルス感染による発症例は、エンテロウイルス属、特にコクサッキーウイルスの関与が多かった。ステロイドは、運動機能回復に要する期間ではその有用性は明確でなかったが、血清CK値を急速に低下させる効果があった。ミオグロビン尿による腎不全、筋力低下による呼吸不

全を予防する手段としてステロイドは有用な可能性がある。血清サイトカインの関与は不明であった。

2) 病態と治療法

A 画像診断：1999年、Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)で下腿痛時に筋MRIで病変を確認し、その有用性を報告した。6歳3ヶ月児で、数日前より鼻汁を認めていたが、突然、右下腿後部痛出現し、歩行不可能となり入院。同部に発赤はなく、熱感、腫脹、自発痛、把握痛を認めた。下腿最大周囲径も左右差があった。関節可動域制限はなく、深部腱反射正常。発熱はなく、同疼痛は第2病日には軽減、歩行可能となった。血液生化学でCK 95100 IU/Iと上昇。CRPは陰性。尿中ミオグロビンは高値だが腎機能正常であった。インフルエンザ、コクサッキー、EBウイルスの抗体価の変化は、有意ではなかった。第2、第20病日のMRIで、両側ヒラメ筋部分が、第2病日のT1強調画像で低信号、T2強調の脂肪抑制像で高信号を呈し、浮腫が示唆された。第20病日では、所見はほぼ消失し、同浮腫が一過性であったことを確認した。また、信号強度の変化はヒラメ筋に限局していた。脂肪抑制画像で、水は高信号、脂肪は低信号を呈するので、浮腫と脂肪化を区別可能であるが本例でも同画像併用により、病変をより明瞭に同定できた。急性期の非侵襲的な検査方法として、有用と思われた。血清中のサイトカインIL-6、TNF- α 、可溶性IL-2受容体値には有意な変動はなかった。DMDの幼少期、Becker型PMDの学童期において、筋痛を訴えることは多い。全身状態良好でも、高度の筋崩壊を起こしている可能性もあり、その際には、腎合併症予防目的で輸血液治療も考慮する。

B 合併症/偶発症：a 静脈血栓症：筋ジストロフィー(PMD)では筋崩壊に関連し、凝固線溶系の異常が存在している。1999年、右大腿静脈血栓症を合併した顔面肩甲上腕型PMD(FSHD)の27歳例を報告した。10年前より車椅子使用開始し、通常右側臥位の姿勢をとっていた。1998年11月右鼠径部の疼痛、紫斑が出現し、徐々に拡大した。第11病日右下肢全体の腫脹に気付き入院。強度の腰椎前弯、顔面、上肢帯、上腕に強い筋萎縮を認めた。右大腿部で、紫斑は、大腿の背側～内側に広範に認められ、外陰周辺にも及び熱感、圧痛を伴っていた。早期第一尿での比重は正常範囲内であった。エコー、CT 上患側に血栓を認め静脈造影上、右外腸骨静脈下流から右大腿静脈付近に圧排像を認め、同部に側副血行路を認めた。ウロキナーゼ、ヘパリンを入院時に開始し、第18病日より慢性期治療として、ワーファリンの内服に変更。症状は入院後約10日で消失し、炎症所見も入院後直ちに改善。退院後もワーファリンの内服を継続し、半年後画像上血栓は消失。普段から一日の排尿回数は少なく、日常的に軽度脱水傾

向があると考えられた。第11病日のトロンボテスト、HPT、フィブリノーゲン、D-dimerのみ軽度の異常値が認められ、ATIII、FDP、TATなどは正常範囲であった。第28病日のプロテインC、プロテインSの減少、ループスアンチコアグラント上昇は4ヶ月後には、ほぼ正常値でとなった。約10年間の車椅子生活に加え、腰椎前彎、股関節拘縮が血流のうっ滞に関連していた。一般に下肢の深部静脈血栓症は、左側に多いが、この例では、右側の股関節拘縮がより強く、右下にする姿勢が多かった為、右側に生じたと考えた。長期臥床、血流うっ滞が起りやすい病態では、血栓症に注意を要する。

b.高calprotectin血症に伴う家族性高亜鉛血症の合併により血中CK値の著明な変動をきたしたDMD:リウマチ性炎症性疾患において血中CK値が正常対照に比べ低値との報告、またBecker型PMDで関節炎の経過中にCK値が一過性に正常化したとの報告があり、全身性炎症によるCK値低下の機転が存在する可能性がある。若年性関節リウマチの家族歴を有する14歳DMD児。精神運動発達遅滞・低緊張・貧血・肝脾腫にて発症。血中CK(806IU/l)、CRP高値、赤沈亢進、リウマチ因子陽性。筋生検上筋線維の大小不同・壊死/再生線維を認めた。1085 μ g/dl(正常65-110)の高亜鉛血症を発見。母も高値。血中亜鉛の大部分はアルブミン分画より高分子の分画に存在し、ELISA法により、血漿calprotectin高値が判明。calprotectinはS100蛋白に分類される多機能蛋白で、抗細菌作用・炎症修飾作用を有し、感染症・膠原病などの炎症性疾患で上昇する。本母子例により、遺伝性のcalprotectin代謝障害が存在し、リウマチ症状を呈することが確立された。同疾患がDMDに合併したと推測され、乳児期の低緊張や血中CK値の変動はその修飾によると思われる。全身性炎症によるdystrophinopathyにおけるCK値低下の機序は不明で、calprotectinの関与も未知であるが、筋細胞膜への直接作用による安定化・utrophinの発現亢進・筋組織中リンパ球への抑制作用などが推測された。

C 骨代謝：不動による骨粗鬆症に対し、活性型vitamin D3[1 α (OH)D3]が用いられてきたが効果は不十分であった。2000年度、vitamin K2の骨粗鬆症に対する効果をみるため、主にDMDの骨代謝を、活性型1 α (OH)D3単剤投与群と1 α (OH)D3とK2併用投与群で比較検討した。患者は9~19歳、運動機能は座位保持可能で車椅子移動~支持歩行の範囲であった。併用薬剤としてprednisoloneが10~20mg/日であった。検査期間は4~7ヶ月。DIP法による骨塩量測定：m-BMD(平均骨密度)とMCI(骨皮質幅指数)の測定とインタクト副甲状腺ホルモン、インタクトオステオカルシン、骨型APL(BAP)、1 α 、25(OH)2D3を測定した。結果は、1 α (OH)D3とK2併用投与が骨塩量の改善に望ましい

と考えられた。

D プレドニン治療：プレドニン投与により運動機能に短期効果がみられることを報告してきた。

1999年には、これらの例の機能障害度の2-3年の推移を報告した。プレドニンは機能低下が顕在化した時に開始した。対象は投与開始時歩行可能13例、不能、3例であった。開始時年齢は7~15歳、投与量は0.32-1.01mg/kgの隔日投与で、投与期間は予防接種などによる一時中止期間を除き11ヶ月~3年11ヶ月である。投与量と運動機能喪失年齢の関係では、正の相関はなく、投与量が多いほど進展過程を遅らせるとは言えなかった。四つ這い不能期間開始例では、寝返り時間の短縮、一過性起坐可能な効果が得られ、座位保持可能期開始例では座位保持安定などの残存筋への効果と思われる改善が見られた。重篤な副作用はなく、体重増加、コレステロール上昇、多毛を認めた。自然経過での平均歩行喪失年齢は、10.5歳、投与例では11.2歳であり、海外に比し少ない投与量でも歩行可能期間の延長が得られた。歩行可能期間という目的では下肢機能低下が進んでいない時期に開始するのが良い。しかし機能障害度進行例でも、残存筋に対する効果が得られており、他に治療法がない本症では、プレドニンを試みる価値はあると思われた。今後0.75mg/kg10日間投与、その後10日間無投薬のプロトコールの検討など、体重増加などの副作用を軽減し、至適投与量、投与方法の再検討が課題となる。

E 在宅患者における鼻マスク式呼吸器(NIPPV)の有用性：2000年度に報告した。NIPPV導入により、思春期の神経筋疾患児も在宅で人工呼吸療法可能となり、活動性が改善した。導入例の病型や、使用状況、実際の導入方法、問題点を報告した。DMDでは14~20歳で、FCMDでは16~31歳で導入した。夜間のみ装着が多く、導入例の半数では、大学院生、大学生など高い社会性を維持していた。%VCが25%以下でも、EtCO2が60mmHg以下のDMDでは、導入困難であった。副作用は鼻根部潰瘍や圧損傷による気胸で、今後の対策の検討を要する。

筋ジストロフィー第三班： (1999～2001) 3年間のまとめ

三池 輝久 熊本大学医学部小児発達学講座

「はじめに」

筋ジストロフィー研究の最終的な目的はその治療法の確立にある。私たちは臨床的な治療法、および根治療法としての遺伝子治療に向けての研究を心がけてきた。この目的の達成のためにはジストロフィン機能を解明しDMDにおける筋崩壊の機構を明らかにする必要がある。この事が明らかにされない限りは臨床的治療は勿論遺伝子治療の標的が定まらないことになる。私たちはこの十数年、dyが刺激電動に関わる機能を持ったタンパク質であると考えてきた。そしてその欠失により最も強く機能が障害される組織は厚い平滑筋層を持つ小・中動脈であると考えてきた。従って遺伝子治療によりdyを必要とする組織は骨格筋組織ではなく全身の平滑筋組織である可能性が高いと考えてきた。遺伝子治療の標的が定まらないと言うのはこの事による。そこで私たちは二つの研究を平行させて行ってきた。一つはd yの機能解明に対する研究、もう一つは遺伝子治療の方法の開発である。

「遺伝子治療法に向けて」

遺伝子治療を実用化するにはまだ多くの基礎技術のいかはつが要求されている。その克服すべき問題点の一つとして、現時点に置いては遺伝子治療の臨床試験で使われている遺伝子導入法には組織特異性が無いことが上げられている。将来的には遺伝子導入はin vivo投入が主流になると考えられている。しかし導入法に組織特異性がなければ治療を必要とする標的細胞以外の細胞群にも遺伝子が導入されることになり標的細胞そのものへの遺伝子導入効率が低くなりまた生殖細胞への導入も起こりうることから倫理的な問題も出現する可能性がある。そこで私たちは二種類のウイルスベクターを組み合わせ二段階遺伝子導入法による細胞ターゲティング法を確立しヒト筋芽細胞に対して特異的に目的遺伝子を導入する事を試みた。本法は本来、細菌類にしか感染性を持たないとされているEcotropicレトロウイルスの宿主域をもとにしたストラテジーである。まず、標的細胞である培養ヒト筋芽細胞に特異的にEcotropicレトロウイルスも受容体を発現させる組み換えアデノウイルスベクターを作製した。このベクターを培養ヒト筋芽細胞に導入するとEcotropicレトロ

イルスの受容体が導入細胞膜上に発現する事が確認された。受容体が発現したヒト筋芽細胞に対して、 β -galactosidase(β -gal)遺伝子をレポーター遺伝子として組み込んだEcotropicレトロウイルスベクターを導入すると β -gal遺伝子は高率に導入され、 β -gal蛋白の発現が確認された。一方、コントロールの培養ヒト線維芽細胞には同様の方法で β -gal遺伝子を導入することはできなかった。ウサギはヒト同様Ecotropicレトロウイルスの受容体を発現していないため、in vivoにおける二段階遺伝子導入法を試みたところ、幼弱な再生筋に遺伝子が導入されることが分かった。レトロウイルスベクターは導入遺伝子を標的細胞の染色体内に挿入するため、筋組織の幹細胞である筋芽細胞における恒常的な発現が期待できる。この二段階遺伝子導入法にはまだいくつかの解決すべき問題点があるが今後臨床的応用が期待できると考えられる。

「d y機能解明について」

ジストロフィン(dy)が発見されて既に15年になろうとしているがその生理機能は依然として明確にされていない。

私たちはこの十数年、基盤のない臆説の危うさを主張し、血管を中心とした平滑筋機能不全が循環不全をもたらし結果的に虚血的グループ筋崩壊を引き起こすと考えてきた。

ようやく近年にいたり、全身の血管機能へも目が向けられ始め平滑筋に存在するdyの意義が注目されるに至っている。そこで私たちは平滑筋におけるdy機能を確認するために以下の二つの実験を考えた。即ち、全身にdyが欠損するmdxマウスの血管平滑筋にdyを発現させる事によりdyが欠損する筋組織においてその崩壊を阻止できるのではないか、あるいは正常のマウスの血管平滑筋を取り除くことによりdyを持つ筋組織にもかわらず筋崩壊を惹起しうるのではないかという二つの考えからなる。

今回はまずmdxマウスの平滑筋組織にd yを組み入れる実験を開始した。詳細は別の報告を参照して戴くことにしたい。まずmdxマウスの血管平滑筋にdyを発現させることを目的として、ヒト平滑筋 α -アクチンプロモーター(EA4.7)にヒトのdycDNA全長をつなぎ、次にSV40のPolyA signalをつないだコンストラクト(E4.7-dy-An)を構築した。次にこのコンストラクトが実際にdyを発現できるか否かをC2C12細胞(マイオブラスト)にリポフェクション法で導入し、in vitroでd y染色を行い、その発現を検討した。その後、作成したE4.7-dy-AnをC57BL/6マウスの受精卵約800個にマイクロインジェクションし、仮親マウスの子宮に戻した。生まれたマウスの尾よりDNAを抽出し、プロモーターの一部をプローブとしてサザンブロッティングを行い、E4.7-

dy-Anが個体に導入されているか否かを確認した。また、同時にプロモーター領域とdy領域にプライマーを設定しPCR法でも確認した。

E4.7-dy-AnをC2C12細胞に導入した後、dy染色をしてdyの発現を調べた結果、約20%の細胞に陽性反応を認めた。一方ネガティブコントロールであるトランスフェクションをしなかった細胞群には陽性反応を認めなかった。仮親マウスの子宮に戻した800個のマイクロインジェクションした受精卵から41匹のマウスが生まれた。内2匹は死亡、残り39匹のマウスをサザンブロット法とPCR法によるスクリーニングを行った結果、7匹のトランスジェニックマウスが生まれていることが確認された。しかし1匹が原因不明で死亡したため結局6匹のマウスを用いて今後の実験を進めることになり現在解析を進めている。

筋ジストロフィーに対する外科的治療および 凝固能亢進に対する理学療法 三年間のまとめ

岩谷 道生

国立療養所 岩木病院 整形外科

当施設において前石原班より引き継ぎ平成11から13年度までの3年間に整形外科的観点より筋ジストロフィー患者に対する外科的治療ならびに理学療法についての研究を報告した。

当施設での研究の内容は1)筋ジストロフィー患者の脊柱変形、2)Duchenne型筋ジストロフィーの下肢手術、3)下肢深部静脈血栓症予防のためのフットポンプ、の3つのテーマからなる。以下にそれぞれのまとめを示す。

1) 筋ジストロフィー患者の脊柱変形

平成11年度は「先天性筋ジストロフィーに合併した脊柱変形に対する外科的治療」につき症例を報告し、筋ジス患者の脊柱変形に対する脊椎固定術の有用性について述べた。その背景として呼吸不全と心不全の管理の進歩によって筋ジス患者の生命予後は飛躍的にのびたことがある。そのため生命予後のみならず医療の進歩に伴い筋ジス患者のQOL向上を外科的治療により提供できるようになってきた。加えて、手術治療を実現してきた要因は手術技術の進歩、麻酔の進歩、Risk managementの進歩、輸血の進歩が大きい。筋ジストロフィー患者に合併した脊柱変形に対する手術の目的は心肺機能低下の防止、坐位バランスの獲得に加え、上位胸椎の前弯の進行による気管の扁平化の防止と考えている。十分な検討とinformed consentの元に、必要と思われる患者に対して適切な時期に、適切な方法で手術治療の恩恵が与えられるような配慮を要すると思われる。

平成12と13年度は班員の協力を得て多施設のDuchenne型筋ジストロフィー患者の脊柱変形の横断的、縦断的調査を行い報告した。調査項目は、坐位と臥位でのX線評価、ADL評価、肺活量、脊柱変形による問題点などである。

平成12年度の内容を要約すると、1)13歳以上で歩行不能となるとその半数に30°以上の側弯が生じること、2)脊柱の変形は必ずしも全例に起こるのではなく変形の強弱やパターンの違いが生ずること、3)高度変形となると肺活量の低下が起こる傾向があること、4)気道の閉塞を起こし得るほどの変形は比較的まれであること、5)骨盤傾斜角と脊柱変形に伴う訴えが関係があり、

その改善が脊柱変形の治療目的となることであった。

平成13年度は経年的に同一疾患を観察すること、横断的調査の症例数をふやすことを目標に同様の調査を行った。前年度とほぼ同じ結果となったが、わずか1年間に急激な進行を認めた例があり、急激に進行する時期を認識する事の重要性が明らかとなった。進行が予想されるのは、起立不可能となった頃に一致しており、この時期に類回な検査と治療の検討することが望ましいと考えられた。

前年度と違う結果となったのは骨盤傾斜角と側弯に伴う訴えの間に相関はなく、昨年と違う結果となったこと、側弯と肺活量の問題については、筋力低下を伴っている、また、基準となる身長や基準肺活量の算定が困難である点から除外されたことである。

新たに坐位矢状面の形態に注目し、分類し、進行の予測に使えるかどうか、検討した。脊椎の変形を正常、腰椎の後弯、胸腰椎前弯の3タイプに分け検討した。3タイプとコブ角の間には関係がなかったが、機能障害度との関係を見ると、腰椎後弯型では7でとどまっている場合が多く、この型は姿勢は悪いが坐位をとるに当たって機能的な変形なのかもしれないことが示唆された。胸腰椎前弯型では坐位をとれない、脊椎の可動性が失われ、また二次的に気管の変形も著明となることから、このタイプを手術などにより防止することが臨床的には重要ではないかと思われた。

いずれにせよ、脊柱変形を従来通りに冠状面のみで評価するCobb法ではADLでの困難を表すには不十分であり、矢状面の後弯変形を含めた三次元的な評価法が必要であると考えられる。

2年続けての調査から問題点としては、施設間の調査方法の格差や筋ジス患者と整形外科医との関わりの薄さがあげられた。

今後、さらに経年的に同一疾患を観察すること、横断的調査の症例数をふやすことにより得られる情報は筋ジス患者の脊柱変形に対する管理法を確立するにあたり重要なものになると考えられる。

2) Duchenne型筋ジストロフィーの下肢手術

平成10年度にDuchenne型筋ジストロフィー(以下DMD)患者の歩行能力維持と拘縮の改善を目的に、Rideauが報告している腸脛靭帯(以下ITB)切除を中心にした下肢手術を本邦では最初に行い報告した。

この3年間で平成11年度から13年度まで3年にわたり前回の報告の経過報告ならびに追加症例、術式の工夫などにつき報告してきた。平成13年度の最終報告では症例はDMD男児8例となった。手術時年齢は5歳11か月から8歳3か月で、術後経過観察期間は4ヶ月から4年である。術前の機能障害度(厚生省の筋ジストロフィー研究班)はstage Iが2例、stage IIが2例、stage IVが

4例であった。

手術は全身麻酔下で行い、Hip flexion contracture releaseとして上前腸骨棘に皮切を加え、大腿筋膜張筋、縫工筋の起始部の切離を、Lateral thigh contracture releaseとしてITBと筋間中隔の切除を行った。最近の4例では皮切を2つに分けて皮下にトンネルを作成し同様の処置を行い、美容上目立たなくなった。後療法はギプス固定や特別な装具を使わず、翌日から全荷重での立位訓練、2日目から歩行訓練を開始した。全例、術直後の stageの悪化は認めなかった。術後に立位不能となった3例の年齢は9歳10ヶ月から11歳2ヶ月であった。短期的に運動機能の改善が認められた症例もあった。

本法は Rideauが報告して以来欧州では長期の報告もなされている。わが国ではStage IVからstage Vへの移行期間が平均8カ月であるが、術後2年以上stage IVを維持していた症例も2例あり、hoppingや走ることが可能となるなど運動機能が短期間にせよ改善された症例もあることから下肢機能の維持には有効と考えている。

適応を選べば今のところほぼ全例に何らかの機能の改善が認められたことからこの手術は有効と判断しており、今後さらに追加して報告予定としている。

3) 下肢深部静脈血栓症予防のためのフットポンプ

筋ジストロフィー患者の死因としてDuchenne 型筋ジストロフィー(DMD)患者の血栓塞栓症が注目されてきた。また筋緊張性ジストロフィー(MYD)患者においても血栓準備状態にあるという報告がある。そこで、当施設では平成13年度より整形外科領域において人工関節置換術後の深部静脈血栓症や肺塞栓症の予防法である足静脈圧迫装置(SIGMAX 社製PLEXIPULSE 以下フットポンプ)を筋ジストロフィー患者に導入した。線溶系、凝固系、循環系についてその影響を検討した。

対象は当院に入院中のDMD 6名、MYD10名であり、フットポンプ装着条件はDMD患者が隔日で2時間以上、MYD患者は連日1時間の装着とした。PT、APTT、fibrinogen、D-DimmerおよびBNPを測定した。結果として経過観察期間が4ヶ月と短期ではあるが装着により fibrinogenとTAT についてよい影響を与える可能性が示された。

下肢静脈還流の増大による心臓への影響が心配されたが、下大静脈の容積のコンプライアンスが大きいせいもあってか心機能については大きな変化は認められなかった。

今のところ装着により大きな合併症もなく、患者にも気持ちが良いと好評であり長期の観察を継続する予定であり、今後も有用性について検討し、報告の予定である。

3年間のまとめ

班 員 今野 秀彦

(国立療養所西多賀病院 臨床検査科)

共同研究者 高橋俊明、金原禎子、吉岡 勝、

斎藤 博、鴻巣 武 (同 神経内科)

松原吉宏、山崎 伸、川原 央、

石井祐信 (同 整形外科)

近藤 恵美 (同 臨床検査科)

中井博史 (同 小児科)

高瀬貞夫 (広南病院 神経内科)

埜中征哉、荒畑喜一

(国立神経・神経センター)

青木正志、水野資子、糸山泰人

(東北大学医学部 神経内科)

年度途中で班員の交代があり本年度のみのまとめとなるが、以下の3研究について報告する。(1)日本人三好遠位型筋ジストロフィーにおけるdysferlin遺伝子変異とその臨床的特徴、(2)筋強直性筋ジストロフィーにおける大脳白質病変についての組織学的検討、(3)頸部脊髄性を生じた強直性筋ジストロフィーの一例

(1)1998年三好型遠位型筋ジストロフィーで、肢帯型筋ジストロフィー2Bと共通の原因遺伝子dysferlinがクローニングされた。三好型遠位型筋ジストロフィーでは、若年発症で腓腹筋に筋委縮が目立つ点や血清CPKの高値などの臨床的特徴が知られているが、今回、これらの特徴とdysferlin遺伝子変異との関連について検討を行った。

対象・方法：対象症例は、いずれも日本人の症例で、臨床的に診断された三好型遠位型筋ジストロフィー32家系例、肢帯型筋ジストロフィー5家系例及び高CK血症2家系例。インフォームドコンセントを得た患者末梢血リンパ球からDNAを抽出し、全55個のエクソン毎にPCR法にて遺伝子を増幅しSSCP法にて遺伝子変異をスクリーニングした。検出された変異をPCR産物からの直接塩基配列決定法にて同定した。

結果：(a)三好型遠位型筋ジストロフィー24家系、肢帯型筋ジストロフィー3家系、高CK血症2家系に計19種類の患者特異的な遺伝子変異、則ち途中で終止コドンが出現するtruncating mutationを示す変異が認められた。

(b)dysferlin遺伝子異常は、外国例の報告ではC末端付

近に集中していたが、日本人においては同遺伝子全体に均等に分布していた。

(c)G1310+1A変異は4家系、C1939G変異は3家系、G3370Tは5家系、37461delG変異は5家系及び4870delT変異は3家系と、これら5種類の変異で66%を占め日本人に頻度が高いと思われた。

(d)本研究で遺伝子変異が確認された三好型遠位型筋ジストロフィーの発症年齢の平均は 22.2 ± 7.0 歳(13歳~37歳)であった。

(e)CK値は最も低い症例でも1289IU/lであり平均は 5498 ± 4188 IU/lと高値を示した。

(f)既報告例も含めた日本人dysferlinopathyの平均発症年齢は23歳であったが、G3370T変異を持つ症例では平均発症年齢は32歳と遅い。一方G3510A変異を持つ症例は平均発症年齢が13歳と早く、CK値も16155IU/lと著しい高値を示した。これらのことから、G3370T変異は軽症型、G3510A変異は重症型と関連している可能性があると考えられた。

次に肢帯型筋ジストロフィーに占めLGMD2Bの割合を調べるため無作為に肢帯型筋ジストロフィー患者のdysferlin遺伝子変異をスクリーニングした。対象は当院で臨床的に肢帯型筋ジストロフィーと診断された15家系である。方法は前述したものと同様である。5家系で患者特異的な遺伝子変異が認められた。これらLGMD2B患者の発症年齢の平均は 22.7 ± 4.6 (17-28)歳であった。最近のCK値はLGMD2B患者いずれでも正常値を上回っていた。対象となった肢帯型筋ジストロフィー患者の3分の1にdysferlin遺伝子変異がスクリーニングされたことより、肢帯型筋ジストロフィーのうちLGMD2Bの占める割合は比較的高いものと思われた。

(2)筋強直性筋ジストロフィー(MyD)における大脳白質病変の病態について検討を行った。従来、大脳皮質についての組織学的変化として、神経原線維変化や好酸性の細胞内封入体の出現などが指摘されており、一方白質の変化としては髄鞘の脱落などが知られている。しかし、髄鞘の構成細胞であるオリゴデンドログリア(ODG)病態についての報告がないことから、剖検脳で定量的に検討を行った。

対象：MyDの2例(症例1：43歳 男性 全経過30年、症例2：62歳 男性 全経過29年)を対象症例として、ALSの症例(症例3：69歳 男性)と転位性脳腫瘍の症例(症例4：69歳 男性)を対照とした。いずれも前頭葉と側頭葉の髄鞘染色で白質にMyD例に類似した淡明巣を示した例である。

方法：大脳のK.B.染色標本で前頭葉と側頭葉の白質にみられた境界不明瞭な淡明化巣について、隣接するH.E.染色標本で、これに一致する領域の小円核の数

を接眼マイクロメーターと10倍の対物レンズを用いて実測した。淡染部と正染色部とで1の範囲をそれぞれ5ヶ所を計測しその平均値で比較検討した。淡染部でのGFAP免疫染色で陽性細胞が乏しかったことから、計測された核の大部分はODGと考えた。

結果：MyD例の2例では前頭葉と側頭葉とも淡染部では正染色部に比較して、約60-70%の核の減少が認められた。症例4の側頭葉での減少(69.9%)は、腫瘍の近傍であったことによると思われる。症例3では、淡染部と正染色部とで明らかな差はなかった。更に、他の標本での観察からMyD例では、髄鞘の染色性の低下と大径軸索の減少が観察され、ALS例(症例3)では、軸索とともに髄鞘にも染色性の低下が見られた。また転位性脳腫瘍の症例(症例4)では、染色性は保たれていたが線維密度の低下が明らかであった。

考察：髄鞘染色での淡明化にも種々の病態があり、症例3 (ALS例)のような標本作成過程で生じたアーチファクトと考えられる場合や腫瘍周辺部の浮腫に伴って繊維密度の低下を来してくる場合のあることが示された。これに対し、MyDでは、髄鞘のみならず軸索にも変化が生じており、髄鞘の構成細胞であるODGにも障害がおよんでいることが確認された。一般に中枢神経組織の障害に対して反応性グリアの増加が生じるものであるが、MyDの場合軽微な変化が長期間に亘って慢性に進行していることが想定されることから、組織反応も乏しいものと考えられる。脳MRIでの白質病変は前頭葉と側頭葉に観察されることが多いことから、髄鞘の変化は軸索変性に伴った二次的なものと考えられる。しかし、軸索の変性は神経細胞の変性にも関連するものであるにもかかわらず、今回の症例のように大脳皮質の細胞構築に乱れは確認されないのが一般であり、今後は大脳皮質についても定量的な検討が必要と思われる。

(3)頸部の筋力低下が進行した筋強直性ジストロフィーに見られた頸髄症に対し、整形外科的な治療を施行し好結果を得た症例を経験した。

症例：51歳の女性。35歳時にMyDの診断を受けていたが、51歳時にはかろうじて杖歩行の状態であった。点眼しようとして頭部を後屈した時に、上肢から尺側2指への電撃痛が出現し間もなく下肢の脱力が進行し歩行器使用となった。神経内科を受信し頸髄症として整形外科に転科となった。糖尿病は指摘されていない。

神経学的所見：頸椎の後屈で上肢から尺側2指へのしびれが再現された。両側四肢遠位筋にG~Pの筋力低下を認め、深部腱反射はすべて低下していたが、バビンスキー徴候やチャドック徴候などの病的反射はいずれも陰性であった。両側前腕尺側から尺側2指にかけて痛覚

過敏が見られた。JOA score は12点満点で10(2,1,0,2,2,3)点であったが、大部分はMyDによるものと診断された。

画像所見：頸椎X線側面画像で發育性狭窄や動的狭窄、OPLL,Spurは認められなかった。脊髄造影では正面像でC6/7でincomplete blockが見られ、側面像で前方から軽度の脊髄圧迫が認められた。CTミエログラフィーではC6/7で右側優位に前方からわずかに脊髄が圧迫されていた。MRIではC6/7高位で椎間板の突出、T2強調画像で髄内に高信号領域が見られた。MRIから椎間板ヘルニアの存在を疑い椎間板造影を行った。側面像でテント上の硬膜外漏出を認め、占拠率は23%、SACは10mmであった。CTDでCTMでみられた脊髄変形の部位に造影剤の貯留を認め、椎間板ヘルニアの存在を示唆した。

手術所見：手術はC6-7前方除圧固定術を行った。明らかなPLLからのヘルニアの脱出孔やヘルニア腫瘤はなかった。術後上肢からの尺側2指のしびれ感が改善し、JOA scoreは11点(2,1,1,2,2,3)となった。神経学的な変化は軽度であったが満足度は高かった。

考察：基礎疾患であるMyDのため四肢腱反射の低下や巧障害、歩行障害があり、脊髄症の確認は困難であったが、診断に際し感覚障害が有用であった。しかし、本疾患は内分泌疾患として糖尿病を合併することが多く、糖尿病性ニューロパチーによるしびれや知覚障害を合併すると更に診断は困難になるものと考えられる。また、周術管理の問題点として筋弛緩薬使用の可否、心機能や呼吸器機能低下が見られ全身状態の観察がより一層重要であると思われる。

筋ジストロフィーの遺伝子診断・遺伝相談の実 際及び、 脊柱側弯症矯正術など合併症治療法の検討 (3)

研究分担者 中井博史

国立療養所西多賀病院小児科
(現) 国立療養所八戸病院小児科

研究協力者 山崎 伸 同 整形外科
鴻巣 武 同 神経内科
松尾雅文、笠島克己

神戸大学医学部国際交流センター

[はじめに] 筋ジストロフィーとりわけジストロフィン異常による疾患の遺伝子解析、遺伝相談法と、本疾患での合併症である脊柱側弯症に対する外科的治療について検討してきた。

課題1：遺伝子診断・遺伝相談法について

1) シーケンス検出システムによって確認されたジストロフィン・エクソン52の欠失と定量的解析の特徴

[目的] Duchenne型及びBecker型筋ジストロフィーのPCR産物の定量解析を行い、遺伝子診断のためより適切な反応条件を決定する。

[方法] 今回、患者DNAを鋳型とし、ChamberlainらおよびBeggsらのプライマーを使用。定量解析の為、シーケンス検出システムはParkin-Elmar社のプリズム7700を使用し、蛍光指示薬としてサイバー・グリーン(SYBR)を用いた。

[結果] 反応条件は1反応チューブあたりDNA20ngで、エクソン52に患者DNAと対照DNAの間にバンドの明瞭な差を認め、プライマー濃度は25mM-0.8mclが最適条件であった。エクソン52は増幅部分が113bpと小さい為、マルチプレックスPCRでのバンドが他より現れ難く、判定が不明瞭になることがある。この時にプライマー濃度を少し高めにするとう明瞭化した。また、鋳型DNAが多すぎPCRが抑制される時は反応液のMg濃度を高めると結果が安定した。

[考察] PCR産物の定量化により検索の能率が上がり、鋳型遺伝子の量的差異も窺い知れた。

2) 筋ジストロフィー軽症化へのmRNAの役割

2年目(平成12年度)はジストロフィン異常症例について選択的スプライシングによる軽症化の機構を検討した。

[目的] Duchenne型及びBecker型筋ジストロフィーの遺伝子検査の結果、遺伝子型は重症だが軽症例を見い

出した。この軽症化の機構を追求する。

[方法] 説明と同意のあった患者について、ChamberlainらおよびBeggsらの方法によりジストロフィン遺伝子の欠失の有無を検討、得られた欠失部位近くに隣接するエクソンのプライマーを用い詳しい検討を行った。

一方、患者血液を用い、mRNAをRT-PCR法にて増幅し、プロセッシング後のmRNA分画群の欠失部位をシーケンス法によりを同定した。

[結果] 今回のケースではChamberlainらとBeggsらの方法でエクソン3, 4, 6の欠失があるが8は存在していた。そこでエクソン2, 5, 7のプライマーを調整し、検討したところ、エクソン2は認められ、結局3, 4, 5, 6, 7が欠失していた。この領域の塩基数は合計556有り、3では割り切れず、アウト・オブ・フレームと考えられ、遺伝子型は重症タイプであった。

次に末梢血液の有核細胞からのmRNAでは、エクソン1から12までの間で4つのプライマーを用いたnestedPCRにより作られた4つのcDNA分画の内、シーケンスにより、エクソン3から9までの867塩基対の欠失にてイン・フレームで軽症化する分画のあることが判った。

[考察] 本ケースは症状の軽いベッカー型である。もしこの患者がDNAレベルではエクソン3から7までのアウト・オブ・フレームの欠失で本来重症型になるところを軽症型になったとすれば、この表現型と遺伝子型の矛盾は病状を軽減するなんらかの機構が働いた事を示唆する。

ジストロフィン異常症でこれまで考えられている軽症化の機構をまとめると、一番目にイン・フレームの欠失によって部分的にアミノ酸配列が保持された例。二番目として今回のように選択的スプライシングによってmRNAの段階でイン・フレームとなった例。三番目としてジストロフィン遺伝子のエクソン8内部にあるATG領域：コザック共通配列(mRNA上でAUGとなり、蛋白質への翻訳開始部位として働く)の働きによって部分的なジストロフィンが作られた例。四番目にはジストロフィンが免疫学的に証明されなかったにもかかわらず病状の軽度な例が報告されていた。本例では二番目の選択的スプライシングが考えられ、今後さらにATG領域などの検討が待たれる。

[結論] このように選択的スプライシングによる症状軽減の可能性のある自験例を検討した。

このような遺伝子の機能と進化の跡が明らかにされ、生命の理解や治療の発見につながる事が期待される。

3) 保因者診断意思決定支援プログラムの作成

[目的] 小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断にむけた患者遺伝子情報の確保について、説明と同意の

為の説明文書と意思確認書を作成する。

【方法】 遺伝相談プロジェクトグループでの討議により、保因者診断を希望するクライアントの要請に応じていく方法を検討した。進歩し可能になった技術、知識の整理をしながら遺伝相談のシミュレーションのための台本づくり、説明の為のフラップの検討、グループ討論の準備などで研究班員の意見を交わした。遺伝子情報について倫理や患者の人権保護など配慮をし討議は進められた。

【結果】 小児期発症ということで意思決定、判断能力に関する区分をしたこと。16歳以上は基本的に本人の承諾を不可欠要素とし、今後、時を経る中で保因者診断に対する倫理的判断にも患者意見が反映されていく余地をつくったことがあげられる。生命倫理や福祉のとらえかたも国、人々、時代の変遷とともに変わってゆきフレキシブルな対応が重要と考えられた。そのような説明文書と意思確認書が作成された。

課題2：脊柱側彎症矯正術について

1) DMD scoliosis に対する一期的後方矯正固定術の短期成績

【緒言】 Duchenne型筋ジストロフィー(以下DMD)で脊柱側彎が高度となれば座位バランスが失われ、胸郭の変形とADLの低下、更に呼吸機能低下が問題となる。13歳児例の手術経験を報告する。

【症例報告】 症例は3歳でDMDと診断され、10歳で車椅子の使用を開始した。12歳時に36度の側彎を指摘され、バケット型シートの使用を開始した。当時骨盤傾斜は14度であった。その後側彎が急速に進行し、座位の保持が困難となった為、13歳時手術を希望し当科を受診した。

初診時、支えなしに座位を保持することが出来ず、右臀部は座面から離れ、体幹の前傾が高度であった。また、高度の股関節および膝関節の屈曲拘縮が認められた。VC:1.5%, %VC:50% で、軽度の心収縮力低下が見られた。X線像で、T9-L5に左凸80度の側彎があり、骨盤傾斜が40度であった。脊髄に異常はなかったが、脊柱は poroticで腰仙部の彎曲は柔軟性に欠けていた。

術式は「1. 一期的後方進入で、2. Instrumentが low profile で、3. 術後の外固定が不要であること」を必須条件とし、Luque-Galveston法を選択した。患者および両親に期待される手術効果、考えられる合併症を充分説明し、同意を得た。

後方正中切開でT2-S2、後腸骨稜を展開し、硬膜外刺激・導出の脊髄モニタリングを設置した。側彎の矯正、腰椎前彎、胸椎後彎が得られるようrodを採型し、これと iliac screw を連結した後、wireを締結して矯正した。棘突起・椎間関節片を固定範囲に骨移植した。固

定性は極めて良好で、脊髄モニタリング上、問題がなかった。術後X線像で80度の側彎は31度と61%の矯正が得られ、骨盤傾斜も40度から9度と大きく改善していた。脊柱バランスも良好であった。手術時間8時間49分、術中出血5,142 mlであった。術前貯血の他に、同種照射血を14単位追加した。

術翌日、血色素量は11.2g/dlであった。無気肺となり、呼吸苦を訴えたが、NIPPVと体位ドレナージで術後2日で治癒した。術後2日でbed up,1週で座位、2週で車椅子移動を開始した。

術後、矯正損失、椎弓骨折、instrument failure、神経障害、創感染はなかった。座位バランスは著明に改善し、自力で座位保持が可能となった。

【考察】 DMDに限らず、脊柱変形が高度になれば手術による矯正はより困難となり、侵襲も増加する。それを看過することは、手術で得られる改善を少なくし、手術そのものを断念することにも繋がる。

【結論】 本症例の短期成績は極めて良好で、大きな手術侵襲に十分値する結果が得られた。

【参考文献】

- 1) 中井博史,小原ひさ子,佐藤恵美子:シーケンス検出システムによって確認されたジストロフィン・エクソン52の欠失と定量的解析の特徴. 平成11年度厚生省精神・神経疾患研究委託費による研究報告集. 国立精神神経センター編. 平成12年12月発行
- 2) 中井博史,山崎 伸,鴻巣 武,松尾雅文,笠島克己:選択的スプライシングによる症状軽減を示唆するジストロフィン異常症の1例. 厚生省精神・神経疾患研究報告(平成12年度)
- 3) 大澤真木子,白井泰子,丸山英二,上屋貴志,齋藤有紀子,玉井真理子,佐藤恵子,掛江直子,中井博史:筋ジスの保因者診断意思決定支援プログラム. 2002(平成14)年1月
- 4) 山崎 伸,後藤伸一,松原吉宏,石井祐信,大村 清,中井博史:DMD scoliosis に対する一期的後方矯正固定術の短期成績. 平成11年度厚生省精神・神経疾患研究委託費による研究報告集. 国立精神神経センター編. pp.176,平成12年12月発行

Duchenne型筋ジストロフィーに伴う脊柱変形 に対して下部腰椎までの後方矯正固定術を 行った5例の意義と問題点

中田好則, 高相晶士, 井上雅俊, 大塚嘉則

国立療養所千葉東病院整形外科

【結語】 今回の2例より、症例によってはL5までの固定術にて十分なQOLの改善が得られると考えられた。

【緒言】 Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)を伴う脊柱変形は進行性である。これは座位バランスや心肺機能にも著しい悪影響をもたらし、生命予後や日常生活動作に多大な影響を及ぼし早期の手術治療が提唱されつつあるものの、我が国においてはその手術的治療は未だ一般化されていないのが現状である。今回、我々はDMDを伴う脊柱変形5例に対し腰仙移行部を含まない下位腰椎までの後方矯正固定術を行い、その意義と問題点につき検討した。

【対象と結果】 症例は15歳、すべて男性5例。DMDの診断を受けており当科初診時に全例が歩行不能であり、車椅子移動であった。座位バランスが悪く、体幹支持に側方マットを当て、さらに両上肢で支えている例が多かった。%VCは44.2%、PaO₂は79.2mmHgで軽度低下していた。術前レ線像ではT5-L3間に64°、頂椎L1の右凸側彎と、19°の骨盤傾斜、T7-L5間に61°の後彎が認められた。インプラントはParagon System、TSRHにcableを併用し下位腰椎までの後方矯正固定術を行った。術中、脊柱傍筋は線維化が著しく、ほとんど弾性が認められないため数箇所横切を加えることにより展開可能となる例が多かった。また、椎弓が脆弱なためにcantilever操作時にL5の凸側の椎弓骨折が生じ、L4までの後方固定となった例が1例あったが、原則的にL5までの後方固定とした。手術時間は8時間、出血量は2080mlであり従来の報告と比べ少なく、自己血輸血およびセルセイバーで対処した。術後、35°の側彎、14°の骨盤傾斜、29°の後彎となったが、その後進行し、術後2年2ヶ月の現在では、骨癒合を認めるもののそれぞれ46°、19°、34°となった。全例座位の保持能が改善され、両上肢の機能が著しく向上した。また、車椅子とベッドとの移動介護も著しく改善した。術後の呼吸機能は、%VCが術後9ヶ月で39.0%、術後1年2ヶ月で39.4%、術後1年9ヶ月で36.6%と軽度低下した。しかし、1例は頸部の筋力低下のためバランスが崩れ現在頸椎装具が必要となったが術後の呼吸機能は、%VCが術後4ヶ月で46.7%、1年3ヶ月で47.1%となったが、1年8ヶ月では23.5%とかなりの低下を認めてきている。

3年間の実績報告書

分担研究者 清水潤

国立療養所下志津病院臨床研究部

画像

1) 脊柱胸郭変形の画像評価と脊柱矯正固定手術例の有効性の評価

脊柱矯正固定手術効果の判定の目的で、51例のDMD患者の脊柱側彎と%肺活量の経時経過のグラフ上に脊柱矯正術をおこなった2例(術後2年の経過を追った14歳と16歳)の経過を重ねてプロットし検討した。1例では急速に低下傾向をとっていた%肺活量の低下は比較的緩やかな経過となり、1例は%肺活量は術後一時的改善したが、その後再度急激に低下して側弯高度群と同じ経過をとった。手術効果の判断には長期の経過を追い、かつ末期の肺合併症の頻度も考慮し判断する必要があると考えられた。(99年度 Duchenne型筋ジストロフィー患者における脊柱変形の呼吸機能への影響についての検討) 縦隔の左への偏位、脊椎の右前方への弯曲、そして右気管支が脊椎をのり越えるところでの後方からの圧迫という変形が無気肺出現の危険な脊柱胸郭変形パターンであり手術のよい適応であること、本変形の発見には胸部CTが有用であることを報告した。CTを用いて脊柱変形を3次的に捉え、かつ胸郭変形や縦隔の偏位も考慮にいった指標を確立する必要性が示唆された。(99年度 脊柱変形が原因で非可逆性の無気肺を生じたDuchenne型筋ジストロフィーの1例) 胸部CTを用いた胸郭変形の評価を試み、統計学的手法を用いてDMDの胸郭変形の特徴を明らかにした。脊柱変形の指標には、1) 椎体回旋、2) 脊柱屈曲度を用い、胸郭変形の指標には気管分岐レベルでの 3) 胸郭正中前後径、4) 胸骨位置の偏位度、5) 胸郭左右径、6) 胸郭前後径、7) 椎体位置の前方偏位度 を用いた。当科の今回の検討22症例では、脊柱変形は、側彎(有意差なし) < 前後彎($p < 0.05$) < 回旋($p < 0.01$)の順で正常からの偏倚がめだった。胸郭変形は、胸郭左右径値は有意差なく、DMDにおいて胸郭前後径の短縮、椎体位置の前方偏位が明らか($p < 0.01$)で前後方向の変形が特徴であった。脊柱変形が軽微なDMD症例においても有意な前後方向の胸郭変形があり、胸郭変形が脊柱変形と独立して進行することがわかった。(2000年度 Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)の胸郭変形に対する胸部CTを用いた評価法)引き続き、本評価法で脊柱矯正固定手術を施行した2例(術後3年5ヶ月、術後3年2

ヶ月)の手術効果を評価した。術前の胸部CTは未試行であったが、2例ともに術後1ヶ月の胸郭の前後方向変形が有意であり、術後も、回旋度、正中前後径、胸郭に対する椎体位置の前方偏位度の項目で軽度の進行を認めた。早期に存在する前後方向の変形の意義を確かめ手術時期を決定する必要がある一方、術後も前後方向の胸郭変形の経過を追う必要があると考えた。(2000年度 脊柱矯正固定術を施行したDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)2症例の術後の胸郭変形の経時的変化に関する胸部CTを用いた検討)

2) 骨格筋MRIを用いた検討

DMD患者の下腿偽性肥大を筋MRIを用いて定量的に解析した。偽性肥大に相当する筋のMRI画像にはさまざまな信号度のもが存在し、筋病理学的には一様な病態ではないこと、特に初期ではMRI上真性肥大と考えられる時期が存在することが示された。また、下腿の変化は各筋間で変化の時間差が少なく体積を保ちながら進行することが下腿偽性肥大の原因の一つであると考えられた。(99年度 骨格筋MRIを用いた下腿偽性肥大の検討)筋ジストロフィー患者の骨格筋MRIでの T2値が適正運動量の指標になりうることを示してきたが、3年間にわたって骨格筋MRIのT2値を指標にしつつ運動量を適正に保ち経過観察をした肢帯型筋ジストロフィー症例を報告した。進行は軽度で患者の満足度も得ることができ、骨格筋MRIでのモニターの有用性を報告した。(99年度筋ジストロフィー患者における運動量制限の効果)

3) dysferlin異常疾患の検索と臨床像の対応

生検筋バンクを対象とし免疫染色でdysferlin発現異常症例の検索おこないdysferlin発現異常症例の臨床像を検討した。三好型遠位型筋ジストロフィー(MM)10例の他に新たにLG7例(35例の中で7例、20%)、筋炎1例、特発性高CK血症1例を抽出した。免疫染色性は、陰性、不均一弱、弱陽性とさまざまであり、免疫染色性とdysferlin遺伝子異常との対応を検討する一方、2次的にdysferlinの発現が低下する可能性も検討することが必要であると考えた。MM群を含み大部分のdysferlin発現異常症例は類似した臨床的特徴をもち、筋におけるdysferlinの発現低下自体が比較的均一な臨床像の形成に関与すると推定された。一方、特発性高CK血症の19歳例は、筋力も筋CT上も異常はないにもかかわらずdysferlinは完全欠損しており、dysferlinの欠損プラス α の因子の関与を考えた。dysferlinの骨格筋での役割を解明しdysferlinの発現異常から筋の崩壊にいたるまでの過程を明らかにしていくことが、病態機序の解明と治療のために重要であると考えた。(2001年度 免疫染色を用いたdysferlin異常疾患の検索と臨床像の対応)

呼吸管理

当院におけるNIPPVの有効性のまとめを報告した。DMD189症例をNIPPVの使用および非使用者に分けて初診時よりの経過期間を比較検定した。NIPPV使用者は38例、非使用者は151例で初診時の年齢の有意差はなかったが、初診よりの経過期間はそれぞれ12.1+/-6.44年と9.23+/-5.77年となりNIPPV使用者で有意($p=0.0087$)に長かった。NIPPV使用者の呼吸器開始時点よりのKaplan-Meier曲線では1年生存は100%、3年生存は95.5%、5年生存は85.7%(95%CI:54-100)となっていた。また、呼吸器を使用せずに10代の後半で死亡する症例が依然として認められた。心機能低下例や呼吸器を導入しにくい精神発達遅滞例の評価は今後の課題と考えた。(2001年度 デュシャンヌ型筋ジストロフィー症におけるNIPPVの有効性)

その他

正中神経二連発刺激法を用いて強直性筋ジストロフィーにおける感覚野内介在ニューロン機能の分析をおこなった。二発刺激法で正常群とFSH群では認める抑制効果がMD群では見られず逆に促通効果が見られた。本方法で正常者でみられる抑制は、大脳感覚野内の抑制性介在ニューロンの機能を反映していると考えられており、MDでは従来知られている視床もしくはなんらかの中枢神経の異常により感覚野の調節機能に障害が起こっていることが示唆された。(99年度 正中神経二連発刺激法を用いた、強直性筋ジストロフィーにおける感覚野内介在ニューロン機能の分析)

筋ジストロフィーの遺伝子診断及び 遺伝相談法に関する法的、倫理的、 心理・社会的問題の検討

分担研究者 白井泰子（精神保健研究所 NCNP）
共同研究者 丸山英二（神戸大学大学院法学研究科）
土屋貴志
（大阪市立大学大学院文学研究科）
斎藤有紀子（北里大学医学部）
佐藤恵子（国立がんセンター中央病院）
玉井真理子
（信州大学医療技術短期大学部）
中井博史（国立療養所八戸病院）
大澤真木子（東京女子医科大学小児科）
掛江直子*（精神保健研究所 NCNP）
*平成13年度より参加

研究の目的：

小児期発症筋ジストロフィーのジストロフィン遺伝子検査の目的は、(1)筋疾患が疑われる小児の確定診断を目的とする場合(タイプI)、(2)患者の母・姉妹等の女性血縁者の保因者診断・出生前診断を目的とする場合(タイプII)の2つに大別される。タイプIのジストロフィン遺伝子検査のインフォームド・コンセント手続き(IC手続き)に関しては、平成8-10年度に遺伝相談プロジェクトとして関連文書一式(遺伝子検査の説明書/同意書、病気の説明書、結果説明書/意思確認書)を作成し、班員の利用に供した。

平成11-13年度の研究課題は、(1)タイプIIのジストロフィン遺伝子検査に関する問題点の整理と検討、(2)保因者診断の実施に関する基本原則の提示とIC手続き上の問題への対処、(3)「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」という形での、保因者診断を希望するクライアントに対するIC手続き関連文書一式ならびにその兄弟である患者に対するIC手続き関連文書一式の作成の3つを掲げ、研究を行った。

研究計画・方法および成果：

平成11年度

(1)タイプIIの目的で行われるジストロフィン遺伝子検査に関するELSIの指摘

平成10年度作成のタイプIの遺伝子検査に関するIC手続き関連文書の見直しや、「夫に相談できないまま、自身の保因者診断について迷っている女性の相談事例」の検討、信州大学医学部付属病院遺伝子診療部のメンバーとの合同会議などを通じて、当該問題の法的、倫理的、心理・社会的問題(ELSI)の検討を行い、次の諸

点を確認した：

- a)タイプIIの目的で行われる患者の遺伝子検査は、患者の姉妹の保因者診断を行うためには不可欠ではあるが、患者本人の医療上の利益とは直接的関連性をもたない。
- b)保因者診断の目的で行われる遺伝子検査の場合、クライアントの同意だけでなく、患者本人の同意が不可欠である。

(2)未成年者の同意能力と同意の要件：患者本人の病型確認を目的とした遺伝子検査(タイプII)を行う場合の患者本人の同意能力の評価と同意要件について、以下の基準を提案した：

- ・6歳未満相当：親権者が同意していること
- ・6歳以上11歳未満相当：親権者が同意し、本人が拒否していないこと
- ・11歳以上16歳未満相当：親権者が同意し、本人が了承(アセント)していること
- ・16歳以上相当：本人が同意していること

一方、“姉妹の保因者診断のための遺伝情報の提供”を目的として行われる患者の遺伝子検査(タイプII)は、本人の医療上の利益とは直接的関連をもたないため、“患者本人に対して説明を行い、本人の同意をえる”ことを原則とすべきであることを確認した。

(3)保因者診断・出生前診断とカウンセリング

患者の母や姉妹など血縁者の遺伝相談に際しては、医学的問題だけでなく、当該問題の心理・社会的側面に配慮した援助を行う必要がある。そのためには、医師以外の職種にある適格者がカウンセリングの場に参加することが必要であることを提言した。

平成12年度

(1)小児期発症筋ジストロフィーのジストロフィン遺伝子検査をめぐる問題状況の把握と論点の整理：小児期発症筋ジストロフィーのジストロフィン遺伝子検査を行う場合、検査目的の違いによって考慮すべきELSIの論点がどのように異なるのかを明らかにするために検査目的別の論点指摘用フローチャートを作成し、論点の整理を行った。

(2)小児期発症筋ジストロフィー患者の姉妹の保因者診断に関する基本原則の検討：タイプIIの目的で行われる遺伝子検査の場合、患者は、自分の姉妹等の女性血縁者の保因者診断のために彼の遺伝情報が必要だという理由で遺伝子検査を受けることを要請される。このような目的で患者の遺伝子検査を行う場合、次の諸点に留意したIC手続きが必要となる：

- a)保因者診断の実施は、これを希望する女性(クライアント)本人の同意を前提とする。
- b)保因者診断の実施は、クライアントの兄弟である患者本人の同意が不可欠である。

c)患者本人の同意は、“病型確認のための遺伝子検査の実施”ならびに“保因者診断への遺伝情報の提供”の双方について得なければならない。

(3)「保因者診断意思決定支援プログラム」(案)の作成：保因者診断を希望するクライアントならびにその兄弟である患者の自律と自己決定権を尊重する形でのインフォームド・コンセントを保障するための手続きとして「保因者診断意思決定支援プログラム」を提案すると共に、以下の構成で関連文書一式の作成を試みた：

- ・医師用マニュアル
- ・最初の来談者に対する説明文書
- ・保因者診断対象者に対する説明文書/同意書
- ・患者本人に対する説明文書
- ・患者本人の同意書(“保因者診断への情報提供に対する同意”および“自身の遺伝子検査に対する同意”)
- ・保因者診断対象者に対する結果説明文書/意思確認書
- ・患者本人に対する結果説明文書/意思確認書

平成13年度

(1)「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」の基本原則の明示：本プログラムの作成にあたっては、次の諸点を基本原則とした。

- a)医療者は、クライアントや患者の意思を尊重し、自己決定を支援するコーディネーターとなること。
- b)保因者診断は、クライアントならびに患者の同意に基づいて行う(クライアントと患者の双方に、病名・遺伝検査の目的等を説明し、同意を得ること)。
- c)保因者診断の実施基準と同意取得の手続き：クライアントおよび患者共に16歳以上相当の同意能力があること。同意は本人から得ること。
- d)患者の同意は、“病型確認のための遺伝子検査の実施”ならびに“保因者診断への遺伝情報の提供”の双方について得なければならない。
- e)医療者は、これらの基本方針をクライアントを含む家族に説明し、了解を得ること。なお、“患者に説明できない”、“患者の同意が得られない”等の場合は、家族内で話し合いを行い、自主的に解決してもらうこと。

(2)小児期発症筋ジストロフィーのジストロフィン遺伝子検査をめぐる問題状況の把握と論点の整理：平成12年度に作成した検査目的別の論点指摘用フローチャートの検討と改訂を通じて、さらなる問題点の指摘を行った。また、基本原則に照らした問題点への対応についても検討し、「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」に反映させた。

(3)「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」関連文書作成

平成12年度の試案に検討を加えた改定文書(案)一

式を作成し、平成13年度石原班研究班会議で報告・配布した。

(4)遺伝相談(含出生前診断・保因者診断)における心理的アプローチの重要性とカウンセラーの役割について提言した。

1999-2001年度 3年間の研究のまとめ

分担研究者 大矢 寧

(国立精神・神経センター武蔵病院神経内科)

(1)筋強直性ジストロフィーのECD脳SPECT

筋強直性ジストロフィー(MyD)の中樞神経障害を^{99m}Tc-ethylcysteinate dimer(ECD)を用いた脳血流SPECTでとらえる試みを1998年度に報告した。脳血流はびまん性に低下していたMyD患者がみられたが、脳血流は正常でも加齢で低下する傾向があるため、脳血管障害の既往がないMyD患者 18例(23~64歳;男11,女7)での脳血流をより詳細に評価した。

水平断で、(1)線条体と視床の最大断面で、前頭葉穹隆面と頭頂葉のwatershed area相当部位の大脳皮質、後頭葉内側面、線条体(尾状核、被殻)、視床、(2)側頭葉と小脳の含まれる最大断面で、側頭葉内側・外側の大脳皮質と小脳虫部・半球にルーチンの円形の関心領域を設定し、計測した。

脳平均血流量は32.4~54.3ml/100g/min、多くは正常下限ないし僅かに低下していた。

関心領域を設定したどの部位でも、年齢を横軸にした散布図を描くと、患者群と健常対照群との間には一部重なりはあるが、患者群で低い場合が多かった。患者群の中では女性よりも男性が低い傾向がみられた。

前頭葉や側頭葉内側面では、低下傾向が目立ったものの、後頭葉や頭頂葉でも患者群は低下傾向が明らかに認められた。

線条体では尾状核頭部よりも被殻で、小脳では虫部よりも半球で、健常対象群との重なりが少なく、患者群での低下傾向が目立った。

1~2年間隔の再検では多くの場合、測定値に再現性が認められた。しかし1例での視床での左右差は必ずしも再現性はなかった。

相対的評価では前頭葉優位の集積低下が報告されているが、定量化画像では年齢を考慮しても大脳皮質ではびまん性に低下していた。

MyDでは筋力低下やADLも男性患者が女性患者より重症な傾向があるが、脳血流も同様の傾向を認めた。

(2)筋ジストロフィーでの β 2刺激薬clenbuterol投与

気管支喘息などに用いられている β 2刺激薬clenbuterolは筋量・筋力に有効性が報告されているため、成人筋ジストロフィー患者で β 2刺激薬clenbuterol通常量30~40 μ gの半年以上長期内服の筋量・筋力増加

効果を調べた。4例(Becker型1例、三好型1例、顔面肩甲上腕型2例)で握力・ピンチ力、等尺性収縮筋力、尿中creatinine量、呼吸機能、遠位筋のM波を評価した。保たれている筋の量と瞬発力は増加したが、萎縮が著明な筋には効果がなかった。効果は筋ごとに評価する必要があり、疾患の進行は抑制し得ず、ADL改善に至らないまでも、肺活量を含めて、保たれている筋量・筋力の増加・保持には有効であると考えた。

半年以上の投与で、良く保たれている筋では筋力、少なくとも瞬発力の改善が観察された。しかし萎縮が顕著な筋での改善は得られなかった。筋線維が少なく、線維化が進んだ筋では筋線維肥大の効果は生じにくいと考えられる。また筋量・筋力増加には、ある程度の運動が必要な可能性がある。

薬物効果の評価は筋ごとに行う必要がある。呼吸筋でも保たれている時期には肺活量は増加しうる。罹患が強い部位では原疾患の進行が勝るように見えた。実験動物で報告された易疲労性は臨床的に明らかではなかったが、易疲労性自体は投薬開始前から原疾患のため罹患が強い部位では認められ、その客観的な経時的評価は難しかった。

ADLは主に萎縮が著明な筋の機能に決定されていて、ADLの向上に結び付かなかった。しかし症状が進行しない前に筋量と筋力を増加させておく効果は期待でき、代償機能の維持などに役立つ可能性が考えられる。筋疾患の中でもFSHDは心機能低下がなく、保たれている筋があることが多いため、効果が期待できると考えられる。心不全を来し得る病型では、むしろ β 遮断薬を使用する可能性があり、使用しにくい。

少数例であったがclenbuterolの臨床効果を明らかにできたため、その後、対象年齢18歳以上で、神経原性の病態を含めて、症例数を増やし、経過観察中である。投与まもなくから下肢筋力が改善した、先天性ミオパチーの若年男性例も経験したが、とくに若年男性患者で、残存部位での効果が目立っている。

(3) Proportional assist ventilation (PAV)での胸郭elastance, compliance評価

主に従圧式人工呼吸器で非侵襲的陽圧換気を行っている患者を対象に、PAVを用いて筋萎縮での胸郭complianceを評価した。PAVは吸気流速・吸気量を測定しながらサポート圧を制御し、患者固有のelastance(VA; complianceの逆数), resistance(FA)を越えた設定では吸気が終了せず、圧・流量が上昇上限に至るため、BiPAP Vision[®]でのPAVモードを利用してVA, FAを求めた。VA(cmH₂O/L)は通常<15, 拘束性肺疾患>25, FA(cmH₂O/L/sec)は通常4程度, 閉塞性肺疾患>12とされる。

呼吸器を使うDuchenne型筋ジス(DMD) 4名、acid

maltase 欠損(AMD) 3名、先天性ミオパチー(CM) 1名、筋強直性ジストロフィー(MyD)2名。DMD, AMD各1名は気管切開。NIPPV未施行のMyD2名などでも行った。

VAは呼吸毎に揺らぐが、DMD 22~38、AMD 11~20(1名は座位で肺活量0.6L,VA17、臥位で0.3L,VA13と変化)、CM 約23、MyD は1名を除き5~22 (胸腰椎可動性がない1名は>38-58)。時間経過を追っている患者では半年から1年で若干ながらVAの上昇傾向がみられた。FAは殆ど45で正常だった。

同程度の肺活量でも、VAの値は様々で、胸郭のコンプライアンスは患者の個々の病態に応じて様々である。DMDとAMDでは、DMDの方が胸郭のelastanceは高い(complianceが低い)傾向が疑われた。MyDは一般にelastanceは低い、一部には著明に高い患者がいる。

PAVで求めたVAは臨床的印象とも合う新しい有用な指標である。

体位変換に伴う変化を評価することも出来、筋萎縮が強い患者では体位によっても異なることが少ない。

筋障害とhydroxyl radical -筋壊死・再生に伴い発生するhydroxyl radicalを除去できるか- (3年間のまとめ)

班 員 若田宣雄
共同研究者 杉本英樹, 井口裕章.

東邦大学第四内科

はじめに

種々の骨格筋障害に対するfree radicalの検討がおこなわれてきた。しかし、1980年代後半に筋ジストロフィー発現機序がdystrophin欠損によることが判明してから省みられなくなった。本疾患の根本的治療は遺伝子治療によるものであると考えられるが、未だその治療法は確立されていない。

最近、Cu/Zn-SODのtransgenic miceでCu/Zn-SOD活性が対照の4倍に増加し、CKが上昇し、筋病理組織でも筋線維の壊死・再生・fiber splittingを認め、筋線維が脂肪織・結合織に置換され、oxidative damageがdystrophyの一次的原因であろうとの報告がなされた¹⁾。

そこで、筋壊死再生が生じるジストロフィーの実験動物モデルであるmdxマウス及びラットで塩酸プロピバカイン(BPVC)による筋障害モデルを作成し、その際に生じるhydroxyl radicalを測定すると共に、もし、上昇を認めれば、それを除去する薬剤を見つけだし、ジストロフィーの治療に役立たせることを目的とした。今回はBPVC投与ラットのみでdimethyl sulphoxide (DMSO)をスカベンジャーとして単回投与した。

実験方法及び動物

1. ジストロフィーモデルマウス：mdxマウスと対照としてB10マウスを使用した。生後2, 4, 6, 14週令の骨格筋を使用した。
2. BPVCによる筋壊死・再生：体重300g前後の雄性ラットを使用した。腓腹筋の中樞側、および末梢側の腱にBPVCを投与し、2, 7時間, 2, 4日目に腓腹筋を採取し実験モデルとした。

BPVCおよび生食投与30分前にDMSO 200 μ l (0.75g/kg)腹腔内投与した。BPVC+DMSO(+)と(-), 生食+DMSO(+)と(-)の4群について2, 7時間, 2, 4日目に検討した。

測定は2,3-dihydroxybenzoic acid (2,3-DHBA), 2,5-DHBAをサルチル酸捕捉法によりおこなった。いずれの動物も屠殺15分前にサルチル酸300mg/kg腹腔内投与した。採取した筋肉をホモジュネートし、4℃、

15000回転で遠心後、その上清を高速液体クロマトグラフィー・電気化学検出器 (ESA-model 5500) により測定した²⁾。

mdx及びB10マウスの2, 4, 8週令についてはsuperoxide dismutase (SOD)をNBT還元法で測定した。

結 果

1. mdxマウス

2,3-および2,5-DHBAともに2および4週令でB10マウスと比較し、mdxマウスで増加しており、2, 5-DHBAでは有意差を認めた。SODはmdxマウス4-8週令で増加したが有意差はなかった(13年度報告書参照)。

2. プロピバカインによる壊死・再生筋

2, 3および2, 5-DHBAではBPVC, 生食投与群とも7時間で最高値を示した。BPVC投与群ではDMSO投与により、すべての時間でhydroxyl radical産生は抑制された。生食投与群ではDMSO投与で2, 3および2, 5DHBAともに2, 7時間で抑制された³⁾。

考 察

mdxマウスは亜急性から慢性(期間は短い)の筋壊死と再生モデルであり、BPVCによる筋壊死・再生は急性実験であると考えられる。今回の結果からはmdxマウスのような慢性の筋障害ではhydroxyl radicalの発生は少なく、急性実験では増加していることが判明した。

今回の検討からはmdxマウスでは4週令のみ2, 5-DHBAの有意な上昇を認め、SODは4-8週にかけ増加傾向を認め、hydroxyl radicalの増加を抑える方向に働いたとも考えられた。

一方、急性実験でよりhydroxyl radicalの産生が強く、DMSO単回投与であるが、hydroxyl radical産生は抑制された。

これはDMSO投与が、急性の筋障害治療に役立つ可能性を示したものであるが、さらに連続投与や他のスカベンジャーによるhydroxyl radicalの産生抑制効果や組織像の改善について検討する必要がある。

参考文献

- 1) Rando TA, Crowley RS, Carlson EJ, Epstein CJ, Mohapatra PK: Overexpression of copper/zinc superoxide dismutase: a novel cause of murine muscular dystrophy. *Ann Neurology* 44:381-386,1998
- 2) McCabe DR, Maher TJ, Acworth IN: Improved method for the estimation of hydroxyl free radical levels in vivo based on liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr B* 691: 23-32,1997

3) Wakata N, Sugimoto H, Iguchi H, Nomoto N, Kinoshita M: Bupivacaine hydrochloride induces muscle fiber necrosis and hydroxyl radical formation: Dimethyl sulphoxide reduces hydroxyl radical formation. *Neurochem Res* 26:841-844,2001

着床前遺伝子診断プロトコールと診断成績に関する検討

末岡 浩, 佐藤健二, 中林 章, 吉山礼子,
松田紀子, 土屋慎一, 加藤真吾*, 大澤淑子,
上野ひろ子, 時澤公子, 小澤伸晃, 浅田弘法,
久慈直昭, 吉村泰典

慶應義塾大学産婦人科,
*同微生物学教室

研究協力：貝谷久宣, 米園弥生

(社) 日本筋ジストロフィー協会

緒 言

疾患遺伝子の保因者に対して初期胚の段階で診断を行う着床前遺伝子診断について、技術的開発と社会、倫理面についての検討から診断プロトコールを考案し、臨床応用の可能性を追求することは実践的アプローチの上で重要な過程である。とくにDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)を対象とし、性別診断に代わり単一細胞からの疾患遺伝子診断を原則とした系統的診断プロトコール案を作製し、その診断成績を含め、臨床応用の可否につき検討することを総合的な目的とした。

医学的な対策として、出生前診断による母体と与える身体的・精神的苦痛を軽減しうる低侵襲的な着床前遺伝子診断の技術的検討と同時に倫理面、社会面からこの着床前遺伝子診断に対する議論が各方面で行われてきた。実施側として、日本産科婦人科学会ではガイドラインを平成10年10月に公表した¹⁾。その後、平成11年7月に施設認可に対する審議内容を追加する形で、公表が行われた²⁾。しかし、会告および倫理面での検討をふまえた上で、着床前診断プロトコールを作製する必要がある。この中で、本法の実施にあたっては実施者は実施前に当該夫婦に対して内容を文書にして説明の上、文書にて同意を得ることが謳われている。しかし、具体的な指示はなされておらず、平成11年に公式見解として申請書；報告書など追加事項が公表され、その説明・同意についての見解は示されていない²⁾。臨床研究の実施に際し、クライアントへの情報伝達の文書が重要な役割を担うため、諸分野の専門家の意見交換に基づく説明・同意書の作製を試みた。さらに、実施を希望する人々の意思が公開される媒体が存在せず、また、実施する医療側にもこれらのクライアントと共有する意見交換の場が存在しなかった。そのため着床前遺伝子診断の技術開発とともに、本法に対する社会の認識を把握し、また社会に対する十分な説明を行い理解を得ること、さらに、誤解を解くことは、実

施する上で極めて重要な作業である。社団法人日本筋ジストロフィー協会の協力を得て「受精卵診断フォーラム」のホームページを公開し、会員が容易に実際の診断内容、技術、問題点、現状などについて知識を得ることができる情報発信を行い、さらにそれに関して会員との意見交換を行う媒体を作製した。

方 法

(1) 極体診断を併用する疾患遺伝子診断を原則とする着床前遺伝子診断プロトコールの作製

dystrophin 遺伝子の欠失好発部位である exon8,44,45,51 を検討の対象とし、2種類の異なるプライマーの組み合わせを用いて、Multiplex Nested PCR を施行した。単一細胞からの診断精度を算定するために、患者のリンパ球、非患者のリンパ球・割球・極体をインフォームドコンセントを得た上で採取、本法の診断精度を算定した。そして、これらを元に倫理的側面も配慮しつつ、実施のための診断ストラテジーを作製した。次に体外受精余剰卵をインフォームドコンセントを得た上で検討に供し、割球・極体生検法を再検討すると共に、生検割球・極体を用いた、各法における診断精度を算定、比較検討した。その上で、疾患遺伝子診断を原則とした着床前遺伝子診断プロトコール(1.生検法, 2.DNA抽出法, 3.診断法)を作製し、検討した³⁾。

(2) 社会倫理面における検討

1) 説明・同意書の作製：

着床前遺伝子診断の技術的發展に伴い、現段階での診断可能な病型の範囲、診断精度、対象疾患家系への精神的側面調査と面接による希望や理解の検討などを基に慶應義塾大学の着床前遺伝子診断プロトコール(案)に関する説明および同意書を作製した。次いで諸分野の専門家および疾患団体の意見交換を反復して行い、上記文書を修正し、当該施設の説明・同意書(案)とした。

2) ガイドラインの再検討：

日本産科婦人科学会「着床前診断」のガイドラインに対する再検討：同学会は公式見解を会告として発表した。この会告について現実面での不整合性を指摘し、修正案を検討した。

3) ホームページの公開と意見交換：

筋ジストロフィー協会のホームページの中にある会員用のページ“夢の扉”の中に“受精卵診断フォーラム”を公開した。ホームページの構成概要を以下に示す。「はじめに」の項に、この公開の目的を明示した。1.受精卵診断(着床前診断)とは。2.出生前診断との違い。3.体外受精および胚移植の流れと受精卵診断。4.受精卵診断の歴史と世界各国の現状。5.日本産科婦人科学会の見解と我が国の現状。6.私たちの取り組み。7.対象と

なる疾患。8.受精卵診断の方法と診断精度。9.安全性。10.皆さんのご意見を。の10項目から構成されている。とくに6の項では、現段階での診断可能な病型の範囲、診断精度、対象疾患家系への精神的側面調査と面接による希望や理解の検討などを基に作製した慶應義塾大学の着床前遺伝子診断プロトコル(案)を示した³⁾。①誤診断を防ぐため卵細胞質内精子注入法(ICSI)法による顕微授精法。②割球生検および極体生検の併用による診断精度の向上。③性別診断による代用ではなく、疾患遺伝子本体の診断を原則とする。④deletion typeの遺伝子変異に加え、point mutationやduplicationなど各種の遺伝子型に対しても取り組む。⑤スクリーニングと理解される染色体異数体の検索を行わない、などについて明示した。また、10の項では会員の意見、質問などを受付、これに対して返答する形式とした。

結 果・結 論

(1) 極体診断を併用する疾患遺伝子診断を原則とする着床前遺伝子診断プロトコルの作製

1細胞相当のゲノムDNA量(4pg)からのexon8,44,45,51に対する遺伝子欠失の診断精度は約85%であった。非疾患単一細胞からの検出率は約85%、また疾患単一細胞の検出率は約80%であった。以上より非疾患胚を正常と診断する精度は約85%、偽陽性率は5%、疾患胚を異常と診断する精度は約80%、偽陰性率は1.5%であった。また、割球と極体診断を併用することにより偽陰性率は0.1%まで減少でき、2法の結果が合致する診断胚は全体の72%と算定された。また、判定不能胚に対しては、第二極体ともう1割球を診断することにより、19.8%が補助診断可能となり得た³⁾。DNA抽出法に関してはDystrophin exon45を対象とし、非疾患および疾患単一リンパ球を用いた欠失診断精度は、Water methodは49%、Freezing and boiling methodは33%と低い精度を示した。また、Two-step lysis Protocolは78%と良い成績を示したが、操作手技が煩雑であるため、contamination等の偽陰性率は10%と高値を示した。一方、Spanning protocolは診断精度が90%で、しかも偽陰性率も2.5%と良好な成績を示した。割球・極体を対象とした単一細胞からの診断精度も、Spanning protocolが最も高い精度を示し、また、リンパ球・第一極体・割球の各細胞間における診断精度には有意な差を認めなかった。

以上より、割球診断のみでは92.5%の胚を移植可能と診断するが、内2.5%の偽陰性を含んでいることとなり、胚移植可能と診断した胚における正診率は97%となる。そこで、極体診断を併用することにより、移植可能と診断する胚は77.75%と低下するが、0.15%の偽陰性を含むのみとなり、胚移植可能と診断した胚における正診率は99.8%となり、診断ミスの頻度を低下させる事ができた。

(2) 社会倫理面における検討

1) 説明・同意書の作製：

説明書・同意書の試案に対する総括的意見の骨子は以下の通りである。①PGDは臨床研究として実施されるものであり、研究プロトコルに準ずることを前提として説明と同意の上で実施する。②対象疾患や手続き上の規約は日本産科婦人科学会の見解に従い、参加の意思決定はクライアントの自己決定による。③体外受精を前提とするため、体外受精に関する説明と同意を得られる条件であることを基本とする。④費用負担、クライアントの不利益、診断の長短所について明確に示す。⑤周辺技術などを含め、説明には専門用語をなるべく避け、簡潔で判り易く解説する。⑥着床前診断を受けるクライアントに出生前診断を追加するオプションを用意する。⑦性別診断や、染色体異常のスクリーニングなど付帯して得られる補助的情報について研究プロトコルに組み入れない。⑧相談の窓口を明確にし、カウンセリングに対応できる体制を形成する。これらの意図を反映させて作製した説明書および同意書は技術的進歩や社会情報などに対応して常に修正を加えることが重要であり、また同時に実施する組織的体制を整備することが要求される。

2) ガイドラインの再検討：

日本産科婦人科学会「着床前診断」のガイドラインに対する再検討：同学会の告告には不明瞭な部分、不適切な言葉などが指摘される。本研究グループではこの点について検討を行い、同学会の倫理委員会に対して意見書の提出を行った。

3) ホームページの公開と意見交換：

会員からの返答は、多数ではなかったがこれらを意見、要望、質問の3項目に分類した。(1)意見：①医学の進歩の1つとして位置付けられる。②人間の尊厳は守るべきである。③出生前診断と受精卵診断の違いがわからなかったため以前は反対をした。(2)要望：①遺伝子診断と受精卵診断をシステム化して欲しい。②カウンセリングを充実して欲しい。③1日も早く実施を期待している。④保険診療を希望する。⑤研究および議論を続けて欲しい。⑥学会は困っているクライアントが喜びを得られるような活動をして欲しい。(3)質問：①具体的な実施例に関して知りたい。②質問する窓口を知りたい。③診断できる筋ジストロフィーの病型について知りたい、例えば、福山型など。④学会の在り方に対する疑問。

総合的には、インターネットにアクセスし、意見を積極的に寄せた会員からは科学の進歩を否定する意見はみられなかった。その中で議論の継続を前提に、さらなる社会認識のための啓蒙の必要性が示唆された。

実施に向けては、すぐに解決できることではないが、継続的な社会整備の充実が必要と考えられた。

参考文献

- 1) 会告「着床前診断」に関する見解. 日産婦誌, 50 : 22, 1998.
- 2) 学会見解に基づく諸登録の申請書の書式変更と再登録について. 日産婦誌, 51 : 16-24, 1999.
- 3) 土屋慎一, 末岡 浩, 他 : 極体診断を併用した疾患遺伝子診断を原則とした慶應義塾大学式診断ストラテジーとその成績. 日受着誌, 17 : 4-7, 2000.

筋ジストロフィーの全身性病態に関する研究

近藤 浩

国立療養所新潟病院神経内科

緒言

筋ジストロフィーでは、心不全、呼吸不全を始めとし、さまざまな全身性病変を伴い、日常臨床でその管理が問題となる。今回の3年間では、Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)を中心に、筋強直性ジストロフィー(MyD)も含め、心不全・循環不全に関わる臨床的問題を中心に検討し、DMD剖検例の病理学的特徴についても検討した。

1. 高度の低血圧を呈しDocarpamineが有効であった筋強直性ジストロフィー(MyD)の検討

方法

高度の低血圧のため塩酸ドパミン注射剤からの離脱困難であったMyDの2例で、Docarpamineを経口投与し、その経過および有効性を検討した。

結果

[症例1] 47歳、男。95年10月、肺炎・呼吸不全のため入院。気管切開施行し人工呼吸管理。96年7月、血圧低下し塩酸ドパミン持続点滴開始。胸部X線で心拡大なく、心エコー異常なし。ANP正常。Amezinium 20mgを投与したが、塩酸ドパミン減量できず、Docarpamine 2250mgを併用し離脱した。その後血圧は安定し、動悸・頻拍等の副作用は認めない。

[症例2] 60歳、女。96年4月、気管切開し人工呼吸管理。97年4月、糖尿病悪化を契機に血圧低下持続。塩酸ドパミン持続点滴で血圧を維持したが離脱困難。Docarpamine 2250mgを投与し離脱。心機能・血圧とも安定し、副作用なし。経過中胸部X線ではCTR 60%と心拡大あるが、心エコー異常なし。不整脈なく、ANP正常、心不全を示唆する所見はなかった。

考察

MyDでは、刺激伝導系の異常は高頻度だが、心筋障害による心不全はまれであり、交感神経系の機能低下、副交感神経系の機能亢進をきたす。本例では、検査上心不全なく、体動時の血圧低下を認め、自律神経系の機能異常が推測された。本例のような著しい低血圧も多彩な全身症状を示す MyD の部分症状として注目すべきである。また、Docarpamineの経口投与で、塩酸ドパミン持続点滴を離脱し生活を拡大できた。長期投与でも肝・腎障害、動悸・頻拍発作等の副作用もなく、

全身状態は良好に維持され、有用性が確認された。

結論

著しい低血圧を伴うMyDを報告した。その原因として自律神経系の機能異常が推測された。治療としてはDocarpamineの長期使用の有用性が確認された。

2. Duchenne型筋ジストロフィー心不全例におけるDenopamineの長期投与効果の検討

方法

当院入院中のDMDのうち、心不全治療中の37人を、投与群19人(年齢 21.2 ± 4.8 歳)、非投与群18人(年齢 20.0 ± 5.8 歳)の2群に分け、臨床症状、心エコー、胸部X線での心胸郭比(CTR)、ANP、24時間心電図等の検査所見を6年間経過観察した。投与群にはDenopamine 15~30mg/dayを、それまで投与していたACE阻害剤、強心剤、利尿剤等に追加投与し、併用薬の種類・量は変更しないものとした。非投与群も心不全に対して使用中の薬の種類・量は変更しないものとした。病状悪化等により治療の変更が必要になった場合は脱落例とした。

結果

短・中期効果をみるため、投与開始前と開始後1ヶ月、6ヶ月後の心機能を比較すると、個々の症例では改善をみた例もあるが、群としては、左室駆出率(EF)やCTRなどは有意な変化なく、群間の有意差もなかった。6年間の経過観察では、投与群で5人死亡し、死因は、心不全悪化1人、突然死2人、呼吸不全2人であった。非投与群では6人死亡し、心不全悪化5人、呼吸不全1人であった。1人は途中からDenopamine投与を開始し、その後経過良好。6年間経過観察できた例は、投与群は19人中14人(73.6%)、非投与群は18人中11人(61.1%)だった。年次毎の検査所見の比較では、2群間に有意差なかった。しかし6年間で心不全の明らかな悪化がなかった例は、投与群は19人中10人(57.5%)、非投与群は18人中5人(27.7%)と、投与群での予後が明らかに良いことが示唆された。

考察

筋ジストロフィーにおけるDenopamineの有効性は、山本が、投与直後の心電図同期心プール像により、心拍出量の増加を認めたと報告し、亀田らは、6~17ヶ月の投与効果を検討し、全例有効であったと報告した。しかし今回の検討では、短・中期的に有用性は確認されなかった。その後経口強心剤の有効性が疑問視され、長期投与すべきでないと考えられるようになったが、投与により心不全悪化がなく安定している例で慎重に投与を継続した。その結果、非投与群では明らかに心臓死が多く、進行性の心機能低下例が多かった。長期使用の有害性も指摘されている今、使用は慎重であるべきだが、DMDという特殊な患者群では、他の治療と

の組み合わせで、心不全の長期予後を改善しうる場合もありうる事が示された。

結 論

DMD心不全例においては、Denopamineの投与により長期予後改善効果を期待しうる例もある。

3. 急性心筋梗塞を呈したDuchenne型筋ジストロフィーの若年例

方 法

AMIを合併したDMD症例の臨床経過を検討した。

結 果

[症例]13歳、男。機能障害度VI。3歳頃に歩容異常指摘、9歳、歩行不能、96年4月(10歳)当院入院。ANP、心エコー、心電図異常なし。99年3月7日夜より胸痛あり、心電図でII,III,aVFのST上昇、筋原性酵素上昇、白血球増多あり、急性下壁梗塞と診断。安静、酸素投与、亜硝酸剤、Ca拮抗剤、ジピリダモールによる急性期治療により回復。不整脈等の合併症なく、心機能低下認めず。

考 察

DMDでは、肺梗塞、心室内血栓、脳梗塞、腎梗塞、脾梗塞などの血栓塞栓症が知られるが、AMIはまれである。AMIは川崎病などの基礎疾患がある場合を除き若年者では極めて稀である。本例は川崎病の既往なく、心エコーで冠動脈主幹部の動脈瘤や拡張はない。糖尿病、高脂血症などの動脈硬化促進因子もなく、AMIはDMDと関連した病態が疑われる。凝固線溶系では、FDPの軽度上昇の他はすべて正常だった。これまでDMD若年例でのAMIの報告はごく少数例にすぎず、本例は貴重である。DMDの合併症として虚血性心疾患にも注意すべきと思われる。

結 論

DMDの合併症として、虚血性心疾患にも注意していくことが必要である。

4. Duchenne型筋ジストロフィー死亡例の臨床的検討

1991年8月～2001年7月の10年間に、当院入院中に死亡したDMD患者25例を対象とし、臨床経過、死亡原因、病理所見等につき検討した。

結 果

死亡年齢は、12～37歳、平均 22.9 ± 7.2 歳であった。直接死因は、心不全悪化15例(60%)、食物・痰による窒息4例(16%)、肺炎による呼吸不全悪化4例(16%)、突然死2例(8%)であり、特に20歳未満で進行性に心機能が低下し死亡した例が8例(32%)あった。心不全治療例は21例(84%)、治療開始年齢は12～30歳、平均17.1歳。人工呼吸管理例は11例(44%)、呼吸管理開始年齢は16～25歳、平均20.0歳、気管切開施行例は8例(32%)、施行年齢は18

～28歳、平均22.4歳。心不全治療開始から死亡までの期間は、0.3～15年、平均5.5年で、心不全顕性化後1年以内に死亡した例も2例あった。人工呼吸管理開始から死亡までは1～11年、平均5.5年、気管切開施行から死亡までは1～10年、平均5.6年。気切者8例の死因は、心不全悪化7例、肺炎1例。特異な合併症として、経過中に脱水とともに脳梗塞を来した例が1例あった。剖検は8例あり、死亡年齢は18～32歳、平均23.3歳。骨格筋以外の所見として、心筋の変性・線維化が共通にあり、肝の脂肪変性が6例、大動脈の狭小・菲薄化が3例あった。肺梗塞はなかった。外眼筋封入体が2例で見られた。中枢神経系の病変としては、脳梗塞が2例あり、うち1例は無症候性であった。その他脳回異常が7例、異所性神経細胞が7例でみられた。脳重は1115～1700g、平均1405gであった。

考 察

人工呼吸管理により呼吸不全死は少ないが、心不全の進行による死亡が多い。特に若年時から心不全をきたす例は予後不良であり、感染等を契機として進行性に心機能は低下し、肺鬱血、胸水貯留、肝鬱血・黄疸、腹水等を伴いながら死に至った。突然死の2例も心不全を有し、剖検での心筋障害が強く、不整脈など心臓との関連が推測された。呼吸管理により呼吸不全死は減少し、心不全管理がDMDの予後決定に重要となった。ACE阻害剤等による早期治療により予後改善がみられるが、心不全の急速進行例の管理が今後の課題である。また、脱水に伴い脳梗塞を来した例が1例、無症候性の脳梗塞が1例あり、凝固系の異常、脱水等には注意を要する。剖検所見としては、知能障害の有無と無関係に、脳回異常、異所性神経細胞など中枢神経系の発達異常を示唆する所見があり、脳機能との関連は不明だが、DMDの中枢神経障害を検討する上で注目される。

結 論

DMDの予後決定因子として心不全管理が重要であり、治療法の検討が今後の課題である。剖検例では筋以外の所見として中枢神経系の形態異常があり、中枢神経障害を検討する上で重要な所見と思われる。

3年間のまとめ

本家 一也

国立療養所医王病院

平成11年度から13年度まで筋ジス研究石原班に分担研究者として参加し、筋ジストロフィーに対する薬物療法に関する二つの研究を行った。以下に、これらの研究の概要と結論を記し、3年間のまとめとする。

その一つは筋強直性ジストロフィー(MYD)患者の呼吸障害に対するセロトニンタイプ1Aレセプターアゴニストの有用性についての研究である。MYD患者にしばしば認められる睡眠時の呼吸不全は肺活量の低下よりは中枢性無呼吸の要因が強い。この対策としてNIPPVやCPAPが試みられているが、適応できない患者が多く、また、QOLの点からも問題がある。そこで、中枢性無呼吸に有効との報告があるセロトニンレセプターアゴニストがMYD患者の夜間の呼吸障害に対して有用であるかについて検討した。

1年目は少数の患者に対してセロトニンタイプ1Aレセプターアゴニストを少量から短期間投与し、本薬剤の有効性について検討した。

夜間、動脈血酸素飽和度が低下するMYD患者3名に坑不安薬として市販されているセロトニンタイプ1Aレセプターアゴニスト(セディール)を、まず15mg/日で2週間投与し、その後、通常の投与量である30mg/日に増量し、2週間投与、夜間の呼吸状態への影響を調べた。投与前、15mg投与中、30mg投与中、投与終了後にそれぞれ2回、パルスオキシメーターで夜間の動脈血酸素飽和度をモニターし、比較検討した。また、副作用についても調査した。その結果、3症例いずれにおいても本薬剤投与により夜間の呼吸状態は改善し、その効果は30mg投与で大きかった。しかし、無呼吸を完全に防止することはできなかった。副作用については30mg投与においても特に認められず、夜間よく眠れたとの意見があった。

2年目では、対象患者を5名に増やし、また、長期投与を行い、本薬剤の有用性を検討した。30mg/日、分3で、朝、昼、20時に、約5ヶ月間投与し、日中の動脈血ガス分析値(AGA)、努力肺活量(FVC)および夜間の動脈血酸素飽和度(Sat O₂)の変化を調べた。また、副作用についても調査した。その結果、夜間の呼吸状態は投与期間が長くなるほど改善した。一方、日中のAGAには変化は認められず、本薬剤の効果は呼吸促進作用によるものではなく、やはり無呼吸防止作用によると

考えられた。また、長期投与においても、とくに副作用は認められなかった。

以上、本研究の結論としては、セロトニンタイプ1AレセプターアゴニストはMYD患者に認められる中枢性呼吸障害に対して有用であり、夜間、呼吸状態の悪いMYD患者では、人工呼吸管理を行う前に、まず本薬剤による治療を試みるべきと考える。なお、本薬剤の効果については少なくとも3ヶ月以上投与し、判定する必要がある。

もう一つは、Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)患者に対するアンギオテンシン変換酵素阻害剤の早期投与についての研究である。

DMDの高年齢者では、血管拡張による心臓後負荷の軽減、心筋保護作用、呼吸障害によるレニン-アンギオテンシン系亢進に対する抑制を目的として、ほぼ全例にアンギオテンシン変換酵素阻害剤(ACEI)が投与されている。しかし、いつから投与を開始するかについては様々な意見があり、標準化されていない。現在、若年者での投与例は少ないと思われるが、10才以前から心電図異常を認める例が多く、また、15才以前に心筋症の悪化する症例もあることから、早期からの投与が必要と考えている。また、DMDでは一酸化窒素(NO)産生が低下しているとの報告や、ACEIがNO産生を賦活するとの報告があり、ACEIが骨格筋に対して保護作用を有する可能性もある。本研究では、DMDの若年者にACEIを長期投与し、その有用性を検討している。

平成12年6月より15才以下のDMD患者に対して順次、ACEIの投与を開始している。なお、本研究については患者、家族に十分に説明し、同意、参加希望のもとに行っている。ACEIにはマレイン酸エナラプリル(レニベース)を使用し、2.5あるいは5mgを連日、朝1回投与し、投与期間は現在までで5から16ヶ月となっている。有用性の検討のために、心胸郭比(CTR)、心電図、血清CK値、運動機能障害度を経時的に調べるとともに、副作用症状の有無の調査や血圧測定、血液検査を行っている。

10才以前に投与を開始した12名では、ACEI投与開始時の年齢は6才から10才、運動機能障害度は1から6、体重は18.5 kgから43.9 kgであった。これらの患者のCTRの推移については、50%以上の4例中、経過の短い1例を除く3例でそれぞれ55から47%、53から50%、56から50%に低下し、50%以下の症例についても、1例を除いて低下しているか、変化はなかった。

血清CK値の推移では、ステージ1の2例でそれぞれ10000前後から2000前後に、30000台から10000台に低下したが、その他の症例では特に変化はなかった。

運動機能障害度については、投与期間中3例でそれぞれ2から3、2から3、6から7に移行し、9例で変化はなか

った。

副作用については、全例において咳、低血圧などの副作用症状は認められず、また、血液検査においても特に異常を認めていない。

従来よりDMDでは心不全死が15%ぐらいに認められ、そのほとんどが10才から15才の若年者で占められるとされている。本研究に参加している15才以下のDMD患者19名のACEI投与前の検査では、7才時頃からVIR/S比が1以上などの心電図異常を認める例があり、10才以上ではほとんどの症例で異常を認めた。また、CTRについても10才以下の12例中4例で50%以上と心拡大を認めた。心筋症の重症度とCTRはよく相関すると言われており、これら心拡大を認める患者が若年での心筋症重症例になる可能性が高いと思われる。心筋症が重症化してからのコントロールは困難であり、若年での心不全死を防止するには早期からの治療が必要と考える。今回の検討では心拡大を認めた4例中3例でCTRは低下した。ACEIは心筋保護を目的に軽症から中等度の心筋症に使用されているが、心拡大を認める10才以下のDMD患者では単独投与でも有効と考えられる。投与量については大人に対する投与量から通常のとおり計算した投与量としたが、特に副作用は認められなかった。

現在までの本研究の結論としては、10才以下の若年DMD患者の心筋症に対してもマレイン酸エナラプリルは有用であった。10才以下ですでに心拡大を認める患者もいることから、全てのDMD患者において7才頃より心筋保護のため、本薬剤の投与を開始していくべきと考える。骨格筋症状に対するACEIに影響については、さらに投与を続行し、検討していく。

Duchenne型筋ジストロフィー患者の 心室性不整脈に関する研究 —特に12誘導心電図のQT 時間に注目して—

渡辺宏雄¹⁾

加藤義弘^{1) 2)}、山田重昭¹⁾

国立療養所長良病院小児科¹⁾、
岐阜大学医学部スポーツ医科学²⁾

Duchenne型筋ジストロフィー患者の聴性脳幹 反応 (ABR) について

山田信二³⁾

厚生連中濃病院小児科³⁾

【はじめに】 Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)者において、心室性不整脈は突然死の原因ともなり、心不全治療においては心室性不整脈に対する十分な注意が必要である。心筋梗塞後や拡張型心筋症等の慢性心不全患者において、心筋の再分極過程の空間的なばらつきが増大が心室性不整脈の出現に関与している事が報告されている。再分極過程のパラツキの評価方法として、心電図によるQT dispersion(QTd)やRT dispersionの測定があげられる。

<平成12年度>

QT dispersionとLown分類について

【QT dispersionとは】

QTdは各誘導でQT時間を計測し、最大QTとなる誘導と最小となる誘導のQT時間の差をいう。

【方法】 入院中のDuchenne型筋ジストロフィー患者22名(年齢28.1±7.1(SD)歳)を対象とした。24時間ホルター心電図記録を行い、Lown分類にてVPCの重症度分類を行った。同時期に12誘導心電図の記録を行いQT dispersionの計測を、また採血により血中ANP、BNP濃度の測定を行った。QT dの測定は50mm/秒の紙送り心電図記録を行い各誘導のQT時間をマニュアルで測定した。QT時間をBazzetの式で補正したものをQTcdとした。12誘導心電図記録は、全例午後1時から3時の間に行った。

【結果】 QTcd, ANP, BNPともLown分類の重症度が高くなるほど大きくなる傾向がみられたが、各群間で有意差はみられなかった。

(表1) Lown分類別の患者数と各検査の平均値と標準偏差を示す。

Lown分類	n	QTcd n(msec)	ANP(pg/ml)	BNP(pg/ml)
0	3	53.8±15.3	16.7±10.7	4.2±2.5
1	8	53.9±23.5	49.8±75.6	16.9±17.6
2	2	53.5±5.2	45.0±15.6	25.5±16.0
4a	6	82.4±43.3	49.2±30.6	41.9±56.3
4b	3	99.1±43.3	118.3±114.9	145.5±179.1

<平成13年度>

Recovery Time dispersion(RTd)と持続性心室性不整脈について

【Recovery Time dispersionとは】

平成13年度は特に12誘導心電図でのRecovery Time (RT)に着目した。RTはQRSの立ち上がりからT波の最大微分点までの時間であり、局所心筋までの興奮伝導と活動電位の終了までの時間を反映するとされている。RTdはQTd同様最大RTとなる誘導と最小となる誘導のRT時間の差をいう。

【方法】 入院中のDMD患者27名を対象に24時間ホルター心電図記録を行った。その結果、2連発以上の心室性期外収縮(PVC)のみられた症例を重症群(13例)、PVCがみられないかみられても単発性のものであった症例を軽症群(14例)とした。

同時期に12誘導心電図の記録を行い、QT計測ソフト(フクダ電子社製QTD-1)を用いQTとRTの計測を行った。各誘導においてそれぞれQTとRTの計測を行い、それぞれ最大のQT(RT)となる誘導と最小となる誘導間の差をQT d (RT d)とした。心電図記録は昼食後12時30分から14時までの間に行った。心臓超音波検査Mモード法にて、左室拡張末期径(LVD d)と左室駆出率(EF)の計測を行った。また採血により血中ANP、BNP濃度の測定を行った。

【結果】 軽症群と重症群の各検査結果の平均±標準偏差を表に示す。RTd, ANP, BNP, LVDdにおいて軽症群と重症群の間で有意差がみられた。QTd, 年齢, EFでは有意差はみられなかった。

	軽症群(n=14)	重症群(n=13)
年齢	32.1±10.2	31.1±7.3
QT d (msec)	54.6±26.1	47.8±18.0
RT d* (msec)	49.9±24.6	84.4±36.6
ANP* (pg/ml)	39.5±20.5	56.4±25.1
BNP* (pg/ml)	15.0±15.4	70.3±54.7
LVD d* (mm)	43.1±9.1	56.1±11.6
EF (%)	45.7±18.9	30.2±17.8

*: p<0.05

【2年間のまとめ】

12誘導心電図ではベットサイドにて比較的短時間で簡単にできる検査であり、この所見にて重症不整脈の予知が可能であるとすればDMD患者の心不全治療をしていく上でとても有用である。

平成12年度の研究では、DMD患者においてLow分頻による心室性不整脈の重症度が大きくなるほどQTdも大きくなる傾向がみられたが各群間で有意差はみられなかった。また、心電図記録用紙からのマニュアルでのQT時間の測定は計測困難な例も少なからずあり、臨床の場で使用するには難しい点が多いと感じられた。平成13年度はQT計測ソフトを用いQTとRTの計測を行った。特にRTの計測はT波の最大微分点で決定されるため、測定者による誤差が少なく再現性が高いとされている。QT d には有意差はみられなかったがRT d は連発性の心室性不整脈のみられる群で有意に大きくなった。DMD患者において心筋の再分極会における空間的なバラツキの検討は、血中BNP値や心エコー検査のLVDdの所見とともに重症心室性不整脈の予測に有用であると考えられた。

<平成11年度>

前班員の山田信二が調査した。DMD患者27人を以下の3群に分けABR検査を施行し、V-1波間潜時を測定した。

- 1群：人工呼吸器未使用のDMD患者7人
- 2群：NIPPV使用しているDMD患者17人
- 3群：気管切開し、人工呼吸器使用しているDMD

【結果】 ABRの V-1波潜時は正常コントロールでは平均4.21±0.13msec、人工呼吸器未使用DMD患者では平均4.11±0.22msec、NIPPV使用DMD患者では平均4.49±0.19msec、気管切開しているDMD患者では平均4.36±0.10msecだった。NIPPV使用DMD患者ではABRの V-1波潜時は正常コントロール及び呼吸器未使用DMD患者と比べ有意に潜時が延長していた (p<0.05)。

各グループのHANP, BNP値平均は

	HANP(pg/ml)	BNP(pg/ml)
1群	20.7±9.9	13.3±13.1
2群	42.6±51.0	30.4±68.9
3群	22.7±9.4	24.3±12.9

NIPPV使用DMDのグループHANP、BNPの平均値高くなっているがこのグループでは6例HANPまたはBNPの上昇を認めた。この上昇していた6例のABRの V-1波潜時は平均4.53msecで上昇を認めなかった11例の平均4.47msecと有意差認めず。HANP、BNPの上昇とABRの V-1波潜時の延長は関係認めなかった。

各グループのPaCO₂、PaO₂の平均は

	PaCO ₂ (mmHg)	PaO ₂ (mmHg)
1群	44.2±5.6	88.0±25.2
2群	54.9±7.5	72.7±15.3
3群	23.3±4.4	107.0±12.4

で明らかに人工呼吸器未使用のDMD患者及び気管切開しているDMD患者と比べてNIPPV使用DMD患者では換気状態が悪かった。

【結論】 NIPPV使用DMD患者で、V-1波間潜時が延長しているのは、気管切開して換気保たれているDMD患者では正常であることより慢性の呼吸不全によるためと考えられた。

DMD患者における中枢障害— 脳画像(Functional MRI)を用いた研究

樋口嘉久、光吉 出、森村達夫、白坂幸義
国立療養所宇多野病院

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィーにはしばしば精神発達遅滞を合併する。幼児期には言語発達遅滞を呈したり、自閉的傾向がみられる⁽¹⁾⁽²⁾。また精神発達遅滞のない患者において言語性IQが低い傾向が報告されている⁽³⁾。Dystrophinは脳にも発現しており脳機能にも関与していると考えられるが言語機能の低下の原因となる器質的変化はまだ未解明である⁽⁴⁾。言語障害は神経心理学的検討が主で脳機能画像からの検討は少ない。今回われわれは単語記憶負荷時Functional MRIを用いてDuchenne型筋ジストロフィー患者における言語記憶に関する優位側の検討した。次に発語負荷を行って小脳およびBroca野の活性化負荷を試みた。

方 法

[BOLDコントラスト法]

特定関心領域における神経活動の活性化が生じると局所脳血流量増加を生じさせるが消費酸素量は血流ほどは増加しない。このため、当該活性化部位では酸化型ヘモグロビンの増加と相対的な還元型ヘモグロビンの減少が生じる。この変化はT2*信号強度の増加として表される⁽⁵⁾。

[1] 単語記憶負荷

対象：4名のDuchenne型筋ジストロフィー患者に同意を得て施行した。年齢は17~18才で全員右利きである。新版K式による発達指数は64~92であった。1例はexon 3 - 6、1例はexon47-52の欠失を認めたが、2例については免疫組織学的にDystrophin欠失を認めるが遺伝子欠失部位は特定されていない。

撮像方法：撮影は1.5T MRIによるGradient Echo法で行った。TR/TE/FA 400/60/40, Matrix 256x256, 5mmスライス条件にて撮像した。撮像面はまず両側傍矢状断面より両側Sylvius溝を含む平面を設定し、この面を平行移動させて側頭極を通過する面との間に4平面を設定した。この中の撮影面には海馬、Wernicke野が含まれる。

負荷方法：三宅式単語記銘テストを用いた。互いに意味が関連する2つの単語(有関連語)を2語1組として10組、互いに意味が関連しない2つの単語(無関連語)10組、計40単語を聴取させ記憶させることを負荷とした。30秒間の静止安静(無負荷対照)と30秒間の聴取・記憶(有関連語2回、無関連語2回)を繰り返して撮像した。無負荷

時信号と負荷時平均信号強度の差分画像をT1画像に重ね検討した。また検査直後の記憶語組数を計数した。正常(右利き)対照群で今回と同様の負荷を行うと左海馬および左Wernicke領野に信号増加が得られる。正常(右利き)対照群で今回と同様の負荷を行うと左海馬および左Wernicke領野に信号増加が得られる。

[2] カテゴリー発語負荷

対象：3名のDuchenne型筋ジストロフィー患者に同意を得て施行した。年齢は17~18才で全員右利きである。新版K式による発達指数は63-86であった。1例については免疫組織学的にDystrophin欠失を認めるが遺伝子欠失部位は特定されていない。1例はexon45、1例はexon49-50の欠失を認めた。

撮像方法：撮影は1.5T MRIによるGradient Echo法で行った。TR/TE/FA 400/60/40, Matrix 256x256, 5mmスライス条件にて撮像した。撮像面はOrbitomeatal lineと30度の角度をなす。次にこの面を平行移動させて小脳を通過する4平面を設定した。この中の撮影面には小脳およびBroca野が含まれる。

負荷方法：以下のカテゴリーに属する単語をできるだけ顔面を動かさずに発語させた。発語を30秒の発語と30秒の静止安静を各4回撮像した。カテゴリーは発語撮像直前に験者が無作為に指示した。

野菜, 果物, 身体部位, 乗り物, 麺類, 親戚, タレント, 都市, 山, 外国

(原著(6)では野菜, 果物, 身体部位, 輸送手段, パスタの種類, 親戚, 有名人, 都市, 山, 国)

[1]と同様に無負荷時信号と負荷時平均信号強度の差分画像をT1画像に重ね検討した。

結 果

[1] 対象となった4人は全員が左側海馬に活性化が示した、うち2例では左側Wernicke野にも活性化が見られた。この際の記憶語数は8~11語であった。

[2] 3例とも小脳に活性化を認めなかった。また体動によるartefactのためBroca野の評価は困難であった。

考 察

DMDにおいて知的障害が合併しやすいことはよく知られており、Dystrophinが脳に発現しており、その機能不全から生じてくると考えられ注目を集めている⁽⁴⁾。しかしそのメカニズムは明らかではない。それはDystrophinの脳における発現、局在そして役割が多様であるからと考えられる。中枢神経におけるdystrophinの役割には1) migrationやシナプス発生など神経系形成への関与、2)ニューロン内のCa制御因子として細胞内信号伝達への関与、3)神経伝達物質のレセプターを細胞膜上に安定させる因子としての機能⁽⁴⁾などがある。中枢神経系に発現するDystrophinには

多くのisoformがあり、グリアに発現するM-promoter由来、大脳、海馬ニューロンに発現するC-promoter由来、小脳Purkinje細胞に発現するP-promoter由来がある。この他にもDp260, Dp140, Dp116, Dp71が発現している⁽⁷⁾。

Dystrophin遺伝子変異部位と特定の中樞神経症状との関連も定まっていない。知的障害を合併する例はDystrophin遺伝子遠位部に変異が多いという報告はあるが、関連性に留まっている⁽⁸⁾。同じ遺伝子変異でも知的障害を合併しない例も多く、同胞例の一方のみに合併する場合もある⁽⁹⁾。また自閉症やADHDについても変異部位との関連はまとまった報告はない。自閉症やADHDは知的障害や認知障害のある発達段階における表現とも考えられ⁽¹⁰⁾、特定の変異部位との関連付けは困難かもしれない。

近年様々な脳画像の技法が発達し、DMDにおいても検討が行われてきている。Positron Emission Tomography(PET)を用いた小脳のhypometabolismや⁽¹¹⁾、またMagnetic Resonance Spectroscopy(MRS)により小脳におけるCholine含有物の増加が報告されている⁽¹²⁾。特に後者ではmdxマウスおよびDMD患者においてMRSを用いた分析を行い小脳においてCholine含有物の増加(Cho/Cr信号増加)がみられること、DMD患者においては認知機能が高いほどこの増加が著明であると報告している⁽¹²⁾。DMDに特有でかつ認知機能に相関するという所見は中樞神経におけるDystrophinの機能を検索する上で有力な手がかりになると思われる。今後小脳機能の画像検討を進める必要がある。

今回の検討[1]では右利きDMD患者の言語記憶に関する優位側は左側と考えられた。DMDにおける言語性発達障害や言語性IQの低さは優位中樞の側性変化という比較的大きな構造変化によるものではないと思われる。ヒトの言語中樞優位側は会話音に対する誘発電位に左右差がみられることから出生時にはある程度決定されていると考えられている⁽¹³⁾。早期に優位側が障害された場合非優位側の障害に比べて言語発達に影響しやすいとされるが、4-5才頃までに障害を受けた場合反対側に動く可塑性も維持されている⁽¹⁴⁾。

DMD患者でしばしば前頭側頭葉を中心に皮質形成異常やdendriteの発達異常が認められる。この形成異常が広範囲であれば言語記憶中樞の優位側変化も生じうるが、同時に重度の知的障害も合併するはずである⁽¹⁵⁾。DMDにおける言語機能の変化は微細構造形成における障害か細胞内やシナプスにおける信号伝達におけるDystrophinの機能障害に起因すると思われる。

今後の問題点としては検査方法の改善があげられる。撮像中の器械音の影響排除、被験者のDQからみて10-12才程度に合わせた単語負荷を検討中である。撮像法も差分画像に統計処理を加える必要がある。また今回

検討できなかった小脳を活性化する負荷方法を検討したい。

- (1) 熊谷俊幸. 脳と発達. 2001;33:480-486.
- (2) Billard C. Neuromuscul Disord. 1992;2:371-8.
- (3) Leibowitz D. Dev Med Child Neurol. 1981; 23:577-590
- (4) Mehler MF. Brain Research Reviews. 2000; 32:277-307.
- (5) Sanders J. Functional Brain Imaging, Ch7, 1995, Mosby.
- (7) Cognitive Neuropsychology. 1988;5:711-721,
- (8) Moizard et al. Am J Med Genet. 1998;80:32-41,
- (9) 光吉出. 平成8-10年度石原班研究報告書 p217-221
- (10) Davidovicz HM. Pediatric Behavioral Neurology, Ch 3, 1996, CRC
- (11) Bresolin N. Neuromuscular Disord. 1994;4: 359-369.
- (12) Rae. J Neurol Sci. 1998;160:148-157
- (13) Herschkowitz N. Neuropediatrics. 1999;30:221-230.
- (14) Duchowny M. Ann Neurol. 1996;40:31-8.
- (15) Wibawa T. Brain Dev. 2000;22:107-12.

筋ジス研究石原班 3年間のまとめ報告書 3年間の研究成果と残された課題について

班 員 三木哲郎

愛媛大学医学部老年医学

共同研究者 野村拓夫, 田口敬子, 名倉 潤

愛媛大学医学部老年医学

山縣英久, 近藤郁子

愛媛大学医学部衛生学

下川雅丈

東京医科歯科大学脳神経機能病態学

荒井 洋

大阪府母子総合医療センター

[緒言]

筋強直性ジストロフィー1型(DM1)の臨床面では先天型と古典型で筋肉症状の病態が異なるため、双方の筋肉組織を遺伝子レベルのみならず、RNAレベル、蛋白レベルで比較検討する事が重要である。われわれは先天型DMの剖検組織を収集しており上記解析を進めている段階にある。またDM1が優性遺伝病である分子生物学的機序が、まだ十分解明されておらず、さらにトリプレットリピートがいかなる機構で伸長するのか、伸長したリピートが遺伝子の発現・翻訳にいかに関与し、伸長したリピートが遺伝子の発現・翻訳にいかに関与し、疾病として発症するのか、依然不明である。われわれはこれらの疑問を解決するために3年間に行ってきた研究成果と残された課題について、以下に述べる。

[先天型DM1の筋肉組織]

まず初年度は、NICUでも救命できなかった1歳未満の超重症先天型DM剖検4例の筋肉計21箇所を病理所見、DNAレベル、さらにDMPK蛋白レベルでコントロール(成人筋肉組織および感染症で死亡した1歳未満児の剖検筋肉組織)と比較検討した。4例の内訳は、死亡時月齢0ヶ月2例は四肢運動が見られずfloppyであったが、11ヶ月の2例は四肢運動は見られた。方法としては、各組織からDNAを抽出し、CTGリピート数をサザンハイブリダイゼーションにて決定した。DMPK蛋白の発現はDMPK蛋白C末端に対するポリクローナル抗体を使ってWestern blotで検討し、一部免疫組織化学にて電顕レベルで発現部位を調べた。(CTG)リピートに関して、先天型DM1患児白血球のリピート数はいずれも1600以上と極端に長かったが、リピート数と病理所見や臨床症状との相関はなかった。患児4例とも骨格筋の方が白血球よりリピートが長い、その差はいずれも2 kb以内であり、筋肉間の差は少なく生

下時は体細胞モザイクが少ない事が示唆された。DMPK蛋白は明らかに発現が見られたが、以前のカナダのグループの報告のような発現亢進ではなく、やや低下を示した。DMPKの発現は先天型DM1であっても成長と共に調節されている事が示唆されたが、DMPK自体は先天型DM1の表現型にあまり関与していないと思われた。

[ホモ接合性DM1の臨床像]

2年度は遺伝子型と表現型について興味あるホモ接合性DM1の2家系を追跡できたのでそれについて研究した。トリプレットリピート病の中には、同じ優性遺伝であってもハンチントン病や脊髄小脳失調症1型の様にホモとヘテロで症状が変わらない(遺伝子の形質が真の優性であり、遺伝子効果が強すぎてホモもヘテロも同じ表現型になる)ものもあれば、マシヤドジョセフ病やDRPLAの様にホモ接合体の方が重症の場合もある。DM1のホモ接合体の症例も非常に稀であり、世界的にも10例に満たず、スペイン人と日本人がほとんどである。昔は極めて重症か致死的とされてきたが、近年の報告によると大部分のホモ接合体は軽症である事がわかっている。その理由として(CTG)リピート数があまり長くない事が考えられる。今回われわれは2家系3例にホモ接合性DM1を見出し、臨床症状を比較した。

A家系は31歳の兄と30歳の妹の症例、B家系は51歳男性の症例である。31歳の症例はリピート数が79と400、30歳の症例は79と670、51歳の症例は70と1400であった。いずれも一方のアレルは100以下、他方は100以上であり、3例とも短いアレルが母由来(母親は白内障のみの軽症例でリピート数は100以下)、長いアレルが父由来と類推された。B家系の例は両親がいと婚であった。

A家系の比較では妹の方が障害が高度であり、重症度は長いアレルのリピート数と相関していた。B家系51歳男性症例は成人型症状を呈していたが、発症年齢は思春期と考えられた。症状と検査により1)ミオトニーの程度(臨床症状または筋電図) 2)筋力低下の程度 3)白内障 4)心病変(不整脈、心筋シンチ) 5)前頭部脱毛 6)過睡眠 7)骨の肥厚 8)脳MRIによる白質病変 9)胆石 10)脂肪肝、の10項目で3症例を比較すると、A家系の妹は10項目すべて合併していたが、兄の方は6項目しか該当しなかった。B家系の症例では脳、肝、胆嚢に関しては検査できていないが、調べた6項目すべて該当していた。3例の長い方のリピート数は発症年齢、知能低下と相関していた。

ZlotogoraはDM1の形質が真の優性遺伝であり、遺伝子効果が強すぎてホモもヘテロも同じ表現型になってしまうとの説を唱えているが、リピート伸長がともに大きい症例がないのは、重症ホモ接合体致死説を示

唆している。今回の解析ではDM1の形質が真の優性遺伝であるかどうか、結論は出なかったが、リピート数が両方とも相当伸長したホモ接合体症例のさらなる解析が、重要となる。今回の結論として、ホモ接合体症例では長いアレルのリピート数と症状が相関している事が示唆された。

[DM1の創始者染色体]

3年度はDM1の遺伝子異常がどのようにしてできたかについて解明すべく、日本人DM1の創始者染色体を追求した。

これまでわれわれは日本人のDM1患者変異アレルがほとんどの白人と同様にハプロタイプAであり、CTGリピート数が20以上の患者予備軍から50以上の患者まで徐々に伸長していく多段階モデルを提唱してきた。今回さらにリピート周辺26kb領域(テロメア側よりDMWD遺伝子—DMPK遺伝子—SIX5遺伝子の順で並んでいる)にある新しい遺伝子多型マーカーを追加して患者家系を使った、より詳細なハプロタイプ解析と連鎖不平衡解析を行い、DM1の創始者染色体を追求した。

本研究では5種類の新規遺伝子多型が同定され、この領域は既報告の8箇所の遺伝子多型と併せて、13箇所の多型で集団をハプロタイプに分類できる。5種類の多型の部位をテロメア側よりA, B, C, D, Eとすると、予測されたようにこれらの多型の間には強い連鎖不平衡が見られた。しかし、SIX5遺伝子第3エキソンの2つの遺伝子多型DとEの連鎖不平衡だけは違った状況であった。すなわちSIX5遺伝子第3エキソン領域で昔、欠失や逆位など大きな遺伝子変異があった事が示唆された。

またハプロタイプAはA1からA6のサブグループからなり、DM1アレルはA1に属し、19リピート以上のアレルと同じグループだが、A2-A6に属する5リピートとは異なり、起源がまったく別である事が判明した。

今回の結論として、DM1の創始者染色体は従来言われてきた(CTG)5リピート由来ではなく別の形(ある限られた(CTG)19リピート以上の集団の先祖)より起源する事が示唆された。

[残された課題]

先天型DM1の筋肉組織の解析にはさらに多くのサンプルが必要であり、今回はコントロールとして正確には年齢が一致しておらず、今後年齢をマッチさせたサンプルの解析が重要となる。最近、筋肉組織のサテライト細胞の欠損が先天型DM筋の未熟さと筋萎縮に関連しているとの報告がフランスのグループより出され、成人型DMとの違いが少しずつ解明されつつ

あるが、解析には多くのサンプル収集が必要であるので今後ともサンプル収集に努めていきたい。ホモ接合体DM1の病態を解明するために今後とも症例収集に努めていきたい。また(CTG)リピート伸長機構の多段階モデルは現時点では適合度の高いモデルであるが、そのメカニズム解明のためにはさらなる解析が必要である。

[参考文献]

- 1) Ueda H, Shimokawa M, et al.: Decreased expression of myotonic dystrophy protein kinase and disorganization of sarcoplasmic reticulum in skeletal muscle of myotonic dystrophy. *J Neurol Sci* 162: 38-50, 1999.
- 2) Cobo A, Martinez JM, et al.: Molecular diagnosis of homozygous myotonic dystrophy in two asymptomatic sisters. *Hum Mol Genet* 2: 711-715, 1993.
- 3) Roeder E, Jain K, et al.: Homozygous myotonic dystrophy. *Am J Hum Genet* 55 (Suppl): A7, 23, 1994.
- 4) Martorell L, Illa I, et al.: Homozygous myotonic dystrophy: clinical and molecular studies of three unrelated cases. *J Med Genet* 33: 783-785, 1996.
- 5) Zlotogora J: Dominance and homozygosity. *Am J Med Genet* 68: 412-416, 1997.
- 6) Yamagata H, Nakagawa M, et al.: Further evidence for a major ancient mutation underlying myotonic dystrophy from linkage disequilibrium studies in the Japanese population. *J Hum Genet* 43: 246-249, 1998.
- 7) Furling D, Coiffier L, et al.: Defective satellite cells in congenital myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet* 10: 2079-2087, 2001.
- 8) 山縣英久, 野村拓夫ら: 筋強直性ジストロフィー. *内科* 87: 718-721, 2001.

筋ジストロフィー研究石原班 1999～2001年度、3年間のまとめ

班 員 安東範明

(国立療養所西奈良病院神経内科)

共同研究者 平田幸蔵

(国立療養所西奈良病院神経内科)

村田顕也 (奈良県立医科大学神経内科)

上野 聡 (奈良県立医科大学神経内科)

1. 凝固異常プロジェクト

(1) 筋ジストロフィーの血栓準備状態に関する全国調査

2000年度には、筋ジストロフィーの血栓準備状態についての全国調査プロトコールと調査票、およびワーファリン全国試験のプロトコールと調査票の作成を行った。

2001年度は、全国レベルで、筋ジストロフィーの凝固線溶系亢進状態の実体を明らかにする目的で調査を行った。

対象と方法

対象は全国筋ジストロフィー担当27国立療養所等に入院中のDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)およびBecker型筋ジストロフィー(BMD)の男性患者。各施設にて採血上の注意事項に留意した上で採血を行い、血液を同一検査機関(SRL)に集め、以下の凝固線溶系マーカーを求めた。①プロトロンビン値(PT)、②活性化部分トロンボプラスチン値(aPTT)、③トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体(TAT)、④プロトロンビンフラグメントF1+2(PTF1+2)、⑤プラスミン- α 2プラスミンインヒビター複合体(PIC)、⑥D-dimer。

同時に、調査票記入方式にて生年月日、身長、体重などの患者プロフィール、血栓塞栓症の既往歴、下肢機能障害度、人工呼吸の有無と種類、採血前2ヶ月以内の胸部X線写真での心胸郭比(CTR)、心エコー検査での心駆出率(EF)、末梢血所見、BNP、ANPについて調査した。

結 果

17施設からDMD164例(24.2±5.8歳)、BMD26例(44.8±10.7歳)の結果が得られた。DMDの下肢機能障害度は全例ステージⅥ以上で、ステージⅥが8例、ステージⅦが50例、ステージⅧが106例だった。人工呼吸は使用無しが59例、NIPPVが67例、TIPPVが38例だった。BMDの下肢機能障害度はステージⅤが8例、ステ

ージⅥが2例、ステージⅦが4例、ステージⅧが12例だった。人工呼吸は使用無しが15例、NIPPVが4例、TIPPVが7例だった。

DMDの凝固線溶系マーカーの結果で、PTの異常値出現率(以下、異常率)は33.5%、aPTTの異常率は68.3%と、aPTTの異常率が大きかった。この2つとも、全ての異常値は短縮しているのではなく、むしろ延長していた。TATの異常率は36.0%、PICの異常率は53.7%で、線溶系優位に亢進していた。PTF1+2の異常数は84例で、異常率は51.2%だった。内訳は正常範囲以上が15例、正常範囲以下が69例と、低下している症例が多かった。D-dimerの異常率は16.5%だった。

BMDの凝固線溶系マーカーの結果も同様の傾向だった。PTとaPTTの異常は全て延長だった。PTF1+2の異常は高値1例、低値4例だった。

DMDとBMDで、TAT、PIC両者の異常を示した者は、それぞれ40例(22.4%)と5例(19.2%)だった。DMDでCTR55%以上の症例は31例(19.6%、n=158)、EF40%以下の症例は24例(49.0%、n=49)、CTR55%以上もしくはEF40%以下の症例は49例だった。BMDでCTR55%以上の症例は4例(15.4%、n=26)、EF40%以下の症例は6例(66.7%、n=9)、CTR55%以上もしくはEF40%以下の症例は9例だった。

昨年度の班会議にて提唱したワーファリン臨床試験の対象である「心機能障害が示唆され、凝固線溶系検査で異常が認められた患者」すなわち、「CTR55%以上もしくはEF40%以下で、TAT、PIC両者の異常を示した者」は、DMDで11例、BMDでは1例だった。

血栓塞栓症の既往については、DMDでは既往のある者はなく、BMDで2例に脳梗塞の既往があった。そのうちの1例はPICとD-dimer、もう1例はPICが高値だった。

TAT、PICと各調査項目の相関について、各データは正規分布していなかったのでSpearman検定をおこなった。DMDで、TATとPICの間に有意な正の相関があった。また、PICと年齢(age)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン値(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)の間に有意な正の相関を認めた。

DMDで、下肢機能障害度ステージⅧの症例は、ステージⅥとⅦに比べPICが有意に高値だった。また、NIPPVとTIPPVの陽圧人工呼吸を受けている症例は、人工呼吸無しに比べ、TAT、PICともに有意に高値を示した。

考 察

凝固線溶系の最終段階である、フィブリノーゲンからフィブリンが生成され、さらにそれが線溶する過程は明らかに亢進していることがわかった。そして、凝固外因系と内因系については、何らかのフィードバック

クにより抑制されている可能性が示唆された。DMDにおいて、脊柱の手術の後に出血が止まりにくいとの報告もあり凝固亢進と矛盾する報告であったが、これは凝固外因系と内因系がむしろ抑制されていることと関係があるのかもしれない。

そして、DMD、BMDの血栓準備状態のメカニズムについては以下のように考えられた。すなわち、不動性や陽圧人工呼吸による静脈還流の低下があり、下肢の静脈など末梢での凝固線溶系が亢進する。これに慢性呼吸不全や脱水傾向などからの多血症による血液粘稠性の増加が影響している。

従って、予防策としては、長時間の車椅子に際しては、下肢を他動的に動かすなど静脈還流を補助することや、脱水の予防が効果的だと考えられた。薬物療法としてのワーファリンについては、凝固外因系は、多くの症例でむしろ延長していることより、その適応について慎重に考慮する必要がある。また、当初考えられた、臨床試験の適応になる対象は、試験の成立が困難なほど少数例であることがわかった。

(2) 治療に関して (1999年度)

目的

心機能が低下し血液検査で血液凝固能が亢進したDMD患者に対し、ワルファリンによる抗凝固療法を施行し効果を認めた。今回心機能低下、血液凝固亢進状態のベッカー筋ジストロフィー患者(以下BMD)に対し、少量アスピリン投与を施行し血液分子マーカーにて凝固状態の変動をワルファリン投与例と比較検討した。

対象・方法

症例1: 18歳DMD男性患者、心エコー及びBNP及びHANPより心機能低下。血栓止血系の分子マーカーより凝固亢進状態。PT-INRを目安として1.5~2.5の範囲でワーファリン投与量(1.0~3.0mg/day)のコントロールを行なった。

症例2: 30歳BMD男性患者心エコー、BNP及びHANPのより心機能低下。血栓止血系分子マーカーの測定で凝固亢進状態。アスピリン81mg/dayを投与。

結果

症例1ではワーファリン投与後1年間の採血で血栓止血系分子マーカー上凝固亢進状態は改善されていた。症例2ではTATは4度の測定全て正常範囲内であった。

今回心機能低下と凝固亢進状態を合併したBMDに対してアスピリン少量投与を施行し凝固亢進状態の改善がみられた。副作用や薬物のコンプライアンス等より、若年の外来通院中患者や成人在宅療養中の患者に対して、アスピリン少量投与も考慮すべきと思われる。

(3) その他 (2000年度)

全国調査の前段階の研究として、3施設(国療東埼玉病院、国療原病院、国療西奈良病院)入所中のDMD患者に対し一般凝固検査及び凝固線溶系分子マーカーの測定を行い、血液凝固亢進状態の検討を行った。(詳細省略)

2. 動作解析関連

足跡記録型分析装置による筋ジストロフィーの歩行分析(第2報)

対象と方法

対象はDMD男子12例で、その内訳はstage 1が3例(3歳3ヶ月、4歳0ヶ月、5歳4ヶ月)、stage2-aが2例(5歳8ヶ月、6歳0ヶ月)、stage2-bが2例(6歳4ヶ月、6歳8ヶ月)、stage2-cが3例(7歳2ヶ月、7歳2ヶ月、7歳8ヶ月)、stage3が2例(8歳5ヶ月、8歳9ヶ月)である。このうち7例については約6ヶ月ごとに3から4回の経過観察を行い得た。健常対照として、健常男子5例(3歳9ヶ月、6歳0ヶ月、7歳3ヶ月、9歳5ヶ月、10歳3ヶ月)の計測を行った。

歩行分析には、足跡記録型分析装置GaitScan(ニッタ株式会社)を用いた、これは2640mm×520mmの長方形の圧計測センサとパーソナルコンピューターで構成される。各被験者には、センサの手前2mからスタート、センサ通過後2mで停止させた。2回の練習後5回の計測を行い、センサ上の3、4歩目、合計10歩分をサンプリングした。各パラメータの平均値と標準偏差を検討した。

結果

1. 距離因子

正規化ストライド長は、各年齢、各stageで健常者に比べて短縮しそのバラツキは大きかった。正規化歩隔は健常者、DMDともに一定の傾向はなく、ともにバラツキには個人差があり、DMDで特に歩隔が拡大する傾向はなかった。

7例での経過では、stage 1、stage2-aで明らかな増加の傾向があり、stage2-cに入っても若干増加していた。stage 3からstage 4で減少傾向が出現した。

2. 歩行速度

stage2-cとstage3で歩行速度は健常者レベルにありそのバラツキは大きかった。7例での経過では、stage2-cからstage3にかけて顕著に増加し、stage 4で急激に低下していた。

3. 距離因子

両脚接地時間/1歩時間はstage2-aからstage2-cにかけて増加したがstage3では逆に減少した。遊脚時間/

立脚時間はstage2-aからstage2-cにかけては減少傾向、stage3では増加していた。7例の経過を両脚接地時間／1歩時間でみると、stage2-cからstage3にかけて急激に低下し、stage4に入ってもほぼ同程度の値で推移していた。

4. 左右対称性を示す因子

左立脚時間／右立脚時間では、その値が1に近いほど左右対称な歩行と考えられ、健常者ではほぼ1.0に近かったが、DMDではstage1からすでに非対称性で、stage2以上ではさらに非対称性は大きかった。

考 察

stage2-cからstage3で歩行速度が健常者レベルまで増加する理由としては、身体制御に慣性力を利用していることが考えられた。ただし、そのバラツキは大きく不安定なことが示唆された。ただし歩行速度はstage4では大きく低下し、もはやこの時期には歩行速度を上げて動揺性歩行の際の安定性を得ることは困難であり、この時期の転倒の危険が大きいことが示された。

時間因子の検討からは、動揺性歩行で歩行速度を保って歩行することで片脚起立時間の割合が増加し両脚時間の割合が減少することが確認された。

一般に歩行障害の進行では、症状の進行とともにストライドは減少し、歩行速度は低下し、両脚接地時間は増加するといった、一方向性の変化が認められるが、DMDでは今回の結果から、その全てが当てはまらないことが示された。すなわち、stage2-bまではストライド長は減少せず、stage3以降では動揺性歩行で歩行速度を保って歩くため両脚接地時間が減少するなどの所見を認めた。これはDMDにおいては歩行は一般的な評価尺度では評価できないことを示している。

3. 筋病理関連

Duchenne型筋ジストロフィーでは、骨格筋内にCD8陽性T細胞や、好酸球などの炎症細胞浸潤が認められことがあり、自己免疫性疾患である多発筋炎との類似点も多くその異同が注目される。そこで、骨格筋が抗原提示細胞となる可能性や、炎症細胞のサブセットを比較検討した。

(1) Duchenne型筋ジストロフィーにおけるcostimulatory moleculeの発現(2000年度)

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)5例、多発筋炎(PM)5例、正常5例を対照とし、生検筋およびその生検筋を用いた培養筋細胞を以下に示すマウスモノクローナル抗体を用い免疫染色を行った。1)抗ヒトCD4, 2)抗ヒトCD8, 3)抗ヒトCD80(BB-1), 4)抗ヒトCD80(B7-1), 5)抗ヒトCD86(B7-2), 6)抗ヒトCD28, 7)抗ヒトCD152, 8)抗ヒトCD74, 9)抗ヒトHLA-ABC, 10)抗ヒトN-CAM。

免疫染色にて、DMDではcostimulatory moleculeのうちBB-1のみが筋線維表面または細胞質に発現し、B7-1, B7-2は陰性であった。BB-1は、主としてN-CAM陽性再生筋線維に発現し、一部の筋線維ではMHC-class Iも陽性であった。これらを取り囲むCD8陽性T細胞は、CD28, CD152 (CTLA-4)いずれも陰性であった。INF- γ 刺激後の培養筋芽細胞の検討では筋芽細胞のマーカーである、N-CAM陽性の細胞はBB-1陽性であり、両者の発現パターンは一致しており、筋芽細胞も、特定の条件下では、BB-1を発現することがわかった。

以上のことから、筋芽細胞もある環境下ではMHC-I同様BB-1を発現しており、PMと異なり、DMDにおけるBB-1陽性筋線維は、CD8陽性リンパ球がCD4非依存性に増殖する際のAPCとしては作用せず、単に筋再生過程を反映しているにすぎないと推測された。

(2) 筋ジストロフィーにおける好酸球浸潤(2001年度)

DMD3例, BMD3例, 未治療多発筋炎(PM)6例, 未治療好酸球筋炎(EPM)3例を対象とし筋生検を施行し、CD8, MBP, Eotaxin を認識する抗ヒトマウスモノクローナル抗体を用い免疫染色を行なった。

DMD, BMDではPM同様に、MBP陽性の好酸球およびCD8陽性T細胞が、perimysium, endomysiumに浸潤していたが、浸潤細胞数は3群間で有意さは認めなかった。一方、PM, EPMでは、DMD, BMDに比べ、浸潤好酸球の近傍には好酸球遊走因子であるeotaxin陽性細胞が存在し、更に好酸球に接した筋線維表面には好酸球顆粒蛋白が沈着していた。

以上の実験結果から、DMD, BMDとPMとは筋病理学的には類似点が多いが、やはり自己免疫機序の関与は少なく、本質的な点では異なっていることが確認された。

4. 症例報告(2001年度)

カプトプリルとアロプリノール併用後にStevens-Johnson症候群を発症したBMD例を報告した。今後は腎機能低下時、特にカプトプリル投与時のアロプリノール投与には注意が必要である。

精神遅滞に係わるジストロフィン遺伝子異常に関する研究（3年間のまとめ）

竹島泰弘（神戸大学大学院医学系研究科
成育医学講座小児科学、遺伝子診療部）

共同研究者 住永亮²⁾、伊東利幸²⁾、足立佳代²⁾、
八木麻理子²⁾、A.Kriswari²⁾、T.Wibawa²⁾、
小椋たみ子³⁾、松嶋隆二³⁾、中村肇¹⁾、
松尾雅文²⁾
神戸大学大学院医学系研究科小児科学¹⁾、
遺伝病統御学²⁾、
神戸大学文学部・心理学³⁾

【はじめに】

Duchenne型/Becker型筋ジストロフィー(DMD/BMD)の全身病態を考える上における重大な合併症のひとつとして精神遅滞があり、DMDの30-40%の症例にみられるが、ジストロフィン遺伝子異常によって精神遅滞が引き起こされる機構は明らかではない。従来より中枢神経系で発現している脳型ジストロフィンと精神遅滞の間には関連がみられないと報告されている。一方、ジストロフィン遺伝子の3'側に遺伝子異常を有する症例に精神遅滞の合併が多いことを示唆する報告がみられ、ジストロフィンの中枢神経系に発現しているアイソフォームの精神遅滞への関与などが考えられるが、現在のところ一元的に全てを説明することはできない。近年、ジストロフィンアイソフォームのひとつであるDp140と精神遅滞の関連を示唆する結果が報告されている。今研究においてDMD/BMDにおける精神遅滞とジストロフィン遺伝子異常の関連について検討を行った。

第二点として遺伝子解析、特に微小変異の同定について検討した。すなわち、DMD/BMDの遺伝相談において、さらに本疾患の病態を考え治療法を検討する上においてジストロフィン遺伝子異常を同定することは重要であるが、微小変異の同定に関しては未だ十分には検討されていない。我々はジストロフィンmRNAを解析することによって微小変異の同定を行ってきた。今回、当院におけるジストロフィン遺伝子異常の解析のまとめと、問題点に関して検討した。

【精神遅滞とジストロフィン遺伝子異常の関連についての検討】

平成11年度はジストロフィン遺伝子にナンセンス変

異を有する症例における精神遅滞の合併の有無に関して検討を行った。対象はDMD/BMD 5例で、ナンセンス変異はそれぞれエクソン12、36、43、58、76に同定されている。これらの症例において、エクソン36にナンセンス変異を有する1例に精神遅滞の合併を認めたが、他の4例には精神遅滞を認めなかった。この結果は、従来から言われているジストロフィン遺伝子の3'側に遺伝子異常を有する症例に精神遅滞の合併が多いという報告とは合致しないものであったが、遺伝子変異と精神遅滞の間に明らかな関係は見出せなかった。

平成13年度には、DMD40症例を対象として精神遅滞と遺伝子変異に関して検討を行った。DMD症例の知能評価では40%の症例がIQ69以下であったこと、動作性IQが言語性IQに比べて優位であったことは従来からの報告と一致するものであった。遺伝子異常に関しては34例において同定されており(欠失23例、重複4例、ナンセンス変異7例)、これらの症例に関してDp140とIQとの関連に関して検討を行った。すなわち、Dp140のプロモーターがイントロン44に存在するため、遺伝子異常がエクソン44より上流にとどまっている群(Dp140+)とエクソン45より下流におよんでいる群(Dp140-)に分けて比較検討した。Dp140+群(16例)の全検査IQの平均は81.0(SD18.5)、Dp140-群(18例)の全検査IQの平均は71.3(SD17.7)であり、Dp140-群でIQが低い傾向がみられた。さらに今回検討した症例における全検査IQの平均値(IQ75)の上下で分類したところ、全検査IQと言語性IQではDp140+群に比べDp140-群においてIQが75以下である症例の割合が有意に高かった。

今回の検討によってDp140(-)であることがIQが低いことと有意に関連していることが明らかとなった。Dp140は中枢神経系において発現しており、脳におけるジストロフィンの機能と関係している可能性がある。しかし、Dp140(+)でも精神遅滞を呈する症例があり、精神遅滞を規定する要因に関してさらに今後の研究が必要である。

【精神遅滞を有するジストロフィン異常症でみられたスプライスサイトにおける点変異：組織特異的な潜在的スプライスサイトの活性化】

平成12年度にはスプライスサイトに点変異を有する精神遅滞合併症例における組織特異的なスプライシングに関して報告した。本症例はジストロフィン遺伝子イントロン20のスプライス、アクセプターサイトにA-2からGへの点変異がありそのため潜在的スプライスサイトが活性化され、mRNAの解析ではエクソン21の5'側7塩基が欠失したものとエクソン20、21間にイントロン20の3'側6塩基が挿入したものが主として認められた。前者がout-of-frame変異、後者がin-frame変異で

あるため、量的な関係を検討したところ、リンパ球では7塩基欠失mRNAと6塩基挿入mRNAの割合は1:2であったが、筋肉では15:1であり、さらに7塩基挿入mRNAが極わずかに認められ、組織によって異なったパターンで潜在的スプライス・サイトの活性化が生じていた。

スプライシングには種々の核内因子が関わっているが、組織によってこれらの因子の発現パターンが異なっているためにこのような現象が生じた可能性がある。この症例は精神遅滞を合併しているが、脳におけるスプライシングのパターンは明らかではない。遺伝子型と表現型の関係を考える際には、各組織においてスプライシングパターンが異なっている可能性も念頭に置かなくてはならない。

【ジストロフィン遺伝子における微小変異の解析と問題点】

平成13年度には、最近1年間に当院を受診したジストロフィン異常症35家系39人の遺伝子解析をまとめて報告した。ゲノムのサザンプロット法などによる解析によって欠失あるいは重複が同定されなかった症例に対して、筋あるいは白血球より抽出したRNAを用いてRT-PCR法によって解析を行い、さらにcDNA全領域を20領域に分け、その塩基配列を直接塩基配列解析法によって決定することにより点変異などの微小変異の同定を行った。

その結果、欠失が20家系(DMD19例、BMD1例)、重複が4家系(DMD3例、BMD1例)点変異が6家系(DMD5例、BMD1例)、スプライシング異常1家系(DMD)で、残り4家系は明らかな欠失がみられず微小変異解析中であった。従来のサザンプロット法や、マルチプレックスPCR法のみでは変異を同定し得なかった症例に対し、mRNAの解析を行うことにより、スプライシング異常のみならず、点変異の同定も可能であった。

このような解析の中において、平成12年度にはナンセンス変異の保因者でみられた問題点に関して報告した。本症例はDMD発端者の姉であるが、発端者は既に亡くなっておられ、遺伝子解析は行われていない。ジストロフィン遺伝子mRNAの全塩基配列を直接塩基配列解析法によって検討したところ、リンパ球では正常のmRNAしか同定されなかったが、筋組織より抽出したmRNAの解析においてエクソン12内の1682番目の塩基がC/Tのヘテロ接合であることを同定し得た。ナンセンス変異を有するmRNAの不安定性などが関わっている可能性が考えられる。リンパ球mRNAの解析のみでは変異を見逃していたことになり、発端者の変異が不明な場合の保因者診断におけるピットフォールであった。

【今後の課題】

DMD/BMDにおける精神遅滞に関わる因子のひとつとしてDp140が浮上してきたが、これのみですべてを説明することはできない。新たなジストロフィンアイソフォームや他の遺伝子の関与など、さらに検討が必要である。

遺伝子診断に関しては臨床の場において的確な遺伝相談を行う上において、遺伝子異常を同定することは重要である。さらに近年、個々の症例の遺伝子異常に応じた「オーダーメイド」の遺伝子治療に対する基礎研究が行われてきているが、今後このような治療法を考える上において、個々の症例の遺伝子異常を同定することは不可欠である。今までの診断のための遺伝子解析から、今後は治療のための遺伝子解析へと変わってきている。今後も個々の症例に関して確実に診断をしていかななくてはならない。

先天性筋ジストロフィー(CMD)の1亜型： 福山型CMDの表現型を持つが、遺伝的に異なる亜型について

吉岡三恵子

神戸市総合療育センター・

神戸市立中央市民病院 小児科

佐々木 博, 馬場 清

倉敷中央病院 小児科

戸田達史

大阪大学大学院医学系研究科未来医療開発専攻

ポストゲノム疾患解析学講座ゲノム機能分野

緒言

先天性筋ジストロフィー(CMD)は生後間もなく筋緊張と筋力の低下を来し、筋生検ではジストロフィーの所見を認める疾患である。CMDにはいくつかのタイプがあるが、我が国のCMDの大部分は福山型(FCMD)によって占められている。FCMDは常染色体劣性遺伝を示すCMDで、高度の脳や眼の奇形を伴うものである。

近年、FCMDの遺伝子は染色体9q31に位置する事が明らかにされ、更にこの遺伝子が461のアミノ酸からなる蛋白フクチンをコードする事がわかってきた¹⁾。FCMD遺伝子を持った大部分の染色体は一人の祖先に由来しており、その変異はフクチン遺伝子の3'非翻訳領域に3 kbのレトロトランスポゾンの挿入を認めるものである。後になって祖先由来でない9種の変異が見出されたが、両方のアレルに祖先由来でない変異を持つFCMD患者はこれまで見いだされておらず、恐らくこのような症例は胎児期に死亡するのではないかと考えられている。この事はFCMD患者が何故日本以外の国に少ないかを説明している。

FCMDの診断を遺伝学的にする事が可能になって以来、我々はFCMDと類似の臨床症状を示すが、FCMDの遺伝子変異をもたないCMDを経験するようになった。この中には遺伝学的診断が行われるまでは、FCMDと診断されていた症例も含まれる。平成11年に1家系2症例を報告し、平成12年には更に1孤発例を追加した²⁾。平成13年には我が国において同様の症例が報告されている事に加え³⁾、諸外国からも報告があることを知り⁴⁾、これらの症例をまとめて、その臨床的特徴を検討した。

症例

【家系1(症例1及び2)】両親に血族結婚はみられず、両親の血清クレアチン・カインース(CK)値はいずれも正常範囲内。症例1の出生前に2回の流産があった。

症例1は男児で、在胎42週、胎児仮死のため帝王切開で出生。生下時体重は3,300g、アプガースコアは1分後9点であった。生下時より高度の筋緊張低下を示し、血清CK値の上昇(1,025 IU/L, 正常範囲は130 IU/L以下)、筋電図での筋原性変化、頭部CTで大脳白質低吸収域が認められ、他院でFCMDの診断を受けていた。生後、肺炎を繰り返し、1歳11カ月で死亡。症例2は女児で、在胎39週、生下時体重3,088gで帝王切開で出生、仮死はなかった。3カ月検診で、頸定が見られず、筋緊張低下は強く、血清CK値も5,350IU/Lと上昇。1歳7カ月時に精査を受け、全身の筋緊張低下、顔面筋罹患、股・膝・足関節の関節拘縮、腓腹筋の仮性肥大を認めた。この時、頸定は見られず、寝返りもできなかったが、笑い・追視・単語数語は見られていた。CT又はMRIで脳室拡大、厚脳回、白質病変を示したが、眼科所見には異常なく、けいれんもなかった。精神運動発達は以後も不良で、頸定3歳6カ月、座位4歳10カ月であったが、8歳で座位保持は不可能となった。言語については6歳5カ月から2語文が可能となった。後に夜間の呼吸不全が出現し、9歳から夜間に人工換気を受けるようになった。

【家系2(症例3)】2歳の男子。両親に血族結婚はみられない。母親にはこれまでに流産や死産などはない。在胎40週、生下時体重3,232gで第1子として出生、仮死はなかった。乳幼児期の発達は、頸定4ヶ月、ねがえり9ヶ月、お座り12ヶ月と遅れ、1歳を過ぎても有意語はなく、1歳3ヶ月時に発達の遅れを主訴として精査を受けた。この時、筋緊張低下や腓腹筋の仮性肥大は認められたが、関節拘縮はなく、腱反射は保たれていた。血清CK値は2,776 IU/Lと上昇していたが、ジストロフィン遺伝子に欠失は認められなかった。MRIでは両側対称性の脳白質病変があり、FCMDを疑われた。筋生検では、筋線維の大小不同、再生線維と変性線維の存在、著明な結合織の増生を認めたが、ジストロフィン染色やメロシン染色は陽性であった。筋生検後に高熱を出し、約3分間の全身強直間代性けいれんを来たしたが、血清CKの著明な上昇は認めなかった。以後は発熱時にもけいれんはなく、脳波の異常も認められていない。その後の経過では、1歳7カ月で四つ這いが出来、単語も出現。2歳2ヶ月でつかまり立ちも可能となっているが、膝・股関節に軽度の屈曲拘縮が出現してきた。血清CK値は以後も高値を続け、1,835-9,567 IU/Lで推移している。

【検査と結果】症例2、3及びその両親の血液よりDNAを抽出し、CAリピート多形性マーカーD9S2105-D9S2170-D9S2171-D9S2107でアレルタイプした。これらのマーカーでFCMDの祖先のハプロタイプは、それぞれ138-192-147-183であり、このハプロタイプを持つ

染色体は3kbの挿入を示す事が明らかにされている。

患者はいずれも創始者のハプロタイプを持っていなかった。その後、患者の全coding領域及びexon-intron junction について塩基配列を決定したが、現在の所mutationは見つかっていない。

更に症例2のリンパ球から抽出したRNAを用いてRT-PCRを行い、フクチンRNAの発現量を調べた所、正常例と同様であった。

【我が国及び諸外国からの同様の症例報告について】

我が国では上に述べた2家系3症例の他に、三浦らの報告した1孤発例⁹⁾がある。本邦以外では、台湾からの2家系3症例¹⁰⁾とオーストラリアからの1家系2症例¹¹⁾がある。これら6家系、9症例（男子8例、女子4例）につき、その遺伝学的及び臨床的特徴を検討した。

結 果

6家系に近親婚はないが、兄弟発症は3家系。発症はいずれも生後数カ月で、高度の筋緊張低下を示し、精神運動発達遅延あり。顔面筋罹患、腱反射の消失、腓腹筋の仮性肥大、関節拘縮はほぼ全例にあり。7例では坐位可能だが、他は頸定までが1例、頸定のないものも1例。3例は発語なく、単語までが5例、1例はかなり良好な言語発達。けいれんは4例で認められ、2例では難治。血清CKは全例が正常の10倍以上の上昇を示し、筋生検でジストロフィーの所見が明らかだが、ジストロフィンやメロシン染色は陽性。CT/MRIでは大脳白質病変の他に厚脳回や多小脳回あり。眼科所見では1例で高度近視と視神経乳頭の蒼白、1例で斜視を認めているが、他の7例では異常なし。フクチンRNAの発現量を1例のリンパ球で調べた所、正常例と同様であった。

考 察

最近、臨床的にFCMDと診断される症例の遺伝子解析が進み、ほとんど全ての患者から創始者変異である3kb挿入が検出されている。その他の変異は3kb挿入との複合ヘテロの患者のみで見つかっている。しかし、今回の報告例のように、臨床的にはFCMDとして矛盾しないが、フクチン遺伝子の変異を持たない症例も稀ながら報告されるようになってきた。我が国のみならず、台湾やオーストラリアからも報告されていることから、FCMDとは異なるCMDの一亜型として今後の症例の蓄積が期待される。

参考文献

1) Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M et al. : An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. Nature 394: 388-

392, 1998

2) Yoshioka M, Kuroki S, Sasaki H, et al. : A variant of congenital muscular dystrophy. Brain Dev 24: 24-29, 2002

3) 三浦清邦、熊谷俊幸、松本昭子他：福山型先天性筋ジストロフィーに類似した先天性筋ジストロフィーの1例。脳と発達32: S269, 2000

4) Jong Y, Kobayashi K, Toda T et al. : Genetic heterogeneity in three Chinese children with Fukuyama congenital muscular dystrophy. Neuromusc Disord 10:108-112,2000

5) Stern LM, Albertyn L, Manson JI : Fukuyama congenital muscular dystrophy in two Australian female siblings. Dev Med Child Neurol 32: 808-813, 1990

デュシェンヌ型筋ジストロフィーにおける 知能障害に関する研究

多田和雄

国立療養所兵庫中央病院

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)の知能低下には特徴があり、ほとんど正常者と変わらない者もあれば、言葉がしゃべれないほどに極端に知能低下が著しい者もあり、療育あるいは生育上の支障となっている。

この知能障害にたいして(初年度)知能指数と遺伝子異常の関係、(2年度)局所脳血流について検討し、(3年度)高度の精神発育遅滞を呈したベッカー型筋ジストロフィーの1家系4兄弟例を報告した。

初年度の検討

方法

IQはWISC-RおよびWAIS-Rにて言語性評価(VIQ)、動作性評価(PIQ)、全検査評価(FIQ)を行った。遺伝子解析はサザン法、multiplex PCR (Chamberlain & Beggs の19primers)で行った。

結果

39名のDMDでIQの評価を行った。FIQは71.8 ± 21.2(SD)であった。FIQの39以下は3名、40-69は17名で、70以下を精神遅滞(MR)とすると51%を占めた。70-79の境界領域が2名、80-89の平均下位が7名、90-109の平均域が9名、111が1名であった。VIQ、PIQの評価可能であった35名の内、VIQ<PIQは19名(54.3%)、VIQ>PIQは15名(42.8%)、VIQ=PIQは1名であった。FIQはVIQと $r=0.83(p<0.001)$ 、PIQとは $r=0.71(p<0.001)$ と相関し、VIQとPIQは $r=0.38(p=0.024)$ と低い相関を示した。

38名でサザン法あるいはPCRのいずれか、あるいは両方で遺伝子解析を行った。FIQ39以下の2名は兄弟でPCRでexon50,51,52,60の欠失が検出された。1名はPCR5,8,12,13での欠失であった。IQ40-69の17名の内10名がPCRで欠失を認めず、その他8-12, 19, 45-51, 47-51, 47-52, 51, 52の欠失が検出された。FIQ70以上の18名中8名で欠失を認めず、他の欠失部位は4-20, 6-19, 8-52, 45-51, 45-52, 48-50(2名)の欠失が認められた

考察および結論

FIQの度数分布は正規分布とかけ離れ、極めて低い群、60-70の群、境界-正常下位の群に分かれ、質的に相違すると考えられた。当院のDMDの半数でFIQ70以

下のMRを認めた。これまでにDMDではPIQよりVIQが低いことが報告されているが、我々の結果はそれに相当する者は42.8%であった。FIQはVIQと最も相関し、臨床的観察とも一致する。

知能低下の原因を脳におけるジストロフィン異常とするのは一つの考えではあるが、正常やそれ以上のIQのDMDの存在も事実であり、個々の症例の発達過程に於ける質的な相違を考慮する必要がある。

Bushbyらは遺伝子異常部位との相関はないと報告している。一方Rapaportらはexon52の欠失との関連を、TufferyらはC-端の機能を強調し、LenkらはDp71やDp116のpromotorに注目し、exon62-74の解析を行っている。最近Chenらは石川らの症例でDp116のpromotorの異常とMRの関連を報告している。

我々の症例のFIQ39以下の3例では6-13の欠失もあれば50-60の欠失もあり、結果の如く、調べた遺伝子の範囲では、ジストロフィン遺伝子欠失部位と知能低下の関連は見出すことが出来なかった。脳におけるDp71の発現など個々の症例で検索する必要がある

2年度の検討

方法

18才から25才までの9名のDMD患者を対象とした。GE横河製のスターカム4000とXR/Yを使用し、600MBqの^{99m}Tc-ECDを静脈内投与して5分後から撮像し、脳血流シンチグラムを得た。局所脳血流は、関心領域を前頭葉皮質で44領域、側頭葉皮質で24領域、頭頂葉皮質で12領域、後頭葉皮質で16領域、小脳で4領域設定し、それぞれの平均値を求め、小脳との比率を計算し、小脳比として評価した。正常コントロールとして、Matsudaらのデータのなかから18才から25才の男性のデータのみ9例を用いた。IQはWISC-RおよびWAIS-Rにて言語性評価(VIQ)、動作性評価(PIQ)、全検査評価(FIQ)を測定した。

結果

9名のDMD患者の脳血流の小脳比は、前頭葉皮質で0.764±0.039、側頭葉皮質で0.799±0.028、頭頂葉皮質で0.810±0.049、後頭葉皮質で1.041±0.043であり、前頭葉皮質、側頭葉皮質、頭頂葉皮質で局所脳血流が低下していた。正常コントロールでは前頭葉皮質で0.913±0.088、側頭葉皮質で0.840±0.081、頭頂葉皮質で0.863±0.089、後頭葉皮質で0.951±0.166であった。DMDでは正常コントロールと比較して前頭葉皮質の局所脳血流が有意に低下しており($P<0.003$)、後頭葉皮質でやや増加していた($P<0.05$) (non-paired student t-test)。

前頭葉皮質の局所脳血流をIQと対比させて検討した。PIQおよびFIQとはあまり関連がなかったが、VIQが低い方が局所脳血流が少ない傾向があった。しかし

$r=0.586$ ($P=0.0976$)で統計学的には有意差がでなかった(回帰分析-単回帰)。

考察および結論

DMDの知能障害には特徴があり、生来発語のないほどの知能低下を示す症例から全く知能障害を示さない症例まで幅広く分布している。またVIQがPIQを下回ることが多いとされている。CTやMRIなどの画像診断では大脳皮質の萎縮がしばしば認められることが報告されている。最近Itohらは大脳皮質(prefrontal cortex)に過誤腫に似た多発性小結節を認めた症例を報告した。今回の我々の研究でも前頭葉皮質の局所脳血流が有意に低下しており、また症例数が少なく統計学上の有意差はでなかったが前頭葉皮質の局所脳血流の低下とVIQの関連性を考えると、DMDの知能障害の原因を考えるうえで興味深いと考えられた。

3年度の検討

【目的】

デュシェンヌ型およびベッカー型筋ジストロフィー(以下DMD/BMD)では精神発達遅滞等の中枢神経症状を伴うことが知られており、最近ではDp140、Dp116、Dp71等のC端側のアイソフォームとの関連も報告されている。またBMDでは精神発達遅滞の合併は比較的稀で、合併したときの程度も軽度とされている。今回我々は、高度の精神発達遅滞を呈したにもかかわらず、運動能力がほぼ正常のBMDの1家系4兄弟例を経験したので、臨床症状、筋病理所見、遺伝子異常について検討した。

【対象、方法】

発端者は33歳男性。主訴は精神発達遅滞、高CK血症の精査であった。正常分娩で、3歳児検診まで運動発育遅延はなかったが、自閉症、精神発達遅滞を指摘され、16歳時にてんかんを発症した。発作は約1分間落ちつきなくそわそわした行動をとった後、20~30秒間の強直間代発作を起こすということであった。以後カルバマゼピンを1日200mg内服している。23歳時に約2000IU/Lの高CK血症を指摘され、全経過を通して運動発達遅滞はなかったが、33歳時に精査を希望して当院を受診した。

CKは2215 IU/lと上昇していたが、筋力は正常で、遠城寺式乳幼児発達検査では、基本的習慣の社会性の発達は1歳9カ月と比較的良好であるものの対人関係、発語能力、言語理解能力はいずれも1歳以下の能力しかなく、高度の遅滞を呈した。

弟3人全員にも運動能力がほぼ正常であるにもかかわらず高度の精神発達遅滞があり、対人関係、言語の発達の遅れという自閉的傾向が認められ、また弟2人にも

てんかん発作があった。

発端者の下腿に軽度の偽性肥大があったため、BMDを疑い、本人および両親にインフォームドコンセントを行った上で、ジストロフィン遺伝子検査(multiplex PCR法、サザンプロット法)および左上腕二頭筋生検を行った。

【結果】

multiplex PCR法では4兄弟全員にExon 4の欠失を認め、サザンプロット法によるExon 1-76の解析では、Exon 4が発端者とその弟で欠失しており、母親においてもExon 4が対立遺伝子の片側で欠失していた。筋病理では筋線維の軽度の大小不同、中心核、再生線維を認め、ジストロフィン染色で膜の染色の不連続性を部分的に認めた。ragged red fiberは認めなかった。

【考察および結論】

本家系は原因不明の精神発達遅滞として療養されてきた家系で、20歳を過ぎても全例独歩可能な点、高CK血症、下腿の偽性肥大、遺伝子解析の結果より、BMDと診断した。本家系の特徴は、筋力低下がなく、ジストロフィン染色で膜の染色の不連続性をわずかしこ認めなかったように、筋症状が臨床的にも病理学的にも軽症であったにもかかわらず、重度の精神発達遅滞を呈したことであった。

精神発達遅滞の頻度についてこれまでの報告ではIQ70以下を対象としたところ、DMDで30~40%で、BMDでは10%前後という報告もあるものの基本的には稀で、合併した際の程度も軽いとされており、本家系の様に、筋症状が極めて軽症であったにもかかわらず、重度の精神発達遅滞を呈した家系は稀と考えられた。

また本兄弟の精神発達遅滞は、程度、性質とも共通で、自閉症的な精神発達遅滞を呈しておりDMDにみられる特徴を有していた。

近年精神発達遅滞を合併する症例ではC端側に欠失を含み、Dp140、Dp116、Dp71が欠損していることが多いとされている。本症例は著明な精神発達遅滞を示しN端側のExon4の欠失を認めた極めて稀な症例であり、今後は種々のプロモーターの検索も必要である。

筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究(平成11,12,13年度)3年間のまとめ

下山良二 河原仁志 矢野修一

国立療養所松江病院

I. 筋ジストロフィーにおける心筋トロポニンT、心筋トロポニンIおよびアデノシンの検討

最近、慢性心不全の治療において臓器保護の立場からACE阻害剤の早期投与が奨められている。そのためには心不全を早期に診断し病態を多様な視点で判断することが重要と思われた。そのため心筋障害で血中に逸脱する血清心筋トロポニンT(TnT)および心筋トロポニンI(TnI)と心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド(ANP・BNP)とならんで慢性心不全に対する代償的な改善因子として作用しているとされるアデノシンを測定して筋ジストロフィーの心不全診療における意義を検討した。

1. TnTおよびTnIの検討(平成11年度)

対象はDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)13例、Becker型筋ジストロフィー(BMD)5例、筋強直性ジストロフィー(MyD)12例であった。心筋TnT、心筋TnIを測定し、ANP・BNP、心エコーによる左室駆出率(LVEF)およびその他臨床データとの関係を検討した。心筋TnT測定法は第二世代の測定系により、正常値は0.25ng/ml以下、検出限界は0.05ng/ml。TnI測定法はRIA法により正常値と検出限界はともに0.3ng/ml以下である。

その結果、CK値が26562IU/Lと高値を示すDMD症例をはじめとしてTnTが異常高値を示す症例はみられなかった。TnIが0.4ng/mlと高値を示したのは3歳のDMD症例であったが、TnT、ANP、BNP、LVEFともに正常範囲であった。DMD群ではCK値とTnT値との相関はみられなかった。BMD群及びMyD群ではTnTおよびTnIは全例正常範囲であった。

第一世代の心筋TnT測定法は骨格筋との交叉性が2%あったが、今回は骨格筋との交叉性が0.02%とされる鋭敏な第二世代の測定系を用いた。また骨格筋の再生がおこる状態ではTnTのisoformが骨格筋に発現するため、活動性の心筋障害を評価する事ができない問題点があった。今回の検討では筋肉の壊死再生の強いDMD例においてもTnTは異常高値を示さず、またCKとの相関を認めなかったことから第二世代TnTはDMDの心筋障害を正しく表す可能性があると思われる。

TnIについては骨格筋でのisoformが出現しないことから、骨格筋の壊死再生を伴う状態でも活動性の心筋障害を示すと報告されている。3歳のDMD症例でTnIが高値を示したことはTnTは正常であったが、微小心筋障害を示唆する所見である。

2. 血中アデノシンの検討(平成11年、12年)

平成11年度から12年度にわたりDMDの26例、BMDの11例、MyDの13例を検討の対象とした。血中アデノシン濃度を測定し、心エコーによるLVEF、ANP、BNPその他の臨床データとの関連を検討した。血漿中アデノシン濃度の基準値については、18-56歳の99人の健常人の検討から求められたもので12.0~49.9pmol/mlとの報告がある。

その結果、アデノシンはDMD群においてLVEFとの間で有意な負の相関を認めた($r=-0.458$, $p<0.02$)。またアデノシンはDMD群において、それぞれ常用対数で変換したANP、BNP両者に対し有意な正の相関を示した(ANP: $r=0.502$, $p<0.01$ BNP: $r=0.450$, $p<0.05$)。しかしBMD群及びMyD群ではLVEF、ANP、BNPとの有意な相関は認められなかった。

LVEFが31%に低下しACE阻害剤、利尿剤が投与されている14歳のDMD症例の経時変化をみた。肺炎による入院時にANP 80pg/ml、BNP 146pg/ml、アデノシンは18.7pmol/mlであった。肺炎の治療の終了後ANP、BNPの上昇がみられたためジギタリスの投与が行われた。しかしその後も、ANP 290pg/ml、BNP 320pg/mlと上昇しアデノシンも59.5pmol/mlまで上昇しβブロッカーの投与がなされた。その他BMD症例、MYD症例にも臨床症状、ANP・BNPの変動とともにアデノシンが変動する例がみられた。

アデノシンは虚血、低酸素下にて心筋から大量に放出され、また運動、β受容体刺激、心拍数増加などにより心筋の酸素需要が増大するときも産生が増加する。作用としては、冠血流増加作用、βアドレナリン受容体遮断作用、レニン-アンギオテンシン系抑制作用などを有すると報告されている。また虚血性・非虚血性慢性心不全症例において、末梢血中アデノシンレベルが、いずれにおいてもその重症度に応じて増加しているとの報告もある。DMD群でアデノシンとLVEF、常用対数で変換したANP、BNPと有意な相関がみられ、肺炎や心不全治療により、ANP、BNPとアデノシンがともに変動した例がみられた。これらのことから血中アデノシン濃度がDMDの心不全の指標として有用であることが示唆されたが、心不全の治療効果判定や予後の推定に有用であるかを明らかにするには、さらに多数の症例の検討が必要であると思われる。

II. 筋強直性ジストロフィーの睡眠時呼吸障害による組織低酸素の検討(平成13年度)

筋強直性ジストロフィー(MyD)の睡眠時呼吸障害に対する呼吸管理導入基準は明らかではない。MyDの睡眠時呼吸障害に伴う低酸素血症が、どれだけ組織の低酸素をもたらし、生体への悪影響を与えるのかをより明らかにすべきと思われた。組織レベルで酸素不足の状態が続くと、ATPの分解が進み、ADP,AMPさらにアデノシン、イノシンそして最終代謝産物である尿酸の産生が増加する。血中アデノシンと尿酸の尿中排泄は睡眠時無呼吸症候群による組織低酸素の指標として有用であるとの報告がある。最近、近赤外線分光法により局所脳組織の酸素化の状態を非侵襲的にモニターする事が可能となっている。MyDの睡眠時呼吸障害による病態を血中アデノシン、尿中尿酸排泄、および近赤外線分光法を組み合わせ検討した。

対象はMyD症例12例で年齢は 50.6 ± 9.2 歳(平均 \pm 標準偏差)であり、呼吸管理については気切人工呼吸が1例、NPPV が1例、気切+酸素投与が1例、酸素投与のみが2例であった。

脳内の局所酸素飽和度(rSO_2)、ヘモグロビン量(HbI)を測定するため、眠前の覚醒時に近赤外線分光法機器のセンサーを前頭部に装着し、午後9時から翌朝の午前6時まで測定を行った。パルスオキシメーターによる酸素飽和度(SpO_2)も同時に測定し、 SpO_2 から川井らの提唱した夜間低酸素指数(NHI)を求めた。眠前及び翌朝に採尿を行い、それぞれの尿中尿酸(UA)・クレアチニン(Cr)を測定し、夜間の尿酸排泄をしめす値として $\Delta UA:Cr = (\text{早朝}UA/Cr - \text{眠前}UA/Cr) \div (\text{眠前}UA/Cr)$ を算出した。また翌朝に血中アデノシンを測定した。

その結果、12例の夜間低酸素指数(NHI)は、0.4から126.5にわたり、 62.4 ± 38.5 (平均 \pm 標準偏差)であった。 $\Delta UA:Cr$ とNHIとの有意な相関は見られなかった。 $\Delta UA:Cr$ は正常人では負の値で、睡眠時無呼吸症候群での無呼吸により夜間に尿酸排泄が亢進して、正の値をとることが報告されているが、今回の検討では正の値を示したのは1例のみであった。血中アデノシン値とNHIとの有意な相関は見られなかった。 rSO_2 は SpO_2 の著明な低下に伴い低下し、HbIの値は体動によるアーチファクトが大きく判断は困難であったが、HbIの値は rSO_2 の低下に伴い上昇する傾向が見られた。

今回はDuchenne型筋ジストロフィーの呼吸管理導入基準とされるNHIの130を越える症例はなく、夜間の尿酸排泄・アデノシンのと組織低酸素との関連を明らかにするにはより多くの重症例の検討が必要であったと思われる。近赤外線分光法により酸素飽和度の低下に伴う脳内の局所酸素飽和度の低下を示すことが可能であったが、ヘモグロビン量の評価は困難であった。

筋ジストロフィー剖検例の登録ならびに筋ジストロフィー剖検例における全身臓器の病理組織学的検討

香川典子¹、山崎真子¹、大川美樹¹、櫻井雅英¹、清家愛子¹、鯖名裕子¹、笠松里美¹、和田美智子²、森内幹³、足立克仁³、佐野壽昭³

¹徳島大学医療技術短期大学部、

²徳島大学医学部第一病理、

³国立療養所徳島病院)

1. 筋ジストロフィー剖検例の登録

(1) 筋ジストロフィー剖検登録の現況

H11年度は16例(Duchenne 2, Becker 1, FCMD 1, CMD 1, Myotonic 10, Unclassified 1)、H12年度は9例(Duchenne 4, Becker 1, FCMD 1, Myotonic 3)、H13年度は3例が登録され(Duchenne 2, Myotonic 1)、総数450例となった。病型別登録数は以下の通りである。

Duchenne	303	Female DMD	2
Becker	8	Emery-Dreifuss	2
L-G	16	Malignant L-G	3
FSH	5	FCMD	44
Ullrich	2	CMD,nos	11
Distal	2	Myotonic	48
Unclassified	8		

(2) デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)剖検例の統計学的解析

筋ジストロフィー剖検例登録票422例からDMD295例を選び出し、死因、臓器所見などを検討・解析し、経年的変化について考察した。平均寿命は1970年代では17.9歳であったが、1990年代後半では24.5歳になり、明らかな延長が認められた。30歳以上生存者は1985年以降の症例であった。死因は肺感染症が著減し、最近では心不全や呼吸不全が大半を占めており、寿命延長の理由として抗生物質や呼吸管理の進歩によることが推測された。主要臓器の重量は25歳以上の生存例では重量正常例が多かった。これは栄養状態や循環動態を良好に保つことも長期生存に寄与することを示唆している。

(3) 剖検輯報による筋ジストロフィー剖検例の統計学的検討

本邦での筋ジストロフィー剖検例を幅広く把握する目的で、日本病理学会編剖検輯報に記載された筋ジストロフィー剖検例について集計解析した。剖検輯報28

輯(1985年)から37輯(1994年)に登載されている筋ジストロフィーを選び出し、剖検登録票と比較検討した。重複掲載例数は少なく、輯報に載っていない例も多く、剖検登録の重要性が認識された。また病型別症例数は、登録票ではDMDが最多で全体の半数以上を占めていたが、輯報では筋緊張性ジストロフィー(MyD)が最も多く、次いでDMDがほぼ同数ながら続いていた。MyDは筋ジストロフィー施設以外での剖検が多いことが明らかとなった。

(4) 剖検輯報による筋緊張性ジストロフィー(MyD)剖検例の集計

MyDはその特徴的臨床症状から遺伝子検査の行われなかった頃から診断が確立していたことより、今回、1975年にさかのぼって剖検輯報におけるMyD剖検例の集計と解析を行った。剖検輯報18輯(1975年剖検)から41輯(1998年剖検)に掲載されているMyD 295例を選び出し、男女比、年別掲載例数、平均寿命について調べた。(1)男女比:191:103≒1.8:1 (2)年別掲載例数:1985年をピークに剖検数は減少しているが、MyD剖検数は24年間漸増しており、年間20~30例であった。(3)平均寿命:54.1歳(男:53.2歳、女:56.3歳)。剖検輯報は本邦におけるMyD剖検例の大部分を知ることができ、記載欄に限りがあるため、剖検登録をすすめる必要があると思われた。

2. 筋ジストロフィー剖検例における全身臓器の病理組織学的検討

(1) デュシェンヌ型筋ジストロフィー剖検例における腎臓の病理組織学的検討

我々はこれまでに自験剖検例について肺を含む全身諸臓器の血栓・梗塞病変の病理組織学的解析を行い、筋ジストロフィーでは非筋ジストロフィー例に比較してその発生頻度が高いことを明らかにした¹⁾。しかし筋ジストロフィーにおける血管自体の組織学的解析は乏しく、血栓・梗塞症と血管自体の器質的変化との関係については不明である。今回、DMD 43例の剖検腎について血管を中心に病理組織学的検討を行った。腎動脈は肉眼的には動脈硬化を認めなかったが、腎表面に細動脈硬化を思わせる細顆粒状変化が11例にあり、組織学的に被膜下の炎症細胞浸潤がみられた。また、糸球体の硬化像が29例に認められ、うち7例では多数の糸球体に硬化像が認められた。この硬化像は糸球体全体に及んでおり、segmentalな硬化でないのが特徴的であった。なお、多数の糸球体硬化の見られた7例には、すべて腎表面に細顆粒状変化があった。DMD患者は若年であり動脈硬化など全身的な血管変化は乏しいが²⁾、今回の検討から高齢者の腎に類似した糸球体硬化性変化が比較的高率に存在することが示された。

(2) 肢帯型筋ジストロフィー(LG)の梗塞病変の病理学的検討

LG剖検例における梗塞病変について病理組織学的に検討した。症例は国立療養所徳島病院で剖検された4例で、全例男性、年齢は29歳から52歳、歩行不能期間は1年から25年であった。2例に脳梗塞を認め、梗塞病変近くの血管には血栓や血管内腔狭窄像が見られた。また肺には梗塞はないが、血栓が認められた。脳梗塞のない2例中1例には肺には血栓が認められた。LG剖検例にも血管内腔狭窄を伴う梗塞病変の認められる症例があり、梗塞のない臓器にも血管病変があることを明らかにした。これらの変化は歩行不能期間の長い症例で見いだされる傾向にあり、DMD同様心筋変性によるうっ血性心不全に加えて長期臥床が循環血流の緩徐化をきたし血栓形成傾向にあると考えられた。LGはDMD類似の臨床症状や経過を示すものを含む多彩な病型であり、今後症例を増やして本症における梗塞の機序や頻度について検討する必要がある。

(3) 剖検心における心筋細胞の細胞接着分子の免疫組織化学的検討

最近、細胞接着分子であるneural cell adhesion molecule(NCAM)やN-cadherinが心筋細胞の介在板に存在し、心筋細胞の収縮機構に関与していることが報告されている。今回、我々はDMD 20例、Becker型筋ジストロフィー3例、MyD 4例で、剖検心におけるN-cadherin、NCAM、 β -cateninの発現を免疫組織化学的に検討した。これらの接着分子は対照および筋ジストロフィーのいずれの病型においても心筋細胞の介在板に存在したが、対照に比較しいずれの病型においても変性した心筋細胞で低下していた。NCAMはN-cadherinや β -cateninと異なり、介在板だけでなく心筋細胞の細胞膜にも認められ、各筋ジストロフィーにおいて線維化巣の内外に残存する心筋細胞表面に特に強く認められた。DystrophinopathyおよびMyDでは心筋細胞の接着分子の発現が低下しており、その原因の一つに心筋細胞の変性萎縮に伴う変化が考えられた。心筋細胞の介在板における接着分子発現の低下は心筋細胞の収縮や刺激伝導系に障害をきたし、筋ジストロフィーにおける心不全や不整脈の原因の一つになり得ると考えられた。NCAMは心の刺激伝導系のみならず、心筋細胞の変性壊死にも関与している可能性が示唆された。

3、3年間のまとめ

剖検例の登録に関しては、この3年間に28例が登録された。一施設での剖検数は限りがあるが、剖検登録をすることによって、多数症例の解析が可能になる。剖検登録票のDMD295例について、寿命、臓器所見な

どを検討・解析した。また、剖検輯報に記載された筋ジストロフィー剖検例について、登録票による集計との比較を、さらに輯報に記載されたMyD例の集計を行った。重複掲載例数は少なく、輯報に載っていない例も多く、剖検登録の重要性が認識された。MyDは筋ジストロフィー施設以外での剖検が多く、年間20~30例あることが明らかとなった。本邦における筋ジストロフィー剖検例の全容を把握するために、筋ジストロフィー施設での剖検例の登録を効率よく進めるとともに、輯報に記載される症例も登録できるような方法を考慮する必要がある。

全身臓器に関して、これまでの研究からDMDでは肺を中心に全身諸臓器を巻き込んで血栓、梗塞病変を生じやすい傾向が認められたため、DMD剖検腎を主たる対象とした血管系の変化を調べた。DMDは若年であるにもかかわらず、高齢者の腎に類似した糸球体硬化性変化が比較的高率に存在することが明らかとなった。また、LG剖検例について全身諸臓器における梗塞病変を調べ、梗塞病変の認められる症例があり、梗塞部に血栓ないし血管内腔狭窄を認めた。DMD例同様にうっ血性心不全や長期臥床が循環血流の緩徐化をきたし血栓形成傾向にあると考えられた。

筋ジストロフィーではうっ血性心不全が合併症としてしばしばみられ、死因とも関連している。また血栓梗塞など副病変の原因と考えられ、さらにMyDでは刺激伝導系障害が問題視されている。心筋細胞の細胞接着分子(N-cadherin、NCAM、 β -catenin)の発現について、剖検心を用いて免疫組織化学的に検討した。これらの細胞接着分子は心筋細胞の介在板に存在したが、コントロールに比較し、変性した心筋細胞で低下していることを明らかにした。心筋細胞の変性萎縮に伴う変化が考えられ、心筋細胞の収縮や刺激伝導系に障害をきたし、筋ジストロフィーにおける心不全や不整脈の一因になり得ると考えられた。

今後とも剖検例における全身諸臓器の病理学的変化について検討を重ねていく予定だが、特に心筋の病理組織学的検討は剖検例でなければできないことが多く、生前の生理学的・核医学的・画像検査とあわせて、その詳細な検討を加えることにより、本症における心臓あるいは循環動態の解明につとめたい。

【参考文献】

- 1) 和田美智子、香川典子、佐野壽昭、足立克仁. : Duchenne型筋ジストロフィー剖検例における梗塞病変の病理組織学的検討. 神経内科. 50 (2) ; 168-176. 1999.

筋ジストロフィーの病態と治療に関する研究

菅 理恵 大石文芽 高瀬敬一郎 荒畑 創
荒川健次 酒井徹雄 藤井直樹

国立療養所筑後病院 神経内科

研究担当者が平成13年度より現担当者に変更になりました。

平成13年度

筋強直性ジストロフィーの中樞運動伝導時間とCTGリピート数の相関

緒言

筋強直性ジストロフィーのCTGリピート数と臨床重症度は関連していると報告されている。¹⁾²⁾ また、筋強直性ジストロフィーの中樞運動伝導時間は健常成人と比較すると延長していると報告されている。³⁾ しかし、筋強直性ジストロフィーのCTGリピート数と中樞運動伝導時間の相関についての報告はない。そこで今回これらの相関について検討した。

対象 方法

対象：当科入院中の筋強直性ジストロフィー5名(男性1例 女性4例)年齢(47-58歳 平均52.8)身長(141-160cm 平均151.8cm)。

方法：磁気刺激；刺激装置はMAGSTIM200。刺激コイルは中間直径90mm円形コイルを用いた。記録は右短母指外転筋にて行った。大脳皮質刺激は円形コイルの中央をCzの位置にコイルに反時計回りの電流が流れる向きにおいて刺激した。頸部神経根刺激ではC7にコイルのエッジを置いて刺激した。刺激閾値は安静時刺激にて有意な誘発電位が得られた強度とし刺激強度は閾値+10%とした。

：CTGリピート数；白血球にて計測した。

いずれの検査もインフォームドコンセントを得て行った。

結果

全例で大脳皮質刺激、頸部刺激で誘発された。大脳皮質刺激では閾値(60-75% 平均65%)頸部刺激では閾値(55-65% 平均59%)であった。中樞運動伝導時間は7.7-10ms平均8.7msであった。CTGリピート数は(1850-2350 平均2000)であった。中樞運動伝導時間とCTGリピート数の有意な相関はなかった。

考察

身長の影響を比較的受けない上肢の中樞運動伝導時間を計測したり。今回の5例では著明な延長を示した例はなかった。年齢と身長を一致させた正常コントロールの検査を行い中樞運動伝導時間の延長の有無を再検討すると共にさらに例数を増やしての検討が必要だと考えられる。

結論

上肢中樞運動伝導時間とCTGリピート数の有意な相関は認めなかった。今後、例数を増やしての検討が必要である。

平成12年度

デュシェンヌ型筋ジストロフィーにおける赤血膜ヘキサコサン酸と血液凝固線溶異常について

小池文彦*¹

安德恭演*¹

酒井徹雄

田中 薫*²

国立療養所筑後病院 神経内科

(*¹現 柳川リハビリテーション病院)

(*²現 高木病院)

緒言

赤血球膜ヘキサコサン酸は副腎白質ジストロフィーなどペルオキシソーム病で異常高値を示し診断に用いられている。また最近、安德らは赤血球膜ヘキサコサン酸が加齢や動脈硬化に関連しても増加することを報告⁵⁾した。我々は過去当班会議において、デュシェンヌ型などの筋ジストロフィーにおいて加齢に伴う赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積の促進がみられることを報告してきた。今回の研究の目的は、最近デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)において血液凝固線溶異常が指摘されているが、その異常と赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積の間に関連があるかみることである。

方法

対象は当科入院中のDMD患者17名(年齢19.5±3.5歳)。静脈血(ヘパリン加)よりMawatariらの方法⁶⁾により白色の赤血球膜を作製し、Folchらの方法⁷⁾により総脂質を抽出した。総脂質からは、Antokuらの方法⁸⁾により総脂肪酸を抽出し、高速液体クロマトグラフィーにより極長鎖脂肪酸の分析を行った。ヘキサコサン酸蓄積の解析には、C26:0(area%)を用いた。

また同時に採血した検体にて、APTT、PT、TT、fibrinogen、TAT、F1+2、ATⅢ、PIC、D-dimer、FDP、β-TG、PF4の血液凝固線溶系に関するマーカーを測定し、赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積との関連を調べた。

結 果

赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積促進のみられる群(C26:0 \geq 0.20%)が17名中12名あり、これらにおいて血液凝固線溶異常を呈するものが多い傾向がみられた。 β -TGとTATを例にとって示す。 β -TGではC26:0<0.20%(24.1~32.5ng/ml、平均27.9ng/ml)の群では異常なく、C26:0 \geq 0.20%の群では12名中7名に異常(19.5~704.6 ng/ml、平均147.35ng/ml)を認めた(p<0.05)。TATでは有意差を示さなかったが、C26:0<0.20%の群では5名中1名に異常(0.8~7.3 μ g/l、平均2.4 μ g/l)を認め、C26:0 \geq 0.20%の群では12名中7名(0.7~60以上 μ g/l、平均29.8 μ g/l)に異常を認めた。

考 察

我々は生体内の細胞膜の代表として赤血球膜を用いているが、加齢に伴う赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積促進は、過去にも報告したようにデュシェンヌ型以外の筋ジストロフィーにも認められ、非特異的な膜の老化現象とも考えられる。

今回、赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積促進のみられる群で血液凝固線溶異常を呈するものが多い傾向が認められた。副腎白質ジストロフィーにおいてはロレンツォのオイルなどの高級モノエン酸で治療するとヘキサコサン酸は下がるが血小板も減少し出血傾向を伴うことがある。これらのことを考えあわせるとヘキサコサン酸蓄積による二次的な膜機能異常が血液凝固線溶異常に関与している可能性がある。

結 論

赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積と血液凝固線溶異常との間には、少なくとも β -TGでは関連が認められた。DMDではヘキサコサン酸蓄積による膜機能異常が血液凝固線溶異常に関与している可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Tsilfidis C et al. : Correlation between CTG trinucleotide repeat length and frequency of severe congenital myotonic dystrophy. *Nat Genet* 1: 192-195, 1992
- 2) Harley HG et al. : Expansion of an unstable DNA region and phenotypic variation in myotonic dystrophy *Nature* 355: 545-6, 1992
- 3) Oliveri M et al. : Magnetic stimulation study in patients with myotonic dystrophy. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol* 105: 297-301, 1997.
- 4) Tobimatsu S et al. : Effects of sex, height and age on motor evoked potentials with magnetic stimulation. *J Neurol* 245 : 256-261, 1998

- 5) Antoku Y et al. : Correlations of elevated levels of hexacosanate in erythrocyte membranes with risk factors for atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 153(1): 169-173, 2000
- 6) Mawatari S et al. : Erythrocyte membrane cation-stimulated ATPase activities in myotonic muscular dystrophy. *J Neurol Sci* 53: 23-28, 1982
- 7) Folch J et al. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497-509, 1957
- 8) Antoku Y et al. : A comparison of erythrocytes, lymphocytes and blood plasma as samples in fatty acid analysis for the diagnosis of adrenoleukodystrophy. *J Neurol Sci* 94 : 193-200, 1989

筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究 3年間の実績報告書

分担研究者 後藤勝政

国立療養所西別府病院・神経内科

3年間にわたって統一したテーマでの研究ができなかったため年度別に報告する。

初年度

初年度は筋ジストロフィー患者における尿路結石について検討した。

筋ジストロフィーおよび類縁疾患において尿路結石を生じやすいどのような病態があるのかを検討した。DMD25名と神経筋疾患14名を対象として、血液中のCa、P、Mg、尿酸、PTH、ビタミンD、オステオカルシン、ICTP、PICP、および、尿量、尿Ca、P、Mg、尿酸、PH、尿中クエン酸、尿中シュウ酸、尿中デオキシピリジノリンを測定した。

尿量は低下傾向にあった。骨吸収マーカーであるICTPと尿中デオキシピリジノリンが高値の例が多く認められた。今回、検討した項目では明らかな特異的異常は認められなかったが、患者の中には骨粗鬆の治療目的で活性型ビタミンD薬あるいはCa製剤を投与されているものもあり、高Ca血症をきたしやすい状態にあると考えられる。筋ジストロフィーの患者における尿路結石の成因として、長期臥床による尿流停滞や尿濃縮などの影響、また、臥床による骨からのカルシウム遊出、およびビタミンD剤などの薬剤による影響が大きいものと考えられた。

2年目

2年度は

1. DMDにおける心機能とQT dispersion(QTd)との関係に関する研究
2. Duchenne型筋ジストロフィー症患者における顎閉筋機能の平衡性と顎顔面形態に関する研究
3. 十二指腸潰瘍穿孔を生じたDuchenne型筋ジストロフィーの1例について報告した。

DMDにおける心機能とQT dispersion(QTd)との関係に関する研究

QT dispersion(QTd)は心筋再分極相の不均一性の指標とされ、不整脈との関連が報告されており、突然死を予測する因子として有用と考えられている。そこで、

DMDにおけるQTdと心機能との関連について検討した。DMD23名にて12誘導心電図でQTdを、心エコーにてEjection Fraction(EF)を計測。血液中のBNP、ANPを調べた。24時間ホルター心電図で総VPC数を調べた。

VPC数が1日100個未満の群と100個以上の群とに分けて検討すると、100個以上の群では100個未満の群に比し、有意にEFは低下し、有意にQTdは増大した。DMD患者においてQT dispersionは心機能の指標であるEF、ANP、BNPと有意な相関を示した。以上より、DMDにおいてQTdは心機能低下の指標として有用であることが示唆された。

Duchenne型筋ジストロフィー症患者における顎閉筋機能の平衡性と顎顔面形態に関する研究

九大歯学部との共同研究である。DMD患者において顎閉筋の機能低下および機能的不均衡が、ジストロフィー患者に特異的に見られる咬合異常の大きな原因の一つと考えられる。そこでほぼ成長発育の終了したと考えられるDMD患者の顎閉筋すなわち側頭筋、咬筋および顎二腹筋前腹の機能的平衡性を評価し、顎顔面形態との関係を分析するとともに、健常者との比較を行った。

18歳以上のDMD患者19名および良好な咬合を有する成人健常者25名を対象とした。機能評価として最大噛みしめ時の側頭筋前部、咬筋、最大開口時の顎二腹筋の表面筋電図(EMG)波形を用いた。形態分析に関しては側面頭部X線規格写真より、角度34項目、距離13項目の計測を行った。

健常群に比較してDMD群は、閉顎筋のピーク周波数帯は開顎筋よりも相対的に低周波にシフトし、その分布にも偏りが見られる結果となった。これは開顎筋と比較して閉顎筋の機能がより障害された結果と考えられる。形態においては上顎前歯の唇側傾斜(1)、下顎角(2)の開大および下顎骨体長(3/4)の増加が見られ、これらに伴って下顔面高(5)の増加、下顎下縁平面角(6)、咬合平面角(7)が開大し、開咬(8)が生じたものと考えられ

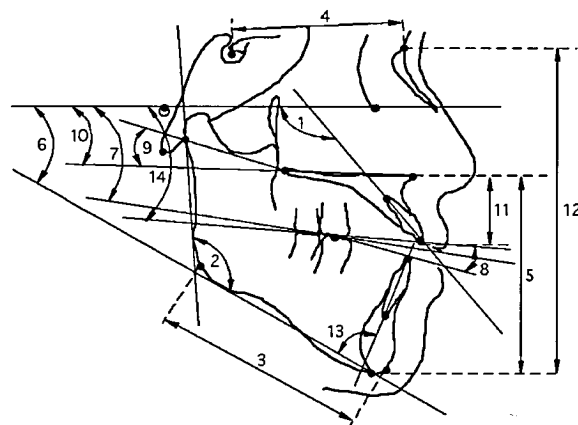


図1 有意差、有意相関の得られた形態計測項目
角度9項目 距離4項目

る。

相関分析の結果では、開顎筋と閉顎筋のバランスが口蓋平面に影響を与え、側頭筋の機能低下が上顎咬合平面角と、咬筋は下顔面高と密接に関係していることが示唆された。また舌と口腔周囲筋との機能的アンバランスが上顎前歯の唇側傾斜を引き起こすと考察する報告もあるが、顎開閉筋機能との関連性も示唆された。また今回の横断資料では相関は見られなかったが、下顔面高の変化の最も大きな原因の一つと考えられる下顎角の開大は健常群との比較では明らかであり、咬筋の機能低下が下顎角の開大と大きく関与していると考えられる。

咬筋の機能低下が下顎角の開大を、閉顎筋と開顎筋のアンバランスが口蓋平面の後方部の下方移動を起こし、上顎咬合平面がより水平となり、開咬を招いたのではないかと考えられた。

十二指腸潰瘍穿孔を生じたDuchenne型筋ジストロフィーの1例

十二指腸潰瘍穿孔による高度の腹痛を生じたDuchenne型筋ジストロフィーの1例を経験した。筋ジストロフィーにおける腹痛の鑑別のひとつとして重要と考えられた。

症例

患者は19歳、男性、DMD。平成12年4月9日(日曜)の昼頃から突然、右下腹部の疼痛を訴えた。体温38.3℃、白血球9300、CRP 0.12mg/dl。苦悶様顔貌で顔面は蒼白。右下腹部に強い圧痛と自発痛を認め、上腹部にも圧痛を認めたが、筋性防御はなかった。翌日の検査ではWBC 17100、CRP 18.33mg/dlと著明に上昇し。急性虫垂炎を疑い、近くのS病院の外科へ緊急入院したが、腹部CTにて腹水の貯留とfree airを認め上部消化管内視鏡を行ったところ、十二指腸に穿孔所見を認め、十二指腸潰瘍穿孔性腹膜炎と診断した。潰瘍穿孔部閉鎖、大網充填術、胃空腸吻合術を施行された。術後経過は良好であった。

筋ジストロフィーでは様々な原因による腹痛がみられる。中には急性胃拡張など重篤なものがあり、注意が必要であるが、十二指腸潰瘍穿孔による可能性も鑑別診断にあげる必要があり、外科との連携が大切である。

3年目

ベッカー型筋ジストロフィーにおける遺伝相談の1例を報告した。

われわれの経験したベッカー型筋ジストロフィーの遺伝相談の1例を提示し、ベッカー型筋ジストロフィ

ーにおける遺伝相談の問題点を検討した。

このケースは1998年に行なわれた。クライアントは20歳の女性。クライアントの父親はベッカー型筋ジストロフィーにて国立療養所西別府病院に通院している。ジストロフィン遺伝子のexon45,47に欠失が認められた。1997年8月と1999年7月に脳梗塞(左片麻痺)を発症しているが、麻痺はごく軽度残っているのみで、会社員として現在も働いている。

妊娠8週5日にあたる1998年8月10日、出生前診断希望にて済生会福岡総合病院を紹介され受診した。染色体検査では46XYで男児と判明し、羊水絨毛検査が行なわれた。絨毛のDNA検査にて胎児は祖父と同じ、exon45,47の欠失を有することが判明した。(1998年8月14日)。相談の結果、今回の妊娠の時はおそらく障害があっても産むつもりだが、今回は中絶するという事になった。筋ジストロフィーの出生前診断では“出生前診断に関する見解”の中でつぎの3項目が該当する。

- d. 妊婦が重篤なX連鎖遺伝病のヘテロ接合体
- e. 夫婦のいずれもが重篤な常染色体劣性遺伝病のヘテロ接合体
- f. 夫婦のいずれかが重篤な常染色体優性遺伝病のヘテロ接合体

重篤か否かの判断は、家族により、個人により異なると思われ、病状・家族の状況・希望によっては、対象疾患となり得るものがある、とされている。

さまざまな遺伝性疾患で出生前診断を行い、胎児の異常が見つかった場合には約90%が中絶を望んでいたと報告されている。ベッカー型筋ジストロフィーも、クライアントの父親(患者)が、自分のような苦勞は孫には絶対させたくない、という場合が多いといわれるが、医療側はなるべく中絶をさせたくないという意見が多い。

3年間のまとめ

田村拓久

国立療養所川棚病院

1. 筋ジストロフィーの心機能障害の指標

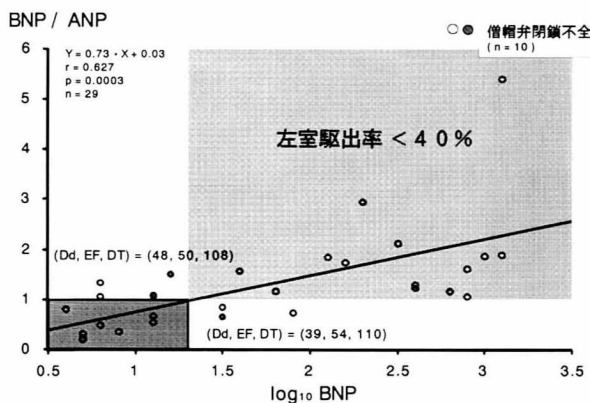
(平成12年度、13年度)

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)では胸部変形により心胸郭比の測定や心エコー検査が困難なこともあり、心機能判定に注意が必要である。そこで、DMDの心機能障害を早期に簡便に発見することを目的とし、平成12年度は従来の心不全の指標と血漿ナトリウム利尿ペプチドの関係を検証した。

36例の男性DMD(21.2±4.4歳)を対象とした。うち15例が19.3±4.0歳で死亡(死因；心不全12例、心肺不全1例、突然死2例)。心エコー法による左室指標(Pombo法による駆出率(EF)、拡張終期径(Dd)、心筋重量)と胸部X線による心胸郭比(CTR)と脳性および心房性ナトリウム利尿ペプチド(BNP、ANP)との関係を解析。また、心不全症状出現までのCTRの推移を調べ、CTRでBNPとEFを予測した。

①心エコーでの左室指標とナトリウム利尿ペプチドの関係：29例(21.5±4.5歳)が対象。18例が心不全治療を行っており、14例が人工呼吸器を使用していた。常用対数で変換したBNP値(log10BNP)とEFの関係は、 $\log_{10}BNP = 2.95 - 0.04 \cdot EF$ ($r = -0.777$, $p < 0.0001$)。また、 $\log_{10}BNP$ とDdは $r = 0.759$, $p < 0.0001$ 、左室心筋量は $r = 0.511$, $p = 0.0254$ と相関を認めた。 $\log_{10}BNP$ とBNP/ANP比は $r = 0.627$, $p = 0.0003$ と正相関し、BNPが20 pg/ml以上でBNP/ANP比が1以上の症例は全てEF40%未満であった(図1)。EF40%未満でBNP正常例が4例存在したが、3例はBNP/ANP比が1以上であり、残る1例は僧帽弁E波からの減速時間(DT)が580 msecで僧帽弁閉鎖不全を認めた。また、BNP/ANP比

図1 神経体液性因子



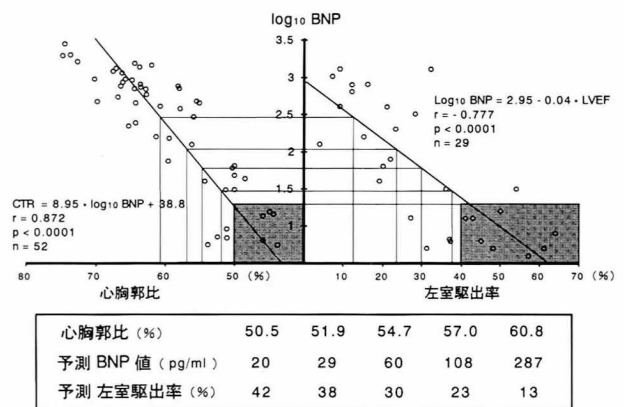
が1未満でBNPが20 pg/ml以上を示した1例は、EF40%以上であったがDTは110 msecであった。

②CTRとBNPの関係：22例52回の測定により以下の関係を認めた； $CTR = 8.95 \cdot \log_{10}BNP + 38.8$ ($r = 0.872$, $p < 0.0001$)。

③心不全症例のCTRの推移：心不全症状が出現した17例が対象で、症状出現年齢は19.8±4.5歳。症状の内容は、倦怠感1例、呼吸困難等の胸部症状11例、食欲不振等の腹部症状3例、浮腫2例。症状出現後0-42日(平均9.7±12.9日)のCTRは、60.8±3.6% (n=15)。症状出現前160.8±25.2日のCTRは57.0±4.2% (n=9)、前267.5±22.8日は54.7±2.6% (n=4)、前359.8±28.8日は51.9±2.8% (n=6)であった。

④CTR、BNPとEFの関係：上記の関係式より、BNPが20 pg/mlの時、CTRは50.5%でEFが42%、心不全症状が出現したCTRが60.8%では、BNPは287 pg/ml、EFが13%であった(図2)。

図2 心機能の予測



ナトリウム利尿ペプチドが心機能を反映することは知られており、特にBNPは左室収縮機能のみならず拡張機能とも関係がある。しかし、BNPは循環動態が安定している患者では正常値を示すこともあり、今回の検討でも4例がEF40%未満であるにもかかわらずBNP値は正常であった。EF低下かつBNP正常例をEF、BNPともに正常例と鑑別するためにBNP値とBNP/ANP比を用いたところ3例の心機能障害を正確に判定できた。残る1例は僧帽弁閉鎖不全を有し聴診にて鑑別可能と考えた。今後、CTRや心エコーによる心機能判定が困難な症例でもBNPとBNP/ANP比を用いることでDMDの心機能障害を外来でもより簡便かつ正確に判定可能である。

筋強直性ジストロフィー(MyD)もDMDと同様に拡張型心筋症様病態を呈し、心不全を来することが知られている。そこで、平成13年度はMyDの心機能を血漿ナトリウム利尿ペプチドを用い、MyDにおけるBNPの臨床的意義を検討した。

MyD25例(53.1±7.4歳)を対象とした。合併症は、心不全、ペースメーカー植え込み(VVI type)、心房粗動が各々1例、糖尿病が3例。心エコー法による左心機能指標(Dd、心筋重量、EF、DT、E/A比)、MIBGおよびTL心筋SPECTでの心臓/縦隔比(H/M比)と洗い出し率(WR)、心電図指標(PR間隔、QRS幅)およびCTRとナトリウム利尿ペプチドの関係を解析した。

心エコーおよび心筋SPECTを用いた各種心機能指標やCTRとBNPの関連は証明できなかったが、MIBG後期像のH/M比は全例3以下で、最も低値2例のBNPは147 pg/mlと211 pg/mlと高値を示し、TLでは2例を除きWRの低下を認めた。また、PR間隔およびQRS幅とlog10BNPの間には、弱い相関を認めた(PR間隔; n=18 r=0.548, p= 0.0185, QRS幅; n=20, r=0.556, p=0.0109)。一方、BNPは8例で高値を示したが、左心機能障害を認めた症例は心不全例の1例のみで、同時にANPも高値であった症例は、心不全例とペースメーカー植え込み例の2例であった。MIBG心筋SPECT後期像でH/M比が低い症例やTLではWRの低い症例が多く、また、刺激伝導障害が高度な症例ほどBNPは高値であったことから、MyDのBNPの上昇には何らかの心筋障害が関与していることが疑われた。しかし、25例中8例のMyDでBNPは高値であったが、左室収縮機能障害を認めた症例は1例のみであり、MyDではBNPの上昇のみで心不全診断は行えない。一方、BNPに加えANPも高値であった症例は、心不全例とペースメーカー植え込み例のみであり、MyDの心機能障害の指標としては、心房負荷を表すANPがBNPより優れている可能性を示唆した。

2. mdxマウスの神経筋伝達に及ぼすプレドニゾロンの作用(平成11年度、12年度)

mdxマウスではジストロフィン欠損により運動終板構造が変性している。微小電極法による神経筋伝達機能解析では、変性によるMEPP振幅低下をquantal content(m)増加により補っていると報告されている。この様な代償機序により補われている神経筋伝達に及ぼすPSLの作用(急性作用および長期投与による作用)を微小電極法にて解析した。

急性作用の検討: 8~10週齢のmdxマウスの横隔膜神経筋標本を作製し、1mg/L及び20mg/LのPSLを灌流して神経筋伝達に及ぼす作用を検討した。20mg/Lでは神経筋伝達を阻害することが示されたが、1mg/Lでは神経筋伝達は阻害されず安全に投与できると考えられた。

長期投与による作用の検討: 5週齢のmdxマウスに約5mg/kg/日のPSLを30週間皮下注射し、投与終了後に横隔膜神経筋標本を作製した。対照群には生理食塩水を投与した。PSL群では対照群と比較して、MEPP振幅低下やm増加の割合が低下していた。このことは、

運動終板の変性抑制を示唆した。

以上より、少量のPSL投与はmdxマウスに対して安全であり長期投与によって運動終板変性を抑制する可能性が考えられる。

3. 筋ジストロフィー患者へのクレアチン投与の試み(平成13年度)

重症(機能障害度VIIおよびVIII)の筋ジストロフィー患者5例(DMD3例、FCMD2例)にクレアチンを投与して筋力増強と副作用について検討した。3ヶ月間のクレアチン投与で四肢筋力の改善は認めなかったが、呼吸器リハビリを併用した例では%VCの改善を認めた。副作用として肝機能障害を1例認めたが、中止により改善した。重症例においても呼吸器リハビリとの併用により%VCが改善する可能性が示唆された。

4. 長崎県の「遺伝相談モデル事業」と

神経筋基幹施設としての「国立川棚病院」との関係(平成11年度)

当院では、昭和62年より筋ジストロフィー患者の遺伝子診断を院内で行い、同時に遺伝子相談を行い、また、他院から依頼された遺伝子診断は当院の結果に基づき他院の医者が説明している。長崎大学小児科内では、昭和61年から「遺伝外来」を行ない、診断とカウンセリング及びフォローを行っている。来院患者は様々な染色体異常症や奇形症候群からなる。神経疾患としては筋緊張低下、発達遅滞などで来院することが多い。しかし、成人発症の遺伝子疾患患者の来院数は少ない。診断がつかない場合には、長崎大学や他の専門医との検討、日本人類遺伝学会後に開かれる「dysmorphology」で提示して極力診断するようにしていた。筋ジストロフィーについては遺伝子解析を含む診断・方針立てを当院で行っていた。

「遺伝相談モデル事業」の目的は、障害児・障害者のノーマライゼーションの観点から、適切なカウンセリング、情報提供を行うことで患者・家族の精神的負担軽減を図ることである。具体的には、長崎県の10ヶ所の保健所で保健婦を中心として遺伝カウンセリングについての講習会を行っている。今後、保健所、国公立病院、大学病院と遺伝カウンセリング室間を結んで、患者にとって利用しやすいように情報交換を行う。神経筋疾患については当院が担当するように、疾患別に種々の専門機関・研究施設へ紹介相談もおこなう。長崎大学病院では来談者のニーズに答えられる体制を検討し、「遺伝カウンセリング室」を設ける。基本的にはプレカウンセリング、スタッフカウンセリング、本当のカウンセリングの3段階方式とし、当院からは遺伝性神経筋疾患のスタッフとして参加する。

日本での遺伝カウンセラーの教育は不十分であり、

非医師遺伝カウンセラーが活躍する場が少ないのが現状である。今後、当院をはじめ大学や他の専門施設との関係を図り、遺伝性疾患患者や家族へのサポート体制の1つとしての「遺伝カウンセリング」の確立を図る予定である。

平成11～13年度のまとめ

PMD 患者における自律神経障害に関する検討

班 員 今村重洋

(国立療養所再春荘病院内科)

共同研究者 大林光念 (熊本大学第一内科)

【緒言】筋ジストロフィー (PMD)では、四肢末梢循環不全や頻脈などの循環器症状、また嘔気嘔吐、腹部膨満、胃拡張などの消化器症状がしばしばみられ、日常生活に支障をきたす事が多い。本研究では筋ジストロフィーと自律神経機能障害の関連について検討することを目的に、この3年間で四肢末梢と心臓の自律神経機能、胃運動機能の評価を行ったが、特に胃電図を用いた胃運動機能の評価は薬物療法の効果判定にも有効であった。

I. 四肢末梢と心臓の自律神経機能の評価

【対象及び方法】DMD10例にサーモグラフィ、深部温度計、レーザードプラ皮膚血流計、及び微量発汗計による検査を施行し、健常者25名及び他の筋疾患患者(多発性筋炎患者2例、MyD患者1例、FSH患者1例)と比較した。心臓の自律神経機能は6例のDMDに24時間心拍変動計検査を行い、123I-MIBG、201Tl心筋シンチを施行し、また両者の比較も行った。

【結果】DMD10例中9例、他の筋疾患患者4例に下肢の皮膚温、深部温の低下、皮膚血流低下傾向を認め、このうちDMD6例では、足底部の皮膚温より下腿部外側の皮膚温の方が低下した逆転現象が認められた。以上の結果は末梢レベルで交感神経の過緊張が起こっており、とりわけ障害筋にその現象が強いことを意味する。微量発汗計検査においては全例で正常発汗パターンを呈した。24時間心拍変動計検査では、CV値は6例全例で正常であったが、6例中5例でLFおよびLF/HFの上昇を認め、心筋においても交感神経の過緊張が確認された。123I-MIBG心筋シンチでは、6例中4例に201Tlシンチと比較して下壁を中心により広範囲に取り込みの低下が認められた。このことは一部の症例で器質的な交感神経の障害が起こっていることを示唆する。

【結論】(1)DMD患者では四肢末梢の交感神経過緊張状態を呈し、これによる皮膚血流低下傾向が認められた。(2)60%の患者で手掌足底部より近位側での皮膚温低下傾向が認められた。(3)心電図R-R間隔は副交感神経機能の低下傾向があり交感神経機能の相対的過緊張の所見が認められた。(4)123I-MIBG心筋シンチ

は66.7%の症例で心筋のMIBG集積が低下しており、心臓交感神経障害の存在が示唆された。

II. 胃運動機能の評価(胃部症状メカニズムの検討)

【対象および方法】PMD15例(Duchenne型7例、Becker型8例、平均年齢 42.3 ± 15.3 歳)、および消化器症状や自律神経障害を認めない健常者8例(平均年齢 35.1 ± 16.5 歳)に、ポータブル型胃電図記録計(ニプロ胃電計)を食前30分から食後30分まで装着し、胃平滑筋の電気活動を経皮的に記録した。胃電図における周波数は、 <2.4 cpm: brady gastria、 $2.4-3.6$ cpm: normal gastria、 >3.6 cpm: tachygastriaの3つの成分に大別されることから、食事負荷前後で記録したデータを周波数解析し、各時点での平均周波数、及びこれら3成分の出現頻度の変化を解析した。また、食事負荷後に起こる周波数の変化に関して、食後の最大周波数、及び最大となるまでの時間を算定し、健常者のデータと比較検討した。

【結果】Duchenne型5例、Becker型3例において、健常者に比して食前の平均周波数の低下を認めた。胃電図の各周波数成分の出現頻度については、Duchenne型、Becker型のいずれの患者群においても、食前、食事中、食後を通じて健常者に比し有意な変化を認めなかった。いずれのPMD患者群においても、食事開始後、平均周波数が最大となるまでの平均時間は、健常者群の平均に比し有意に遅延していた。

【結論】PMD患者においては、食前、および食事中の胃平滑筋収縮のベースとなる電気活動が低下しており、この異常が嘔気・嘔吐、腹部膨満感、食欲低下などの消化器症状の原因となりうる可能性が示唆された。

III. クエン酸モサプリド投与による胃運動機能改善効果の判定

【対象および方法】PMD15例(Duchenne型7例、Becker型8例、平均年齢 43.3 ± 14.7 歳)、および消化器症状や自律神経障害を認めない健常者8例(平均年齢 35.1 ± 16.5 歳)にポータブル型胃電図記録計(ニプロ胃電計)を装着し胃平滑筋の電気活動を記録した。食事は全例午前11時30分から15分間で360kcalのビスケットと300mlの水を摂取させるよう統一し、PMD患者15例はクエン酸モサプリド非内服時と食前30分にクエン酸モサプリド5mg内服時の両者について記録した。胃電図の周波数は、 <2.4 cpm: brady gastria、 $2.4-3.6$ cpm: normal gastria、 >3.6 cpm: tachygastriaの3つの成分に大別されることから、PMD患者群と健常者群、およびPMD患者群におけるクエン酸モサプリド非内服時と内服時について食前30分、食事中(食事開始後7分)、食後30分各時点での平均周波数および上記3大周波数成分の出現頻度の変化を調べるとともに、食事開始後平均周波数最

大となるまでの時間を算定し比較検討した。

【結果】(1)クエン酸モサプリド非内服時では、食事開始から胃蠕動運動が最大となるまでの時間は、Duchenne型患者群、Becker型患者群で健常者群の平均に比し有意に遅延していた(健常者：24.00±8.91分、Duchenne型患者群：45.14±15.33分、Becker型患者群：36.00±10.66分、 $p<0.05$)。(2)クエン酸モサプリド内服時では、Duchenne型患者群、Becker型患者群ともに、非内服時に比し食事開始から胃蠕動運動が最大となるまでの時間が有意に短縮傾向にあった(Duchenne型患者群：33.29±9.21分、Becker型患者群：25.67±11.00分)。(3) Duchenne型患者群、Becker型患者群ともにクエン酸モサプリド内服時の食事中(食事開始後7分)、および食後30分のtachygastriaの比率がクエン酸モサプリド非内服時に比し増加していた。

【結論】 PMD患者の消化管運動は、消化管運動促進剤の投与で改善しうる可能性が示唆された。今後は食生活の質を向上させるためにも各種の消化管運動促進剤の効果を検討するとともに、薬物の適切な投与時間なども検討する必要がある。

3年間のまとめ

筋ジストロフィー患者の臨床病態に関する研究

班 員 隅本健司

(国立療養所宮崎東病院)

共同研究者 大庭健一 塩屋敬一

(国立療養所宮崎東病院)

斉田和子

(現メルボルン大学医学部)

宮崎県の筋ジス患者の実態調査を実施するとともに、臨床病態に関する2件の研究を行った。

平成11年度

「宮崎県内の筋ジストロフィー患者の実態調査」

宮崎県では過去に筋ジス患者の全般的な実態調査は実施されたことがなく、今後の県内の筋ジス医療にかす目的で患者調査を行った。

プライバシーに配慮しながら、以下の方法で調査を行った。(1)県内の児童相談所、教育事務所を通じて就学年代の筋ジス患者を把握する。(2)県の筋ジス協会を通じて協会加盟の筋ジス患者を把握する。(3)県内の神経内科医を通じて筋ジス患者を把握する。いずれも当院への受診・相談をすすめていただき、筋ジス検診への定期受診に結びつける。(4)従来から実施してきた筋ジス検診で、病型、ADL、呼吸機能、心機能、生活習慣病などの合併症の評価に加え、外来受診回数、入院回数、その原因、家族構成、住居等の調査を行った。

これにより筋ジス病棟に入院している患者以外に、68名の進行性筋ジス患者を把握することができた。このうち25名が自宅以外のケアハウスや特別療護施設、知的障害者施設で生活していた。

平成9年度、当院の筋ジス病棟の平均在院日数は335.5日であり、国立療養所26施設中4番目に短い日数であった。これは在宅での療養を希望する患者の増加と筋ジス患者を対象とした県内施設の開設および施設からの短期入院依頼が増えたことによると考えられた。

施設での生活では、ADLの低下や呼吸機能の低下に伴い、介助や医療面で新しい問題が生じてきていた。また、冬期の感冒に伴う状態の悪化の際は施設での対応が困難となることが、当院への短期入院依頼の増加の原因となっていた。

在宅では、患者により病院への受診回数が大きく異なり、筋ジス以外に生活習慣病の合併を指摘されながらもほとんど病院を受診していない例もあり、外来管

理の工夫が望まれた。

平成12年度

「DMD患者の尿路系障害」

デュシャンヌ型筋ジストロフィー(以下DMD)の排尿機能障害について検討し、排尿機能が破綻を起こす要因について考察した。

平成7年10月から平成12年9月までの期間に当院の筋ジス病棟へ入院したDMD患者15例を対象として尿路系の障害(排尿困難、尿失禁、尿閉、残尿、反復性尿路感染、膀胱尿管逆流)の有無や尿道カテーテルの使用について診療録を調査し、臨床経過を検討した。

対象となったDMD患者の平均年齢は19.8歳、9例でNIPPVが実施されていた。特別な尿路系障害をおこした症例は1例で急性の尿閉であった。出血性膀胱炎が1例、誤嚥や喀痰による窒息で状態が悪化し、尿道カテーテルによる排尿管理を行った症例が2例であった。慢性の尿失禁や反復性尿路感染の症例はなかった。

DMDでは骨格筋の著しい筋力低下に加え、心臓や肺の機能低下をきたす。その一方で外眼筋や括約筋はしばしば機能が保存されている。機能低下の程度が筋によってなぜ差があるのかは明らかではないが、排尿機能も比較的保持されている機能の一つと考えられている。

排尿中枢は大脳皮質、橋および腰仙髄にあり、平滑筋である排尿筋と内尿道括約筋、横紋筋である外尿道括約筋と腹筋が排尿に関与する。ジストロフィンはいずれの筋にも存在している。DMD患者が排尿の問題を起こす原因として、直接の筋障害、側弯による神経障害、側弯の手術合併症、長期臥床、抗精神薬などの薬剤、精神障害が考えられるが、DMD患者の尿路系障害の報告は少なく、当院の経験も1例のみであった。経験例では膀胱機能障害を残すことなく回復したことから筋の変性による直接の障害は考えにくい。

Caressら¹⁾は、尿閉1例、尿失禁5例、排尿困難1例を評価し、電気生理学的な検討から、膀胱のmyopathicな変化は少なく、排尿をコントロールする神経の異常によるものが多いと報告した。また、しばしば精神症状が尿路系症状を修飾し、側弯とその手術合併症の影響も協調している。

DMDで十分に機能保持されている排尿機能は、状態の悪化や身体の変形、精神症状などから二次的に機能異常をきたすことが考えられた。患者管理の進歩によりライフスパンが伸びた場合、新しい形の尿路系の問題が出現する可能性があるが、DMD患者で排尿障害が認められた際には、膀胱や括約筋の直接の障害よりも上位の神経コントロールの異常を考慮することが必要と考えられた

平成13年度

「筋ジストロフィー患者のグレリンの検討」

筋ジス患者の治療をすすめる上で栄養の問題は大きな分野を占めている。これまで用いられてきた栄養評価の指標に加えて、Kojimaら²⁾によって胃から発見され、エネルギー代謝に重要な役割を持つと考えられるグレリンが有用な検査の一つになると考え検討を行った。

DMD患者8例と ベッカー型筋ジス患者2例を対象とした。早朝空腹時に採血を行い、測定は宮崎医科大学第3内科に依頼した。検体はRIA法で測定された。

グレリンの測定結果と、臨床ステージ、やせや肥満といった体格、体重、身長、BMI、BNP、ANP、CK、摂取カロリー、年齢、血糖値、HbA1cとの相関の有無を検討した。

健常者では体重、BMIと相関が認められるが、筋ジス患者においても体重、BMIと良好な相関が認められた。病状が進行し ADL が低下しても栄養摂取に問題のない患者は健常者と変わらない値を示した。栄養学的な問題が示唆されやせの傾向が進んだ症例ではグレリンの著しい増加が認められた。肥満傾向にある筋ジス患者ではグレリンの値は低値を示した。臨床ステージ、CK、年齢、血糖値、摂取カロリー、BNP、ANPについてははっきりした相関関係は認められなかった。

グレリンは胃のA-like細胞(X細胞)から分泌され³⁾、強力な成長ホルモン分泌促進を示しながら、脳と消化管を機能的に連携して栄養状態の調節にかかわる。成長ホルモンを介さない摂食亢進作用、体重増加作用、胃酸分泌・胃運動亢進作用に加え、循環器系への作用も知られてきた。カヘキシアや絶食などの異化亢進状態では産生が増加する。

グレリンが上昇していれば体が栄養を要求している状態であり、低下していれば栄養過多の状態と考えられる。決して絶対的な栄養量ではなく患者個々の必要量に依存しているように思われる。筋ジス患者が個々の必要量に応じて適切な栄養量を摂取しているかなどの客観的な評価になると考えられた。また治療薬としての治験が開始されており、食思が低下するいそうが進む筋ジス患者において治療薬となる可能性もある。

筋ジス患者は病気の進行に伴い筋量が減少し、筋の脂肪変性や除脂肪体重の変化が起こる。こうした筋ジス特有の体組成の変化がグレリンの分泌にどう影響するかは不明であり、また、グレリンの持つ幅広い生理作用の解明と臨床応用も今後の研究課題であるが、筋ジス患者の病態評価にも有用な検査の一つになる可能性を考えた。

参考文献

- 1) Caress J B et al. : Urinary dysfunction in Duchenne muscular dystrophy Muscle & Nerve 19 : 819 - 822 1996.
- 2) Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. : Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature 402 : 656-660 1999.
- 3) Date Y, Kojima M, Hosoda H, et al. : Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. Endocrinology 141: 4255-4261 2000.

グレリンを測定いただきました宮崎医科大学第3内科の中里雅光、椎屋智美先生に深謝いたします。

皮膚生検によるジストロフィノパチーの診断

園田至人¹、新山尚仁²、樋口逸郎²、橋口照人³、
松村 剛⁴、前村和俊¹、西郷隆二¹、福永 知¹、
宇都 正²、児玉知子¹、中江めぐみ²、迫田俊一²、
福永秀敏¹、納 光弘²

¹国立療養所南九州病院神経内科,

²鹿児島大学第三内科,

³鹿児島大学臨床検査医学講座,

⁴国立療養所刀根山病院神経内科

【緒言】

ジストロフィン骨格筋、心筋や平滑筋の細胞膜下に存在し、ジストロフィンの異常によりDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)・Becker型筋ジストロフィー(BMD)が引き起こされる。これらの疾患は、臨床症状・遺伝子検査・筋生検などにより診断される。DMDやmdxマウスの平滑筋でもジストロフィンの欠損が報告されている。立毛筋は皮膚の平滑筋組織であり、皮膚生検が筋生検と同様にDMD/BMDの診断に有用かどうかを検討するため、進行性筋ジストロフィー患者の立毛筋におけるジストロフィン発現を免疫組織化学的に比較検討した。また、ジストロフィン関連蛋白の発現も検討した。

【方法】

DMD 6例, BMD 1例, 症候性保因者 1例, 肢体型筋ジストロフィー(L-G)5例, 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー 1例, 脊髄性筋萎縮症3例ならびに正常コントロールとしてウイルス性筋炎ならびに横紋筋融解壊死が疑われ筋生検にて所見を認めなかった各1例の上腕または前腕から皮膚を採取した。これらの疾患は、臨床症状・病理検査・遺伝子検査などにより診断された。DMD6例のうち1例は遺伝子異常を見つけることができなかったが、4例において遺伝子の欠損を認めた。1例は遺伝子検査を施行しなかったが骨格筋のジストロフィン染色で完全欠損を認めた。BMD1例は、遺伝子の欠損と骨格筋のジストロフィン染色で部分欠損とを認めた。症候性保因者1例は、近位筋優位の軽度筋力低下と高CK血症を認め、骨格筋のジストロフィン染色でモザイクパターンを示した。

皮膚組織は生検直後にイソペンタンを用いて急速凍結し液体窒素内に保存。その後、クリオスタットでカットし連続切片を作製した。作製した各疾患の標本を、H.E.染色と平滑筋のマーカーであるアクチン、ジストロフィン(C末, N末, Rod)に対する抗体ならびにジストロ

フィン関連蛋白である α -dystroglycan(α -DG), α -sarcoglycan(α -SG), β -sarcoglycan(β -SG), γ -sarcoglycan(γ -SG), δ -sarcoglycan(δ -SG)に対する抗体を用いABC法にて免疫染色を行った。

【結果】

平滑筋のマーカーであるアクチンは、全ての疾患の皮膚組織で立毛筋・汗腺の筋上皮細胞・血管壁に発現していた(図1)。

立毛筋のジストロフィン染色は、DMDでC末が軽度発現し、N末・Rodは染色されなかった。BMDはC末・N末の発現が低下し、Rodの発現が著しく低下していた(図2)。症候性保因者では、C末・N末・Rodともにジストロフィン陽性細胞と陰性細胞が混在するモザイクパターンを示した。その他の疾患は、正常コントロールを含めC末・N末・Rod全て陽性であった(図3)。正常コントロールにおける立毛筋のジストロフィン関連蛋白の免疫染色では、 α -DG・ α -SG・ β -SG・ γ -SG・ δ -SGの全てが発現していた。L-G5例と比較したところ、3例において α -SGの発現が低下していた(図4)。

【考察】

筋生検によるジストロフィン染色はジストロフィノパチー診断の一つの方法である。進行性筋ジストロフィーの皮膚組織を用いた免疫染色に関しては、A. Marbiniらの報告がある。彼らの論文では立毛筋のC末・N末・RodはDMDで陰性、BMDで淡く陽性と報告されている。今回我々の研究では、DMDでC末は淡く陽性であり、BMDではC末・N末・Rodの各々で発現低下の程度が異なった。研究結果に一部違いを認めたのは、抗体の稀釈倍率が異なるのではないかと考えられ、DMDの立毛筋でC末が淡く発現したのは、骨格筋と立毛筋でisoformが異なる可能性が考えられた。

また、今回皮膚生検を施行したDMD患者の中には、寝たきり状態の患者も含まれており、これら患者の立毛筋でも機能・形態が保たれていた。これは立毛筋においてC末が軽度発現していることが関与しているのかもしれない。また、筋萎縮・筋力低下の進行した患者でも皮膚生検による病理診断が可能であることが示唆された。

症候性保因者のジストロフィン染色におけるモザイクパターンは、骨格筋・心筋で報告があるが、平滑筋での報告はない。今回我々は、1例のみであるが症候性保因者の立毛筋が骨格筋同様にモザイクパターンを示すことを明らかにした。

以上の結果から、3つのdomain各々のジストロフィン染色を施行する必要があるが、皮膚生検は筋生検同様にジストロフィノパチーの診断に有用と考えられた。さらに、 α -SGは骨格筋に特異的で平滑筋にはないと報

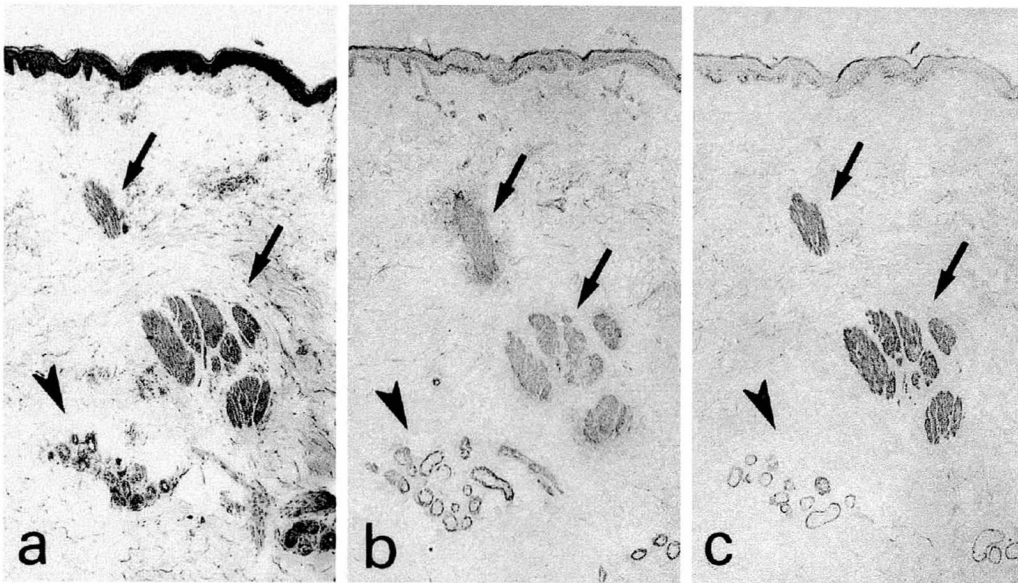


図1 皮膚病理標本（肢体型筋ジストロフィー x13.2）

a; H.E.染色 b: アクチン染色 c: ジストロフィン染色

皮膚平滑筋組織である立毛筋（矢印）、汗腺の筋上皮細胞（矢頭）は、アクチン・ジストロフィンともに染色される。

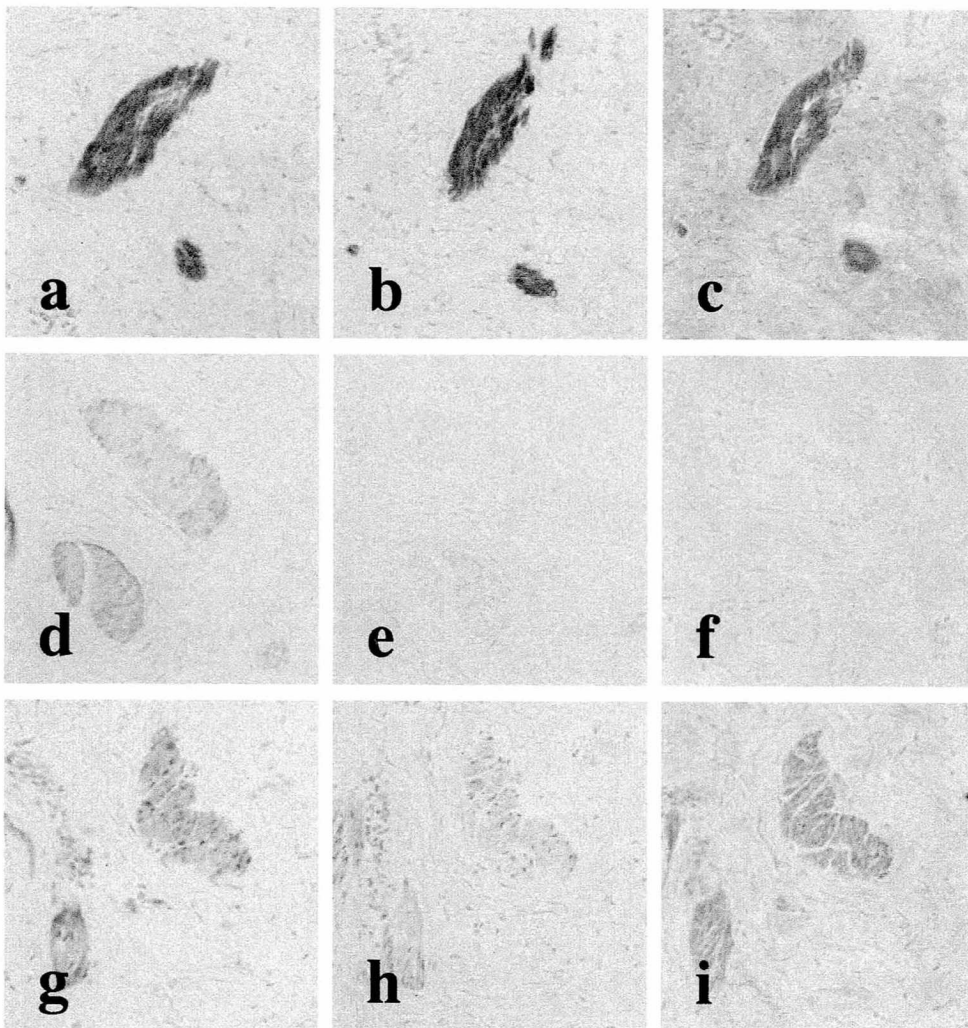


図2 立毛筋のジストロフィン染色

a~c: コントロール (x36) d~f: Duchenne型筋ジストロフィー (x24) g~i: Becker型筋ジストロフィー (x36)

a, d, g: ジストロフィンC-terminus b, e, h: ジストロフィンrod domain c, f, i: ジストロフィンN-terminus

Duchenne型筋ジストロフィーではC-terminusが淡く染色されるが、rod domain, N-terminusは染色されない。Becker型筋ジストロフィーは、コントロールに比べ発現が低下している。

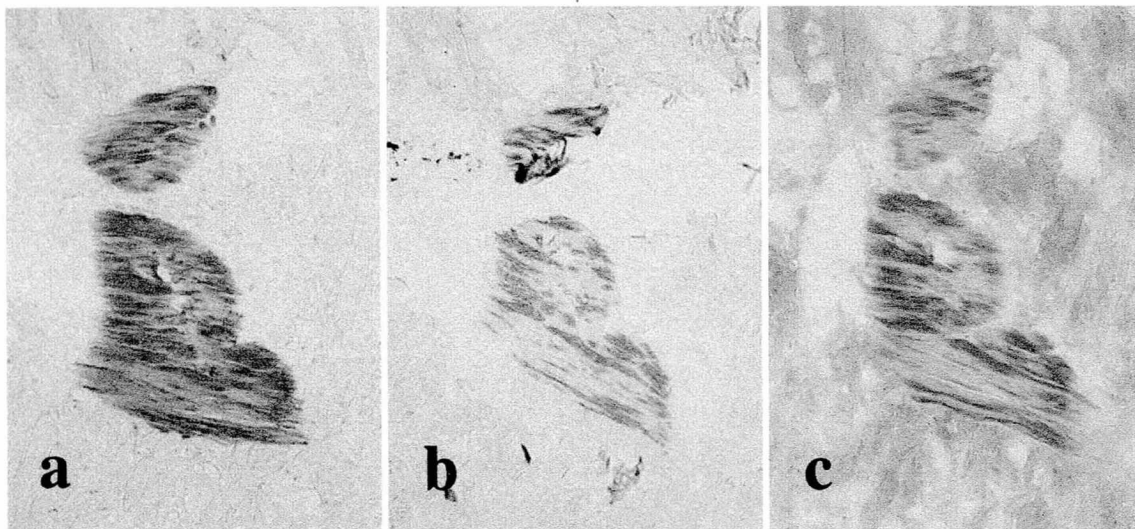


図3 症候性保因者の立毛筋におけるジストロフィン染色 (x 60)
 a; ジストロフィンC-terminus b: ジストロフィンrod domain c; ジストロフィンN-terminus
 ジストロフィン陽性細胞と陰性細胞の混在しているモザイクパターンを認める。

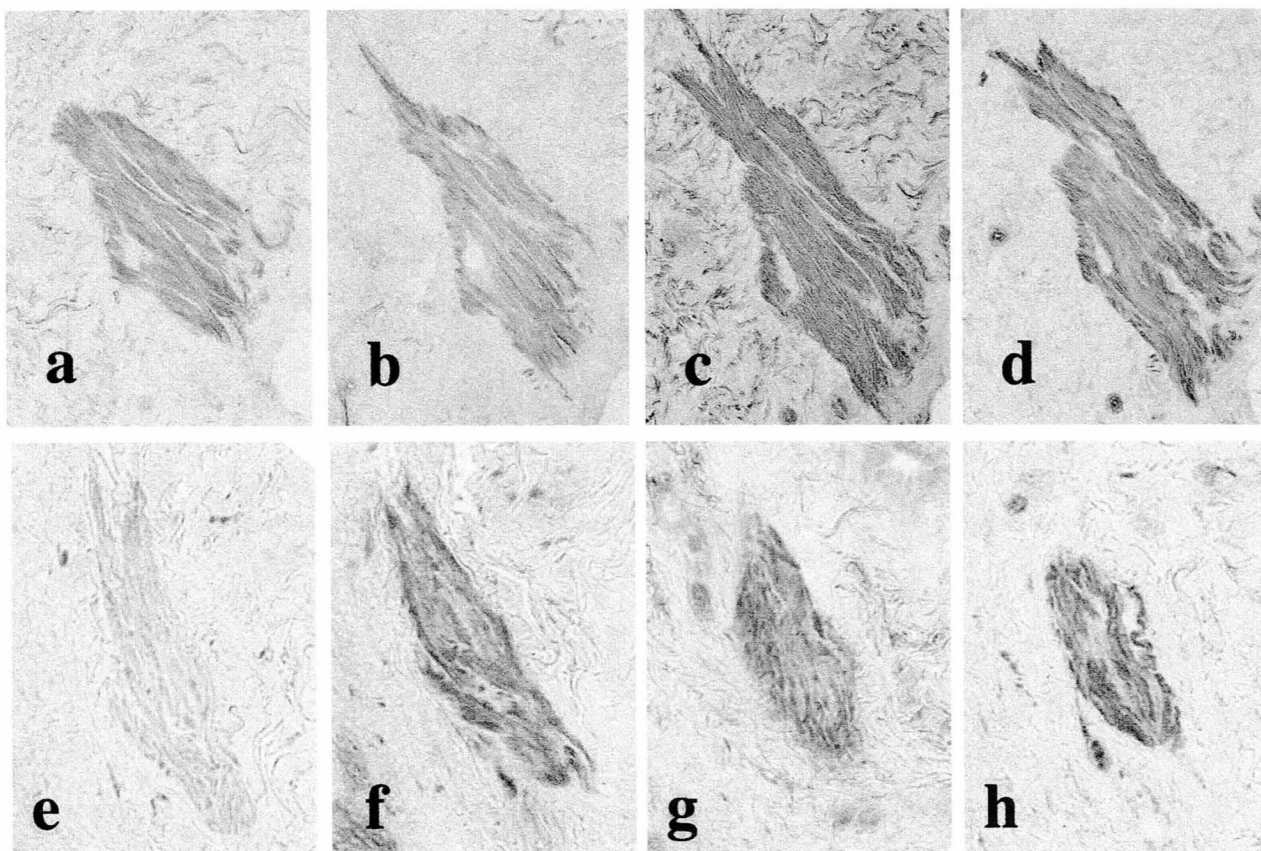


図4 立毛筋におけるジストロフィン関連蛋白の免疫染色 (x 30)
 a~d; コントロール e~h; 肢体型筋ジストロフィー
 a,e; α -sarcoglycan b,f; β -sarcoglycan c,g; γ -sarcoglycan d,h; δ -sarcoglycan
 コントロールの立毛筋では α -sarcoglycanの発現を認め、肢体型筋ジストロフィーで α -sarcoglycanの発現が低下している症例を認めた。

告され、平滑筋では α -SGが ε -SGに置換されている報告されているが、我々の研究で皮膚平滑筋組織である立毛筋は α -SGが発現していた。今回、L-G患者5例のうち3例において α -SGの発現が低下していた。今後、皮膚生検によるサルコグリカノパチー、ジストログリカノパチーの診断の可能性が示唆された。

【結論】

皮膚生検は、筋生検と同様にジストロフィノパチーの診断に有用と考えられた。

筋萎縮・筋力低下の進行したジストロフィノパチー患者でも皮膚生検による病理診断が可能と考えられた。

皮膚生検によるサルコグリカノパチー、ジストログリカノパチーの診断が行える可能性が示唆された。

【参考文献】

1. Arahata K, Ishiura S, Ishiguro T, Tsukahara T, Suhara Y, Eguchi C, Ishihara T, Nonaka I, Ozawa E, Sugita H. : Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide. *Nature* 1988; 333:861-863.
2. Arahata K, Ishihara T, Kamakura K, Tsukahara T, Ishiura S, Baba C, Matsumoto T, Nonaka I, Sugita H. : Mosaic expression of dystrophin on symptomatic carriers of Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 1989; 320:138-142.
3. Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, Kunkel LM. : Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. *Hum Genet* 1990; 86:45-48.
4. Bonilla E, Samitt CE, Miranda AF, Hays AP, Salvati G, DiMauro S, Kunkel LM, Hoffman EP, Rowland LP. : Duchenne muscular dystrophy: deficiency of dystrophin at the muscle cell surface. *Cell* 1988; 54:447-452.
5. Byers TJ, Kunkel LM, Watkins SC. : The subcellular distribution of dystrophin in mouse skeletal, cardiac, and smooth muscle. *J Cell Biol* 1991; 115:411-421.
6. Hoffman EP, Fischbeck KH, Brown RH, Johnson M, Medori R, Loike JD, Harris JB, Waterston R, Brooke M, Specht L, Kupsky W, Chamberlain J, Caskey CT, Shapiro F, Kunkel LM. : Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 1988; 318:1363-1368.
7. Marbini A, Marcello N, Bellanova MF, Guidetti D, Ferrari A, Gemignani F. : Dystrophin expression in skin biopsy. Immunohistochemical localisation of striated muscle type dystrophin. *J Neurol Sci* 1995; 129:29-33.
8. Miyatake M, Miike T, Zhao J, Yoshioka K, Uchino M, Usuku G. : Possible systemic smooth muscle layer dysfunction due to a deficiency of dystrophin in Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol Sci* 1989; 93:11-17.
9. Watanabe K, Izumi T, Natsui M, Matsubara N, Miyakita Y, Koyama S, Inomata T, Suzuki M, Shibata A. : Dystrophin negative skeletal and myocardial muscle cells in a carrier of Duchenne's muscular dystrophy. *Eur Heart J* 1993;14:989-992.

Ullrich型先天性筋ジストロフィーの臨床的、筋病理学および遺伝子学的検討

Clinical, pathological and genetic studies on Ullrich's disease

前 班 員：源河圭一郎 (国立療養所沖繩病院)
現 班 員：石川清司 (国立療養所沖繩病院)
共同研究者：樋口逸郎 (鹿児島大学第3内科)
末原雅人 (国立療養所沖繩病院)
白石匡史 (鹿児島大学第3内科)
新山尚仁 (鹿児島大学第3内科)
納 光弘 (鹿児島大学第3内科)

最近、福山型、メロシン欠損型などの先天性筋ジストロフィーの病因解明が進んでいる。Ullrich型先天性筋ジストロフィー(Ullrich病)は生下時～幼少時から筋力低下、筋萎縮を認め、近位関節の拘縮と遠位関節の過進展を特徴とする疾患であるが、1930年にドイツのUllrichが初めて報告して以来、症例数が少ないこともあり、遺伝子座も欠損蛋白もこれまでのところ不明であった。また、本症の独立性を疑問視する一部の研究者も存在する。今回我々はUllrich病の病因と考えられるcollagen VIの蛋白欠損と遺伝子異常を明らかにし、本症を一疾患単位として確立した。

【対象と方法】

症例は20歳と21歳の男で両患者とも孤発例であり両親には異常を認めない。臨床症状は極めて類似しており、全身性の筋萎縮、筋力低下を認め、本症に特徴的な近位関節の拘縮と遠位関節の過進展、脊柱変形を認める。知能および感覚は正常で血清CKも正常であった。経過は進行性で呼吸不全のためそれぞれ17歳と18歳時に気管切開施行。筋電図で筋原性変化を認め、血清CK・頭部CT・心電図・心エコーは正常であった。上腕二頭筋の筋生検所見は結合織の増殖、変性壊死線維などdystrophicな変化を認めた。また筋線維の大小不同が著明で極めて小径の筋線維が多く認められた。

Ullrich病2症例を含む各種神経筋疾患生検筋における筋膜、および細胞外マトリックスの異常の有無あるいは筋再生異常の有無を、collagen III, IV, VI, VIIをはじめとした細胞外マトリックスの構成成分及び筋膜の構成蛋白に対する各種モノクローナル抗体、さらにdesmin, NCAM, developmental myosin heavy chain, thrombomodulinなどの筋再生関連蛋白に対するモノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に検索した。さらに欠損の見られたcollagen VIについては構成する3個の遺伝子(COL6A1, COL6A2, COL6A3)の triple

helical domainを9ペアーのプライマーを用いてPCRにて増幅し、精製したPCR産物について自動シーケンサーにより塩基配列を解析した。また本症骨格筋の微細構造を電顕的に検索した。

【結果】

Bethlem myopathyにおいて発現低下が報告されているlaminin B1は明らかな低下を認めず、merosinなどその他のlamininアイソフォーム、chondroitin-4-sulphate, heparan sulfate proteoglycan, dystrophin, およびsarcoglycanの発現は対照例と差がなかった。生検筋のcollagen IVの免疫染色では他の疾患に比べUllrich病の2症例で発現が増強しており、基底膜を越えてendomysiumおよびperimysiumまで染色された。collagen IVの軽度の発現増強は他の筋ジストロフィーでも認められたが、Ullrich病における発現増強の程度は他疾患に比べ際だっていた。collagen VI染色は、Duchenne型や Becker型では結合織の増殖に伴いcollagen VIの発現が増強していたが、Ullrich病の両症例においては結合織の増殖が著明であるにもかかわらず、全く染色されなかった。生検皮膚の免疫染色でも、collagen VIはcontrolやDuchenne型筋ジストロフィーなどの他の疾患では真皮が著明に染色されたが、Ullrich病の2症例では骨格筋と同様全く染色されなかった。培養皮膚線維芽細胞においても、Ullrich病ではcollagen VIが欠損していた。他の疾患においてはcollagen VIの異常は認められず、collagen VIの完全欠損は本症に特異的な病理所見であった。さらにUllrich病の2症例においては非常に小さな筋線維が多く認められたので、免疫組織化学的に検討したところ、再生線維のマーカとされているdesminやNCAMは強く発現していたが、developmental myosin heavy chainとthrombomodulinの発現は極めて弱かった。他の筋ジストロフィーの再生線維はdesmin, NCAM, developmental myosin heavy chain, thrombomodulinとも強く発現していた。

Ullrich病の電子顕微鏡所見では筋形質膜と基底膜の形態異常が認められ、筋形質膜は過伸展し、襞状に変化している部位が存在した。また、基底膜の肥厚、増殖が認められた。しかし筋形質膜、基底膜ともに欠損部位は認められず、形質膜は基底膜によって完全に覆われていた。

Ullrich病症例1の遺伝子解析の結果、collagen VIの3個の遺伝子のうちa1とa3には異常は見られなかったが、collagen VI a2鎖遺伝子のtriple helical domainに26塩基の欠失を伴うhomozygous frameshift mutationが認められた。

【考察】

Ullrich病患者の特徴的な臨床症状から、骨格筋だけでなくなんらかの細胞外マトリックス成分の異常を推定し検索した結果本症におけるcollagen VI欠損が明らかになった。今回の発見は研究者の間で独立疾患かどうか議論のあったUllrich病を一疾患単位として確立したものである。

Ullrich病の一例で明らかになったcollagen VI $\alpha 2$ 鎖遺伝子のexon 14の26塩基の欠失を伴うhomozygous frameshift mutationの存在のため、その169塩基下流にstop codonが出現していることが明らかになった。collagen VIは $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ chainの3本がtriple helixを形成しモノマーとなるが、4つの分子が会合しテトラマーになった後に細胞外に分泌され、他の多くの細胞外的マトリックス分子と相互作用すると考えられている。Ullrich病では異常な $\alpha 2$ chainが存在するために不安定な分子が形成され細胞内で速やかに分解されるものと考えられる。

Ullrich病では血清CKもそれほど高値にはならず、Duchenne型筋ジストロフィーのような筋膜の欠損に伴う筋線維の壊死といったメカニズムでは本症骨格筋のdystrophicな変化は説明困難と思われ、本症の筋再生異常の有無を検索した。Ullrich病の2症例の非常に小さな筋線維においてdesminやNCAMが強く発現しているにもかかわらず、developmental myosin heavy chainとthrombomodulinの発現が極めて悪かったことは、なんらかの筋成熟障害、あるいは筋再生障害を示唆する所見であると思われる。

collagen VIのヘテロの遺伝子異常は常染色体優性遺伝の良性ミオパシーであるBethlem myopathyで報告されているが、その発症機序はdominant negativeあるいはhaploinsufficiencyによるとされており、collagen VI蛋白の完全欠損を呈した報告はみられない。今回明らかになったUllrich病のcollagen VI $\alpha 2$ 鎖遺伝子のhomozygous mutationは全身に広く分布すべきcollagen VIの完全欠損を来し、本症の広範な臨床症状を説明しうるものであり、collagen欠損が重症の筋ジストロフィーの病因となることを示した初めてのものである。

【結論】

1. Ullrich 病2症例の骨格筋および皮膚において本症特異的にcollagen VI蛋白欠損を認めた。
2. Ullrich 病の一例でcollagen VI $\alpha 2$ 鎖遺伝子のhomozygous frameshift mutationが認められ、本症の少なくとも一部の症例はcollagen VI遺伝子変異による、collagen VI蛋白欠損が病因であることが明らかになった。
3. 本症の筋病変の形成には筋膜、細胞外マトリックスの構造異常のみならず、筋線維の成熟、再生異常が関与する可能性が高いものと思われる。

【文献】

1. Ullrich O. : Kongenitale atonisch-sklerotische Muskeldystrophie ein weiterer Typus der heredodegenerativen Erkrankungen des neuromuskularen Systems. Z Ges Neurol Psychiat 1930;126:171-201.
2. Higuchi I, Suehara M, Iwaki H, Nakagawa M, Arimura K, Osame M. : Collagen VI deficiency in Ullrich' s disease. Ann Neurol 2001;49:544
3. Higuchi I, Shiraishi T, Hashiguchi T, et al. : Frameshift mutation in the collagen VI gene causes Ullrich' s disease. Ann Neurol 2001;50:261-265

筋ジストロフィー患者・家族の遺伝相談と啓蒙に関する研究（3年間のまとめ）

分担研究者 貝谷久宣

(社)日本筋ジストロフィー協会

共同研究者 河端静子、米園弥生

〔緒言〕

①平成10年度より4年間にわたり、出生前診断や受精卵診断といった生殖医療の発達してきた今、親が病気の子供でも良いから産んで何とか育てていきたいと思えるように、遺伝子性筋疾患児をかかえた親が勇気と自信をもって子育てに取り組めるように支援する事業をおこなった。

②着床前診断の代表的な対象疾患としてクローズアップされている当事者団体として、(社)日本産科婦人科学会とも連携しながら、この新しい医療が社会的に容認された中で実施されるよう、患者・家族のみならず広く一般にも啓蒙活動をおこなった。

③日々、患者・家族から様々な医療相談、療育相談を受ける立場から、筋ジストロフィー患者およびその親族の家族計画を考える際に、医療者もしくは遺伝相談カウンセラーから十分な対応を得ようとしめないタイプの存在が問題となること、保因者のタイプ別に対応していくことの必要性について提言し、この分野における今後のより円滑な患者-医師関係の確立に資す。

〔方法〕

①小児科・神経内科の筋疾患専門の医師らによる「子育て支援研究委員会」を設置。委員会にて、種々の小児/筋疾患における疫学的調査研究のためのアンケート内容と配布先を検討し、指導パンフレット・健康管理手帳の企画・執筆・編集を行った。子育て支援セミナーについては全国28カ所にて開催。

②平成9年、(社)日本筋ジストロフィー協会として、(社)日本産科婦人科学会会長、倫理委員会委員長、その他の役員および鹿児島大学医学部永田行博教授と意見交換を行ったのをはじめ。平成10年(社)日本産科婦人科学会主催「着床前診断に関する公開討論会」第1、2回にシンポジストとして参加。平成11年2月、公開シンポジウム「遺伝子医療における社会的・倫理的問題を考える」を開催。平成11年2月、鹿児島大学倫理委員会委員長および(社)日本産科婦人科学会会長宛てに申入書を送付。同文書をマスコミへも送付。平成12年2月、公開シンポジウム「遺伝子医療における社会的・倫理的

問題を考える-Part2」を受精卵診断に焦点をしばって開催するなどの活動を行なった。

③過去5年間に日本筋ジストロフィー協会に相談のあった約2,000件の事例(おもに電話相談)から、保因者のタイプを大別することを提案。

〔結果〕

①子どもの筋疾患を網羅してわかりやすく簡単に説明し、親にとって必要な福祉の情報も記載した指導パンフレット「子どもの筋疾患のいろいろ」を作成した。あわせて、患児の成長過程と医師の診断を記録し、持ち歩きのできるカルテとしての役目をもたせた健康管理手帳「育みの記録」も作成した。

全国28カ所にて患児を抱えた親の子育てを支援するためのセミナーを開催し、遺伝子性疾患ゆえの悩みについても個々の相談に応じることができた。

②平成11年5月24日付けの鹿児島大学医学部産婦人科からの申請「着床前遺伝子診断の臨床応用」にたいし、平成12年2月、(社)日本産科婦人科学会から審議結果の最終報告がなされた。その内容は「申請対象疾患がデュシャンヌ型進行性筋ジストロフィーである本件では、エクソン44欠失が同定されています。この場合遺伝子診断が優先されるべきであり、性別判定による着床前診断の実施は承認できません。

着床前診断の実施にあたっては、クライアントに対して第三者的な立場から公平な情報を提供できる遺伝学および生殖医学の専門家によるカウンセリングの実施が必要です。

クライアントのためにも早急に原因遺伝子(エクソン44)の診断を導入されることを望みます。」というものであった。

③保因者のタイプをA：自分から進んで医療機関に相談に行く、B：親に勧められるなどして医療機関に相談に行く、C：医療機関に相談に行かない、の3タイプに分ける。

AAタイプの特徴は、自分の人生、将来(挙児)について真剣に考えており、筋ジストロフィーや遺伝について勉強しており、自分なりの倫理観を持っており、不安がある。Bタイプの特徴は、Aタイプにみられる特徴を半分しか持ち合わせていない。すなわち、自分の人生、将来(挙児)について、まあまあ考えており、筋ジストロフィーや遺伝について少し勉強しており、自分なりの倫理観があまりはっきりしておらず、少し不安がある。

CCの医療機関に相談に行かないタイプの特徴は、C-1：Bタイプで相談に行くことを勧めってくれる人もなく漠然と不安な状態、または、親が勧めても診断結果を知るのも恐いからと相談に行かない(一番数の多いタイプだと推定される)、C-2：Aタイプに近いが、産

むまれてくる子が筋ジストロフィーであっても育てていこう、それでも子供がほしいとの考えに達している、C-3：Aタイプにみられる特徴を持ち合わせていない、C-4：何事も自然なままがよいという考え方、の4つに大別される。ここで問題なのは、C-1とC-3タイプ。

C-1、C-3タイプは、自分の人生、将来(拳児)について、考えておらず、筋ジストロフィーや遺伝について勉強しておらず、倫理観がはっきりしていない。そして、妊娠してから急に不安が増大できれば健康な子がほしいと考える。

保因者診断を受けていないまま妊娠して出生前診断を希望するのはC-1、C-3のタイプに多い。初めての遺伝相談は、神経内科ではAタイプ、Bタイプへの対応、産婦人科ではC-1、C-3タイプへの対応となる。

C-1、C-3のタイプが保因者診断を受けていないまま妊娠して出生前診断を希望した場合には、時間切れで、3/4は健常児であるにもかかわらず人工流産してしまうケースにつながりやすい。

C-1、C-3のタイプが少し悩み、じわっと不安に思いながらも遺伝相談を受けないまま妊娠を継続。悩んでいるうちに時間切れで、拳児をのぞまないままに筋ジストロフィー児を出産した場合には親が患児の子育てに立ち向かって行けないケースにつながりやすい。

C-1、C-3のタイプを対象に、遺伝相談に行こうという気にさせるような「指導書」が必要。筋ジストロフィー協会などの対応としては、A、Bタイプには27ヶ所の筋ジストロフィー専門医のいる国立療養所を紹介する。C-2、C-4タイプには、遺伝相談の必要はなく、筋ジストロフィー児を産んだ場合の福祉、助成制度などの相談に応じる。C-1、C-3タイプには、指導書を紹介する。

【考 察】

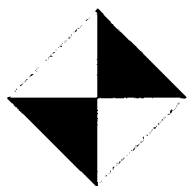
①指導パンフレットの内容として、筋疾患全体の説明や各病型、患者へのマネージメントとしてリハビリテーション、呼吸の問題、心臓の問題、心理の問題、食事の問題、実際に親御さんが直面する学校教育の問題と、医療費の助成、福祉制度のしくみについて記載した結果、患児を抱えた親の子育てに非常に参考となった。

子育て支援セミナーでは、自分の子どもの病気だけではなく、仲間の子どもの病気についても理解できるよう配慮した。特にそれぞれの病型による遺伝形態の違いなどは、相手の立場を理解するうえで重要なことと考える。また、親だけではなく支援者である医療・教育・福祉の関係者やボランティアの方々も対象に実施し、筋疾患の子どもに関わってくれるすべての人の参考になる研修会にすることができた。

②(社)日本産科婦人科学会の報告は「着床前性別診断

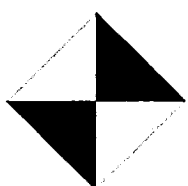
ではなく、受精した胚が患者かどうかわかるよう技術が進歩してからにしてもらいたい。現在の方法だと正常な男児胚(半数)の扱いに問題があり、時期尚早と考える」と、(社)日本筋ジストロフィー協会が申入れた内容を十分考慮していただけたものであった。

③筋ジストロフィー医療は医療界における患者-医師/医療スタッフの関係が最も円滑に行なわれている分野の一つである。また、遺伝相談についても研究の進んでいる病気である。それでも保因者への遺伝相談の場合、医療機関に相談に訪れないタイプの群へは、手を差し伸べられないでいる現状がある。特に研究の進歩を享受することなく、望まないまま患児を出産してしまうケースをふせぐため、保因者がきちんと遺伝相談を受けるため医療機関を来訪しようと思えるような指導書が必要である。ぜひ、研究班の共同テーマとして作成していただきたい。



平成11年度

実績報告書



11-指-1 筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態

に基づく治療法の開発に関する研究

主任研究者名 = 国立療養所東埼玉病院

石原 傳幸

総括研究報告

1. 研究目的

遺伝子診断等により家系分析を含めたニーズの増大する遺伝相談の的確な実施を図るとともに、呼吸不全、心不全など末期の病状や死因を十分に解明し延命を含む治療の向上に役立てる。

2. 研究組織

主任研究者

石原傳幸（国立療養所東埼玉病院）、

分担研究者

姜進（国立療養所刀根山病院）、松岡幸彦（国立療養所鈴鹿病院）、足立克仁（国立療養所徳島病院）、福田清貴（国立療養所原病院）、春原経彦（国立療養所箱根病院）、箭原修（国立療養所道北病院）、大澤真木子（東京女子医大）、三池輝久（熊本大）、石川幸辰（国立療養所八雲病院）、岩谷道生（国立療養所岩木病院）、木村康徳（国立療養所道川病院）、中井博史（国立療養所西多賀病院）、中田好則（国立療養所千葉東病院）、清水潤（国立療養所下志津病院）、白井泰子（国立精神・神経センター精神保健研究所）、大矢寧（国立精神・神経センター武蔵病院）、若田宣雄（東邦大）、片山進（東邦大）、末岡浩（慶応大）、近

藤浩（国立療養所新潟病院）、本家一也（国立療養所医王病院）、山田信二（国立療養所長良病院）、光吉出（国立療養所宇多野病院）、三木哲郎（愛媛大）、安東範明（国立療養所西奈良病院）、竹島泰弘（神戸大）、吉岡三恵子（神戸市総合療育センター）、多田和雄（国立療養所兵庫中央病院）、下山良二（国立療養所松江病院）、佐野壽昭（徳島大）、小池文彦（国立療養所筑後病院）、後藤勝政（国立療養所西別府病院）、藤下敏（国立療養所川棚病院）、寺本仁郎（国立療養所再春荘病院）、隈本健司（国立療養所宮崎東病院）、新山尚仁（国立療養所南九州病院）、源河圭一郎（国立療養所沖縄病院）、貝谷久宣（日本筋ジストロフィー協会）

研究成果

本研究班の目的の一つは前研究班に続いて遺伝子の研究成果を遺伝相談に応用することである。従来は小さな遺伝子異常が検出できず、大きな遺伝子異常を持つ家系における保因者診断と出生前診断技術の確立に留まったが、前身の研究班で遺伝子異常が検出された家系では全例で保因者診断を可能とした。遺伝相談については社会的・倫理的・経済的側面を含むために明確で永久に使用しうる方法は設定できない。法律家を含み倫理的・

法的问题が話し合われた。前身の研究班で患者の遺伝子診断のインフォームド・コンセントを作成したが、今後は未成年者患者のインフォームド・コンセントの具体的書式を検討することとなった。

前身の研究班では、高頻度に認められる血液凝固系の異常に取り組み、出血性肺梗塞の予防を中心課題として企図した。今年はワーファリンやアスピリンによる血液凝固・線溶系の動きが報告され注目された。血栓症予防に直接役立つ可能性が生じ期待される研究結果である。今後はこの2つの薬剤の投与成績を集めて検討する予定である。この件については外国では注目されておらず、既研究報告はない。

筋強直性ジストロフィーの病態が注目され、多くの課題が発表された。今年には酸素投与によるCO2ナルコーシスがDMDに比べて起こりにくいという成績が発表され注目を浴びたが睡眠中の成績が報告されず安全性確認が必要であり、今後に課題を残した。本症の呼吸器治療適応時期のガイドラインについてはこの研究班で作成する予定である。この件についても我が国独自に決定すべきものであり、参照すべき外国のガイドラインは発表されていないのが現状である。

β 遮断薬を含む薬剤による心不全治療についてもガイドラインが未だなく、この研究班で専門家

にまとめを依頼した。外科的には脊柱固定術の効果についての討論が行われ、ワークショップを開きつつ、この手術を全国的に推進することを意図した。班員の関心も高く、今後我が国でも脊柱固定術が定着すると期待される。この点については外国の研究に追従することとなるが、治療の面では大きな進展と考える。疫学的研究は最近下火となっているが、石川幹事を迎え推進してゆきたい。

本班は法的・倫理的側面をも含み、社会的側面については日本社会全体の動向と密接に関連しており困難さがある。しかし、現在の環境での遺伝相談確立にむけ正面から取り組み、一歩でも前進したい。

結論としては、遺伝子診断の面では大きく進歩したが、実地面の遺伝相談の面では遺伝カウンセラーが国立療養所に存在しない。この現状では医師がカウンセラーを兼ねなければならないので、医師に遺伝カウンセリングの教育を早急に行う必要がある。この意味で当研究班では毎年ワークショップを開き遺伝相談カウンセリングの実際を全国同一レベルで行われるように企図している。血栓症予防については今後も研究が必要である。側弯症による気管や食道変形については、早期手術により予防する必要があるので、患者家族の啓蒙に努めてゆきたい。

Duchenne 型筋ジストロフィーにおけるジストロフィン遺伝子のイントロン異常

石原傳幸

国立療養所東埼玉病院・内科
共同研究者：川村 潤、谷田部
可奈、重山俊喜（同上）
加藤真吾（慶應義塾大学微生物）

【緒言】

近年遺伝子診断の技術の進歩によりジストロフィン遺伝子の点変異などの微小変異が検出可能となっている。われわれはこれまで直接塩基配列決定法でジストロフィン遺伝子の微小変異の検出を行ってきたが、今回は比較的報告の少ないDMDにおけるジストロフィン遺伝子のイントロン異常を検討した。

【方法】

対象は multiplex PCR 法で異常が検出できなかったDMD患者41名である。ジストロフィン遺伝子異常の検出はリンパ球から抽出したRNAの逆転写によりcDNAを作成しその直接塩基配列決定で行った¹⁾。変異が検出された症例は genomic DNA の直接塩基配列決定法で変異の確認を行った。

【結果】

DMD患者41名中5名にイントロンの点変異を認めた。これらのイントロン異常はすべてエクソン-イントロン境界部にあり、その結果として4例ではエクソンスキップが生じており、1例では8bpのmicrodeletionが生じていた。イントロン異常を認めた5例のDMD患者の臨床症状はエクソン内の点変異やエクソンの欠失の患者と差異はなかった。またこれら5例の患者の母親は全員保因者であった。

【考察】

今回の検討で欠失または重複のいずれも認めない41名のDMD患者のうち5名にイントロン異常が検出された。微小変異を検索したDMD患者数は未だ少数例であるが、欠失も重複もないDMD患者は全体の約40%であることから、イントロン変異はDMD全体の約5%に存在すると推測できる。

従来はDMDにおけるジストロフィン遺伝子異常は multiplex PCR 法などで欠失のスクリーニングが行われていた。遺伝子診断技術の進歩により微小変異の検出が可能になりつつあるが、その対象はジストロフィン遺伝子のエクソンに偏っている傾向がある。

今回、われわれが行っている cDNA の直接塩基配列

決定法では、イントロン異常はスプライシング異常となってあらわれることが多く、その異常の生じたエクソンを中心としたゲノムDNAの直接塩基配列決定でイントロンの異常が検出できた。従って本法はジストロフィン遺伝子のエクソンの微小変異の検出のみならず、イントロン異常の検出にも有用であった。

現在まで海外の報告も含めてDMDにおけるジストロフィン遺伝子のイントロン異常の報告は少なく、またDMD全体のイントロン異常の頻度も小さい。これは微小変異の検索対象がエクソンに偏っているためである可能性がある。

【結論】

今回われわれは5例のイントロンの点変異を報告した。イントロン異常によるDMDはエクソン内にある変異と比較して報告例が少ないのは、変異の検索法に問題がある可能性がある。cDNAを使った変異の検索ではイントロン異常は異常スプライシングとして現れることが多く、原因となった変異の検索が比較的容易であり有用な方法と考えられた。

【参考文献】

1) Roberts R.G., et al.: Direct detection of dystrophin gene rearrangements by analysis of dystrophin mRNA in peripheral blood. *Am J Hum Genet* 1991;49:298-310

心筋炎で急死した福山型筋ジストロフィーの一例

分担研究者 石原 傳幸

共同研究者 重山 俊喜、谷田部 可奈、

川村 潤（国立療養所東埼玉病院内科）

福田 純也（同・研究検査科病理）

【緒言】

福山型先天性筋ジストロフィー（以下 FCMD）では急死例が多いことが判明している。今回我々は、急死後、剖検にて高度心筋炎の所見を認めた一例を経験したので報告する。

【症例】

17 歳女兒。出生時体重 3200g、正常分娩にて出生。家族歴としては同胞に発病なし。両親に血族結婚はなく、家系に神経筋疾患は認めない。

現病歴：発達の遅れを認め生後 8 ヶ月で起立可能となるも、独歩までの発達は見られなかった。某大学病院小児科にて FCMD と診断され、16 歳時に養護学校入学のため当院に入院した。

入院後経過：入院時には、血液ガス分析上異常を認めなかった。胸部 X 線において肺野および心胸郭比に異常はなく、心不全を思わせる所見は認めなかった。以後特に状態の悪化を認めず経過した。

1998 年 7 月 30 日（17 歳時）に 38℃を超える発熱と頭痛等感冒様症状の出現を認めた。7 月 31 日の日中は腹痛、嘔吐を認めるものの全身状態に変化は見られなかった。翌 8 月 1 日午前 1 時 50 分に排便開始。午前 2 時に

努力性呼吸、呼名反応なしの状態で見られ、直ちに心肺蘇生術を施行したが効なく死亡した。

剖検所見：心臓、ほぼ全層におよぶ高度心筋炎、心内膜炎および軽度心外膜炎を認めた。心重量は 180g と萎縮し、外観はやや混濁をおびて観察された。水平断面では左室の後側壁を中心にほぼ全周にかけて変性、線維化を認めた。左心室壁は心筋の萎縮とともに間質に著しい炎症細胞浸潤が認められた。炎症細胞浸潤は大部分がリンパ球で占められていた。心内膜においても同様にリンパ球主体の細胞浸潤が認められた。また、心外膜の細胞浸潤は軽度であった。肺、肺尖部のごく狭い範囲に軽度の出血性肺梗塞を認めた。

【考察】

従来より FCMD で急死する例が報告されているが解剖によってもおよそ 19% の症例は死亡原因を明らかにすることができないでいる。これまでに出血性肺梗塞による死亡例を報告したが、今回の急性心筋炎はこれまでに経験がなく、極めて珍しい急死の原因と思われた。本例は病理組織学的にリンパ球主体の炎症性変化、先行する感冒様所見、臨床経過より、ウイルス性心筋炎の急性発症に伴い、重症不整脈の出現が生じたことが直接死因となったものと推測される。また、心筋の変性萎縮により心機能障害を有する筋ジストロフィー患者においては、ウイルス性心筋炎による心筋障害が重篤なポンプ失調を招来し、重篤な転帰をとることも予想される。

FCMD の急死の原因の一つとして心筋炎も考慮すべきであると考えられた。

筋強直性ジストロフィーの呼吸筋病理

分担研究者 石原 傳幸(国立療養所東埼玉病院内科)

共同研究者 重山 俊喜、川村 潤、谷田部 可奈

長谷川 敏雄、福田 純也(研究検査科病理)

目的：筋強直性ジストロフィー (MyD) 呼吸不全における呼吸筋の関与は小さいとされてはいるが、呼吸筋病理についての検討はない。今回8例の死亡例で呼吸筋病理を他の筋ジストロフィーと対比しながら検討したので報告する。

対象と方法：当院で死亡したMyDの8例について横隔膜、第2肋間筋、第9肋間筋を死亡時採取し組織化学的に検討した。対照としてALS患者6例、FCMD患者7例、神経疾患7例、呼吸不全患者(非神経筋疾患)3例の呼吸筋をも検討した。

結果：

MyD：横隔膜では筋細胞の消失が著しかったが、第2(以下2IC)と第9肋間筋(9IC)を比較すると第9肋間筋でよく筋細胞が保たれていた。呼吸筋疲労の目安と考えられる呼吸筋セントラルコア(以下コア)は横隔膜と第2肋間筋では全例に、第9肋間筋では2例のみに認められた。ALS：コアは横隔膜で6例中2例、2ICで3例、9ICで3例に認められた。肋間筋細胞萎縮は2ICがより萎縮していたのが3例、9ICがより萎縮していたのが3例であった。FCMD：コアは横隔膜で全例、ICでは2例づつに認めた。肋間筋萎縮は1例で9ICに著明であったほかには同等であった。神経疾患では肋間筋萎縮は2ICで著明な例が3例、3例では同様であった。非神経菌疾患でも2ICに萎縮著明例が2例、残る1例は同等であった。

考察：横隔膜や第2肋間筋の変化はDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)と比較して、著明な変化は認めなかった。しかし、第9肋間筋の筋線維はよく保たれており、DMDとは対照的であった。DMDにおける下部肋間筋の変性が上部よりも著しい事はすでに報告されている。

今回MyDで肋間筋の変性の差がDMDと逆であったことはなにを意味するのであろうか。

一般に第2肋間筋と第9肋間筋はともに吸気筋とされており、吸気努力が弱いときには上部からrecruitされることが定説となっている。従って上部肋間筋が変性するのが通常パターンと考えられ非神経筋疾患呼吸不全・神経疾患患者ではこれにあてはまる。しかし、DMDやALSの半数の患者では吸気時に下部肋間筋からrecruitされることが示唆される。今回の研究からはMyDの特異性ではなくDMDに肋間筋運動の特異性がある事が示唆された。疾患における呼吸筋変性の違いの意義は現在の所不明である。

結論：Duchenne型と筋強直性ジストロフィーの肋間筋を比較すると後者では第2肋間筋よりも第9肋間筋がよく保たれていた。

Minitracheostomy tubeを用いた筋ジストロフィー患者の呼吸管理 一経過と気管切開との比較一

石原傳幸¹⁾

共同研究者：谷田部可奈¹⁾，重山俊喜¹⁾，
川村 潤¹⁾，田村拓久²⁾

1) 国立療養所東埼玉病院 内科

2) 国立療養所川棚病院 内科

<目的>

筋ジストロフィーの呼吸不全に対して，我々は，1998年2月よりminitracheostomy tubeを用いた経皮的気管穿刺による陽圧人工呼吸療法を開始した．その経過を報告し，気管切開症例との比較，検討を行う．

<方法>

対象：1998年2月から1999年9月までにminitracheostomy tube（以下minitrach）留置を行った筋ジストロフィー14例（DMD 12例，BMD 1例，FCMD 1例）．うち12例は非侵襲的人工呼吸器療法を行っていた．気管切開を施行した（以下TIPPV）DMD 14例を対照とした．

方法：1) Minitrach留置症例の現在の状況をまとめた．2) 生存日数施行前後の動脈血液ガス所見の変化，発声・飲水・食事開始・入浴開始日をTIPPVと比較した．3) Minitrach留置死亡症例の原因をまとめた．

<結果>

1) Minitrach留置症例の現在の状況：10名が継続中，生存日数は41～585日であった．9名は，通常のカフ無しカニューレ（Portex 5.0mm）に変更したが，胸郭入口部変形の著明な症例は，564日にわたってminitrachを使用中だった．この症例は通常の気管内挿管が不可能であり，minitrachを経皮的に挿入し，救命しえた症例である．使用している人工呼吸器は，9名が従圧式人工呼吸器（ONYX），1名は従量式人工呼吸器（PLV100）に変更，在宅療養中だった．

2) Minitrach留置症例とTIPPV症例の比較

動脈血液ガス平均値：minitrach留置症例は，施行前PaCO₂ 56.2Torrから施行後35.4Torr，施行前PaO₂ 87.0Torrから施行後114.6Torrに改善した（ $p<0.01$ ）．TIPPV症例では，施行前PaCO₂

58.4Torrから施行後37.2Torr，施行前PaO₂ 89.1Torrから施行後111.0Torrに変化し，minitrach留置症例との有意差を認めなかった．

施行後のQOLの比較：発声，飲水・食事開始日および入浴開始日は，入浴開始がminitrach留置症例で早かったものの，両者で有意差を認めなかった．発声については，TIPPV症例では，不明瞭な症例やカフエアーを抜いて発声する症例もあったが，minitrach留置症例の発声は全例で非常に明瞭であった．

3) Minitrach留置症例の死亡原因：4症例が平均37.5±32.8日（0～80日）で死亡している．いずれも，緊急処置としてminitrach留置を施行した症例であり，肺炎等全身状態の悪化により死亡した．呼吸不全の慢性増悪によりminitrach留置を施行した症例の死亡は無かった．

<考察>

Minitrach留置症例14名中，10名が生存しており，呼吸不全の改善に有用と思われた．血液ガス所見も良好であったが，この方法の最も重要な利点は，QOL（特に発声によるコミュニケーションの維持）が良好であることと考えられた．

また，死亡症例の検討から，施行前の全身状態が不良である場合は，有効な換気が得られないこともあることがわかった．一方，呼吸不全の慢性増悪によりminitrach留置を施行した症例の死亡は無かった．Minitrach留置は，緊急時の処置だけでなく，非侵襲的人工呼吸器療法中の呼吸不全の慢性的な増悪に対する次の方法としても有効であると思われた．

<結語>

- 1) Minitrach留置は挿入は簡便であり，患者に負担がかからず，気管変形例にも使用できた．
- 2) Minitrach留置による陽圧人工呼吸療法は，呼吸不全を改善し，発声等のQOLを良好にした．
- 3) 長期管理可能であり，筋ジストロフィー患者の呼吸不全治療に有用と思われた．

<参考文献>

- 1) 石原傳幸ら：筋ジストロフィー患者に対するminitracheostomy tubeを介した人工呼吸管理 平成8-10年度厚生省 精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーの遺伝相談および全身的病態の把握と対策に関する研究班；1999年 p437

筋ジストロフィーにおける接着分子

分担研究者 姜 進

(国立療養所刀根山病院・神経内科)

背景

われわれは、筋ジストロフィーには潜在的な血液凝固線溶異常があり、微小循環障害による虚血が筋崩壊に関連する可能性があることを指摘した¹⁾。一方、脳血管障害などでは虚血性病変での接着分子の果たす役割が注目され、可溶性接着分子の変動と症状との関連などが検討されている^{2,3)}。

目的

筋ジストロフィーにおける可溶性接着分子の意義を検討する。

対象、方法

DMD 29 例, BMD 8 例, FCMD 7 例, (NF)CMD 5 例, MyD 7 例, FSHD 1 例, LG 2 例, SMA 5 例, 計 64 例 (2 歳~31 歳, 平均 14.3 歳) の血清 CK, FDP, sICAM-1, sVCAM-1, E-selectin を測定した。接着分子の測定は R&D systems (ELISA) のキットを用いた。

結果

CK は 21~37,442 U/l (平均±SD ; 4,541 ± 6,568), FDP は 0.7~49.6 μg/ml (11.0 ± 13.0), sICAM-1 は 0.2~907.0 ng/ml (264.9 ± 169.5), sVCAM-1 は 33.5~85.2 ng/ml (50.6 ± 11.0), E-selectin は 16.9~193.0 ng/ml (50.4 ± 33.1) であった。いずれも若年齢ほど高値を示す傾向にあったが、SMA で異常値例は認められなかった。

SMA 以外の疾患群間での差異は明らかでなかった。

考察

本検討で測定した接着分子は、白血球の血管内皮細胞への接着、炎症局所への浸潤に関与し、病巣の組織破壊に関連する機能を持つ。微小循環障害による虚血が筋崩壊に影響するとするならば、筋ジストロフィーの若年例ほど可溶性接着分子が高値であることは、脳血管障害と同様、接着分子も症状進行に影響している可能性があることを示唆する。

参考文献

- 1) 姜 進, 斉藤利雄, 竹中まりな, 宮井一郎, 野崎園子, 松村 剛, ら. 筋ジストロフィーにおける血液凝固線溶異常. 平成 8-10 年度 厚生省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に対する研究班 研究報告書. 1999: 113-114.
- 2) Fassbender K, Mossner R, Motsch L, Kischka U, Grau A, Hennerici M. Circulating selectin- and immunoglobulin-type adhesion molecules in acute ischemic stroke. *Stroke*. 1995; 26: 1361-1364.
- 3) Bitsch A, Klene W, Murtada L, Prange H, Rieckmann P. A longitudinal prospective study of soluble adhesion molecules in acute stroke. *Stroke*. 1998; 29: 2129-2135.

共同研究者 斉藤利雄 山本裕子*
衛藤昌樹 国富厚宏
宮井一郎 野崎園子

(国立療養所刀根山病院・神経内科
・研究検査科*)

Dystrophin異常症に対するPrednisolone治療
姜 進
国立療養所刀根山病院

緒言

われわれは7歳代のDuchenne型筋ジストロフィー患者10名にPrednisolone (PSL)の長期投与を試み、PSLには運動機能障害進展に対する抑制効果が存するという感触を得た。しかし、PSLは関節拘縮のため早期に急速な動作障害を来す患者では全く無効であった。そこで、関節拘縮が無いか軽微な若年患者を対象に少量のPSL投与を行い、その効果を観察した。

対象・方法

対象はdystrophin DNAの異常を有する4歳以下の患者である。PSLは体重1kgあたり0.33 mgを隔日朝に投与された。現在、本治療計画に参加している患者は2名である。PSL投与に先立ち保護者から承諾を得た。

症例1 (H. Y.) : 1994年12月12日生まれ(現年齢4歳11ヶ月)。在胎39週(3390g)。頸のすわり4ヶ月、寝返り7ヶ月、お座り・つかまり立ち8ヶ月、伝い歩き9ヶ月、ひとり歩き18ヶ月。

4歳時に歩容異常、易転倒のため大阪府立母子保健総合医療センターに受診、臨床徴候、CK 高値(20,585U/l)、dystrophin DNA欠失(49, 50, 51, 52)などを根拠にDMDと診断された。1999年7月6日に当院初診した(血清CK値は35,590U/l, MM97%, MB3%)。ジャンプは不能で、左足関節に軽度の背屈制限を認めた(右20度、左10度)。9月1日からPSL投与を開始した。

症例2 (O. S.) : 1995年9月3日生まれ(現年齢4歳2ヶ月)。在胎40週(2900g)。頸のすわり3ヶ月、お座り6ヶ月、ひとり立ち9ヶ月、ひとり歩き13ヶ月。

1歳5ヶ月時に熱性痙攣を起こし、公立病院

を受診。その際、高CK血症(20,000~75,000U, 正常値20~200)を指摘された。筋疾患を疑われ、dystrophin DNA検査を受け、45, 47, 48, 49の欠失を指摘された。1997年3月25日当院初診(血清CK値 10,270~27,310U/l 正常上限277)。走行や数cmのジャンプが可能で、両足関節背屈制限を認めない。臨床的にはBMDと診断した。1999年11月17日からPSL投与を開始した。

運動機能評価は前回のPSL治療と同様の方法で行った¹⁾。

表 Prednisolone投与前の指標

症例	H. Y.	O. S.
運動機能障害度	I -a	I -a
10m走行(秒)	5.7	3.5
5段(16cm)昇り(秒)	5.2	2.4
股関節可動域(伸展 R/L)	25°/25°	25°/25°
足関節可動域(背屈 R/L)	20°/10°	30°/30°
PSL投与期間	3ヶ月	2週間

結果

PSL投与前の臨床指標などを表に示した。PSL投与期間は2週間~3ヶ月であり、現時点ではPSL効果を評価することは困難である。長期にわたり詳細に臨床観察を続け、PSL効果を判定する予定である。

文献

1)姜 進：デュシェンヌ型筋ジストロフィーの薬物療法—特に副腎皮質ホルモンについて、臨床神経, 36:1338-1340,1996

共同研究者：斉藤利雄, 衛藤昌樹, 国富厚宏, 宮井一郎, 野崎園子(国立療養所刀根山病院神経内科)

鈴木保宏(大阪府立母子保健総合医療センター小児神経科)

DMD/BMD患者における精神症状

松岡幸彦

国立療養所鈴鹿病院

緒言

Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) 及び Becker型筋ジストロフィー (BMD) では、中枢神経症状として知的機能障害と並んで少なからぬ患者が精神症状を有することが以前より知られていた。今回われわれは DMD/BMD 自験例における精神症状について遺伝子変異や画像所見の結果を含めて検討を行ない、その発現機序につき考察を加えた。

方法

国立療養所鈴鹿病院に通院・入院歴のある DMD/BMD 症例の中から明らかな精神症状を有する例を選び、精神症状、知的機能、家族歴、遺伝子変異、画像所見を調べた。

結果

①精神症状：分裂病様の症状が DMD 3 例、BMD 2 例、自閉が DMD 4 例、独語・奇異な発言が DMD 1 例、異常行動・自殺企図が BMD 1 例にみられた。分裂病様症状を呈した症例のうち 3 例は精神科専門医を受診し投薬を受けており、最も症状が著しかった 1 例は当院での管理が不能で専門施設へ転院となった。

②知的機能検査：正常下限から軽度障害例が多くみられたが、正常例 (分裂病様症状の BMD 例：WISC で IQ112) や高度障害例 (分裂病様症状の DMD 例：WISC-R で IQ43) も認められた。

③遺伝的背景：遺伝子解析は multiplex PCR で行った。分裂病様症状例では exon49,50 欠失 1 例、exon3,4,6 欠失 1 例、未施行 3 例、自閉例では exon49~52 欠失、47~51 欠失がそれぞれ 1 例、欠失無し 1 例、未施行 1 例、独語・奇異な発言の見られた例は exon48~50 の欠失、異常行動・自殺企図例は exon45 の欠失であった。なお筋ジストロフィーと精神症状とが co-segregate した家系は見られなかった。

④画像所見：頭部 CT 上 3 例で萎縮を認めた。MRI を施行できた 1 例 (分裂病様症状の BMD 例) では異常は見られなかった。

以下に症例を呈示する。

[症例] 7 歳時より歩いたり走ったりするのが遅いの気付かれ転倒傾向があった。9 歳時に DMD と診断され 11 歳に当院入所。15 歳で自力歩行不能となるが、この頃より気分のムラが激しくなった。17 歳時に被害関係念慮が著しく、独語や空笑も見られるようになり精神科を受診、境界型精神分裂病と診断を受けフルフェナジン、ハロペリドールを処方された。9 歳時に施行された WISC-R では総 IQ43 (VIQ45、PIQ59) であ

り遺伝子解析では exon49,50 の欠失が認められた。家族歴には筋ジストロフィー、精神疾患ともにみられない。21 歳時の頭部 CT では前頭葉優位の cortical atrophy と側脳室前角の拡大が認められた。

考察

1987 年に升田ら¹⁾ は筋ジストロフィー入院患者の約 2.4% に精神症状がみられ、なかでも 10 歳代の DMD が多く、妄想、幻覚などの陽性症状が多いことを報告している。このように DMD/BMD に精神症状がみられることは稀ではなく、特に分裂病様の症状には注目すべきであろう。本研究においては 5 例に同症状がみられ、さらに自閉が 4 例に認められた。

Zatz ら²⁾ は BMD と schizophrenia とが co-segregate した一家系を報告し、schizophrenia の susceptibility を規定する locus が Xp21 に存在するか、あるいは脳での dystrophin 発現異常により精神症状が惹起されるかの二つの可能性を指摘している。本研究では筋ジストロフィーと精神症状とが co-segregate した家系は見られず、ジストロフィン遺伝子の欠失部位との関係にも一定の傾向は見いだせなかった。

斎田ら³⁾ は心不全の悪化に伴って分裂病様症状をきたした DMD 2 例を報告し、死への恐怖や拘禁反応、心不全に伴う代謝異常などが精神症状の発症に関与したと論じている。また本研究中 2 例では両親が離婚しており、このことが精神症状発現に影響した可能性も否定できない。このように本症の精神症状発現機序には様々な要因が関係すると思われる。今後さらに症例を増やし検討する必要があると考える。

参考文献

- 1) 升田慶三、岩崎學：進行性筋ジストロフィー症者における精神医学的諸問題について (その 2)。厚生省精神疾患研究委託費・筋ジストロフィー症の療護に関する臨床および心理的研究・昭和 60 年度研究成果報告書：1-4、1985
- 2) Zatz M, Vallada H, Melo MS, Passos-Bueno MR, Vieira AHG, Vainzof M, Gill M, Gentil V: Cosegregation of schizophrenia with Becker muscular dystrophy : susceptibility locus for schizophrenia at Xp21 or an effect of the dystrophin gene in the brain? J Med Genet 30: 131-134, 1993
- 3) 斎田恭子、光吉出、白坂幸義、川崎淳：精神症状を随伴したデュシェンヌ型筋ジストロフィーの二例。厚生省精神疾患研究委託費・筋ジストロフィーの臨床・疫学及び遺伝相談に関する研究・平成 6・7 年度研究報告書：266-267、1995

PMD おける脳血管障害と心障害の関連性 — 頭部CT, 心エコー, ECG による検討 —

班 員 松岡幸彦
国立療養所鈴鹿病院
共同研究者 小長谷正明, 酒井素子
久留 聡, 加藤隆士, 安間文彦
国立療養所鈴鹿病院

緒 言

筋ジストロフィー(PMD)では脳血管障害(CVD)を来すことがあり, 凝固異常による梗塞の可能性が言われている。今回は循環器系障害の関与を検討する目的で, 頭部CTと心機能を検索した。

対象と方法

対象は当院入院, ないしは外来のPMD 160例である。Duchenne型63例(DMD; 平均年齢 19.9 ± 5.8 歳, M \pm SD), Becker型15例(BMD; 43.9 ± 11.4), 女性dystrophinopathy 2例(F-dyst: 23 ~ 52), いわゆる肢帯型21例(LG; 男14例, 女7例; 52.5 ± 8.5), 福山型10例(FCMD; 男4, 女6; 20.4 ± 7.2), 顔面肩甲上腕型5例(FSH; 男4, 女1; 41.0 ± 17.0), 筋強直性ジストロフィー44例(MyD; 男30, 女14; 48.8 ± 8.9)である。頭部CTは神経内科医2名が判定した。心電図(ECG)は全例で判定し, 心EchoはDMD 63例, BMD 15例, F-dyst 1例, LG 15例, FCMD 10例, FSH 5例, MyD 28例の計135例で, 左房内血栓と左室壁血栓の有無, 拡張型心筋症(DCM)の有無と左室駆出分画(LVEF)による左室機能を判定した。

結 果

脳萎縮はDMD 21例, BMD 7例, FCMD全例, FSH 2例, MyD 32例でみられた。頭蓋内石灰化は大脳鎌(DMD 1例, LG 1, MyD 5)と淡蒼球(MyD 2)にみられた。明らかな脳血管障害(CVD)痕跡はDMD 1例, BMD 2例, F-dyst 1例, LG 2例, MyD 5例の計11例でみられ, MyDの2例は分水界領域梗塞であった。白質低吸収像はF-dystとFCMDの各1例とMyD 8例にみられた。ECG上, BMDとF-dyst, LGの各1例で心房細動がみられ, 心臓pace makerはBMD 1例, LG 1例, MyD 2例で装着されていた。心Echoでの心腔内血栓確認例はなかった。DCMと判定されたのはDMD 24例, BMD 1例であった。左室機能低下(LVEF<50%)はDMD 52例(<30%; 30例), BMD 12例(4), F-dyst 1例, LG 11例(1), FCMD 9例(2), FSH 0例, MyD 16例(3)だった。CVD痕跡11例全例になんらかの心機能異常があり, DCMはDMD, BMD各1例で, LVEF低下はDMD 1例, BMD 2例, F-dyst 1例, LGとMyD各1例で, 心房細動はBMD, F-dyst, LG各1例でみられた。F-dyst例は僧帽弁狭窄もあった。MyDではAdams-Stokes発作例と心停

止後pace maker装着例が各1例みられた。心停止の既往例は, 両側の頭頂・後頭葉移行部の分水界領域梗塞がみとめられた。

考 察

脳萎縮は高頻度であり, FCMDでは小多脳回や大脳皮質層構造異常などの中枢神経病変を反映し, MyDでは神経原線維変化出現など¹⁾, 変性プロセスの存在が推定される。DMDやBMDでは中枢神経系皮質ニューロンシナプス後膜に多く存在するdystrophinの欠損²⁾との関連性が注目される。また, 慢性的灌流不全による脳萎縮促進の可能性もある³⁾。頭蓋内石灰化はMyDで多く, 副甲状腺ホルモン受容体機能障害⁴⁾の結果と推測される。淡蒼球石灰化例に錐体外路症状はなかった。

CVD痕跡例全例に心機能異常みられた。PMD心肥大例は脳を含む様々な臓器に血栓をきたしやすく⁵⁾, 今回の検討でもCVD痕跡例中DMDとBMDの各1例ではDCMがみられた。特発性DCMでは約20%にCVD痕跡があり⁶⁾, 心原性梗塞の可能性が高いと思われる。収縮力の乏しい心腔内に発生した血栓による塞栓が強く疑われる。だが, DMDの日常臨床でCVD発作との遭遇は経験的にまれであり, 本研究でもDCM 23例中1例でしかない。DMDの年齢は若年であることや, 著しい骨格筋障害のため心臓への労作性負荷が少ないことなどが, CVDが特発性DCMより少ない理由と考えられる。心房細動でのCVDは心腔内血栓による塞栓とするのが妥当だが, 心Echoでは心腔内血栓は確認されなかった。一般的に, CVDきたした心房細動の患者でもEchoで血栓が検出されないことも多い⁷⁾。MyDでは5例にCVD痕跡があり, 血栓の塞栓による小梗塞以外に分水界領域の梗塞もあり, 伝導障害性の心原性ショックのための血流低下に起因すると推定された。

結 論

PMD 160例の頭部CTを検索し, 高率に脳萎縮をみとめることと, 心原性の脳梗塞と推定される症例の存在を指摘した。

文 献

- 1) 三竹重久ら: 臨床神経 29:488-492, 1989
- 2) Uchino M et al: J Neurol Neurosurg Psychiatry 57:426-429, 1994
- 3) 米山栄ら: 臨床神経 32:969-972, 1992
- 4) Konagaya Y et al: J Neurol Sci 70:339-346, 1985
- 5) 松家豊ら: 厚生省精神神経研究委託費筋ジストロフィーの臨床疫学および遺伝相談に関する研究・平成4年度報告書, 1993, p148-151
- 6) Dusleag J et al: Am J Cardiol 69:1446-1450, 1992
- 7) 石川欽司ら: 呼と循 46:759-763, 1998

筋強直性ジストロフィーにおける心不全の臨床・病理学的特徴—呼吸不全死例との比較—

足立克仁¹⁾、松下隆哉¹⁾、齋藤美穂¹⁾、
乾 俊夫²⁾、川井尚臣³⁾、佐野寿昭⁴⁾、
香川典子⁴⁾

¹⁾国立療養所徳島病院内科、²⁾同神経内科

³⁾高松市民病院内科、⁴⁾徳島大学第一病理

緒 言

筋強直性ジストロフィー(MyD)において、呼吸不全死例と比較検討することにより、心不全の臨床・病理学的特徴を明らかにしたい。

方 法

心不全を呈したMyD2例の臨床・剖検所見を調べた。さらに心重量と心筋線維径について、呼吸不全死したMyD5例(46~61歳)、そして疾患対照2例(46歳、子宮癌と56歳、肺癌)と比較検討した。心筋線維径については、HE染色した心筋細胞をコンピューター画面(Olympus Video Micrometer)上に投影し、心筋細胞の横断面の短径を500個測定した。

結 果

1. 心不全を呈した2例:40歳の男性で、26歳に下肢の脱力で発症した。38歳入院時、軽度の頻脈と下腿浮腫がみられた。心胸比は64.4%で、心電図で1度AVブロックが認められた。入院2年後、早朝急にチアノーゼ、意識障害を来し死亡した。心重量は460gと増加し、心室、心房の遠心性の拡張がみられた。

他のもう1例は53歳の女性で、30歳時に下肢の脱力で発症した。45歳で歩行不能となり、翌年入院した。48歳でレスピレーターを装着し、52歳時、下腿浮腫、胸水が出現し、血漿BNP値は99pg/mlと上昇していた。心エコーは駆出率が59.9%であった。洞不全症候群のためペースメーカー挿入を行うも4カ月後に橋出血にて死亡した。心重量は330gで洞房・房室結節は特殊心筋の線維化が著明であった。肺、肝、腎のうっ血もみられた。

2. 心重量の比較:心不全例の平均値は395gであり、呼吸不全例では310g(280~340g)、疾患対照では295g(320g、270g)であった。

3. 心筋線維径の比較:心不全例の心筋細胞は両例とも萎縮が目立ち、平均径は10.3 μ m(9.1 μ m、11.4 μ m)であった。呼吸不全例では大小不同であり、測定した3例の平均径は17.6 μ m(16.2 μ m、16.4 μ m、20.2 μ m)と心不全例よりも大きく、肥大が目立った。疾患対照では11.2 μ m(9.9 μ m、12.5 μ m)であった。

考 察

筋強直性ジストロフィーにおける心不全症状は本症患者の10%以下にしかみられないといわれている¹⁾が、心不全死する症例もときにみられる²⁾。この心不全の発症機序や病態を明らかにすることは心不全の予防や治療につながり本症の生命予後の延長に資するものとなる。

従来本症の心不全の病因として先ず刺激伝導系の異常が考えられていたが、心筋細胞の萎縮も起因していることを明らかにした。さらに、この萎縮のため代償的に間質組織が肥大し、心重量の増加をきたすものと思われた。

結 論

本症の心不全死例は呼吸不全死例に比べ、心重量は重く、心筋細胞の萎縮が強く、これが死因に関連していると思われた。

参考文献

- 1) Nguyen HH, et al: Pathology of the cardiac conduction system in myotonic dystrophy: A study of 12 cases. J Am Coll Cardiol, 11:662, 1988.
- 2) 足立克仁ら: 筋強直性ジストロフィーにおける心不全の特徴—主に Duchenne 型における心不全との比較—. 平成8-10年度厚生省精神・神経疾患研究委託費. 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班研究報告書 1999, p123.

40歳まで生存したDuchenne型筋ジストロフィー患者の 臨床・病理学的特徴

足立克仁¹⁾、松本和也¹⁾、木村千代美¹⁾、
乾 俊夫²⁾、川尻真和²⁾、川井尚臣³⁾
佐野寿昭⁴⁾、堀口英久⁴⁾

¹⁾国立療養所徳島病院内科、²⁾同神経内科

³⁾高松市民病院内科、⁴⁾徳島大学第一病理

緒 言

Duchenne型筋ジストロフィー患者は以前は20歳までしか生きられない病気といわれていたが、近年その平均寿命は延びてきている。それは主として呼吸器の導入によるとされている。本研究では、40歳の剖検例を報告し、その臨床・病理所見の特徴を検討し、本症の寿命の更なる延長に資したい。

方 法

対象はDuchenne型の1家系3症例である。すなわち、40歳で死亡した男性(発端者)と21歳で死亡したその弟、さらに、31歳で死亡したその母方の従兄である。これら症例の臨床・剖検所見を比較検討した。

結 果

1. 40歳で死亡した症例：満期正常出生で、処女歩行は2歳と遅れた。5歳より登はん性起立がみられ、12歳で歩行不能となり、13歳より当院に入院した。入院時、身長150cm、体重32kg。知能低下はなかった(18歳時のWAISでは言語性IQ:86、動作性IQ:100、全IQ:90)。四肢近位部の筋力低下がみられ、下肢機能障害度(stage)はVであった。血清CK活性値は783U/ml(正常<25U/ml)と上昇し、肺活量(VC)は1630mlと低下していた。胸郭の変形は明らかでなかった。心胸比(CTR)は47%と拡大はみられなかった。入院後の経過では、体重は徐々に増加し、27歳で46kgとなったが、その後は低下し、40歳で31kgであった。Stageは17歳でVI、18歳でVIIとなり、34歳でVIIIとなった。VCは22歳から1000ml以下となり、34歳からは夜間のみ体外式人工呼吸器を装着し、39歳で気管切開後に呼吸器を装着した。CTRは35歳より徐々に小さくなり、39歳で43%になった。PCR(19領域)によるジストロフィンDNAのエクソンの欠失は

確認できなかった。

剖検所見では側頭筋、深部の頸筋以外の骨格筋は脂肪に置換していた。頸筋のジストロフィン染色は陰性であった。心重量は250gと軽く、左室後・側壁に強い線維化が認められた。右肺には肺炎像がみられた。

2. 21歳の弟例：2歳で処女歩行があり、5歳より登はん性起立がみられ、11歳で歩行不能となり入院した。知能低下はなく、CTRの拡大はなかった。入院後、17歳で常時臥床となり、21歳で呼吸不全のため死亡した。全経過中やせ形で、呼吸器は使用されず、剖検は行われなかった。

3. 母方の従兄例：2歳で処女歩行があり、9歳で起立が不能となり入院した。知能低下はなかった。21歳で体外式人工呼吸器を装着し、26歳で気管切開後に呼吸器を装着し、31歳で死亡した。心重量は330gと肥大はみられなかった。

考 察

弟例と従兄例は典型的なDuchenne型の臨床経過を示した。死亡年齢の差は呼吸器導入の有無と考えられた。本例(発端者)は、20歳から30歳にかけての臨床経過がやや良好であった。これは他の2例に比べ胸郭の変形が少なく、心拡大がみられず、萎縮心¹⁾を示したことに起因していると思われる。ここで40歳生存例の特徴をまとめてみると、1. 呼吸器導入例である、2. 胸郭の変形が少ない、3. 心拡大がみられず、萎縮心を示す、4. やせ形の体型である、5. 知能低下が認められない、6. 年少時から長期入院例である、などであった。

結 論

入院療養にて、無理のない適切なりハビリテーションを続け、装具などによる胸郭変形の防止を行い、さらに肥満防止を考えた適切な食事などに注意すれば40歳まで生存できることがある。

参考文献

1) 足立克仁ら：Duchenne型筋ジストロフィー患者における心肥大に関する研究—臨床所見ならびに剖検所見による検討—。神経内科, 39:616, 1993。

Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者における骨格筋障害と心障害の臨床経過

足立克仁¹⁾、上田由利子¹⁾、阿部多賀子¹⁾、川尻真和²⁾、川井尚臣³⁾

¹⁾国立療養所徳島病院内科、²⁾同神経内科
³⁾高松市民病院内科

緒言

Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者にはしばしば骨格筋症状や心症状を呈する症例がある¹⁾。われわれは平成6年度より毎年一回、当院入院Duchenne型患者の母親を中心に検診を行い、骨格筋障害が強いほど心障害が強いことを当班会議で発表してきた。今回は個々の保因者における5年間の臨床経過を検討した成績を述べる。

方法

対象は遺伝子診断等で確診したDuchenne型女性保因者の中で、5年間経過を追えた7名(41~51歳、平均48歳)である。これら症例の下肢筋CT像は、筋萎縮の進行が一見して明らかな症例と、もともと明らかでなく進行もしていない症例の2群に分かれ、それぞれについて心障害との関係を調べた。骨格筋障害の程度は最も障害の大きい腓腹筋のCT値²⁾を用いて評価し、心障害は主に血漿ナトリウム利尿ペプチドの心房性(ANP)値と脳性(BNP)値¹⁾を用いて評価した。さらに心不全治療中の保因者では治療薬とANP値、BNP値との関係も調べた。

結果

1. 骨格筋障害が明らかに進んだ4保因者

1)骨格筋障害:CT像は障害が強く、腓腹筋のCT値は-3~35(正常50~60)であったのが、ほぼ5年間で-60~15と明らかな低下が認められた。

2)心障害:心不全の治療を受けていない1例は、血漿ANP値は60pg/mlから110pg/ml(正常<43pg/ml)にまで上昇し、血漿BNP値は36pg/mlから86pg/ml(正常<18.4pg/ml)にまで上昇していた。他の3例はすでに利尿剤、ACE阻害剤等の投薬中であり、血漿ANP値、血漿BNP値の上昇は程度は少ないが徐々に上昇した。

2. 骨格筋障害が明らかでない3保因者

1)骨格筋障害:CT像は障害が軽度(腓腹筋CT値は20~30)であり、筋萎縮は明らかでなく、ほぼ5年間で進行もみられなかった。

2)心障害:心不全の治療例はなかった。血漿ANP値は5年間上昇はみられなく、血漿BNP値ははじめは7~20pg/mlと上昇は少なく、5年後も僅かな上昇にとどまった。

考察

Duchenne型の女性保因者では、約半数の症例は著明な筋萎縮がみられ、数年間で萎縮が更に進行した。これらは心不全の治療を要す例が多く、心機能の低下も進行した。

残りの半数は明らかな筋萎縮がなく、数年間では筋萎縮の進行はみられず、心機能は軽度低下ないしは正常に保たれていた。これらは心不全の治療は要しなかった。

以上より、本症女性保因者の半数で、筋萎縮がみられ、徐々に萎縮が進行し、これに合わせて心機能の低下も進行すると考えられた。これらの例では心不全の経過観察、または治療が必要と思われた。

結論

Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者では、骨格筋障害と心障害の進行の程度には関連がみられた。

参考文献

- 1) Adachi K, et al: Plasma levels of brain natriuretic peptide as index for evaluation of cardiac function in female gene carriers of Duchenne muscular dystrophy. *Int Med*, 36: 497, 1997.
- 2) 足立克仁ら: Dystrophinopathy, sarcoglycanopathy, calpainopathy および myotonic dystrophy の骨格筋の障害様式についての CT 像による検討. 平成8-10年度厚生省精神・神経疾患研究委託費. 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班研究報告書 1999, p126.

筋ジストロフィー心不全に対するACE阻害剤無効例の検討

福 田 清 貴
国立療養所原病院

緒言

昨年度行った筋ジストロフィー患者における心不全の診断と治療に関する研究により、ACE阻害剤が筋ジストロフィーの心不全に対してかなりの頻度で用いられていることがわかったが、その有効性が認識される中で無効例が散見されることがわかってきた。そこでACE阻害剤無効例についての頻度や対処法に関する検討を行ったので報告する。

方法

筋ジス研究石原班の班員に対し、主にDMD/BMD心不全例に対するACE阻害剤無効例に関するアンケート調査を行った(図)。

結果

アンケートの回収率は76.0%であった。

ACE阻害剤を使用するようになってからのDMD及びBMDの心不全患者のうち治療中の患者総数は160名であった。そのうちACE阻害剤を使用したことのある患者数は135名(84.4%)であった。このうちACE阻害剤無効例は21名(15.6%)であった。

ACE阻害剤無効例に対してとった対策は、①悪化しなければ継続投与、②強心配糖体+利尿剤の投与、③β-blockerの投与、④カテコラミン(イノバン、カルグート等)の投与、⑤ピモベンダンの投与、⑥A-II antagonist (ニューロタン)の投与であった。

心不全におけるACE阻害剤無効例の頻度に関する感想・印象は、①急激に心不全が進行する様な症例には効果が少ない、②剖検で全周性の心筋の線維化がみられる症例には効果がない、③DMDの1~2割は無効ではないかという印象をもっている、④無効例には (1)ACE阻害剤がもともと効かないタイプと (2)心不全が末期だから効かなかった症例の2つがあると思う、であった。

DMD/BMD以外の筋ジストロフィー心不全例に対するACE阻害剤の使用経験は、①肢帯型に使用して効果があった、②悪性肢帯型及び筋強直性ジストロフィーに有効か? ③福山型に使用したが少なくとも著効ではなかった、④先天性ミオパチーに使用したが有効とも無効ともいいにくい、であった。

I ① ACE阻害剤を使うようになってからのDMD及びBMDの心不全患者のうち治療中の患者数

_____名

② ①のうちACE阻害剤を使用したことのある患者数

_____名

③ ②のうちACE阻害剤無効例

_____名

II ACE阻害剤無効例に対してとった対策を具体的にご記入下さい。

III 心不全におけるACE阻害剤無効例の頻度に関する感想、印象をお聞かせ下さい。

IV DMD/BMD以外の筋ジストロフィー心不全例に対するACE阻害剤の使用経験をお聞かせ下さい。

考察

DMD/BMD心不全の15.6%がACE阻害剤が無効であることがわかった。無効例には、急激に心不全が進行する例や剖検で全周性の心筋の線維化がみられる例などACE阻害剤がもともと効かないタイプと、心不全が末期だから効かなかったタイプの2つがあると考えられた。

無効例に対する対策としてはβ-blockerやA-II antagonistの使用が考慮されるべきと思われる。

また、DMD/BMD以外の筋ジストロフィー心不全例に対するACE阻害剤の使用はまだ数が限られており今後の検討が必要と思われる。

著明な女性化乳房を呈した筋強直性ジストロフィーの性ホルモンについて

春原経彦、土屋一郎、古澤英明、西岡昌紀、保坂和子

国立療養所箱根病院神経内科

〔緒言〕

筋強直性ジストロフィー (MyD) は女性化乳房をみることは稀である。我々は著明な女性化乳房を呈した MyD を経験し、その発生機序について検討した。

〔対象および方法〕

本患者および疾患対照として原発性性腺機能低下症を認め女性化乳房の不明な男性 MyD 19 例 (51±8 歳, M±SD) について総 testosterone (TT)、遊離 testosterone (FT)、estradiol (E2)、androstendione (AD)、dehydroepiandrosterone (DHEA)、17 α OH progesterone (OHP) 値を測定、E2/FT 比を算出し、各々を比較検討した。

〔結果〕本症例は 57 歳、男性。主訴は歩行困難、四肢筋力低下で、乳房部自発痛はなかった。家族歴は聞き取り調査の範囲内で陰性で、常用薬はなかった。現病歴は 36 歳時歩行困難、両手脱力が生じ、以後緩徐に進行し、47 歳時 MyD の診断を受け、52 歳時両側乳房の腫脹を自覚した。53 歳時長期療養目的で当院に入院した。現在の現症は独歩可能で両眼瞼下垂、前頸部・四肢筋萎縮、ミオトニア、四肢 areflexia 等の他、著明な女性化乳房を認め、同部では乳腺組織が明らかに触知された。また精巣萎縮をみたが、陰萎はなかった。主な検査所見は末梢血白血球の CTG 反

復長は 11.2kb で、頭部 MRI で間脳下垂体病変、腹部 CT で肝硬変像はなかった。本例の各性ステロイド値は TT(ng/ml)は 0.1 未満(疾患対照 2.78±1.43, n:2.7-10.7, 以下同)、FT (pg/ml)は 0.4 未満(7.24±4.54, 15.2-43.5)と低下し、E2 (pg/ml)は 23(15.72±7.14, 20-59)で、E2/FT は 57.5 以上(1.3-3.7)となった。DHEA (ng/ml)は 1.7 (2.63±1.06, 0.8-7.0)、17 α OHP (同)は 0.5 (1.00±0.59, 0.3-4.5)と正常で、AD (同)は 0.3 (1.40±0.83, 0.6-5.0)と低下していた。また LH、FSH は上昇していた。尚、全症例で CTG 反復長と FT 値間に有意な相関関係はなかった。

〔考察および結論〕

病的な女性化乳房は estrogen/androgen 比が上昇すると出現するとされ、本例で女性化乳房が著明な理由は E2/FT 値が非常に高いためと考えた。また MyD の原発性性腺機能低下症では AD から TT への代謝が障害されるとされるが、本例ではさらに AD が低下し、その前段階物質の DHEA と 17 α OHP は正常値であったので、それらのどちらかあるいは両者から AD への代謝も障害されていることが考えられた。

〔参考文献〕

- 1) Neuman JE : Evaluation and treatment of gynecomastia. American Family Physician 55; 1835-1844, 1997
- 2) Mastrogiamaco I, Bonanni G et al : Clinical and hormonal aspects of male hypogonadism in myotonic dystrophy. Ital. J. Neurol. Sci. 17; 59-65, 1996

筋強直性ジストロフィーの酸素吸入療法
春原経彦、土屋一郎、古澤英明、西岡昌紀、
保坂和子
国立療養所箱根病院神経内科

〔緒言〕

我々は筋強直性ジストロフィー (MyD) の呼吸障害につき以下の2つの検討を行った。則ち目的1はその呼吸障害の病態の再検討で、その2は自発性、意欲低下をみる MyD 患者で低酸素血症を示す時、酸素吸入療法を導入できるか否か予備的検討を行うことである。

〔方法〕

対象は検査につき説明し同意を得た MyD で、目的1の症例数は41例、男23、女17例、年齢32-62歳、ADLは独歩可能8、介助歩行可能10、歩行不能23例で、末血リンパ球CTG反復長は0.4-11.2Kbである。目的2の対象はMyD9例、男5、女4例、年齢47-66歳、独歩可能2、介助歩行可能4、歩行不能3例、同CTG反復長は3.5-8.6Kbである。対象症例にまず安静坐位でスパイログラム、安静臥位で動脈血ガス分析を行った。そして9例で安静臥位で酸素投与前の動脈血ガス分析を施行後、経鼻カニューレから酸素を0.5、1そして2l/分ずつ各1時間吸入させ、各々の投与量における動脈血ガス分析を行った。

〔結果〕スパイログラムは%VCは $51.3 \pm 17.6\%$ (M \pm SD)、FEV_{1.0}%は $122.0 \pm 15.9\%$ で、拘束性肺機能障害を示した。一方動脈血ガス分析の結果はPaO₂(mmHg)は 71.04 ± 13.2 と低下、SaO₂(%)は 92.3 ± 4.6 と正常範囲内で

低値、PaCO₂(mmHg)は 51.7 ± 6.4 と高値を示した。罹病期間およびCTG反復長とPaO₂、PaCO₂、SaO₂、%VC値には相関関係はなかった。またPaCO₂、%VC値は病初期から異常値を示し、ADL障害と相関しなかった。次に酸素吸入時の各値はPaO₂は前値は 73.7 ± 13.4 、0.5l吸入時 78.1 ± 16.8 、1l時 86.3 ± 19.1 、2l時は 98.9 ± 34.4 と上昇し、PaCO₂は前値 52.9 ± 3.4 、0.5l吸入時 51.6 ± 3.5 、1l時 53.0 ± 4.3 、2l時は 51.0 ± 2.7 で、酸素吸入後も更なる蓄積増悪を来さなかった。

〔考察および結論〕

MyDの呼吸機能障害には呼吸中枢を含めた神経原性要因が関与するとされ¹⁾²⁾、今回の検討でも%VC、PaCO₂は病初期から異常値を示し罹病期間やADLに相関せず、従来の報告を確認する結果を得た。また酸素吸入によりPaO₂が上昇してもPaCO₂の更なる蓄積増悪を認めなかった理由もその神経原性要因のためと考えられた。MyDでは酸素吸入後もPaCO₂値の悪化を来さない³⁾ので同療法はその呼吸障害に対する治療選択枝のひとつとして有用と考えられた。

〔参考文献〕

- 1) Carroll JE, Cliffors WZ et al: Ventilatory response in myotonic dystrophy. Neurology 27; 1125-1128, 1977
- 2) 磯崎英治、小島進、ら: 神経筋疾患における呼吸機能の検討—とくに筋緊張性ジストロフィーを中心として—神経内科 25; 371-378, 1986

筋強直性ジストロフィーの神経原線維変化の分布

箭原 修 (国立療養所道北病院 神経内科)

共同研究者 伊藤 崇、牧田圭弘、木村 隆、橋本和季 (同上) 相澤仁志、鈴木康博 (旭川医大 第一内科)

緒言

筋強直ジストロフィー(MyD)の中樞神経病変の一つとして、神経原線維変化が大脳辺縁系を中心に出現することが報告されている。しかし、神経原線維変化の分布についてMyDの中樞神経系を系統的に検討した報告少ない。そこで、われわれはMyDの神経原線維変化の分布を剖検脳について検索し、その特徴を明らかにする。

方法

対象は臨床症状や遺伝歴からMyDと診断した7例(男性3例、女性4例)で、剖検時の年齢は 59 ± 7 (平均土標準偏差)歳。脳重は914~1340g。左半脳をホルマリン固定し、大脳の上前頭回、運動野、頭頂葉、後頭葉、側頭葉、島回、帯状回、線条体、視床、海馬、海馬傍回、扁桃核、脳幹、小脳、脊髄、後根神経節、嗅球などのパラフィン切片を作成し、L-HE染色、Gallyas-Braak染色を行い、光顕的に観察した。

結果

海馬傍回、側頭葉には全例で神経原線維変化がみられた。その他の大脳皮質にはほとんど見られなかった。次いで、海馬、嗅球、扁桃核、Meynert核に神経原線維変化がみられた。さらに視床、脳幹網様体、縫線核、脊髄前角などにも神経原線維変化がみられた。側頭葉白質の粗鬆化が1例にみられた。視床や黒質の神経細胞にエオンジン好性細胞内封入体が多数みられた。Marinesco小体を有する黒質メラニン含有細胞を多数認めた。

考察

筋強直性ジストロフィーの中樞神経病理学的変化として神経原線維変化の出現(海馬、海馬傍回、嗅球、嗅結節、大脳辺縁系など)、エオンジン好性神経細胞封入体(視床、異質など)、大脳皮質の構築異常、側頭葉白質病変、Marinesco

小体の増加、Entorhinal area シナプスの密度の減少などが報告されている。このうち神経原線維変化は臨床的に見られる痴呆症やhypersomniaと関連するとされ、重要な病理所見と考えられている。異常タウ蛋白はこの神経原線維変化の主成分であるが、Gallyas-Braak染色は過剰にリン酸化された異常タウを検出できる有用な染色である。筋強直性ジストロフィーの神経原線維変化の分布は中樞神経系の広範囲にわたり、基本的にはアルツハイマー病のそれと類似しているが、皮質に比べ視床や脳幹、脊髄などに多く出現する傾向を認めた。また異常タウの組成はアルツハイマー病のそれとは異なることが少数例の検討ではあるが示されており、筋強直性ジストロフィーの神経原線維変化の出現メカニズムがアルツハイマー病とは異なる可能性があると思われた。

結論

筋強直性ジストロフィーの中樞神経には広範囲に神経原線維変化が分布し、その分布様式も加齢やアルツハイマー病でみられる分布とは必ずしも一致せず、異常タウ蛋白の蓄積のメカニズムがこれらの疾患とは異なる可能性がある。

参考文献

- 三竹重久、稲垣俊明、新美達司、白井智之、山本正彦。筋緊張性ジストロフィーの2剖検例におけるアルツハイマー神経原線維変化の出現。臨床神経、29:488-492、1989
- Kikuchi A, et al. Presenile appearance of abundant Alzheimer's neurofibrillary tangles without senile plaques in the brain myotonic dystrophy. Acta Neuropathol, 82:1-5, 1991
- Yoshimura N. Alzheimer's neurofibrillary changes in the olfactory bulb in myotonic dystrophy. Clin Neuropathol, 9:240-243, 1990
- Vermersch P, Sergeant N, Ruchoux MM, Hofmann-Radvanyi H, Wattes A, Wattes A, Petit H, Dewailly Ph, Delacourte A. Specific tau variants in the brains of patients with myotonic dystrophy. Neurology, 47:711-717, 1996

筋緊張性ジストロフィー (DM) における横隔膜と胸郭運動の評価

班員 箭原 修

共同研究者 牧田圭弘、伊藤 崇、木村 隆、橋本和季
(国立療養所道北病院 神経内科)

緒言

DM 患者では、呼吸筋の筋力の画像的な評価方法としては胸部単純X線写真上での検討であった。今回我々は、連続撮影法で横隔膜運動と胸郭運動を動的に解析し、呼吸機能検査・血液ガスの結果も含めて検討し評価したので報告する。

方法

当院入院中の DM 患者 8 例、LGD 患者 3 例、および正常対象 (NC) 3 例である。血管造影に使用されている DSA 装置 (GE 社製 Advantx-E-LCX) を用いて最大吸気・呼気動作を臥位・坐位に分けて連続撮影し、画像を市販のコンピュータに取り込み解析した。呼吸運動は正面像・側面像でそれぞれ連続 3 回の吸気・呼気動作を行わせた。

I. 胸郭運動は、側方運動と前後運動について検討した。側方運動の評価は右胸部について行い、吸気時の最大径/呼気時の最大径として広がり率を算定した。前後運動の評価は、吸気時の前後径/呼気時の前後径として広がり率を算定した。

II. 横隔膜の動きと形状を以下の grading を用いて検討した。

1. 横隔膜の動き

1) 正面像で 1=殆ど動かない-1 肋間以内、2=1-2 肋間以内、3=2 肋間以上、動きの変化とした。

2) 側面像で 1=殆ど動かない-1 椎体以内、2=1-2 椎体以内、3=2 椎体以上、動きの変化とした。

2. 横隔膜の形状

1) 正面像 1=殆ど動かない、2=1 と 3 の中間、3=正常とした。

2) 側面像で 1=殆ど変化なし、2=1 と 3 の中間、3=正常の形状変化とした。

結果

1) 呼気・吸気における胸郭運動の変化率

NC 群では側方の変化率は 1.03 ± 0.03 で、前後の変化率は 1.17 ± 0.05 であり前後の動きが主体であった。DM 群ではそれぞれ 1.06 ± 0.06 、 1.13 ± 0.06 、LGD 群ではそれぞれ 1.04 ± 0.02 、 1.13 ± 0.07 であった。胸郭運動は 3 群とも側方より前後の率が大きく、胸郭の呼吸の動きは前後の動き主体であると思われる。しかしながら、3 群間では明らかな差は認め

なかった。呼吸運動は、筋ジストロフィーの症状が進んでも胸郭運動によって呼吸が維持されるものと思われる。しかしながら、NC 群では前後と側方の変化率間の検討で有意差を認めた。

2) 横隔膜の動きと形状の評価スコアの総和と%VC

DM 群では臥位正面和 (NC 群では 6 点) は 3.75 ± 1.17 であり、%VC は $52.4 \pm 22.95\%$ であった。これらの 2 つには相関が認められた ($p=0.0341$)。しかしながら、動脈ガス分析値 (P_{O_2} や P_{CO_2}) には関連は認めなかった。

考案

今回の連続撮影法を用いた方法では、常に動的な検討が可能で、呼吸運動を 3 回の施行の中から実際に観察しながら選択が可能であり、より再現性も評価できると思われる。

また、正常者の胸郭運動・横隔膜運動を観察すると正面像で十分な横隔膜運動が見られるうえに、側面像では胸郭の前後の運動が維持されている。疾患群では、DM 群で重症度が高いものでは明らかに横隔膜運動について、側面像で上下に横隔膜が動いていても、形態は上に凸のままであったり、また形態変化も殆どなく、従って動きも非常に悪い例を認めた。

今回我々の報告では、胸郭運動が呼吸に重要と思われる、%VC が悪い例では、横隔膜の動きが悪くても、胸郭で動いている症例を認めており、その動きも前後の動きが重要であることが推察された。すなわち、胸郭運動が横隔膜運動を代償していることが示唆され、胸郭運動の重要性が示された。

結論

DM における呼吸筋機能を評価するために、横隔膜運動と胸郭運動を同時に観察した。坐位・臥位で横隔膜運動・胸郭運動につき grading を行ない、呼吸機能検査、血液ガス検査も含めて比較検討した。胸郭の動きは、側方の動きよりより、前後の動きが主体であった。grading による評価スコアの総和と%VC は DM 群臥位正面で有意に相関がみられた。連続撮影法を用いて動的に観察した報告は従来なく、実際の呼吸状態が把握可能で、非常に有用な検査法と思われる。

参考文献

- 箭原 修ら：筋緊張性ジストロフィーの呼吸機能と動脈血ガスについて、神経内科、24：287、1986
箭原 修ら：筋緊張性ジストロフィー症の呼吸機能。厚生省特定疾患・筋ジストロフィー症 (祖父江班)・昭和 58 年研究報告書、303、1983

福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)児の 網膜病変の免疫組織化学的解析

大澤真木子1、日野なおみ1、小林慎雄2、
柴田亮行2、山本智子2、斎藤加代子1
東京女子医科大学小児科学教室1
同大学病理学第一講座2

緒言

我々はこれまでに、福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)胎児脳の検索により、皮質異形成の形成機序にpial-glial barrierの破綻の関与があることを報告してきた。また、FCMD児の眼病変の検索にて、硝子体後極に硝子体遺残物を含む塊状の血管線維性組織を認め、網膜剥離と異形成を伴った病変を確認できた。これらから、眼病変の成因につき、中枢神経の皮質異形成と類似の病態と推測してきた。今回、本症の網膜病変の病態をさらに明らかにするために、症例数を増やし、より詳細な検討を行った結果を報告した。

対象および方法

6歳、14歳のFCMD小児例2例、出生前診断でFCMDと診断された胎齢14、17週の胎児2例を対象とした(FCMD群)。6歳FCMD児は、臨床的には眼振のみで著明な眼底所見を認めず、また14歳FCMD児は、眼科的には特に異常を指摘されていない。対照として、非神経筋疾患の胎齢10週、9ヶ月の胎児2例の眼球を用いた(対照群)。摘出された眼球は、10%ホルマリン固定、パラフィン包埋切片とした。免疫組織化学的染色は、一次抗体に、グリア細胞のマーカーとして、グリア線維性酸性蛋白(GFAP)ホリックロナル抗体(DAKO)、S-100蛋白ホリックロナル抗体(DAKO)を用いた。また網膜固有のグリア細胞であるミューラー細胞同定のために、ビメンチンモノクローナル抗体(DAKO)、抗 ornithine aminotransferase(OAT)ホリックロナル抗体(藤田保健衛生大学医学部生化学講座松澤健夫教授の御恵与)を用いた。さらに、基底膜要素の同定のために、ラミニンホリックロナル抗体(CHEMIKON)、コラーゲンIV型モノクローナル抗体(DAKO)を用い、ABC法にて反応を行い、DABで発色した。

結果

FCMD群では、小児2例に網膜剥離を認め、14歳児では剥離した網膜の一部癒合を伴っていた。癒合部には異形成の所見を観察できたが、癒合部を除くと、網膜の正常構築は保たれていた。

<免疫組織化学的検討>

1) グリア要素(GFAP、S-100蛋白)の免疫活性
: 網膜剥離を認めたFCMD小児例では、強陽性のグリア細胞増殖を認めた。14週、17週胎児例では、両マーカーとも免疫活性は認めなかった。対照群では、グリア細胞増殖は認めなかった。

2) 基底膜構造の構成要素(コラーゲンIV型、ラミニン)

の免疫活性

: FCMD小児例では著しい低下を呈していたが、胎児例においては、基底膜の存在部位に一致して陽性であった。対照群では、両マーカーともに陽性であった。

3) ミューラー細胞同定に用いたOATの免疫活性

: 対照の10週胎児では網膜全層に陽性で、9ヶ月胎児例では、内境界膜に突起をのぼしたOAT陽性のミューラー細胞を確認できた。FCMD群においては、胎児例では免疫活性を認めず、小児例では不均一・不連続な免疫活性を認めた。

考察

網膜異形成を認めたFCMD小児2例は、グリア細胞増殖を伴い、基底膜要素の免疫活性の低下を認め、基底膜の機能障害が病変形成に関与している事が考えられた。網膜と硝子体の隔壁は、ミューラー細胞基底部に存在する基底膜であり、これが真の意味での網膜内境界膜となっている。ミューラー細胞は、胎齢6から10週にかけて出現し、網膜全層を貫き、網膜の層構造と形態維持に関与することが明らかにされている。OATの免疫活性は、対照群の10週胎児例で既に網膜全層に発現していたが、FCMD群では、胎齢14週においても免疫活性は認められなかった。また、FCMD小児例では、免疫活性を認めるものの、網膜全層に分布せず、不連続に発現するパターンは、ミューラー細胞の何らかの機能異常を想定させる所見であった。

結論

臨床眼科的には特に著明な異常を指摘されなかったFCMD児において、網膜異形成の存在が病理学的に確認された。本症例にみられた眼病理所見から、硝子体腔に接し内境界膜を形成するパターン細胞の異常が病変形成に関与している可能性が支持された。

参考文献

- 1) Yamamoto T, Toyoda C, Kobayashi M, Kondo E, Saito K, Osawa M: Pial-glial barrier abnormalities in fetuses with Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 19: 35, 1997
- 2) Toke Bek: Immunohistochemical characterization of retinal glial cell changes in areas of vascular occlusion secondary to diabetic retinopathy *Acta Ophthalmologica Scandinavica* 75, 1997
- 3) A. Germer, K. kuhnel, J. Grosche, A. Friedrich, A. Rechenbach, A. F. Mack: Development of the neonatal rabbit retina in organ culture *Anat Embryol* 196: 67~79, 1997

下肢痛時に筋MRI T2 強調画像で高信号域を呈したDuchenne 型筋ジストロフィーの一例

分担研究者 大澤真木子 (東京女子医科大学 小児科)
共同研究者 伊藤万由里、斎藤加代子、伊藤 康、
平野幸子、池谷紀代子、勝守 宏、舟塚 真、
林 北見、小峯 聡 (東京女子医科大学小児科)

筋 MRI は筋生検部位の決定、筋疾患の進行の判断に用いられる機会が多くなっている。今回、我々はDuchenne 型筋ジストロフィー (以下 DMD) 患児で、下腿疼痛を訴えた急性期に筋MRI で病変を確認したので、その有用性を報告する。

<症 例> 6歳3ヵ月 男児

<家族歴> 特記すべきことなし

<既往歴> 頭位自然分娩にて出生。周産期に異常なし。定頸3ヵ月、寝返り7ヵ月、独坐12ヵ月、独歩1歳9ヵ月。1歳健診時、近医にて運動発達遅滞を指摘され、2歳7ヵ月時に当科にて筋生検でDMD と診断。この際、頭部CTで視神経膠腫がみづかり、腫瘍摘出術を施行。

<現病歴> 6歳3ヵ月時、突然、右下腿後部痛出現。歩行不可能となり当科に入院。数日前より軽度の鼻汁がみられたが発熱等はなかった。

<現 症> 体温36.8℃。歩行不可能であったが、全身状態は悪くなかった。胸腹部異常所見なく、咽頭発赤、皮疹、リンパ節腫脹等はなかった。右下腿後部には、熱感、腫脹を認むも、発赤はなかった。同部には自発痛、把握痛をとともに認めた。下腿最大周囲径は右26cm、左25cmと左右差があった。深部腱反射は正常、関節可動域制限はなかった。

<検査所見及び臨床経過> 血液一般検査は正常。血液生化学では、CK 95100 IU/l, aldolase 265 IU/l, LD 7440 IU/l, AST 910 IU/l, ALT 752 IU/l と筋逸脱酵素の上昇を認めた。電解質は正常範囲、CRPは陰性。また、尿潜血陽性で尿中ミオグロビンは1000 ng/ml と高値であったが、腎機能は正常であった。心電図、胸部レントゲン写真は異常なかった。筋炎を発症し得るウイルスについては、インフルエンザ、コクサッキー、EB の抗体価をペアで測定したが、いずれも有意な結果は得られなかった。

入院後、発熱は認めず、下腿の疼痛は第2病日には軽減、歩行可能となった。治療としては、安静と、腎障害を予防のための大量の輸液を施行した。血液、尿検査所見は経時的に改善し、第7病日に退院した。

下腿 MRI を第2病日、第20病日で撮影した。両側ヒラメ筋部分が、第2病日のT1強調画像で低信号、T2強調の脂肪抑制画像では高信号を呈しており、浮腫が存在し、筋炎または筋融解が示唆された。病変は右側において特に著明であった。第20病日では、脂肪抑制画像で、同部分の高信号域はほぼ消失しており、筋組織内の浮腫は一過性であったことを確認した。また、横断面、縦断面ともに、信号強度の変化はヒラメ筋のみで、病変は同筋に限局していた。

<考 察> 急性期に筋 MRI 画像を得られた筋融解、筋炎の報告例は散見されるが、^{1) 2) 3)} いずれもT2 強調画像で病変部が高信号域を呈している。Shintani らは、筋融解を発症した場合、ほぼ1ヶ月程度でMRI 画像上の病変は改善すると報告している。本患児では20日目に確認したところ、画像上の病変は消失していた。

急性期の筋生検所見は、筋融解では壊死線維、食細胞の浸潤がみられ、筋炎では炎症細胞の浸潤がより著明である。今回は急性期に筋生検を施行していないため、筋融解か筋炎かの鑑別は厳密にはできないが、MRI の画像から、局所において何らかの筋崩壊が起こっていたことは推定できた。

Reimers ら⁴⁾ は、骨格筋が融解または炎症をおこした際の病理組織像と、それに対応する筋 MRI 画像所見について、T2 強調画像では、水分の増加も脂肪の増加も高信号域を呈し、脂肪抑制画像を併用することにより、水は高信号、脂肪は低信号を呈することから、浮腫と脂肪化を区別することが可能になると述べた。本症例でも脂肪抑制画像を併用したことにより、病変をより明瞭に同定できた。

本エピソードが、筋融解か急性筋炎であるかのひとつの指標として、血清中のサイトカインを測定した。第2病日、第20病日、1年後の3ポイントで、IL-6、TNF- α 、可溶性IL-2 レセプターを測定したが、いずれも筋炎を示唆する程の有意な変動はなかった。この結果のみでは、筋炎を否定できないが、急性期に全身のマクロファージ、T細胞が活性化されるような全身性の炎症はなかったと考えられた。

<結 論> 下肢疼痛を訴えた DMD 患児において、急性期に筋 MRI で病変を確認した。T2 強調画像および脂肪抑制画像併用により、罹患筋における浮腫性変化を推定でき、急性期の非侵襲的な検査法として、有用であると思われる。

DMD の幼少期、Becker 型筋ジストロフィー の学童期の患児において、活動時の筋痛を訴えることがある。全身状態良好でも、本例のように、高度の筋崩壊を起こしている可能性もあり、早期の外來受診を勧める必要がある。その際には、腎合併症予防目的で輸液治療も考慮すべきと思われる。また、筋 MRI で病変を確認できれば、病態も明らかになると考えられる。

参考文献

- 1) Shintani S, shiigai T: Repeat MRI in acute rhabdomyolysis (Correlation with clinicopathological findings). J Comput Assist Tomogr 17(5): 786-791, 1993
- 2) Stock KW, Helwig A: MRI of acute exertional rhabdomyolysis in the paraspinal compartment. J Comput Assist Tomogr 20(5): 834-840, 1996
- 3) Nakahara K: The value of computed tomography and magnetic resonance imaging to diagnose rhabdomyolysis in acute renal failure. Nephrol Dial Transplant 14: 1564-1567, 1999
- 4) Reimers CD, Finkenstaedt M: Muscle imaging in inflammatory myopathies. Curr Opin Rheumatol 4: 475-485, 1997

右大腿静脈血栓症を合併した顔面肩甲 上腕型筋ジストロフィーの一例

分担研究者 大澤真木子（東京女子医科大学小児科）
共同研究者 鈴木美香、池谷紀代子、舟塚 真、
伊藤万由里、曾根久美子、藤田典子、
勝盛 宏、林 北見（同大学 小児科）
加藤孝男（同大学 第二外科）

[緒言]

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(FSHD)は主に顔面、上肢帯、上腕の筋萎縮と筋力低下を示す常染色体優性遺伝性疾患であり、筋ジストロフィーの中で3~4番目に多い。一方、深部静脈血栓症は血流停滞、血液凝固能亢進、静脈壁異常が原因となり発症する。FSHDと血栓症についての報告は数少ないが、今回、右大腿静脈血栓症を合併したFSHDの一例を経験した。筋ジストロフィーに対するケア-を考える上で重要な症例と思われたので報告する。

[症例]

27歳女性。家族歴に筋疾患、梗塞性疾患は認められない。定額6ヵ月、独り歩き1歳3ヵ月、幼少時より無表情であり、9歳頃より走るのが遅く、11歳10ヵ月頃より歩行困難となった。12歳時、当科で精密検査を受けた結果、網膜症、難聴を合併した顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーと診断された。18歳頃より歩行不能となり、車椅子使用を開始した。また通常右側臥位の姿勢をとる事が多かった。1998年11月20日頃より右鼠径部の疼痛を訴え、同部より大腿の背側~内側に紫斑が出現し、疼痛の範囲と共に徐々に広がっていった。11月28日右下肢全体の腫脹に気づき、当科受診、静脈血栓症疑いで入院となった。入院時の現症では腰椎の強い前弯が認められ、全身、特に顔面、上肢帯、上腕に筋萎縮が目立った。右大腿部で、紫斑は大腿の背側~内側に広範囲に認められ、外陰部周辺にも及んでいた。また、紫斑部位に著明な熱感、圧痛が認められた。症状のある右側の方が太く、大腿の最大周囲径で7cm、左側より増加していた。検査では、著明な炎症所見の亢進は認められず、早朝第一尿での比重は正常範囲内であった。凝固線溶系ではトロンボテスト、HPTの軽度低下、フィブリノーゲン、D-dimerの軽度高値を認める以外は正常範囲内であった。第28病日のプロテインC、プロテインSは軽度低下、ループスアンチコアグラントは陽性だった。胸部XPでは心拡大はなく、心電図、心エコーは特に問題なかった。画像検査では、エコー、CT上患側に血栓が認められ静脈造影上、右外腸骨静脈下流から、右大腿静脈付近に圧排像が認められ、その付近に側副血行路が認められた。

[経過]

入院時(第11病日)より、ウロキナーゼ24万単位/日(漸減し7日間)、ヘパリン1.5万単位/日(10日間)を開始し、第18病日より慢性期の治療として、ワーファリンの内服に変更した。症状は入院後約10日で消失し、炎症所見も入院後直ちに改善した。退院後もワーファリンの内服を

継続し、半年後エコー、CT、静脈造影でも血栓は消失していた。

[考察]

筋ジストロフィーでは筋崩壊に関連して若年から、凝固線溶系の異常が存在している。そして病像の進行に伴って、運動機能が悪化して、患児は排泄の困難さから水分摂取を抑制し脱水傾向を生じ、肺梗塞などがおこると考えられる。深部静脈血栓症の三大誘発因子として血流の緩徐化、血液凝固線溶系異常、静脈壁異常が考えらる。この症例は一日の排尿回数は普段から4、5回とやや少なく、日常的に軽度の脱水傾向があるものと考えられた。血液凝固能については、第11病日のデータで、トロンボテスト、HPT、フィブリノーゲン、D-dimerのみ軽度の異常値として認められていたが、ATIII、FDP、TATなどは正常範囲内であり、大きな凝固線溶系の動きはないと思われた。第28病日に測定したプロテインC、プロテインSの減少、ループスアンチコアグラント上昇は4ヵ月後には、ほぼ正常値であり、本症の血栓症との因果関係については不明である。また、血流のうっ滞についてこの症例は、約10年間の車椅子生活に加え、腰椎の前弯が強く、股関節拘縮もあった。一般に下肢の深部静脈血栓症は、左側に70から80%と多く、その原因として、左側では下大静脈への流入角が鋭角をなし、右腸骨動脈、S状結腸なが、その前面で交叉するなどの解剖学的な理由が挙げられる。この症例では、右側の股関節拘縮が左側に比べて強く、また右側を下にする姿勢が多かった為、右側に大腿静脈血栓症が生じたと考えた。

[結論]

右大腿静脈血栓症を合併したFSHDについて報告した。この症例では主に、血流のうっ滞が原因で大腿静脈血栓症が生じたと考えた。長期臥床、血流うっ滞が起こりやすい病態では、血栓症に対する注意が必要である。FSHDと血栓症についての報告はこれまでにあまりなかったが、肺、脳、腎など臓器での梗塞との関係も今後、検討していく必要があると考えた。

[参考文献]

- 1) 斎藤佑子ら：筋ジストロフィーの凝固線溶系亢進状態。臨床神経37:374-378,1997
- 2) 橋本和季ら：筋硬直性ジストロフィーにおける凝固線溶系の検討。筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班,平成8~10年度研究報告書 p374,1999
- 3) 川井充ら：Duchenne型ジストロフィー患者の尿量。同上 p470,1999

Duchenne 型筋ジストロフィーの ステロイド療法

分担研究者 大澤真木子 (東京女子医科大学小児科)

共同研究者 炭田澤子、宍倉啓子、鈴木暘子、
平山義人、斎藤加代子 (同大学小児科)

[緒言]

我々は、プレドニン投与により運動機能所要時間短縮などの短期効果が見られることを報告してきたが、投与期間はすでに2-3年以上におよんだ。今回これらの例の機能障害度の推移について若干の見解を得たので報告する。

[対象および方法]

プレドニンは機能低下が明らかになった時に投与開始した。対象は16例で、投与開始時歩行可能13例、不能3例であった。歩行可能例中、階段昇降可能期(II)10例、椅子からの起立可能(III)1例、歩行可能(IV)2例、歩行不能例は四つ這い不能(VI)2例、いざり不能(VII)1例であった。開始時年齢は7歳から15歳、投与量は0.32-1.01mg/Kgの隔日投与で、投与期間は予防接種などによる一時中止期間を除いて11ヶ月から最長47ヶ月、3年11ヶ月となった。

[結果]

投与開始時機能障害度II、階段昇降可能例の各年齢通過時の機能障害度を検討した。9歳時7例全例階段昇降可能、10歳通過時、8例中1例階段昇降不能となり、1例で椅子からの起立不能、11歳通過時7例中3例42.8%が歩行不能、12歳通過4例では75%で歩行不能となった。自然経過の比較対象として畑野の報告(1981)では11歳通過時60%が歩行不能であり、我々の症例42.8%はこれより少なかった。

投与開始時機能障害度別に歩行不能年齢を検討した。機能障害度IIで開始した症例の歩行不能年齢は10歳4ヶ月から12歳1ヶ月にわたり、平均11.2歳で、班会議報告自然経過対象の10.5歳と比較し、延長が見られた。機能障害度III、IVで投与開始した症例については、歩行不能年齢の延長は見られなかった。

投与開始時機能障害度別に運動機能喪失年齢を検討した。開始時機能障害度II症例の階段昇降不能年齢は9歳6ヶ月から11歳7ヶ月にわたり、平均10.6歳、椅子からの起立不能年齢は9歳6ヶ月から12歳で、平均10.8歳、歩行不能年齢の平均11.2歳であった。四つ這い不能の経過まで追えたのは、1例のみであったが、11歳6ヶ月で歩行不能後12歳5ヶ月で四つ這い不能となり、班会議報告対象例の平均四つ這い不能年齢12.8歳を越えなかった。開

始時機能障害度III、IV症例は歩行不能、四つ這い不能年齢ともに対象平均年齢を下回っていた。

ステロイドの平均通過期間を上田の報告(1983)と比較した。椅子からの起立可能期(III)および歩行可能期(IV)通過期間は、上田の対象例では 6.4 ± 3.8 ヶ月で、我々のプレドニン投与例では2ヶ月から14ヶ月にわたり対象と変わらなかった。四つ這い可能(V)期の通過期間は上田の報告では 17.1 ± 7.4 ヶ月であったが、機能障害度IVでプレドニン開始した2例は四つ這い期間が平均よりやや長めであった。

プレドニン開始時階段昇降可能例の、投与開始時年齢と歩行不能年齢を検討した。負の相関は見られず、投与開始が早いほど進展過程を遅らせるとは言えなかった。

投与量と階段昇降不能年齢の関係をみると、正の相関はなく、今回の投与量の間では必ずしも投与量が多いほど進展過程を遅らせるとは言えなかった。投与量と歩行不能年齢についても同じ結果であった。

歩行不能後にプレドニン開始した症例は3例であった。四つ這い不能期開始2例では、寝返り時間の短縮、一過性起坐可能の効果が得られ、坐位保持可能期開始例では坐位保持安定などの残存筋への効果と思われる改善が見られた。

副作用では、体重増加が10/16例に認められた。コレステロール上昇は4/16例に見られ、1例はメバロチン投与したが、他は一過性であった。長期投与1例に多毛が見られたが、重篤な副作用は認められなかった。

[考察]

自然経過での平均歩行能力喪失年齢は、以前の班会議報告例で10.5歳であり、今回我々の症例では11.2歳と、海外に比し少ない投与量でも歩行可能期間の延長が得られた。機能障害度がすすんだIII、IVで開始した例では歩行可能期間の延長は得られず、歩行可能期間延長という目的では下肢機能低下がすすんでない時期に開始するのが良いと思われた。しかし機能障害度がすすんだ例でも、四つ這い期間の延長が得られ、歩行不能後開始例でも残存筋に対する効果が得られており、プレドニンを試みる価値はあると思われた。

我々はこれまで0.5mg/Kgの隔日投与を基準としてきたが、海外では0.75mg/Kg月初め10日間投与が検討されている。今後は0.75mg/Kg/d 10日間投与、その後10日間薬剤なしのプロトコルで検討されるという(私言)。体重増加などの副作用を軽減し、より良い効果を得るための至適投与量、投与法の再検討が課題となる。

アデノウイルスベクターを用いたヒト線維芽細胞への MyoD 遺伝子導入と筋疾患の遺伝子診断への応用

班員：三池輝久（熊本大学医学部発達小児科）
共同研究者：藤井績、池沢誠、松倉誠（同上）
鈴木聡、島田隆（日本医科大学・第二生化学）

【緒言】 MyoD は bHLH 構造をもつ転写因子であり筋特異的遺伝子群の転写誘導を行うとともに中胚葉多能性細胞において強制発現させるとこれらを筋細胞へと分化誘導することが知られている。我々は、培養ヒト線維芽細胞にたいしてアデノウイルスベクターを用いて MyoD 遺伝子の導入を行い、筋管細胞への分化誘導を試みた。さらに、この方法で得られた筋管細胞を用いた遺伝性筋疾患への診断応用への可能性について検討した。

【方法】 ①MyoD 遺伝子を組み込んだ組み換えアデノウイルスベクター (Ad.CAG MyoD) を作成した。②培養正常ヒト線維芽細胞にたいして Ad.CAGMyoD を導入し導入細胞の形態学的観察を行い、筋特異的タンパクの発現をウエスタンブロット法、免疫染色法をもちいて系時的に検討した。③デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 患者の培養線維芽細胞にたいして同様の検討を行った。

【結果】 培養正常ヒト線維芽細胞にたいして Ad.CAGMyoD を導入したところ、ベクターの量依存性に導入細胞内に MyoD タンパクの発現が確認できた。Ad.CAGMyoD の導入後、24 時間目から 72 時間目にかけて

MyoD タンパクの発現がみられ、3 日目より導入細胞の筋管細胞への形態学的変化が観察された。導入細胞におけるデスミンタンパクの発現をウエスタンブロット法をもちいて経時的に調べたところ、3 日目より発現がみられ、発現は次第に増強した。免疫染色では最終的に導入細胞の 50% ほどの細胞がデスミン陽性であった。また、ジストロフィンタンパクの発現は 14 日目よりみられ 21 日目にはさらに増強した。DMD 患者の培養線維芽細胞も Ad.CAGMyoD の導入により、正常細胞と同様の形態学的変化を示した。しかし、ウエスタンブロット法による検討ではデスミンの発現は認めるものの、正常細胞ではみられたジストロフィンの発現は認められなかった。免疫染色でも正常細胞のみがジストロフィン陽性であった。

【考察】 Ad.CAGMyoD の導入により、培養線維芽細胞を筋管細胞へと分化誘導することが可能であった。また、Ad.CAGMyoD が行う分化誘導は高率であり、筋特異的タンパクの発現についてもタンパクレベルで検討が可能であった。線維芽細胞は初代培養および継代培養が比較的容易であり、長期の凍結保存および融解利用が可能である。したがって、本法は、たとえば線維化が進み、筋組織から遺伝情報を得ることが困難となってしまった遺伝性筋疾患症例などにたいする診断的アプローチとして応用可能であると思われた。

【参考文献】

- 1) Lattanzi L, et al.: J. Clin. Invest. 101(10): 2119-2128, 1998

筋ジストロフィー神経血管説を支持する研究
分担研究者 三池輝久
熊本大学医学部小児発達学

「始めに」

ジストロフィンが発見されて既に十数年が経過している。しかしその生理的な機能は依然として不明である。この蛋白の生理機能の解明は臨床的な治療に欠かせない情報である事は間違いない。殊に遺伝子治療がまだまだ多くの難問を抱えている現状では臨床的な治療がなくてはならないものである。近年、全身の血管機能への関心も出始めており1970年代当初から強く支持されてきた「膜説」と並んで再検討を必要とするに至っている。そこで私たちはこれまでに行った研究を紹介し今後の研究の参考にしていただければ幸いと考える。

「DMD筋崩壊の機構」

古くより三つの原因説が討議されてきた。1940年代の呉、沖中らの自律神経異常説、Duchenne自身は血管異常説であったが、1967年EngelらがDMD初期の筋病理でグループ単位の壊死再生を観察し微小循環障害を考えた。1975年Mokriらは筋細胞の形質膜に脆弱性があると主張し膜説が生まれた。

「血管説の再検討」

結果として「膜説」が有力となり筋崩壊の機構は全て膜説で説明されるようになった。しかし私たちはこの膜説の基盤となるOpaque fiber (OF) が人工産物である可能性が高いことを指摘した。¹⁾そして1歳前のDMD preclinical stageにおいては、むしろ数十本の筋繊維が同時に崩壊を起こしており再生もまたほぼ同じ数が時期を同じくして起こることを報告した。²⁾この時期においてはOFはほとんど目立たないのである。これは嘗てEngelが記載した所見を裏付けるものでありDMD preclinical stageにおいて筋線維壊死はグループをなして起こることが示唆された。この所見を背景として微小循環障害の存在を再検討したところDNDpreclinical stageの生検筋においては血管内皮細胞の水腫様膨化を認め血小板の付着、凝集、毛細血管の基底膜の多層化を認め筋組織における血管組織が何ら

かの損傷を受けていることを報告した。³⁾形態測定学的研究では毛細血管面積、血管内皮細胞面積、周細胞面積がコントロールに比して著明に大きいことを観察した。³⁾またヒトのnerve growth factor receptor(NGFR)を用いた免疫組織化学的検討でDMD血管の外膜周囲に強い反応が観察されコントロールではほとんど活性を認めなかった。⁴⁾これらの所見はDMDの血管に機質的あるいは機能的な異常が存在することを強く示唆するものである。

「dyと血管機能」

DMDでジストロフィン(dy)が欠損している事が1987年に報告され私たちの研究もdyの局在部位とその機能の解明に向けられた。勿論dyは横紋筋線維の形質膜に存在することがいち早く報告されたがその他に血管や気管の平滑筋膜⁵⁾、目の網膜⁶⁾を含めた様々なシナプスにdyが存在しており⁷⁾単なる膜の強化作用を司ると言うより刺激の伝導系に関わる機能を持った蛋白である事が推察される所見である。⁸⁾心臓や血管の筋細胞の収縮に関しては電気的な刺激が細胞の膜を通して膜から膜への伝導が主体となる。dyの欠損が特に運動時において血管平滑筋の十分な機能を生み出されない可能性を考えるとほぼ全てのDMDにおける臨床像と組織像の説明が可能になるのである。最近DMDの剖検所見の中で血管の梗塞巣が多発しており古いものと新しいものが混在していることが明らかになり更に血液の凝固系の更新が年齢を問わず認められることが分かってきた。

「結語」

微妙な神経伝達の役割を持つdyの欠損により最も影響を受けやすい血管平滑筋の活動が低下し血流保じが出来ず筋組織に酸欠状態をもたらすことが筋崩壊につながると考えられる。⁷⁾

1. 三池輝久, 熊本医学会誌 61:63-79, 1987.
2. Miike, et al. Muscle Nerve 6:545-552, 1983.
3. Miike et al. J Neurol Sci 82:67-80, 1987.
4. Zhao, et al. Neuromuscular Disord 1:135-141, 1991.
5. Miyatake et al. J Neurol Sci 93:11-17, 1989.
6. Zhao et al. Brain Dev 13:135-137, 1991.
7. Miike et al. Brain Dev 11:344-346, 1989.
8. Miyatake et al. Muscle Nerve 14:113-119, 1991.

正常およびDuchenne型筋ジストロフィー由来培養筋細胞におけるジストロフィンmRNA発現に対するメチルプレドニゾロンの効果

分担研究者：石川 幸辰¹⁾

共同研究者：石川 悠加¹⁾、佐藤圭右^{1), 2)}

南 良二¹⁾

国立療養所八雲病院小児科¹⁾

大分医科大学小児科²⁾

緒言

1989年、Mendellらは、少量のステロイド投与でDuchenne muscular dystrophy (以下、DMD)の運動機能低下を一過性ではあるが軽減すると報告し、以後、少量ステロイド投与の有効性が報告されている。私共は、今回、生検筋に代わりDMDの遺伝子解析に充分量の筋管細胞を得ることと、さらに、DMDに対するステロイドの分子レベルでの作用機序を探る目的で、ヒト正常およびDMD由来培養筋細胞におけるジストロフィンmRNA発現に対するメチルプレドニゾロンの効果について検討した。

対象と方法

手術時に得られた正常腹直筋 (成人女性)、診断目的で得られたDMD生検筋を用いた。Blauらの方法に準じ、GMとして Ham F-10/2% chicken embryo extract/20% FCS、FMとして DME/2% horse serum を用い、35mmゼラチンコートシャーレで培養した。Myoblastsが80%以上になった時点で、mediumをGMよりFMに変更した。一方にメチルプレドニゾロンを1 μ Mの濃度で添加して培養した。培養はduplicateで行なった。Cell pelletsよりtotal RNAを抽出し、primer 3A/3B、3C/3D でRT-nested PCR (exon 31-38, 1091 bp)を行なった。内部標準として、ハウスキーピングgeneである β -Glucuronidase (302bp)を増幅した。増幅されたPCR産物は、DyNA Quant 200 Fluorometerで定量し、Dystrophin/ β -Glucuronidase比を求め、相対的なジストロフィンmRNA発現をFMに変更して培養後、1、2、3週で比較した。

結果

Dystrophinは、fusion mediumに変更し培養後、2週で遺伝子解析に充分量のcDNAが得られた。正常コントロールでは、培養3週で、すでにmyotubeの

死滅、脱落がおこるが、メチルプレドニゾロン添加では、cell deathは認められなかった。Dystrophin/ β -Glucuronidase比で表した相対的なジストロフィンmRNA発現は、メチルプレドニゾロン添加すると、無添加と比較し正常筋では1.6~4.8倍にエンハンスされた。この結果は、過去に報告されたメチルプレドニゾロンによるジストロフィン蛋白レベルでのエンハンス効果が、分子レベルでは、メチルプレドニゾロンにより選択的にジストロフィンmRNA発現がエンハンスされたことによることが証明された。一方、DMD由来培養筋細胞は、正常コントロールと比べ、細胞の脱落が起こりやすく、形態的に核が大きく、扁平で不定形の筋管細胞が形成された。メチルプレドニゾロンを添加した培養筋細胞は、融合が無添加より遅く、細胞の密度が少ないことより、増殖は無添加より遅い印象があった。DMD筋では、正常コントロールで認められるメチルプレドニゾロンのエンハンス効果は認められず、逆に、抑制されていた。DMD筋でのDystrophin mRNA相対量は、正常筋と比較して3.7~18%と減少しており、メチルプレドニゾロン添加の方でコントロールのエンハンス効果のためその減少が著しかった(3.7~4.3%)。

考案

培養筋細胞におけるジストロフィンの発現について、過去に、Levらは、正常培養筋細胞では、14kbのジストロフィンmRNA転写産物が、myotubeの段階で発現すると報告した。Sklarらは、メチルプレドニゾロン添加するとmyotubeの分化段階での死滅や脱落を減らすことにより、ジストロフィン蛋白レベルが上昇すると報告し、さらに、Hardimanらは、正常コントロールと異なり、DMD由来の培養細胞では、メチルプレドニゾロンがmyoblastの融合を抑制するが、正常およびBMDでは、メチルプレドニゾロン添加により選択的にジストロフィン蛋白の発現がエンハンスされると報告した。

今回の結果は、最近、報告されている少量のステロイド投与がDMDの運動機能低下を軽減するという臨床的効果の機序として、ジストロフィンmRNAのエンハンス効果は関与していないことを示唆する。但し、BMDでは、メチルプレドニゾロン添加により選択的にジストロフィン蛋白の発現がエンハンスされたとした報告より、生検筋で残存するreading-frameの復元された"revertant fibers" (ジストロフィン陽性線維) に対してはこのエンハンス効果が作用する可能性は考慮される。

Duchenne型筋ジストロフィーにおける左室壁運動異常について —心エコー図法による検討—

分担研究者：石川 幸辰¹⁾

共同研究者：尾形仁子²⁾、石川 悠加¹⁾

佐藤圭右^{1),3)}、南 良二¹⁾

国立療養所八雲病院小児科¹⁾

札幌社会保険総合病院内科²⁾

大分医科大学小児科³⁾

緒言

拡張型心筋症（以下、DCM）ではび慢性に収縮異常が起こるのが一般的である。Duchenne型筋ジストロフィー（以下、DMD）ではDCM様の心筋病変を高率に合併する。我々はDMDでは心エコー図検査（以下、UCG）を必須の検査としているが、DCMと比較して局所の壁運動異常をより強く認める例を経験してきた。DCMでも時に局所において高度の収縮異常が出現する場合があるが、DMDではその出現頻度や程度はDCMより著しいようである。このことはDMDに特徴的なUCG所見のひとつにあげられるのではないかと考え、今回、DMDのUCG所見を左室壁運動異常を中心に検討した。

対象と方法

DMD27例（平均年齢21±5歳）でUCGを施行した。13例（48%）は心不全の薬物療法を受けていた。うち12例（44%）はβブロッカーを内服していた。UCGおよびカラーキネーシス解析は、ヒューレッ

トパッカー社製 SONOS 5500およびカラーキネーシス解析ソフトを用いて行なった。

結果

LVDd 50±7 mm、%FS 20±8%、LVEF 40±16%、左室長軸像で18例（67%）に僧帽弁下部の左室後壁のこぶ様の突出がみられた。壁運動を認めた部位は下壁11例、下壁及び前壁中隔4例、下壁及び側壁2例、側壁1例であるが、左室断面により異常部位が微妙に異なる例も多く、壁運動異常の記載は困難であった。治療例では全体的な心機能指標が同程度でもび慢性の壁運動低下を示す傾向にあり、局所壁運動が目立たないようである。UCGのカラーキネーシスを施行して症例では、後下壁の壁異常運動が、拡張遅延として明瞭に確認された。

考案

DMDでは後下壁の壁異常運動を示す例が多く認められた。特に左室長軸像で認められる左室後壁のこぶ様の突出はDCMでは認め難く、本症における心病変の特徴の一つと思われた。左室壁運動異常は虚血性心疾患との鑑別が必要であるが、若年であることや、冠動脈の血流支配領域とも一致しないため、否定的である。また、DCMに比して多彩な壁運動異常を示す例がみられ肉眼的な評価が困難な場合もあり、今後、UCGのカラーキネーシス、心臓核医学検査等も含めた壁運動の客観的評価法を考慮する必要があると思われる。また、局所壁運動異常の改善が治療効果と関連があるのか否かについても今後検討していく予定である。

Immuno-PCR法によるDuchenne型筋ジストロフィー患者の血清TNF α 測定の意義

分担研究者：石川幸辰

(国立療養所八雲病院小児科)

共同研究署：矢嶋知己、斉藤香保里、小林大介

佐々木正照、荒明 洋

八木橋厚仁、渡辺直樹

(札幌医科大学附属病院検査部)

南 良二

(国立療養所八雲病院小児科)

緒 言

TNF α は単球・マクロファージに由来する抗腫瘍性サイトカインとして固定されたが、腫瘍細胞のみならず正常細胞に対しても多彩な生理活性を有することが、明らかとなってきた。これまで我々は、Immuno-PCR法によるTNF α の高感度測定法を確立し、従来のELISA法に比べ約5万倍の感度上昇が可能なることを報告してきた。そこで今回、本法を用いてこれまで検出不能であった、健常者およびDuchenne型筋ジストロフィー患者における血清TNF α 濃度の測定を試みたので報告する。

対象および方法

1) 対象：国立療養所八雲病院入所中のDuchenne型筋ジストロフィー (DMD) 患者66名、正常者として健康診断検体54名を対象とした。
2) Immuno-PCR法：TopYield Stripsに固相化した抗TNF α モノクローナル抗体と試料を反応させた後、2次抗体として抗TNF α ポリクローナル抗体を添加した。さらに、ビオチン標識抗ウサギIgG抗体 (3次抗体) と反応後、ビオチン化DNA (Reporter DNA) をアビジンを介して結合させた。Reporter DNAは、その内側にプライマーを設定し、PCR法で増幅後、定量した。

結 果

1) Immuno-PCRの検出感度

Immuno-PCR法とELISA法との検出感度を比較検討した。比較対照法として用いたELISA法の測定下限が50pg/mlであったのに対し、Immuno-PCR法では0.001 pg/mlまでバンドが検出され、約5万倍の感度上昇が確認された。

2) Immuno-PCR法による血清TNF α 濃度の基準範囲

健常者血清54名を対象とし、Immuno-PCR法で血清TNF α 濃度の測定を行った。その結果、健常者の基準範囲は、 0.027 ± 0.054 pg/mlであった。また、男性は、 0.021 ± 0.044 pg/ml、女性は 0.033 ± 0.065 pg/mlと男女差を認めなかった。

3) DMD患者における血清TNF α 濃度の検討

DMD患者66名を対象とし、血清TNF α 濃度を測定したところ、 65.2 ± 277.3 pg/mlと健常者に比べ著明な高値を示した。しかし、66名中従来ELISA法で測定可能であったのは、8名 (12.1%) にすぎなかった。

4) 血清TNF α 濃度と患者年齢との関係

DMD患者を20才未満と20才以上の2群にわけ、平均TNF α 濃度を比較検討した。その結果、20才以上の群では12.9pg/mlであったのに対し、20才未満では128.4pg/mlと約10倍の高値を示した。

5) 血清TNF α 濃度とCKおよびMb濃度との相関

血清TNF α 濃度とCKおよびMb濃度との関係を調べたところ、相関係数はそれぞれ $r=0.132$ 、 $r=0.256$ と有意な相関性はみられなかった。

考 察

我々は、Immuno-PCR法を用いてDMD患者の血清TNF α 濃度を測定し、健常人に比べ有意に高値を示すことをはじめて明らかにした。さらに、20才未満の群における平均TNF α 濃度が、20才以上に比べ約10倍の高値を示したことから、TNF α がDMDの病態形成に密接に関与していることが示唆された。しかし、血清TNF α 濃度とCKおよびMb濃度との間には必ずしも相関関係が無いことから、DMDにおける血清TNF α 濃度の上昇は単に筋崩壊の結果とは考えられなかった。すなわち、Immuno-PCR法によるTNF α の高感度測定法を確立したことにより、DMDの病態形成においてTNF α がこれまで知られていない重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

参考文献

Saito K, Kobayashi D, Sasaki M, Araake H, Kida T, Yagihashi A, Yajima T, Kameshima H, Watanabe N. Detection of human serum tumor necrosis factor-alpha in healthy donors, using a highly sensitive immuno-PCR assay. Clin Chem 1999; 45:665-9.

Duchenne 型筋ジストロフィーの下肢手術

-第2報-

---Glorian-Rideau 変法の6例---

青森労災病院 整形外科

山田史朗

国立療養所 岩木病院 整形外科

岩谷道生 横山隆文

弘前大学 整形外科

原田征行

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー（以下 DMD）は、進行性の筋疾患で筋力低下だけでなく関節の拘縮、立位バランスの障害等により、10 歳前後で歩行困難となる。我々は、歩行能力維持と拘縮の改善を目的に、Rideau が報告している腸脛靭帯（以下 ITB）切除を中心とした下肢手術を本邦では最初に行った。平成 10 年度の報告に加え症例数、経過観察期間が増えたので追加報告する。

対象および方法

症例は前回に 3 例加え DMD 男児 6 例となった。手術時年齢は 6 歳 1 カ月から 9 歳 3 カ月で、術後経過観察期間は 2 ヶ月から 1 年 9 ヶ月である。術前の機能障害度（厚生省の筋ジストロフィー研究班）は stage I が 2 例、stage II が 2 例、stage IV が 2 例であった。

股関節の屈曲外転拘縮の評価として dangling leg test を用いた。この方法はベッド上に仰臥位として膝から下を垂らして、膝をつけるように内転させて膝を自動的に伸展させるときに膝が離れないものを正常とする。

手術法は原法は 4 カ所の切離であるが、我々は Hip flexion contracture release、lateral thigh contracture release のみとしている。最近の 2 例では皮切を 2 つに分けて美容上問題を少なくしている。手術後療法はギプス固定や特別な装具を使わず、翌日から全荷重での立位訓練、2 日目から歩行訓練を開始し問題は生じていな

い。

結果

術直後には 6 例とも stage の悪化は認めず、歩行は術後 2 日目で可能となった。経過観察期間が 1 年以上となった 4 例では 1 年後での stage の進行は認められず歩行可能期間の延長という効果が得られていると考えている。短期的では運動機能の改善が全例に認められ、保護者からも明らかに手術の効果を評価していただいている。

考察および結論

本法は Rideau が報告して以来欧州では長期の報告もなされている。我々の結果からも Stage IV から stage V への移行期間が平均 8 カ月であることを考えると、この期間を延長して Stage の進行を認めなかったこと、運動機能が短期間にせよ改善された症例もあることから下肢機能の維持には有効であった。また術中所見から ITB の緊張による外側広筋の内圧の上昇が認められ筋肉の除圧ができたと考えられている。1 日でも長く歩行ができるように、かつ手術のリスクを考えた上で侵襲は最小限で、美容上の問題も最小限で、という観点から現在の方法に落ち着いている。現在のところ歩行時期が延長する事による心筋への影響や生命予後、側弯症の発生などの長期合併症に関する情報はなく、有用性の判断となると今後も長期観察が必要である。

Dechenne 型および先天性筋ジストロフィーに合併した脊柱変形に対する外科的治療に関する研究

国立療養所 岩木病院 整形外科

岩谷 道生

緒言

筋ジストロフィーに合併した脊柱変形は病期が進行するに従い坐位バランス、心肺機能に悪影響を及ぼすとされる。本邦では従来 Duchenne 型の筋ジストロフィーでは装具治療の試みがなされてきたが、治療成績には満足できるものではなかった。近年、欧米を中心に手術及び麻酔技術の向上を背景に手術治療の報告が多くなっている。

方法

今回、脊柱変形を伴った先天性筋ジストロフィーの1例に対して、脊柱固定術を行い良好な成績が得られたので文献的考察を加えて報告する。

結果

症例呈示

患者は9歳男子、普通学級に通学している。周産期に特に異常なく、生後1年筋生検にて先天性筋ジストロフィー症と診断された。1歳時より岩木病院で外来経過観察されていた。4歳時より次第に進行する側彎と胸椎部での前弯が進行し brace 治療を試みたが、夜間呼吸不全が出現、鼻マスクによる人工呼吸器による補助呼吸を開始した。側彎は術前坐位で78°、後弯は6°となり坐位保持が困難となり、CTにて上位胸椎部での気管の扁平化を認めた。今回 T1 から L4 までの脊椎後方固定術、同種骨移植術を行った。術後側彎は34°に上位胸椎部での後弯は19°に改善、合併症はなく、装具なしで退院した。術後9ヶ月で、坐位保持と電動車椅子の運転が容易となり本人の満足度は高い。夜間の呼吸管理は継続しているが画像上気管の狭窄は改善している。

考察

従来筋ジストロフィーという生命予後の短いとされる疾患に対しては外科的治療の適応は狭いものであった。

しかし、呼吸管理と心不全の管理の進歩によって筋ジストロフィー患者の生命予後は飛躍的にのびている現在、QOL を高めるために手術治療の選択が考慮されるようになった。筋ジストロフィー患者に合併した脊柱変形に対する手術の目的は心肺機能低下の防止、坐位バランスの獲得に加え、上位胸椎の前弯の進行による気管の扁平化の防止が重要である。それは気道確保が緊急時にできないなど、将来的に生命予後に影響を与えるものであり、今回の手術がその進行を防止できたか、慎重に今後も経過観察していかねばならない。

手術治療を実現してきた要因は手術技術の進歩、麻酔の進歩、Risk management の進歩、輸血の進歩が大きい。

但し、手術の方法および範囲については検討の余地が残されている。根治性を高めようとするとも侵襲が大きくなり risk は増大するので、手術による benefit の面を含み個々の症例で検討されるべきと考えられる。

手術時期に関しては、進行の予測が可能であればなるべく早期に行われるのがよい。Cobb 角 30 度以下の段階での手術は比較的容易であり、結果として侵襲が小さくなる。残念ながら現段階では、進行を正確に予測できないこと、またある程度変形が進行しなければ、手術の同意が得られにくいことから 60 度程度で踏み切ることが多いと考えられる。

今後の課題は脊柱変形の評価法の標準化と全国的な横断的に加え、縦断的調査を行い、現状把握し進行予測を確立することである。また、脊椎外科医、特に脊柱変形の手術を専門的に行っている施設との連携を深め、手術による恩恵を筋ジストロフィー患者に提供できるように啓蒙していくことも必要となる。

筋ジストロフィーにおける血栓形成機序 — 第3報 —

分担研究者 木村 康徳 (国立療養所道川病院)
研究協力者 佐々木 義憲、斎藤 浩太郎 (同)

はじめに

「足は第2の心臓」と呼ばれるように、下肢の筋肉の収縮は下肢の静脈血を体上部へと押し上げるのに重要な働きをしている。筋ジストロフィーでは、筋萎縮のためこの筋肉によるポンプ作用が働かず、下肢を下垂した場合静脈血の還流が阻害され、うっ滞を招いていると考えられる。また、長時間の膝関節での屈曲姿勢が血栓症をひきおこすことは、狭い椅子でのフライト時の「エコミクス・シット・ロム」として知られている。筋ジストロフィーではしばしば足から下腿にかけての浮腫や腫脹を認めるが、長時間の同一肢位での車椅子乗車もまた、下肢の静脈血流のうっ滞をひきおこしている要因と考えられる。

筋ジストロフィーにおいて、肺梗塞などの血栓症の合併頻度が高いこと、凝固検査異常の存在することが報告されている。今回は、このような下肢の血流うっ滞が下肢の深部静脈血栓、ひいては肺梗塞・凝固検査異常の原因になっているのではないかと考え、筋ジストロフィー患者にみられる下腿の浮腫や腫脹を下肢の血流うっ滞の指標とし、患者を下腿腫脹のある群とない群の2群に分け、血栓症のマーカとなる種々の凝固・線溶因子の比較検討をおこなった。

方法

対象：下腿浮腫のある筋ジストロフィー患者5例(肢体型2例、筋強直性3例)、下腿浮腫のない筋ジストロフィー患者5例(肢体型2例、筋強直性3例)。
血栓症マーカー：TAT・Tissue factor (凝固系活性化マーカー)、D-dimer (線溶系活性化マーカー)、PAI-1 (線溶系抑制マーカー)、Thrombomodulin・von Willebrand factor (血管内皮細胞障害マーカー)、Antithrombin III・Protein C・Protein S・Fibrinogen・凝固因子II・V・VII・VIII・X、プロトロンビン時間・aPTT・トロンボテスト。

結果

主な血栓症マーカーの結果を、表1に示す。下腿に浮腫のある群では、D-dimerは5%の有意差で、TATは10%で、浮腫のない群より有意に高値を示した。他のマーカーは、有意差を認めなかった。

考案

筋ジストロフィー患者での血栓症発症の機序として、①下肢筋萎縮に伴う下肢静脈血の還流力の低下による血流のうっ滞、②長時間の座位姿勢による下肢静脈血流のうっ滞、③心拍出量の低下(肺血栓が肺梗塞に伸展しやすい)、④低酸素血症による内皮障害、⑤筋組織破壊による組織トロンボプラスチンの物質の血中流入、⑥水分制限にともなう血液粘度の亢進、などの要因が考えられる。今回は筋ジストロフィー患者の下腿浮腫の有無に注目し、上記①②の要因の下肢深部静脈血栓発症への関与について検討をおこなった。

まとめ

- 筋ジストロフィー患者にみられる下腿の浮腫・腫脹を下肢の血流うっ滞の指標とし、下腿浮腫の有無で群分けし、血栓症のマーカーである種々の凝固・線溶因子の比較検討をおこなった。
- 下腿浮腫のない群に比べ、下腿浮腫のある群でD-dimerおよびTATが高値を示した。
- 筋ジストロフィーでは、筋萎縮のため下肢の静脈血還流が障害されており、血流がうっ滞しやすくなっている。これが長時間の座位保持などの他の要因と重なって、深部静脈血栓、ひいては肺梗塞・凝固検査異常の原因になっていると考えられた。

参考文献

- 石原傳幸 他：Duchenne/Becker型筋ジストロフィー出血性肺梗塞、診断と治療 85:1264-1266, 1997
- 由谷親夫：肺血栓塞栓症の病因。肺血栓塞栓症の臨床(国枝武義編), 医学書院, 東京, p22-25, 1999
- 大谷秀雄 他：肺血栓塞栓症の臨床検査。肺血栓塞栓症の臨床(国枝武義編), 医学書院, p42-47, 1999

表1	血栓症マーカー	浮腫なし	浮腫あり	単位	p値
	D-dimer	59.4±17.9	204.0±137.0	ng/ml	0.047
	TAT	1.5±0.44	3.16±1.6	ng/ml	0.056
	vWF活性	101.0±32.2	135.0±38.0	%	0.161
	PAI-1	22.6±2.5	42.0±29.3	ng/ml	0.178
	tissue factor	269±69.8	317.0±75.0	pg/ml	0.322
	AT-III	110.0±17.8	99.8±17.5	%	0.396
	thrombomodulin	3.12±1.1	2.86±0.61	FU/ml	0.657

筋ジストロフィーの遺伝子診断・遺伝相談の実際及び 脊柱側弯症矯正術など合併症治療法の検討(1)

研究分担者 中井博史：
国立療養所西多賀病院・小児科
研究協力者 山崎 伸：同 整形外科
小原ひさ子、佐藤恵美子：
同 臨床検査科

はじめに

平成11年度は上記の課題のもと、

- 1) シーケンス検出システムによって確認されたジストロフィン・エクソン52の欠失と定量的解析の特徴
- 2) 遺伝相談の実際とその問題点：遺伝相談における遺伝子診断実施の許容範囲—事例分析
- 3) DMD scoliosisに対する一期的後方矯正固定術の短期成績の検討を行なった。

1) シーケンス検出システムでの遺伝子診断条件の検討

〔目的〕 Duchenne型筋ジストロフィーの患者血液からのDNAにPCR産物の定量解析を行い反応条件の改善をした。

〔方法〕 今回、Duchenne型及びBecker型の患者DNAを鋳型として用いた。プライマーとしてはChamberlainら及び、Beggsらの報告したオリゴヌクレオチドを使用。定量解析の為のシーケンス検出システムはParkin-Elmar社のプリズム7700を使用し蛍光指示薬としてサイバー・グリーン(SYBR)を用いた。

〔結果〕 反応条件は1反応チューブあたりDNA20ngで、エクソン52に患者DNAと対照DNAの間にバンドの明瞭な差異を認め、プライマー濃度は25mM-0.8mclが最適の条件と決定(最適化)できた。

エクソン52に関しては増幅される部分が113bpと分子が小さいためマルチプレックスPCRのバンドが他のものよりも現れ難く、判定が不明瞭になる事がある。

このような時には、そのプライマー濃度を少し他よりも多めにすると明瞭化した。また、鋳型DNAが多すぎてPCRが抑制される時は反応液のMg濃度を高めにする事で結果が安定することが示唆された。

〔考察〕 今回の検討によって遺伝子検査の能率が改善した。また鋳型DNAの量的差異を伺い知る事も可能であった。これらのことから、mRNAの定量など遺伝情報の発現量の検討にも応用可能であろう。今後、更に例数を重ね、遺伝子診断法の工夫をしていきたい。

2) 遺伝相談における遺伝子診断実施の許容範囲

〔目的〕 遺伝子診断の持つ利点と問題点を事例を通して検討し、適切な遺伝相談のあり方を解明する。

〔方法〕 実際に遺伝子診断法を院外メンバーを加えた倫理委員会で論議し、相談で困った事例を本班の遺伝相談研究グループで医学以外の各専門家を交え検討した。

〔結果〕 同意書の必要性は倫理委員会でも確認された。結果はカルテに貼るという大方の意見と、貼って欲しくないと言う患者のいる事が明らかになった。一方、出生前診断に利用する為の急な検査要請には応えられない事があり患者の同意が得られ難い時もあった。病気の診断を目的に実施しておく事が求められる。一方Becker型など、軽症例では選択的流産等に倫理上の問題が残る。

〔考察〕 いつも来談者の意向が第一義と言うわけではない。国民の多くがより良い介助と共生を求める現代社会ではフレキシブルな考え方で行く必要がある。主治医と患者や養育者との信頼関係が最も重要で、これを困難にし得る時は他職種の協力で広く検討する必要がある。

3) DMD scoliosisに対する一期的後方矯正固定術

〔対象〕 13歳のDMD児で脊柱側弯のため坐位がとれなくなり矯正術を希望した。一期的後方矯正固定術を実施した例を報告した。本例は3歳でDMDの診断を受け、10歳で車椅子の使用を開始。12歳時に36度の側弯を指摘、バケット型シートを開始していた。(詳細は別途報告参照)

〔術式〕 Luque-Galveston法を実施した。

〔結果〕 術後6カ月で矯正損失、椎弓骨折、instrument failures、神経障害、創感染なく、坐位バランスが著明に改善し、自力坐位保持が可能になった。

〔考察〕 長期的な評価については今後の検討を要する。当面は安全と希望者への実施で症例数や報告を収集し殊に適応のケース判断基準や時期の設定が重要である。

〔結語〕 安全という面からは麻酔時の悪性高熱や術前後の呼吸管理、手術自体の本人や家族への説明もポイントになる。機会があれば更に発表していきたい。

班会議報告

- 1) シーケンス検出システムによって確認されたジストロフィン・エクソン52の欠失と定量的解析の特徴(中井博史、小原ひさ子、佐藤恵美子)
- 2) 遺伝相談の実際とその問題点 遺伝相談における遺伝子診断実施の許容範囲—事例分析(中井博史)
- 3) DMD scoliosisに対する一期的後方矯正固定術の短期成績(山崎 伸ほか)

DMD scoliosisに対する一期的後方矯正固定術の短期成績

山崎 伸, 後藤伸一, 松原吉宏, 石井祐信
国立療養所西多賀病院 整形外科
大村 清, 中井博史 (分担研究者) 同 小児科

【緒言】 Duchenne型筋ジストロフィー症(以下DMD)では, 脊柱側弯が高頻度に出現する. その変形は, 多くの例で歩行が不可能となって車椅子の使用を開始した後に生じ, 著しく進行する. 変形が高度となれば座位バランスが失われて車椅子の使用にすら支障をきたし, ADLが大きく低下する. また, 胸郭の変形とADLの低下による更なる呼吸機能低下が問題となる. 装具療法では胸郭を圧迫するdemeritを無視できず, また, 変形の進行防止を期待し難い. 確実な脊柱変形の改善, 進行防止は手術によってのみ得られる. しかし, 本邦では手術侵襲が大きいこと, 脊柱変形の手術を行える施設が少ないことから手術例の報告は少ない. 本稿では, 高度の側弯と骨盤傾斜を呈した13歳児例の手術経験を報告する.

【症例報告】 症例は3歳でDMDと診断され, 10歳で車椅子の使用を開始した. 12歳時に36度の側弯を指摘され, バケツ型シートの使用を開始した. 当時, 骨盤傾斜は14度であった. その後側弯が急速に進行し, 座位の保持が困難となったため, 13歳時, 手術を希望し当科を受診した.

初診時, 支えなしに座位を保持することができず, 右殿部は座面から離れ, 体幹の前傾が高度であった. また高度の股関節および膝関節の屈曲拘縮が認められた. VC;1.5 l, %VC; 50%で, 軽度の心収縮力低下がみられた. X線像で, T9-L5に左凸80度の側弯があり, 骨盤傾斜が40度であった. 脊髄に異常がなかったが, 脊柱はporoticで, 腰仙部の彎曲は柔軟性に欠けていた.

術式は1.一期的後方進入で, 2. instrumentがlow profileで, 3. 術後の外固定が不要であることを必須条件とし, Luque-Galveston法を選択した. 患者および両親に期待される手術効果, 考えられる合併症を十分説明し, 同意を得た.

後方正中切開でT2-S2,後腸骨稜を展開し, 硬膜外刺激・導出の脊髄モニタリングを設置した. 側弯の矯正, 腰椎前弯, 胸椎後弯が得られるようrodを採型し, これとiliac screwを連結した後, wireを締結して矯正した. 棘突起・椎間関節片を固定範囲に骨移植した. 固定性は極めて良好で, 脊髄モニタリング上, 問題がなかった. 術後X線像で80度の側弯は31度と61%の矯正が得られ, 骨盤傾斜も40度から9度と大きく改善していた. 脊柱バランスも良好であった. 手術時間8時間49分, 術中出血5142mlであった. 術前貯血の他に, 同種照射血を14単位追加した.

術翌日, 血色素量は11.2g/dlであった. 無気肺となり呼吸苦を訴えたが, NIPPVと体位ドレナージで術後2日で治癒した. 術後2日でbed up, 1週で座位, 2週で車椅子移動を開始した.

術後6カ月, 矯正損失, 椎弓骨折, instrument failure, 神経障害, 創感染はなかった. 座位バランスは著明に改善し, 自力で座位保持が可能となった.

【考察】 DMDに限らず, 脊柱変形が高度となれば手術による矯正はより困難となり, 侵襲も増加する. ことにDMD例では, 呼吸機能が経年的に低下し, 脊柱変形の進行も速い. それを看過することは, 手術で得られる改善を少なくするだけでなく, 手術そのものを断念することに繋がる. ADLの低下をできるだけ防ぐ, すなわちQOLを維持するために, 呼吸機能のみならず脊柱変形の有無, 変化を定期的に検査し, 適切な時期に手術に関する情報を患者に提供する必要がある. 同時に, 術中・後の適切な措置, 特に術中出血と術後の呼吸器合併症に十分対応できるよう設備・人員の充実を計ることが求められる.

【結論】 本症例の短期成績は極めて良好で, 大きな手術侵襲に十分値する結果が得られた. 長期間に渡ってこの結果と患者の満足度が維持されるか観察することが必須である.

【参考文献】

Lonstein JE et al; Moe's textbook of scoliosis and other spinal deformities, 3rd ed., Saunders, Philadelphia, 1995.

Duchenne型筋ジストロフィーを伴う 脊柱変形に対し下部腰椎までの後方矯正固定術 を行った2例の意義と問題点

中田好則, 高相晶士, 井上雅俊, 大塚嘉則,
国立療養所千葉東病院整形外科

【緒言】 Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) を伴う脊柱変形は進行性であり、座位バランスや心肺機能にも著しい悪影響をもたらし、早期の手術治療が提唱されている。今回、DMDを伴う脊柱変形2例に対し腰仙移行部を含まない下部腰椎までの後方矯正固定術を行い、その意義と問題点につき検討した。

【対象と結果】 【症例1】 15歳、男性。3歳時にDMDの診断を受け9歳時に歩行不能となり、車椅子移動となった。13歳時に側彎が出現し、14歳時に高度側彎となり当科を受診。座位バランスが悪く、体幹支持に側方マットを当て、さらに両上肢で支えていた。%VCは44.2%、PaO₂は79.2mmHgで軽度低下していた。術前レ線像ではT5-L3間に64°、頂椎L1の右凸側彎と、19°の骨盤傾斜、T7-L5間に61°の後彎が認められた。Paragon SystemにAtlas cableを併用し下部腰椎までの後方矯正固定術を行った。術中、脊柱傍筋は線維化が著しく、ほとんど弾性が認められないため数箇所横切を加えることにより展開可能となった。椎弓が脆弱なためにcantilever操作時にL5の凸側の椎弓骨折が生じ、T2よりL4までの後方固定となった。手術時間は8時間、出血量は2080mlであったが、自己血輸血およびセルセイバーで対処できた。術後、35°の側彎、14°の骨盤傾斜、29°の後彎となったが、その後進行し、術後2年2ヶ月の現在では、骨癒合を認めるもののそれぞれ46°、19°、34°となった。座位バランスでは右肩挙上位となっているが、座位の保持能が改善され、両上肢の機能が著しく向上した。また、車椅子とベッドとの移動介護も著しく改善した。術後の呼吸機能は、%VCが術後9ヶ月で39.0%、術後1年2ヶ月で39.4%、術後1年9ヶ月で36.6%と軽度低下した。【症例2】 14歳、男性。2歳6ヶ月でDMDの診断を受け、10歳時より車椅子移動となった。12歳5ヶ月時に側彎を指摘され、当科を受診した。術前%VCは44.6%でその他はほぼ正常範囲であった。座位での体幹支持に両上肢を必要としており、functional quadriplegiaに近い状態であった。術前レ線像では、T7-L4間に56°頂椎T12の右凸側彎と、17°の骨盤傾斜、T7-L4間に55°の後彎が認められた。牽引レ線像で側彎は21°となり、両腸骨稜とL5とのなす角度は10°と骨盤傾斜の改善の可能性が認められた。手術は後方よりParagon SystemとAtlas cableを用いたT3からL5までの矯正固定術を行った。手術時間は7時間10分、出血量は900mlであった。術後21°の側彎、6°の骨盤傾斜、27°の後彎となった。術後2年3ヶ月の現在それぞれ24°、7°、27°とレ線上はほとんど悪化していない。右肩挙上位の座位バランスは、保持能が改善され、箸を

使った食事摂取が可能となり、家族による移動介助も容易となった。しかし、術後11ヶ月より、頸部の筋力低下のためバランスが崩れ現在頸椎装具が必要となりつつある。術後の呼吸機能は、%VCが術後4ヶ月で46.7%、1年3ヶ月で47.1%となったが、1年8ヶ月では23.5%とかなりの低下を認めてきている。

【考察】 DMDによる脊柱変形の手術目的は、1) 座位保持能の向上により、上肢を使った体幹支持が不要になることによるfunctional quadriplegiaの改善、2) 易介護性、3) 呼吸機能の改善、4) 延命効果などがあるが、後二者に関しては議論のあるところである。今回の2症例では、ともに、1) および2) が獲得でき、親の満足度が著しく高かった。3) に関しては症例1では軽度認められたが症例2では不明である。4) に関しては現在症例数が少なく現在のところ判定はできない。手術法に関しては、骨盤または仙椎までの長範囲固定術を推奨している報告が多く、その成績も安定している。しかし、骨盤までの固定による合併症、すなわち手術時間、出血量の増大、長範囲固定にみられるL5-Sでの偽関節およびそれによるロッド、スクリューの折損、L5-S固定後の前屈、後屈制限によるADL障害が考えられる。この術式に比較して下部腰椎、特にL5までの固定の意義として、1) L5に付着している強靱なiliolumbar ligamentsを介しての骨盤傾斜の改善の可能性、2) 手技的に容易であり、患者および家族に受け入れやすいため多施設で手術が可能である、3) 手術時間、出血量の軽減が考えられる。一方、問題点としては1) 脆弱な椎体、椎弓によるinstrumentation手術におけるスクリューやフックの脱転、2) 骨盤傾斜の改善度や低下や、術後の進行 (特にL4までの固定例)、3) 残存した骨盤傾斜による腰痛の可能性、4) 矢状面バランスの改善度の低下である。今回、術中矯正にてL5の椎弓骨折を起こし、L4までの固定となった症例1では術後に骨盤傾斜が悪化した。また、症例2では術後7°の骨盤傾斜が残存した。しかし、両症例ともに座位保持が著しく改善された。すなわち、術後のレ線像での骨盤傾斜の程度とADL障害との相関性は認められなかった。術中及び術後の合併症として、心肺機能障害、創感染、尿路感染、ロッドの折損及び脱転が高率 (32~61%) であると報告されており、症例1において術中矯正による椎弓骨折が認められた。いずれにせよ、DMDに対する手術は高率な合併症を伴い、家族のコンセンサスが必要である。

【結語】 今回の2例より、症例によってはL5までの固定術にて十分なQOLの改善が得られると考えられた。

【文献】 1) Broom, M.J., et al.: Spinal fusion augmented by Luque-rod segmental instrumentation for neuromuscular scoliosis. J. Bone Joint Surg., 71-A:32-44, 1989.

2) Galasco C.S.B., et al.: Spinal stabilization in muscular dystrophy. J. Bone Joint Surg., 74-B:210-214, 1992.

正中神経二連発刺激法を用いた、強直性筋ジストロフィーにおける感覚野内介在ニューロン機能の分析

分担研究者：清水潤

(国療下志津病院臨床研究部)

共同研究者：○望月仁志 (防衛医大第三内科), 花鳥律子, 古和久朋, 前田仁士, 本吉慶史 (国立療養所下志津病院神経内科)
宇川義一 (東大神経内科)

緒言：強直性筋ジストロフィーでは筋以外に他系統の神経障害が存在することが知られている。電気生理学的検索では、聴覚誘発電位や視覚誘発電位などから中枢神経系の異常が検出されている。しかし、短潜時感覚誘発電位(SEP)の潜時は、多くの強直性筋ジストロフィーでは正常であり、感覚系の中枢神経の異常は指摘できる頻度は低い。今回は正中神経二連発刺激法を用いて大脳感覚野内の介在ニューロン機能を分析を行い、強直性筋ジストロフィー患者の感覚野の異常の有無を検討した。

対象：正常被験者 12 人、強直性筋ジストロフィー患者(MD)12 人 (女性 8 人男性 4 人、22-72 歳)、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー患者(FSH) 5 人とした。

方法：導出は記録電極を左 C3'(10-20 法の C3 の 2cm 後) と Erb 点に置き、不感電極を Fz に置き行い、加算は 500 回-1000 回とした。右手首部の正中神経上に皿電極を置き運動閾値の 1.2 倍の強度で電気刺激をした。同じ強度の刺激を刺激間隔(ISI)10, 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200, 300 ms で二発連続して行った。Erb 点の記録より N9 の onset と peak 間の振幅(N9 onset -N9 peak)、C3 記録より N20-P25 と P25-N33 の振幅を計測した。刺激間隔毎に二発刺激して得られた反応から、単発刺激による反応(SEP1)を差し引いた反応を SEP2 として、SEP2 と SEP1 の各振幅の比率を検討し回復曲線を作成した。

結果：単発刺激による SEP の反応の潜時は MD では全例正常であり FSH 1 例でのみ N9 の延長が見られた。二発刺激法では N9 onset -N9 peak は正常者、疾患群とも 10ms の ISI で充分に回復していた。N20-P25、P25-N33 は正常被験者では ISI 10 - 100 ms で有意な

抑制効果が見られた。MD 群では正常者で見られた抑制効果は見られず、N20-P25 は ISI 40 - 100 ms で P25-N33 では ISI 10 - 100 ms において促進効果が見られた。FSH 群では正常被験者群と有意差はなかった。

考察、結論：単発の SEP では MD における知覚系中枢神経の異常を検出する率が少なかったが、今回は正中神経二連発刺激法を用いて MD 全例で異常が検出可能であった。従来の研究により本方法で正常者で見られる抑制は、大脳感覚野内の抑制性介在ニューロンの機能を反映していると考えられている。ミオクローヌステんかん等の皮質の興奮性が増大する病態や、皮質下の障害により感覚野が脱抑制した病態などで抑制の減弱が見られることが知られている。今回の結果より MD では臨床的には感覚障害は問題にはならないが、従来知られている視床もしくはなんらかの中枢神経の異常により感覚野の調節機能に障害が起こっていることが示唆された。

文献

Ganes T, Kerty E. Multimodal evoked potentials, EEG and electroretinography in patients with dystrophia myotonica. *Acta Neurol Scand* 1988; **78**: 436-442.

Cosi V, Bergamaschi R, Versino M, et al. Multimodal evoked potentials in myotonic dystrophy (MyD). *Neurophysiol Clin* 1992; **22**: 41-50.

Thompson DS, Woodward JB, Ringel SP, et al. Evoked potential abnormalities in myotonic dystrophy. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1983; **56**: 453-456.

Bartel PR, Lotz BP, Van Der Meyden CH. Short-latency somatosensory evoked potentials in dystrophia myotonica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984; **47**: 524-529.

Bartel P, Lotz B, Robinson E, et al. Posterior tibial and sural nerve somatosensory evoked potentials in dystrophia myotonica. *J Neurol Sci* 1985; **70**: 55-65.

Ugawa Y, Genba K, Shimpo T, et al. Somatosensory evoked potential recovery (SEP-R) in myoclonic patients. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1991; **80**: 21-25.

Ugawa Y, Genba-Shimizu K, Kanazawa I. Somatosensory evoked potential recovery (SEP-R) in various neurological disorders. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1996; **100**: 62-67.

骨格筋MRIを用いた下腿偽性肥大の検討

分担研究者：清水 潤

(国療下志津病院臨床研究部)

共同研究者：○古和久朋, 前田仁士, 花島律子,
本吉慶史 (国療下志津病院神経内科),
中山貴博 (新大脳研)

【目的】

下腿偽性肥大 (carf pseudohyper-trophy) は Duchenne型筋ジストロフィー (DMD), Becker型筋ジストロフィー (BMD) や一部のサルコグリコノパチーに特徴的な所見とされているが, その診断根拠は“臨床的印象”によることが多く客観的な診断の指標に乏しい. 当院は本学会議において骨格筋MRIが筋実質, 脂肪, 浮腫, 線維化を鋭敏に捉えうることを指摘してきた. そこでその偽性肥大を骨格筋MRI画像から観察し, その特徴を明らかにすることを目的とした.

【方法】

対象は7~14歳のDMD患者7名 (stage2~7). いずれも腓腹部は大きく, また固く触知され臨床的仮性肥大に合致した. 対照群として正常者11名 (8~14歳) にも骨格筋MRIを施行.

骨格筋MRIをT1強調画像 (T1) : TR200ms TE15ms, T2強調画像 (T2) : TR2000 TE120, プロトン密度画像(PD) : TR2000 TE30, 脂肪抑制画像(short TI inversion recovery法, STIR) : TR 1150 TE 30 TI100の4条件で撮像 (東芝社製MRI, FLEXART, 0.5T). 下腿最大径横断面画像で断面にある個々の筋の4種の条件での像を比較し定性的に観察評価した. 断面積については最大横断面の断面積, 全断面積に占める屈筋群の占める割合, 脛骨-腓骨間距離の2乗を基準面積とした場合の全断面積との比を検討した.

【結果】

1. 断面積に関する検討

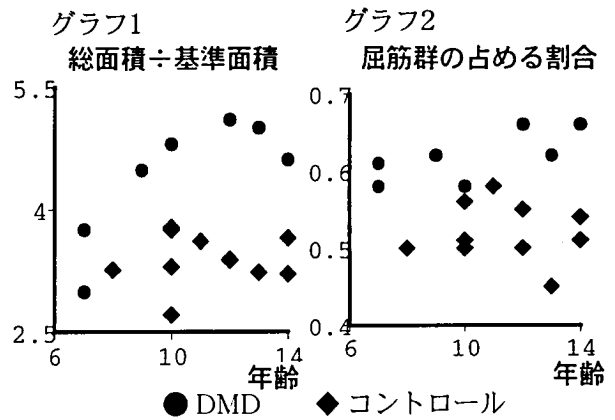
検討した各指標の各々のデータは以下の通り.

	DMD	control	P value
総面積	58.6±22.9	47.4±11.8	0.29
脛腓骨間距離	3.6±0.53	3.7±0.41	0.61
総面積÷基準面積	4.4±0.76	3.4±0.31	0.014
屈筋群面積÷総面積	0.62±0.03	0.52±0.04	<u>0.007</u>

総面積, 脛腓骨間距離については2群に有意に差を認めなかった. いずれも年齢に比して上昇する傾向にあった.

総面積/基準面積はグラフ1で示すとおり, control群ではどの年齢においても3.5前後なのに対して, DMD群では年齢が上昇, すなわち病期が進行するにつれて値が増加を示し, 有意にDMD群で高値を示した.

屈筋群面積/総面積では, 指標とした値のなかで最もばらつきが少なく, stageに関係なく, DMD群でほぼ0.6以上を示していた (グラフ2).



2. 各筋の信号値の変化に関する検討

DMD7症例をstageにそって比較検討した.

stage2のうち1名は肉眼的には異常を指摘できなかった.

・一つの筋に注目した場合

まずSTIR法で高信号になった後すぐにPDでの変化が続き, それに遅れてT1, T2でも高信号を示した. T1で変化が生じる時期にはSTIR値は逆に低下しており, これらは従来大腿部で観察されたものと同様の変化であった.

・selectivity patternの存在

下腿筋では, ヒラメ筋, 腓腹筋外側頭, 腓腹筋内側頭, 前脛骨筋, そして後脛骨筋の順に信号値に変化を認めた. ただしヒラメ筋の変化は出現は最も早いもののその後の進行は遅く最終的にT1, T2でhigh intensityとなるのは腓腹筋内側頭の変化の後となる. また大腿部でみられるような筋の間での時間的解離は少ないように思われた.

【考察・結論】

下腿断面積の検討では断面積の絶対値には有意差がなかったが, 基準面積 (脛腓骨間距離の2乗) に対する全断面積の比において, control群では年齢に関わらずほぼ一定だったのに対して, 患者群では有意に上昇ししかもstageの進行とともに増加傾向を示した. これはDMDでは成長過程とは異なる機序で下腿断面積が増加することを示していると考えられる. またこの断面積の増加には下腿屈筋群の寄与が大きいことも改めて示された.

本研究対象患者には下腿各筋の信号値がほぼ正常を示すものからほぼ各筋の脂肪化が完成したまでのまで含まれており, 偽性肥大とは筋病理学的には一様な病態ではないと考えた. 特に初期ではMRI上真性肥大と考えられる時期が存在することが示唆された. なお正常筋が脂肪や線維などに置換しても体積を維持しうる点は興味深い.

従来より下腿での偽性肥大が強調されてきた. 大腿部は各筋の変化に時間差が大きく, 従って早期に変化が始まった筋は後半には萎縮している. 一方下腿の変化は各筋間で時間差が少なく, いずれの筋も同時期に体積を保ちながら変化していた. この点が, 下腿で体積の増加が目立つ原因の一つであると考えられた.

筋ジストロフィー患者における運動量制限の効果

分担研究者：清水 潤

共同研究者：○中山貴博（新潟大学脳研究所）

古和久朋，本吉慶史（国療下志津病院神経内科）

川井 充（国立精神・神経センター

武蔵病院神経内科）

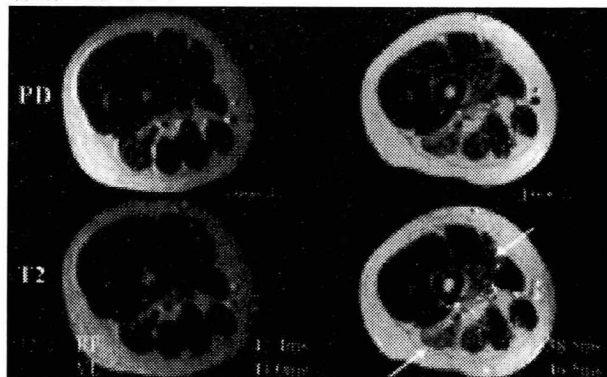
目的：筋ジストロフィー患者では、筋量に対する相対的運動負荷量が大きく、また筋線維自体の易障害性から、運動負荷により筋は障害を受けやすい。そのため日常生活上の運動をどの程度させるかが重要である。我々は筋ジストロフィー患者の骨格筋 MRI を撮像し、T2 値が適正運動量の指標になりうることを示し、T2 値が 4ms 以上上昇しないような運動が適当であり、臨床的には運動後に筋痛が残らないような運動であることを示してきた。そこで成長期 3 年間にわたって肢帯型筋ジストロフィー姉弟例について運動制限を行い、骨格筋 CT・MRI による評価および臨床症状から運動制限が筋萎縮の進行を抑制するのに有効であるかを検討した。

対象：肢帯型筋ジストロフィー患者姉弟例。知能正常、精神運動発達歴に問題なく、 α サルコグリカノパチーは否定。姉例は、8 歳頃から走行遅くなり、9 歳頃から体育苦手となり、12 歳頃から下校時の疲労感を訴え始め、13 歳から階段昇段に手すり必要となった。弟例は、6 歳頃には走行は遅く、8 歳頃から体育苦手となり、10 歳頃から下校時の通疲労感を訴え、11 歳時には階段昇段に手すり必要となった。骨格筋 MRI を撮像し、安静時に比し下校時に T2 値が 4ms 以上上昇することから、本人に説明のうえ、1996 年夏から筋痛を生じない程度の運動に制限した。体育は見学・教室は 1 階とし、通学は親に家用車で送り迎えしてもらうことにした。姉例では側弯が出現していたため、コルセットを装着させた。

結果：経過は、1999 年でも下校時の疲労感を訴え階段昇段に手すりは必要であるが、歩行困難の訴えはない。弟例でのみ後彎が出現した。骨格筋 CT では、腰方形筋と大腿屈筋群の筋萎縮が進行した。姉例の大腿部骨格筋 MRI では大腿直筋と外側広筋の T2 値は 42ms 程度と殆ど変わらなかったものの、大腿屈筋群、特に大腿二頭筋長頭と、内側・中間広筋の筋萎縮が軽度進行した。なお対象 2 症例は体育が苦手であったため、体育を見学としたことはむしろ喜んでおり、また通学の苦痛が軽減されて楽になったと述べていた。

考察：比較検討は難しいが、肢帯型筋ジストロフィー一女性患者で、知能正常、 α サルコグリカノパチー

は否定されている現在現在 31 歳の患者と比較した。5 歳に走行が遅いことが指摘され、11 歳に階段昇段手すり要、12 歳に床からの自力立位不能、15 歳に歩行不能となった。この症例から階段昇段手すり要から、数年で自力立位が不能となることが予想されたが、本対象 2 症例では自力立位困難感の訴えはなく、立位可能期間が延長したことが予想された。以上から、本研究では肢帯型筋ジストロフィー患者に対し筋痛が出ないことを指標として運動制限を行い、3 年間の経過観察で大腿部の骨格筋萎縮は僅かだが進行したものの、大腿伸筋群の T2 値の変化は殆どなく、本人の歩行困難感は増悪せず、歩行可能期間が多少延長したと考えられた。Miotubular myopathy と Duchenne 型筋ジストロフィーの合併例で、全く動けないため筋萎縮が進行しなかった症例もあり、興味深い。(1)運動制限が厳密には行われていない。(2)弟例で後彎が出現した点など大腿部以外の筋萎縮の進行は、運動制限では抑えることはできないであろう。(3)運動制限は本人の理解が必要である。(4)個人差が大きく症例間の比較が難しい。といった問題点もある。しかし運動制限は患者本人に説明の上、比較的容易に実践可能であり、今後は対象をひろげていきたい。またその経過の観察に MRI が筋萎縮の評価が詳細に可能でありかつ T2 値を計測できる点で有用であろう。



(図 1)姉例 右大腿部骨格筋 MRI 経過

参考文献

- 1) Kimura S, et.al.; Muscle fiber immaturity and inactivity reduce myonecrosis in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 44: 967-971, 1998
- 2) Vilquin J-T, et.al.; Evidence of mdx mouse skeletal muscle fragility in vivo by eccentric running exercise. *Muscle Nerve* 21: 567-576, 1998
- 3) Fleckenstein JL, et.al.; Muscle proton T2 relaxation times and work during repetitive maximal voluntary exercise. *J Appl Physiol* 74: 2855-2859, 1993
- 4) Fleckenstein JL, et.al.; (Dys-) Functional MR imaging of skeletal muscle: a cautionary note. *Radiology* 206: 305-307, 1998

Duchenne 型筋ジストロフィー患者における脊柱変形の呼吸機能への影響についての検討

分担研究者：清水潤

(国療下志津病院臨床研究部)

共同研究者：○前田仁士、花島律子、本吉慶史 (国立療養所下志津病院神経内科)

【緒言】 近年 Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 患者の脊柱胸郭変形に伴う呼吸機能悪化、呼吸器合併症の予防のために脊柱固定術の必要性が注目されてきた。脊柱胸郭変形に対する脊柱固定術の歴史は日本ではまだ浅く、その適応症例の基準、適応時期に関しては、まだ十分なコンセンサスが得られてはいない。そこで、脊柱側弯が呼吸機能におよぼす影響を明らかにする目的で、DMD 症例を側弯の高度群と軽度群に分けて呼吸機能の経時経過の比較を行ない、さらに脊柱固定手術を施行した例をこの経時経過にあてはめ、手術の呼吸機能に対する短期効果を評価した。

【方法】

1) DMD 症例の呼吸機能の経時経過の検討
当院フォロー中の DMD 患者 51 例を対象とし、気管切開による人工呼吸管理 (TIPPV) を行っていない時期の肺活量の経時経過を過去に遡り調べ、全例をグラフ上にプロットした。Cobb 角 50 度以上の側弯高度群 (18 例)、Cobb 角 50 度以下の側弯軽度群 (33 例) に分け、両群の経過の比較をおこなった。

2) 脊柱固定手術施行例の検討
脊柱固定手術を行った 2 例の術前後の経過を 51 例の経時経過のグラフ上にプロットして手術効果を評価した。脊椎矯正固定術を行った 2 例は、

①N.H.殿：16歳DMD患者。14歳3ヶ月で手術し約2年経過。右に凸の側弯はCobb角が手術により64°から38°に改善。術前の%肺活量は42.9%であった。

②J.A.殿：14歳DMD患者。12歳8ヶ月で手術し約2年経過。右に凸の側弯はCobb角が手術により57°から21°に改善。術前の%肺活量は44.4%であった。

【結果】

1) 呼吸機能の経時経過の検討

11歳から15歳にかけて%肺活量が急速に低下したが、側弯高度群の方が低下速度が速い傾向があった。臨床像との関連では、18歳以上の例では、側弯高度群は全員 (3/3) が呼吸器を使用しているのに対して側弯軽度群では呼吸器非使用例が4例(4/11)いた。%肺活量が20%に低下する平均年齢は、側弯高度群で14.8歳であるのに対し、側弯軽度群は17.9歳であり、t検定で両群の間に有意差があった(p<0.01)。

2) 脊柱固定手術施行例の検討

症例①は、それまで急速に低下傾向をとっていた%肺活量の低下は比較的緩やかな経過となり、症例②は、%肺活量は術後一時的改善したが、その後再度急激に低下して側弯高度群と同じ経過を辿った。

【考察】 側弯高度群では呼吸機能の低下が側弯軽度群に比べて速く、側弯による肺や気管の圧迫が原因で呼吸機能の低下が速い可能性と、呼吸筋筋力低下の進行が速い可能性の両方を考えた。

手術施行例では、一例では手術が肺活量の急速低下に対して抑制効果があり、もう一例では効果がなかった。効果がなかった例については、脊柱側弯の矯正効果よりも呼吸筋自体の筋力低下の影響が強い可能性を考えた。

脊柱固定術の意義としては側弯進行期における変形脊柱による肺や気管への圧迫を防ぐこと、末期の呼吸器管理時期において無気肺や肺炎などの合併症の出現を防ぐの2点であると考えられる。末期において見られるさまざまな肺合併症と側弯の程度やパターンとの関連を明らかにしていくことも、脊柱側弯に対する手術適応を決めて行く上で重要であると考えた。

【結論】 脊柱固定術の短期評価では呼吸機能悪化に対し1例では効果があり1例では効果がなかった。手術効果を判断するためにはより長期の経過を追う一方、末期の呼吸器管理時期の肺合併症の頻度も含めて判断していく必要がある。

脊柱変形が原因で非可逆性の無気肺を生じた Duchenne 型筋ジストロフィーの 1 例

分担研究者：清水潤

(国療下志津病院臨床研究部)

共同研究者：○前田仁士、花島律子、本吉慶史 (国立療養所下志津病院神経内科)

【緒言】 Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 患者に対する NIPPV を用いた呼吸管理法の進歩に伴い、側弯に伴う呼吸機能悪化や呼吸器合併症の予防のために脊柱固定術の必要性が注目されてきている。しかしながら、その適応症例の基準や時期に関しては、まだ十分なコンセンサスが得られてはいない。我々は、高度の脊柱胸郭変形が原因で非可逆性の無気肺を生じた 1 例を経験し、本例にみられた変形パターンが脊柱固定術の適応となるパターンの 1 つであると考えたので報告する。

【症例提示】

症例：16 歳の DMD 外来患者。

現病歴：1997 年 5 月 (14 歳) ころより、誘因なく約 2 ヶ月間の間痰のからむ咳が持続。1997 年 7 月の当科への定期外来受診時に胸部レントゲン上、右下肺の無気肺が確認された。この時、発熱などの感冒症状はなく血液データ上炎症所見はなかった。脊椎レントゲンでは右へ凸の側弯を認めた (Cobb 角 58 度)。胸部 CT では、右下肺の無気肺を認める一方、脊椎は右前へ彎曲を示し右方向に回旋し、縦隔は椎体を超え高度に左に偏位し、右の気管支が牽引されると同時に後方より前彎を示す脊柱により圧排されていた (図)。腫瘍や異物などによる無気肺の可能性も考え、原因検索の目的でおこなった気管支内視鏡では、気管は扁平化、さらに右第 2 気管分岐部以下上葉枝・中下葉枝とも極めて扁平化しており、中下葉枝は入口部よりスリット状の狭窄を認めた。気管内粘膜は易出血性の傾向はあったものの、毛細血管に富むもので特に病変は見られなかった。

定期的におこなっていた呼吸機能検査の結果からは、%肺活量は無気肺出現前は

33.6%あったのが出現後は 10.9%と低下しており、無気肺の出現が短期間の急速な肺活量低下の原因と考えられた。

無気肺確認後、治療として、装具およびリハビリによる脊柱胸郭変形の矯正、NIPPV の装着による換気、MIE による痰だし、などを試みるも、無気肺部位の解除は成功しなかった。装具着用にもかかわらず脊柱胸郭変形はその後も増強、無気肺領域は残存し同部位は器質化したものと考えられた。

図 1997 年 無気肺出現時 肺 CT



【考察】 本例では、縦隔の左への偏位、脊椎の右前方への彎曲、そして右気管支が脊椎をのり越えるところでの後方からの圧迫という変形パターンが右下肺の無気肺を生じたと解釈した。したがって、本例においては、CT 所見で示された右気管支と脊柱との関連に早期に気づき、事前に脊柱固定術治療をおこなうことで非可逆的な無気肺の出現は防げたものと考えた。ところで、本例でみた脊柱胸郭変形のパターンはしばしば臨床上に認めるものである。脊柱胸郭変形の進行期に、このパターンをとってきた場合には、定期的に肺 CT で経過を追い、早期に脊柱固定術治療を行う必要があると考えた。

ところで、本例における変形は 2 次元的な Cobb 角のみを指標としていることでは評価が困難である。DMD における骨格変形が呼吸機能におよぼす影響を評価する為には、CT を用いて脊柱変形を 3 次元的に捉え、かつ胸郭変形や縦隔の偏位も考慮にいった指標を確立する必要があると考えた。

【結語】

1. 縦隔の左偏位と脊柱右前方彎曲の変形のパターンは早期に脊柱固定術治療を考慮すべきパターンである。
2. 肺 CT が脊柱胸郭変形を 3 次元的に捉えるのに有効である。

筋ジストロフィーの遺伝子診断及び遺伝相談法に関する法的、倫理的、心理・社会的諸問題の検討

分担研究者 白井 泰子
(国立精神・神経センター精神保健研究所)

共同研究者
丸山 英二(神戸大学法学部)
土屋 貴志(大阪市立大学文学部)
斎藤有紀子(明治大学法学部)
玉井真理子(信州大学医療短大)
佐藤 恵子(国立がんセンター
中央病院臨床試験管理室)
中井 博史(国立療養所 西多賀病院)
大澤真木子(東京女子医科大学小児科)

目 的

大澤真木子東京女子医大教授をリーダーとする遺伝相談プロジェクトは、平成 10 年度までに筋疾患が疑われる小児の確定診断を目的としたジストロフィン遺伝子検査のコンセントフォーム一式(遺伝子検査説明書/同意書、病気の説明書、意思確認書)を作成した。平成 11-13 年度は、小児期発症筋ジストロフィー患者に対して遺伝子検査を実施する場合のコンセント・フォームの完成を目指す。本年度はその第一歩として、患者の姉妹や血縁者の保因者診断・出生前診断に関する遺伝相談事例の検討を行い、こうした状況における当該患者ならびに遺伝相談のクライアントそれぞれの心理・社会的問題の把握に努めると共に、被検者に対するインフォームド・コンセント手続きと IC フォーム作成の際の問題点について検討する。

方 法

本年度から新たに中井博史氏(国立療養所西多賀病院)の参加を得て、4回の研究会を行った。研究会では、「夫に相談できないまま、自身の保因者診断に迷っている女性の相談事例」の検討(第2回・第3回研究会、報告者は中井博史氏)、「筋肉の病気が疑われる子どもに対する遺伝子検査 IC フォーム一式(1998 年度版)の見直し」(第3回研究会、コメンテーターは南九州病院臨床心理士今村葉子氏)、「遺伝子診療のあり方について」(第4回研究会、話題提供者は、信州大学医学部附属病院遺伝子診療部福嶋義光氏(小児科)、吉田邦広氏(神経内科)、金井誠氏(産婦人科))などについて検討した。これらの研究会議を通じて、当該遺伝子検査の被検者に対する IC 手続きやこうした遺伝情報を必要とする者への遺伝相談のあり方を論議した。

考 察

1. 遺伝子検査と IC 手続き

遺伝子検査を行うにあたっては、その目的の如何を問わず、検査対象者本人の同意が前提となること、および同意能力に欠ける者に対する保護が不可欠であることは、ユネスコ「ヒトゲノムと人権に関する世界宣言」¹⁾・ヨーロッパ評議会「人権と生物医学に関する条約」²⁾および WHO「遺伝医学と遺伝サービスにおける倫理的諸問題に関する国際指針(案)」³⁾の中で言及されている通りである。

こうしたガイドラインや条約に示されている原則および4回の研究会議で検討された諸事例に照

らし合わせて考えると、小児期発症筋ジストロフィー患者に対する遺伝子検査の場合、2つの問題点が浮かび上がってくる：第1の問題点は、対象となる患者は多くの場合未成年者だということ、第2の問題点は“患者の利益”とは直接的関係のない目的のために検査が必要となる場合があることである。それ故、小児期発症筋ジストロフィー患者の遺伝子検査の IC 手続きのために予め用意すべきコンセント・フォームを作成する際には、この2つの問題点を十分に考慮することが肝要となる。

2. 遺伝子検査における未成年の同意について

生命倫理・法原則に照らしたあるべき姿としては、“患者本人に対する説明・本人の同意”を原則とした上で、家族や血縁者の保因者診断・出生前診断のための情報提供を目的として行う‘患者の遺伝子検査’についても、患者本人の年齢に応じて以下のような取り扱いを求めべきだと考える：

- (1) 16 歳以上：同意能力を認める(患者本人に対する説明と患者本人の同意が必要。親の意思は不問)
- (2) 11 歳以上～ 16 歳未満：アセント能力を認める(患者本人と親に対する説明、患者本人と親の同意が必要)
- (3) 6 歳以上～ 11 歳未満：患者本人に意思表示の機会を保障(親に対する説明と親の同意が必要。患者本人にも説明は行い、本人が拒否すれば検査の実施は認めない)
- (4) 6 歳未満：本人の意向の確認は困難(親に対する説明と親の同意で検査の実施を認める)

結 論

小児期発症筋ジストロフィー患者の遺伝子検査を行う場合、以下の諸点に留意する必要がある：

- (1) インフォームド・コンセントの手続きを踏まえた上で検査を実施する。
- (2) 未成年者の同意能力については、前述の4段階の年齢区分を目安とする。
- (3) あらかじめ IC 手続きに必要なフォームを準備し、被検者の意思は文書の形で確認する。
- (4) 患者の姉妹や血縁者の遺伝相談に際しては、医学問題だけでなく、クライアントのかかえる問題の心理・社会的側面に配慮した援助を行う。
- (5) 遺伝相談の実施にあたっては、遺伝カウンセラーと共に、医師以外の職種にある適格者が参与することが望まれる。

参考文献

- 1) 位田隆一：ユネスコ「ヒトゲノム及び人権に関する世界宣言」 遺伝医学 2:127-134,1998.
- 2) 白井泰子：医事法トピックス ユネスコ「ヒトゲノムと人権に関する世界宣言」 年報医事法学 14,187(77)-184(80), 1999.
- 3) Council of Europe :Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine:Convention on Human Rights and Biomedicine. Strasbourg, 1997.
- 4) WHO Human Genetics Programme:Proposed International Guidelines on Ethical Issues in Medical Genetics and Genetic Services. 松田一郎監修, 「遺伝医学と遺伝サービスにおける倫理的諸問題に関して提案された国際的ガイドライン」 1998.

筋強直性ジストロフィーでの ECD による脳 SPECT 第二報

分担研究者 大矢 寧

(国立精神・神経センター武蔵病院神経内科)

共同研究者 小川雅文、重藤寛史、川井 充 (同上)
松田博史 (同 放射線診療部)

目的

筋強直性ジストロフィー(MyD)の中脳神経障害を^{99m}Tc-ethylcysteinate dimer(ECD)を用いた脳血流 SPECT でとらえる試みを昨年報告した。脳血流はびまん性に低下していた MyD 患者がみられたが、脳血流は正常でも加齢で低下する傾向があるため、MyD 患者での脳血流をより詳細に評価した。

対象・方法

脳血管障害の既往がない MyD 18 例(23~64 歳、男 11、女 7)で ECD-SPECT を Patlak 法(松田変法)で定量化出来た。定量化の方法は昨年の報告と同様である。健常者 27 例(43~67 歳)と比較した。

水平断で、(1)線条体と視床の最大断面で、前頭葉穹窿面と頭頂葉の watershed area 相当部位の大脳皮質、後頭葉内側面、線条体(尾状核、被殻)、視床、(2)側頭葉と小脳の含まれる最大断面で、側頭葉内側・外側の大脳皮質と小脳虫部・半球にルーチンの円形の関心領域を設定し、計測した。軽度ながらも左右差がある例が少なくなく、左右で高い側の値を採用した。横軸を年齢、縦軸を各 ROI の脳血流の散布図を描いた。経過を観察しうる症例では、1~2 年間隔で追跡した。

結果

MyD 患者の脳平均血流量は 32.4~54.3 ml/100g/min、多くは正常下限~僅かに低下していた。

関心領域を設定したどの部位でも、年齢を横軸にした散布図を描くと、患者群と健常対照群との間には一部重なりはあるが、患者群では低い場合が多かった。患者群の中では女性よりも男性の方が低い傾向がみられた。

前頭葉や側頭葉内側面では、低下傾向が目立ったものの、後頭葉や頭頂葉でも患者群は低下傾向が明らかに認められた。側頭葉の内側面と外側面では明らかな差はみられなかった。

線条体では尾状核頭部よりも被殻で、小脳では虫部よりも半球で、それぞれ患者群が健常対象群との重なりが少なく、患者群での低下傾向が目立った。

1~2 年間隔の再検では多くの場合、測定値に再現性が認められた。しかし視床や線条体に関しては必ずしも再現性は認められず、視床に左右差が見られた 1 例では、3 回の検査で左右差がそのたびに逆転していた。

考察

相対的な評価では前頭葉優位の集積低下が報告されているが、定量化画像では年齢を考慮しても大脳皮質では明らかにびまん性に低下していた。側頭葉先端部や島回などの MRI 白質 T2 高信号がみられる部位は SPECT 画像では範囲の正確な同定が困難であり、評価できなかったが、SPECT では MRI では得られない情報が得られるといえる。男女差は筋力低下や ADL も男性患者が女性患者より重症な傾向があるが、脳血流も同様であった。

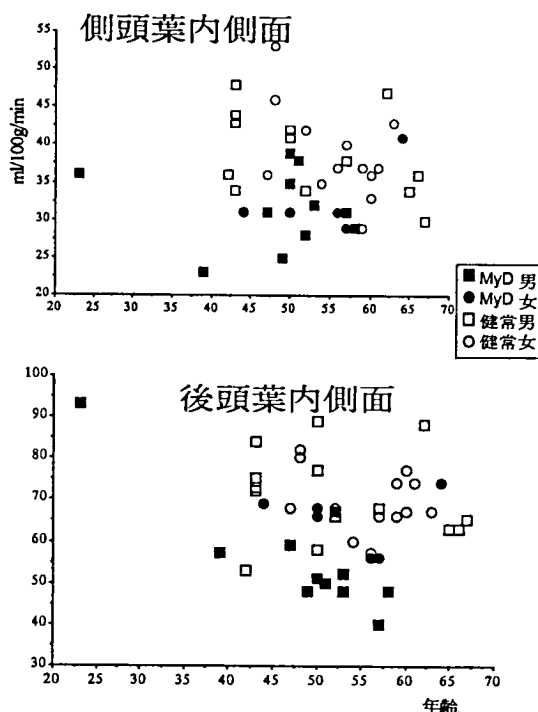
昨年報告した、臨床と画像からは推測できない視床や線条体での集積の低下や左右差に関しては、再現性は必ずしもなく、左右差の意義付けは難しいと考えた。

結論

MyD では前頭葉や側頭葉内側面では低下傾向が目立つが、前頭葉や側頭葉のみならず、びまん性に脳血流は低下する傾向がある。

文献

1) 川井 充、大矢 寧、小川雅文ら: 筋強直性ジストロフィーでの ECD による SPECT. 平成 8-10 年度 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班 研究報告書 p168-170, p471



筋萎縮症の成人患者に対する clenbuterol の臨床的有用性の検討 (方法について)

分担研究者 大矢 寧

(国立精神・神経センター武蔵病院神経内科)

共同研究者 小川雅文、重藤寛史、川井 充 (同上)

緒言

筋ジストロフィー協会会員の一患者より、 β_2 刺激薬の clenbuterol は筋量増加・筋力増進の効果があるため、投与してほしいと当院に依頼があった。喘息などの治療薬として認可されているが、適応外使用のため即座に応じることが出来なかったが、倫理委員会に承認され1999年9月より投与可能になった。

筋ジストロフィー、先天性ミオパチーや脊髄性筋萎縮症の成人患者で clenbuterol 投与が筋萎縮進行に対し予防効果があるか、さらに筋量増加をもたらし、筋力を増加しうるかを明らかにしたい。

背景

β_2 刺激薬は骨格筋の代謝・構造・機能に作用し、筋肥大をもたらす。実験動物では廃用性萎縮や神経原性萎縮にも筋量ないし筋力に対する有効性が報告されている。筋組織増強のために運動選手[Prather et al. 1995]や畜産・養鶏[阿部 1990]で使用されてきた。内側半月板損傷の手術に際して clenbuterol を4週間投与し、患側も非手術側も筋力の増大傾向が示唆されたという [Martin et al. 1993]。

mdx マウスでは clenbuterol 短期投与で筋量・筋力は増加し [Dupont-Versteegden et al. 1995]、軽度の運動が効果を増強し得ると報告された。生後3週から3ヶ月~1年投与を続けた場合に筋の易疲労性と脊椎変形の副作用も指摘されたが、筋の発達に有効とされた [Dupont-Versteegden et al. 1995]。Merosin deficiency の dy/dy mice でも同様に筋量・筋力が増加するが疲労性がみられるという [Hayes & Williams, 1998]。疲労性の増強の有無は、ヒトでは不明である。

β_2 刺激薬では clenbuterol の経験が長く、動物実験の報告も多いが、他の β_2 刺激薬で臨床応用の報告がある。Albuterol は、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーで3ヶ月間の pilot trial では筋量増加・筋力低下の有用性が示された [Kissel et al., 1998]。脊髄損傷の筋萎縮に対して metaproterenol の4週間投与で筋力の増加を認めた [Signorile et al. 1995]。salbutamol は clenbuterol に比して β_2 選択性はやや低い。

研究の対象と方法

二重盲検でなく、少数患者での探索的研究である。本剤の効果と筋萎縮の進行という対立する二つの現象による解釈の困難を防ぐため、筋萎縮で日常生活に支障を来しているが、長期間比較的安定している

筋ジストロフィーないし先天性ミオパチーの入院患者を対象とする。条件には、本剤の過敏症がないこと、下部尿路閉塞がないこと、 β 遮断薬を内服していないこと、他に交感神経刺激薬を用いていないこと、危険な心室性不整脈や心筋梗塞の既往がないこと、同時に、筋量・筋力に増加をもたらす得る他剤の治療的な研究の対象にはならないことが必要である。

内服で $10\mu\text{g}$ 朝1回から3~4日で $20\mu\text{g} 2\text{x}$ に増量、その後は1週間ごとに増量し、可能ならば $40\mu\text{g} 2\text{x}$ の成人通常量を維持投与する。振戦・動悸などの用量依存性副作用には日常生活で支障のない投与量に抑える。投与期間は、3ヶ月~6ヶ月を予定する。

既に筋萎縮が進行した患者が対象であって、通常の筋力評価のみでは判定は困難であると予想されるため、通常の筋力評価に加え、体重、握力、ピンチ力の測定、1日尿中 creatine, creatinin 排泄量と creatinin / creatinin 比、呼吸機能(とくに努力性肺活量とピークフロー)、血清 CK、筋 CT の断面積、末梢の M 波の振幅・面積を評価する。更衣時間の短縮や移乗動作の困難度など日常生活に反映されるかを観察する。

文献

- 1) Kissel JT, McDermott MP, et al.: Pilot trial of albuterol in facioscapulohumeral muscular dystrophy. FSH-DY Group. Neurology 50:1402-6, 1998
- 2) Hayes A, Williams DA: Examining potential drug therapies for muscular dystrophy utilising the dy/dy mouse: I. Clenbuterol. J Neurol Sci 157(2):122-8, 1988
- 3) Dupont-Versteegden EE, Katz MS, et al.: Beneficial versus adverse effects of long-term use of clenbuterol in mdx mice. Muscle Nerve 18:1447-59, 1995
- 4) Prather ID, Brown DE, et al.: Clenbuterol: a substitute for anabolic steroids? Med Sci Sports Exerc. 27:1118-21, 1995
- 5) Signorile JF, Banovac K, et al.: Increased muscle strength in paralyzed patients after spinal cord injury: effect of beta-2 adrenergic agonist. Arch Phys Med Rehabil 76:55-8, 1995
- 6) Maltin CA, Delday MI, et al.: Clenbuterol, a beta-adrenoceptor agonist, increases relative muscle strength in orthopaedic patients. Clin Sci (Colch) 84(6):651-4, 1993
- 7) Choo JJ, Horan MA, et al.: Anabolic effects of clenbuterol on skeletal muscle are mediated by beta 2-adrenoceptor activation. Am J Physiol 263:E50-6, 1992
- 8) Martineau L, Horan MA, et al.: Salbutamol, a beta 2-adrenoceptor agonist, increases skeletal muscle strength in young men. Clin Sci (Colch) 83:615-21, 1992
- 9) 阿部啓之: ベータ作動薬と家畜への応用 畜産の研究 44:3-6, 1990

塩酸ピバカインによる壊死再生筋の
hydroxyl radical についての研究
—ジストロフィーの原因に関しての一考察—

班員 若田 宣雄

東邦大学医学部第四内科

共同研究者 杉本 英樹, 井口 裕章

東邦大学医学部第四内科

緒言

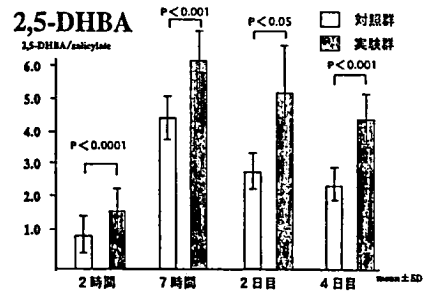
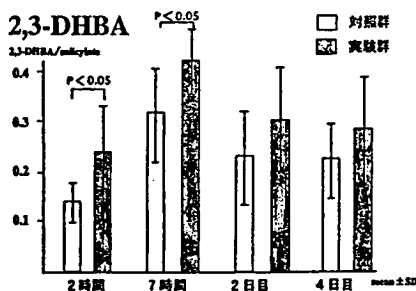
骨格筋のfree radicalに対する研究は1980年代以降、
いろいろな筋障害のSOD などの抗酸化物について検討さ
た。しかし、HOFFMAN らのジストロフィンの発見以来、
Duchenne型筋ジストロフィーの原因はジストロフィンの
欠損が筋線維の壊死を起こす要因であると考えられるに
至った。最近、SOD transgenicマウスを作成し対照と比
べ、CK上昇、マロンジアルデヒドの上昇を認め、ジスト
ロフィーの原因としてfree radicalの関与を示唆する報
告がなされた¹⁾。今回の研究では昨年度のMDX マウスに
引き続き、比較的急性期の壊死で認められる活性酸素種
の内サリチル酸とOH反応生成物である2,3 および2,5-di
hydroxybenzoic acid(DHBA) を人工的壊死再生筋におい
て測定²⁾しhydroxyl radical産生のようすを検討した。

方法

生後12週齢のラットの腓腹筋中枢側及び末梢側の腱に
塩酸ピバカインを注射し壊死をおこし、注射後2時間
7時間、2日、4日目でサリチル酸300mg/kgを腹腔内投
与後15分で断頭屠殺し、腓腹筋を採取した。ホモジュネ
イト後、遠沈分離し、その上清を高速液体クロマトグラ
フィーで2,3 および2,5-DHBAを測定した。各値はサリチ
ル酸との比で示した。また、対照は経時的に生理食塩水
をピバカイン投与群と同様に注射した。

結果

2,3-DHBAでは注射後2時間、7時間目で対照に比べ有
意な上昇が認められた。2,5-DHBAでも注射後2時間、7
時間、2日、4日目の全てで対照に比べて有意に上昇し
ていた。



考察

昨年のMDX マウスに続き、今回の研究ではじめて壊死
筋のhydroxyl radical産生について検討したが、2,3 お
よび2,5-DHBAともに2時間、7時間の超急性期におい
ては明らかに上昇が認められた。2,5-DHBAはチトクローム
P-450 酵素によって産生される代謝物であり正しいhydr
oxyl radicalの量を反映していないとの報告もある。一
方、2,3-DHBAはP-450 の影響を受けず、hydroxyl radic
alの測定に向いているという報告がある。神経系におい
ては実験的虚血状態の超急性期においてhydroxyl radic
alが上昇することが報告されており³⁾、今回の壊死筋で
も同様の結果が得られた。hydroxyl radicalはDNA 損傷
や細胞毒性が強いことが知られている。筋ジストロフィー
における筋線維の壊死の一部がこの産生の増加により
生ずるとすれば、増加したhydroxyl radicalをdimethyl
sulfoxide(DMSO) で消去したり、鉄のキレーターでフェ
ントン反応によるhydroxyl radicalの生成を抑制するこ
とが治療の上で重要と考えられる。

結論

壊死筋の急性期では2,3 および2,5-DHBAが上昇するこ
とが明らかとなったので、今後の筋ジストロフィーの治
療法の開発に意義があるものと考えられた。

参考文献

- (1) Rando TA, Crowley RS, Carlson EJ, Epstein CJ, Moha
patra PK. : Overexpression of copper/zinc super
oxide dismutase: a novel cause of murine dystro
phy. Ann Neurology 44:381-386, 1998
- (2) McCabe DR, Maher TJ, Acworth IN. : Improved method
for the estimation of hydroxyl free radical
levels in vivo based on liquid chromatography
with electrochemical detection. J Chromatogra. B
691:23-32, 1997
- (3) 杉田 之宏, 近藤 智善ら : セレブロライジン (FPF
1070) による海馬遅発性細胞壊死の防御と・OHラジ
カルの関与 脳神経 45 (4) : 325-331, 1993

Duchenne型筋ジストロフィーの着床前診断のための基礎的研究

班員 片山進
共同研究者 三宅勝 吉野佳子
東邦大学医学部産婦人科

緒言

妊娠初期の絨毛や中期の羊水を利用する現在のDuchenne型筋ジストロフィー (DMD) の出生前診断法は結果が出るまでの妊婦の不安や精神的苦痛が大きい。不幸にして胎児が罹患と診断された時は妊娠中絶となることが多い。この際の妊婦の精神的、医学的負担は大きい。着床前診断による女兒胚や正常胚の子宮内移植による妊娠の成立はこの負担を回避することができる。実際DMDの出生前診断を受けた人の約20%が可能であれば着床前診断を受けたいとする希望がある(未発表データ)。変異診断としてのmultiplex PCRによる欠失診断は有用ではあるがクライアントの家系内で患児がすでに死亡していることが多い。さらに欠失検出率は患者の60%のみである。結果的に出生前診断を希望する新規クライアント症例の約30%のみに有用で、残り70%は連鎖解析を必要とする。そこでDMDの着床前診断の対象を広げるために連鎖解析を利用した着床前診断の基礎的研究を行った。

方法

まずDMD遺伝子内の4ヶ所(pERT87-1/BstNI, pERT87-8/TaqI, pERT8715/XmnI/BamHI)の多形領域をgenomic DNAを用いて増幅した。この増幅産物をsequencingして塩基配列を決定し、heminested primerを作製した。次に希釈しgenomicDNA(10^3 、 10^2 、 10^1 、1pg)をtemplateとしてshort primer extension preamplification法(SPEP)によるwhole genome preamplificationを行った。増幅はtotal reaction volume 60 μ lとし、denature 92°C 15 sec、annealing 37°C 30 sec、ramping temperature to 55°C 2 min、elongation 55°C 2 min 50 cycleでおこなった。合計増幅時間は従来のPEP法の14時間から5時間30分に短縮した。次に増幅産物の一部5 μ lをheminested PCRで増幅した。増幅条件はinitial denature 94°C 2 min、denature 94°C 20 sec、annealing 53°C 20 sec、elongation 65°C 1 min、

final elongation 65°C 1 min で増幅回数は35回とした。最後に増幅産物10 μ lを至適条件下のもとに1.5時間で制限酵素切断を行った。増幅産物の確認は2% Agarose gel + E-gel で40mA 20minで泳動しUV下で確認した。

結果

SPEPとheminested PCR法の組み合わせでDNA template 10から1pgを増幅し、制限酵素分析をすることが可能であった。とくにSPEPは従来12時間必要とした増幅時間を5時間に短縮することが可能であり、分析所要時間は全体で約10時間であった。

考察

SPEPとheminested PCR法の組み合わせで単一細胞レベル相当のDNAの連鎖解析が可能であった。しかし連鎖解析では約10%程度の組換えによる誤診の可能性もあるので信頼性を高めるためにさらにDMD遺伝子両端の多形領域の検討が必要である。また欠失診断可能症例でも欠失診断はtrickyな技術的側面があるので連鎖解析法を併用し結果の信頼性を高めることができる。着床前診断の臨床応用には増幅の技術的問題以外に解決すべき諸問題がある。卵巣過剰刺激症候群の排卵誘発剤の副作用、受精卵複数移植による多胎妊娠、低い妊娠率、絨毛、羊水採取による再確認が必要、出生児の長期予後が不明なこと、さらに生命倫理や社会的容認などである。

結論

Single cellのもつ微量DNA相当するDNAをtemplateとして多形分析することが可能であった。

参考文献

1. Zhang et al. Whole genome amplification from a single cell: Implication for genetic analysis. Proc Natl Acad Sci USA 89 : 5847 -5851, 1992
2. Sermon et al. Adaptation of the primer extension preamplification(PEP) reaction for preimplantation diagnosis: single blastomere analysis using short PEP protocol. Mol Hum Reprod 2 : 209 - 212, 1996
3. Katayama S et al. Prenatal diagnosis of Duchenne muscular dystrophy by polymerase chain reaction analysis- Fetal diagnosis and therapy 9 : 379-384, 1994

極体診断を併用する疾患遺伝子診断を原則とした着床前遺伝子診断プロトコル案とその成績

末岡 浩, 土屋慎一, 加藤真吾*,
松田紀子, 谷垣礼子, 小澤伸晃, 大澤淑子, 久慈直昭,
吉村泰典

慶應義塾大学産婦人科, *同微生物学教室

緒 言

重篤な疾患遺伝子病保因者の出生前診断に代わる新たな生殖医学的アプローチとして, 諸外国で着床前遺伝子診断が施行されているが, 単一細胞からの診断の困難性から, X連鎖性疾患に対しては確実性の高い性別診断が代用され, 本来ならば胚移植されるべき1/2の正常男児胚が棄却されている。日本においては, 平成10年10月に日本産科婦人科学会が着床前遺伝子診断に対するガイドラインを発表しているが, 技術面・倫理面などの問題から, 未だ施行には至っていない¹⁾。Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)を対象とし, 性別診断に代わり単一細胞からの疾患遺伝子診断を原則とした系統的診断プロトコル案を作製し, その診断成績を含め, 臨床応用の可否につき検討することを目的とした。

方 法

dystrophin遺伝子の欠失好発部位である exon8, 44, 45, 51 を検討の対象とし, 2種類の異なるプライマーの組み合わせを用いて, Multiplex Nested PCRを施行した。単一細胞からの診断精度を算定するために, 患者のリンパ球, 非患者のリンパ球・割球・極体をインフォームドコンセントを得た上で採取, 本法の診断精度を算定した。そして, これらを元に倫理的側面も配慮しつつ, 実施のための診断ストラテジーを作製した。着床前遺伝子診断の方法の概要は, 原則として受精後に極体をaspiration法にて生検し, その後胚培養を続け, 4~8分割期胚より割球を圧出法にて生検する。そして, 極体および割球をnested PCR法を用いてdeletion診断を施行後に, さらにsequencerによる増副産物の確認を行うことによって, より確実な診断を行う。情報としては性別診断ではなく, 疾患遺伝子診断を行う。

結 果

1細胞相当のゲノムDNA量(4pg)からの exon8, 44, 45, 51 に対する遺伝子欠失の診断精度は約85%であった。非疾患単一細胞からの検出率は約85%, また疾患単一細胞の検出率は約80%であった。以上より非疾患胚を正常と診断する精度は約85%, 偽陽性率は5%, 疾患胚を異常と診断する精度は約80%, 偽陰性率は1.5%であった。また, 割球と極体診断を併用することにより偽

陰性率は0.1%まで減少でき, 2法の結果が合致する診断胚は全体の72%と算定された。また, 判定不能胚に対しては, 第二極体ともう1割球を診断することにより, 19.8%が補助診断可能となり得た²⁾。次に胚診断に関するストラテジーについて検討した。多精子受精および精子の混入が診断ミスの大きな原因となり得るため, 体外受精による受精法は全て, 卵細胞質内精子注入法を用いることとした。また, 卵に対する侵襲を極力軽減するために, 極体は, 顕微授精用の微小針で, 精子注入後, そのままaspiration法にて採取した。割球生検については, Ca²⁺/Mg²⁺ free mediumの下, 4~8分割期胚を用い, 胚の透明帯に小切開を加え, その後針を困卵腔に刺入して培養液を注入し, 切開孔から割球を圧出するextrusion法にて割球生検を施行した。この方法は, 他の生検法に比べ手技的にも簡易であり, 胚に対する侵襲も低いと考えられる。従来からの割球を診断する方法に対し, 極体を補助診断に加えることを本診断ストラテジーに加えた。極体は割球と相反する遺伝的情報を有しており, 極体診断は割球診断に比べて, 胚に対する侵襲がより小さく, 受精卵のみならず未受精卵をも対象とするため, 早期診断が可能となり得る。複数の割球を採取するより, 極体を診断の対象として代用することで侵襲を軽減することが可能となる。本来なら棄却される極体を用いることによって診断ミスを軽減させる安全性の高いプロトコルを作製した結果, 診断精度は向上した。1回の割球診断のみでは86.5%の胚を移植可能と診断するが, その中には1.5%の偽陰性を含んでいる。よって, 胚移植可能と診断した胚の中には1.5%の異常胚が含まれており, 胚移植可能と診断した胚における正診率は98.3%となる。そこで, 極体診断と割球診断を併用することにより, 移植可能と診断する胚は72.28%と低下するが, 0.03%の偽陰性を含むのみとなり, 胚移植可能と診断した胚における正診率は99.9%となり, 誤診断の頻度を低下させる事が可能となった。

結 論

本診断法の診断を誤る確率は0.1%であり, 性別診断に代わりdeletion typeに対しては精度的な面からは疾患遺伝子診断に応用でき得ると考えられた。他の遺伝子型については, なお検討段階にあるが, 本来の疾患遺伝子への診断アプローチが切望される。

参考文献

- 1) 会告「着床前診断」に関する見解. 日産婦誌, 50 (10) : 22, 1998.
- 2) 土屋慎一, 末岡 浩, 他: 極体診断を併用した疾患遺伝子診断を原則とした慶應義塾大学式診断ストラテジーとその成績. 日受着誌, 17 : in press, 2000.

着床前遺伝子診断の診断プロトコル（案）と説明及び同意に関する検討

末岡 浩，土屋慎一，松田紀子，
谷垣礼子，大澤淑子，小澤伸晃，久慈直昭，吉村泰典
慶應大学医学部産婦人科学教室

緒 言

妊娠・出産を基点とする疾患家系のストレスに対する心理的サポートは、極めて重要な意義を有する。医学的な対策として、出生前診断による母体に与える身体的・精神的苦痛を軽減しうる低侵襲的な着床前診断(PGD)の技術的検討と同時に倫理面、社会面からこのPGDに対する議論が各方面で行われてきた。実施側として、日本産科婦人科学会ではガイドラインを平成10年10月に公表した¹⁾。この中でPGDは臨床研究として行われること、適応となる疾患は同学会において申請された疾患ごとに審査され、重篤な遺伝性疾患を診断する以外の目的に使用してはならないこと、PGDの実施施設は予め申請と認可を得る必要があることが示されている。さらに、クライアント夫婦の強い希望があり、夫婦間で合意が得られた場合のみに認められるものであり、本法の実施にあたっては実施者は実施前に当該夫婦に対して内容を文書にして説明の上、文書にて同意を得ることが謳われている。しかし、具体的な指示はなされておらず、平成11年に公式見解として申請書；報告書など追加事項が公表され、その説明・同意についての見解は示されていない²⁾。臨床研究の実施に際し、クライアントへの情報伝達の文書が重要な役割を担うため、諸分野の専門家の意見交換に基づく説明・同意書の作製を試みた。

方 法

①PGDの技術的発展に伴い、現段階での診断可能な病型の範囲、診断精度、対象疾患家系への精神的側面調査と面接による希望や理解の検討などを基に慶應義塾大学の着床前遺伝子診断プロトコル（案）を作製した。②このプロトコルに関する説明および同意書を作製した。③本件に関係する各分野の専門家および疾患団体の意見交換を反復して行い、上記文書を修正し、当該施設の説明・同意書(案)とした。

結 果

PGDの診断情報は疾患遺伝子本体の診断を対象とした。PGDは臨床研究として位置づけられており、研究実施施設

における研究目的に従って異なるプロトコルで構成されることは突然の帰結である。しかし、技術面、倫理面、社会面などから十分に検討されたものであるべきである。X連鎖性遺伝性疾患を対象とする性別診断によるPGDでは実質的に1/2は正常胚を含む男児胚は棄却され、胚移植に供される女児胚の1/2は保因胚である。本来のPGDの意味は疾患遺伝子の有無を診断することであり、その代用法として性別診断が位置づけられるとすれば、研究目標としてしては疾患遺伝子の診断を目的とすべきである。現状では全ての遺伝子病型に対して対応は可能ではないが、ジストロフィン遺伝子についてdeletion病型については高い診断精度が得られ、その他の病型についても診断が可能となりつつあることから、当該施設のPGDプロトコル（案）としては疾患遺伝子本体の診断を原則とすることに到達した。説明書・同意書の試案に対する総括的意見の骨子は以下の通りである。①PGDは臨床研究として実施されるものであり、研究プロトコルに準ずることを前提として説明と同意の上で実施する。②対象疾患や手続き上の規約は日本産科婦人科学会の見解に従い、参加の意思決定はクライアントの自己決定による。③体外受精を前提とするため、体外受精に関する説明と同意を得られる条件であることを基本とする。④費用負担、クライアントの不利益、診断の長短所について明確に示す。⑤周辺技術などを含め、説明には専門的用語をなるべく避け、簡潔で判り易く解説する。⑥着床前診断を受けるクライアントに出生前診断を追加するオプションを用意する。⑦性別診断や、染色体異常のスクリーニングなど付帯して得られる補助的情報について研究プロトコルに組み入れない。⑧相談の窓口を明確にし、カウンセリングに対応できる体制を形成する。これらの意図を反映させて作製した説明書および同意書は技術的進歩や社会情報などに対応して常に修正を加えることが重要であり、また同時に実施する組織的体制を整備することが要求される。

結 論

クライアントへの説明・同意を含めたカウンセリングは実施の上で重要な役割をもち、その内容も医学の進歩と社会の変化にフレキシブルに対応する必要がある。

参考文献

- 1) 会告「着床前診断」に関する見解. 日産婦誌, 50 (10) : 22, 1998.
- 2) 学会見解に基づく諸登録の申請書の書式変更と再登録について. 日産婦誌, 51 (11) : 16-24, 1999.

高度の低血圧を呈し Docarpamine が有効であった筋強直性ジストロフィーの2例

近藤 浩、計良吉則
近藤 類、米持洋介
国立療養所新潟病院神経内科

緒言

心機能の低下はないが著しい低血圧をきたし、塩酸ドパミン注射剤からの離脱困難であったが、Docarpamine 経口投与により全身状態の改善をみた筋強直性ジストロフィー (MyD) の2例を経験したので報告する。

方法

高度の低血圧のため塩酸ドパミン注射剤からの離脱困難であった MyD の2例において、Docarpamine を経口投与し、その経過および有効性を検討した。

結果

[症例1] 47歳、男性。21歳より下肢筋力低下が出現し歩行不良となる。28歳、某院で MyD の診断。1995年10月、肺炎・呼吸不全のため入院。11月、気管切開施行し以後人工呼吸管理。ときに血圧低下をきたし一時的に塩酸ドパミンの点滴を要した。1996年7月、血圧が80~90mmHg 代と低下傾向を示し、排便時に血圧低下し塩酸ドパミン持続点滴開始。胸部X線で心拡大なく、心エコー異常なし。不整脈認めず HANP 正常。Amezinium 20mg を投与したが、塩酸ドパミンは3 μ g/kg/min より減らせず、Docarpamine 2250mg を併用し離脱した。その後血圧は90~100mmHg 程度で推移した。肺炎等で全身状態悪化時に塩酸ドパミンの持続点滴を要したが、急な体動時に血圧低下をきたすことがあるものの、全身状態は安定している。動悸・頻拍等の副作用は認めない。

[症例2] 60歳、女性。25歳、白内障手術。30歳より歩行障害が出現し進行。44歳、某院で MyD の診断。その後機能障害が進行し在宅生活困難となり、1994年6月、入院。その後呼吸不全が徐々に進行し、1996年1月、NIPPV 開始。4月、肺炎併発し気管切開施行して陽圧人工呼吸管理となる。血圧は80~90 mmHg 代と低下傾向を示し、急な体動時に血圧低下をきたした。1997年4月、糖尿病悪化を契機として血圧低下が持続。塩酸ドパミン持続点滴 (3~6 μ g/kg/min) にて血圧を維持したが離脱困難。Docarpamine 2250mg を投与し離脱した。その後血圧は90~100mmHg を維持し、全身状態は安定してい

る。経過中胸部X線ではCTR 60%と心拡大あるが、心エコー異常なし。不整脈なく、HANP も正常、心不全を示唆する所見はなかった。Docarpamine は投与継続しているが、心機能・血圧とも安定し、副作用もみられない。

考察

MyDでは、刺激伝導系の異常は高頻度だが、心筋障害による心不全はまれであり、交感神経系の機能低下、副交感神経系の機能亢進をきたすことが知られている¹⁾²⁾。本例では、心エコー、胸部X線、HANP等で心不全の所見なく、症例2で糖尿病の合併があるが、他の内分泌異常はなかった。体動時の血圧低下を認め、血管運動神経系など自律神経系の機能異常が推測された。MyDでは血圧低下傾向を示すことが知られるが²⁾、本例のように著しい低血圧を呈する例があり、多彩な全身症状を示すMyDの部分症状として注目すべきと考えられた。また本例ではDocarpamineが有用であった。本剤はドパミンの prodrug であり、腸で吸収された後体内で代謝され、ドパミンとなり薬効を示す。今回の2症例では、著しい低血圧を呈したが、Docarpamineの経口投与で、塩酸ドパミン持続点滴を離脱し生活拡大することができた。その後今日に至るまで長期投与を行っているが、肝・腎障害、動悸・頻拍発作等の副作用も認めず、全身状態は良好に維持されており、その有用性が確認された。本剤は本来急性循環不全におけるカテコラミン持続点滴からの早期離脱目的に開発されたが、本例のような慢性進行性疾患における長期投与も検討しうるものと考えられた。

結論

著しい低血圧を伴う MyD 2例を報告した。その原因としては自律神経系の機能異常が推測された。治療には Docarpamine が有効であり、長期使用でも副作用はみられず、有用性が確認された。

参考文献

- 1) 足立克仁 他：筋強直性ジストロフィーにおける心不全の特徴—主に Duchenne 型における心不全との比較—。筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班平成8-10年度研究報告書 p.123-125, 1999
- 2) 坂井英一 他：筋緊張性ジストロフィーにおける血圧の日内変動—第二報—。筋ジストロフィーの臨床病態と遺伝相談及び疫学に関する研究平成3年度研究報告書 p.199-201, 1992

筋強直性ジストロフィー患者の呼吸障害に対するセロトニンレセプターアゴニストの効果

本家一也、大野一郎、狩野操、土井建朗
国立療養所医王病院

緒言

筋強直性ジストロフィー (MYD) 患者に認められる睡眠時の呼吸不全は肺活量の低下よりは中枢性無呼吸の要因が強い。この対策としてNIPPVやCPAPが試みられているが、適応できない患者が多く、また、QOLの点からも問題が多い。筋ジストロフィーの呼吸不全に対する薬物療法はDuchenne型では呼吸筋疲労を発生させ、呼吸筋障害を悪化させることから禁忌と考えているが、MYD患者の中枢性呼吸障害に対しては積極的に薬物療法を行う必要がある。今回は、中枢性無呼吸に有効との報告¹⁾があったセロトニンレセプターアゴニストについて、MYD患者の呼吸障害に対する有効性を検討した。

方法

夜間、動脈血酸素飽和度が低下するMYD患者3名に抗不安薬として市販されているセロトニンタイプ5-HT_{1A}レセプターアゴニストをはじめ15mg/日で2週間投与し、その後、通常の投与量である30mg/日に増量し、2週間投与、夜間の呼吸状態への影響を調べた。投与前、15mg投与中、30mg投与中、投与終了後にそれぞれ2回、パルスオキシメーターを夜間装着し、動脈血酸素飽和度をモニターし、比較検討した。また、副作用についても調査した。

結果

症例1は45才、障害度3、FVC 1930mlの患者で、夜間、酸素飽和度89%以下の時間は投与前、30mg投与中、投与終了後でそれぞれ平均42分、18.5分、35.5分と投与中短縮した。症例2は46才、障害度6、FVC 1260mlの患者で、夜間、酸素飽和度89%以下の時間は投与前、30mg投与中、投与終了後でそれぞれ平均62分、43分、64.5分と投与中やや短縮した。一方、酸素飽和度95%以上の時間はそれぞれ平均14.5分、108分、24分と投与中延長した。症例3は49才、障害度2、FVC 3060mlの患者で、夜間、酸素飽和度89%以下の時間は投与前、30mg投与中、投与終了後でそれぞれ平均38分、10分、45.5分と投与中短縮した。一方、酸素飽和度95%

以上の時間はそれぞれ平均216.5分、398分、178.5分と投与中延長した。以上のように、3症例いずれにおいても本薬剤投与により夜間の呼吸状態は改善し、その効果は30mg投与で大きかった。しかし、無呼吸を完全に防止することはできなかった。副作用については30mg投与においても特に認めれず、夜間よく眠れたとの意見があった。

考察

MYD患者では高頻度に中枢神経障害を伴うことが知られており、脳幹網様体病変が傾眠や無呼吸に関係しているとの意見も多い。無呼吸は著明な吸気の延長による呼吸リズムの障害であり、脳幹下部と橋の呼吸ネットワークの障害により発生すると考えられている。麻酔による動物実験ではグルタミン酸の関係したシナプス伝達の低下が無呼吸に関係することが推定されており、この無呼吸はセロトニンタイプ5-HT_{1A}レセプターアゴニスト投与により消失すると報告²⁾されている。また、橋と延髄のアストロサイトーマの術後の小児患者にみられた無呼吸に対して同薬剤が著効を示したとの報告¹⁾もある。そこで今回、MYD患者3名に同薬剤を投与し、夜間の呼吸不全に対する効果を検討した。3例とも、ある程度呼吸状態は改善したが、著明ではなかった。3例の日中覚醒時の動脈血ガス分析ではPO₂が70から80mmHgとやや低値で、PCO₂は50mmHg前後とやや高値であり、FVCが比較的保たれているわりに呼吸状態は良くなかった。MYD患者では中枢性の呼吸能力が全般に低下しており、夜間の呼吸不全は必ずしも無呼吸だけによるものではないと思われる。また、呼吸中枢のシナプスの数自体が減少していると推定され、薬剤によりレセプターを刺激してもその効果には限界が有り、今回のような結果になった可能性が考えられる。しかし、短期間の検討であり、今後、長期投与の効果や投与量、投与方法についてさらに検討していく価値はあると思われる。

結論

本薬剤は、MYD患者の夜間の呼吸不全にある程度有効と思われる。今後、多症例で検討するとともに、投与方法や投与量、長期投与の効果についても、さらに検討していく必要がある。

参考文献

- 1) Wilken B, et al. J Pediatr 1997;130:89-94.
- 2) Lalley PM. Brain Res 1994;648:87-98.

ヒト臍帯血中の筋特異的抗原を発現する細胞の検出

大野一郎、本家一也

国立療養所医王病院

緒言 加茂らによりラットの骨髄中から筋様細胞がクローン化された事や、Gussoni らが *mdx* マウスに骨髄移植を行ったところ、ドナー由来のジストロフィン陽性の筋細胞が筋肉中に確認されるなど、筋ジストロフィーなどの血液疾患以外にも骨髄移植が応用されることが検討されつつある。一方臍帯血は血液疾患の根治的治療法として既に用いられており、その造血能力は成人骨髄と同程度でありさらに未熟な細胞は骨髄よりも多いことが知られている。また、移植を行った際、拒絶反応や GVHD が骨髄の場合よりも少ない点、提供者の負担が少ない点などの長所がある。そのためわれわれは、臍帯血中の筋様細胞を検出し、臍帯血の筋疾患の治療への利用の可能性を検討することとした。

方法 臍帯血または末梢血液をヘパリン加採血し、2.5%デキストラン加燐酸緩衝液 (PBS) を同量加え、37°C、30 分間静置後、白血球を分離した。PBS で遠心洗浄し、20%牛胎児血清加 Dulbecco の MEM に浮遊し、炭酸ガス培養器で 37°C、一晩静置培養後、非付着性細胞を洗浄吸引除去した。付着細胞に対しては定期的に培養液を交換し、さらに 14 日間培養を続けた。14 日目にトリプシン EDTA 溶液にて付着細胞を剥離し、PBS で洗浄後、細胞数を調節し、サイトスピン標本を作製した。マウス抗ヒト筋特異的アクチン単クローン抗体 (NeoMarker 社 抗原、N-terminal decapeptide of alpha smooth muscle)、マウス抗ヒトトロポミオシン単クローン抗体 (バイオメダ社 抗原、難の精製 gizzaed tropomyosin)、マウス抗ヒトミオシン重鎖β単クローン抗体 (ケミコン社 抗原、ヒト心筋) を用い APAAP 法にて免疫染色を行った。

結果 培養開始後 7 日目で線維芽細胞様の紡錘型の細胞が観察された。14 日目には臍帯血では

培養皿の大部分を紡錘型の細胞が占めるに至った。この細胞を前記の抗体にて染色したところ、抗トロポミオシン抗体陽性の細胞は末梢血、臍帯血ともかなり観察された。次に、抗アクチン抗体は臍帯血で観察されたが末梢血では観察されなかった。これらの抗体が陽性の細胞はいずれも大型の細胞であった。また大型の多核の細胞も観察された。抗ミオシン重鎖抗体が染まった細胞は末梢血、臍帯血ともに観察されなかった。

考察と結論 1) 抗トロポミオシン抗体陽性の細胞が多数観察されたが、これは抗体の性質上線維芽細胞を検出している可能性がある。

2) 筋特異的アクチン抗体は臍帯血で観察されたことは、臍帯血が筋疾患の治療に用いることができる可能性があることを示唆していると思われる。

参考文献

- 1) 加茂 功 ラット骨髄からの筋様細胞のクローン化 厚生省筋ジストロフィー及び関連疾患の臨床病態と治療法に関する研究 平成 8-10 年度研究報告集 p214-215 1999
- 2) Emanuela Gussoni et al. Dystrophin expression in the *mdx* mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 401 p390-394 1999
- 3) D. J. Prockop. Marrow Stromal Cells as Stem Cells for Nonhematopoietic Tissues. *Science* 276 p71-74 1997
- 4) Shinji Makino et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J. Clin. Invest.* 103 679-705 1999
- 5) Mayani H et al. Kinetics of hematopoiesis in Dexter-type long-term cultures established from human umbilical cord blood cells. *Stem Cells* 16 p127-135 1998
- 5) Rubinstein P et al. Stored placental blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Blood* 81 p1679-1690 1993

Duchenne 型筋ジストロフィー患者の聴性脳幹反応 (ABR)

山田信二、山田重昭

(国立療養所長良病院小児科)

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 患者における慢性の呼吸不全、心不全が脳幹部機能に与える影響について聴性脳幹反応 (以下 ABR) の I-V 波間潜時を測定し検討した。

方法

正常成人男子 9 人 (年齢 23 才~36 才、平均 29.1 才) を正常コントロールとし、難聴、中等度以上の精神遅滞を除いた DMD 患者 27 人を以下の 3 つのグループに分け ABR 検査を施行し I-V 波間潜時を測定した。

(1) 人工呼吸器未使用の DMD 患者 7 人 (年齢 14 才~25 才、平均 19.9 才)

(2) NIPPV 使用している DMD 患者 17 人 (年齢 18 才~38 才、平均 27.1 才)

(3) 気管切開し、人工呼吸器使用している DMD 患者 3 人 (年齢 28 才~38 才、平均 34.3 才)

ABR の刺激はヘッドホーンにて左耳 90dB の音圧では 0.1msec の持続クリック音、10Hz の頻度で行い。頭頂部に陽電極、左乳様突起部に陰電極を置き記録し、1000 ~ 2000 回加算した。

結果

ABR の I-V 波潜時は正常コントロールでは平均 4.21 ± 0.13 msec、人工呼吸器未使用 DMD 患者では平均 4.11 ± 0.22 msec、NIPPV 使用 DMD 患者では平均 $4.49 \pm$

0.19 msec、気管切開している DMD 患者では平均 4.36 ± 0.10 msec だった。NIPPV 使用 DMD 患者では ABR の I-V 波潜時は正常コントロール及び呼吸器未使用 DMD 患者と比べ有意に潜時が延長してた ($p < 0.05$)。気管切開して DMD 患者では正常コントロールと比較して有意差認めなかった。

各グループの HANP, BNP 値平均は

	HANP (pg/ml)	BNP (pg/ml)
(1)	20.7 ± 9.9	13.3 ± 13.1
(2)	42.6 ± 51.0	30.4 ± 68.9
(3)	22.7 ± 9.4	24.3 ± 12.9

NIPPV 使用 DMD のグループ HANP、BNP の平均値高くなっているがこのグループでは 6 例 HANP または BNP の上昇を認めた。この上昇していた 6 例の ABR の I-V 波潜時は平均 4.53 msec で上昇を認めなかった 11 例の平均 4.47 msec と有意差認めず。HANP、BNP の上昇と ABR の I-V 波潜時の延長は関係認めなかった。

各グループの PaCO₂、PaO₂ の平均は

	PaCO ₂ (mmHg)	PaO ₂ (mmHg)
(1)	44.2 ± 5.6	88.0 ± 25.2
(2)	54.9 ± 7.5	72.7 ± 15.3
(3)	23.3 ± 4.4	107.0 ± 12.4

で明らかに人工呼吸器未使用の DMD 患者及び気管切開している DMD 患者と比べて NIPPV 使用 DMD 患者では換気状態が悪かった。

結論

NIPPV 使用 DMD 患者で I-V 波間潜時が延長しているのは、気管切開して換気保たれている DMD 患者では正常であることより慢性の呼吸不全によるためと考えられた。

デュシェンヌ型進行性筋ジストロフィーの認知能力のプロフィール

光吉 出
国立療養所宇多野病院

緒言

デュシェンヌ型進行性筋ジストロフィー(DMD)に特有な認知能力のプロフィールの存在と特徴を明らかにするため、DMD患者の発達検査を分析した。

方法

対象は新版K式発達検査を行った23名のDMD患者で、年齢は平均 11.5 ± 2.0 歳(6.5~15.6歳)だった。新版K式発達検査は姿勢・運動、認知・適応、言語・社会の3領域に分けられており、対象者の発達指数は認知・適応領域で 79 ± 24 、言語・社会領域で 81 ± 23 だった。領域別に各々の発達年齢を算出し、そこで得られた該当年齢よりも通過年齢の高い検査項目で合格していた場合は、その年齢幅に応じプラスの得点を、該当年齢よりも通過年齢の低い検査項目で不合格の場合は、その年齢幅に応じマイナスの得点を各検査項目に与えた。同一能力の評価項目が該当年齢の前後にあり、該当年齢またはその一つ上の年齢に該当する箇所合格から不合格に検査結果が変化した場合、その検査項目に0点を与えた。本検査の通過年齢はその検査項目での通過率が50%の年齢を示すので、0点を与えられた項目は被験者の発達年齢にほぼ見合った発達をしている事を意味する。この方法で得られた検査項目に対する点数は、プラスであればそれに応じて被験者のより得意とする分野を、マイナスであればより苦手とする分野であることを示す。

結果

認知・適応領域では、立体型の認識、構成および記憶能力を調べる「記憶玉つなぎ」は 0.5 ± 2.1 点($n=6$)で発達年齢に見合っていた。野外の実際場面を抽象化し図式的に置き換え計画的に探索する能力を調べる「財布探し」は -1 ± 1.4 点(6)で劣る傾向にあった。動作記憶能力を調べる「積木叩き」が -1.2 ± 1.7 点(19)で有意に劣っていた。

言語・社会領域では、数の単純記憶を示す「数の記憶」は -0.59 ± 1.8 点(17)で劣る傾向にあり、

文章問題を暗算で答える「数の理解」が -1 ± 0.58 点(6)で有意に劣っていた。一方、物の類似点を言語的に抽象化し表現する能力を示す「語の類似」が 1.5 ± 1.1 点(10)、両端に属する二つの事柄を概念的に抽象化し統合する能力を示す「反対語」が 1.2 ± 0.9 点(6)でいずれも有意に優れていた。

考察

DMD患者では軽度の精神遅滞を認めやすい事が知られる。進行性ではないと一般に信じられていたが、加齢により発達指数が有意に低下したとの報告もある(1)。一方その発達プロフィールとして、言語と記憶能力が特に劣るとされる報告が見られる(2)。今回の結果でも記憶力が特に劣ることが示された。しかし「記憶の玉つなぎ」検査のような図形認識が関与する記憶は必ずしも劣っていなかった。また抽象化する能力は比較的優れていることが今回の研究で初めて明らかにされた。これらの結果を踏まえ、DMD患者に対しては図形などの視覚に訴える手段を効果的に用いることにより、苦手な記憶力を補完できる可能性がある事、また抽象化する能力を生かした興味や行動範囲の拡大が有効である可能性が考えられた。

結論

DMD患者の精神発達の特徴として記憶力が特に劣るが、抽象化する能力は比較的優れている事が明らかとなった。

参考文献

1. 光吉 出、白坂幸義：Duchenne型筋ジストロフィーにおける中枢神経症状の臨床的研究。厚生省精神・神経疾患研究委託費、筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班、平成8-10年度研究報告書：217-221, 1999.
2. Leibowitz D, Dubowitz V : Intellect and behaviour in Duchenne muscular dystrophy. Dev Med Child Neurol 23 : 577-590, 1981.

mdxマウスの骨格筋に対するポラプレジンの効果

光吉 出
国立療養所宇多野病院

緒言

カルノシンと亜鉛の錯体であるポラプレジンは胃潰瘍治療剤であるが、同時に多彩な薬理作用を持つ。カルノシンには創傷治癒作用、抗炎症作用、フリーラジカル消去作用が、亜鉛には組織修復作用、免疫調節作用、フリーラジカル消去作用などが知られる。今回我々はポラプレジンがmdxマウスの骨格筋のジストロフィー変化に及ぼす影響を検討した。

方法

生理食塩液で懸濁し1mg/ml濃度に調製したポラプレジンを、生後2週令より週3回、mdxマウスの腹腔内に25ゲージ針にて体重(gram)あたり0.01 ml (10mg)を投与した。対照として同量の生理食塩液を腹腔内投与した。mdxマウスの腓腹筋では生後2-3週令より、正常の筋線維は減少し始め再生線維が出現し、生後6週令頃を境に正常筋線維よりも再生線維の方が多くなる(1)。そこでその前後にあたる生後5週令と生後7週令時にエーテル麻酔下に腓腹筋を採取し、凍結切片にてHE染色を行い標本作製した。また生後7週令時にmdxマウスを開腹し、腹腔内にポラプレジンの残存のないことを確認した。

標本観察時における顕微鏡視野はランダムに選択し、視野中の全ての筋線維について中心核線維と非中心核線維を区別しその筋線維数を数えた。次に全ての筋細胞のなかで中心核線維の占める割合を百分率で求めた。一つの筋肉当たり平均1556個の筋細胞を検討した。筋線維の中心に核を有する中心核線維は、少なくとも一度は壊死・再生の過程を経た筋線維を、そうでない筋線維はまだ一度も壊死していない線維を意味している。筋線維の中心に核を認める中心核線維の出現する頻度は、変動が小さく定量可能であるためジストロフィー変化の指標として有効と考えられている(2)。

結果

中心核線維の占める割合は生後5週令時のmdxマウスの腓腹筋では、コントロール群で47.2±

8.3%(n=4)、ポラプレジン投与群で46.5±4.6%(n=4)であり両群で違いを認めなかった(p=0.89)。生後7週令時では中心核線維の占める割合はコントロール群で63.0±10.4%(n=4)、ポラプレジン投与群で52.8±5.6%(n=6)で、ポラプレジン投与群で低い傾向にあったが有意差は得られなかった(p=0.078)。

考察

今回の結果はポラプレジンがmdxマウスの骨格筋の壊死を抑制している可能性を示唆した。筋ジストロフィーの筋肉崩壊におけるフリーラジカルの関与が近年相次いで報告されている。フリーラジカルがmdxマウスの筋ジストロフィーの発症に深く関わっている可能性も指摘されている(3)。本薬剤を構成するカルノシンと亜鉛の両者に共通する薬理作用にフリーラジカルを弱める作用がある。それ故両者のフリーラジカルに対する相乗効果が筋肉壊死に抑制的に作用する可能性が考えられた。

結論

デュシェンヌ型進行性筋ジストロフィーの筋力低下の進行を遅らせる新しい薬物療法として、ポラプレジンの有効性を今後さらに検討する必要がある。

参考文献

1. Joseph WC, David MS: Muscular dystrophy in the mdx mouse: histopathology of the soleus and extensor digitorum longus muscles. J Neurol Sci 80:39-54, 1987
2. Karpati G, Jacob P, Carpenter S, Prescott S: Hypophysectomy mitigates skeletal muscle fiber damage in hamster dystrophy. Ann Neurol 17:60-64, 1985
3. Rando TA, Crowley RS, Carlson EJ, et al. Overexpression of copper/zinc superoxide dismutase: a novel cause of murine muscular dystrophy. Ann Neurol 44:381-386, 1998

先天型筋強直性ジストロフィーにおける筋肉組織の分子生物学的解析

班員

三木哲郎

愛媛大学医学部老年医学

共同研究者

山縣英久

愛媛大学医学部老年医学

下川雅丈

東京医科歯科大学脳神経機能病態学

荒井洋

大阪府母子総合医療センター

[緒言]

臨床的には先天型と古典型筋強直性ジストロフィー(DM)で筋肉症状の病態が異なるため、双方の筋肉組織を遺伝子レベルのみならず、RNAレベル、蛋白レベルで比較検討する事が重要である。われわれは先天型DMの剖検組織を収集しており、上記解析を進めている段階にある。今回われわれはNICUでも救命できなかった1歳未満の超重症先天型DM剖検4例の筋肉計21箇所を病理所見、DNAレベル、さらにDMPK蛋白レベルで比較検討したので報告する。

[方法]

超重症先天型DM4例(死亡時月齢0ヶ月2例、11ヶ月2例)に対し採血、死後3時間以内に7箇所の骨格筋を採取し、直ちに -80°C に凍結保存した。凍結連続切片を作成し、筋病変の組織学的検討を行った。コントロールとして成人筋肉組織および感染症で死亡した1歳未満児の剖検筋肉組織を使用した。また各組織からDNAを抽出し、CTGリピート数をサザンハイブリダイゼーションにて決定した。DMPK蛋白の発現はDMPK蛋白C末端に対するポリクローナル抗体を使ってWestern blotで検討し、一部免疫組織化学にて電顕レベルで発現部位を調べた。また各所見を臨床症状と比較した。

[結果]

死亡時月齢0ヶ月2例は四肢運動が見られずfloppyであったが、11ヶ月の2例は四肢運動は見られた。躯幹筋(特に横隔膜)には11ヶ月齢のみ成人型病変(large fiber, internal nuclei, sarcoplasmic mass)を認めたが白血球の(CTG)リピート数と病理所見や臨床症状との相関はなかった。

白血球のリピート数はいずれも1600以上と極端に長かった。先天型DM4例とも骨格筋の方が白血球より(CTG)リピートが長い、その差はいずれも2kb以内であり、筋肉間の差は少なく、生下時は体細胞モザイクが少ない事が示唆された。DMPK蛋白の発現は、蛋白の変性のため70kDのバンドは検出できなかった。55kD蛋白は成人と比べると発現量の低下がみられたが、同年齢の対照剖検筋肉組織に比し明らかな差異は認めなかった。但し、DM児では年齢とともに発現が増加していく傾向がみられた。筋の成熟化は横隔膜、肋間筋、四肢筋の順に進んでいく印象が見られた。

[考察]

超重症先天型DM筋肉を病理所見で比較検討し、11月齢のみ肋間筋と横隔膜に成人型病変を認めたのは呼吸筋をよく動かすといった筋の使用頻度を反映している可能性がある。全体に未熟性病変を認めたが maturation arrest を示唆している。DMPK蛋白の発現に大きな変化がなかったのは他の因子の重要性を暗示している。

[結論]

超重症先天型DMでは白血球の(CTG)リピート数は極端に長く、生下時はリピート数のモザイクは少なく、筋肉の方がリンパ球よりリピート数が多い。筋肉においてDMPK蛋白の発現に大きな変化はない。リピート数と臨床所見および病理所見の相関は認めなかった。

[参考文献]

- 1) Roig M, Ballieu PR, et al : Presentation, clinical course, and outcome of the congenital myotonic dystrophy. *Pediatr Neurol* 11: 208-213, 1994.
- 2) Tohgi H, Kawamorita A, et al : Muscle histopathology in myotonic dystrophy in relation to age and muscular weakness. *Muscle Nerve* 17: 1037-1043, 1994.
- 3) Thornton CA, Johnson K : Myotonic dystrophy patients have larger CTG expansions in skeletal muscle than in leukocytes. *Ann Neurol* 35: 104-107, 1994.
- 4) Ueda H, Shimokawa M, et al : Decreased expression of myotonic dystrophy protein kinase and disorganization of sarcoplasmic reticulum in skeletal muscle of myotonic dystrophy. *J Neurol Sci* 162: 38-50, 1999.

足跡記録型分析装置による筋ジストロフィーの歩行分析 (第2報)

安東範明

国立療養所西奈良病院神経内科医長

はじめに

昨年度は、Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 7例について検討し、以下のような結果が得られた。

1. 歩行時の爪先開き角は stage の進行に伴い stage2-c までは増加するが、stage 3 で減少しマイナスに転じる。

2. 正規化ストライド長は各 stage で健常者に比べ減少し、そのバラツキは増加する。正規化歩隔には一定の傾向はない。

3. 歩行速度は stage 3 にても良く保たれる。

4. 両脚接地時間の1歩に占める割合は stage2-c までは健常者より大きい、stage 3 では逆に小さい。これは動揺性歩行で歩行速度を保って歩くことによる。

5. 歩行の左右差は stage 1 からすでに認められた。

今年度は症例数を増やし12例とし、さらにその中の7例については1年半から2年の経過観察の結果がまとまり、さらなる知見を得たので報告する。

対象と方法

対象はDMD男子12例で、その内訳は stage 1 が3例 (3歳3ヶ月、4歳0ヶ月、5歳4ヶ月)、stage2-a が2例 (5歳8ヶ月、6歳0ヶ月)、stage2-b が2例 (6歳4ヶ月、6歳8ヶ月)、stage2-c が3例 (7歳2ヶ月、7歳3ヶ月、7歳8ヶ月)、stage 3 が2例 (8歳5ヶ月、8歳9ヶ月) である。このうち7例については約6ヶ月ごとに3から4回の経過観察を行い得た。健常対照として、健常男子5例 (3歳9ヶ月、6歳0ヶ月、7歳3ヶ月、9歳5ヶ月、10歳3ヶ月) の計測を行った。

歩行分析には、足跡記録型分析装置 GaitScan (ニッタ株式会社) を用いた、これは 2640mm × 520mm の長方形の圧計測センサとパーソナルコンピューターで構成される。各被験者には、センサの手前2mからスタート、センサ通過後2mで停止させた。2回の練習後5回の計測を行い、センサ上の3、4歩目、合計10歩分をサンプリングした。各パラメータの平均値と標準偏差を検討した。

分析した定量的パラメーターは以下の項目である。

1. 距離因子として、正規化ストライド長 (ストライド/身長) と正規化歩隔 (歩隔/身長)。

2. 歩行速度

3. 時間因子として両脚接地時間/1歩時間と遊脚時間/立脚時間。

4. 左右の対称性の因子として左立脚時間/右立脚時間。

結果

1. 距離因子

正規化ストライド長は、各年齢、各 stage で健常者に比べて短縮しそのバラツキは大きかった。正規化歩隔は健常者、DMDともに一定の傾向はなく、ともにバラツキには個人差があり、DMDで特に歩隔が拡大する傾向はなかった。

7例での経過では、stage 1、stage2-a で明らかな増加の傾向があり、stage2-c に入っても若干増加していた。stage 3 から stage 4 で減少傾向が出現した。

2. 歩行速度

stage2-c と stage 3 で歩行速度は健常者レベルにありそのバラツキは大きかった。7例での経過では、stage2-c から stage 3 にかけて顕著に増加し、stage 4 で急激に低下していた。

3. 距離因子

両脚接地時間/1歩時間は stage2-a から stage2-c にかけて増加したが stage 3 では逆に減少した。遊脚時間/立脚時間は stage2-a から stage2-c にかけては減少傾向、stage 3 では増加していた。7例の経過を両脚接地時間/1歩時間でみると、stage2-c から stage 3 にかけて急激に低下し、stage 4 に入ってもほぼ同程度の値で推移していた。

4. 左右対称性を示す因子

左立脚時間/右立脚時間では、その値が1に近いほど左右対称な歩行と考えられ、健常者ではほぼ1.0に近かったが、DMDでは stage 1 からすでに非対称性で、stage 2 以上ではさらに非対称性は大きかった。

考察

stage2-c から stage 3 で歩行速度が健常者レベルまで増加する理由としては、身体制御に慣性力を利用していることが考えられた。ただし、そのバラツキは大きく不安定なことが示唆された。ただし歩行速度は stage 4 では大きく低下し、もはやこの時期には歩行速度を上げて動揺性歩行の際の安定性を得ることは困難であり、この時期の転倒の危険が大きいことが示された。

時間因子の検討からは、動揺性歩行で歩行速度を保って歩行することで片脚起立時間の割合が増加し両脚時間の割合が減少することが確認された。

一般に歩行障害の進行では、症状の進行とともにストライドは減少し、歩行速度は低下し、両脚接地時間は増加するといった、一方向性の変化が認められるが、DMDでは今回の結果から、その全てが当てはまらないことが示された。すなわち、stage2-b まではストライド長は減少せず、stage 3以降では動揺性歩行で歩行速度を保って歩くため両脚接地時間が減少するなどの所見を認めた。これはDMDにおいては歩行は一般的な評価尺度では評価できないことを示している。

結論

今後、DMDに対する治療法の開発が期待されるが、その際の機能障害の評価や効果判定を歩行で行う場合、特別な注意が必要であると結論した。

筋ジストロフィーにおける凝固亢進状態に対する薬物療法に関する研究

安東範明 斎田恭子 平田幸蔵 大庭直樹
木村隆二 尾崎京子

国立療養所西奈良病院 神経内科

鈴木明生

奈良県立医科大学 神経内科

目的

デュシャンヌ型筋ジストロフィー(以下 DMD)において、血栓止血系特に凝固系の亢進が認められている¹⁾。一般に拡張型心筋症では血液凝固能が亢進し、塞栓症などの危険性が認められ抗凝固療法の適応である。昨年度我々は心エコーで心機能が低下し拡張型心筋症様の所見かつ血液検査で血液凝固能が亢進した DMD 患者に対し、ワルファリンによる抗凝固療法を施行し効果を認めた。今回心機能低下、血液凝固亢進状態のベッカー筋ジストロフィー患者(以下 BMD)に対し、少量アスピリン投与を施行し血液分子マーカーにて凝固状態の変動をワルファリン投与例と比較検討した。

対象・方法

症例 1 18 歳 DMD 男性患者、心エコーで EF(ejection fraction)37%と低下し左室壁運動が全周性に低下、拡張型心筋症様所見。血液検査上も BNP 及び HANP が常に高値であった。血栓止血系の分子マーカーは Thrombin antithrombin complex(TAT)、plasmin- α 2-plasmin inhibitor complex (PIC)も高値を示した。PT-INR を目安として 1.5~2.5 の範囲でワルファリン投与量 (1.0~3.0mg/day)のコントロールを行なった。

症例 2 30 歳 BMD 男性患者 症例 1 と同様に心エコー上拡張型心筋症様。BNP 及び HANP の高値を示していた。血栓止血系分子マーカーの測定で凝固亢進状態であった。アスピリン 81mg/day の投与を開始した。検討項目として凝固系の分子マーカー Thrombin antithrombin complex(TAT), Prothrombin fragment F1+2(PTF1+2), 線溶系の分子マーカー D-dimer (DD), plasmin- α 2-plasmin inhibitor complex(PIC)を用いた。

結果

症例 1 では TAT はワルファリン投与後 1 年間の採血で全て正常範囲内(基準値 3.0ng/ml 以下),PTF1+2 は全て正常下限以下(基準値 0.4~1.4 μ g/ml), D-dimer は全て正常範囲(基準値 150 μ g/ml 以下),PIC は 2 回高値(基準値 0.8 μ g/ml 以下)であり、投与前と比較すると凝固亢進状態は改善され

ていた。この間ワルファリンの量は PT-INR を参考とし、1mg/日から 3mg/日の間でコントロールした。症例 2 では TAT は 4 度の測定全て正常範囲内であった。

考察

以前より筋ジストロフィー特に DMD で肺梗塞等の合併が指摘され、血液凝固系の報告も散見される。DMD では拡張型心筋症の合併が以前より指摘され、拡張型心筋症では心筋の動きが全周性に低下し、血流のうっ滞が起こり凝固因子の集積、凝固系の活性化が起こり心腔内に血栓を形成すると考えられている。一般内科的な治療指針では、拡張型心筋症ではワルファリンによる抗凝固療法が絶対適応であり、昨年度の検討で効果を認めた。ワルファリンの至適投与量としては、これまでに頻回に施行された心房細動患者の抗凝固療法の大規模検討²⁾で PT-INR が 2.0~2.5 程度が効果及び出血などの副作用を考慮すると良いとの報告が多く、本疾患では脳出血などの副作用は致命的なことも考えあわせて 2.0 前後でコントロールを行なった。しかしながらワルファリンでの薬物相互作用等を考慮すると、安易に投与することは出来ない。心房細動患者の抗凝固療法の大規模検討の比較対照として、アスピリンの投与が行なわれており、ワルファリンには劣るながらも効果を認めている²⁾。今回心機能低下と凝固亢進状態を合併したベッカー型筋ジストロフィー患者に対してアスピリン少量投与を施行し凝固亢進状態の改善がみられた。副作用や薬物のコンプライアンス等を考えると、若年の外来通院中患者や成人在宅療養中の患者に対して、アスピリン少量投与も考慮されるべきと考えられる。

結論

心機能低下と血液凝固亢進を合併した筋ジストロフィー患者に対してワルファリンによる抗凝固療法及びアスピリン少量投与による抗血小板療法は、有効と考えられる。

参考文献

- 1) 松家 豊, 足立 克仁ら: Duchenne 型筋ジストロフィー患者における心不全と血栓準備段階。筋ジストロフィーの臨床病態と遺伝相談及び疫学に関する研究, 平成 4 年度研究報告書, 1992, p 148
- 2) Petersen P, Boysen G, Godtfredsen J, et al: Placebo-controlled, randomized trial of warfarin and aspirin for prevention of thromboembolic complication in chronic atrial fibrillation: the Copenhagen AFSAK study. Lancet 1.175-179, 1989

ジストロフィン遺伝子におけるナンセンス変異と精神遅滞に関する検討

竹島泰弘^{1, 3)}、A.Kriswari²⁾、T.Wibawa²⁾、伊東利幸²⁾、住永亮¹⁾、松尾雅文^{2, 3)}、神戸大学医学部小児科¹⁾、医学研究国際交流センター²⁾、遺伝子診療部³⁾

【緒言】

Duchenne型/Becker型筋ジストロフィー (DMD/BMD) における重大な合併症のひとつとして精神遅滞があり、DMDの30%の症例にみられる。中枢神経系で発現している脳型ジストロフィンと精神遅滞の間には関連がみられないと報告されている。一方、ジストロフィンの3'側に遺伝子異常を有する症例に精神遅滞の合併が多いことを示唆する報告がみられ、ジストロフィンの中枢神経系に発現しているアイソフォームの精神遅滞への関与などが考えられるが、現在のところ一元的に全てを説明することはできない。

中枢神経系におけるジストロフィンの役割は不明な点が多いが、DMDに合併する精神遅滞の治療、予防を考える上において、これらの点を明かにする必要がある。今回、ジストロフィン遺伝子にナンセンス変異を有する5例に関して、変異の場所と精神遅滞合併の関係を検討した。

【症例および方法】

サザンブロット法あるいはマルチプレックスPCR法によってジストロフィンゲノムDNAに明らかな欠失がみられず、リンパ球あるいは筋組織のジストロフィンmRNAの解析によって明らかな長さの異常がみられないDMD/BMD 5例を対象とした。リンパ球あるいは筋肉より抽出したRNAを用いてPCR法によってジストロフィンcDNAを増幅し、ダイレクトシーケンス法によって塩基配列を解析した。さらに同定された変異をゲノムDNAにおいて確認し、変異と精神遅滞の合併の有無に関して検討を行った。

【結果】

今回解析したDMD 4例において、それぞれC1682T (エクソン12)、G5252T (エクソン36)、C6491T (エクソン43)、C8816T (エクソン58)の変異が、BMD 1例においてC11081T (エクソン76)の変異が同定され、いずれもナンセンス変異であった。

エクソン36にナンセンス変異がみられたDMD例では精神遅滞の合併が認められた。スプライシングの異常が認められた症例はなかった。

【考察】

ジストロフィン遺伝子異常に伴う精神遅滞の原因として、中枢神経系に発現しているジストロフィンアイソフォームや他の修飾因子を考える必要がある。精神遅滞を合併したDMDにおいて今までにいくつかの微小変異が報告されているが、ジストロフィン遺伝子の3'側に遺伝子異常が認められるものが多い。このような症例では、筋型ジストロフィンのみならず、イントロン55、およびイントロン62にプロモーターを有するS-ジストロフィン(Dp116)、G-ジストロフィン(Dp71)の発現もみられないことになり、このような3'側にプロモーターを有するジストロフィンアイソフォームの発現がみられないことが精神遅滞に関与している可能性が示唆されている。我々も昨年本研究班において、イントロン66のスプライス・ドナーサイトに点変異を有し、mRNAにおいてエクソン66のスキッピングが認められたDMD 2例を報告しているが、いずれも精神遅滞を合併していた。

一方、今回検討した5例において、精神遅滞を呈した1例はエクソン36にナンセンス変異があり、より3'側のプロモーターによって制御されている多くのジストロフィンアイソフォームは正常に発現していると考えられる。即ちこの症例では3'側の遺伝子異常とは異なった機構により中枢神経系の異常を呈している可能性がある。

また、逆にエクソン70にナンセンス変異C10302Tを認めるが、精神遅滞を呈していない例の報告もあり、今回検討したエクソン76にナンセンス変異が同定された症例も精神遅滞を呈していなかった。

精神遅滞を生じる機構は単一のものではない可能性があり、新たなアイソフォームの関与なども念頭において個々の症例を検討し、中枢神経系におけるジストロフィン遺伝子の役割を明らかにする必要がある。

福山型先天性筋ジストロフィーとハプロタイプを異にする先天性筋ジストロフィーの臨床的検討

吉岡三恵子

神戸市総合療育センター・

神戸市立中央市民病院 小児科

戸田達史・近藤恵里

東京大学医科学研究所

ヒトゲノム解析センター

緒言

福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)の遺伝子は染色体 9q31 に存在し、患者ゲノムのほとんどに 3 kb の挿入が認められる事が明らかにされた。又、この挿入はハプロタイプによる創始者染色体に一致し、3 kb 挿入以外にも FCMD 遺伝子にはいくつかの変異のあることがわかった¹⁾。これらの事実から、遺伝学的に FCMD の診断をする事が可能になってきた。最近では、臨床的に FCMD が疑われる患者を見た場合、先ず末梢血リンパ球より DNA を抽出し、サザン解析によって 3kb 挿入の有無を調べるようになった。3kb 挿入のない場合には、SSCP 法やダイレクトシーケンスによって遺伝子変異をさがす方法がとられている。今回、我々は FCMD と類似の臨床症状を示すが、FCMD の遺伝子変異をもたない症例を経験した。その臨床像を提示し、FCMD との鑑別について検討した。

症例及び方法

10 歳の女子。両親に血族結婚はみられない。9 歳年長の兄は生下時より高度の筋緊張低下を示し、血清 CK 値の上昇、筋電図での筋原性変化、頭部 CT で大脳白質低吸収域が認められ、他院で FCMD の診断を受けていた。生後、肺炎を繰り返し 1 歳 11 カ月で死亡した。

患者は在胎 39 週、生下時体重 3,088g で帝王切開で出生し、仮死はなかった。3 カ月検診で頸定が見られず筋緊張低下が強い事を指摘され、血清 CK 値も 5,350IU/L と上昇。1 歳 7 カ月時に精査を受け、全身の筋緊張低下、顔面筋罹患、股・膝・足関節の関節拘縮、腓腹筋の仮性肥大を認めた。この時、頸定は見られず、寝返りもできなかったが、笑い・追視・単語数は見られていた。CT 及び MRI で脳室拡大、厚脳回、

白質病変を示したが眼科所見には異常なく、けいれんもなかった。

患者及びその両親の血液より DNA を抽出し、CA リピート多形性マーカー D9S2105-D9S2170-D9S2171-D9S2107 でアレルタイプした。

結果

患者は創始者のハプロタイプを持っていなかった。その後、患者の全 coding 領域及び exon-intron junction について塩基配列を決定したが、現在の所 mutation は見つかっていない。

考察

この症例は健康な両親から生まれ、同じような症状を示す兄がある事から、常染色体劣性遺伝を示す疾患に罹患していると考えられる。又、生後間もなくから高度の筋緊張低下と高 CK 血症を示し、乳児期の運動発達遅延が見られることから、臨床的には先天性筋ジストロフィー(CMD)と診断される。更に、頭部 CT や MRI で大脳白質病変を認める点から CMD の中でも FCMD、メロシン欠損症、Walker-Warburg 症候群(WWS)、Muscle-eye-brain disease(MEB)が考えられる。しかし、著明な精神発達遅延と CT/MRI での厚脳回の存在は、メロシン欠損症よりむしろ他の 3 疾患を疑わせ、眼科学的・脳波学的異常やけいれんのない点は、これら 3 つの疾患の中でも FCMD に最も近いと思われる。

結論

患者のゲノムには FCMD 遺伝子のプロモーターやイントロンにまだ見つけられない変異が存在するか、FCMD には genetic heterogeneity (second locus?) があるのか、あるいはこの患者は FCMD ではなく、別のタイプの CMD である可能性等が考えられた。

参考文献

1) Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, et al: An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 1998; 394:388-392.

デュシャンヌ型筋ジストロフィーの知能指数と遺伝子異常

分担研究者 多田和雄*

共同研究者 高橋桂一*, 中西 孝**

河本邦彦*, 三谷真紀*, 陣内研二*

国立療養所兵庫中央病院 *神経内科

**児童指導員

目的

デュシャンヌ型 (DMD) の知能指数 (IQ) は 14~136 にわたり平均値は 68~87, 75 以下は 23~70% と報告されている。知能低下と遺伝子異常部位が関連があるとする報告と否定する報告がある。当院の症例でこれらを検討し報告する。

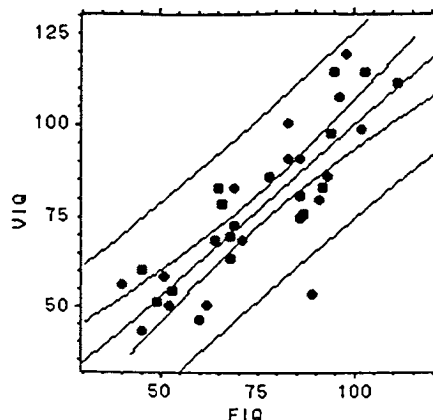
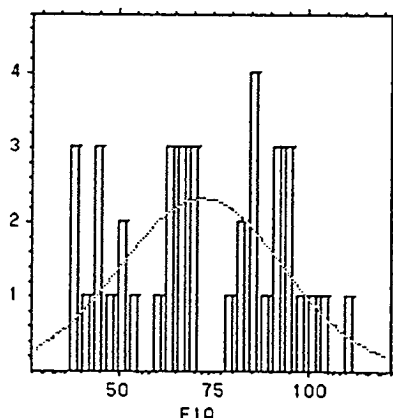
方法

IQ は WISC-R および WAIS-R にて言語性評価 (VIQ), 動作性評価 (PIQ), 全検査評価 (FIQ) を行った。遺伝子解析はサザン法, multiplex PCR (Chamberlain & Beggs の 19 primers) で行った。

結果

39 名の DMD で IQ の評価を行った。FIQ は 71.8 ± 21.2 (SD) であった。FIQ の 39 以下は 3 名, 40~69 は 17 名で, 70 以下を精神遅滞 (MR) とすると 51% を占めた。70~79 の境界領域が 2 名, 80~89 の平均下位が 7 名, 90~109 の平均域が 9 名, 111 が 1 名であった。度数分布を下図に示す。VIQ, PIQ の評価可能であった 35 名の内, $VI < PI$ は 19 名 (54.3%), $VIQ > PIQ$ は 15 名 (42.8%), $VIQ = PIQ$ は 1 名であった。FIQ は VIQ と $r = 0.83$ ($p < 0.001$) (右上図), PIQ とは $r = 0.71$ ($p < 0.001$) と相関し, VIQ と PIQ は $r = 0.38$ ($p = 0.024$) と低い相関を示した。

38 名でサザン法あるいは PCR のいずれか, あるいは両法で遺伝子解析を行った。FIQ 39 以下



の 2 名は兄弟で PCR で exon 50, 51, 52, 60 の欠失が検出された。1 名は PCR で 5, 8, 12, 13 の欠失であった。IQ 40~69 の 17 名の内 10 名が PCR で欠失を認めず, その他 8-12, 19, 45-51, 47-51, 47-52, 51, 52 の欠失が検出された, FIQ 70 以上の 18 名中 8 名で欠失を認めず, 他の欠失部位は 4-20, 6-19, 8-52, 45-51, 45-52, 48-50, 48-50 (2 名), 49-50, 51 の欠失が認められた。

考察および結論

FIQ の度数分布は正規分布 (点線) とかけ離れ, 極めて低い群, 60~70 の群, 境界~正常下位の群に分かれ, 質的に相違すると考えられた。当院の DMD の半数で FIQ 70 以下の MR を認めた。これまでに DMD では PIQ より VIQ が低いことが報告されているが, 我々の結果はそれに相当する者は 42.8% であった。FIQ は VIQ と最も相関し, 臨床的観察とも一致する。

知能低下の原因を脳におけるジストロフィン異常とするのは一つの考えではあるが, 正常やそれ以上の IQ の DMD の存在も事実であり, 個々の症例の発達過程に於ける質的な相違を考慮する必要がある。

Bushby らは遺伝子異常部位と IQ の関連はないと報告している。一方 Rapaport らは exon 52 の欠失との関連を, Tuffery らは C-端の機能を強調し, Lenk らは Dp71 や Dp116 の promotor に注目し, exon 62~74 の解析を行っている。最近 Chen は石川らの症例で Dp116 の promotor 領域の異常と MR の関連を報告している。

我々の症例の FIQ 39 以下の 3 例では 6-13 の欠失もあれば 50-60 の欠失もあり, 結果の如く, 調べた遺伝子の範囲では, ジストロフィン遺伝子欠失部位と知能低下の関連は見出すことが出来なかった。脳における Dp71 の発現など個々の症例で検索する必要がある。

筋ジストロフィーにおける心筋トロポニンT、心筋トロポニンIおよびアデノシンの検討

下山良二 河原仁志 矢野修一
国立療養所松江病院

目的

筋ジストロフィー患者の心不全治療は、運動能と心臓予備能の相対的な関係、呼吸不全の関与などにより複雑となる。最近、慢性心不全の治療において臓器保護の立場からACE阻害剤の早期投与が奨められている。そこで我々は微小心筋障害で血中に逸脱する血清第二世代心筋トロポニンT (TnT) および心筋トロポニンI (TnI) と心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド (ANP・BNP) とならんで慢性心不全に対する代償的な改善因子として作用しているとされるアデノシンを測定して筋ジストロフィーの心不全診療における診断的な意義を検討した。

方法

対象はDuchenne型筋ジストロフィー (DMD) 13例 (平均年齢10.2±5.0歳)、Becker型筋ジストロフィー (BMD) 5例 (平均年齢32.6±13.4歳)、筋強直性ジストロフィー (MyD) 12例 (男性6例、女性6例、平均年齢45.6±15.7歳)であった。第二世代心筋TnT、心筋TnI、アデノシンを測定し、ANP・BNP、心エコーによる左室駆出率 (LVEF) を中心とした心不全の指標および呼吸管理等の状態との関係を検討した。

結果

【DMD群】CK値が26562IU/Lと著明な高値を示す症例をはじめとして、TnTが異常高値を示す症例はみられなかった。TnIが高値を示したのは、3歳男児で歩行可能、アデノシン、TnT、ANP、BNP、LVEFともに正常範囲であった。

TnTとCK値との有意な相関は認めなかった。

アデノシンで異常高値を示したものは、2例みられたが心不全の徴候を示したのは、1例であった。

アデノシンとLVEFとで有意な負の相関がみられた。アデノシンとANP・BNPとでは有意な相関を認めなかった。

【BMD群】TnTおよびTnIは全例正常範囲であった。

アデノシンで異常高値を示したものは一例でありNPPVを施行されて心室頻拍を合併し心不全の徴候を示した。

【MyD群】TnT、TnIともに全例正常範囲であった。アデノシンが異常高値を示したのは3例あり、そのうち一例は心房細動をきたしもう一例は心不全徴候を示していた。

アデノシンとLVEFとの関連では有意な負の相

関が見られたが、アデノシンとANP・BNPとの有意な相関はみられなかった。

考察

第一世代のTnT測定法については骨格筋との交叉性が2%あり、また骨格筋の再生がおこる状態ではTnTのisoformが発現するため活動性の心筋障害を評価する事ができない問題点があった。

今回我々は骨格筋との交叉性が0.02%とより鋭敏な第二世代の測定系を用いた。今回の検討では筋肉の壊死再生の強いDMD例においてもTnTは異常高値を示さず、CKとの相関を認めなかったことから第二世代トロポニンTは心筋障害を正しく表す可能性があると思われる。

TnIについては骨格筋でのisoformが出現しないことから、骨格筋の壊死再生を伴う状態でも活動性の心筋障害を示すと報告されている。3歳のDMD男児でTnIが高値を示したことは、微小心筋障害を示唆すると考えられた。

アデノシンは虚血、低酸素下にて心筋から大量に放出され、また運動、β受容体刺激、心拍数増加などにより心筋の酸素需要が増大するときも産生が増加する。作用としては、冠血流増加作用、βアドレナリン受容体遮断作用、レニン-アンギオテンシン系抑制作用などを有し、このことから、ANP、BNPとならんで慢性心不全の病態にたいし代償的な改善因子として作用しているものと予測されている。そして虚血性・非虚血性慢性心不全症例において、末梢血中アデノシンレベルが、いずれにおいてもその重症度に応じて増加しているとの報告もある。

今回の我々の検討ではアデノシンとLVEFとの負の相関がDMD、MyDでみられたことから、アデノシンは筋ジストロフィーの心不全の評価に応用できる可能性があると考えられた。

ナトリウム利尿ペプチドとの有意な相関はみられなかった。これは、それぞれの分泌刺激がANP・BNPでは心房筋の伸展、心室への前負荷・後負荷なのに対して、アデノシンでは虚血、低酸素であるという違いからくると考えられた。

参考文献

- 1) Bodor GS, et al: Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle. *Clinical Chemistry* 1997;43:476-484
- 2) Funaya H, et al: Plasma adenosine levels increase in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1997;95:1363-1365
- 3) 松岡幸彦: Duchenne型筋ジストロフィーにおける血清トロポニンI値の検討. 厚生省精神・神経疾患研究委託、筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身病態の把握と対策に関する研究、平成9年度研究報告集 p97

デュシェンヌ型筋ジストロフィー剖検例における腎臓の病理組織学的検討
～血管の変化を中心に～

香川典子¹、山崎真子¹、
大川美樹¹、和田美智子²、
遠藤秀子²、佐野壽昭²
(1 徳島大学医療技術短期大学部、2 徳島大学医学部第一病理)

[目的]

筋ジストロフィーでは血栓・梗塞症の発生が高率であることが、臨床的、病理学的に明らかにされ¹⁾、死因とも関連することが示され、凝固異常と関連し検討課題となっている²⁾。我々はこれまでに自験剖検例について肺を含む全身諸臓器の血栓・梗塞病変の病理組織学的解析を行い、筋ジストロフィーでは非筋ジストロフィー例に比較してその発生頻度が高いことを明らかにした³⁾。しかし筋ジストロフィーにおける血管自体の組織学的解析は乏しく、血栓・梗塞症と血管全体の器質的変化との関係については不明である。今回、剖検腎について血管を中心に病理組織学的検討を行ったので報告する。

[材料および方法]

1971年から1998年に徳島大学および国立療養所徳島病院にて剖検されたデュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 43例 (13歳～31歳；平均年齢21.8歳) の腎臓について、剖検記録、ホルマリン固定材料および病理組織標本をもとに、肉眼所見、組織学的所見について調べた。なお対照として非筋ジストロフィー剖検3例 (11歳～37歳) の腎臓を用いた。

[結果]

腎重量は80～190g (重量減少が22例、正常が17例、増加が3例、馬蹄腎例は重量記載なし) で、馬蹄腎1例、梗塞4例、腎盂腎炎2例、敗血症による膿瘍2例、水腎症2例 (馬蹄腎例および腎盂腎炎例) であった。

腎動脈は肉眼的には動脈硬化を認めなかったが、腎表面に細動脈硬化を思わせる細顆粒状変化が11例にあり、組織学的に、被膜下の炎症細胞浸潤がみられた。11例の腎重量は必ずし

も減少していなかった。11例の平均年齢は25.5歳で、1例を除き1985年以降の剖検例であった。

また、糸球体の硬化像が29例に認められ、うち7例では多数の糸球体に硬化像が認められた。この硬化像は糸球体全体に及んでおり、segmentalな硬化でないのが特徴的であった。なお、多数の糸球体硬化の見られた7例には、すべて腎表面に細顆粒状変化があった。

2例に内膜の肥厚による比較的太い血管内腔の狭小化があったが、うち1例は腎梗塞例で当該血管は梗塞巣近くにあり、もう1例は肺梗塞例であった。2例とも糸球体の硬化像が認められたが、狭小化をきたした血管と硬化をきたした糸球体の分布とは関連がなかった。

なお、対照例では腎表面に細顆粒状変化はなく、糸球体の硬化像も全く認められなかった。

[考察]

DMD患者は若年であり動脈硬化など全身的な血管変化は乏しいが、今回の検討から高齢者の腎に類似した糸球体硬化性変化が比較的高率に存在することが明らかとなった。この細血管の硬化性変化の原因には、血流量低下・循環障害、血液凝固異常、全身的な炎症性病態などの因子が関与し、その結果、加齢性変化に類似した像を呈しているものと推測された。また、この変化は、最近剖検されたDMDとしては高齢の症例に多く見られる傾向があったが、医療技術の向上により寿命が延長されたDMD患者において、20歳過ぎから急速に細血管の加齢性変化が出現するものと思われた。なお、腎重量は必ずしも低下しておらず萎縮性変化に末期の鬱血が加わったものと推測された。

[参考文献]

- 1) Gaffney, J. F. et al.: Left ventricular thrombus and systemic emboli complicating the cardiomyopathy of Duchenne's muscular dystrophy. Arch. Neurol., 46:1249-1252, 1989.
- 2) Rubler, S. et al.: Duchenne's muscular dystrophy. Am. Heart J. 94:776-784, 1977.
- 3) 和田美智子ら デュシェンヌ型筋ジストロフィー剖検例における梗塞病変の病理組織学的検討. 神経内科, 50:168-176, 1999.
- 4) Moriuchi, T. et al.: Autopsy analyses of the muscular dystrophies. Tokushima J. Exp. Med. 40:89-93, 1993.

筋ジストロフィー剖検例登録の現況ならびにデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)剖検例の統計学的解析

和田美智子¹、佐野壽昭¹
森内 幹¹、香川典子²
山崎真子²、大川美樹²
(1徳島大学医学部第一
病理、2徳島大学医療技術
短期大学部)

1. 筋ジストロフィー剖検例登録の現況

本年度は16例 (Duchenne 2, Becker 1, FCMD 1, CMD1, MyD 10, Unclassified 1)が登録され、総数422例となった。病型別登録数は以下の通りである。

Duchenne	297	Female DMD	2
Becker	7	Emery-Dreifuss	2
L-G	16	Malignant L-G	3
FSH	6	FCMD	38
Ullrich	2	CMD,nos	11
Distal	2	Myotonic	44
Unclassified	8		

2. デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)剖検例の統計学的解析

【目的】

我々は1993年に筋ジストロフィー登録例(329例)の解析を行い報告した¹⁾が、その後解析は行われていない。今回、1998年までに登録された295例のDMD剖検例について死因、臓器所見などを解析し、全身状態の経時的変化について検討したので報告する。

【対象と方法】

295例のDMD症例について死亡年齢、死因、主臓器(心臓、肝臓、脾臓、腎臓、脳)の重量を検討した。死亡年齢、死因について1970年から5年ごとに集計した。主臓器の重量はAimira²⁾が報告した年齢、性別にみた正常日本人の臓器重量を参考に正常値より±20%を偏りとし、年齢ごとに重量減少、正常重量、重量増加の割合を検討した。年齢別に10~14歳、15~19歳、20~24歳、25~35歳に分けた。

【結果】

295例のDMDの寿命(図1)は10歳から35歳までに分布しその平均は19.5歳であった。1980年以降は5年ごとに平均寿命の延長がみられ(表1)、1985年以降、30歳以上の症例が10例見られた。

265例の死因(図2)は、1970年代前半では肺感染症による死亡が25.5%にみられたがその後減少し、1985年以降約5.0%までに減った。DMDに起因する心不全、呼吸不全が死因の大半を占めたが、1990年以降にその他の死因が増加し、40例の内6例(15%)に気管潰瘍や腕頭動脈への穿孔による出血死が特徴的

にみられた。

280例の心重量(表2)は10~14歳では増加例の占める割合が高く、15~24歳では重量減少例が多く、25歳以上の症例では正常例の割合が高値であった。心拡張や心肥大の程度は重量の増減と関係していたが、瘢痕については重量との相関は明らかではなかった。

274例の肝重量(表3)は各年齢で減少例が大半を占め、全体では減少87.6%、正常10.6%、増加1.8%であった。組織学的にはおもにうっ血および脂肪変性が認められた。

267例の脾重量(表4)は肝同様に減少例が多く、全体では減少63.3%、正常22.8%、増加13.9%であった。組織学的におもにうっ血の所見が見られた。

269例の腎重量(表5)は10~14歳では増加例、15~19歳では正常例、20~24歳では減少例、25歳以上では正常例の割合が高値であった。うっ血の所見が約3割に認められた。

152例の脳重量は96.0%が正常であった。減少例が5例、増加が1例であった。脳の正常重量のうち脳発育不全が4例、脳回異常が5例、脳梗塞が4例に見られた。脳重量減少例では脳梗塞1例が認められた。

【考察】

DMD症例の平均寿命は1985年以降20歳以上となり、30歳以上の症例も増え、確実に寿命の延長がみられる。死因は呼吸器感染症が減少し、さらには直接DMDに起因する心・呼吸不全死が減少してきており、抗生物質や呼吸管理技術の進歩とともに的確な補助療法が実践されてきていることが伺われる。一方で、以前報告した³⁾ように1990年以降、人工呼吸器装着による合併症の出血死が特徴的であったが、1995年以降は1例の報告しかなく、気管切開患者への細心の注意が払われてきているものと思われる。

主臓器の重量では25歳以上を越えて生存した症例は重量正常例が多く、循環動態や栄養状態を良好に保つことが寿命の延長につながるのではないかと考えられた。しかし長期生存例でも肝の重量減少が顕著にみられ、DMDに起因する低酸素状態が一因と考えられたが、DMDの生命予後に関与しているかは今後の検討課題である。

文 献

- 1) Moriuchi T, Kagawa N et al: Autopsy analyses of the muscular dystrophies. Tokushima J exp Med 40: 83-93, 1993
- 2) Aimi S, Yasoshima S et al: Studies on the weight and size of internal organs of normal Japanese. Acta Pathol Jpn 2: 173-200, 1952
- 3) 筋ジストロフィー症気管挿管例の気管潰瘍について 筋ジストロフィーの臨床・疫学及び遺伝相談に関する研究 平成5年度研究報告書 227-230, 1994

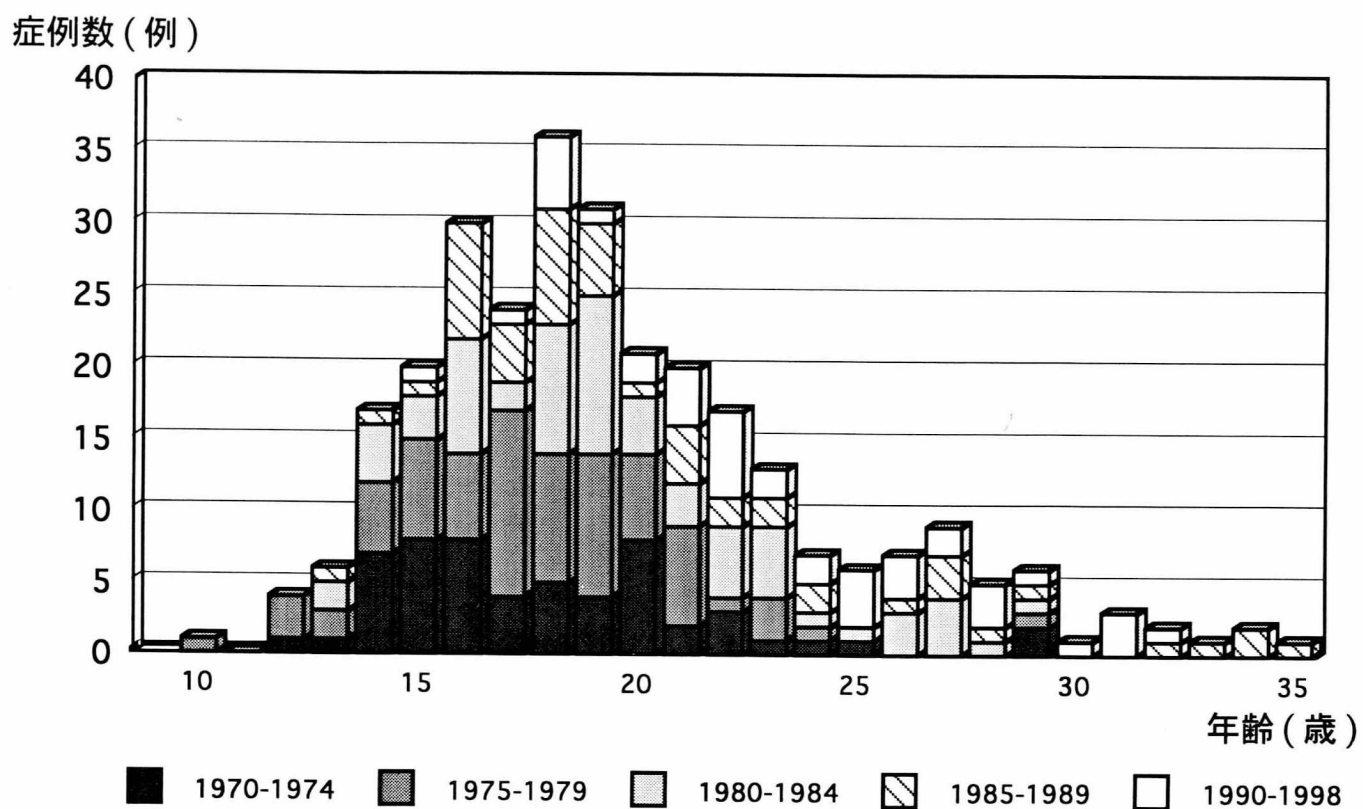


図1 DMD 剖検症例の年齢分布

年	症例数(例)	剖検時年齢(歳)	平均寿命(歳)
1970~1974	56	12~29	17.9 ± 3.6
1975~1979	75	10~29	17.6 ± 3.1
1980~1984	67	13~29	19.7 ± 4.0
1985~1989	50	13~35	21.0 ± 5.6
1990~1994	28	15~32	23.1 ± 4.4
1995~1998	14	18~31	24.5 ± 4.1

表1 DMD 症例の平均寿命

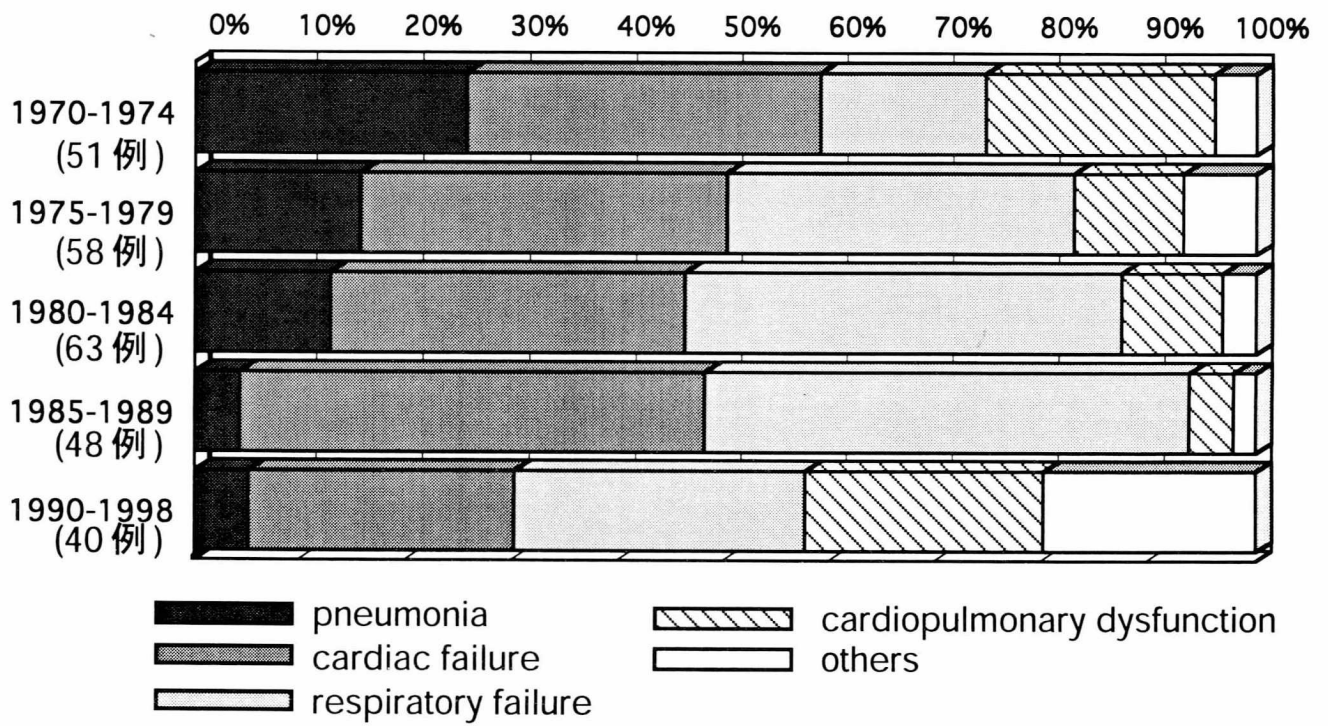


図2 DMD 剖検症例の死因の変化

年齢 (歳)	重量減少	正常重量	重量増加	計
10～14	7 (23.3%)	11 (36.7%)	12 (40.0%)	30 (100%)
15～19	52 (38.5)	45 (33.3)	38 (28.2)	135 (100)
20～24	39 (54.2)	21 (29.2)	12 (16.6)	72 (100)
25～35	9 (20.9)	26 (60.5)	8 (18.6)	43 (100)
計	107 (38.2)	103 (36.8)	70 (25.0)	280 (100)

表2 DMD 剖検症例の年齢別心重量

年齢 (歳)	重量減少	正常重量	重量増加	計
10～14	20 (69.0%)	8 (27.6%)	1 (3.4%)	29 (100%)
15～19	111 (84.1)	18 (13.6)	3 (2.3)	132 (100)
20～24	69 (97.2)	2 (2.8)	0	71 (100)
25～35	40 (95.2)	1 (2.4)	1 (2.4)	42 (100)
計	240 (87.6)	29 (10.6)	5 (1.8)	274 (100)

表3 DMD 剖検症例の年齢別肝重量

年齢 (歳)	重量減少	正常重量	重量増加	計
10～14	15 (51.7%)	4 (13.8%)	10 (34.5%)	29 (100%)
15～19	77 (59.3)	38 (29.2)	15 (11.5)	130 (100)
20～24	52 (75.4)	10 (14.5)	7 (10.1)	69 (100)
25～35	25 (64.1)	9 (23.1)	5 (12.8)	39 (100)
計	169 (63.3)	61 (22.8)	37 (13.9)	267 (100)

表 4 DMD 剖検症例の年齢別脾重量

年齢 (歳)	重量減少	正常重量	重量増加	計
10～14	1 (3.6%)	6 (21.4%)	21 (75.0%)	28 (100%)
15～19	32 (24.2)	70 (53.0)	30 (22.7)	132 (100)
20～24	41 (59.4)	25 (36.2)	3 (4.3)	69 (100)
25～35	11 (27.5)	25 (62.5)	4 (10.0)	40 (100)
計	85 (31.6)	126 (46.8)	58 (21.6)	269 (100)

表 5 DMD 剖検症例の年齢別腎重量

進行性筋ジストロフィーに対するグリチルリチンの長期的効果の検討 ——肺機能に関して——

小池文彦
安徳恭演
酒井徹雄
田中 薫
山口通子

国立療養所筑後病院 神経内科

緒言

進行性筋ジストロフィーは遺伝子異常による疾患であり、その診断は遺伝子解析の進歩により確実なものとなりつつあるが、その治療法は確立されていない。遺伝子治療はいまだ実験段階であり、薬物療法としてはステロイドホルモンの有効性が報告されているものの副作用が問題となる。

過去我々は、甘草からの抽出物グリチルリチンを Duchenne 型や顔面肩甲上腕型などの進行性筋ジストロフィーに対して投与し、短期間ではあったがその有用性と安全性について報告してきた^{2,3)}。今回は Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) において、予後に影響を及ぼすと思われる肺機能に対するグリチルリチンの長期的効果を検討したので報告する。

方法

対象は DMD 患者 5 名。グリチルリチン投与開始年齢は 14.8 ± 0.84 歳で現在 21.6 ± 1.14 歳である。グリチルリチンは 1 日量として $150 \sim 300$ mg 経口的に投与した。投与期間は 1 例のみ 3 年半で、残りの 4 名は 5 年以上服薬し現在に至っている。いずれもインフォームド・コンセントを得ている。

肺機能の評価としては努力性肺活量 (FVC) を用いた。

結果

FVC(1) は、投与開始 1 年前が 1.83 ± 0.86 、投与開始直前が 1.83 ± 0.93 、1 年後が 1.91 ± 0.88 、3 年半後が 1.81 ± 0.90 、5 年後が 1.46 ± 0.97 であった。また FVC が投与開始直前より上回る人数は、半年後で 4 名、1 年後で 3 名、3 年後で 3 名、4 年後で 2 名、5 年後で 1 名であった。尚、1 例が投与開始 3 年半後に NIPPV に移行したが、FVC(1) の前値が 0.36 と極めて低い例であった。

全例、特に低カリウム血症などの副作用は認めなかった。

考察

努力性肺活量 (FVC) の低下がより明らかとなり始める頃からのグリチルリチンの投与であったが、投与後 3 年程は FVC の著明な悪化が見られなかった。また 1 例ではあったが、5 年後でも FVC の値が投与前の値を上回っていた。これらのことは、DMD 患者の肺機能に対しグリチルリチンが長期にわたり有用であることを示していると思われる。また DMD 患者において肺機能の低下を抑えることは予後の改善にもつながり、歩けなくなった後からの治療も無意味でないことを示唆していると思われる。

今後症例をさらに増やし、できれば二重盲検法による客観的な検討が必要と思われる。

結論

肺機能について検討したが、Duchenne 型筋ジストロフィーに対するグリチルリチン投与は、長期においても有用である可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Fenichel GM et al : Long-term benefit from prednisone therapy in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 41:1874-1877, 1991
- 2) 安徳恭演ほか: Duchenne 型筋ジストロフィーに対するグリチルリチンの効果. *神経内科* 39:573-574, 1993
- 3) 安徳恭演ほか: Duchenne 型、Becker 型、顔面肩甲上腕型進行性筋ジストロフィー各病型に対する glycyrrhizin の 6 ヶ月オープン試験における臨床的効果. *神経治療学* 15 : 191-197, 1998

脊髄性筋萎縮症におけるペルオキシゾーム機能異常の検索

小池文彦
安徳恭演
酒井徹雄
田中 薫
山口通子
国立療養所筑後病院 神経内科

緒言

最近M.R.Baumgartnerらは、ペルオキシゾーム機能異常によるWerdnig-Hoffmann病類似の疾患を報告¹⁾し、脊髄性筋萎縮症(Spinal muscular atrophies;以後SMAと略す)及びその類似の疾患においてペルオキシゾーム機能異常の有無を調べる必要性を提唱した。そこで今回我々は、血漿の極長鎖脂肪酸を指標にSMAについて検索を行った。

方法

対象は当院入院または通院中のSMA 8名。(SMA II 5名、SMA III 3名、男性5名、女性3名、平均年齢 36.1 ± 15.6 歳)

静脈血(ヘパリン加)より血漿を分離し、Folchらの方法²⁾により総脂質を抽出した。総脂質からは、Antokuらの方法³⁾により総脂肪酸を抽出し、高速液体クロマトグラフィーにより、極長鎖脂肪酸(C26:0/C22:0)を分析した。

結果

全例、血漿のC26:0/C22:0は正常範囲でペルオキシゾームの異常は示唆されなかった。(C26:0/C22:0: 0.008 ± 0.002 , 基準値: 0.033以下)

考察

今回我々が調べた範囲では、ペルオキシゾームの異常を呈するSMAは認めなかった。SMA Iに相当するWerdnig-Hoffmann病が検査対象に入っていなかったこと及び検査した例数が少なかったことが一因かもしれない。ペルオキシゾーム機能異常では、最近副腎白質ジストロフィーなどで治療法が提示されてきており、今後SMA及びSMA類似の症例の数を増やして検索していく必要があると思われた。

結論

今回調べた範囲では、ペルオキシゾーム機能異常を示唆するSMAまたはSMA類似の症例は認めなかった。今後引き続き症例の蓄積が必要と思われる。

参考文献

- 1)M.R.Baumgartner et al : Defective peroxisome biogenesis with a neuromuscular disorder resembling Werdnig-Hoffmann disease. Neurology, 51:1427-1432, 1998
- 2)Folch J et al : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 226 : 497-509, 1957
- 3)Antoku Y et al : A comparison of erythrocytes, lymphocytes and blood plasma as samples in fatty acid analysis for the diagnosis of adrenoleukodystrophy. J Neurol Sci 94 : 193-200, 1989

筋ジストロフィー患者における尿路結石

後藤勝政¹⁾、杉原里恵¹⁾、幸重啓子¹⁾
黒川 徹²⁾
国立療養所西別府病院神経内科¹⁾
小児科²⁾

緒言

あるDuchenne型筋ジストロフィー患者において大きな尿路結石の存在が確認された。そこで筋ジストロフィーおよび類縁疾患の患者において尿路結石を生じやすいどのような病態があるのかを検討した。

症例

まず、今回の研究のきっかけとなった症例を呈示する。症例は25歳のDuchenne型筋ジストロフィーの患者である。9歳で歩行不能となり、平成1年10月から坐位保持不能、心不全による全身状態の悪化をきっかけに平成3年8月からCRを開始した。平成4年1月からCRをほぼ終日使用するようになった。平成6年1月からCRをNIPPVに変更したが、24時間人工呼吸器を装着し、一日中ベッドに臥床した状態である。以前よりときどき、腹痛、血尿を認め、腹部レントゲンにて腎結石の存在を認めていたが、だんだん大きくなり、両側の腎盂、腎杯をしめるようになっている。

対象および方法

DMD患者25名とその他の入院患者14名 (MyD、LG、ALSなど)、平均年齢28±14歳 (すべて男性) を対象として、血液中のCa、P、Mg、尿酸、PTH、ビタミンD、オステオカルシン、ICTP、PICP、および、尿量、尿Ca、P、Mg、尿酸、PH、尿中クエン酸、尿中シュウ酸、尿中デオキシピリジノリンを測定し、検討した。また、31名の患者で腹部CTを撮影し、腎結石の有無を調べた。患者を、ほぼ一日臥床状態にあるものを寝たきり群、車椅子や電動車椅子で動き回っているものを活動的群として分けて検討した。

結果

腹部CTにて検討した31名中3名に腎結石を認めた。血清Ca、血清Pはほぼ正常であった。血清Mgは多くは正常範囲で少数例で高値を示した。血清Mgは寝たきり群が活動的な群より、有意に高い値であった。尿酸は高値の例をかなり認めた。

骨代謝の指標のうち、Ca代謝のマーカーである副甲状腺ホルモン、ビタミンD、主に骨形成を表すPICP、オステオカルシン、骨吸収を表すICTP、尿中デオキシピリジノリンにおいて検討した。PTHとビタミンDはほとんどが正常であったが、腎結石の著明な症例で高値を示した。骨形成マーカー、骨吸収マーカーはともに若年で高く、年齢が上がるとともに低下した。寝たきり群と活動的群では差は認めなかった。

次に尿の結果を示す。一日の尿Ca、Pの量は正常よりも低下している症例が多く、尿酸も低下しているものを特に寝たきり群で認めた。Mgは多くは正常であったが、呈示した症例で非常に高いのが特徴的であった。P、Mg、尿酸は寝たきり群と活動的群で有意差を認め、P、尿酸は活動的群で高く、Mgは寝たきり群で高値であった。尿PHは少数で高く、尿量は少ない症例がかなりあった。シュウ酸は多くが正常であったが、クエン酸は低下した症例が多くあった。

考察

尿路結石は一般人口の約20人に一人が生涯の間一度は罹患する危険のあるポピュラーな病気であるが、発症のピークは40歳台である。

尿路結石の成分ではシュウ酸カルシウムやヒドロキシアパタイトなどのカルシウム結石が80%と最も多く、ついでリン酸マグネシウムアンモニウム、カーボネートアパタイトなどの感染結石が10%、尿酸および尿酸塩結石は5%、シスチン結石が1%といわれている。一般的な結石形成の要因としては尿流停滞、尿濃縮などがあげられ、臥床、運動不足なども関係する。もっとも頻度の高いカルシウム結石の主な成因として高カルシウム尿症、高シュウ酸尿症などがあげられるが、その原因のひとつとして長期臥床や骨粗鬆症などによる骨からのカルシウム遊出によるものが知られている。

今回、検討した項目では明らかな特異的異常は認められなかったが、患者の中には骨粗鬆症の治療目的で活性型ビタミンD薬あるいはCa製剤を投与されているものもあり、高Ca血症をきたしやすい状態にあると考えられる。

結論

筋ジストロフィーの患者における尿路結石の成因として、長期臥床による尿流停滞や尿濃縮などの影響、およびビタミンD剤などの薬剤による影響が大きいものと考えられた。

長崎県の「遺伝相談モデル事業」と神経筋基幹施設としての「国立川棚病院」との連携

分担研究者 藤下 敏 1)

共同研究者 近藤達郎 2)、松本 正 3)、新川詔夫 4)、渋谷統寿 1)

1) 国立療養所川棚病院神経内科、2)長崎大学医学部小児科、3)長崎大学医療技術短期大学部、4)長崎大学医学部原研遺伝

緒言

近年分子遺伝学の発展に伴い、神経疾患を含む種々の遺伝性疾患で病因・病態のメカニズム解明が明らかにされつつある。臨床の場でも確定診断などに遺伝子解析が取り入れられる疾患数が増加してきている。しかし、遺伝相談自体は主治医が行っている所が多く、専門的な遺伝カウンセリングとして独立していないのが現状と思われる。今年10月より、長崎県が「遺伝相談モデル事業」を立ち上げ、新たなカウンセリングシステムの樹立について検討が行われた。その中で筋ジストロフィーなど遺伝性神経筋疾患の多い当院とカウンセラーとの新しい連携について紹介する。

これまでの経過

当院では、昭和62年より筋ジストロフィー患者の遺伝子診断を院内で行い、同時に遺伝子相談を行っていた。また他院から依頼された遺伝子診断は当院の結果に基づき他院の医者が説明していた。長崎大学小児科内では、昭和61年から「遺伝外来」を行ない、診断とカウンセリング及びフォローを行っている。来院患者は様々な染色体異常症や奇形症候群からなる。来院数は、平成10年は延患者数は411名、平成11年は500名を超えた。神経疾患としては筋緊張低下、発達遅延などで来院することが多い。しかし、成人発症の遺伝子疾患患者の来院数は少ない。診断がつかない場合には、長崎大学や他の専門医との検討、日本人類遺伝学会後に開かれる「dysmorphology」で提示して極力診断するようにしていた。筋ジストロフィーについては遺伝子解析を含む診断・方針立てを国立療養所川棚病院で行っていた。

今後の動向

「遺伝相談モデル事業」の目的は障害児・障害者のノーマライゼーションの観点から、適切なカウンセリング、情報提供を行うことで患者・家族の精神的負担軽減を図ることであり、長崎県では来年4月からの本格的実施に向けての準備に入った。具体的には、長崎県内の10ヶ所の保健所で保健婦を中心として遺伝カウンセリングについての講習会を行っている。今後の予定として、保健所、国公立病院、大学病院と遺伝カウンセリング室間を結んで、患者にとって利用しやすいように情報交換を行うことである。神経筋疾患については国立療養所川棚病院が担当するように、疾患別に種々の専門機関・研究施設へ紹介相談もおこなう。長崎大学病院では来談者のニーズに答えられる体制を検討し、「遺伝カウンセリング室」を設ける事となった。

基本的にはプレカウンセリング、スタッフカウンセリング、本当のカウンセリングの3段階方式とし、川棚病院からは遺伝性神経筋疾患のスタッフとして参加の予定である。

考察と結論

日本における遺伝カウンセリングについては、動きだしたばかりである。アメリカ、オーストラリア、イギリスと比し、遺伝カウンセラーの教育が不十分であり、また、非医師遺伝カウンセラーが活躍する場も極めて制限されているのが現状であろう。まずは遺伝カウンセリングが医療行為の1つであることを認識し、健康保険が適応され診療報酬が認められるべきであろう。遺伝医学の進歩は激しく、かつ細分化されて来ており、1つの病院、施設で全てのことを行うことは限界があるので、他科、他病院、他研究施設との連携は不可欠である。遺伝性疾患患者・家族へのサポートの第1歩として「遺伝カウンセリング」が活用されることが望まれる。今後、未だ治療方針が確定していない神経筋疾患など、いろいろな領域で遺伝子診断や遺伝子治療に対する遺伝カウンセリングのニーズは増していくと思われる。今後、当院をはじめ長崎大学や他の専門施設と連携をとりながら、より良い「遺伝カウンセリング」の確立を図る予定である。

mdx マウスの神経筋伝達に及ぼすプレドニゾロンの作用機序

分担研究者 藤下 敏¹

共同研究者 福留隆泰¹、渋谷統壽¹、吉村俊朗²

¹国立療養所川棚病院、²長崎大学医療技術短期大学部

緒言

筋ジストロフィーの治療としてプレドニゾロンが有効とする報告がある。本研究はその機序を明らかにする為に mdx マウスの神経筋伝達への影響を検討した。

方法

8~10 週令の mdx マウスで横隔膜神経筋標本を作製し微小電極法にて微小終板電位 (MEPP) と終板電位 (EPP) 記録した。EPP 記録では 40 Hz run-down 法を用いて、アセチルコリン遊離のパラメーターを求めた。1 mg/L と 20 mg/L のプレドニゾロンで神経筋標本を灌流し、その前後で記録した。

コントロール群では酸素飽和した Tyrode 溶液で灌流し、実験群ではプレドニゾロンを含む Tyrode 溶液に 40 分以上灌流した後に記録した。MEPP 記録は 1 標本につきプレドニゾロン灌流前後でそれぞれ 15~20 の運動終板から記録した。得られた振幅は静止膜電位を -80 mV に補正して求めた。EPP 記録は 1 標本につきプレドニゾロン灌流前後でそれぞれ 10~15 の運動終板から記録し、得られた振幅は静止膜電位を -80 mV に補正して求めた。連続神経刺激は 0.5 Hz で 116 回行い、終わりの 64 刺激から得られた EPP より quantal content (m) を variance method にて求めた。1 標本につき 5~8 の運動終板では EPP 記録に続いて、40 Hz の連続神経刺激 4 回を 1 セットとし 1 分間の間隔をあけて 3 セット行い、神経終末に貯えられている quanta の総数 (n) とアセチルコリンが遊離される確率 (p) を求めた。

結果

(1) プレドニゾロン投与前の MEPP の振幅は 1.21 ± 0.08 mV (mean \pm SE)、頻度は 0.54 ± 0.04 / 分そして静止膜電位は -69 ± 0.48 mV であった。1 mg/L のプレドニゾロン投与後に振幅は 1.53 ± 0.10 、頻度は 0.55 ± 0.04 そして静止膜電位は -69 ± 0.50 とな

った。20 mg/L 投与後に振幅は 1.41 ± 0.08 、頻度は 0.50 ± 0.04 そして静止膜電位は -68 ± 0.45 となった。MEPP 振幅は 1 mg/L 投与時に有意差をもって増加した。

(2) プレドニゾロン投与前の m は 34.8 ± 1.5 で EPP の減衰時間定数は 2.4 ± 0.11 msec であった。1 mg/L のプレドニゾロン投与後に m は 36.8 ± 1.8 と増加したが有意差はなかった。また、減衰時間定数も変化しなかった。20 mg/L 後に m は 31.6 ± 1.8 と低下したが有意差はなかった。しかし、減衰時間定数は 1.7 ± 0.19 と有意に短縮した。

(3) プレドニゾロン投与前の n は 660 ± 49 、p は 0.068 ± 0.0041 であった。1 mg/L のプレドニゾロン投与後に n は 460 ± 51 と有意に減少したが p は 0.12 ± 0.013 と有意に増加した。20 mg/L 後にも n は 450 ± 140 と有意に減少したが p は 0.073 ± 0.022 と変化なかった。

考案

1 mg/L のプレドニゾロンは健康成人に 50 mg のプレドニゾロンを単回投与した場合の最高血中にほぼ相当する。また、20 mg/L はパルス療法 (1g / 500ml を 1 回点滴投与) を行った時の最高血中濃度にほぼ相当している。1 mg/L のプレドニゾロンで m の有意な増加は認めなかったが、MEPP 振幅が有意に増加していることや p の増加の割り合いが n の減少に比べて大きいことなどから m を増加させると考えられる。20 mg/L では m の減少は有意でなかったものの n が有意に減少していることや EPP の減衰時間定数が有意に短縮していることから、本剤は神経筋伝達の safety margin を低下させると考えられる。

結論

1 mg/L のプレドニゾロンは mdx の神経筋伝達を促進すると考えられ、これは筋ジストロフィーに対するプレドニゾロンの効果機序の一つである可能性を示唆した。

文献

Nagel A. et al. Neuromuscular transmission in the mdx mouse. Muscle Nerve 13: 742-749, 1990

Duchenne型PMD患者における自律神経障害に関する検討

寺本仁郎

国立療養所再春荘病院

緒言

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)患者においては、発症早期より四肢末梢の温度低下、凍傷、発汗異常、頻脈などの症状を認めることが知られており、これまでもこれらの症状と自律神経障害との関連についていくつかの報告がなされているが、近年の医療機器のめざましい進歩により、現在では、これらの患者に対するさらに詳細な自律神経機能の解析が可能となってきている。今回私達は、様々な機器を用いてDMD患者の末梢循環、発汗機能、及び心臓の自律神経機能について調べ、本疾患にみられる自律神経障害について詳細に検討した。

方法

対象は、7歳～24歳、罹病期間3～21年のDMD患者10例。また、比較対照として、DMD以外の筋疾患患者4例、及び16～35歳の健常者25例についても同様の検査を施行した。

これらの被験者に対し、レーザードブラ皮膚血流計を用いた末梢循環の検査、パースピロを用いた手掌・足底部の微量発汗検査、サーモグラフィーによる四肢の皮膚温検査、及び心電図R-R間隔、123I-MIBG心筋シンチを用いた心臓の自律神経機能検査をそれぞれ行った。これらの検査はすべて検査室の温度や湿度、検査開始までの安静時間、着衣の状態等すべて同一条件下で行っており、レーザードブラ皮膚血流検査に関しては、安静時及び深呼吸負荷時の四肢末梢の血流を、心電図R-R間隔に関してはCV%、交感神経及び副交感神経の指標とされるLF値、主として副交感神経の指標とされるHF値、及びLF/HF比を検討した。また、123I-MIBG心筋シンチを施行した患者6例につき、心筋の虚血によるMIBGの集積低下をrule outし、純粹に交感神経自体の障害について検討するため、同時に201TIシンチグラフィも施行した。

結果

レーザードブラ皮膚血流計を用いた末梢循環の検討結果、検査を施行したDMD患者9例中7例において、健常者、あるいはDMD以外の筋疾患患者の平均値と比べ、安静時の四肢、特に下肢末梢の血流が著明に低下しており、これらの患者は末梢の交感神経過緊張状態を呈していることが示唆された。

発汗に関しては、過去に18～20℃の室温で触診により判定した結果52.6%で手掌・足底発汗過多症を認めたとの報告もあるが、今回のパースピロを用いた手掌・足底部の微量発汗検査では、9名とも発汗量、あるいは刺激に対する発汗反応いずれにも異常は認められなかった。

次に、サーモグラフィーによる四肢の皮膚温の検討では、検査を施行した9例全例で健常者、及びその

他の筋疾患患者の平均値と比べ、末梢の皮膚温が著明に低下しており、さらにこのうち6例では、足底に比べ足首から下腿にかけての皮膚温が低下している、いわゆるリバースパターンを呈していることが判った。このようなパターンは、今回検討したその他の筋疾患患者4名においては認められない所見であることから、DMD患者に特異的にみられる現象である可能性が示唆された。心臓自律神経機能検査の結果では心電図R-R間隔の解析で2例がLF値の上昇、3例がHF比の相対的低下を原因とする計5例のLF/HF比上昇例を認め、これらの患者における心臓の相対的交感神経過緊張状態の存在が示唆された。また、心筋シンチでは今回施行した6例全例で201TIシンチ所見は正常で、Duchenne型筋ジストロフィー患者で一般に早期からTIの集積が低下するといわれる左室後下壁においても正常パターンを示していたが、このうち一部の症例では、明らかにTIの集積は正常であるにもかかわらず123I-MIBG心筋シンチで明らかにMIBGの集積が低下した部位を認めた症例があった。MIBGの集積分布パターンについてさらに詳細に検討した。

123I-MIBG心筋シンチでは、健常者でも他の部位に比べ下壁へのMIBG集積が少なく、下壁に関する判定は非常に難しいとされているが、一方この下壁へのMIBG集積が少ないことを利用して、下壁に対する心臓各部位への集積値の比を算出することで、その他の部位における集積分布を検討することが可能となる。今回検討した患者6例の、交感神経機能をより反映するとされるdelay imageにおける、下壁に対する心臓各部位へのMIBGの集積値の比を算出した結果、6例中病期が進行した2症例においては心臓全体に、また比較的早期の患者である1症例においてはapex, anterior, lateralに、別の1症例においてはseptalにそれぞれ有意なMIBGの集積低下を認めており、これらの患者においてこのような部位の心臓交感神経障害の存在が示唆された。

結論

1) DMD患者では主として四肢末梢の交感神経過緊張状態を呈しており、これによる皮膚血流低下傾向が認められた。

2) 60%の患者で手掌部や足底部より近位側での皮膚温の低下傾向が認められた。

3) 心電図R-R間隔においては、副交感神経機能の低下傾向があり、交感神経機能の相対的過緊張の所見が認められた。

4) 123I-MIBG心筋シンチを施行した患者の中、66.7%の症例で心筋のMIBG集積が低下しており、これらの患者における心臓交感神経障害の存在が示唆された。

国立療養所宮崎東病院における進行性筋ジストロフィー患者の実態調査

分担研究者：隈本健司（国立療養所宮崎東病院内科）

共同研究者：斉田和子（同神経内科）、榎木誠一（同内科）
大庭健一（同小児科）、東真由美（同小児科）

緒言

平成9年度の当院進行性筋ジストロフィー（筋ジス）病棟の平均在院日数は、335.5日で、国立療養所26施設中4番目に短期となっている。その理由の1つとして、当院の近辺に筋ジス患者を対象とした施設の開設が相次ぎ、自宅から施設へ移り住む患者も多く、そこからの短期入院が相次いでいる状況であり、合併症の治療についても在宅とは異なった問題が派生してきている。当院及び宮崎県では、過去に筋ジス患者に対する実態調査は実施されたことがなかった。今回平成11年時点での入院以外の筋ジス患者の実態把握のため、国立療養所宮崎東病院における入院以外の筋ジス患者の実態調査（平成11年度）を実施した。

方法

平成11年4月から9月までの間に以下のことを行った。

1. 宮崎県内の教育事務所を通じて宮崎県内在住の筋ジス患者（小児）の調査を行い、当院への外来受診を勧めてもらった。
2. 宮崎県筋ジス協会を通じて当院への外来受診の案内を行った。
3. 平成11年9月30日時点で、当院外来にて経過観察している筋ジス患者について、年齢、病型、現在の機能障害度、肺機能、その他の合併症などの健診と共に当院外来への受診頻度、生活の場所、世帯人数、ここ1年間の当院への入院回数を実態調査した。

結果

平成11年10月31日時点で実態調査可能であった筋ジス患者数は男性39人、女性30人、総計69人であった。

1. 20歳未満が15人に対し、40歳以上は44人であった。

2. 病型では、MyD18人、LG16人、DMD14人であった。
3. 生活の場所は施設生活者が27人、39.1%で、外来受診回数は施設生活者の方が多い傾向にあった。
4. 機能障害度ではVIIが18人と一番多かった。
5. 肺機能では、%VCが60%未満の筋ジス患者は36人で全体の52.2%を占めており、%VCが20%未満の患者も5人いた。
6. 肺機能と外来受診回数では、肺機能低下につれて外来受診回数は増加傾向であった。
7. 年齢が上がるにつれて合併症は増加し、高血圧、高脂血症、糖尿病なども多くなっていた。
8. 1年に1回以上急性気管支炎、気管支肺炎にて入院歴のある筋強直性筋ジス患者3人は%VCは40%以上であったが、他の筋ジス患者では%VCは40%未満の患者が多かった。

考察

様々な合併症を持ちながら入院外生活を送っている成人筋ジス患者、特に筋強直性、肢体型の患者数の増加は、今後きめ細かい外来観察を必要とすると思われた。一方、施設の増加に伴い多くの肺機能の低下した患者を入院外で外来follow-upするようになってきており、これらの患者は急性気管支炎などをきっかけに頻回に入退院を繰り返しており、これらの患者に今後外来にて呼吸管理を導入するなど多くの問題を抱えているように思われた。

結論

国立療養所宮崎東病院において入院以外の筋ジス患者の実態調査（平成11年度）を実施し、宮崎県内における概況を把握できた。

参考文献

- 1) 石川悠加、南良二ら：北海道におけるDuchenne型筋ジストロフィーの現況—平成8年度疫学調査から—、平成8年度厚生省精神神経疾患研究報告集 p248, 1996.

筋ジストロフィー患者の皮膚組織におけるジストロフィンの免疫組織化学的研究

新山尚仁
国立療養所南九州病院

【緒言】

ジストロフィン¹⁾は骨格筋のみならず平滑筋においても発現が認められる。皮膚組織には、立毛筋やエックリン汗腺の筋上皮細胞などの平滑筋が存在する。皮膚生検が筋生検と同様に DMD/BMD の診断に有用かどうかを検討するため、進行性筋ジストロフィー患者の立毛筋・筋上皮細胞におけるジストロフィン発現を免疫組織化学的に比較検討した。また、ジストロフィン関連蛋白の発現も検討した。

【方法】

臨床症状、遺伝子診断や筋生検などにて診断された DMD 5 例、BMD 1 例、肢体型筋ジストロフィー 5 例、Kugelberg-Welander 病 2 例、脊髄性進行性筋萎縮症 1 例ならびに正常コントロールとしてウイルス性筋炎 1 例の上腕または前腕から得られた皮膚組織を生検直後にイソペンタンを用いて急速凍結し液体窒素内に保存。その後、クリオスタットで 10 μ m にカットし連続切片を作製した。作製した各疾患の標本を、H.E.染色ならびにアクチン、ジストロフィン (C 末, N 末, Rod) に対する抗体を用い ABC 法にて免疫染色を行った。また、正常コントロールとしてウイルス性筋炎は、ジストロフィン関連蛋白である α -dystroglycan (α -DG), Adhalin, β -sarcoglycan (β -SG), δ -sarcoglycan (δ -SG), γ -sarcoglycan (γ -SG) に対する抗体を用いた免疫染色も行った。

【結果】

立毛筋のジストロフィン染色は、DMD で C 末陽性, N 末・Rod 陰性。BMD で C 末・N 末陽性, Rod 淡く陽性。その他の疾患は、正常コントロールとしたウイルス性筋炎を含め C 末・N 末・Rod 全て陽性であった。

筋上皮細胞のジストロフィン染色は各疾患とも、立毛筋と同様の所見であった。

正常コントロールとしたウイルス性筋炎において、立毛筋のジストロフィン関連蛋白の免疫染色は、 α -DG・ β -SG・ δ -SG・ γ -SG 陽性, Adhalin 淡く陽性であった。筋上皮細胞は、 α -DG・ δ -SG 陽性, Adhalin・ β -SG・ γ -SG 陰性であった。

【考察】

進行性筋ジストロフィーの立毛筋・筋上皮細胞におけるジストロフィン染色に関しては、A. Marbini²⁾らが報告しているが、この論文で C 末・N 末・Rod は DMD で陰性, BMD で淡く陽性と報告されている。

今回我々の研究では、DMD で C 末は陽性であり、BMD では C 末・N 末・Rod の各々で発現が異なった。研究結果に一部違いを認めたのは、抗体の稀釈倍率が異なる為ではないかと考えられた。

しかし、DMD, BMD の立毛筋・筋上皮細胞のジストロフィン発現様式は、他の進行性筋ジストロフィーと明らかに異なり、筋生検と同様に DMD/BMD の診断に有用と考えられた。

また、今回皮膚生検を施行した DMD 患者は、電動車椅子状態もしくは気管切開・人口吸器管理・寝たきり状態であった。これら患者の立毛筋・筋上皮細胞はともに形態が保たれており、筋萎縮・筋力低下の進行した患者でも皮膚生検による病理診断が可能と考えられた。

さらに、立毛筋は骨格筋と同様にジストロフィン関連蛋白である α -DG, Adhalin, β -SG, δ -SG, γ -SG が発現しており、サルコグリカノパチー、ジストログリカノパチーの診断に使用できる可能性が示唆された。また、同じ平滑筋組織である立毛筋と筋上皮細胞とでジストロフィン関連蛋白の発現が異なったのは、発生由来が異なるためと考えられた。

【結論】

皮膚生検は、筋生検と同様に DMD/BMD の診断に有用と考えられた。

筋萎縮・筋力低下の進行した DMD/BMD 患者でも皮膚生検による病理診断が可能と考えられた。

皮膚生検によるサルコグリカノパチー、ジストログリカノパチーの診断が行える可能性が示唆された。

【参考文献】

1. Marbini A. et al: Dystrophin expression in skin biopsy Immunohistochemical localisation of striated muscle type dystropin. J. Neurol. Sci., 129; 29, 1995.
2. Miyatake M. et al: Dystrophin: Localization and presumed function. Muscle Nerve, 14, 113, 1991.

Ullrich型先天性筋ジストロフィー (congenital atonic-sclerotic muscular dystrophy) の臨床・筋病理学的研究

源河圭一郎 (沖縄病院)
末原雅人、樋口逸郎*、
神里尚美、平田圭子、真弓博光、
納 光弘* (沖縄病院神経内科、*鹿大3内科)

[目的]

Ullrich病あるいはUllrich型先天性筋ジストロフィー (文献1) は特異な病像を呈する疾患として知られているが、本邦でのまとまった報告は少なく筋ジストロフィーの1型とすることに対する異論もある。全く別個の家系に発症した3症例の臨床像をまとめ、本症の疾患単位としての位置づけを検討した。

[対象・方法]

当院で経験した3症例の臨床像、筋病理所見を検討した。筋病理では一般組織生化学的検討と、ジストロフィン、各種サルコグルカン、各種細胞外マトリックス抗体による検討を行った。

[結果]

①臨床経過：3症例はいずれも男性で現在21歳、20歳の生存例、及び24歳での死亡例。いずれも孤発例で血族結婚はない。全員40-42週の正常分娩で生まれていたが、1例は生下時から floppy infant と気づかれ、1例では生後1ヶ月、1例では3ヶ月検診で異常を指摘された。2例は先天性股関節脱臼の診断を受けギプス固定を生後数ヶ月から開始された。足関節背屈や拇指内転などの四肢末梢関節の過進展位拘縮を全例に認めたが、成長と共に脊柱後弯や近位関節の屈曲拘縮が進行した。全例、言語・知能発達は良好。運動発達は遅滞したが、1例は4-10歳の間のいざり移動、1例は3-5歳の間のつたい歩き、1例は6-8歳の間のつかまり立ちまでは獲得したが、その後は徐々に進行し、12歳前後では屈曲拘縮した下肢で軀幹をささえる高度の後弯姿勢での座位保持がようやくの状態となった。顔貌では小児期には共通する特徴はなかったが、思春期以降筋委縮が進行すると、一見すると先天性ミオパチー様の細長い顔を呈するようになった。全例、14-18歳の間に換気障害による呼吸不全のため気管切開を施行され、夜間・臥位での人工呼吸器使用を与儀なくされた。1例は22歳で終日の人工呼吸器依存状態となり、以後肺嚢胞変化、無気肺を伴う肺炎症状の後、肺高血圧症の状態となり死亡した。

検査結果では全例血清CKは正常であるが、筋電図では筋原性変化を呈した。心電図、心エコーでは有意な心筋障害を示唆する所見はなかった。

②筋病理学的検討：筋生検は14-21歳の間に上腕2頭筋で行った。いずれも高度の脂肪変性、結合

織に囲まれた大小不同の筋繊維を認め、軽度の中心核増加、少数ながら変性、壊死線維も存在した。NADH dehydrogenase 染色ではlobulated fiber様変化を認めた。Gomori-Trichromeでは少数ながら Opaque or coiled/whorled fiberも認められた。ネマリン小体、core構造など先天性ミオパチーを示唆する所見は認められなかった。CCO, AMP-diaminase染色にも異常はなかった。

残存線維において抗C-ter., N-ter., Rodで検討したジストロフィン染色でも欠損は認めず、メロシン、 α , β , γ , δ -サルコグルカンの染色性にも有意な異常は認められなかった。laminin β 1, Caveolin 3, tenascin, fibronectin, desmin, chondroitin sulfate, heparansulfate proteoglycan, CD44の染色性にも有意と思われる変化は見いだせなかった。

[考察]

Ullrich病に関しては所謂筋原性 "arthrogryposis multiplex congenita" として筋ジストロフィーとは別個の疾患とする立場もある。経験した3症例は、従来指摘されてきた特徴に加え、思春期以降の進行性変化、成人前にcriticalとなった呼吸不全などがあり、また組織所見も筋ジストロフィーの範疇に入るものと考えられた (文献2, 3)。先天性筋ジストロフィーとして捉えれば、知能障害を欠き、関節拘縮のパターンからも福山型とは異なる一群である。成長後の顔貌からは先天性ミオパチーと診断される可能性も危惧された。今回は検討したかぎりのジストロフィン関連蛋白や一部の細胞外マトリックスの欠損は証明されなかったが、本症の臨床経過は非常に均一であり、より詳細に組織化学的検討を進めると共に、全国規模で症例を集積して、分子生物学的にアプローチすることも必要と思われる。

[参考文献]

1. Ullrich O: Congenitale atonisch-sklerotische Muskeldystrophie. Mschr Kinderheilk 47:502, 1930.
2. Nonaka I, et al: A clinical and histological study of Ullrich's disease (congenital atonic-sclerotic muscular dystrophy). Neuropediatrics 12:197, 1981
3. 後藤敦子他: 筋ジストロフィー所見が優位であったUllrich病の1例. 脳と発達 23:289, 1991

遺伝子性筋疾患児をかかえる
親への子育て支援事業

(社)日本筋ジストロフィー協会

貝谷久宣、河端静子、横田昌樹、
佐藤隆雄、山田栄吉、鈴木敏明、
藤井康久、梶山正三、田野芳博、
山下ヤスコ、米園弥生

[緒 言]

健康とばかり思って産んだ我が子が重篤な、しかも遺伝子性の病気を持っていると知ったときの親の不安やとまどいには一口には言い表せないものがある。子供の診断を受けてから、その病気に前向きに立ち向かっていけるようになるためには、なによりも似たような病気の子をもつ親同士の仲間づくりが大切になる。

出生前診断や受精卵診断といった生殖医療の発達してきた今、親が病気の子供でも良いから産みたい何とか育てていけると思えるように、遺伝子性筋疾患児をかかえた親が勇気と自信をもって子育てに取り組めるように支援する事業をおこなった。

[方 法]

小児科・神経内科の筋疾患専門の医師らによる「子育て支援研究委員会」を設置。委員会にて、種々の小児／筋疾患における疫学的調査研究のためのアンケート内容と配布先を検討し、指導パンフレット・健康管理手帳の企画・執筆・編集を行った。地域リーダー養成セミナーについては全国10カ所にて開催。

[結 果]

先天性、または幼児期に発症する種々の筋疾患は稀な病気のため親は情報を得難い状況にある。そんな子どもの筋疾患を網羅してわかりやすく簡単に説明し、親にとって必要な福祉の情報も記載した指導パンフレット「子どもの筋疾患のいろいろ」を作成した。あわせて、患児の成長過程と医師の診断を記録し、持ち歩きのできるカルテとしての役目をもたせた健康管理手帳「育みの記録」も作成した。

全国375名の専門医を対象に15種類の小児／筋疾患の調査アンケートを依頼し、その結果120箇所の医療機関から2248名の患児(18歳未満)についての報告をえた。これらの患児の親御さんに主治医を通じて上記パンフレットと健康管理手帳を配布した。また、アンケートではつかみきれなかった方々からの要請にも順次送付しており、現在4000冊ほどを配布している。

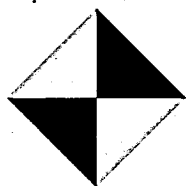
このアンケートの病型別頻度を解析したところ、デュシャンヌ型筋ジストロフィーが989名と圧倒的に多く、ベッカー型筋ジストロフィーは158名、福山型筋ジストロフィーは279名、非福山型の先天性筋ジストロフィーは88名でした。肢帯型筋ジストロフィーは37名、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー31名、脊髄性筋萎縮症I型52名、II型71名、III型36名、ネマリンミオパチー26名、セントラルコア病9名、筋硬直性ジストロフィー135名、代謝性ミオパチー21名、ミトコンドリアミオパチー135名といった結果がえられた。

全国10カ所にて患児を抱えた親の子育てを支援するためのセミナーを開催し、遺伝子性疾患ゆえの悩みについても個々の相談に応じた。

[考 察]

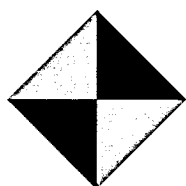
指導パンフレットの内容として、筋疾患全体の説明や各病型(デュシャンヌ型、先天性筋ジストロフィー、肢帯型筋ジストロフィー、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー、先天性ミオパチーと脊髄性筋萎縮症、代謝性筋疾患)について記載した。他にも、患者へのマネジメントとしてリハビリテーション、呼吸の問題、心臓の問題、心理の問題、食事の問題、実際に親御さんが直面する学校教育の問題と、医療費の助成、福祉制度のしくみについてもとりあげたことが、患児を抱えた親の子育てに非常に参考となった。

子育て支援セミナーでは、自分の子どもの病気だけではなく、仲間の子どもの病気についても理解できるよう配慮した。特にそれぞれの病型による遺伝形態の違いなどは、相手の立場を理解するうえで重要なことと考える。



平成12年度

実績報告書



11 指-1 筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究

主任研究者

石原傳幸（国立療養所東埼玉病院）

研究目的 = 遺伝子診断等により家系分析を含めたニーズの増大する遺伝相談的確な実施を図るとともに、呼吸不全、心不全など末期の病状や死因を十分に解明し延命を含む治療の向上に役立てる研究

分担研究者名 = 姜進（国立療養所刀根山病院）、松岡幸彦（国立療養所鈴鹿病院）、足立克仁（国立療養所徳島病院）、福田清貴（国立療養所原病院）、春原経彦（国立療養所箱根病院）、箭原修（国立療養所道北病院）、石川幸辰（国立療養所八雲病院）、大澤真木子（東京女子医大）、三池輝久（熊本大）、岩谷道生（国立療養所岩木病院）、中井博史（国立療養所西多賀病院）、中田好則（国立療養所千葉東病院）、清水潤（国立療養所下志津病院）、白井泰子（国立精神・神経センター精神保健研究所）、大矢率（国立精神・神経センター武蔵病院）、若田宜雄（東邦大）、末岡浩（慶応大）、近藤浩（国立療養所新潟病院）、本家一也（国立療養所医王病院）、渡辺宏雄（国立療養所長良病院）、樋口嘉久（国立療養所宇多野病院）、三木哲郎（愛媛大）、安東範明（国立療養所西奈良病院）、竹島泰弘（神戸大）、吉岡三恵子（神戸市総合療育センター）、多田和雄（国立療養所兵庫中央病院）、下山良二（国立療養所松江病院）、佐野壽昭（徳島大）、小池文彦（国立療養所筑後病院 4～12月）、菅理恵（国立療養所筑後病院 1～3月）、後藤勝政（国立療養所西別府病院）、田村拓久（国立療養所川棚病院）、寺本仁郎（国立療養所再春荘病院 4～12月）、

今村重洋（国立療養所再春荘病院 1～3月）、隈本健司（国立療養所宮崎東病院）、新山尚仁（国立療養所南九州病院 4～8月）、園田至人（国立療養所南九州病院 9～3月）、源河圭一郎（国立療養所沖縄病院）、貝谷久宣（日本筋ジス協会）

研究方法 = 患者の臨床ニーズに直結した方法で行われた。

研究成果 = 本研究班の目的の一つは前研究班に続いて遺伝子の研究成果を遺伝相談に応用することである。従来は小さな遺伝子異常が検出できず、大きな遺伝子異常を持つ家系における保因者診断と出生前診断技術の確立に留まったが、前身の研究班で遺伝子異常が検出された家系では全例で保因者診断を可能とした。本年度の遺伝子研究はジストロフィン遺伝子の微小変異を検出する方法論の検討とジストロフィン遺伝子スプライシング機構の報告がなされた。スプライシング機構の検討は遺伝子治療を将来可能にできるかも知れないという意味で重要である。遺伝相談については倫理研究者および法律家を含み倫理的・法的問題を話し合った。夏のワークショップで遺伝相談の実際の手本を提示した。班会議では保因者診断のインフォームド・コンセントを検討した。来年度も実際の遺伝相談の全国平準化に向けワークショップを開催する。

前身の研究班では、高頻度に認められる血液凝固系の異常に取り組み、出血性肺梗塞の予防を中心課題として企図した。今年度はワーファリンによる血液凝固・線

溶系の動きが報告され注目された。血栓症予防に直接役立つ可能性が生じ期待される研究結果である。今年度は複数施設での血液凝固・線溶系研究を共同で行った。血栓症予防に直接役立つ可能性があるワーファリンの投与試験のプロトコル原案が作成されたので、全国での投与を来年度には開始したい。この件については外国では注目されており、既研究報告はない。最近肺梗塞による死亡は減少しているが、全く消失したわけではなく研究続行する意義は十分あると考えている。

筋強直性ジストロフィーの病態が注目され、多くの課題が発表された。今年度は全国アンケート調査がなされた。筋強直性ジストロフィーの呼吸不全治療の考え方には大きな差が主治医間に存在することが示された。本症の呼吸器治療適応時期のガイドラインについてはこの研究班で作成する予定であるが、全く人工呼吸器治療を行わない施設から積極的に人工呼吸器装着する施設までありコンセンサスをここ数年で得ることは難しい情勢となった。人工呼吸適応については、我が国独自に決定すべきものであり、参照すべき外国のガイドラインは発表されていないのが現状である。

β 遮断薬を含む薬剤による心不全治療についてもガイドラインが未だなく、この研究班で専門家にまとめを依頼した。最近血清BNPが心不全マーカーとして有用であるとされてきたが、今年はBNP測定だけでは心不全の診断から漏れてしまう症例が提示されBNPとHBNPの比をとると全例で心不全が診断可能となることを見いだされた。ただし両方の検査を同時にすることは保険適応外となり今後問題が残された。

外科的には脊柱固定術の効果についての討論が行われ、ワークショップを開きつつ、この手術を全国的に推進することを意図した。班員の関心も高く、今後我が国でも脊柱固定術が定着すると期待される。この点については外国の研究に追従することとなるが、治療の面では大きな進展と考える。疫学的研究は北海道で行われて、有病率は減少していないことが示された。

今年度は胃電図による胃運動機能評価が新しい試みとして報告されて注目を浴び、今後の進展が期待される。というのは、人工呼吸器患者の多くが、消化器症状を訴え、特に食後腹部膨満が起るために摂食不能となる例が出現しているからである。このような視点での研究は今までになかったので注目される。

本班は法的・倫理的側面をも含み、社会的側面については日本社会全体の動向と密接に関連しており困難さがある。しかし、現在の環境での遺伝相談確立にむけ正面から取り組み、一歩でも前進したい。

結論 =

遺伝子診断の面では大きく進歩したが、実地面の遺伝相談の面では遺伝カウンセラーが国立療養所に存在しない。医師がカウンセラーを兼ねなければならないので、医師に遺伝カウンセリングの教育を早急に行う必要がある。この意味で当研究班では毎年ワークショップを開き遺伝相談カウンセリングの実際を全国同一レベルで行われるように企図している。血栓症予防については今後も研究が必要である。側弯症による気管や食道変形については、早期手術により予防する必要がある。患者家族の啓蒙に努めてゆきたい。

Minitracheostomytubeを用いた筋ジストロフィー患者の呼吸管理（第二報）

分担研究者：石原傳幸
（国立療養所東埼玉病院 内科）

共同研究者：谷田部可奈，重山俊喜，川村 潤
（同上）

<緒言>

筋ジストロフィーの呼吸不全に対して，1998年2月よりminitracheostomy tubeを用いた経皮的気管穿刺による陽圧人工呼吸療法を開始し，平成11年度石原班班会議で経過を発表した．1999年10月以降の経過および問題点を検討し，報告する．

<方法>

対象：1998年2月から2000年10月までにminitracheostomy tube（以下minitrach）留置を行った筋ジストロフィー17名（Duchenne型（DMD）13名，Becker型（BMD）2名，福山型（FCMD）1名，Werdnig-Hoffmann病（W-H）1名）．14名は非侵襲的人工呼吸器療法を行っていたが，早朝動脈血液ガスでPaCO₂が60Torr以上に悪化していた．

1999年10月以降はDMD 1名，BMD 1名，W-H 1名がminitrachを開始した．

方法：1) Minitrach留置症例の現在の状況の検討

継続人数，継続日数，療養形態，使用している気管カニューレ，人工呼吸器機種

2) 1999年10月以降に導入した症例の検討

<結果>

1) Minitrach症例の現在の状況：17名中12名が継続中，生存日数は平均527.7±309.6日（45～904日）であった．死亡症例5例のうち4例は，肺炎等の著明な肺実質傷害があった．1999年10月以降の死亡者は1名（心不全による突然死）であった．療養形態は入院9名，在宅3名だった．1名を除いてカフ無しカニューレに変更しており，5.0Fr.が10名，4.5Fr.が1名だった．入院患者は，従圧式人工呼吸器（ONYX）を使用しているが，3名（DMD 2例，W-H 1例）は従量式人工呼吸器（PLV100）を用いて在宅療養中である．

2) 1999年10月以降に導入した症例の検討

a) 気胸の発生：DMDおよびBMD各1例で発生し，持続脱気療法で改善した．

b) BMDでの夜間リーク

夜間の開口によるリークが著明に認められたが，気管カニューレが太くなるにつれ，改善傾向にある．

c) W-Hの気管切開困難例へのminitrachの使用を行い，有効な換気を得ることができた．

<考察>

昨年報告したminitrach症例のうち，1例が死亡（心不全，突然死）した以外は全員が継続し，良好な換気状態を保持していた．合併症の気胸は，圧負荷によって生じたものであり，気管切開による陽圧式人工呼吸療法でも発生しうるが，注意が必要と思われた．

以下にminitrachの長所および問題点をまとめる．

長所

- 1) 気管切開と同様の良好な換気を得ることができる．
- 2) 習熟すれば，手技が簡便である．
- 3) 発声ができ，Q.O.L.が保たれる．
- 4) 気道変形が著明な症例に特に有用である．
- 5) カフ無し気管カニューレ変更後は，従量式人工呼吸器が使用でき，在宅療養が可能．

問題点

A. 気管切開陽圧式と共通

- 1) NIPPVからの移行基準が不明．

NIPPVを継続するための工夫

- 2) 気胸の発生．
- 3) 肺炎等肺実質傷害が著明な症例に対しては救命が困難な場合がある．

B. Minitrachostomy tubeのみ

- 1) リークの問題．

Minitrach使用症例の蓄積により，よりよい使用方法に向けて検討していく必要があると思われた．

<結論>

非侵襲的人工呼吸器療法を用いた呼吸不全治療を行うために様々な努力をしても，悪化する症例がある．その場合，気管切開にするか，minitracheostomy tubeを用いるか，基準の作成を含め，今後の検討継続が必要と思われた．

<参考文献>

- 1) Nomori H, Ishihara T : Pressure-controlled ventilation via a mini-tracheostomy tube for patients with neuromuscular disease. Neurology 2000 ; 55 : 698-702.
- 2) Bach J : Intubation and tracheostomy paradigm paralysis. Neurology 2000 ; 55 : 613-614.
- 3) Reynolds JE, Mendell JR : Another approach to ventilation failure in neuromuscular disease. Neurology 2000 ; 55 : 611-612

筋ジストロフィーにおける接着分子

-第2報-

分担研究者 姜 進

(国立療養所刀根山病院・神経内科)

背景・目的

筋ジストロフィーの筋病理では、筋崩壊に関連して病巣やその周囲への T cell, macrophage を中心とした炎症細胞浸潤が認められるが¹⁾、これには接着分子が関わっている²⁾。われわれは、DMD, BMD, FCMD では若年症例に可溶性接着分子 sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin の高値例があることを報告した³⁾。本報告では各接着分子の6カ月間での変動を検討した。

対象・方法

採血時に明らかな炎症所見がない DMD 11 例, BMD 2 例, FCMD 2 例, SMA type 2 1 例, 計 16 例 (5 歳~15 歳, 平均 10.9 歳) の血清 CK, FDP, sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin を baseline とその 6 カ月後 (6month) で測定した。接着分子の測定は R&D systems (ELISA) のキットを用いた。

結果

DMD の sICAM-1 は baseline 227.6 ± 67.9 ng/ml (Mean \pm SEM), 6 month 292.0 ± 68.6 ng/ml, sVCAM-1 は baseline 513.0 ± 32.0 ng/ml, 6 month 558.0 ± 47.0 ng/ml, E-selectin は baseline 59.7 ± 14.0 ng/ml, 6 month 64.4 ± 14.0 ng/ml であった。いずれも若年例ほど高値の傾向であったが、各接着分子の 6 ヶ月間での変動は有意でなかった。Baseline, 6 month とも CK, FDP との相関は有意でなかった。他疾患でも同様の傾向であった。

考察

感染などの炎症所見がなければ、筋ジストロフィーの可溶性接着分子の値は、筋病巣で発現している接着分子を反映するが²⁾、6 カ月程度の短期間での症状の変動では、可溶性接着分子に有意な変動をもたらさなかった。個別症例での年単位の検討が必要と考えられる。本検討では FDP と接着分子の関連は明らかでなかったが、血管内皮細胞活性化の点からは、凝固線溶異常との関連は考慮すべきである⁴⁾。

参考文献

- 1) Arahata K, Engel A G. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. I: Quantitation of subsets according to diagnosis and sites of accumulation and demonstration and counts of muscle fibers invaded by T cells. *Ann Neurol* 1984; 16: 193-208.
- 2) Gearing A J H, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunology Today* 1993; 14: 506-12.
- 3) 齊藤利雄, 山本裕子, 姜 進. 筋ジストロフィーにおける接着分子. 脳と発達 2000; 32 Suppl.: 268.
- 4) Saito T, Takenaka M, Miyai I, et al. Coagulation and Fibrinolysis Disorder in Muscular Dystrophy. *Muscle Nerve; in press.*

共同研究者 齊藤利雄 山本裕子*

疋田太刀夫 国富厚宏

松村 剛 野崎園子

(国立療養所刀根山病院・神経内科

・研究検査科*)

Dystrophin 異常症に対する Prednisolone 治療

分担研究者 姜 進

国立療養所刀根山病院神経内科

目的

われわれは昨年度から関節拘縮が無いか軽微な4歳代の dystrophin 異常症患者に対して少量の PSL を投与し、運動機能障害の進展抑制効果の検討を始めた。

対象・方法

対象は dystrophin 遺伝子の欠失を認めた2名(欠失エクソン 症例1:49,50,51,52, 症例2:45,47,48,49)である。生検が未施行のため確診できていないが、症例1はDMD, 症例2はジャンプが可能でBMDと考えられる。症例1は4歳8ヶ月時, 症例2は4歳2ヶ月時, PSL の服用を開始した。PSL 投与量は体重1kgあたり0.33mgで、隔日朝服用とした。服薬期間はともに12ヵ月超である。

ADL テストは前回の PSL 治療と同様の方法¹⁾で行った。筋力は肩外転, 股屈曲・伸展, 膝屈曲・伸展, 足底屈・背屈の両側筋群についてダニエル法で測定した。関節可動域は主として, 右股関節伸展, 右足関節背屈について測定した。

PSL 治療に先立ち, 患者・家族に本研究を趣旨を説明し, 親権者から承諾を得た。

結果

ADL テストの中で完遂所要時間の推移を追跡できた項目をみると, 階段(16cm,5段)昇り時間は, 症例1では5.2(前値)→6.7→4.0→4.5秒(51週後), 症例2では2.4(前値)→1.6秒(17週後)であり, 10m 走行時間は, 症例1では5.7(前値)→?→5.4

→5.5秒(51週後), 症例2では3.5(前値)→3.5(17週後)であった。

筋力については, 症例1では56.7(前値)→57.3→53.3→54.7(51週後)と推移し, 3ヵ月目にやや増強した筋力は1年後には低下し, 症例2では60.7(前値)→62.7(17週後)に変化した(満点70)。

関節可動域は, 右股関節伸展については症例1では25(前値)→20→15→10度(51週後), 症例2では25(前値)→20度(17週後)に, 右足関節背屈については症例1では20(前値)→15→20→15度(51週後), 症例2では30(前値)→25(17週後)であり, ともに縮小した。

2症例とも血清CKの有意の変動を示さなかった。

著明な体重増加, 有害事象および血液検査異常は認めなかった。

考察

4歳代にPSLを投与しても関節可動域制限を抑止できないようである。投与量が少ないことに起因しているかは今後の検討課題である。患者の日常生活動作を維持するためには, PSL服用していても関節可動域訓練の併用は不可欠である。

文献

1)姜 進:デュシェンヌ型筋ジストロフィーの薬物治療—特に副腎皮質ホルモンについて—臨床神経, 36:1338-1339, 1996

共同研究者 齊藤利雄, 松村 剛

国富厚宏, 疋田太刀夫

野崎園子

(国立療養所刀根山病院神経内科)

鈴木保宏

(大阪府立母子保健総合医療センター小児神経科)

当院における筋強直性ジストロフィー患者に対する人工呼吸器使用状況

松岡幸彦

国立療養所鈴鹿病院

【目的】当院での筋強直性ジストロフィー患者に対する人工呼吸器使用状況を報告し、その問題点につき検討する。

【概況】最近10年で呼吸器を導入したのは16例（男性14例、女性2例、全て成人型）であり、呼吸療法の種類別では非侵襲的陽圧式（NIPPV）10例、気管切開による陽圧式（TIPPV）4例、NIPPVからTIPPVへの移行2例であった。

呼吸器導入の理由としては、①呼吸不全ないし夜間の睡眠時の呼吸異常に由来する症状を有する、②ほぼ無症状だが血液ガス、夜間パルスオキシメーターなどの検査上、低酸素血症、高炭酸ガス血症、睡眠時無呼吸がみられる、③誤嚥、窒息（喀痰や食物による気道閉塞）のため気管内挿管、ついで気管切開が施行されそのまま人工呼吸管理へ移行、の3つに分けられた。

【NIPPV施行群】

（1）NIPPV開始時の状態

開始年齢は平均 48.7 ± 5.3 歳（43～60歳）。遺伝子検索（CTGリピート数：（CTG）n）は10例で施行し、1例（（CTG）n：200）を除いて1000以上に伸長していた。有症状が4例、ほぼ無症状が7例であった。動脈血液ガス所見では全例で軽度～中等度の低酸素、高炭酸ガス血症を認めた。また全例で睡眠時の呼吸異常がみられ、睡眠中に SpO_2 が90%未満となる時間の全睡眠時間に占める割合が20%を超える例が9例見られた。夜間低酸素指数（NHI）が130以上の例は8例であった。最重症例（症例5：48歳、女性、（CTG）nが1800）では、 SpO_2 が90%未満となる時間が全睡眠時間の98.7%を占め、NHIは352.9と高値であった。この例では SpO_2 が著明に低下する時期に一致して心室頻拍がみられた。

（2）NIPPVの効果：有症状例では全例で症状の軽減ないし消失を認めた。導入前後で比較すると有意にNHIの改善が認められた（ $p < 0.05$ ）。

（3）経過と予後：平均観察期間は 3.3 ± 3.6 年で、当院で導入のみ行った例が3例、最長は10年であった。現在も継続中の例が6例あり、このうち症例7（開始時46歳の男性、（CTG）nが200）は5年間在宅でNIPPVを施行できている。死亡例は2例み

られた。このうち症例1（開始時51歳の女性、

（CTG）nが1100）は当初CPAPで開始し症状と検査値の改善が見られていた。経過とともに、夜間の呼吸異常が治療中にもかかわらず徐々に悪化したため、4年目にBiPAP、7年目には従量式レスピレーターへの変更が必要になった。9年目に肺炎を併発し気管切開を施行、その半年後に死亡した。もう1例の死亡例は先述した症例5であり、当院では導入のみを行ったが、転医後はほとんど装着できておらず、6年後に突然死している。

（4）問題点

合併症としては鼻根部の潰瘍が多く、被覆剤で対処した。マスクの適合が悪い例や上気道閉塞が強く導入が困難な例がみられた。患者の理解度の問題もあり装着のコンプライアンスは必ずしも良くなかった。

【TIPPV施行群】

（1）TIPPV開始時の状態

開始年齢は平均 60.0 ± 4.4 歳（53～65歳）。

（CTG）nは933～2966と著明に延長していた。症例16（開始時年齢65歳の男性、（CTG）nは1066）は食物による窒息のため緊急挿管、ついで気管切開が施行されそのまま人工呼吸管理へ移行した例である。動脈血液ガス分析では3例で Pco_2 が60mmHgを超えていた。

（2）経過と予後

観察期間は平均 1.5 ± 1.5 年（2ヵ月～4年）。2例が死亡（死因は肺炎、突然死）。残りの3例は現在も継続中であり、1例は呼吸器に完全に依存、他の2例は短時間の離脱可能である。

【まとめ】

本症の睡眠時無呼吸に対し、NIPPVは有効であると考えられる。導入困難例への対応や装着コンプライアンスの向上が今後の課題である。また無治療群（自然経過）との比較を行い本治療がどの程度機能的、生命的予後の改善に寄与するかについて検討が必要である。

【参考文献】

- 1.川井充、他：夜間低酸素指数—神経筋疾患による夜間低換気に対する夜間動脈血酸素飽和度モニターを用いた新しい指標— 臨床神経35：1003-1007,1995
- 2.安間文彦、他：動脈血酸素飽和度のパソコン解析—睡眠時呼吸障害のスクリーニング— 日本胸部臨床52：214-219,1993

筋強直性ジストロフィーに対する人工呼吸療法実施の現状

松岡 幸彦
国立療養所鈴鹿病院

〔緒言〕

デュシェンヌ型筋ジストロフィーについては、鼻マスク式（NIPPV）を主体とした人工呼吸療法が近年確立され、それにより患者の寿命が平均 10 年延長していることを、われわれは数年前に報告した。導入基準なども、マニュアル化されてきている。これに対し、筋強直性ジストロフィー（MyD）に対しては、人工呼吸療法施行の可否や、施行する場合の導入基準、人工呼吸の種類や機種など、まだほとんど研究されていない。そこで今回われわれは、国立療養所等筋ジス施設を対象に、MyD に対する人工呼吸療法実施の実情を調査することにした。

〔方法〕

全国の筋ジス病棟を有する国立療養所および国立精神・神経センターの計 27 施設を対象に、MyD 入院患者数、人工呼吸療法実施患者数、人工呼吸療法の種類・機種、本症の人工呼吸療法についての考えなどをアンケート調査した。

〔結果〕

回答は 26 施設から得られた（回収率 96.3 %）。

入院中の筋ジストロフィー（PMD）患者数は、1 施設 10～156 例で、総計 1,874 例であった。そのうち MyD 患者数は総計 320 例で、PMD 中に占める MyD の割合は 17.1 % であった。内訳は男 184 例、女 136 例（男女比 1.35 : 1）、先天性 25 例、非先天性 295 例（先天性の率 7.8 %）であった。

施設ごとにみると、MyD 患者数は 1～32 例にわたり、5 例以下の施設が 5 施設、6～10 例が 8 施設、11～15 例が 5 施設と、ここまでが多かったが、16～20 例も 3 施設、20～25 例も 3 施設、26～30 例も 1 施設、31 例以上も 1 施

設あった。

人工呼吸療法は 22 施設で 79 例の MyD 患者に施行されていた。施設ごとにみると、1 例に実施しているのが 7 施設、2 例が 3 施設、3 例が 5 施設、4 例が 3 施設で、そのほか 6 例、7 例、10 例、16 例に対し 1 施設ずつが実施していた。人工呼吸療法をされている MyD 患者の率は平均 24.7 % で、0 % が 4 施設、10 % 未満が 2 施設、10 % 台が 6 施設、20 % 台が 3 施設、30 % 台が 3 施設、40 % 台が 1 施設、50 % 台が 5 施設、60 % 台が 2 施設であった。

人工呼吸療法の種類としては、非侵襲的陽圧式（NIPPV）が 16 施設 46 例で、うち従量式が 22 例、従圧式が 24 例であった。気管切開による陽圧式（TIPPV）は 18 施設で 33 例（全例従量式）であった。多数例に NIPPV を実施している施設でも、従量式を主体にしているところと、従圧式を主体にしているところとがあった。

自由記載による意見としては、1) 本症では呼吸障害がかなり進行しても自覚症状が乏しいことや知能障害があるため、導入が困難なことが多い。2) 実施しても、閉口困難などのためか自覚症状や検査データの改善が得られにくいことが多く、満足すべき効果があがりにくい。3) 適応や導入の基準がこれまでにないので、戸惑っている。4) インフォームドコンセントを得ようとしても、説明する根拠のデータが乏しいので困る。5) 本症には人工呼吸療法の適応はあまりないのではないかと、などが寄せられた。

〔考察および結論〕

入院している MyD 患者の数、人工呼吸療法を実施している MyD 患者の数や率、人工呼吸の種類や機種、人工呼吸に対する考えには、施設や研究者ごとの差違がかなりみられた。

今後、本症に対する人工呼吸療法の効果を検証し、導入の基準や実施方法の指針の作成に向けて、研究を進展させていきたい。

Calpainopathy(LGMD2A)とBecker型筋ジストロフィーとの心筋・骨格筋障害の比較検討

足立克仁¹⁾、柏木節子¹⁾、阿部多賀子¹⁾、
木村千代美¹⁾、齋藤美穂¹⁾、乾 俊夫²⁾、
川井尚臣³⁾

¹⁾国立療養所徳島病院内科、²⁾同神経内科

³⁾高松市民病院内科

緒言

CalpainopathyとBecker型筋ジストロフィーは筋萎縮の分布や下肢機能障害度の経過などが類似しており、臨床的に鑑別しがいがある場合がある。本研究では、両疾患の骨格筋障害と心機能とを比較し、骨格筋における障害の分布と心機能の差異を検討した。

方法

対象は、calpainopathy 4家系6症例(年齢59~68歳、男性4例、女性2例)、Becker型筋ジストロフィー8家系8症例(年齢53~72歳、男性8例)である。症例の診断は、calpainopathyは、1)筋組織試料のWestern blotにてcalpain3の欠損が認められる。2)calpain3の遺伝子異常が認められる。これらの1)または2)に該当するものである。Becker型は、1)免疫組織化学にて筋細胞膜上でdystrophinがpatchyに染色される。2)dystrophinの遺伝子に欠失が認められる。これらの1)および2)に該当するものである。骨格筋評価の方法としては、1.徒手筋力テスト、2.血清CK活性値、3.下腿CT像を用い、一方、心機能評価の方法として、1.胸部X線像による心胸郭比、2.血漿ANP値および血漿BNP値、3.心臓超音波検査による左室拡張末期径等を用いた。以下、上記で得られた成績を比較検討した。

結果

1. 下肢機能障害度の経過では、calpainopathy症例に比べて、Becker型では症例により経過にばらつきがみられたが、よく似た経過を示す症例もみられた。
2. 徒手筋力テストでは、両疾患ともに四肢近位筋に優位な筋萎縮が認められた。
3. 血清CK活性値では、calpainopathy、Becker型ともに60歳前後では正常値近くに低下しており、両者の間に大きな差は認められなかった。
4. 下腿CT像では、両疾患ともに四肢近位筋優位な筋

萎縮を呈しているが、calpainopathyでは腓腹筋に比較してヒラメ筋が、Becker型ではヒラメ筋に比較して腓腹筋の萎縮がやや強かった。

5. 心胸郭比ではBecker型では経過中に60%以上となる症例もみられたが、calpainopathyでは50%以下で経過する症例が殆どであった。

6. 血漿ANP値では、calpainopathyでは正常範囲内で経過する症例が殆どであるが、Becker型では380pg/ml以上と極めて高値になる症例もみられた。

7. 血漿BNP値では、calpainopathyでは正常範囲内で経過する症例が殆どであるが、Becker型では900pg/ml以上と極めて高値になる症例もみられた。

8. 左室拡張末期径では、calpainopathyでは多くの症例が正常範囲内であるのに対し、Becker型ではその多くの症例で40mmを越えており、短縮率からも左室機能の低下が示唆された。ET/PEPではBecker型で正常下限に近い症例が多く、左室機能が低下していることが示された。

考察

CalpainopathyとBecker型筋ジストロフィーの症例について骨格筋障害と心機能障害を比較検討した。筋萎縮は両病型ともに四肢近位筋に優位であるが、calpainopathyではヒラメ筋、Becker型では腓腹筋の障害が強くみられた。Calpainopathyでは心機能は正常ないし軽度の障害を呈したが、Becker型ではほぼ正常のものから高度の障害を呈するものまでと、心機能障害の程度に幅がみられた。この理由として、calpain3は骨格筋に特異的に発現するが、dystrophinは心筋にも発現するためと考えられる。

結論

Calpainopathyでは心機能障害はなく、Becker型筋ジストロフィーでは心機能、特に左室機能障害が強い。

参考文献

- 1) Kawai H, et al: Clinical, pathological, and genetic features of limb-girdle muscular dystrophy type 2A with new calpain 3 gene mutations in seven patients from three Japanese families. *Muscle Nerve*, 21:1493, 1998.

Sarcoglycanopathy (LGMD2C,2D)とDuchenne型筋ジストロフィーの心筋・骨格筋障害の比較検討

足立克仁¹⁾, 馬木良文²⁾, 松下隆哉²⁾
乾 俊夫²⁾, 多田羅勝義²⁾, 川井尚臣²⁾

¹⁾国立療養所徳島病院内科

²⁾同神経内科, ³⁾同小児科

⁴⁾高松市民病院内科

緒言

幼小児期発症の筋ジストロフィーのうち、伴性劣性遺伝の Duchenne 型と常染色体劣性遺伝のサルコグリカノパチー¹⁾,²⁾(SG-pathy)との鑑別は容易でないことが多い。本研究では両者の鑑別に資する目的で、心筋ならびに骨格筋の障害を比較検討した。

方法

対象は γ SG-pathy(LGMD2C) 1例(13 歳女兒)、 α SG-pathy(LGMD2D) 4 例(11, 31, 56 歳女性, 15 歳男性)である。Duchenne 型は 18 例(6 ~ 22 歳男性)である。両病型について、骨格筋機能として、血清 CK 活性値、下肢筋 CT 像、骨格筋免疫組織化学を、また心機能として心胸郭比、心エコー所見、血漿ナトリウム利尿ペプチド(ANP, BNP)値を検討し、さらに剖検心筋の免疫組織化学検査も行った。

結果

1. 幼小児期の血清 CK 活性値は、Duchenne 型では 20,000 ~ 40,000 IU/L (正常値 < 200) と高値を示したが、SG-pathy では 2,000 ~ 8,000 IU/L と Duchenne 型に比べ上昇は軽度であった。

2. 骨格筋について、両者の筋萎縮の部位には明らかな差は認めなかった。下肢筋の CT 像では、両者とも下腿最大径部に比べ大腿中央部での脂肪置換像が強くみられたが、薄筋は比較的残存していた。

3. 生検骨格筋の免疫組織化学では、SG-pathy では dystrophin は筋細胞膜上に正常に染色されたが、sarcoglycan(SG)は α , β , γ とともに殆ど染色されなかった。Duchenne 型では逆に、dystrophin は陰性であるが、SG は染色された。

4. 心機能については、SG-pathy では胸部 X 線上明らかな心胸郭比(CTR)の拡大は認められず、心エコーでも左室拡張末期径(LVDd)および左室短縮率(FS)

は正常範囲であった。また ANP 値、BNP 値は 4 例が正常範囲で、56 歳の症例でのみ BNP 値が 40 pg/ml (正常値 < 18.4) と軽度上昇していた。Duchenne 型では早期より CTR の拡大、LVDd の拡大、FS の低下および ANP 値、BNP 値の上昇がみられた。

5. 下肢機能障害の経過では、SG-pathy は発症は 3 ~ 6 歳で、13 ~ 16 歳で歩行不能となり、20 歳以降に座位保持不能となり、その後は緩徐進行性であった。Duchenne 型は発症は 2,3 歳であり、10 ~ 12 歳で歩行不能となり、20 歳前後で座位保持不能となった。

6. α SG-pathy の剖検心では、主として左室後壁に筋線維の変性が認められ、Duchenne 型と似ていた。心筋の免疫組織化学では、 α SG-pathy では dystrophin は正常であったが、 α SG は陰性であった。Duchenne 型では骨格筋と同様の所見であった。

考察

幼小児期の SG-pathy と Duchenne 型を臨床的に鑑別するには、遺伝型、性別、血清 CK 値の上昇の程度、心機能障害の有無、下肢機能障害の経過の検討に加え、骨格筋の免疫組織化学検査を必要とする。予後について、SG-pathy が Duchenne 型に比べ経過がよいのは、心筋障害が Duchenne 型に比べ軽いことが一因と思われた。これは心筋における SG の役割が dystrophin に比べ小さいことによると推定される³⁾。

結論

SG-pathy が Duchenne 型に比べ予後がよいのは、心筋障害が Duchenne 型に比べ軽いことが一因と考えられた。

参考文献

- 1) 川井尚臣: 肢帯型筋ジストロフィー A サルコグリカノパチー。筋ジストロフィーはここまでわかった。PART2 (筋ジストロフィー研究連絡協議会, 編), 医学書院, 1999, p107-124.
- 2) 足立克仁, 木村千代美, 齋藤美穂, ほか: 悪性肢帯型筋ジストロフィー (三好) 患者におけるサルコグリカンの遺伝子異常ならびに臨床像と剖検心所見. 医療, 54:419-423, 2000.

遠位型筋ジストロフィー(三好型)症例の骨格筋中ジスフェリンの欠損—原著論文の症例についての検索—

足立克仁¹⁾、川井尚臣⁴⁾、乾 俊夫²⁾、
齋藤美穂¹⁾、木村千代美¹⁾、重本洋二³⁾

¹⁾国立療養所徳島病院内科、²⁾同神経内科

³⁾同研究検査科技師、⁴⁾高松市民病院内科

緒言

1965年～1986年に三好らは常染色体劣性遠位型筋ジストロフィー(三好)の存在を発表した^{1),2)}。本研究では、三好らの原著に記載された1家系1症例において骨格筋のジスフェリン³⁾(dysferlin)が欠損していることを明らかにしたのでその結果を報告する。

方法

1)対象は原著の1家系:父(剖検例)と2人の娘が病者、1人の息子であり、この兄妹の両親は近親婚である。父は病者で肺炎のため68歳で死亡した。

2)生検筋を得た病者と保因者:①発端者の妹例(48歳)は、発症は12歳で、16歳でふくらはぎの萎縮に気づいた。当時血清CK活性値は正常値の18倍の上昇を示した。34歳で歩行不能となった。現在は電動車椅子に乗り、血清CK値は正常の3～4倍である。

②保因者の兄例(55歳)は、25歳より全身の軽度の筋力低下に気づいたが、筋萎縮は明らかでなく、現在でも階段昇降は可能であり、血清CK値の上昇はない。

3)上記の妹例と兄例でそれぞれ三角筋、大腿四頭筋より筋生検を行い、これを用いて免疫組織化学にて、dystrophin、 α -sarcoglycan(SG)、さらにdysferlinを調べるとともにdysferlinの mRNA の塩基配列を検索した。

結果

1)妹例(Brain誌, An-IV-3):骨格筋はHE染色では、ジストロフィー性変化を示した。免疫組織化学では、dystrophin、 α -SGは筋細胞膜上に正常に染色されたが、dysferlinは完全に陰性であった。

2)兄例(Brain誌, An-IV-1):骨格筋はHE染色では、軽度の大小不同がみられるのみで、dystrophin、 α -SGは免疫組織化学では、筋細胞膜上に正常に染色されたが、dysferlinは明らかに染色性が低下していた。

3)Dysferlin 遺伝子の検索:生検骨格筋より得た

mRNA について PCR にて DNA 断片を増幅し、各エクソンの塩基配列を調べたが変異は見いだせなかった。

考察

三好型(三好ミオパチー)とLGMD2Bはともにdysferlinの遺伝子異常によることが、米国のBrownら³⁾、英国のBushbyら⁴⁾によって明らかにされた。

三好らの原著に記載された症例は遺伝・臨床的に診断されたものでdysferlinの欠損については検索されていないので、これらの症例でdysferlinが欠損していること、あるいは同遺伝子の異常の有無を明らかにする必要があった。本研究によって、病者でdysferlinの完全欠損が認められ、dysferlinopathyであることが明らかにされた。さらに家系図よりヘテロ接合型の保因者では免疫組織化学的に筋細胞膜にdysferlinが著しく減少していたが、三好型の保因者についての、このような成績はまだみられない。Dysferlin遺伝子についてはさらに検索をすすめたい。

結論

三好らの原著の1例でdysferlinの欠損が認められ、やはりdysferlinopathyであることが明らかにされた。

参考文献

- 1)三好和夫、西條一夫、ほか: Distal Myopathy の遺伝・臨床型。自験7家系14症例と我が国文献例についての成績(会)。臨床神経, 14: 963-963, 1974。
- 2)Miyoshi, K., Kawai, H., et al.: Autosomal recessive distal muscular dystrophy as a new type of progressive muscular dystrophy. Seventeen cases in eight families including an autopsied case. Brain, 109: 31-54, 1986。
- 3)Liu, J., Aoki, M., et al.: Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. Nature Genet., 20: 31-36, 1998。
- 4)Bashir, R., Britton, S., et al.: A gene related to *Caenorhabditis elegans* spermatogenesis factor *fer-1* is mutated in limb-girdle muscular dystrophy type 2B. Nature Genet., 20: 37-42, 1998。

DMD (BMD) における凝固線溶系機能に関する研究

福田 清貴
国立療養所原病院

緒言

DMD (BMD) において、肺梗塞等の血液凝固障害に起因すると考えられる血管閉塞病変の存在が指摘されている。今回、全国規模での多数例による血液凝固状態の検討の必要性から、DMD (BMD) を対象として血液凝固線溶系の検査を全国レベルで行った。

協力病院

- 国立療養所西奈良病院
- 国立精神・神経センター武蔵病院
- 国立療養所東埼玉病院
- 国立療養所長良病院
- 国立療養所宇多野病院
- 国立療養所刀根山病院
- 国立療養所徳島病院
- 国立療養所西別府病院
- 国立療養所川棚病院
- 国立療養所再春荘病院
- 国立療養所南九州病院
- 国立療養所沖縄病院

方法

対象はDMD (BMD) 44例、対照には神経原性筋疾患の患者31例を用いた。一般凝固系検査としてAPTT、PT、凝固系分子マーカーとしてTATⅢ複合体、PT、F1+2、線溶系分子マーカーとしてDダイマー、 α_2 PI、PM複合体を用いた。検査は1つの検査センターに集め同時に測定した。それぞれの検査結果についてDMD (BMD) と神経原性筋疾患の間で有意の差が認められるか検討した。

結果

DMD (BMD) の平均年齢は26.0歳、障害度(平均)は7.1、DMD : BMD = 6.3 : 1であった。神経原性筋疾患はKugelberg - Welander病 (K-W) が8例、Werdnig - Hoffmann病 (W-H) が19例、Charcot - Marie - Tooth病 (CMT) が4例で、平均年齢は35.4歳、障害度(平均)は7.4、男 : 女 = 1.9 : 1であった。

APTTの平均値はDMD (BMD) で37.1秒、神経原性筋疾患で34.6秒であったが、t検査ではDMD (BMD) で有意に ($P < 0.01$) 延長していた。

PTの平均値はDMD (BMD) で11.70秒、

図1

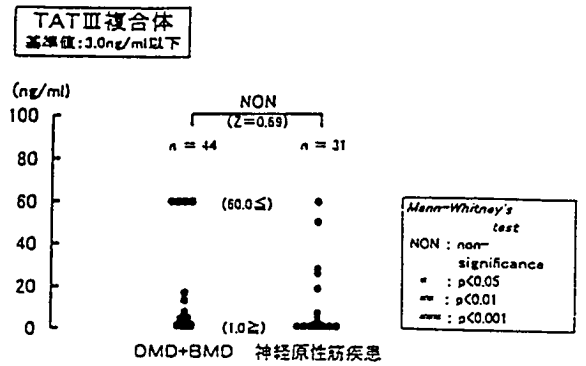
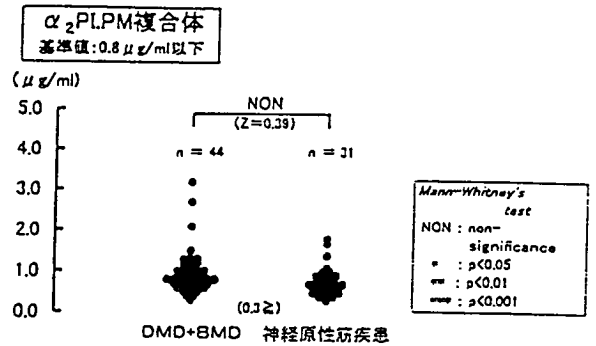


図2



神経原性筋疾患で11.4秒と有意の差はなかった。TATⅢ複合体は図1のごとく両者とも異常高値を示す例があったが、Mann - Whitney法にて両者間に有意の差は認められなかった。

PT、F1+2の平均値はDMD (BMD) では1.08mo l/l、神経原性筋疾患では0.81mo l/lで両者間に有意の差を認めなかったが、DMD (BMD) において異常高値を示す例がかなり認められた。

Dダイマーの平均値はDMD (BMD) で0.65ng / ml、神経原性筋疾患で0.52ng / mlと正常であった。 α_2 PI、PM複合体は図2のごとく両者とも異常高値を示す例が多数あったがMann - Whitney法では両者間に有意の差を認めなかった。

考察

DMD (BMD) と神経原性筋疾患とも凝固線溶系検査において異常を示す症例が認められた。その異常はDMD (BMD) において神経原性筋疾患に比し統計学的に有意差が認められたのは一部であった。

今回の検討では個々の症例の臨床病態が加味されていないためはっきりとしたことは言えないが、不動性がこれら凝固線溶系検査の異常に関与している可能性があると思われる。

筋強直性ジストロフィーの骨代謝

春原経彦、土屋一郎、西岡昌紀、横山照夫
(国立療養所箱根病院神経内科)、大棒秀一
(同 放射線科)

〔緒言〕

筋強直性ジストロフィー(MyD)の骨代謝について予備的検討を行った。

〔方法〕

対象は MyD 23 例、男 15、女 8 例、年齢は 32-66 歳で、ADL は独歩可能例 3 例、介助歩行可能例 11 例、歩行不能例 9 例であった。これらの症例で骨 CT で第 3 腰椎椎体の骨密度の最小値と最大値(mg/cm³)、骨吸収マーカーとして早朝尿で尿中デオキシピリジノリン(Dpd, n:男 2.1-5.4、女 2.9-7.6 nmol/mmol Cr)、尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド(NTx, n:骨吸収亢進の指標 55 nmol BCE/mmol Cr 以上)、尿中カルシウム(ヤッフエ比/Cr)、骨形成マーカーとして早朝採血で血清骨型アルカリフォスファターゼ(BAP, n:10-27 U/l)、同オステオカルシン(BGP, n:3.1-12.7 ng/ml)、同プロコラーゲン C プロペプチド(PICP, n:160 ng/ml 未満)値を測定し、検討に供した。優位差検定には Student の t-test を用いた。

〔結果〕

対象全例の骨密度は最小値(M±SD、以下同)は 118.65±62.18、最大値は 133.51±65.77 で参考値¹⁾に比し低値であった(p<0.01)。また尿中 Dpd は 13.67±8.93、同 NTx は 51.10±40.17、同 Ca は 0.31±0.26、血清 BAP は 23.80

±8.96、同 BGP は 5.85±2.25、同 PICP は 96.63±27.67 であった。男女別では骨密度は女でより低値で、尿中 Dpd、NTx、Ca は女がより高値を示し、血清 BAP、BGP、PICP は性差はなかった。ADL 別では骨密度は歩行不能例では介助歩行可能例に比し低値の傾向で、尿中 Dpd、NTx、Ca は独歩可能、介助歩行可能、歩行不能例の順で後者ほど高値(p<0.05)、血清 PICP は逆に後者ほど低値の傾向を示した。年齢別では 40 歳代以下は 50 歳代以上に比し骨密度は明らかに高値(p<0.05)で、血清 BAP は 40 代以下、50 代、60 代の順で後者ほど低値となる傾向を認めた。また血清エストラジール(E2)と血清 PICP の間に正相関を認めた(p<0.001)。

〔考察および結論〕

MyD では尿中 Dpd 高値、骨形成マーカー正常範囲から骨吸収亢進が存在し、これは主に不動による骨粗鬆症に起因すると考えられるが、今後副甲状腺機能との関連²⁾を含め、本症に特異的な骨代謝異常の存否につき検討を要する。

〔参考文献〕

- 1) 骨粗鬆症と寝たきり防止の為の年齢に応じた保健事業の体系化に関する研究事業報告. p6, 1996
- 2) Kinoshita M, Komori T, Ohtake T, et al. Abnormal calcium metabolism in myotonic dystrophy as shown by the Ellisworth-Howard test and its relation to CTG triplet repeat length. J Neurol 244 (10): 613-622, 1997

TIPPV 施行中 FSHD の自発呼吸

春原経彦、土屋一郎

国立療養所箱根病院神経内科

〔緒言〕

TIPPV 施行中で、1日に数時間離脱している顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(FSHD)症例につき離脱後再び人工呼吸器が必要となる理由を明らかにすることを目的とした。

〔方法〕

対象は当院に入院中でインフォームドコンセントを得た FSHD2 例である。両例で、人工呼吸器離脱直後で呼吸困難感の出現前(前)、呼吸困難感の出現時(中)、そして TIPPV 再開後(後)、の PaO₂ (mmHg)、SpO₂ (%)、PaCO₂ (mmHg)、呼吸数(/m)、血圧(mmHg)、脈拍(/m)を測定した。尚、SpO₂については連続記録を行った。また自覚症状についても注目した。

〔結果〕

症例 1 は 65 歳、女性。13 歳時から両上肢脱力が発症し、14 歳時 FSHD の診断を受けた。その後胸郭変形の出現とともに 20 歳時起立歩行不能となり、46 歳時長期療養目的で当院に入院した。57 歳時肺炎とともに呼吸不全を来し気管切開、TIPPV を受け、その後離脱が試みられたが完全離脱は得られず、現在は 1 日数時間離脱している。症例 2 は 48 歳、女性。6 歳時両上肢脱力、転倒傾向が出現し、8 歳時歩行困難、13 歳以後胸郭変形が生じ、15 歳時独歩不能となった。29 歳時長期療養目的で当院に入院した。42 歳時肺炎とともに呼吸不全

を来し気管切開、TIPPV を受け、その後症例 1 と同様現在 1 日数時間離脱している。症例 1 (2)の PaO₂ は前 53.9 (56.3)、中 65.8 (86.1)、後 81.2 (123.3)、SpO₂ は前 99 (96)、中 98 (93)、後 99 (100)、PaCO₂ は前 42.2 (37.6)、中 40.2 (46.7)、後 35.6 (27.3)、呼吸数は前 17 {76(努力呼吸)}、中 23 (28)、後 15 {15(ともに設定値)}であった。脈拍は前 78 (60)、中 64 (64)、後 60 (54)であった。血圧には著変なかった。自覚症状では症例 1 は「中」の時期に体熱感、全身発汗亢進を示し、症例 2 は「前」の時期に努力呼吸を示したがその後落ち着き、「中」の時期に空咳と眠気を来した。両例でこれらの症状は人工呼吸再開後は早やかに改善した。

〔考察および結論〕

両例で呼吸器離脱後呼吸困難感のため再び呼吸器が必要になる時期に PaO₂、PaCO₂ の著明な悪化はなく、再装着の理由は血液ガスの悪化そのものよりも、呼吸筋の疲労、胸郭変形や低い胸壁コンプライアンスなど、多因子性要因が考えられた。

〔参考文献〕

- 1) Nakagawa M, Matsuzaki T, Higuchi I, et al. Facioscapulohumeral muscular dystrophy: Clinical diversity and genetic abnormalities in Japanese patients. *Int Med* 36: 333-339, 1997
- 2) Howard RS, Wiles CM, Hirsch NP, et al. Respiratory involvement in primary muscle disorders: assessment and management. *Quart J Med* 86: 175-189, 1993

筋強直性ジストロフィー (MyD) における^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィを用いた心機能評価について

箭原 修、牧田圭弘、伊藤 崇
木村 隆、橋本和季
国立療養所道北病院神経内科

緒言

MyDにおいてCTGリピートの増加に伴い、心機能が低下するといわれている。しかし、局所血流の評価で%CI (count increasing) による心機能評価を行った報告はない。そこで、^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィを施行し、%CIを求め、MyDにおける局所心機能の評価と%CIとCTGリピート数の関連性につき評価した。

方法

心不全徴候のないMyD患者16例(男性8名、女性8名)に、^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィを施行し、短軸像において同一スライスに固定しECG gated SPECTを用いて収縮期・拡張期で左室前壁・側壁・中隔・下壁に4カ所の関心領域 (ROI) を設定し、局所血流を測定、 $\%CI(\% \text{Count increasing}) = (ES - ED) \times 100 / ED$ を求めた。

なお、^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィは、
1)心筋自体の取り込みは軽度で洗い出しは俊敏である。
2)心駆出率(EF)をファーストパスで求めることができる。
3)ECG-gated SPECTで、リアルタイムの心動態を3Dでみることが出来る。

などの特徴を併せもつ核種である。

また、CTGリピート数は、サザンプロット法を用い算出した。

結果

^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィの検討では、%CIの各部位を正常対象平均と比較すると、側壁と下壁で%CIの低下が認められた。側壁 ($r = -0.719$, $p = 0.0167$) と下壁 ($r = -0.754$, $p = 0.0092$) で%CIとCTGリピート数の間に負の相関がみられた。これより、CTGリピート数の増加に伴い下壁・側壁の局所心筋機能低下が示唆された。

考案

^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィを用いた検討では、下壁の%CIが低下していることから、MyDでは同部の心機能が特に低下しているとおもわれ、さらにMyDにおいてCTGリピート数の増加に伴い心筋代謝異常が認められるとされ、今回の検討で、CTGリピート数と下壁・側壁の%CIが負の相関を示したことから、下壁・側壁の局所心筋の機能障害が心筋代謝異常を反映している可能性がある。

MyDにおける心筋の病理所見でも心筋障害が下壁から生じやすいと報告がある。

結論

MyDにおける^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィによる心機能評価では、下壁・側壁に低下が示され、これは病理所見で障害が下壁に強いことに一致しており、^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィを用いた心機能評価は侵襲性も低く有用な検査法であると考えらる。

参考文献

- 1) Kumita S, et al: Evaluation of Left Ventricular Function Using Gated Planar Myocardial Imaging with Tc-99m-MIBG, Nucl. Med. 28:591-7, 1991
- 2) Imai K, et al: Property of Electrocardiogram Gated Single Photon Emission Tomography by Tc-99m-Methoxy Isobutyl Isonitrile, Nucl. Med. 29:695-9, 1992
- 3) 大槻克一ら: ^{99m}Tc-MIBI心筋シンチグラフィによる心筋灌流および壁運動の同時評価, 映像情報: 24, 89-94, 1992

筋ジストロフィーにおける横隔膜と胸郭との運動について

箭原 修、牧田圭弘、伊藤 崇
榎本博之、木村 隆、橋本和季
国立療養所道北病院

緒言

筋ジストロフィー患者で呼吸筋の評価をおこなう方法としては生理学的検査のスパイロや動脈血ガス分析などが用いられていた。しかし、呼吸筋の動きから横隔膜や胸郭の評価をすることは病状の進展度や今後の予後を知る上で大事である。しかしながら、今まではこれについての検討は非常に少ない。さらに、呼吸筋の筋力の低下が認められた時に、どのような呼吸運動をするのか大変興味ある。昨年この班会議で正常対照群だけでなく筋ジストロフィー症群でも呼吸運動では左右の変化率より前後の変化率が大きいことを示し、左右の胸郭の動きより前後の胸郭の評価が重要であることを報告した。

今回は血管造影装置を用いて筋ジストロフィー患者で横隔膜の筋力低下の評価について検討を行った。

方法

対象は当院に入院している筋ジストロフィー患者で筋強直性ジストロフィー症患者 (DM) 10 例、いわゆる肢体型筋ジストロフィー症患者 (LG) 5 例、成人対照 (control) 7 例である。

方法は血管造影装置 (GE 社製 Advantx-E-LCX) を用いて、臥位で努力性の呼吸運動を行い、最大吸気と最大呼気の運動を正面像と側面像から連続撮影した。横隔膜の動きを画像解析ソフトを用いてトレースした。

結果

1. 最大吸気位における横隔膜の形状について
吸気は主として横隔膜の運動に依存している。control 群では最大吸気位における正面像や側面像で平坦か下方に凸の形状を全員 (8 例) が示し正常な横隔膜の動きを示した。一方 DM 群では正面像は 3 例、側面像は 2 例のみしか平坦か下方に凸の形状を認めず ($P < 0.01$)、多くが上方に凸の形態を示した。DM 群では横隔膜の筋力低下が推測された。

2. 吸気と呼気における横隔膜の相似性について
最大吸気位において DM 群で横隔膜の筋力低下が推測されたので、最大吸気位と最大呼気位でそれぞれトレースした横隔膜の輪郭をコンピューターで重ね合わせ、相似性について側面像と正面像について検討した。DM 群では正面像で全例 (10 例) に相似性が認められ、側面像では 80% (8 例) に認められた。LG 群では正面像では 80% (4 例) で、側面像では 60% (3 例) に認められた。一方 control 群では 1 例しか相似性を認めなかった。

考案

横隔膜の形状が最大吸位でも下方に凸にならないので、最大呼位と最大吸位における横隔膜の形状がほぼ同じに示したことは、横隔膜の筋力低下を示すものである。しかし石原らは MD の横隔膜の剖検で ALS や DMD (Duchenne dystrophy) のそれと比較して横隔膜や呼吸筋が保たれていると報告しているが、病状のレベルや腹筋等の比較検討が必要である。

呼吸運動について DM 患者が検査の目的を充分理解して上で、努力をしたかどうか問題になるが、検査前に最大吸位と最大呼位の呼吸運動を行い、血管造影撮影時も数回の呼吸運動から適した画像を検討に用いた。呼吸運動は努力しているものと判断した。

今回は臥位のみで評価をした。座位も検討を試みたが、前後に体が動いてしまい、その結果血管造影の視野から横隔膜が外れてしまうことが多く、今後視野の中に入れるために座椅子などを用いる工夫が必要である。

結論

DM 群では呼吸運動の最大吸位では横隔膜の形状は正常対象群とは違い上方の凸の形態を示した。DM に認められた吸気時と呼気時における横隔膜の形状に変化が少ないことは、横隔膜の筋力低下を示し、DM 群の多くの症例にこれが認められた。

この場合には、呼吸運動は胸郭の動きに依存することが高いと思われるが、肋間筋や腹筋も含め更なる検討が必要である。

文献

- 1) 石原傳幸ら：筋強直性ジストロフィー症の呼吸病理 医療 49 (増刊号 3) : 765.
- 2) 橋本和季ら：筋強直性ジストロフィー症の横隔膜誘発電位と呼吸機能について。平成 8 年度厚生省精神・神経疾患研究委託費による研究報告書、1997、p246
- 3) William A. Whitelaw : Topography of the diaphragm.. In the Thrax, ed by Charis Roussors. New York, Marcek Dekker, Inc. 1995, p590

Duchenne型筋ジストロフィーの微小変異・点変異の解析 —Non-radioactive Protein Truncation Test (PTT)の再検討—

分担研究者：石川 幸辰

共同研究者：石川 悠加、田邊千絵、佐藤圭右

南 良二

国立療養所八雲病院小児科

目的

私共は、平成7年度より、Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)の点変異に多く認められるpremature translational terminationをin vitro transcription, in vitro translationにより効率的に検出可能なnon-radioactive Protein Truncation Test (PTT)を試みてきた。しかし、実際にDMD十数症例の解析を試みたが変異を確定できたのは、3症例に過ぎなかった。この原因として、末梢血リンパ球よりdystrophin cDNAをRT-nested-PCRにて合成したが、DMD症例では正常対照と比べ、mRNA発現が著減しているため(nonsense-mediated mRNA decay)、non-radioactive PTTに十分量のcDNA(0.5-1.0 μ g)を得ることが出来なかった。今回、煩雑なelectrophoresis、Western-blottingを簡略にするため、全自動電気泳動システムPhastSystem™、PhastTransfer™ (Pharmacia)を導入し、少量のcDNAでも解析可能なRT-nested-PCR/PTT条件の再検討を行なったので報告する。

方法

(1) reverse transcription : 末梢血リンパ球由来 total RNAは、抽出後直ぐにRT反応を行ない、RNA 1 μ gあたり100 unitのRT'seを用い、一回3~5 μ g、42℃、90 minでcDNA合成した。(2) nested-PCR: 従来のRoest setでの1-5CD/EFの10 reactionに変え、1-5 CFのprimer setで行ない、1st、2nd PCRとも35 cycleで行なった。(3) in vitro transcription /translation: 一回あたり250 ngのcDNAを用い、1/2の反応スケールで行なった。(4) electrophoresis /Western-blotting: PhastSystem/PhastTransferにより、泳動・プロット時間を大幅に短縮した。電気泳

動条件は、200V、5mA、3W、15℃、100 vh (Homogeneous media 20) or 75 vh (Homogeneous media 12.5)、プロット条件は、20V、25mA、1W、15℃、2vh、30min。(5) detection: PVDF膜サイズが5×5cmに縮小したため、ブロッキング、Streptavidin-POD試薬も一回10 ml、5 mlと1/5スケールで行なった。

結果および考察

末梢血リンパ球で発現するexon X(exon 1-2)を避けるために新しいprimer 1-Cx(nt-296-315)を設定した。1~5CFのサイズは、2.1~2.5 kb、推定される蛋白の分子量は82~93 KDaであり、SDS-PAGEゲルの上端で明瞭に確認された。このため、このbandのシフトが認められると、そのexon領域でのpremature terminationを示すことになる。RT-nested-PCRは、cDNA合成条件の再検討により感度が向上したが、場合により、従来の1-5CD/EFのprimer setで3rd PCRを行なうことも可能である。現在までに、Leiden Muscular Dystrophy Home page上で登録されたDMDにおけるdystrophin gene sequenceのvariationは214例に過ぎない。最近、アミノ配糖体が、ジストロフィン遺伝子のナンセンス変異を読みとばすことで、ジストロフィン蛋白発現を還元できる可能性を示唆する実験結果が報告され、点変異の正確な同定がDMDの遺伝子レベルでの治療を考える上で重要であることが再認識されてきた。過去4年間で当院での初診DMDは18例であり、multiplex PCR/サザン解析で診断確定されたものは、14例、欠失・重複のないものが4例より、今後、年2~3例の微小変異・点変異の検索が最低必要となるが、本法により時間・労力とも年度内の解析は可能と思われた。

参考文献

1. Roest AM et al. 1993. Protein truncation test (PTT) to rapidly screen the DMD gene for translation terminating mutations. *Neuromusc Disord* 3: 391-394.
2. Den Dunnen JT, Van Ommen GB. 1999. The protein truncation test: A review. *Hum Mutat* 14: 95-102.
3. Barton-Davis ER et al. 1999. Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. *J Clin Invest* 104: 375-381.

経過観察中に急速に心筋障害が進んだ進行性筋ジストロフィー症の一例

分担研究者：石川幸辰(国立療養所八雲病院小児科)

共同研究者：○尾形仁子(札幌社会保険総合病院
内科)

石川悠加(国立療養所八雲病院小児科)

南 良二(国立療養所八雲病院小児科)

進行性筋ジストロフィー症(DMD)における心筋障害の経過を4年間にわたり観察している1例を報告する。

【症例】

14歳。遺伝子欠失は不明。母方の叔父がDMD、心不全により死亡。経過中明らかな心不全症状なし。平成8年4月9歳時国立療養所八雲病院初診時、心エコー図で心機能低下、BNP 37.3pg/ml(正常値 <20)と軽度上昇していた。平成9年1月10歳時心臓精査の目的で当院初診。ANP <10pg/ml。BNP <2.0pg/ml。NA 280pg/ml。心筋シンチでは明らかな集積低下なし。LVEF 42%。平成10年6月ANP 13pg/ml。BNP 21.8pg/mlと軽度上昇していたため同月よりジゴキシン、ACE阻害剤、 β -ブロッカー開始。同年8月ANP <10pg/ml。BNP 7.5pg/ml。平成11年1月ANP <10pg/ml。BNP 15.3pg/ml。同年5月BNP 39.2pg/ml。心筋シンチでは下壁、側壁、心尖部の集積低下を認める。LVEF 45%。平成12年LVEF 18.2%と前年に比して著しく低下。BNP 129pg/ml、NA 541pg/mlと上昇。心筋シンチでは心室中隔下部を除き著しい集積低下がみられた。

【追加症例】

11歳。遺伝子欠失は不明。兄、姉は異常なし。9歳時に歩行消失。心不全症状なし。平成12年当院初診時、ANP 23pg/ml。BNP 6.3pg/ml。NA 232pg/mlと正常。心エコー図でLVDd 42mm、%FS 43%、LVEF

75%と心機能は正常。心筋シンチでも異常所見なし。

【考案】

本例は未だ明らかな心不全症状を呈していないが初診時より心機能は低下しており、この1年間で急速に心機能障害が進行した。本例ではわずかなBNPの上昇に着目して治療を開始した。治療は自覚症状の抑制、QOLの維持に有効であったと思われるが心筋障害は進行した。DMDでは14-15歳で心不全により死亡する症例がある。この場合発症前にBNPの変動、上昇を生じている可能性がある。本症におけるBNPの意義については十分に検討されていないが、本症のような心不全発症のハイリスク群では症状の出現以前からわずかではあってもBNPの値に変動がみられる可能性がある。本症においてはかなり早期から心筋障害の進展を予測して経過を観察しなければならないこと、心筋障害の進展を抑制する治療の早期開始を痛感させられた一例であった。なお追加症例の如く若年で発症から日も浅く、明らかな心筋障害の兆候がない症例でもハイリスクであるため、発症を未然に防ぐための方策が必要であると思われる。

【参考文献】

- ・循環器病の診断と治療に関するガイドライン(1998-1999年度合同研究班報告)－慢性心不全治療ガイドライン－Jpn Circ J 2000; Vol 64, Suppl. IV: 1023-1079
- ・Tsutamoto T et al : Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure: Prognostic role of plasma brain natriuretic peptide concentration in patients with chronic symptomatic left ventricular dysfunction. Circulation 96: 509-516, 1997

北海道におけるDuchenne型筋ジストロフィーの疫学—過去8年間の推移—

分担研究者：石川 幸辰

共同研究者：石川 悠加、田邊千絵、佐藤圭右
南 良二
国立療養所八雲病院小児科

目的

私共は、平成4年度、8年度と、4年おきに北海道におけるDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)の疫学調査を施行してきた。今回、平成12年度の調査を行ない、過去8年間の推移について比較検討したので報告する。

対象と方法

北海道の3つの大学医学部小児科、神経内科および専門とする内科、その関連小児科、内科、2つの道立肢体不自由児療育センターの計22施設にアンケート調査した。北海道庁のホームページより、平成12年3月末現在の世帯調査より北海道の5歳階級別人口より男児10万あたりの発生率、人口10万あたりの有病率を算出した。

結果

前回、平成8年度の調査では、平成7年度の国勢調査(平成7年10月1日)を基に算出したが、今回、調査期間に最も近い平成8年3月末での正確な北海道人口のデータが入手でき、また、発生率に最も近い10~14歳の5歳階級別有病率で、今回、2名の洩れが判明したため、これに基づいて再計算を行なった。この結果、平成8年度の発生率は

19.60、有病率は3.11となった。今回、平成12年度の調査では、当院入院84名、当院外来・在宅50名、他施設35名の計169名のDMDの生存が確認された。5歳階級有病率は10~14歳で19.64とピークを示し、これを発生率と仮定し0~4歳、5~9歳を補正すると189名のDMD患者の生存が推定され、有病率は北海道人口より10万あたり3.33となった。平成4年(調査数12施設)、8年(調査数14施設)、12年度(調査数22施設)の推移は、生存確認DMD患者は、131名、153名、169名、有病率は、2.73、3.11、3.33と明らかに増加の傾向を示した。一方、発生率は、18.18、19.60、19.64と平成4年度では低かったが、平成8、12年度はほぼ同率であり、調査範囲の誤差と思われ、発生率の減少傾向は認められなかった。入院/外来および他施設の平均年齢は、平成4年度19.5/11.0歳、8年度21.8/12.3歳、12年度24.4/14.0歳と入院、外来および他施設とも高年齢化が認められ、呼吸器装着率も入院/外来で、平成4年度33.8/1.8%、8年度53.7/6.8%、12年度63.1/11.8%と顕著に増加してきている。八雲外来と他施設の平均年齢は、14.1、14.0歳と差を認めなかった。

考案

過去8年間の推移を見ると、発生率は、19.6と一定の傾向を示した。一方、有病率は、呼吸器装着率の上昇から見てもわかるように、DMDでのケアの進展により、着実に上昇しており、長期生存の傾向が伺えた。入院では、ほぼ病棟の6割が呼吸器を装着しており、8年前と比べ倍増している。外来、他施設での呼吸器装着率はまだ低いが、今後、10年以内に倍増するものと予想され、当院を中心とした連携が必要となると予想される。

福山型先天性筋ジストロフィー児の 網膜病変に関する病理学的検討

大澤真木子

東京女子医科大学小児科

【緒言】我々はこれまでに、特に著明な眼科臨床的異常を指摘されなかった福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)児の剖検網膜の検索にて、網膜異形成の存在を確認した。また、眼病変の成因を、中枢神経の皮質異形成と類似の病態と推測し、FCMD児の眼病変の免疫組織化学的検索を行ってきた。今回、症例数を増やし、病変形成に関与していると考えられているミュラー細胞(MC)を中心に、より詳細な検討したので、報告する。

【対象および方法】14, 6, 2歳のFCMD小児3例、出生前診断でFCMDと診断された胎齢17, 14週の胎児2例を対象とした。小児例では眼科臨床的には14歳児は特に異常なく、6歳児は眼振のみで著明な眼底所見を認めなかった。2歳児は、網膜剥離、小眼球症が認められていた。対照として、非神経筋疾患の胎齢36, 21, 10週の胎児3例の眼球を用いた。HE染色と免疫組織化学的染色(IHC)を行った。IHCの一次抗体は、抗ラミン抗体、抗コラーゲンIV型抗体、抗S-100蛋白抗体、抗グリ線維性酸性蛋白(GFAP)抗体、抗βメンチン抗体、抗glutamate transporter-1(GLT-1)抗体、抗glutamine synthase(GS)抗体、抗ornithine aminotransferase(OAT)抗体を用い、ABC法にて反応を行い、DABで発色した。さらに、14, 2歳の小児FCMD2例、胎齢17週の胎児FCMD1例と、非神経筋疾患の胎齢21週を対照として用い、fukutin DNAプローブ(東京女子医科大学山本智子講師の恵与)のin situ hybridization (ISH)法を行い、基底膜の構成要素であるMCのマーカーvimentinの免疫染色との対比を試みた。

【結果】6歳、2歳FCMD児に小眼球症を認めた。病理組織学的には小児FCMD3例に網膜剥離を認め、14歳児は剥離した網膜に一部癒合を、6歳児は第一次硝子体遺残を伴っていたが、網膜の正常構築が保たれている部位もあった。2歳児では、網膜全体において正常層構造は失われ、嚢嚢形成も部分的に存在する網膜異形成を認めた。FCMD胎児2例では、網膜芽細胞層が内境界膜側に不規則に突出している部分を、17週例には、一部癒合した網膜を認めた。IHCでは、14歳、6歳FCMD

児同様、2歳児でもGFAP, S-100蛋白強陽性のグリ細胞増殖を認め、基底膜構造の構成要素(コラーゲンIV型、ラミン)の免疫活性は著しく低下していた。ミュラー細胞の骨格蛋白βメンチン、代謝マーカーであるGLT-1, GS, OATの免疫活性はいずれも胎児FCMD例では認めず、小児FCMD例では不均一・不連続な免疫活性を認めた。ISHでは、対照網膜の網膜芽細胞層にびまん性にfukutin mRNAの発現を認めた。FCMD例では、比較的網膜層構造が保たれている部位のみでfukutin mRNAの発現を認めた。fukutinの発現が認められた部位では、vimentin陽性のMCが確認された。

【考察】異同が問われてきたWWSやMEBより軽症といわれてきたFCMDの眼病変は、病理学的には網膜異形成が著明であり、その病変形成は胎児期から始まっていると考えられる。病変の成立機序には、MCもその一部である基底膜構成要素の異常、MCの産生する骨格蛋白とglutamate代謝関連蛋白の免疫活性の低下から、MCの機能異常が強く関係する事を示唆している。また、ISHの結果は、網膜層構造の形成過程にfukutinが関与している可能性を示唆している。

【結論】FCMDの網膜病変形成は胎児期から始まり、MCの機能異常が、病変形成に強く関係していることが示された。FCMDの網膜病変の検討は、異同が問われているWWSやMEBDを含む疾患の成立機序と、fukutinの機能解明に寄与すると考えられる。

共同研究者：^a日野なおみ、^b小林楨雄、^b柴田亮行、^b山本智子、^b加藤陽一郎、^a炭田澤子、^a穴倉啓子、^a鈴木暘子、^a平山義人、^a齊藤加代子

a 東京女子医科大学小児科, b 同大学第一病理学教室

- 参考文献：1) Robinson SR, Dreher Z. Müller cells in adult rabbit retina: morphology, distribution and implications for function and development. *J Comp Neurol* 1990;292:178-192.
2) Newman E, Reichenbach A. The Müller cell: a functional element of the retina. *Trends Neurosci* 1996;19:307-312.
3) Vandenbranden CA, Yazulla S, Studholme KM, Kamphuis W, Kamermans M. Immunocytochemical localization of the glutamate transporter GLT-1 in goldfish (*Carassius aurantus*) retina. *Comp Neurol* 2000;423:440-451.

福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD) における心機能に関する検討

大澤真木子
東京女子医科大学 小児科

【緒言】筋ジストロフィーの中でも、ジストロフィン異常に起因する Duchenne 型や Becker 型筋ジストロフィーの心機能障害について詳細に検討されているが、フクチン異常に起因する福山型筋ジストロフィー (FCMD) については病理の報告は散見されているが、心機能障害に関する系統だった報告は少ない。

今回我々は、東京女子医大小児科で経験した FCMD 患児のうち、心エコー検査にて心機能进行评估した症例について検討した。

【対象】27 例の FCMD 患児、男児 13 例女児 14 例を対象とし、1 人につき 2 回以上検査を施行した 7 例を含め計 35 回的心エコーの結果を検討した。検査時年齢は 0 歳 6 ヶ月から 30 歳 6 ヶ月で、平均 9 歳 1 ヶ月であった。対象症例の臨床的表現型の内訳は、立位が可能であった軽症型が 7 例、座位保持までの典型が 13 例、座位も獲得できない重症型が 5 例で、検査時 6 歳未満で典型か軽症型かの診断が未確定の症例が 2 例あった。

遺伝子診断では、検査未施行の 1 例を除き、創始者ハプロタイプのホモとヘテロが各 13 例であった。

【方法】M モードの心エコーを用いて、以下の項目について検討した。まず心筋の収縮力の指標として、左室収縮率 (LVSF) と左室平均円周短縮速度 (m Vcf) - 収縮末期壁応力 (ESWS) 関係を、心形態の指標として、左室拡張末期径 (LVEDD) と左室後壁厚 (LVPW t h) を計測し、いずれも正常平均から 2 標準偏差を外れたものを異常とした。

【結果】1. 心エコー所見

左室収縮率は 27 例中異常 9 例 (33%)、m Vcf-ESWS 関係を検査した 8 例中 2 例 (25%) が異常であったのに対し、左室拡張末期径の異常検出率は 11%、左室後壁厚では 0% と、心筋収縮性の低下を示した症例が多く、形態の異常は比較的少なかった。

2. 年齢および臨床的重症度と LVSF との関係

LVSF 低下と年齢の間には有意 ($p < 0.01$) の相関が見られ、加齢に伴い LVSF は低下する傾向にあった。しかし、臨床的重症度と LVSF 低下に相関は見られず、運動障害が重度であっても LVSF は正常の症例が多かった。

3. 年齢と mVcf-ESWS 関係

mVcf-ESWS 関係を検査したのは 8 例のみであったが、このうち異常は 2 例 (25%) にみられた。年少例では正常であったのに対し、17 歳、30 歳

と高齢の 2 例で低下しており、加齢との関与が示唆された。

4. 年齢と LVEDD (%) との関係

心形態の指標として LVEDD が正常の 120% 以上に増大していた症例は 3 例のみで見られたが、これらはいずれも 17 歳以上であった。

【考案】心臓の病理所見を文献^{1) 4)}で見ると、心重量は、心不全での死亡例では比較的重いが、急性呼吸不全、喀痰不能による死亡例ではほぼ正常で、心筋の線維化の程度は様々である。心不全症状が、15 歳 4 か月より出現し 5 か月後の死亡、心重量が 678 g もあった例もある。厚生省研究班の剖検登録では 83.3% の例に心筋のジストロフィー病変が記載されている。

今回我々の検討では、左室収縮性の低下を認める例があり、特に年長児でその頻度は高かったが、左室拡大や肥大を認める頻度は、少なかった。

FCMD の重症度と心機能異常出現との間に相関はなく、臨床症状が重度の患児においても年少児の心機能は正常であった。重度の患児では寝たきりのことが多く、軽症例では歩行等の負荷も罹る可能性があるため、今後更に、運動負荷と心機能異常の関連なども検討する必要がある。

【結論】Duchenne 型および Becker 型と同様に、FCMD でも加齢に伴って心筋収縮障害をきたし、特に年長 FCMD 児の管理上、心エコー検査は有用であると思われた。

FCMD はフクチン異常に起因し、運動障害は軽症から重症までの幅があるが、心機能低下は運動障害の重症度とは一致せず、加齢に伴い出現してくると考えられた。

研究協力者：坂内優子¹、中西敏雄²、富松宏文²、
炭田澤子¹、斎藤加代子¹、門間和夫²
¹ 東京女子医大小児科 ² 同大循環器小児科

【文献】

- 1) Miura K, Shirasawa H: Congenital muscular dystrophy of the Fukuyama type (FCMD) with severe myocardial fibrosis. A case report with postmortem angiography. Acta Pathol Jpn 37: 1823, 1987
- 2) 石原傳幸ら: 福山型筋ジストロフィーの死因について。臨床神経学 24: 968, 1984
- 3) 大谷勉ら: 20 歳で死亡した福山型筋ジストロフィーの 1 剖検例。脳と発達 20: s 220, 1988
- 4) 吉川秀人ら: 急速に進行する心不全を呈した福山型筋ジストロフィーの 1 剖検例。医療 45: 898, 1991

筋ジストロフィーにおける骨代謝障害に対する 活性型 vitamin D₃、K₂ 併用投与の検討

大澤 真木子
東京女子医科大学 小児科

【緒言】

筋ジストロフィー(PMD)患者の不動による骨粗鬆症の進行防止は、患者の骨折を回避し QOL を高めるため重要である。従来、PMD の不動による骨粗鬆症に対しては、活性型 vitamin D₃ [alfacalcidol; 1 α (OH)D₃] が用いられてきたが効果は不十分であった。vitamin K₂ (menaterenone)の骨粗鬆症に対する効果が、近年注目されている。今回、我々は PMD 患者の骨代謝を活性型 1 α (OH) D₃ 単剤投与群と 1 α (OH) D₃ と K₂ 併用投与群で比較検討したので報告する。

【対象および方法】

PMD 患者は全例男性で、Duchenne 型 10 名、Becker 型 1 名、年齢は 9~19 歳(M \pm SD: 12.8 \pm 3.3)。運動機能は座位保持可能で車椅子移動~支持歩行の範囲であった。投与薬剤は 1 α (OH) D₃ が 0.25, 0.5 μ g/日 (0.006-0.02 μ g/kg/day)、menaterenone が 15,30mg/日 (0.44-0.75 mg/kg/日)であった。併用薬剤として prednisolone が 10-20 mg/日であった。1 例はいずれも未投与であった。検査期間は 4~7 カ月(M \pm SD: 6.1 \pm 3.3)であった。検査期間中の未投与群 1 例、1 α (OH) D₃ 単剤投与群 3 例、1 α (OH) D₃ と K₂ 併用投与群 6 例、1 α (OH) D₃ 単剤投与から 1 α (OH) D₃ と K₂ 併用投与に変更群 1 例であった。

DIP 法による骨塩量測定：m-BMD(平均骨密度)と MCI(骨皮質幅指数)の測定とインタクト副甲状腺ホルモン(int-PTH)、インタクトオステオカルシン(int-Osteocalcin)、骨型 APL(BAP)、1 α , 25(OH)₂ D₃ の測定を経時的に行った。1 α (OH) D₃ 単剤投与群と 1 α (OH) D₃ と K₂ 併用投与群間で各々の parameter を比較検討した。さらに、1 α (OH) D₃ 単剤投与から 1 α (OH) D₃ と K₂ 併用投与に変更例において経時的に各々の parameter で比較検討した。

【結果】

1. 単剤投与群に比して併用投与群において m-BMD/mo(m-BMD の変化率)は高値の傾向、MCI/mo(MCI の変化率)は変わらず。Int-PTH、BAP は変わらず、int-Osteocalcin は有意に低値(p=0.0426)、1 α , 25(OH)₂ D₃ は高値の傾向

(p=0.059)を示した。

2. 1 α (OH) D₃ 単剤投与から 1 α (OH) D₃ と K₂ 併用投与への変更例において m-BMD/mo は単剤投与で低下、併用投与で上昇、MCI は単剤投与、併用投与でともに低下、Int-PTH、BAP、int-Osteocalcin は単剤投与、併用投与でともに上昇、1 α , 25(OH)₂ D₃ は単剤投与で低下、併用投与で上昇を示した。

以上から、1 α (OH) D₃ と K₂ 併用投与が PMD の骨塩量の改善に望ましいと考えられた。

【考案】

Vitamin K₂ (menaterenone)は分子量 444.66 で、glutamic acid から γ -carboxylglutamic acid への合成の補酵素として働く。vitamin K₂ はオステオカルシン、基質、Gla 蛋白質などの主要な骨基質蛋白質の γ -カルボキシル化への関与が示唆され、in vitro の実験から骨芽細胞におけるオステオカルシン産生、石灰化促進作用が確認されている¹⁾。臨床的にも重症心身障害児/者の骨粗鬆症に対して Vitamin K₂ が有効との報告がある²⁾。近年、vitamin K₂ と vitamin D の併用効果が実験的に臨床的に報告され、vitamin D の血中濃度が高い程 Vitamin K₂ の効果が良好といわれている³⁾。本研究では、vitamin 1 α (OH)₂ D₃ と vitamin K₂ 併用投与時に血中 1 α , 25(OH) D₃ は高値を示し、活性型 vitamin D の上昇が骨代謝に関与している可能性が示唆された。

今回の検討で PMD においても、vitamin 1 α (OH) D₃ と vitamin K₂ 併用投与で骨塩量の改善傾向の結果を得たが、今後さらに症例を増し検討する必要があると思われた。

共同研究者：中野和俊、岩松利至、王 崇玖、前田由美、中山智博、田良島美佳子、佐々木香織、古村聖美、矢崎枝里子、武藤順子(東京女子大小児科)

【参考文献】

- 1) Koshihara Y, et al.. Vitamin K₂ promotes 1 α , 25(OH)₂ vitamin D₃-induced mineralization in human periosteal osteoblast. *Calcif Tissue Int* 1996;59:466-473.
- 2) 田中能文ら。重症心身障害児・者における vitamin K₂ 製剤の効果について。脳と発達 2000;32;491-496.
- 3) 白木正孝ら。Clinical application of vitamin K₂. 日骨代謝学会誌 1994;12:47-51.

在宅神経筋疾患患者における鼻マスク式呼吸器の使用経験

大澤真木子
東京女子医科大学小児科

【緒言】

神経筋疾患患者における長期的人工呼吸として、NIPPV(という選択肢が加わり、近年その適応が拡大している。当科でも、筋ジストロフィー患者を中心に NIPPV 導入症例数が増えてきており、その使用経験を報告した。

【症例】

当科では Duchenne 型筋ジストロフィー (以下 DMD) 3 名、福山型筋ジストロフィー(以下 FCMD)3 名、型不明の小児期発症の筋ジストロフィー 2 名、Becker 型 1 名、SMA II 型 2 名、糖原病 1 名、Leigh 脳症 1 名、二次性 CCO 欠損症 1 名の合計 14 名に NIPPV を導入した。DMD は 3 例で、14 歳から 20 歳で導入し使用期間は 2 ヶ月から 1 年、福山型では 16 歳から 31 歳で導入し、使用期間は 7 ヶ月から 3 年、内 2 例は、呼吸器感染時に挿管し陽圧呼吸をしていたが、離脱と同時に NIPPV へ変更した。型不明の小児期発症 PMD 2 例は、いずれも臨床的には DMD が疑われたが遺伝子解析で deletion を認めず 17 歳から 24 歳で導入した。

導入前の評価項目としては、夜間睡眠時の呼吸不全を示す自覚症状の把握、睡眠時の SpO₂、EtCO₂ の測定及び心機能評価の評価の結果、%VC 25% 以下、SpO₂90 以下の時間的割合や、深睡眠時及び早朝覚醒時の EtCO₂ の上昇などを目安に必要性を判定した。

呼吸器条件のうち、装着時間は、夜間 8 時間が 3 例、10 時間と 7 時間が各 2 例であった。DMD は夜間 6~10 時間と比較的短時間の装着であるのに対し、FCMD 2 例は導入年齢が 20 歳以降で、2 例とも装着時間が 18 から 24 時間と長時間必要とした。呼吸モードは S/T モードが大多数で、10 歳代の FCMD の 1 例は陽圧呼吸からの離脱当時 S/T モードであったが、状態の改善に伴い CPAP に変更した。糖原病の男性は、気胸を反復しその後 CPAP に変更した。呼吸回数は、本人が最も苦痛を感じず、夜間の呼吸状態が最低限の条件を満たす回数に設定し、1 分間 12 回が最多であった。その他の呼吸器条件として IPAP は 18cmH₂O と 8cmH₂O が各 3 例だったが、呼吸機能の悪い年長の DMD や型不明の小児期発症 PMD は 18cmH₂O と高い圧を必要とするのに対し、SMA 幼児例は 6~8cmH₂O 低い圧であった。FCMD は 24 時間装着している 1 例が 19cmH₂O で、1 例は CPAP を選択していた。EPAP はほとんど 4cmH₂O で、Becker 型 1 例と型不明の小児期発症 PMD 1 例が 2cmH₂O で、糖原病は気胸後 0cmH₂O へと変更した。

また、NIPPV 導入が速やかにできた DMD 症例に対し、長時間の導入には至らなかった導入困難であった 4 例を比較したところ、導入困難な症例は、%VC は 25%以下に低下したものが多く反面、EtCO₂ は 60mmHg 以上にまで達しているものの割合は少なかった。一方、導入時に高炭酸ガス血症が進行した重症例ほど、導入が速やかで導入後に頭重感が減少するなど自覚症状の改善も明らかであった。導入困難な 4 例では、性格的にも繊細で、マスクからの風圧に抵抗感が強かったり、マスク装着に伴う痰の増加、病名未告知などの点が指摘された。

導入症例の Quality of life については、14 例のうち大学院生 1 名、大学生 3 名、幼稚園など 2 名、作業所通所 1 名と半数の 7 名が、高い社会性を維持しながら NIPPV を装着していた。このうち、大学生はいずれも夜間自宅で NIPPV を装着することにより日中の授業や実習などに集中して取り組めるようになっていた。養護学校は 3 名、在宅は 4 名であった。

導入後の問題点としては、第一に鼻根部の皮膚発赤、潰瘍形成があるが、患部には褥瘡用シート、ソフラチュールを使用し、予防策として、局所のスキンケアや、一点に過度に圧力が集中しないようにマスクの種類を一日ごとに変更したり、保護シートを貼付した。症例によっては、氷嚢つりを利用して皮膚への過度の圧力を軽減させたり、これでも改善しない場合には、専門の歯科医の協力で個人の顔かたちや歯型に合ったマウスピースの使用も試みていた。また呼吸状態や血液ガスデータの改善を目的とした呼吸器条件の変更には限界があり、高い気道内圧による圧損傷を生じかねないといった問題点にも直面した症例も経験した。NIPPV 導入により従来気管内挿管や気管切開をせざるを得なかった思春期の神経筋疾患患者も、在宅で人工呼吸療法を継続可能となり、これまで以上に病名告知、インフォームドコンセントの重要性が問われていると考えられた。

【結語】

当科で NIPPV を導入した症例 14 例について、病型や使用状況、実際の導入法、及び問題点など使用経験を報告した。導入症例の半数では、高い社会性を維持しながら NIPPV を装着する事が可能であった。副作用として、鼻根部の潰瘍や圧損傷による気胸などを経験し、今後の対策を検討する必要があると考えられた。

研究協力者：石井かやの、舟塚真、矢崎枝里子、
炭田澤子、齋藤加代子、砂原真理子、勝盛宏
(東京女子大小児科)

トランスジェニックマウスを用いたジストロフィンの血管での機能解析

分担研究者

熊大・発達小児科

三池輝久

研究協力者

熊大・発達小児科

木村重美、藤井績、野村恵子

熊大・臓器形成

荒木喜美、阿部訓也、山村研一

大阪大学・遺伝情報実験施設

三輪 岳志

緒言

DMD では筋膜でジストロフィン (dy) が欠損しているが筋壊死のメカニズム及び dy の生理作用は不明である。我々は DMD で筋壊死が起こるメカニズムには血管平滑筋の機能障害に伴う異常と血液凝固系の亢進が関与していると考えに至っている。そこで、mdx マウス血管平滑筋に dy を発現させたトランスジェニックマウス作製し、血管病変に由来する筋壊死の有無を検討すれば dy の生理機能についての大きな情報が得られるのではないかと考えた。

方法

まず、トランスジェニック作製のコンストラクトを作製する。コンストラクト作製に必要な制限酵素、ApaI, SpeI, HindIII, NotI, SalI, EcoRI, PstI, のサイトを持つオリゴ DNA を作製する。このオリゴ DNA を Bluescript II KS- の ApaI と PstI で切断したベクターにライゲーションする。その後、そのサイトを利用して SV40 の PolyA signal、

心臓と平滑筋特異的に発現させる (骨格筋には発現させない) ヒト平滑筋 α -アクチンプロモーター (EA4.7) (1)、ジストロフィン cDNA をライゲーションする。次に、このコンストラクトが機能するか mdx マウスの心臓より分離した筋芽細胞にトランスフェクションで導入しジストロフィンの発現を確認する。次いで定法に従いトランスジェニックマウスを作製する。このトランスジェニックマウスを mdx マウスと交配させ、mdx マウスの血管に於いてジストロフィンが発現しているトランスジェニック mdx マウスを作製する。このマウスを使用してジストロフィンの血管での機能を解析する予定である。

結果

オリゴ DNA は Bluescript II KS- に簡単にライゲーションでき、シークエンスで確認した結果、目的としたオリゴ DNA が 1 コピー入っているのが確認できた。次いで、プロモーター EA4.7 の下流にジストロフィン cDNA をつなぎ、その下流に SV40 の polyA シグナルを持つトランスジェニックマウス作製のコンストラクトを作製した。今年度はコンストラクト作製までである。

結論

ジストロフィン cDNA を平滑筋のみに発現させることのできるトランスジェニックマウス作製のコンストラクトを作製した。

参考文献

Nakano, et al. Transcriptional regulatory elements in the 5' upstream and first intron regions of the human smooth muscle α actin encoding gene. Gene 99 285-289 1991

Duchenne 型筋ジストロフィーの下肢手術
-第3報-

---Glorian-Rideau 変法の6例---

青森はまなす学園 整形外科

山田史朗

国立療養所 岩木病院 整形外科

岩谷道生 横山隆文

大竹整形外科

大竹 進

【目的】 Duchenne 型筋ジストロフィー（以下 DMD）は、進行性の筋疾患で筋力低下だけでなく関節の拘縮、立位バランスの障害等により、10歳前後で歩行困難となる。我々は Rideau が報告している腸脛靭帯（以下 ITB）切除を中心とした下肢手術を本邦では最初に行っている。昨年本会で発表したが、経過期間がのびて歩行困難となった例が出現しだしてきた。その後の成績を患者および家族の意見をふくめ報告する。

【対象および方法】 DMD 男児 6 例を対象にした。手術時年齢は 6 歳 1 カ月から 8 歳 4 カ月で、術後経過観察期間は 10 ヶ月から 29 ヶ月となった。術前の機能障害度（厚生省の筋ジストロフィー研究班）は stage I が 2 例、stage II が 2 例、stage IV が 2 例であった。手術は全身麻酔下で行った。原法は 4 カ所の release からなるが、我々は hip flexion contracture release、lateral-thigh contracture release のみを行った。最近の 2 例では皮切を 2 つに分けて皮下にトンネルを作成し処置を行った。後療法はギプス固定や特別な装具を使わず、翌日から全荷重での立位訓練、2 日目から歩行訓練を開始した。

【結果】 術直後には 6 例とも stage の悪化は認めず、歩行は術後 2 日目で可能となった。術後 24 か月を越えた stage IV の 2 例は現在も立位可能である。また短期的に運動機能の改善が認められた症例もあった。

日常生活の面では就学前に行った 2 例では体育の制限はあるも普通学校へ通学している。もともと

年長の小学 3 年で行った患者では現在小学 5 年で普通学級で学習している。

【考察】 DMD は対症療法が中心である。Stage IV から stage V への移行期間が平均 8 カ月であることを考えると、この期間を延長して stage の進行を認めなかったこと、運動機能が短期間にせよ改善された症例もあることから下肢機能の維持には有効と考えている。

そしてわれわれは、少しでも長い期間、健常者との関係できるようになったという点で手術治療の有効性は評価されるものと信じている。

立位期間の延長はその他に及ぼす影響として、脊柱変形の進行、心不全の進行などに関して merit, demerit として十分慎重に経過観察されるべきであると考えている。

【結語】 DMD 男児 6 例に Rideau の推奨する下肢手術の変法を行いその有効性を認めた。なるべく早期に行う方が有用という印象があるが、慎重な観察により結論されるべきである。

Duchenne 型筋ジストロフィー患者の脊柱変形に関する多施設調査

国立療養所 岩木病院 整形外科

岩谷 道生

【緒言】筋ジストロフィーに合併した脊柱変形は病期が進行するに従い坐位バランス、心肺機能に悪影響を及ぼすとされる。近年、欧米では多くの筋ジストロフィー患者に対する脊椎固定術による患者の ADL の向上が報告されているが、残念ながら本邦において手術治療があまり注目されていない。また、脊柱変形がどれくらいの頻度で発生し、どのように ADL が障害されるのか、変形の進行予測はできるのか、手術治療により QOL がどのように改善されるのかなど、の本邦における研究は少ない。今回筋ジス研究石原班の班員の協力を得て多施設の Duchenne 型筋ジストロフィー患者の脊柱変形の横断的調査をしたので報告する。

【対象と方法】全国 17 施設（国立療養所 徳島病院、原病院、箱根病院、道北病院、八雲病院、道川病院、下志津病院、新潟病院、医王病院、宇多野病院、西奈良病院、筑後病院、西別府病院、再春荘病院、宮崎東病院、鈴鹿病院、岩木病院）の Duchenne 型筋ジストロフィー患者を対象に 8 から 18 歳の年齢で調査した。今回調査できたのは 61 名、平均年齢は 14.0 歳であった。調査項目は、坐位と臥位での X 線評価、ADL 評価、肺活量などである。

【結果と考察】今回調査に協力いただいた 17 施設では、整形外科医師が常勤であるのは 11 施設、日整会の認定施設となると 6 施設である。筋ジス施設と整形外科医の関わりは意外と少ない。調査結果をまとめると、12 歳までの立位の保てる間では 30° 以上の側弯はみられず、30° 以下の胸椎カーブであった。ところが 13 歳以上の 46 例中 23 例(50%)が 50° 以上の側弯を示しており、立位を保て

なくなる頃をさかいに、急に脊柱変形がすすむことがわかった。つまり、年齢としては 12 歳から DMD の機能障害度としては、Stage5 以上から脊柱について経過を観察することが勧められる。

17 歳以上の 14 例中 4 例は 30° 以下で、筋ジストロフィーが進行しても変形が生じない例が存在することも注目される。

また、脊柱矯正率の面からは、18 歳までの患者では脊柱の柔軟性は保たれており手術治療が不可能なほどの変形例はなかった。上部胸椎での前弯による気管の変形は 18 歳まででは 2/61 例と頻度は少なかった。意外にも坐位バランス不良の訴えは、わずか 6/61 例であったが、全例骨盤傾斜角の大きい例であり、治療の場合には骨盤傾斜角の改善という視点からの検討が望ましいと考えられる。

今後、経年的に同一疾患を観察すること、横断的調査の症例数をふやすことにより得られる情報は筋ジス患者の脊柱変形に対する管理法を確立するにあたり重要なものになると考えられる

筋ジストロフィーの遺伝子診断・遺伝相談の実 際及び、脊柱側弯症矯正術など合併症治療法の検 討(2)

研究分担者 中井博史
国立療養所西多賀病院小児科
研究協力者 山崎 伸 同 整形外科
鴻巣 武 同 神経内科
松尾雅文、笠島克己
神戸大学医学部国際交流センター

はじめに

本課題2年目、平成12年度は以下の研究を実施した。

選択的スプライシングによる症状軽減を示唆するジストロフィン異常症の一例

[目的]

第一段階は Duchenne 型及び Becker 型筋ジストロフィーに於ける遺伝子を従来のPCR法でスクリーニングする。

次いで検出された欠失を手がかりにその周辺部を、さらに詳細に検討。

第三段階として、前駆体のプロセッシングを経たメッセンジャーRNAの失われた塩基数を求め、症状と比較すること。

[方法]

検査及び研究の説明と同意のあった患者血液について、Chamberlain らおよび Beggs らの方法によってジストロフィン遺伝子の欠失の有無を検討し、得られた欠失部位近くに隣接するエクソンのプライマーを用い検討を行った。

一方、メッセンジャーRNAについては患者血液を用い、RT-PCR法にて増幅した後、シーケンス法によりプロセッシング後のmRNAの欠失部位を同定した。

[結果]

マルチプレックスPCRの結果について、Chamberlain らの方法によるものでは正常対照の電気泳動で、通常9本のバンドを認める。今回のBecker型の患者ゲノムでは8本のバンドしか無く、エクソン4が欠失していた。

Beggs らの方法による結果では正常対照には10本のバンドが認められるが本患者では8本で、エクソン3と6の欠失が認められた。即ち、この患者DNAにはエクソン3, 4, 6の欠失があり、エクソン8は存在した。そこでエクソン2, 5,

7のプライマーを用い、検討を加えたところ、エクソン2と8は認められるが、3, 4, 5, 6, 7が欠失していた。

この領域の塩基数は合計556有り、3では割り切れず、アウト・オブ・フレームと考えられ、遺伝子型は重症タイプであった。

次に末梢血液の有核細胞からのメッセンジャーRNAの解析結果では、ネステッドPCRにより作られたcDNAには四つの分画が認められ、それらのシーケンスからイン・フレームの分画もあることが判った。

[考察]

本ケースは症状の軽いベッカー型である。もしこの患者がゲノムDNAレベルではエクソン3から7までの3で割り切れないアウト・オブ・フレームの欠失で本来重症型になるところを軽症型になったとすれば、この表現型と遺伝子型の矛盾は病状を軽減するなんらかの機構が働いた事を示唆する。

今回のcDNA解析ではエクソン1から12までの間で4つのプライマーを用い解析したが、その内の一つの分画はエクソン3から9までの欠失が生じ、867塩基対の欠失にてイン・フレームとなったものと推定される。このような選択的スプライシングが筋組織内でもおこり、症状が軽減されたことが考えられる。

ジストロフィン異常症でこれまで考えられている軽症化の機序をまとめると、

一番目にイン・フレームの欠失によって部分的にアミノ酸配列が保持された例。二番目として今回のように選択的プロセッシングによってmRNAの段階でイン・フレームとなった例。三番目としてエクソン8内部においてATG領域と呼ばれる蛋白質への翻訳開始部位の働きによって部分的なジストロフィンが作られた例。四番目にはジストロフィンが免疫学的に証明されなかったにもかかわらず病状の軽度な例が報告されていて今後の検討が待たれる。

[結論]

以上、選択的スプライシングによる症状軽減を示唆し、治療の可能性を考える一助となった症例を報告した。

[参考文献]

A.V.Winnard et al.:Frameshift deletions of exons 3-7 and revertant fibers in Duchenne muscular dystrophy:mechanisms of dystrophin production Am.J.Hum.Genet 56:158-166,1995.

筋ジストロフィーによる 脊柱変形に対する手術的治療法の開発

中田好則, 高相晶士, 井上雅俊, 大塚嘉則,
国立療養所千葉東病院整形外科

【緒言】 Duchenne型筋ジストロフィー（以下DMD）を伴う脊柱変形は、時に進行性であり、座位バランスなど日常生活動作に多大な影響を及ぼし早期の手術治療が提唱されつつあるものの、我が国においてはその手術的治療は未だ一般化されていないのが現状である。我々はDMDを伴う脊柱変形5例に対し、下位腰椎までの後方矯正固定術を行い、その意義や問題点につき検討した。

【対象と結果】 対象は1997年7月から2000年12月までにDMDを伴う脊柱変形に対し後方矯正固定術を行った5症例である。5症例について、手術法、手術時間、出血量、手術前、後、経過時での呼吸能および、生活上での変化を検討、考察した。当科初診時に全例が歩行不能であり、車椅子移動であった。座位バランスが悪く、体幹支持に側方マットを当て、さらに両上肢で支えている例が多かった。手術方法はフック、スクリュー、ワイヤー、ロッドを用いた脊椎後方矯正固定術であり、固定する範囲はカーブを含む上位は胸椎で、下位は第5腰椎までとした。初期症例は上位胸椎までの固定を行ったが、最近の症例は脊柱の可撓性の温存のため、固定範囲を短縮している。また、骨盤は脆弱かつ小さいため、第5腰椎までの固定が望ましいと考た。手術時間は、通常の側彎症手術と比べ、変性し、硬化した軟部を展開したり、ワイヤーを多数設置するために、平均7時間35分（7時間7分～9時間7分）であり、長い傾向であった。出血量は平均1173ml（630ml～2184ml）であり、1例の2184mlを除けば、多い傾向にはなく、輸血は全て自己血と術中セルセーバーで対処可能であった。手術前%VCは5症例でそれぞれ44.2%、46.2%、29.4%、72.1%、78.8%とすでに低下していた。手術後%VCは39.0%、46.7%、38.6%、69.2%、78.1%、経過時22.1%、20.2%、38.1%、69.0%、78.0%となっており、手術を施行しても、経過期間が長い症例では低下の傾向が著しかった。術前の座位バランス不良は術後全例改善し、上肢で支えている必要がなくなり、ADL向上に極めて有効であった。2例に座位での強い腰痛を認めたと、術後早期に消失した。手術後に認められたその他の改善点としては、座位で背もたれが不要になった、座位バランス不良による下肢の鈍痛が改善した、後側彎による腹部膀胱圧迫が改善し頻尿が改善された、家族による車椅子への移動が容易になった、などであった。また、手術後に認められた問題点としては、また、術後早期より2例に腰痛を認めたと、自然消退した。2例が術後の頸部筋力低下のため頭部を支えることが困難となったが、早期に改善した、後彎

の改善と脊柱の可撓性の低下により摂食、書字が困難となり、机の工夫が必要になったことや、3例に術後感染徴候を認めない原因不明の発熱の持続が認めたと、3週から2ヵ月の間に改善した、手術直後は体幹バランスが良好でも経時的にバランスの悪化を認めたと、などであった。

【考察】 DMDによる脊柱変形の手術による利点は多数認められるが、問題点もあることも事実である。しかし、対処法としては、後彎の改善と脊柱の可撓性の低下により摂食、書字が困難となった事に対しては胸椎固定範囲の短縮と机の高さの調節を行い、頸部筋力の低下で自力の前後屈が困難となったことに対しては同じく胸椎固定範囲の短縮で対処可能であった。また、術後の腰痛も経過観察にて消失した。また、手術直後は体幹バランスが良好でも経時的にバランスの悪化が認められる場合には座位保持装置の応用を計画している。手術法に関しては、骨盤または仙椎までの長範囲固定術を推奨している報告が多く成績も安定しているが、手術時間、出血量の増大、長範囲固定にみられるL5-Sでの偽関節およびそれによるロッド、スクリューの折損、骨盤の脆弱性、L5-S固定後の前屈、後屈制限によるADL障害などがあり、下位腰椎、特にL5までの固定は手技的に容易性であり、患者および家族に受け入れやすく多施設で手術も可能で、手術時間、出血量の軽減が可能であると考えられ、我々の行ってきた症例の検討によれば下位腰椎までの固定による不利益はなく、推奨される手術法と考えられる。

【結語】 DMDに伴う脊柱変形5症例に対して後方矯正固定術を行い、幾つかの知見を得た。すなわち、手術手技、出血量、腸骨の形態から、第5腰椎までの固定が望ましく、手術時間、出血量は従来の報告と比べ多くはなかった。また、座位バランスの改善が全例得られ、両上肢を使うことができるようになっていた。しかし、呼吸能の改善もしくは進行の予防効果については疑問があった。また、術前より腰痛が認められた例は術後早期に改善し、術直後より腰痛が認められた例も経過中に改善した。術後原因不明の発熱を3例に認めたと、全例自然経過で2週から2ヵ月で改善した。術後頸部の筋力低下を認めた例が存在したが、固定範囲の短縮により約3週で改善した。以上の知見から、DMD脊柱変形に対する外科的治療の最大の効用は日常生活動作の向上であると考えられた。

【参考文献】 中田好則, 高相晶士, 他: Duchenne型筋ジストロフィーを伴う脊柱変形に対し下部腰椎まで後方固定術を行った2例. 脊柱変形, 14:93-98, 1999.

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)の胸郭変形に対する胸部CTを用いた評価法

分担研究者：○清水 潤

(国療下志津病院臨床研究部)

共同研究者：宮崎 泰、増田直樹、本吉慶史 (国療下志津病院神経内科)

【背景】 DMDにおける脊柱・胸郭変形の合併症としては、変形に伴う呼吸生理機能への影響、気管分枝の狭窄による無気肺や肺炎の合併、循環系への影響、気管入口部での変形に伴う末期呼吸管理への影響などがあげられる。胸部CTは、脊柱と胸郭変形を立体的同時に捉えることができさらに周囲臓器との関連も解析できる。当院では、胸部CTを定期評価に用いており、個々の症例ごとの画像の蓄積をもつ。これらのCTを材料として用い、脊柱と胸郭の変形を評価し、変形パターンの特徴と頻度を明らかにし、合併症との関連を解析し、適切な外科的な治療または予防的内科治療に結びつけることを最終目的とする。

【本研究の目的】

1) 胸郭CTを用いた胸郭変形の評価を試みる。2) 試みた評価法でDMD例とControl例の指標を比較し、DMDの胸郭変形の特徴を明らかにする。

の2点を今回の目的とした。

【対象】 入院中の22例DMD患者22例(14~28才)および神経筋疾患のない症例10例(16~29才)

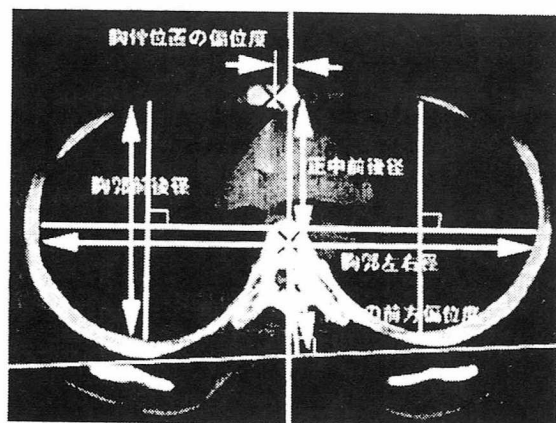
【解析方法】 胸郭CT画像をスキャナーでコンピュータに取り込み、画像解析ソフト(NIH image)で解析。

脊柱変形の評価 1) 椎体回旋：第1と第12胸椎間の回旋度(足側よりみて時計廻りを正)

2) 脊柱屈曲度：第1胸椎(A)、気管分枝部胸椎(B)、第12胸椎(C)の3点よりベクトルの内積としてBA・BC間の角度を求めて脊柱の屈曲度とする。

胸郭変形の評価 気管分枝レベルで(図参照)

3) 胸郭正中前後径、4) 胸骨位置の椎体を通る正中線からの偏位度、5) 胸郭左右径(最大)、6) 胸郭前後径(左右の最大の平均)、7) 胸郭の背部接線に対する椎体位置の前方偏位度



【結果】

1) 全体例での脊柱と胸郭変形の指標の比較 DMD(22例)およびControl(10例)ではそれぞれ、

年齢 (21.4±5.1、19.3±3.6)

【脊柱変形】 椎体回旋絶対度 (22.9度±19.8** (時計9、反時計13)、2.7度±2.9 (時計4、反時計6))、正面投射脊柱屈曲度(度) (169.6±8.6、175.5±2.2)、側面投射脊柱屈曲度(度) (172.9±6.0*、167.6±5.5)

【胸郭変形】 胸骨位置の左右偏位度(cm) (0.9±0.9、0.7±0.4)、正中前後径(cm) (6.1±1.7**、10.2±1.5)、胸郭左右径(cm) (23.0±1.5、22.8±2.0)、胸郭前後径(cm) (11.0±1.5**、13.4±1.3)、胸郭前後/胸郭左右径比 (0.48±0.06**、0.59±0.05)、胸郭に対する椎体位置の前方偏位度(cm) (5.6±0.9**、4.4±0.5)であった。(* : p<0.05、** : p<0.01)

2) 脊柱変形が軽微なDMD例

(椎体回旋度<正常±1SD)症例(DMD6例)、(正面投射脊柱屈曲度<正常±1SD)症例(DMD5例)、(側面投射脊柱屈曲度<正常±1SD)症例(DMD7例)の3群とControl症例10例の計測値はそれぞれ、年齢 (20.7±4.8、19.6±3.4、19.9±2.2、21.4±5.1)、胸郭左右径(cm) (23.3±1.2、23.6±1.4、23.0±1.7、22.8±2.0)、正中前後径/胸郭左右径比 (0.26±0.04**、0.30±0.08**、0.29±0.07**、0.45±1.16)、胸郭前後径/胸郭左右径比 (0.48±0.06**、0.50±0.06**、0.48±0.05**、0.59±0.05)、椎体前方偏位度/胸郭左右径比 (0.22±0.03*、0.25±0.03**、0.23±0.02**、0.19±0.02) (* : p<0.05、** : p<0.01)

【考察】 数値に置き換える評価方法には、過去にさまざまなものが報告されている。しかし、蓄積CTを用いて簡易に胸郭変形を捉える検討においては、本評価法は有用であると考えた。

現在の入院症例を用いており、必ずしもDMD全体の母集団を代表するものではないが、①脊柱変形は、側彎(有意差なし)<前後彎(p<0.05)<回旋(p<0.01)の順で、正常集団からの偏倚がめだっており、CTで脊柱変形を立体的に捉える必要性が、改めて値として示された。②胸郭変形に関しては、両群で胸郭左右径値には差がないにもかかわらず、DMDにおいて胸郭前後径の短縮、椎体位置の前方偏位が明らかであり、前後方向の変形が特徴である。③DMDの中で脊柱変形が軽微な症例を選び比較した場合も、すでに前後方向の変形は存在しており、胸郭変形が早期より脊柱変形と独立して出現し進行していることが示された。

今後、脊柱胸郭変形の特定パターンと呼吸、循環合併症および呼吸機能との因果関係を明確にし、早期治療に結びつけていく必要がある。

【結語】

- 1) 胸郭CTを用いDMDの胸郭変形の評価を試みた。
- 2) DMDの胸郭変形の特徴は、前後径の短縮、椎体位置の前方偏位であった。
- 3) 胸郭の変形が早期より存在しており、脊柱変形と独立して進行することが明らかになった。

脊椎矯正固定術を施行したDuchenne型筋ジストロフィー（DMD）2症例の術後の胸郭変形の経時的変化に関する胸部CTを用いた検討
分担研究者：清水 潤

（国療下志津病院臨床研究部）

共同研究者：宮崎 泰、増田直樹、本吉慶史
（国立療養所下志津病院神経内科）

【目的】

DMDにおける脊柱胸郭変形では、脊柱変形と胸郭変形がそれぞれ独立した因子として変形が進行する可能性がある。当院において急速な側彎の進行に対して脊椎矯正固定術を施行した2例について、手術後に胸郭変形も進行が停止したかを胸部CTを用いて評価した。

【対象】

症例1：14才2ヶ月の時点で急速な側彎進行に対して、脊柱後方矯正固定術を試行（Cobb角64度→38度へ改善）。17才7ヶ月（術後3年5ヶ月）までの経過を追ったCTを解析。

症例2：12才8ヶ月の時点で急速な側彎進行に対して、脊柱後方矯正固定術を試行（Cobb角57度→21度へ改善）。15才10ヶ月（術後3年2ヶ月）までの経過を追ったCTを解析。

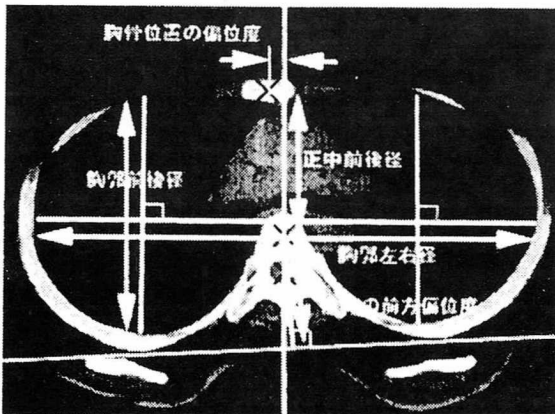
胸郭形態のコントロールとしては、16～18才の非神経疾患の患者5例の胸部CTを用いた。

【解析方法】

胸郭CT画像をスキャナーでコンピュータに取り込み、画像解析ソフト（NIHImage）で解析。

脊柱変形の評価 1) 椎体回旋：第1と第12胸椎間の回旋度（足側よりみて時計回りを正）

胸郭変形の評価 気管分岐レベルで（図参照）
2) 胸郭正中前後径、3) 胸骨位置の椎体を通る正中線からの偏位度、4) 胸郭左右径（最大）、5) 胸郭前後径（左右の最大の平均）、6) 胸郭の背部接線に対する椎体位置の前方偏位度



【結果】 術前の胸部CTは試行されておらず比較はできなかった。2例ともに術後1ヵ月の時点で正中前後径、胸郭に対する椎体位置の前方偏位度、正中前後径/胸郭左右径、胸郭前後径/胸郭左右径、椎体前方偏位度/胸郭左右径がコントロール群の1SD以上の変化を示していた。

術後も、回旋度、正中前後径、胸郭に対する椎

体位置の前方偏位度の項目で変形の進行が見られたが、その程度は軽度であった。

手術後の胸郭変形の指標の経過 (1)

術後経過 (月)	椎体回旋 (度)	胸骨正中偏位度 (cm)	正中前後径 (cm)	最大前後径 (cm)	最大左右径 (cm)	椎体前方偏位度 (cm)	
症例1 手術：14才3ヶ月							
14才4ヶ月	1	-4	0.9	8.8	12.6	22.8	4.7
	8	-6	0.3	7.6*	11.6	22.4	5.2*
	27	-8	0	7.4*	12.5	23.1	5.7*
	34	-10	0.3	7.2*	11.4	22.8	5.3*
17才5ヶ月	39	-9	0.7	7.4*	12.2	23.4	6.2*
症例2 手術：12才9ヶ月							
12才10ヶ月	1	-12	0.3	6.4*	8.6*	19.3*	5.2*
	3	-12	0	6.2*	8.7*	19.3*	5.3*
	6	-14	0	5.9*	9.1*	19.1*	5.3*
	7	-12	0.3	5*	7.6*	18.6*	5.5*
	11	-14	0.3	5.1*	8.1*	18.6*	5.7*
	13	-22	0.7	6.6*	10*	19.7*	5.9*
	14	-18	0.3	5.5*	9.1*	19.7*	6.2*
15才5ヶ月	33	-18	1.7*	5.9*	9.1*	19.8*	5.9*
正常 (16才～18才)	N=5	1.4±0.9	0.8±0.4	9.9±1.9	13.0±1.6	22.6±1.4	4.7±0.4

* 正常例の値の1SD以上の偏位

手術後の胸郭変形の指標の経過 (2)

術後経過 (月)	正中前後径/胸郭左右径比率	胸郭前後径/胸郭左右径比率	椎体前方偏位度/胸郭左右径比率
症例1 手術：14才3ヶ月			
14才4ヶ月	1	0.39	0.20
	8	0.34*	0.23*
	27	0.32*	0.25*
	34	0.32*	0.23*
17才5ヶ月	39	0.32*	0.27*
症例2 手術：12才9ヶ月			
12才10ヶ月	1	0.33*	0.27*
	3	0.32*	0.28*
	6	0.31*	0.28*
	7	0.27*	0.41*
	11	0.27*	0.44*
	13	0.34*	0.51*
	14	0.34*	0.46*
15才5ヶ月	33	0.3*	0.46*
正常 (16才～18才)	N=5	0.43±0.07	0.21±0.02

* 正常例の値の1SD以上の偏位

【考察】

手術前の胸郭の状態との比較検討はできなかったが、胸郭の前後方向の変形は早期に存在しており、この変形の進行にも注意し手術時期を決定する必要がある。一方、脊椎矯正固定術後も前後方向の胸郭変形の進行は軽度であったが経過を追う必要がある。

前後方向の胸郭変形に伴う合併症としては、ピークフローや肺コンプライアンスなどの呼吸機能への影響、気管入口部の変形による末期呼吸管理上での影響、胸郭前後方向変形に伴う気管扁平化への影響、心循環系への影響が予想される。胸郭の前後方向変形による合併症の性質を明らかにする必要がある。

【結語】

- 1) 脊椎矯正固定術後のDMD 2例の胸郭変形の経過を胸部CTで追った。
- 2) 術後1ヶ月の時点ですでに前後方向の変形が存在した。
- 3) 術後も前後方向の変形および回旋変形は進行したが軽度であった。

筋ジストロフィーの遺伝子診断及び遺伝相談法に関する法的、倫理的、心理・社会的諸問題の検討

分担研究者 白井泰子(精神保健研究所 NCNP)

共同研究者 丸山英二(神戸大学大学院法学研究科)

土屋貴志(大阪市立大学文学部)

斎藤有紀子(北里大学医学部)

佐藤恵子(国立がんセンター臨床試験管理室)

玉井真理子(信州大学医療技術短期大学部)

中井博史(国立療養所西多賀病院)

大澤真木子(東京女子医科大学小児科)

緒言：小児期発症の筋ジストロフィー患者(児)の中には、筋生検等の所見による診断のみで免疫組織化学や遺伝子レベルでの病型確認がされていない者も少なくない。このような状況(以下“状況 B”と略記)にある患者(児)に対する遺伝子検査は、病型確認をおこなって患者自身の治療に役立てるといってもさながら、患者(児)の母親や姉妹等の女性血縁者の保因者診断・出生前診断にとって不可欠な遺伝情報の入手のためという理由で実施を求められることが多い。こうした場合の IC 手続きをどうするかについては、かねてから懸案事項となっていた。状況 B において保因者診断を実施する場合、患者(児)本人とクライアント(姉妹等の血縁者)という必ずしも利害の一致をみない当事者のそれぞれに対して、適切な情報提供(説明)に基づいて個別に同意手続きを行う必要がある。状況 B における遺伝子検査の IC 手続きにおいては、筋疾患が疑われる小児の確定診断のための遺伝子検査の場合と同様の IC フォーム一式を作成するというだけでは不十分であり、まず初めに保因者診断ならびに患者本人の病型確認のための遺伝子検査を実施する際の基本原則を明確化することが不可欠である。このような問題認識の下に、状況 B における患者の姉妹の保因者診断に対する IC 手続きで必要となるフォーム一式の作成を試みた。

方法：本研究グループでは、大澤真木子先生・中井博史先生にもご参加いただき計 8 回の研究会議を行い、IC フォームの構成や内容について検討する

と共に、保因者診断の実施に際して基本原則として明示すべき点について検討を行った。状況 B における遺伝子検査の IC 手続きに関して予想される問題点すべてを考慮した上で整合性のある基本原則を策定することは次年度の課題として残し、今年度は患者および保因者診断を希望するクライアントに“同意能力がある”場合(平成 11 年度の実績報告書に示した基準により、両者共に 16 歳以上)に限定して基本原則を明示し、IC フォームの作成を試みた。

成果：“筋ジストロフィーの保因者診断は、当事者本人の希望に基づいて行うものであって、医療者が勧めるものではない”という認識の下に、今回作成した IC フォームの試案一式を「保因者診断意思決定支援プログラム」と命名した。この試案の前提条件は、“保因者診断の対象者ならびに遺伝情報提供者となる患者は、共に 16 歳以上”と、“本人同意の原則”の 2 点である。この条件設定は状況 B における遺伝子検査としては比較的問題の少ないものではあるが、患者本人への“病名の明示”や“保因者診断のための情報提供という、患者本人の利益とは直接的関係のない検査目的の説明”など議論を呼ぶ要素が含まれている。

「保因者診断意思決定支援プログラム」(案)では、患者ならびに保因者診断を希望するクライアントの自律と自己決定権の尊重という倫理原則を遵守した形での IC フォームの作成を目指し、次のような構成で当該フォーム一式を試作した：

書式 B-0：医師用マニュアル

書式 B-1-1：最初の来談者に対する説明文書

書式 B-1-2：保因者診断対象者に対する説明文書

書式 B-1-同：同意書

書式 B-2：患者本人に対する説明文書

書式 B-2-同 1：保因者診断の承諾に対する同意書

書式 B-2-同 2：本人の遺伝子検査に対する同意書

書式 B-3-1：結果開示用説明文書(姉妹用)

書式 B-3-2：結果開示用説明文書(患者用)

なお本グループでは、保因者診断への協力を患者が拒んだ場合には保因者診断の実施を見合わせることも基本原則に加えるべきことを確認した。

筋ジストロフィー患者でのβ2刺激薬 clenbuterol 投与
Trial of clenbuterol in muscular dystrophies

大矢 寧、小川雅文、重藤寛史、川井 充
国立精神・神経センター武蔵病院神経内科

はじめに 気管支喘息などに用いられているβ2刺激薬 clenbuterol は筋量・筋力に有効性が報告されていて、比較的安定している成人患者で筋萎縮進行に効果があるかを昨年示したように検討中である。少数例での経験ではあるが、現在までの結果を報告する。

方法 下部尿路閉塞、危険な心室性不整脈や心筋梗塞の既往がないことなどが必要である。内服で10μg朝1回から開始し、30μg可能ならば40μg 2xの通常量を維持投与した。体重、握力(Smedley式に加え、可能ならデジタル式も使用)、ピンチ力、MMT、1日尿中 creatinine(Cre)、creatinine 排泄量(可能な限り3日は測定)、呼吸機能、四肢周径、筋CTの断面積、ADLを観察した。とくに下記の症例1では記録電極を筋腹上で約0.5~1cmずつ移動させて手内筋・足内筋のM波最大振幅とその面積を求めた。症例2・3で約半年後からPowerTrackII Commander (JTech Medical, Salt Lake City, USA; 日本メディックス)を用いて等尺性収縮の四肢筋力を実測した(3回測定し再現性を確認し、可能な限り同一肢位で反復した)。ただし外来では尿中排泄量とM波最大振幅は反復出来なかった。

対象 3例で発表時点までに長期投与・観察できた。

症例1: 56歳男性 Becker型。stage 6-7 電動車椅子、移乗は時に介助要した。糖尿病あるが、コントロール良好。

尿中 Cre 排泄 0.19g/日。入院 30μg。

症例2: 59歳女性 顔面肩甲上腕型(4q35)。伝い歩き・車椅子。僧帽弁逸脱、心雑音、BNP 軽度上昇あり、心室性不整脈なし。尿中 Cre 0.45g/日。外来 30μg。

症例3: 43歳男性 三好型(dysferlinopathy)。両側杖歩行。気管支喘息・アトピーあり。尿中 Cre 1.34g/日。外来 40μg。

結果 症例1では肺活量が正常範囲ながら2.63Lから3ヵ月後には2.89Lになったが、6ヵ月後に再び2.65Lに戻った。手内筋のM波の振幅・面積も6ヵ月では一部では僅かに増加した(右小指外転筋 ADM 8.65mV 14.6μVs→11.7mV 16.9μVs、左短母指外転筋 APB 7.44mV 11.3μVs→10.4mV 16.4μVs、左母趾外転筋 AH 8.06mV 10.0μVs→11.8mV 12.3μVs)が、殆ど不変(右 APB 8.65mV 14.6μVs、右 AH 9.16mV 10.5μVs)ないし小さくなった筋もあり(左 ADM 11.3mV 15.9μVs→8.16mV 13.3μVs)、他筋力・ADLに改善なく、むしろ6ヵ月以後ではADLの低下傾向が若干みられた。他の検査所見にも改善は明らかでなかった。合併した糖尿病の状態の悪化もなかったが、飲酒の機会の後に排尿困難を生じ(ただし同様の既往あり)、心エコーで左室駆出率低下がみられ、約7ヵ月で減量・中止した。

症例2では、ピンチ力は右2.6kg左5.5kgから半年後に右3.9kg左6.4kg、約1年後に右4.2kg左7.0kgに増加した。手関節背屈が弱く固定が困難なため、握力には変動があり、明らかな増加とは言えなかった(右11-13、左12-16kg

が1年後は右8-15、13-19kg)。肺活量は1.17L(46%)が半年後に1.23L、1年後に1.31L(52%)と若干増加が疑われたが、ピークフローは変動あるも不変。下肢の個々の筋力はほぼ不変だったが、腰部傍脊柱筋・臀筋群、右大腿四頭筋(直筋を除く)・両側 hamstring の高度脂肪置換に由来する起立・歩行困難は軽度ながら進行し、車に乗る際や玄関での段差を昇降するのが困難になった。CT上は保たれていた左外側広筋のCT値が1年後に低下傾向を認めた。肩甲帯スライスの再現性に問題があったが、他は著変なかった。血圧が高かった既往はあったが、開始前後は投薬なく100/70程度で、その後も落ち着いていたが、1年後、外来で血圧が上昇を示し、減量を開始した。1年間はずみ力などは漸次増加したが、これが弱くて困っていたのでなく、ADL低下は腰部・下肢筋力低下が主体で、ADL/QOLの向上に結び付かなかった。

症例3では、約1年までMMTや肺活量(3.73L 正常範囲)はほぼ不変で、比較的保たれていた筋力は僅かに増加した(1年で握力 右19→19-22、左16→22kg。実測した筋力は(ここでは右側のみを示すが)、6ヵ月後から半年間に、右手関節背屈(手指伸展で)62→79N、右股関節屈曲 84→107N)。しかし下腿など筋力が弱い部位は不変ないし低下傾向を示した(6ヵ月後~1年で、右肘屈曲 70→70、右膝伸展 35→30N、右足背屈 84→55N、右底屈 92→64N)。ここで大腰筋は腰部傍脊柱筋などとともにCT上も良く残存していた。この間にADLはほぼ不変であった。

考察 半年から1年の投与では、良く保たれている筋では、筋力(少なくとも瞬発力)が若干の改善することが観察された。しかしながら障害が顕著である筋では改善は得られていない。この点では原疾患の進行の方が勝るように見えた。USAのMDAのQuestにKisselらのFSH90例でβ2刺激薬 albuterol を placebo も使用した結果が報じられていた。握力は増加したが、大半の筋群で筋力は増加しなかったという結果で、本結果と矛盾はない。本研究では、なるべく進行がない状態の患者で評価することが望ましかったが、現実には緩徐ながらも進行がみられたことはやむをえない。筋量・筋力の増加に運動能力の残存がある程度 必要な可能性もあるが、もしも進行がなければ筋力の増加はある程度期待できると推測される。

実験動物で報告されている投薬による易疲労性に関しては、筋力が増加した部位では明らかではなかった。呼吸筋力の改善があれば、易疲労性の問題は少いであろうと予想したが、目立った改善は認められていない。ただし易疲労性自体は投薬開始前から原疾患で認められていて、四肢筋力低下部位での客観的な評価方法は行えてはいなかった。今後の治療研究では、持久力・易疲労性の客観的な評価方法も検討する必要があると考えた。

文献 1. Kissel JT, McDermott MP, et al.: Pilot trial of albuterol in facioscapulohumeral muscular dystrophy. FSH-DY Group. Neurology 50:1402-1406, 1998

2. <http://www.mdaua.org/publications/Quest/q74resup.html> (Quest Vol 7 No 4 / RESEARCH UPDATES, Dec 7 2000)

塩酸ピバカインによる壊死再生筋のhydroxyl radicalについての研究(2)
 - SODとの関連について -

班員 若田 宣雄
 (東邦大学医学部第四内科)
 共同研究者 杉本 英樹,
 井口 裕章
 (東邦大学医学部第四内科)

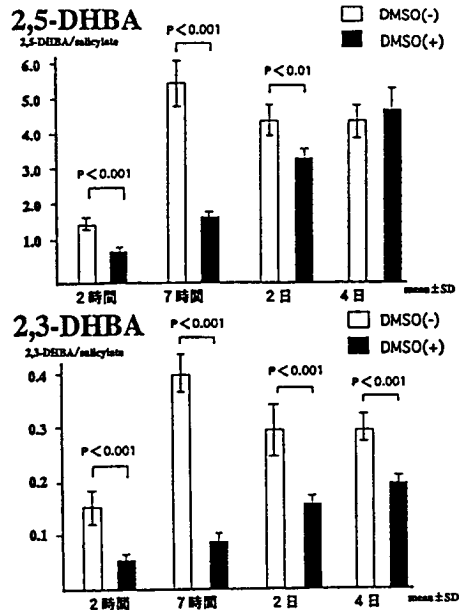
緒言
 我々の昨年までの研究で塩酸ピバカインによる人工的壊死再生筋においてhydroxyl radicalが上昇することが確認された。そこで今回は同時にSODの測定を行い、さらには抗酸化物であるdimethyl sulfoxide(DMSO)を投与してhydroxyl radicalが消去できるかについて検討した。

方法

1. Hydroxyl radicalの測定
 生後12週齢のラットの腓腹筋中極側及び末梢側の腱に塩酸ピバカインを注射し壊死を惹起させた。注射後2時間、7時間、2日、4日目でサリチル酸300mg/kgを腹腔内投与後15分で断頭屠殺し、腓腹筋を採取した。ホモジュネイト後遠沈分離し、その上清を高速液体クロマトグラフィーで2,3および2,5-DHBAを測定した¹⁾。各値はサリチル酸との比で示した。対照には経時的に生理食塩水を塩酸ピバカインと同様に注射した。次にDMSOを塩酸ピバカイン注射の30分前に200 μ l腹腔内投与した群でhydroxyl radicalを測定した²⁾。

2. SODの測定
 前法と同様に壊死を惹起させた腓腹筋を採取しホモジュネイト後遠沈分離し、その上清をNBT還元法を用いてSODの測定を行った。

結果
 塩酸ピバカインによる壊死再生筋のhydroxyl radicalの測定では2,5-DHBAが2時間、7時間、2日目の比較的短時間の急性期において有意な上昇が認められた。DMSOを投与した群とで比較するとDMSO投与群では明らかにhydroxyl radicalの低下が2時間、7時間、2日目でみられDMSOによりhydroxyl radicalが消去されたものと考えられた。



2,3DHBA については、やはり塩酸ピバカインによる壊死再生筋では7時間、2日目では有意な上昇が昨年認められた。DMSO投与群ではこちらも全ての時間でhydroxyl radicalの低下が認められた。やはり、hydroxyl radicalが消去されたものと考えられた。

SODについては、7時間目で対照に比べて低下しており抗酸化物としてfree radical消去に働いた可能性が考えられた。また、4日目などでは有意差はないものの逆にSODは増加しておりfree radicalの増加にともない反応性にSODも増加したのではないかと考えられた。

考察

今回の研究では抗酸化物であるDMSO投与群では注射後のいずれの時間でもhydroxyl radicalの低下が認められた。また、壊死再生筋のSODは注射後7時間で対照に比べて低下しておりfree radical消去に働いた可能性が考えられた。筋ジストロフィーにおける筋線維の壊死の一部がhydroxyl radicalの産生増加により生ずるとすればDMSOを投与することが、疾患の進行を抑制するのに役立つのではないかと考えられた。

参考文献

- (1) McCabe DR, Mather TJ, Acworth IN. Improved method for the estimation of hydroxyl free radical levels in vivo based on liquid chromatography with electrochemical detection. J Chromatogr. B 691:23-32, 1997
- (2) 杉田之宏, 近藤智善, 金沢章, 伊藤敬, 水野美邦: セレブライジン(FPF 1070)による海馬遅発性細胞壊死の防御とOHラジカルの関与 脳神経 45(4):325-331, 1993

着床前診断に関する臨床研究プロトコール
—日本産科婦人科学会ガイドラインに照らして

末岡 浩, 松田紀子, 土屋慎一,
大澤淑子, 谷垣礼子, 佐藤健二, 中林 章, 浅田弘法,
吉村泰典

慶應大学医学部産婦人科学教室

緒 言

本邦における着床前遺伝子診断は、我が国の倫理的な背景を配慮して、その実施に向けて議論されてきた。その結果、平成10年10月に実施者を代表する日本産科婦人科学会は公式見解をガイドラインの会告として示し¹⁾、その後、平成11年7月に施設認可に対する審議内容を追加する形で、公表が行われた²⁾。これに対して、実施に関する申請が行われたが、審査により申請はいずれも却下され、現在なお実施に至っていない。これまでに同学会に審査申請の出された着床前診断に対する審議結果を検討し、会告および倫理面での検討をふまえた上で、着床前診断プロトコールを作製する必要がある。

方 法

(1) 「着床前診断に関する臨床研究」施設認可申請に対する審議（日本産科婦人科学会）の分析：「平成11年度第2回倫理委員会」において「着床前診断に関する臨床研究」の施設認可申請に対する審議が行われた。うち1件は夫婦のいずれかが均衡型相互転座を有する習慣流産症例に対し、転座染色体の遺伝子プローブを用いての fluorescence in situ hybridization (FISH) 法による胚の診断であり、他の1件は、Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) の保因者家系の女性が胚の性別診断によって女兒を妊娠するプロトコールでの着床前診断の申請に対して審査が行われた。

(2) 日本産科婦人科学会「着床前診断」のガイドラインに対する検討：同学会は公式見解を会告として発表した。この会告について現実面での不整合性を指摘し、修正案を検討した。

(3) DMDの着床前遺伝子診断法（案）の作製：着床前遺伝子診断は各疾患の各病型ごとに（実際には症例ごとに）実施申請を同学会に提出し、審査を受けることになる。従って、これまでの審査例の審議結果を検討し、DMDに対する着床前遺伝子診断プロトコールの案を作製した。

結 果・考 察

(1) 「着床前診断に関する臨床研究」施設認可申請に

対する審議（日本産科婦人科学会）の分析：

1) 均衡型相互転座による習慣流産：審議の結果、下記の理由などにより申請は承認されなかった。

①本申請の対象疾患は、重篤な遺伝疾患とは判定できない。

②FISH法ないしギムザ分染法を用いて染色体構造異常や異数性を診断する方法は、その精度において正診率が高い方法とは言えない。

2) DMDに対する性別診断による着床前診断：審議の結果、下記の理由により不承認となった。この件については「着床前診断に関する審査小委員会」で、継続審議することとなったが、最終的に不承認と結論づけられた。

①遺伝子診断と記載されているが、実際の内容は性別診断であり、不適切な表現である。このことは、ジストロフィン遺伝子の診断を行うべきであることを示唆する。②対象疾患であるDMDでは、着床前遺伝子診断は、症例によって可能となることも予想される。着床前遺伝子診断の可能性を評価するために必要な保因者ごとの疾患遺伝子異常についての情報が欠如している。

(2) 日本産科婦人科学会「着床前診断」のガイドラインに対する検討：同学会の会告には不明瞭な部分、不適切な言葉などが指摘される。本研究グループではこの点について検討を行い、同学会の倫理委員会に対して意見書の提出を行った。

(3) DMDの着床前遺伝子診断法（案）の作製：ガイドラインと実施申請に対する審議内容を考慮に入れて、実施を前提にプロトコール案を検討し、作製した。着床前遺伝子診断（案）の特徴は以下の通りである。

①授精技術として、卵細胞質内精子注入 (ICSI) 法による顕微授精法を採用する。この方法により、多精子受精や付着精子による誤診断を防ぐことができる。②剖球生検および極体生検を併用することで診断精度を向上させることができる。③診断情報の範囲について性別診断による代用ではなく、疾患遺伝子本体の診断を原則とする。④各種遺伝子型への対応については、現在可能となりつつある deletion type の遺伝子変異に加え、point mutation や duplication など他の遺伝子型に対しても取り組むことを前提とする。⑤スクリーニングと理解される染色体異数体の検索を行わない。

参考文献

- 1) 会告「着床前診断」に関する見解. 日産婦誌, 50 (10): 22, 1998.
- 2) 学会見解に基づく諸登録の申請書の書式変更と再登録について. 日産婦誌, 51 (11): 16-24, 1999.

Dystrophin遺伝子変異細胞を用いた着床前遺伝子診断プロトコルの検証

末岡 浩、土屋慎一、加藤真吾*、
松田紀子、佐藤健二、中林 章、谷垣礼子、浅田弘法、
吉村泰典

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室、

*同微生物学教室

【 緒 言 】

近年、諸外国において着床前遺伝子診断 (PGD)が施行されているが、単一細胞からの疾患遺伝子診断は精度が低く、その結果、X連鎖劣性遺伝子疾患に対しては性別診断で代用するといった事実がある。日本においては倫理的及び技術的問題から、いまだ施行されていないのが現状である。

今回我々は、PGDにおいてDNA抽出不良が診断精度低下の一因となっているため、新たに効率の良い単一細胞からのDNA抽出法 (Spanning protocol)を開発すると共に、PGDの診断プロトコルを考案し、疾患遺伝子診断を原則とした系統的診断法を再考案、臨床応用の可能性につき検討した¹⁾。

【 方 法 】

新たに開発した、界面活性剤を用いてDNA抽出する Spanning protocolと、従来のDNA抽出法 (Water method , Freezing and boiling method , Two-step lysis protocol)を比較・検討した。まず第一にDystrophin遺伝子・exon45を対象とし、インフォームドコンセントを得た上で非疾患リンパ球・疾患リンパ球 (Dystrophin exon45欠失)を検討に供し、Nested PCR法による単一細胞からの欠失診断精度を用いて比較・検討した。

次に体外受精余剰卵をインフォームドコンセントを得た上で検討に供し、割球・極体生検法を再検討すると共に、生検割球・極体を用いた、各法における診断精度を算定、比較検討した。

その上で、疾患遺伝子診断を原則としたPGDの診断プロトコル(1. 生検法 2. DNA抽出法 3. 診断法)を作成し、検討した。

【 結 果 】

Dystrophin exon45を対象とし、非疾患および疾患単一リンパ球を用いた欠失診断精度は、Water methodは49%、Freezing and boiling methodは33%と低い精度を示した。また、Two-step lysis Protocolは78%と良い成績を示したが、操作手技が煩雑であるため、contamination等の偽陰性率は10%と高値を示した。一方、Spanning protocolは診断精度が90%で、しかも偽陰性率も2.5%と良好な成績を示した。割球・極体を対象と

した単一細胞からの診断精度も、Spanning protocolが最も高い精度を示し、また、リンパ球・第一極体・割球の各細胞間における診断精度には有意な差を認めなかった。

以上より、割球診断のみでは92.5%の胚を移植可能と診断するが、内2.5%の偽陰性を含んでいることとなり、胚移植可能と診断した胚における正診率は97%となる。そこで、極体診断を併用することにより、移植可能と診断する胚は77.75%と低下するが、0.15%の偽陰性を含むのみとなり、胚移植可能と診断した胚における正診率は99.8%となり、診断ミスの頻度を低下させる事ができた。

以上の結果をふまえ、PGDのプロトコルを作成した。通常の体外受精は精子の混入が生じるため、これを防ぐために細胞質内精子注入法(ICSI法)にて施行し、また卵への侵襲を軽減するために、同時に、同一針にて極体生検を施行する。受精卵は培養した後、侵襲の小さいExtrusion法にて、8細胞期胚より先と同一針にて割球を生検する。生検した割球と極体を新たに開発したSpanning protocolにより効率よくDNA抽出した後、PCRにて欠失診断施行、非疾患胚のみを移植する。よって、本プロトコルの利点は、まず第一に、ICSI施行時に、同時に極体を生検することにより、また、割球をExtrusion法にて生検することにより、胚に対する低侵襲性があげられ、また、すべて同一の穿刺針を使用するため、操作手技の習熟性もあげられた。第二に、単一細胞からの効率の良いDNA抽出法を開発することにより、診断精度の向上、第三に、割球診断に極体診断を併用することによる診断ミスの減少が示された。

【 結 論 】

従来のDNA抽出法は効率が悪く、診断精度低下の一因となっている事が示唆され、また、Two-step lysis protocolは高い診断精度を示したが、手技が煩雑でありcontaminationの可能性が増加した。一方、Spanning protocolは操作手技が少なく簡単であることからcontamination等の診断ミスの危険を回避できるのみならず、高い診断精度を示し、PGDのDNA抽出法として極めて有用と考えられた。そして、本プロトコルは①低侵襲の胚生検法の確立②単一細胞からの高効率DNA抽出法の開発③割球診断と極体診断の併用による診断ミス軽減等の利点を含んでおり、PGDの臨床応用において、極めて効率の良い実践的な方法と考えられた。

【 参考文献 】

- 1) 土屋慎一、末岡 浩、他：極体診断を併用した疾患遺伝子診断を原則とした慶應義塾大学式診断ストラテジーとその成績。日受着誌、17(1)：4-7, 2000.

Duchenne 型筋ジストロフィー心不全例における Denopamine の長期投与効果の検討

近藤 浩、近藤 類
米持洋介、柴崎陽子
国立療養所新潟病院神経内科

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)の心不全例において、経口強心剤である Denopamine の長期投与の有効性を検証するため、投与群・非投与群の臨床経過を6年間に渡って経過観察した結果を検討した。

方法

国立療養所新潟病院に入院中のDMD患者のうち、心機能の低下がみられ治療中の37人を、投与群19人(年齢 21.2 ± 4.8 歳)、非投与群18人(年齢 20.0 ± 5.8 歳)の2群に分け、それぞれの臨床症状、心エコー、胸部X線での心胸郭比(CTR)、血漿ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド、24時間心電図等の検査所見を6年間に渡って経過観察した。投与群にはDenopamine 15~30mg/dayを、それまで投与していたACE阻害剤、強心剤、利尿剤などの治療薬に追加して投与し、併用薬の種類・投与量は変更しないものとした。非投与群も心不全に対して使用中の薬剤の種類・投与量は変更しないものとした。病状悪化等により治療の変更が必要になった場合は脱落例とした。

結果

投与群19人のうち3人は、動悸を訴えたが、減量により投与継続可能であった。まず、短・中期効果を見るため、投与開始前と投与開始後1ヶ月および6ヶ月後の心機能を比較検討した。個々の症例の検討では改善をみた例もあったが、群としては、心エコーでの左室駆出率(EF)やCTRなど、いずれの項目も有意な変化はなく、投与群・非投与群間の有意差も認めなかった。その後の6年間の経過観察では、投与群で5人の死亡があり、死因が心不全の悪化である心臓死は1人、突然死が2人、呼吸不全が2人であった。非投与群では6人の死亡があり、心臓死が5人、呼吸不全が1人であった。また、1人は途中からDenopamineの投与を開始し、その後良好な経過をたどった。脱落することなく6年間経過観察可能であった例は、投与群は19人中14人(73.6%)、非投与群は18人中11人(61.1%)であった。これらの経過観察可能例の年次毎の検査所見の比較では、2群間の有意差は認めな

かった。しかし6年間の推移をみると、心不全の明らかな悪化がなかった例は、投与群は19人中10人(52.6%)、非投与群は18人中5人(27.7%)と、投与群での予後が明らかに良いことが示唆された。

考察

Denopamine は経口投与可能な強心剤としてわが国で開発され、 β_1 受容体に作用して心収縮力を増強するが、既存のカテコラミンと比較し、血圧・心拍数への影響が少ないなどの特性があるとされる。筋ジストロフィーにおけるDenopamineの有効性については、山本¹⁾が、DMD3例を含む筋ジストロフィー10例で、投与直後の心電図同期心プール像により急性効果を検討し、心拍出量の増加を認めたと報告した。また亀田²⁾は、DMD8例で、6~17ヶ月の投与効果を検討し、投与期間中心不全が進行し死亡した例はなく、臨床効果も全例有効であったと報告した。しかし我々の検討では、短・中期的に有用性は確認されなかった。その後経口強心剤の有効性が疑問視され、長期投与はすべきでないと一般に考えられるようになった。我々は投与により心不全の悪化がなく安定している例で慎重に投与を継続していたが、実際の長期投与効果がどうであったのかを検証した。その結果、投与群に比し非投与群では明らかに心臓死が多く、進行性の心機能低下を来した例が多かったことから、DenopamineにはDMDの心不全の予後を改善する効果もありうるということが示唆された。副作用としては、投与初期に動悸を訴え減量した例があったが、不整脈など問題となるものはなかった。Denopamineの有効性が否定され、長期使用の有害性も指摘されている今、その使用は慎重でなければならないが、DMDという特殊な患者群での長期使用を振り返ってみると、他の治療との組み合わせで、心不全の長期予後を改善しうる場合もありうるということが示された。

結論

DMD心不全例においては、Denopamineの投与により長期予後改善効果を期待しうる例もあることが示唆された。

参考文献

- 1) 山本秀平：筋ジストロフィー症患者における新強心薬denopamineの薬効評価。医療 40:830-834, 1986
- 2) 亀田桂司 他：Duchenne 型筋ジストロフィー心不全例におけるDenopamine(カルグート)の長期投与経験。小児科診療 56:1635-1639, 1993

急性心筋梗塞を呈した

Duchenne 型筋ジストロフィーの若年例

近藤 類、柴崎陽子

米持洋介、近藤 浩

国立療養所新潟病院神経内科

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 患者は、同年齢の健康人と比べて肺梗塞や脳梗塞などの血栓症をおこしやすいことが知られている。今回、われわれは経過中に急性心筋梗塞 (AMI) を発症した DMD の若年例を経験したので報告する。

方法

これまでに AMI を合併した DMD 症例は、わずか数例しか報告されていない。本例は貴重な症例であり、その臨床経過を示すとともに、文献的考察を行った。

結果

症例は 13 歳、男性。当院筋ジス病棟入院中の DMD 患者。機能障害度 stage VI。弟が同病患者で、母親は症候性保因者である。ジストロフィン DNA の exon 欠失は認めない。現病歴は、生下時は正常。3 歳頃に歩容異常を指摘され、DMD を疑われた。1990 年 (4 歳) に筋生検を施行。小学校は普通学級へ通学していたが、1995 年夏 (9 歳) より歩行不能となり、養護学校入学のため、1996 年 4 月 (10 歳) 当院筋ジス病棟に措置入院した。検査成績は、CK 高値を認めるが、HANP11.7pg/ml、心エコーは EF62%、FS33%と心不全はなく、血液ガス分析は PCO₂45.8mmHg、PO₂112.8mmHg と正常で、心電図でも虚血性の変化は認めなかった。1999 年 3 月 7 日夜より胸痛を訴え、翌日の心電図で II、III、aVf の ST 上昇を認め、筋原性酵素の上昇、白血球の軽度増多もあり、急性下壁梗塞と診断した。安静、酸素投与および亜硝酸剤、Ca 拮抗剤、ジピリダモールによる急性期治療を行った。その後の回復は順調で、不整脈等の合併症もなく、心機能の低下も認めなかった。1999 年 12 月 (13 歳) 病状の進行により電動車椅子を導入した。現在も AMI の 2 次予防を目的に亜硝酸剤等の投与を続けており、再発は見られていない。

考察

DMD においては、肺梗塞、心室内血栓、脳梗塞、腎梗塞、脾梗塞などの血栓塞栓症がみられることが知られて

いる。特に出血性肺梗塞は、1987 年に石原らに指摘されて以来、DMD の突然死の原因として注目されている。一般に DMD 患者における血液凝固系は亢進状態にあることが知られており、感染症がさらに凝固系を亢進させるとの報告もある。1997 年の齊藤らの報告によれば、歩行可能な患者も含めて DMD 患者の大半に凝固亢進状態を認め、その程度は他の神経筋疾患と比較して高度であり、DMD そのものが血栓症の危険因子となっている可能性を示唆している。AMI は川崎病などの基礎疾患がある場合を除いて、若年者にみられることは極めて稀である。本例は 13 歳の若年例であり、車椅子生活であるものの心不全、呼吸不全はなく、養護学校に通学中であった。明らかな川崎病の既往はなく、心エコーでも冠動脈主幹部の動脈瘤や拡張は認めなかった。また、糖尿病、高脂血症などの動脈硬化促進因子もなく、AMI は DMD と関連した病態であった可能性が考えられる。凝固線溶系については、FDP 9.2 μg/ml と軽度上昇を認めたが、PT、aPTT、TT、fibrinogen、ATIII、D-dimer はすべて正常であった。今後は、冠動脈造影など循環器系の精査や凝固線溶系の分子マーカーについての検索を行う予定である。これまでに DMD 若年例に AMI を発症した例は、1988 年の Nakajima らの報告などごく少数例しか報告されておらず、本例は貴重な症例である。今後は、DMD における虚血性心疾患の合併にも注意して行くことが必要と思われる。

結論

経過中に AMI を呈した DMD の若年例を報告した。発症時の機能障害度は stage VI であり、心不全、呼吸不全は認めなかった。川崎病の既往はなく、動脈硬化促進因子も認めないことから、AMI は DMD と関連した病態であった可能性が考えられた。DMD の合併症として、虚血性心疾患にも注意していくことが必要である。

参考文献

- 1) Nakajima K, et al : Acute myocardial infarction in patient with Duchenne muscular dystrophy: A case report and review of the literature. *Mie Medical J* 38: 187-195, 1988
- 2) 齊藤祐子 他 : Duchenne 型筋ジストロフィーの凝固線溶系亢進状態. *臨床神経* 37: 374-378, 1997
- 3) 石原傳幸 他 : DMD 呼吸不全末期における肺梗塞の重要性. *筋ジストロフィー症の遺伝、疫学、臨床および治療開発に関する研究 昭和 62 年度研究報告書* p. 252-253, 1988

DMD 患者へのアンジオテンシン変換酵素阻害剤の早期投与について

本家一也、大野一郎
国立療養所医王病院

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)の高年齢者では、血管拡張による心臓後負荷の軽減、心筋保護作用、呼吸障害によるレニン-アンジオテンシン系亢進に対する抑制を目的として、ほぼ全例にアンジオテンシン変換酵素阻害剤(ACEI)が投与されている。しかし、何才ごろから投与をおこなうかは、はっきりしておらず、若年者での投与例は少ないと思われる。一方で15才以前に心筋症の悪化する症例もあり、早期からの投与が必要と考える。また、DMDでは一酸化窒素(NO)産生が低下しているとの報告1)や、ACEIがNO産生を賦活するとの報告2)、3)があり、ACEIが骨格筋に対して保護作用を有する可能性もある。本研究では、DMDの若年者にACEIを長期投与し、その影響を検討する。

方法

8才から14才、運動機能障害度1から7のDMD患者10名にエナラプリルを年齢、体重により、2.5から7.5mg連日、朝1回投与し、血清CK値、血漿中NOX値の変化および運動機能障害度、心胸郭比(CTR)、左室駆出率(LVEF)の推移について検討する。また、低血圧症状など副作用についても調査する。なお、本研究については患者、家族に十分に説明し、参加者を募った。

結果

投与を開始し、3から5ヶ月経過したが、血清CK値、血漿中NOX値には、特に変化は認められない。運動機能障害度の推移についても投与を開始したばかりで変化はない。CTRは0.50以上だった13才と14才の2例で、それぞれ0.52から0.49、0.54から0.49に低下した。低血圧症状や咳などの副作用については認めていない。

考察

DMDでは、今まで心臓保護を目的としてACEIの投与が行われてきたが、10才前、すでにECG異常を認める患者が多いこと、また、10才代前半に心不全におちいる患者がいることから、心臓保

護を目的としても、10才前からACEIの投与をおこなうべきと考える。今回、13才と14才の2例でCTRが低下し、ACEI単独投与でも心臓には有効と思われる。一方、ACEIについては、最近、NOに関して、心不全状態下での血管の問題にはNOが関係し、それをカプトプリルが改善するといった報告2)や、拡張型心筋症における冠動脈血流をエナラプリルが改善するが、その作用はNOを介しているといった報告3)があり、ACEIはNO活性を促進することにより末梢組織への血流を改善する作用を有している可能性が考えられる。DMDでは、種々のNO代謝異常が報告1)されており、ACEIを投与してもNOを介する作用については無効の可能性もある。しかし、実際には、DMDにおいても心臓には有効であり、血圧も下げることから、骨格筋、平滑筋への保護作用についても期待できると思われる。

結論

- 1) 8才から14才の若年DMD患者10名にエナラプリルの投与を開始し、3から5ヶ月が経過したが、血液検査で捕らえられるような劇的な変化は認められなかった。
- 2) 年齢、体重により2.5mg/日から7.5mg/日の投与を行っているが、低血圧症状や咳などの副作用は認めていない。
- 3) 心臓障害や運動機能障害に対する長期投与の影響については、さらに症例を増やしながら検討していく。

参考文献

- 1) Brenman JE, et al. Cell 82 : 743-752, 1995.
- 2) Ceiler DL, et al. Cardiovascular Reseach. 43 : 779-787, 1999.
- 3) Mohri M, et al. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 35 : 249-255, 2000.

筋強直性ジストロフィー患者の呼吸障害に対するセロトニタイプ5-HT_{1A}レセプターアゴニストの有用性について

本家一也、狩野操、土井建朗
国立療養所医王病院

緒言

筋強直性ジストロフィー (MYD) では、中枢性の呼吸障害を合併する患者が多く、特に夜間における無呼吸を主とする呼吸状態の悪化が問題となっている。この対策としてNIPPVやCPAPが試みられているが、適応できない患者が多く、また、QOLの点からも問題がある。昨年、中枢性無呼吸に有効との報告のあるセロトニタイプ5-HT_{1A}レセプターアゴニスト¹⁾をMYD患者3名に短期間投与し、検討した結果、30 mg/日で夜間の呼吸状態がある程度改善した。今回は、対象患者を5名に増やし、また、長期投与を行い、この薬剤の有用性を検討した。

方法

MYD患者5名に抗不安薬として市販されているセロトニタイプ5-HT_{1A}レセプターアゴニスト(セディール)を30mg/日、朝、昼、20時に、約5ヶ月間投与し、日中の動脈血ガス分析値(AGA)、努力肺活量(FVC)および夜間の動脈血酸素飽和度(Sat O₂)の変化を検討した。また、副作用についても調査した。

結果

症例1、4はそれぞれ43才、50才、運動機能障害度2の患者で、薬剤投与後、AGA、FVCとも特に変化は認めなかった。夜間のSat O₂は、投与前から90%以下の時間はなく、投与後も変化はなかった。症例2は46才、障害度3の患者で、投与後、AGA、FVCには、特に変化を認めなかったが、夜間のSat O₂では、投与期間が長くなるに従い、95%以上の時間が長くなり、90%以下の時間が60分前後から10分前後に有意(p<0.05)に短縮した。症例3は47才、障害度6の患者で、投与後、AGA、FVCには、やはり特に変化を認めなかったが、夜間のSat O₂では、この症例においても投与期間が長くなるに従い、95%以上の時間が長くなり、90%以下の時間が90分前後から10分前後に有意(p<0.05)に短縮した。症例5は52才、障害度6の患者で、投与後、AGA、FVCには、特に変化を認

めなかったが、夜間のSat O₂では、症例2、3と同様の傾向を示した。

考察

MYD患者では高頻度に中枢神経障害を伴うことが知られており、脳幹網様体病変が傾眠や無呼吸に関係しているとの意見も多い。無呼吸は著明な吸気の延長による呼吸リズムの障害であり、脳幹下部と橋の呼吸ネットワークの障害により発生すると考えられている。麻酔による動物実験ではグルタミン酸の関係したシナプス伝達の低下が無呼吸に関係することが推定されており、この無呼吸はセロトニタイプ5-HT_{1A}レセプターアゴニスト投与により消失すると報告²⁾されている。また、橋と延髄のアストロサイトーマの術後の小児患者にみられた無呼吸に対して同薬剤が著効を示したとの報告¹⁾もある。今回は、症例を増やし、また長期投与を行い、本薬剤の有用性を検討したところ、日中のAGAに変化は認められず、夜間の呼吸状態は改善した。このことから本薬剤の効果は、呼吸促進作用によるものではなく、やはり無呼吸防止作用によると考えられ、長期投与による呼吸筋疲労の問題はないと思われる。とくに副作用はなく、MYD患者の中枢性呼吸障害に対して本薬剤は有用であり、夜間、呼吸状態の悪い患者では、人工呼吸管理の前に試みるべき治療と考える。ただし、5ヶ月の検討期間中、投与期間が長くなるほど、夜間の呼吸状態が改善したことから、本薬剤を長めに投与し、その症例に対する効果を判定する必要がある。

結論

MYD患者に認められる中枢性呼吸障害に対してセロトニタイプ5-HT_{1A}レセプターアゴニストは、有用である。

参考文献

- 1) Wilken B, et al. J Pediatr 1997;130:89-94.
- 2) Lalley PM. Brain Res 1994;648:87-98.

Duchenne 型筋ジストロフィー患者の不整脈に関する研究

—特に心室性期外収縮と QT dispersion について—

渡辺宏雄¹⁾

加藤義弘¹⁾²⁾、山田重昭¹⁾

国立療養所長良病院小児科¹⁾、

岐阜大学医学部スポーツ医科学²⁾

【緒言】 Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 者において、心室性不整脈は突然死の原因ともなり、心不全治療においては心室性不整脈に対する十分な注意が必要である。心筋梗塞後や拡張型心筋症等の慢性心不全患者において、QT dispersion (QTd) と心室性不整脈との関係が報告されている¹⁾²⁾。DMD 患者における心室性期外収縮 (VPC) の重症度と、12 誘導心電図における QTd, 血中 ANP, BNP の関係を明らかにすることを本研究の目的とした。

【方法】入院中の Duchenne 型筋ジストロフィー患者 22 名 (年齢 28.1±7.1 (SD) 歳) を対象とした。24 時間ホルター心電図記録を行い、Lown 分類にて VPC の重症度分類を行った。同時期に 12 誘導心電図の記録を行い QT dispersion の計測を、また採血により血中 ANP、BNP 濃度の測定を行った。QTd の測定は 50mm/秒の紙送りで心電図記録を行い各誘導の QT 時間を測定した。最大 QT 時間と最小 QT 時間の差を QTd とした。QT 時間を Bazzer の式で補正したものを QTcd とした。12 誘導心電図記録は、全例午後 1 時から 3 時の間に行った。

【結果】 下記の表に各分類別の患者数と その平均値と標準偏差を示す。

Lown 分類	n	QTcd n (msec)	ANP (pg/ml)	BNP (pg/ml)
0	3	53.8±15.3	16.7±10.7	4.2±2.5
1	8	53.9±23.5	49.8±75.6	16.9±17.6
2	2	53.5±5.2	45.0±15.6	25.5±16.0
4a	6	82.4±43.3	49.2±30.6	41.9±56.3
4b	3	99.1±43.3	118.3±114.9	145.5±179.1

【考察】 QTd の計測は、12 誘導心電図計にてベットサイドで比較的簡単にできる検査である。慢性心不全患者では、QTd と不整脈との関係が報告されている。DMD 患者においても、心室性期外収縮の重症度が高い群 (4a, 4b) では QTcd は増大していた。

ANP, BNP 値も重症度が高いほど高い値となり、心不全の指標としてだけでなく不整脈の重症度の指標としても有用であると考えられた。今後は、同一症例での QTd の経時的変化や治療に対する QTd の変化などを検討することにより、QTd を心不全治療の効果判定や不整脈の予知に利用できないか検討したい。

【結論】

DMD 患者において、QTd は不整脈の重症度の指標となる可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Grimm W et al. QT dispersion and arrhythmic events in dilated cardiomyopathy. Am J Cardiol ; 78:458-461, 1996
- 2) Bart CS et al. QT dispersion and sudden unexpected death in chronic heart failure. Lancet; 343:327-329, 1994
- 3) Masayuki Y et al. QT dispersion in patients with Duchenne-type progressive muscular dystrophy. Am Heart J 137 672-677, 1999.

Duchenne 型筋ジストロフィー患者における 単語記憶負荷時 Functional MRI

樋口嘉久、光吉 出、森村達夫、白坂幸義
国立療養所宇多野病院

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィーにはしばしば精神発達遅滞を合併する。幼児期には言語発達遅滞を呈したり、自閉的傾向がみられる。また精神発達遅滞のない患者において言語性 IQ が低い傾向が報告されている。言語および記憶能力の低下の原因となる器質的変化はまだ未解明である。今回われわれは単語記憶負荷時 Functional MRI を用いて Duchenne 型筋ジストロフィー患者脳における言語記憶に関する優位側の検討を試みた。

方法

1. 4名の Duchenne 型筋ジストロフィー患者に同意を得て施行した。4名とも 18 才で右利き、発達指数は64から92であった。うち 1 名は左中心野を焦点とする部分発作があったが、2 年以上コントロールされている。撮影は 1.5T MRI による Gradient Echo 法を用い TR/TE/FA 400/60/40, Matrix 256x256, 5mm スライスにて行った。撮影面は海馬, Wernicke 野を含む。Task は三宅式単語記憶テストを用いた。すなわち有関連語 10 組(2 語 1 組), 無関連語 10 組, 計 40 単語を聴取させた。30sec 静止安静と 30sec 聴取を 4 回繰り返して撮像し、無負荷時信号と負荷時平均信号強度の差分画像を T1 画像に重ね検討した。検査後記憶語数を計数した。

2. 本法では関心領域における神経活動の活性化が局所脳血流量増加による相対的な deoxy-Hb 減少が T_2^* 信号強度の増加として

表される (BOLD 法)。正常(右利き)対照群で行うと左海馬および左 Wernicke 領野に有意な信号増加が得られる。

結果

今回の対象 4 人は全員が左側海馬に活性化が見られ、うち2例では左側 Wernicke 野にも活性化が見られた。記憶語数は 8~11 語であった。

考察

今回の検討では右利き DMD 患者の言語記憶に関する優位側は左側と考えられ、対照群との差は見られなかった。今後左利き患者での優位側検討すること、および他の負荷時活性化領域の検討を考えている。また問題点として検査方法の改善があげられる。撮像中の器械音の影響排除、10-12 才程度に合わせた単語負荷を検討中である。撮像法も差分画像に統計処理を加える必要がある。

結論

1. 右利き Duchenne 型筋ジストロフィー患者において言語、記憶における優位側は対照群と同じ左側であると考えられた。
2. 記憶負荷方法など検査方法においては今後改善の必要があると考えられた。
3. 他の活性化領域や左利き患者での検討も行っていく予定である。

参考文献

- Billard C et al. Neuromuscul Disord 1992;2:371-8.
- Sanders J et al. In Orisson WW et al. (eds) :Functional Brain Imaging, Chapter 7, St.Louis, 1995, Mosby.

ポラプレジンクが *mdx* マウスの骨格筋壊死に与える影響

樋口嘉久、光吉 出
国立療養所宇多野病院

緒言

胃潰瘍治療薬としてすでに臨床の場で用いられているポラプレジンクはL-カルノシンと亜鉛の錯体である。

昨年度報告した我々のデータは、ポラプレジンクが *mdx* マウスの骨格筋壊死に抑制的に働く可能性を示していた。今回はこの効果に用量依存性があるかどうかを検討するため、*mdx* マウスをポラプレジンク投与量の異なる2群にわけて実験した。

方法

mdx マウスの腹腔内に体重 (kg) あたり 50mg または 100mg のポラプレジンクを、生後2週令より週3回の頻度で9週間投与した。生後11週令時にエーテル麻酔下に腓腹筋を採取し、凍結切片にてHE染色を行った。また100mg投与群の *mdx* マウスを生後11週令時に開腹して、腹腔内にポラプレジンクの残存のないことを確認した。ポラプレジンクは生理食塩水を懸濁し体重 gr 当たりの投与量を 0.01ml に濃度調整した。対照として同量の生理食塩水を腹腔内投与した。

標本観察時の顕微鏡視野はランダムに選択し、視野中の全ての筋線維について中心核線維と非中心核線維を数え、全筋細胞のなかで中心核線維の占める割合を百分率で求めた。筋線維の中心に核を有する中心核線維は、少なくとも一度は壊死・再生の過程を経た筋線維を、そうでない筋線維はまだ一度も壊死していない線維を意味する。筋線維の中心に核を認める中心核線維の出現する頻度は、変動が小さく定量可能であるためジストロフィー変化の指標として有効と考えられている(1)。

結果

中心核線維の占める割合はコントロールで $68.1 \pm 2.5\%$ ($n=5$)、50mg投与群で $73.2 \pm 4.1\%$ ($n=5$)、100mg投与群で $69.4 \pm 4.0\%$ ($n=5$) で、3群間で有意な差は認めなかった。また実験期間中にポラプレジンク投与群の *mdx* マウスはコントロールよりも活動性が高い傾向を認めた。

考察

ポラプレジンクはその吸収過程において亜鉛とL-カルノシンに解離し、別々の体内動態を示す。L-カルノシンはL-ヒスチジンを経てアミノ酸としての代謝経路により代謝されるが、その作用として抗潰瘍、組織修復促進、免疫調節、抗炎症作用を有するとされる。一方亜鉛は必須微量元素として知られており、欠乏症として皮膚炎、脱毛、味覚障害などがある。亜鉛は細胞の形成、成長、代謝、創傷回復に関係し細胞の機能維持に最も重要な微量元素と考えられている。通常の摂食状態では、亜鉛はその必要量がかりうじて満たされている状況とされており、筋細胞の壊死と再生が活発な筋ジストロフィー患者では容易に欠乏状態になりやすいことが推定される。

昨年度の我々のデータは、ポラプレジンクが *mdx* マウスの骨格筋壊死に抑制的に働く可能性を示していた。しかし今回の実験のように比較的大量のポラプレジンクを *mdx* マウスに投与した場合は、病理学的に筋壊死の抑制は証明できなかった。この原因のひとつとして、ポラプレジンク投与によってもたらされたマウスの活動性の上昇が筋の過運動を招き、その結果として筋壊死が助長された可能性が考えられた。

結論

デュシェンヌ型進行性筋ジストロフィーの筋力低下の進行を遅らせる新しい薬物療法としてポラプレジンクは有効である可能性がある。しかし筋壊死の抑制だけでそれを説明する事はできず、他のメカニズムの関与もあると思われた。

参考文献

1. Karpati G, Jacob P, Carpenter S, Prescott S: Hypophysectomy mitigates skeletal muscle fiber damage in hamster dystrophy. *Ann Neurol* 17:60-64, 1985

ホモ接合性筋強直性ジストロフィー3例の臨床的比較

班員 三木哲郎
愛媛大学医学部老年医学
共同研究者 山縣英久 田口敬子
野村拓夫
愛媛大学医学部老年医学

【緒言】

一般に優性遺伝病のホモ接合体の症例は非常に稀である。トリプレットリピート病の中には、同じ優性遺伝であってもハンチントン病や脊髄小脳失調症1型の様にホモとヘテロで症状が変わらない(遺伝子の形質が真の優性であり、遺伝子効果が強すぎてホモもヘテロも同じ表現型になる)ものもあれば、マシャドジョセフ病やDRPLAの様にホモ接合体の方が重症の場合もある。筋強直性ジストロフィー1型(DM1)のホモ接合体の症例も非常に稀であり、これまで極めて重症が致死的とされてきたが、最近の報告によると大部分のホモ接合体は軽症である事がわかっている。その理由として(CTG)リピート数があまり長くない事が考えられる。今回われわれは2家系3例にホモ接合性DM1を見出し、臨床症状を比較した。

【方法】

A家系は31歳の兄と30歳の妹の症例、B家系は51歳男性の症例である。末梢血リンパ球から高分子量DNAを抽出し、サザンハイブリダイゼーション法およびPCR法にて遺伝子解析したところ、両アレルともリピート数が伸長していた。詳しく検討した結果、31歳の症例はリピート数が79と400、30歳の症例は79と670、51歳の症例は70と1400であった。いずれも一方のアレルは100以下、他方は100以上であり、3例とも短いアレルが母由来(母親は白内障のみの軽症例でリピート数は100以下)、長いアレルが父由来と類推された。B家系の例は両親がいと婚であった。発症年齢、臨床経過、現在の症状と検査所見について調べ、既報告と比較した。30歳の症例は検査入院して詳細に調べた。

【結果】

A家系の比較では妹の方が発症年齢、筋力低下、歩行障害、不整脈、など障害が高度であり、重症度は長いアレルのリピート数と相関していた。B家系51歳男性症例は低身長、前頭部脱毛、ミオトニー、筋力低下など成人型症状を呈していたが、発症年齢は思春期と考えられ、小学生時代に知能低下を指摘されるも高校に進学し、仕事にも就いていた。症状と検査により1)ミオトニーの程度(臨床症状または筋電図)2)筋力低下の程度3)白内障4)心病変(不整脈、心筋シンチ)5)前頭部脱毛6)過睡眠7)骨の肥厚8)脳MRIによる白質病変9)胆石10)脂肪肝、の10項目で3症例を比較すると、A家系の妹は10項目すべて合併していたが、兄の方は6項目しか該当しなかった。B家系の症例では脳、肝、胆嚢に関しては検査できていないが、調べた6項目すべて該当していた。3例の長い方のリ

ピート数は発症年齢、知能低下と相関していた。

【考察】

DM1ホモ接合体症例の報告は世界的にも10例に満たず、スペイン人と日本人がほとんどである。既報告では村田らの70と930リピートの症例では高度の知能低下が特徴的とされたが、今回の症例では3例中、2例は知能低下を認めなかった。既報告の知能低下を示した症例は長い方のリピート数が700、930、1000と相当長いものであった。DM1の形質が真の優性遺伝であり、遺伝子効果が強すぎてホモもヘテロも同じ表現型になってしまうとの説をZlotogoraは唱えているが、リピート伸長がともに大きい症例がないのは、重症ホモ接合体致死説を示唆している。1994年にRoederらが報告したアメリカ人の近親相殺の症例(父と娘の間にできた子供)は330と1000リピートとともに相当伸長した例であり、生下時floppy infantであり、DM1以外の感音性難聴、手足の爪の欠損など劣性遺伝子をホモにもった影響が考えられるが、21歳でも生存しており、必ずしもホモ接合体が致死とは限らないようである。現在DM1の発症メカニズムはDMPK遺伝子および隣接したDMWD遺伝子とSIX5遺伝子の機能低下、mRNAレベルの(CUG)結合蛋白の消費など多遺伝子症候群として説明されているが、リピート数が両方とも相当伸長したホモ接合体症例のさらなる解析が、これらの謎を解く鍵となると期待される。

【結論】

ホモ接合体症例では、長いアレルのリピート数と症状が相関する。

【参考文献】

- 1) Johnson WG: Two expanded repeats in the same patient -An effect on phenotype? Arch Neurol 57: 1110-1112, 2000.
- 2) Cobo A, Martinez JM, et al: Molecular diagnosis of homozygous myotonic dystrophy in two asymptomatic sisters. Hum Mol Genet 2: 711-715, 1993.
- 3) Roeder E, Jain K, et al: Homozygous myotonic dystrophy. Am J Hum Genet 55 (Suppl): A7, 23, 1994.
- 4) Martorell L, Illa I, et al: Homozygous myotonic dystrophy: clinical and molecular studies of three unrelated cases. J Med Genet 33: 783-785, 1996.
- 5) 村田顕也、松村隆介ら: 筋強直性ジストロフィーホモ接合体の1例. 臨床神経 37: 497-499, 1997.
- 6) Roberts R, Timchenko NA, 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 Nat Acad Sci 94: 13221-13226, 1997.
- 7) Zlotogora J: Dominance and homozygosity. Am J Med Genet 68: 412-416, 1997.

Duchenne 型筋ジストロフィーにおける
costimulatory molecule の発現

安東範明¹⁾, 村田顕也²⁾, 上野 聡²⁾

1) 国立療養所西奈良病院 神経内科

2) 奈良県立医科大学神経内科

(緒言) 多発筋炎(PM)ではMHC-class I陽性の非壊死線維がcostimulatory molecule を発現し, さらにその受容体とcell-to-cell contact していることが確認され, 筋線維が抗原提示細胞(APC)として機能しうる可能性が報告されている¹⁾

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)でも, CD8陽性リンパ球が, 非壊死線維を取り囲んでいることがしばしば観察され, DMDとPMのcostimulatory moleculesの発現の異同が注目される。

(対象および方法) 対象はDuchenne型筋ジストロフィー5例。コントロールは多発筋炎5例, 正常5例。生検筋およびその生検筋を用いた培養筋細胞を以下に示すマウスモノクローナル抗体を用い免疫染色を行った。1) 抗ヒトCD4, 2) 抗ヒトCD8, 3) 抗ヒトCD80 (BB-1), 4) 抗ヒトCD80 (B7-1), 5) 抗ヒトCD86 (B7-2), 6) 抗ヒトCD28, 7) 抗ヒトCD152, 8) 抗ヒトCD74, 9) 抗ヒトHLA-ABC, 10) 抗ヒトN-CAM。

(結果) DMDではcostimulatory moleculeのうちBB-1のみが筋線維表面または細胞質に発現し, B7-1, B7-2は陰性であった。BB-1は, 主としてN-CAM陽性再生筋線維に発現し, 一部の筋線維ではMHC-class Iも陽性であった。これらを取り囲むCD8陽性T細胞は, CD28, CD152 (CTLA-4) いずれも陰性であった。INF- γ 刺激後の培養筋芽細胞の検討では筋芽細胞のマーカーである, N-CAM陽性の細胞はBB-1陽性であり, 両者の発現パターンは一致しており, 筋芽細胞も, 特定の条件下では, BB-1を発現していた。

(考察) 抗原特異的なT細胞活性化には, APCに発現している主要組織適合抗原およびT細胞受容体, 抗原ペプチドといった第1シグナルに加えて, 第2の補助シグナルが必要である。第1シグナルのみでは, リンパ球の増殖はおこらず, この第2シグナルに関連する分子を総称してcostimulatory molecule と呼んでいる。

今回の検討ではPM, DMDともにB7ファミリーのうちBB-1が骨格筋表面に発現し, 筋線維が抗原提示細胞となり得る可能性が想定された。自己免疫性炎症性ミオパチーではCD8陽性T細胞に取り囲まれた筋線維は主として, sarcolemmaがBB-1を発現していた。さらにその受容体がこれを取り囲み, リガンドとcell-to-cell contactしており, PMでは, CD8陽性リンパ球がCD4非依存的に筋組織内でclonalに増殖している可能性が推測された。

一方, DMDではPM同様BB-1は筋細胞質およびsarcolemmaに発現していたが, CD8が取り囲む筋線維はBB-1は主として筋細胞質が陽性で, PMと染色パターンがやや異なっていた。しかもBB-1, MHC-I陽性筋線維周囲にはBB-1の受容体を発現したT細胞は全く浸潤しておらず, PMとは明らかに異なっていた。

Costimulatory moleculeはnaiveリンパ球への抗原提示には必要であるが, 一旦活性化されたCD8がCTLとして作用する際には特に不要とされている。

以上のことから, DMDでは, BB-1陽性筋線維は, CTLの標的にはなっているかもしれないがPMと異なり, CD8陽性リンパ球がCD4非依存性に増殖する際のAPCとしては作用していないと推測された。更に, 筋培養の結果にて, 筋芽細胞もある環境下ではMHC-I同様BB-1を発現していることが確認された。

一方, DMDでもB7-1やB7-2陽性リンパ球が少数ながら, 存在したことから, 筋線維に発現したBB-1以外のcostimulatory moleculeが何らかの免疫応答に関与している可能性も推測される。今後, これらの意味につき検討を加える必要がある。

(結論) DMDでは, BB-1陽性筋線維は, APCとしては機能せず, 筋再生過程を反映していると推測された。

(参考文献)

1) Murata K, Dalakas MC: Expression of the costimulatory molecule BB-1, the ligands CTLA-4 and CD28, and their mRNA in inflammatory myopathies. Am J Pathol 1999, 155:453-460

筋ジストロフィーにおけるワーファリン経口投与による血拴準備状態の改善（多施設共同研究）

安東範明

国立療養所西奈良病院神経内科

以下に記載する、ワーファリン臨床試験実施計画書を作成した。臨床試験調整委員会にて、細部の改訂を行った後、凝固系の全国調査と臨床試験を開始する予定である。

公費臨床試験実施計画書

1. 背景

Duchenne 型筋ジストロフィーをはじめとする筋ジストロフィーは、近年の呼吸管理や心不全治療の進歩により平均生存年数が約 10 年延長している。呼吸不全と心不全による死亡が減少するとともに、第 3 の死因として肺梗塞、脳梗塞など血拴塞栓症での死亡が近年注目されている。筋ジストロフィー患者は一般に血拴準備状態にあることが明らかになっており、小児発症の進行の速い病型ほど、また運動機能障害が強く、心筋障害の高度な症例ほどその傾向が顕著であると考えられている。

以上のような背景から、血拴準備状態にあり心不全を呈するなどの危険因子が存在する筋ジストロフィー患者では、血拴準備状態の改善により血拴塞栓症による死亡を減らし、寿命をさらに延長させる効果が期待できる。抗凝固療法を行うことにより、血拴塞栓症の発生率を減少させることが本プロジェクトの最終的な目標であるが、5 年以上の研究期間を必要とするなど、困難な問題があるため、本研究では代理評価項目として凝固線溶系マーカーを選び、ワーファリン投与による血拴準備状態の改善を評価する。また、本研究は全国筋ジストロフィー担当 27 国立療養所等による多施設共同研究である。

2. 目的

Duchenne 型および Becker 型筋ジストロフィーを対象として、凝固線溶系の各マーカーの検査を全国レベルで行う。また、その結果、一定の基準を満たす患者について、ワーファリンを 3 ヶ月間投与し、投与前、投与中、投与後の凝固線溶系マーカーを経時的に測定することにより、血拴準備状態の改善を評価する。Duchenne 型および Becker 型筋ジストロフィーにおける本療法の安全性をあわせて評価する。

3. 対象

全国筋ジストロフィー担当国立療養所等に入院中の Duchenne 型および Becker 型筋ジストロフィーで、以下の基準を満たす患者。①凝固線溶系検査で血拴準備状態が示唆された患者で、心機能障害が確認された患者。心機能障害の基準、心エコー上、ejection fraction(EF) 40%以上、もしくは胸部 X 線写真上、cardiothoracic ratio(CTR) 52%以上。②凝固線溶系検査で血拴準備状態が示唆された患者で、過去に血拴塞栓症（肺梗塞、脳梗塞など）の既往のある患者。

4. 除外基準

以下の患者は対象から除外する。①明らかな出血傾向のある患者。② 12 歳未満の患者。③過去にワーファリンに対してアレルギーの既往のある患者。④女性患者。⑤病名告知がなされていない患者。⑥その他、主治医が不適当であると判断した患者

5. 臨床試験に対する患者の同意

臨床試験開始以前に、主治医は臨床試験の目的に応じ、次の各項に定める事項について、別紙ガイドラインに基づき、被験者、および必要に応じて保護者等に説明し、臨床試験への参加に関して文書により同意を得なければならぬ。1) 臨床試験の目的及び方法。2) 予想される効果および副作用。3) 臨床試験への参加に同意しない場合でも不利益を受けないこと。4) 臨床試験への参加に同意した後でも随時同意を撤回できること。5) その他、被験者の人権の保護に関し必要な事項。①被験者が 20 歳未満の場合、保護者から同意を取る。臨床試験の趣旨を理解できる場合は被験者本人からも同意を取るものとする。

②被験者が 20 歳以上の場合、原則として本人から同意を取る。臨床試験の趣旨を十分理解できない場合は代諾者から同意を取るものとする。

6. 調査項目

(1) 凝固線溶系血液検査。①活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time : APTT)。②プロトロンビン時間 (prothrombin time - international normalized ratio : PT-INR)。③ thrombin-antithrombin complex (TAT)。④ prothrombin fragment 1 + 2 (PTF 1 + 2)。⑤ D-dimer (DD)。⑥ plasmin- α 2-plasmin inhibitor complex (PIC)

(2) その他、赤血球数、白血球数、血小板数、CPK、LDH、CRP、血液ガス、心電図、胸部 X-p、胸部 CT など。

7. 試験薬剤

(1) 薬品名。日本薬局方ワルファリンカリウム錠。ワーファリン錠 1 mg。(2) 成分、化学名：monopotassium 3-(α -acetylnbenzyl)-4-coumarinolate。(2) 含有量および剤形、1 錠中にワルファリンカリウム 1 mg を含有する白色の割線入り裸錠である。粉砕により使用量を調節する。

8. 試験方法

(1) 試験デザイン。ワーファリンは 1 日量として体重 1 kg あたり 0.02mg の分 3 投与から開始、PT-INR の値を目安として、この値が 1.5 ~ 2.5 の範囲となるようワーファリンの投与量を調整する。この間に、各パラメーターの値を調査する。ワーファリンの服用に同意しないが、凝固線溶系検査を引き続き受けることに同意した患者については月 1 回の凝固線溶系検査を行い経過を見る。(2) 投与期間・投与量。観察期：各検査項目を 1 週間に 1 回、2 週連続して調査する。治療期：各検査項目を、当初 1 週間に 2 回、PT-INR の値が 3 回連続して 1.5 ~ 2.5 の範囲に入れば 2 週間に 1 回行う。治療期は 3 ヶ月とする。臨床試験期間終了後の服用の終了あるいは継続については、症例ごとに主治医と被験者の話し合いによって決定する。(3) 併用禁止薬。アスピリン、パナルジンなどの血小板機能抑制薬。すでに投与されている場合は、ワーファリン投与の前に 2 週間以上の washout 期間をおくこと。尚、アスピリン等は解熱を目的として一時的に使用することは差し支えない。

9. 試験の中止基準

下記の場合は直ちに臨床試験を中止し、その理由を明記する。また、可能な限り中止した時点での評価を行う。

(1) 副作用が発現し、臨床試験の継続が困難と主治医が判断した場合。(2) 合併症（感染症など）が出現するか、悪化し、臨床試験の継続が不可能と主治医が判断した場合。(3) 偶発事故などにより臨床試験の継続が困難になったとき。(4) 患者の都合による場合（同意撤回、退院等）。(5) その他、主治医が臨床試験の継続が不適当と判断した場合。

10. 解析等

凝固線溶系パラメーター、補助項目、一般臨床検査項目などの計量データの投与前からの変化量については、群内比較として対応のある t 検定あるいは Wilcoxon 符号付き順位検定を、群間比較として t 検定あるいは Wilcoxon 順位和検定を、各項目の変化量の分布に応じて用いる。また、血拴準備状態離脱率、有害事象発現率等の割合の群間比較には Fisher の直接確率法を用いる。なお、検定の有意水準は両側 5% とする。

症例の取り扱い及び解析方法の詳細は、データ収集後に臨床試験調整委員会による検討会を開催し決定する。

11. 目標症例数

50 例。

12. 試験実施期間

平成 13 年 4 月 1 日 ~ 平成 13 年 9 月 30 日。

13. 症例記録の記入

本臨床試験の結果は、別紙の症例記録に記入する。記入は黒の万年筆、ボールペンまたはサインペンで行う。訂正は二重線で消し、捺印または署名する。

14. 臨床試験調整委員会。(1) 委員長：国立療養所東埼玉病院神経内科、厚生省筋ジストロフィー研究石原班、班長、石原傳幸。(2) 委員：国立精神・神経センター武蔵病院神経内科、川井 充。国立療養所原病院小児科、福田清貴。国立療養所西奈良病院神経内科、安東範明、平田幸蔵。

15. 実地施設

全国筋ジストロフィー担当 27 国立療養所等。

デュシャンヌ型筋ジストロフィーにおける凝固線溶系の亢進

安東範明 平田幸蔵

(国立療養所西奈良病院 神経内科)

上野 聡(奈良県立医科大学 神経内科)

福田清貴(国立療養所原病院小児科)

川井 充(国立精神神経センター武蔵病院 神経内科)

石原博幸(国立療養所東埼玉病院神経内科)

目的

デュシャンヌ型筋ジストロフィー(以下 DMD)において、血液凝固異常に起因すると考えられる血管閉塞性疾患の頻度が増加し¹⁾、肺梗塞は本疾患の死亡原因の第3位を占めている。我々の以前の検討で心機能低下と凝固亢進状態を伴った DMD 患者に対してワーファリンによる抗凝固療法を行い、凝固亢進状態の改善を認め、本班会議でも DMD 患者での抗凝固療法が検討されている。DMD 患者での血液凝固亢進の報告は多くの施設より行われているが、複数施設共同の検討はない。今後筋ジストロフィー担当 27 施設等を対象とした大規模な調査が計画されているが、その pilot study としての意味を込めて今回我々は 3 施設(国療東埼玉病院、国療原病院、国療西奈良病院)入所中の DMD 患者に対し一般凝固検査及び凝固線溶系分子マーカーの測定を行い、血液凝固亢進状態の検討を行う。

対象・方法

3 国立療養所(東埼玉病院、原病院、西奈良病院)入所中 DMD 男性患者 30 例。検討項目としてプロトロンビン値、活性化部分トロンボプラスチン(aPTT)、Thrombin antithrombin complex(TAT)、Prothrombin fragment F1+2(PTF1+2)、D-dimer、plasmin- α 2-plasmin inhibitor complex の計測を行う。

結果

異常値出現率は PT 10%, aPTT 13.3%, TAT 33.3%, PTF1+2 73.7%, PIC 36.7%, D-dimer 6.7%であり、凝固線溶系の異常が認められた(表1)。3 病院間の比較では特に病院間の有意差を認めなかったが、TAT 及び PIC の高頻度に高値を示した。

考察

以前より筋ジストロフィー特に DMD において肺梗塞等の合併が指摘されている。その要因とし本班会議でも本疾患の血液凝固系の異常が報告されており、凝固線溶系分子マーカーの異常出現率は非常に高く、傾向として

は凝固系分子マーカーの異常値出現率が高くなっている。今回の 3 施設での検討では異常値出現率は過去の検討と比較すると幾分は低いが、高頻度に異常を示していることには変わらない。Porreca, E.²⁾らは 20 名 DMD 患者及び 10 名の BMD 患者と age match させた 30 名の対照例との検討で DMD、BMD 患者群の方が TAT が有意に高値であったことを報告している。DMD で凝固障害を起こす誘因として心機能障害、呼吸機能障害、不動性、脱水などが考えられているが、今までの検討では関連を認めたものはとくにない。しかしながら過去に DMD に肺梗塞を合併した症例報告のほとんどが心エコー上著明な心機能障害を呈しており、心機能障害が本症の凝固障害のもと、も可能性の高い誘因と考えられる。一般的によく測定されるプロトロンビン時間や活性化部分トロンボプラスチンなどは今回の検討や、過去に行われた検討でも正常範囲内を示すことが多いが、そのような症例でも凝固線溶系分子マーカーでは異常所見を示す場合が多く、本症で早期に血液凝固系異常を見出すためには、定期的な凝固線溶系分子マーカーの計測が必要と考えられる。また TAT などの分子マーカーは非常に鋭敏に異常を反映するが、テクニカルなエラーもかなりの割合いで認められ、それらに対する対策も今後必要である。

結論

DMD で高頻度に血液凝固障害を認めた。施設間の相違は認めなかった。

表 1

測定項目	平均±S.D	基準値	異常値出現率
プロトロンビン時間(S)	11.72±0.73	10~13	10%
aPTT(S)	39.96±4.06	25.0~40.0	13.3%
TAT(ng/ml)	3.37±3.59	3.0以下	33.3%
PTF 1 + 2 (nML/l)	0.392±1.52	0.4~1.4	73.3%
PIC(μg/ml)	0.78±0.25	0.8以下	36.7%
D-dimer (μg/ml)		1未満	6.7%

n=30

参考文献

- 1)松家 豊, 足立 克仁ら: Duchenne 型筋ジストロフィー患者における心不全と血栓準備段階. 筋ジストロフィーの臨床病態と遺伝相談及び疫学に関する研究, 平成 4 年度研究報告書, 1992, p148
- 2)Porreca, E. DiFebbo, C. Cuccurullo, F. et al: Haemostatic abnormalities, cardiac involvement and serum tumor necrosis factor levels in X-linked dystrophic patients. Thrombosis & Haemostasis 4.543-6.1999

ジストロフィン遺伝子ナンセンス変異の保因者でみられた正常および変異 mRNA 発現の組織における相違：発端者の変異が不明な場合の保因者診断におけるピットフォール

竹島泰弘^{1, 3)}、伊東利幸²⁾、中村肇^{1, 3)}、松尾雅文^{2, 3)}
神戸大学医学部小児科¹⁾、医学研究国際交流センター²⁾、遺伝子診療部³⁾

【はじめに】Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) でみられるジストロフィン遺伝子異常は、5-6 割が欠失・重複などの大きな変異であり、残りが点変異などの微小変異である。前者はサザンブロット法あるいはマルチプレックス PCR 法などにより検出が可能である。一方、微小変異の検出はジストロフィン遺伝子が非常に大きいため困難であったが、現在、我々はジストロフィン cDNA の全塩基配列 (14kb) を解析することによって微小変異の検出を行っている。

今回我々は発端者がすでに亡くなっている家系において保因者診断を行いエクソン 12 内に点変異を同定したが、本症例ではリンパ球の mRNA の解析では変異を有する mRNA が同定されず、筋肉の mRNA を解析して初めて変異を同定することが可能であった。

【症例および方法】依頼者は 29 歳女性。弟が筋ジストロフィーと診断されているがすでに死亡しており詳しい検索は行われていない。今回、結婚を機に DMD の保因者診断を希望されている。

蛋白の解析は筋生検組織を用いたジストロフィン免疫染色によって行った。ゲノムの解析はサザンブロット法によって、mRNA の解析はリンパ球あるいは筋肉より抽出した mRNA を用いて RT-PCR 法によって解析した。塩基配列は直接塩基配列解析法によって決定した。各アレルからのジストロフィンの発現量は、mRNA の 3'-UTR に存在するマイクロサテライト多型を蛍光シークエンサーを用いて解析して行なった。

【結果】筋組織のジストロフィン免疫染色の結

果、ジストロフィン陽性および陰性細胞がモザイク状に認められ、DMD の保因者と診断された。

サザンブロット解析では明らかな異常を同定できなかったため、mRNA の解析を行った。リンパ球より抽出した mRNA を用いてジストロフィン cDNA の全塩基配列を解析したが異常が認められなかった。しかし、筋肉より抽出した mRNA を用いて解析したところエクソン 12 内の 1682 番目の塩基が C/T のヘテロ接合であった。さらにゲノムの解析でも同様の変位が認められ、C1682T のナンセンス変位のヘテロ接合と診断した。母親も同じ変異のヘテロ接合であった。

リンパ球において変異が同定されなかった原因を明らかにするために、3'-UTR に存在するマイクロサテライト多型を用いて父方・母方アレルの発現量を検討したところ、リンパ球では両者が同程度に発現していた。

【考案】今回、DMD 保因者の遺伝子解析を行いエクソン 12 内にナンセンス変異を同定した。筋組織では正常および変異 mRNA 両者の発現がみられたのに対し、リンパ球では変異を有する mRNA がほとんど発現していなかったため、リンパ球の cDNA の解析のみでは変異を同定することができなかった。

リンパ球より抽出した mRNA においてナンセンス変異が同定されなかった理由を明らかにするために、リンパ球 mRNA を用いて 3'-UTR に存在するマイクロサテライト多型を解析したところ、ナンセンス変異を有する母方アレルは父方アレルと同程度に発現しており、X 染色体の不活化の偏りによってこのような現象が生じた可能性は否定された。ナンセンス変異を有する mRNA の不安定性などの要素が関わっている可能性が考えられる。

今回 DMD 保因者においてナンセンス変異を同定したが、この変異は通常解析に用いるリンパ球の mRNA では同定されず、筋組織の mRNA を用いて初めて同定が可能であった。保因者診断においてはこのような可能性を念頭におき、総合的に判断する必要がある。

精神遅滞を有するジストロフィン異常症でみられたスプライス・アクセプターサイトの点変異：組織特異的な潜在的スプライスサイトの活性化

竹島泰弘^{1, 3)}、足立佳代²⁾、中村肇^{1, 3)}、松尾雅文^{2, 3)}

神戸大学医学部小児科¹⁾、医学研究国際交流センター²⁾、遺伝子診療部³⁾

【はじめに】ジストロフィン遺伝子は79のエクソンより成る巨大な遺伝子であるが、そのスプライシングの機構には明らかでない点が多い。

今回、精神遅滞を有するジストロフィン異常症例を解析したところスプライス・アクセプターサイトの点変異が同定されたが、本症例においては3種類の潜在的スプライス・サイトが活性化されており、さらにその活性化のパターンは組織によって異なったものであった。

【症例および方法】症例は14歳男児。筋生検のジストロフィン染色ではわずかに陽性であったが、13歳より車椅子となり臨床的にはDuchenne型/Becker型筋ジストロフィー(DMD/BMD)中間型として診断されている。知能評価ではIQ59(VIQ56, PIQ70)であった。

欠失・重複などの大きな変異はリンパ球より抽出したゲノムを用いてサザンプロット法によって解析し、mRNAは筋あるいはリンパ球より抽出したRNAを用いてRT-PCR法によって解析した。また、mRNAの定量的な解析は、蛍光ラベルしたプライマーにて増幅したPCR産物をシークエンスゲルに泳動し、その蛍光強度を解析して行なった。

【結果】サザンプロット解析では明らかな異常を同定できなかったため、リンパ球mRNAの解析を行った。RT-PCR産物をサブクローニングして解析したところ、2種類のmRNAが同定された。一方はエクソン21の5側の7塩基が欠失したものであり、他方のmRNAはエクソン20、21間に6塩基挿入されたものであった。この6塩基はエクソン21直前のイントロンの配列に一

致しており、さらに本来のエクソン21の2塩基上流がAからGに変異していた。ゲノムの解析では、mRNAと同様にイントロン20のスプライス・アクセプターサイトにA²からGへの点変異が同定され、エクソン・イントロン境界部に存在するスプライス・コンセンサス配列の変異により2種類の潜在的スプライス・サイトが活性化されたものと考えられた。前者がout-of-frame変異、後者がin-frame変異であるため量的な関係を検討したところ、リンパ球では7塩基欠失mRNAと6塩基挿入mRNAの割合は1:2であったが、筋肉では15:1であり、さらに7塩基挿入mRNAが極わずかに認められ、組織によって異なったパターンで潜在的スプライス・サイトの活性化が生じていた。

【考案】今回解析した症例ではスプライス・アクセプターサイトの点変異によって複数の潜在的スプライス・サイトが活性化されており、さらに組織によって異なったパターンで活性化されていた。

ジストロフィン遺伝子異常では、一般にout-of-frame変異であると重症のDMDとなり、in-frame変異であると軽症のBMDとなる。本症例の筋組織では、6塩基挿入したin-frameのmRNAが数%しか認められず、大半が7塩基欠失したout-of-frameのmRNAであったため、比較的重症な表現型を呈したのと考えられる。しかし、リンパ球においては6塩基挿入したmRNAが7塩基欠失のmRNAに比して優位を占めており、筋組織とはその分布が逆転していた。

スプライシングには種々の核内因子が関わっているが、組織によってこれらの因子の発現パターンが異なっているためにこのような現象が生じた可能性がある。さらにこの症例は精神遅滞を合併しているが、脳におけるスプライシングのパターンは明らかではない。遺伝子型と表現型の関係を考える際には、各組織においてスプライシングパターンが異なっている可能性も念頭におく必要がある。

福山型先天性筋ジストロフィーとハプロタイプを異にする先天性筋ジストロフィーの臨床的検討

吉岡三恵子 (神戸市総合療育センター・
神戸市立中央市民病院 小児科)
佐々木 博 (倉敷中央病院 小児科)
戸田達史 (大阪大学医学部 臨床遺伝)

緒言

福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)の遺伝子が明らかにされ¹⁾、遺伝学的にFCMDの診断をする事が可能になった。我々は昨年度の班会議において、FCMDと類似の臨床症状を示すが、FCMDの遺伝子変異をもたない先天性筋ジストロフィー(CMD)の1家系を報告し、FCMDには genetic heterogeneity (FCMD2)があるのか、あるいはこの患者はFCMDではなく、別のタイプのCMDであるのかと考察した。その後、同様の症例を経験したので、これまでの報告も合わせてこれらの症例の特徴をまとめてみた。

対象及び方法

症例：2歳の男子。両親に血族結婚はみられない。母親にはこれまでに流産や死産などはない。在胎40週、生下時体重3,232gで第1子として出生、仮死はなかった。乳幼児期の発達は、頸定4ヶ月、ねがえり9ヶ月、お座り12ヶ月と遅れ、1歳を過ぎても有意語はなく、1歳3ヶ月時に発達の遅れを主訴として精査を受けた。この時、筋緊張低下や腓腹筋の仮性肥大は認められたが、関節拘縮はなく、腱反射は保たれていた。血清CK値は2,776 IU/Lと上昇していたが、ジストロフィン遺伝子に欠失は認められなかった。MRIでは両側対称性の脳白質病変があり、FCMDを疑われた。筋生検では、筋線維の大小不同、再生線維と変性線維の存在、著明な結合織の増生を認めたが、ジストロフィン染色やメロシン染色は陽性であった。筋生検後に高熱を出し、約3分間の全身強直間代性けいれんを来たしたが、血清CKの著明な上昇は認めなかった。以後は発熱時にもけいれんはなく、脳波の異常も認められていない。その後の経過では、1歳7カ月で四つ這いが出来、単語も出現。2歳2ヶ月でつかまり立ちも可能となっているが、膝・股関節に軽度の屈曲拘縮が出現してきている。血清CK値は以後も高値を続け、1,835-9,567 IU/Lで推移している。

方法：患者の血液よりDNAを抽出し、CAリピート多形性マーカーD9S2105-D9S2170-D9S2171-D9S2107でアレルタイプした。これらのマーカーで

FCMDの祖先のハプロタイプは、それぞれ138-192-147-183であり、このハプロタイプを持つ染色体は、3 kbの挿入を示す事が明らかにされている。

結果

患者は創始者のハプロタイプを持っていなかった。その後、患者の全coding領域及びexon-intron junctionについて塩基配列を決定したが、現在の所mutationは見つかっていない。

考察

これまで本邦におけるCMDの中では、FCMDがその大部分を占めるとされてきた。最近、臨床的にFCMDと診断される症例の遺伝子解析が進み、ほとんど全ての患者から創始者変異である3kb挿入が検出されている。その他の変異は3kb挿入との複合ヘテロの患者のみで見つかっている。しかし、本症例のように、臨床的にはFCMDとして矛盾しないが、フクチン遺伝子の変異を持たない症例も稀ながら報告されるようになってきた。これまでに、我が国では昨年度に我々が報告した1家系の他に、愛知県から9歳の男子例の報告²⁾がある。又、台湾からも同様の症例が3例³⁾報告されている。更に、欧米においても同様の症例の報告があるといわれ、CMDの一亜型として今後の症例の蓄積が期待される。

結論

臨床的にはFCMDと矛盾しないが、フクチン遺伝子に変異を持たない1男子例を報告した。CMDの一亜型と考えられ、今後症例の集積が必要である。

参考文献

- 1) Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M et al: An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 394: 388-392, 1998
- 2) 三浦清邦、熊谷俊幸、松本昭子他：福山型先天性筋ジストロフィーに類似した先天性筋ジストロフィーの1例。脳と発達32: S269, 2000
- 3) Jong Y, Kobayashi K, Toda T et al: Genetic heterogeneity in three Chinese children with Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Neuromusc Disord* 10:108-112, 2000

デュシャンヌ型筋ジストロフィーの大脳皮質の局所脳血流量

分担研究者 多田和雄*

共同研究者 中西 孝** 河本邦彦* 三谷真紀*

木村健一* 二村直伸* 舟川 格* 高橋桂一*

国立療養所兵庫中央病院 *神経内科

**児童指導員

緒言

デュシャンヌ型筋ジストロフィー (DMD) に知能低下を合併することが多いことは古くから多くの報告があり、昨年度は高橋らが遺伝子異常との関連について報告した。これまでの報告ではDMDには脳の器質的異常がみられないとされていたが、自験例で著明な知能低下のある症例の大脳皮質に器質的異常があった(1)。このことよりDMDに大脳皮質の局所脳血流量の低下がみられる可能性があると考え、SPECTで脳血流量を測定し、IQと対比させて検討した。

方法

18才から25才までの9名のDMD患者を対象とした。GE横河製のスターカム4000とXR/Yを使用し、600MBqの^{99m}Tc-ECDを静脈内投与して5分後から撮像し、脳血流シンテグラムを得た。局所脳血流量は、関心領域を前頭葉皮質で4領域、側頭葉皮質で2領域、頭頂葉皮質で1領域、後頭葉皮質で1領域、小脳で4領域設定し、それぞれの平均値を求め、小脳との比率を計算し、小脳比として評価した。正常コントロールとして、Matsudaらのデータ(2)のなかから18才から25才の男性のデータのみ9例を用いた。IQはWISC-RおよびWAIS-Rにて言語性評価(VIQ)、動作性評価(PIQ)、全検査評価(FIQ)を測定した。

結果

9名のDMD患者の脳血流量の小脳比は、前頭葉皮質で 0.764 ± 0.039 、側頭葉皮質で 0.799 ± 0.028 、頭頂葉皮質で 0.810 ± 0.049 、後頭葉皮質で 1.041 ± 0.043 であり、前頭葉皮質、側頭葉皮質、頭頂葉皮質で局所脳血流量が低下していた。正常コントロールでは前頭葉皮質で 0.913 ± 0.088 、側頭葉皮質で 0.840 ± 0.081 、頭頂葉皮質で 0.863 ± 0.089 、後頭葉皮質で $0.951 \pm$

0.166 であった。DMDでは正常コントロールと比較して前頭葉皮質の局所脳血流量が有意に低下しており ($P < 0.003$)、後頭葉皮質でやや増加していた ($P < 0.05$) (non-paired student t-test)。

前頭葉皮質の局所脳血流量をIQと対比させて検討した。PIQおよびFIQとはあまり関連がなかったが、VIQが低い方が局所脳血流量が少ない傾向があった。しかし $r = 0.586$ ($P = 0.0976$)で統計学的には有意差がでなかった(回帰分析—単回帰)。

考察および結論

DMDの知能障害には特徴があり、生来発語のないほどの知能低下を示す症例から全く知能障害を示さない症例まで幅広く分布している。またVIQがPIQを下回ることが多いとされている。CTやMRIなどの画像診断では大脳皮質の萎縮がしばしば認められることが報告されている。最近Itohらは大脳皮質 (prefrontal cortex) に過誤腫に似た多発性小結節を認めた症例を報告した(1)。今回の我々の研究でも前頭葉皮質の局所脳血流量が有意に低下しており、また症例数が少なく統計学上の有意差はでなかったが前頭葉皮質の局所脳血流量の低下とVIQの関連性を考えると、DMDの知能障害の原因を考えるうえで興味深いと考えられた。

参考文献

(1)Itoh K et al: Multifocal glial nodules in a case of Duchenne muscular dystrophy with severe mental retardation. *Neuropathology* 1999; 19, 322-327

(2)Matsuda H et al: Noninvasive measurements of regional cerebral blood flow using technetium-99m hexamethylpropylene amin oxime. *Eur j Nucl Med*, 1993;20:391-401

筋ジストロフィーにおける 血中アデノシンの検討 (第2報)

下山良二 河原仁志 矢野修一
国立療養所松江病院

【目的】アデノシンは心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド (ANP・BNP) とならんで慢性心不全に対する代償的な改善因子として作用している可能性がある。我々は平成11年度班会議において、Duchenne型筋ジストロフィー群と筋強直性ジストロフィー群において血中アデノシン濃度が左室駆出率 (LVEF) と有意な負の相関を示したことを報告し、アデノシンが筋ジストロフィーの心不全の評価に应用される可能性を示唆した。今回はさらに症例を増やし同一症例での心不全・呼吸不全の病態の変化によるアデノシンの変化も視野に入れ、検討を続けた。

【方法】平成11年度から12年度にわたり検討した症例は、Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) が26例 (2~36歳) で、5例は二回以上の測定を行った。Becker型筋ジストロフィー (BMD) が11例 (13~54歳) で、4例は二回以上の測定を行った。筋強直性ジストロフィー (MyD) が13例 (11~61歳) で、9例は二回以上の測定を行った。

血中アデノシン濃度を測定し、心エコーによる左室駆出率 (LVEF)、ANP、BNPその他の臨床データとの関連を検討した。

血漿中アデノシン濃度の基準値については、18-56歳の99人の健常人の検討から求められたもので12.0~49.9pmol/mlとの報告がある。

【結果】

①LVEFとアデノシンの関係：

DMD群においてアデノシンはLVEFとの間で有意な負の相関を認めた ($r=-0.458, p<0.02$)。しかしBMD群及びMyD群ではLVEFとの有意な相関は認められなかった。

②ANP、BNPとアデノシンの関係：

DMD群において、それぞれ常用対数で変換したANP、BNP両者に対し有意な正の相関を示した (ANP: $r=0.502, p<0.01$ BNP: $r=0.450, p<0.05$)。

③その他臨床データとの関連：

ホルター心電図から得られた平均心拍数・VPC数、夜間の酸素飽和度、何らかの呼吸管理の有無、について検討したがDMD、BMD、MyDいずれの群も有意な関連は見いだせなかった。

④経時的変化：LVEFが31%に低下しACE阻害剤、利尿剤が投与されている14歳のDMD症例では肺炎による入院時にANP 80pg/ml、BNP 146pg/ml、アデノシンは18.7pmol/mlであった。肺炎の治療の終了後ANP、BNPの上昇がみられたためジキタリスの投与が行われた。しかしその後

も、ANP 290pg/ml、BNP 320pg/mlと上昇しアデノシンも59.5pmol/mlまで上昇しβブロッカーの投与がなされた。

LVEFが17%に低下した54歳BMD症例は食欲不振を訴え胸水も合併しておりANP 290pg/ml、BNP 525pg/mlと高値を示しアデノシンは50.3pmol/mlであった。利尿剤の追加投与により症状の軽減をみとめ、ANP 99pg/ml、BNP 340pg/mlと減少しアデノシンも15.5pmol/mlと減少した。MyDでは心房粗動・除脈を合併する症例や気切人工呼吸を受け肺うっ血を来している症例でANP・BNPとアデノシンがともに増減する傾向がみられた。

【考察】アデノシンは虚血、低酸素下にて心筋から大量に放出され、また運動、β受容体刺激、心拍数増加などにより心筋の酸素需要が増大する時も産生が増加する。作用としては、冠血流増加作用、βアドレナリン受容体遮断作用、レニン-アンジオテンシン系抑制作用などを有すると報告されている。また虚血性・非虚血性慢性心不全症例において、末梢血中アデノシンレベルが、いずれにおいてもその重症度に応じて増加しているとの報告もある。

今回の検討ではアデノシンがDMDのLVEFおよび常用対数で変換したANP、BNPの値と相関することが示され、血中アデノシン濃度の測定がDMDの心不全の指標として有用であると思われる。

肺炎や心不全治療により、ANP、BNPとアデノシンがともに変動した例がみられたが、アデノシンが心不全症状の変動を正しく反映し、心不全の治療効果判定や予後の推定に有用であるかどうかを明らかにするには、さらに臨床経過とアデノシンの関連を検討していく必要があるものと思われる。

【結語】アデノシンはDMD群においてLVEFと有意な負の相関を示し、常用対数で変換したANP、BNPの値と有意な正の相関を示した。血中アデノシン濃度の測定がDMDの心不全の指標として有用であることが示唆された。

参考文献

- 1)久保野勝男ら、：Radioimmunoassayを用いた健常人における血中アデノシン濃度の測定に関する検討 臨床化学 1991;20:72-77
- 2)Funaya H, et al: Plasma adenosine levels increase in patients with chronic heart failure. Circulation 1997;95:1363-1365

筋ジストロフィー剖検例登録の現況と剖検輯報による筋ジストロフィー剖検例の集計ならびに肢帯型筋ジストロフィーの梗塞病変の病理学的検討

香川典子¹、櫻井雅英¹、清家愛子¹、
 和田美智子²、佐野壽昭²
 (1 徳島大学医療技術短期大学部、
 2 徳島大学医学部第一病理)

1.筋ジストロフィー剖検例登録の現況 本年度は9例が登録され (Duchenne 4, Becker 1, FCMD 1, Myotonic 3)、総数447例となった。

2.剖検輯報による筋ジストロフィー剖検例の集計

[目的]本邦での筋ジストロフィー剖検例を把握する目的で、剖検輯報に記載された筋ジストロフィー剖検例について集計解析した。[方法]日本病理学会編剖検輯報28輯(1985年)から37輯(1994年)に記載されている筋ジストロフィーを選び出し年別載例数を剖検登録票と比較、検討した。[結果]年別記載例数(表1)、病型別症例数(表2)を示す。[考察]重複掲載例数は少なく、輯報に載っていない例も多く、剖検登録の重要性が認識された。またMyotonic dystrophyは筋ジストロフィー施設以外での剖検が多いことが明らかとなった。

3.肢帯型筋ジストロフィーの梗塞病変の病理学的検討

[目的]我々はDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)剖検例における梗塞病変について病理組織学的に検討し、梗塞病変の頻度が低くなく、血栓性塞栓によることを報告した¹⁾。今回肢帯型筋ジストロフィー(以下LG)剖検例における梗塞病変について病理組織学的に検討した。[症例と方法]症例は

国立療養所徳島病院で剖検されたLG4例で、剖検記録と組織標本により梗塞病変の組織学的所見について調べた。[結果]4例中2例に脳梗塞を認めた。<症例1> 52歳、男性。49歳時に左片麻痺が見られ、脳梗塞と診断。歩行不能期間は25年。剖検では右中大脳動脈領域・橋に多発性梗塞巣と血管内腔の狭窄を認め、梗塞のない両肺にも血管内腔狭窄を認めた。<症例2> 35歳、男性。臨床症状はなかったが、剖検で左大脳に梗塞巣と同部の血管に血栓を認めた。さらに大脳の別の部位と右肺にも血栓を認めた。<症例3> 50歳、男性。梗塞巣はなかったが、右肺に血栓を認めた。<症例4> 29歳、男性。梗塞はなく、血栓や血管変化も認めなかった。なお、歩行不能期間は症例1が25年、症例2が11年、症例3が15年、症例4が1年であった。[考察] LG剖検例にも梗塞病変の認められる症例があり、梗塞部に血栓ないし血管内腔狭窄を認めた。また、梗塞のない臓器にも血管病変があることを明らかにした。これらの変化は歩行不能期間の長い症例で見いだされる傾向にあり、DMD同様、心筋変性によるうっ血性心不全に加えて長期臥床が循環血流の緩徐化をきたし血栓形成傾向にあると考えられた。しかしLGはDMD類似の臨床症状や経過を示すものまで含む多彩な病型であり、また今回の検索は4例と少ないため、今後症例を増やして本症における梗塞の機序や頻度について検討する必要がある。

[参考文献]

1) 和田美智子、香川典子、佐野壽昭、足立克仁. Duchenne型筋ジストロフィー剖検例における梗塞病変の病理組織学的検討. 神経内科. 50 (2) ; 168-176. 1999.

(表1) 年別筋ジストロフィー剖検例数

剖検年	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	合計
剖検輯報例数	44	36	52	54	45	41	50	60	47	60	489
登録票例数	17	13	18	12	22	11	11	15	8	15	142
重複掲載例数	7	4	6	8	8	4	6	9	6	2	60
全例数	54	45	64	58	59	48	55	66	49	73	571

(表2) 病型別症例数

病型	輯報	登録票	病型	輯報	登録票
Duchenne	152	78	Fukuyama type CMD	46	22
Female DMD	1	0	Ullrich type CMD	0	0
Becker	18	5	Congenital type, NOS	9	4
Emery-Dreifuss	2	2	Distal	0	0
Limb-girdle	15	6	Myotonic Dystrophy	160	21
malignant LG	1	0	Unclassified	73	1
FSH	3	1	その他	9	2

デュシェンヌ型筋ジストロフィーにおける赤血球膜ヘキサコサン酸と血液凝固線溶異常について

小池文彦
安徳恭演*1
酒井徹雄
田中 薫

国立療養所筑後病院 神経内科

(*1現 柳川リハビリテーション病院)

緒言

赤血球膜ヘキサコサン酸は副腎白質ジストロフィーなどペルオキシソーム病で異常高値を示し診断に用いられている。また最近、安徳らは赤血球膜ヘキサコサン酸が加齢や動脈硬化に関連しても増加することを報告¹⁾した。我々は過去当班会議において、デュシェンヌ型などの筋ジストロフィーにおいて加齢に伴う赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積の促進がみられることを報告してきた。今回の研究の目的は、最近デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)において血液凝固線溶異常が指摘されているが、その異常と赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積の間に関連があるかみることである。

方法

対象は当科入院中のDMD患者17名(年齢19.5±3.5歳)。

静脈血(〜パリン加)よりMawatariらの方法²⁾により白色の赤血球膜を作製し、Folchらの方法³⁾により総脂質を抽出した。総脂質からは、Antokuらの方法⁴⁾により総脂肪酸を抽出し、高速液体クロマトグラフィーにより極長鎖脂肪酸の分析を行った。ヘキサコサン酸蓄積の解析には、C26:0 (area%)を用いた。

また同時に採血した検体にて、APTT、PT、TT、fibrinogen、TAT、F1+2、ATIII、PIC、D-dimer、FDP、β-TG、PF4の血液凝固線溶系に関するマーカーを測定し、赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積との関連を調べた。

結果

赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積促進のみられる群(C26:0≥0.20%)が17名中12名あり、これらにおいて血液凝固線溶異常を呈するものが多い傾向がみられた。β-TGとTATを例にとって示す。β-TGではC26:0<0.20% (24.1~32.5ng/ml、平均27.9ng/ml)の群では異常なく、C26:0≥0.20%の群では12名中7名に異常

(19.5~704.6 ng/ml、平均147.35ng/ml)を認めた(p<0.05)。TATでは有意差を示さなかったが、C26:0<0.20%の群では5名中1名に異常(0.8~7.3 μg/l、平均2.4 μg/l)を認め、C26:0≥0.20%の群では12名中7名(0.7~60以上 μg/l、平均29.8 μg/l)に異常を認めた。

考察

我々は生体内の細胞膜の代表として赤血球膜を用いているが、加齢に伴う赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積促進は、過去にも報告したようにデュシェンヌ型以外の筋ジストロフィーにも認められ、非特異的な膜の老化現象とも考えられる。

今回、赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積促進のみられる群で血液凝固線溶異常を呈するものが多い傾向が認められた。副腎白質ジストロフィーにおいてはロレンツォのオイルなどの高級モノエン酸で治療するとヘキサコサン酸は下がるが血小板も減少し出血傾向を伴うことがある。これらのことを考えあわせるとヘキサコサン酸蓄積による二次的な膜機能異常が血液凝固線溶異常に関連している可能性がある。

結論

赤血球膜ヘキサコサン酸の蓄積と血液凝固線溶異常との間には、少なくともβ-TGでは関連が認められた。DMDではヘキサコサン酸蓄積による膜機能異常が血液凝固線溶異常に関連している可能性が示唆された。

参考文献

- 1)Antoku Y et al : Correlations of elevated levels of hexacosanate in erythromembranes with risk factors for atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 153(1): 169-173, 2000
- 2)Mawatari S et al: Erythrocyte membrane cation-stimulated ATPase activities in myotonic muscular dystrophy. *J Neurol Sci* 53: 23-28, 1982
- 3)Folch J et al : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226 : 497-509, 1957
- 4)Antoku Y et al : A comparison of erythrocytes, lymphocytes and blood plasma as samples in fatty acid analysis for the diagnosis of adrenoleukodystrophy. *J Neurol Sci* 94 : 193-200, 1989

Duchenne 型筋ジストロフィー症患者における
顎開閉筋機能の平衡性と顎顔面形態に関する研究

後藤勝政

国立療養所西別府病院神経内科

原 淳、上原美智也、今村暢良、名方俊介、中島昭彦
九州大学大学院歯学研究院口腔保健推進学講座

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー症 (DMD) 患者では四肢筋と同様に、咀嚼筋においても機能障害が見られる。そしてその顎開閉筋の機能低下および機能的不均衡が、ジストロフィー患者に特異的に見られる咬合異常の大きな原因の一つと考えられる。そこで本研究ではほぼ成長発育の終了したと考えられる DMD 患者の顎開閉筋すなわち側頭筋、咬筋および顎二腹筋前腹の機能的平衡性を評価し、顎顔面形態との関係を分析するとともに、健常者との比較を行った。

方法

歴 18 歳以上の DMD 患者 19 名 (平均年齢 20 歳 8 ヶ月、ADL 5-22) および良好な咬合を有する成人健常者 25 名 (平均年齢 22 歳 11 ヶ月) を対象とした。機能評価として最大噛みしめ時の側頭筋前部、咬筋、最大開口時の顎二腹筋のそれぞれ 10 秒間の表面筋電図 (EMG) 波形を用いた。分析区間は運動開始 2 秒後から 5 秒間とし、全波整流をした後積分値を算出した。さらに同区間を高速フーリエ変換して得られたスペクトラムを加算平均してその筋のパワースペクトラムを求め、そのスペクトラムの総パワー値を 100% と表す % パワースペクトラムを算出した。

これをもとに各周波数帯における閉顎筋の % パワー値を X 軸に、開顎筋のそれを Y 軸にプロットして、% パワースペクトラムリサージュ (PS リサージュ) を作成した。この PS リサージュ図形の軸の傾きとその面積を筋活動状態の平衡性の指標とした。図形軸の傾きが小さい場合は閉顎筋のピーク周波数帯が相対的に低周波に分布し、傾きが大きい場合は高周波に分布し、二つの筋の協調性を示す。一方、面積は両筋のスペクトラムの拡がりおよび主周波数帯域のずれを評価するものである。

形態分析に関しては側面頭部 X 線規格写真より、角度 34 項目、距離 13 項目の計測を行った。これらをもとに健常群と DMD 群の比較は Welch 検定を用い、DMD 群の EMG 分析結果と形態計測結果との相関を算出した。

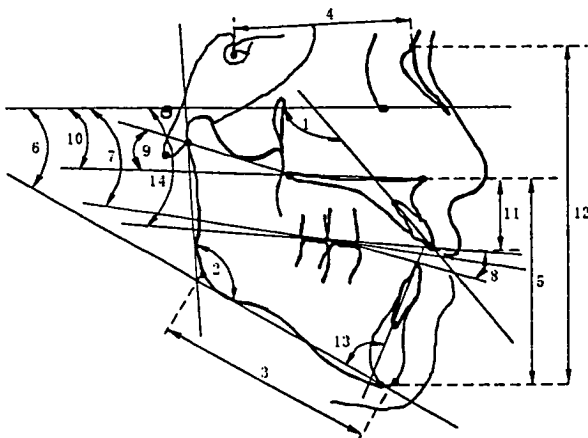


図1 有意差、有意相関の得られた形態計測項目
角度9項目 距離4項目

結果および考察

文中の数字は図 1 の計測項目と対応している。

健常群に比較して DMD 群は、閉顎筋のピーク周波数帯は開顎筋よりも相対的に低周波にシフトし、その分布にも偏りが見られる結果となった。これは開顎筋と比較して閉顎筋の機能がより障害された結果と考えられる。また、積分値では側頭筋で有意に小さい結果となったが、咬筋、顎二腹筋においては有意な差は見られなかった。これは咬筋における積分値が有意に低値を示すというこれまでの報告とは異なる結果となった。

形態においては上顎前歯の唇側傾斜(1)、下顎角(2)の開大および下顎骨体長(3/4)の増加が見られ、これらに伴って下顔面高(5)の増加、下顎下縁平面角(6)、咬合平面角(7)が開大し、開咬(8)が生じたものと考えられる。

相関分析の結果では、開顎筋に比べて閉顎筋のピーク周波数帯が低いものほど口蓋平面(9,10)は後部がより低いことを示しており、側頭筋に関しては上顎前歯の挺出(11)傾向、咬筋では前顔面高(12)が大きく、下顎前歯が舌側傾斜(13)している傾向を示した。一方、積分値では、顎開閉筋とも積分値が低いものほど上顎前歯が唇側傾斜(1)し、閉顎筋のそれが低いほど開咬(8)の程度が大きい傾向を示した。また側頭筋の積分値が低いものほど上顎咬合平面(14)が水平で、前顔面高(12)も大きく、咬筋のそれが低いほど下顔面高(5)が大きい傾向を示した。

これらの相関の結果より開顎筋と閉顎筋のバランスが口蓋平面に影響を与え、側頭筋の機能低下が上顎咬合平面角と、咬筋は下顔面高と密接に関係していることが示唆された。また舌と口腔周囲筋との機能的アンバランスが上顎前歯の唇側傾斜を引き起こすと考察する報告もあるが、顎開閉筋機能との関連性も示唆された。

また今回の横断資料では相関は見られなかったが、下顔面高の変化の最も大きな原因の一つと考えられる下顎角の開大は健常群との比較では明らかであり、咬筋の機能低下が下顎角の開大と大きく関与していると考えられる。

結論

咬筋の機能低下が下顎角の開大を、閉顎筋と開顎筋のアンバランスが口蓋平面の後部の方の下方移動を起こし、上顎咬合平面がより水平となり、開咬を招いたのではないかと考えられる。

参考文献

- 1) 秋元 義巳：長期観察を行った DMD 患者の咬合変化について、筋ジストロフィー症の遺伝、疫学、臨床開発に関する研究、昭和 62 年度研究報告書 271-275、1987
- 2) 木村 要：進行性筋ジストロフィー症患者における咬合形態と口腔機能との関連に関する累年の研究、筋ジストロフィー症の疫学、臨床および治療に関する研究、昭和 56 年度研究成果報告書 152-155、1981
- 3) 名方 俊介：EMG power spectrum Lissajous による顎開閉筋機能の平衡性の分析法、西日矯誌 36(1)11-15、1991

十二指腸潰瘍穿孔を生じた Duchenne 型 筋ジストロフィーの 1 例

分担研究者 後藤勝政

共同研究者 杉原里恵、永富文子

国立療養所西別府病院神経内科

緒言

筋ジストロフィー患者では呼吸器系や循環器系の症状以外にもさまざまな合併症が認められる。消化器系の合併症としては、上腸間膜動脈症候群が原因とされる急性胃拡張がよく知られているが、そのほか、口内炎、胃部不快や腹部不快、便秘、下痢、腹部膨満などがある。今回われわれは十二指腸潰瘍穿孔による高度の腹痛を生じた Duchenne 型筋ジストロフィーの 1 例を経験した。筋ジストロフィーにおける腹痛の鑑別のひとつとして重要と考えられた。

症例

患者は 19 歳、男性、DMD。昭和 56 年 1 月 19 日生まれ。平成 2 年 8 月から当院の筋ジス病棟に入院している。平成 3 年 5 月から手動車椅子使用。平成 10 年 3 月から電動車椅子を使用していた。心不全あるいは呼吸不全の症状はなく、血液ガスも正常であった。平成 11 年 9 月 27 日に急性胃拡張を起こし、1 週間程点滴をうけたことがある。しかし、その後は腹痛などの訴えはなく元気に過ごしていた。

平成 12 年 4 月 9 日（日曜）の昼頃から突然、右下腹部の疼痛を訴え、痛みが激しかったため、鎮痛剤（ペントゾシン）の注射投与を行ったが、数時間しか効果がなかった。

平成 12 年 4 月 9 日の夕方の現症では、体温 38.3℃、血圧 107/64 mmHg。脈拍 112/分。苦悶様顔貌で顔面は蒼白。右下腹部に強い圧痛と自発痛を認め、上腹部にも圧痛を認めたが、筋性防御はなかった。嘔気・嘔吐もなかった。

検査成績

検尿は蛋白（±）、糖（-）、潜血（-）、ケトン体（2±）。末梢血は白血球が 9300 と軽度上昇し、ヘモグロビン 11.3 g/dl と軽度の貧血を認めたが、CRP 0.12 mg/dl と正常で、血液生化学検査でも特に異常を認めなかった。

しかし、翌日の検査では WBC 17100、CRP 18.33 mg/dl と著明に上昇し、腹痛も改善を認めなかったため、急性虫垂炎を最も疑い、近くの S 病院の外科へ緊急入院した。

転院時、急性虫垂炎として緊急手術を行う予定であったが、腹部 CT にて腹水の貯留と free air を認めた。そのため、上部消化管内視鏡を行ったところ、十二指腸に穿孔所見を認め、十二指腸潰瘍穿孔性腹膜炎と診断した。

そして、緊急に手術が行われた。手術は潰瘍穿孔部閉鎖、大網充填術、胃空腸吻合術を施行された。術後経過は良好で、4 月 28 日当院に再入院し、療養を再開した。全身状態はほぼ以前の状態に回復し、元気に過ごしている。平成 12 年 6 月 12 日の上部消化管内視鏡検査の所見では軽度の癒痕を認めるのみであった。

考察

筋ジストロフィー患者では様々な原因による腹痛が認められる。便秘や下痢、鼓腸などは日常よくみられる。上腸間膜動脈症候群とされる急性胃拡張もよく知られている。そのほか、尿路結石、膀胱炎、尿路感染症、腎梗塞などがあげられる。また、今回、本例の原因あるいは鑑別として重要であった急性虫垂炎、胃・十二指腸潰瘍およびその穿孔といった急性腹症がある。

結論

十二指腸潰瘍穿孔による高度の腹痛をきたした Duchenne 型筋ジストロフィーの 1 例を報告した。

筋ジストロフィーでは様々な原因による腹痛がみられる。中には急性胃拡張など重篤なものがあり、注意が必要であるが、十二指腸潰瘍穿孔による可能性も鑑別診断にあげる必要があり、外科との連携が大切である。

参考文献

- 1) 姜 進：種々の合併症と対策。筋ジストロフィー在宅療養の手引き 改訂版。厚生省精神・神経研究委託費筋ジストロフィーの療養と看護に関する臨床的、社会学的研究班 在宅療養・看護分科会編 118-126, 1996.

DMDにおける心機能とQT dispersion (QTd) との関係に関する研究

分担研究者 後藤勝政

共同研究者 天田浩司、杉原里恵、永富文子、
安部隆子

国立療養所西別府病院

緒言

QT dispersion (QTd) は心筋再分極相の不均一性の指標とされ、不整脈との関連が報告されており、突然死を予測する因子として有用と考えられている。しかし、QTd と心機能の関連について検討した報告は少ない。Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) では病態の進行に伴う心筋障害により拡張型心筋症様病態を呈し、心不全を生じる。そこで、今回、DMDにおける QTd と心機能との関連について検討した。

方法

対象：当院の入院中のDMD患者 23名。

検査項目

12誘導心電図；QTdを計測。

心エコー；①Mモード長軸 Pombo 法にて Ejection Fraction (EF) を計測。②短軸 乳頭筋レベルにて左室を6等分し、壁運動を0～5までの点数で評価し、wall motion index を算出。

採血；BNP, ANP, CK。胸部X線；CTRを計測。24時間ホルター心電図；総VPC数、Lown 分類。機能的障害度を1～8のstageに分類。

結果

1) 機能的障害度分類で、stage 6は1名、stage 7は12名、stage 8は10名であった。stage 7とstage 8では年齢 ($p < 0.05$)、CK値 ($p < 0.01$) EF ($p < 0.01$) total wall motion index ($p < 0.05$) において有意な差が認められた。

2) VPC数が1日100個未満の群と100個以上の群とに分けて検討すると、100個以上の群では100個未満の群に比し、有意にEFは低下し ($P < 0.0001$)、有意にQTdは増大した ($P < 0.001$)。

3) VPCをLown gradeに分類し、EFとQTdとの関連について検討を行った。Lown grade 0に比し、EFはLown 4 A ($p < 0.05$)、Lown 4 B ($p < 0.01$) が有意に低下し、QTdはLown 4 B ($p < 0.05$) が有意に増大していた。

4) ①ANPとEFとの関係、②ANPとQTdとの関係をグラフにプロットした。①ANPの上昇に伴いEFは低下し ($y = -0.082x + 45.4$, $r = -0.458$, p

< 0.05)、②ANPの上昇に伴いQTdは増大した ($y = 0.264x + 53.2$, $r = 0.651$, $p < 0.001$)。

5) ①BNPとEFとの関係、②BNPとQTdとの関係をグラフにプロットした。①BNPの上昇に伴いEFは低下し ($y = -0.061x + 44.6$, $r = -0.491$, $p < 0.05$)、②BNPの上昇に伴いQTdは増大した ($y = 0.182x + 56.6$, $r = 0.612$, $p < 0.01$)。

6) EFとQTdとの関係をグラフにプロットした。EFとQTdとのあいだには有意な負の相関が認められた ($y = -1.82x + 141$, $r = -0.76$, $p < 0.001$)。

考察

QTdと不整脈、突然死との関連について報告は多く、またDMDにおけるQTdと不整脈との関連についての報告も認められる。しかし、QTdと心不全との関連についてはいまだ一致した見解はない。今回の検討においてQTdはANP、BNP、EF等心不全の指標との間に相関が得られた。これはDMDが進行性の筋変性疾患であり、進行性に心負荷の増加、心機能の低下が起こっていることによると考えられる。すなわち、QTdの増大が心筋の変性の程度を表現しており、これが不整脈発生の基盤となり、心機能低下の原因となると推測される。

今後の課題として各DMD患者において、経時的にQTdおよび、これらの指標の変化を観察することが必要と考えられる。

結論

DMD患者においてQT dispersion は心機能の指標であるEF, ANP, BNPと有意な相関を示した。以上より、DMDにおいてQTdは心機能低下の指標として有用であることが示唆された。

参考文献

- 1) Barr CS, Naas A, et al: QT dispersion and sudden unexpected death in chronic heart failure. Lancet 334:327-29, 1994.
- 2) Buja G, Miorelli M, et al: Comparison of QT dispersion in hypertrophic cardiomyopathy between patients with and without ventricular arrhythmias and sudden death. Am J Cardiol 72:973-976, 1993.
- 3) Ishikawa Y, Bach JR, et al: Cardioprotection for Duchenne muscular dystrophy. Am Heart J 137:895-902, 1999.

Duchenne 型筋ジストロフィーの心機能障害の指標

分担研究者 田村拓久 (国立療養所川棚病院)
共同研究者 後藤公文 松尾秀徳 澁谷統壽
(国立療養所川棚病院)
谷田部可奈 重山俊喜 川村 潤
石原傳幸 (国立療養所東埼玉病院)

キーワード

Duchenne 型筋ジストロフィー BNP
BNP/ANP 比 左室駆出率 心胸郭比

【はじめに】

近年、Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) では呼吸不全の適切な管理で延命可能となり、心不全による死亡が増加している。しかし、DMD では胸郭変形により心胸郭比の測定や心エコー検査が困難なこともあり、心機能判定に注意が必要である。そこで、DMD の心機能障害を早期に簡便に発見することを目的として従来の心不全の指標を検証した。

【対象】

36 例の男性 DMD で、年齢は 21.2 ± 4.4 歳。内 15 例が死亡しており、死亡年齢は 19.3 ± 4.0 歳、死亡原因は、心不全 12 例、心肺不全 1 例、突然死 2 例であった。

【方法】

心エコー法による左室指標 (Pombo 法による駆出率 (EF)、拡張終期径、心筋重量) と胸部 X 線による心胸郭比 (CTR) と脳性および心房性ナトリウム利尿ペプチド (BNP、ANP) との関係を検査した。また、心不全症状出現までの CTR の推移を調べ、さらに CTR により BNP と EF を予測した。

【結果】

①心エコーでの左室指標とナトリウム利尿ペプチドの関係：29 例が対象で、年齢は 21.5 ± 4.5 歳。18 例が何らかの心不全治療を行っており、14 例が人工呼吸器を使用していた。常用対数で変換した BNP 値 ($\log_{10} \text{BNP}$) と EF は、 $\log_{10} \text{BNP} = 2.95 - 0.04 \cdot \text{EF}$ の関係があった ($r = -0.777, p < 0.0001$)。また、 $\log_{10} \text{BNP}$ と左室拡張終期径は $r = 0.759, p < 0.0001$ 、左室心筋量は $r = 0.511, p = 0.0254$ と相関を認めた。 $\log_{10} \text{BNP}$ と BNP/ANP 比は $r = 0.627, p = 0.0003$ と正相関し、BNP が 20 pg/ml 以上で BNP/ANP 比が 1 以上の症例は全て EF40% 未満であった。EF40% 未満で BNP 正常例が 4 例存在したが、3 例は BNP/ANP 比が 1 以上であり、残る 1 例は僧帽弁 E 波からの減速時間 (DT) が 580 msec で僧

帽弁閉鎖不全を認めた。また、BNP/ANP 比が 1] 未満で BNP が 20 pg/ml 以上を示した 1 例は、EF40% 以上であったが DT は 110 msec であった。

②CTR と BNP の関係：22 例 52 回の測定により $\text{CTR} = 8.95 \cdot \log_{10} \text{BNP} + 38.8$ の関係を認めた ($r = 0.872, p < 0.0001$)。

③CTR の推移：心不全症状が出現した 17 例が対象で、症状出現年齢は 19.8 ± 4.5 歳。症状の内容は、倦怠感 1 例、呼吸困難等の胸部症状 11 例、食欲不振等の腹部症状 3 例、浮腫 2 例であった。症状出現後 0-42 日 (平均 9.7 ± 12.9 日) の CTR は、 $60.8 \pm 3.6\%$ ($n = 15$) であった。症状出現前 160.8 ± 25.2 日の CTR は $57.0 \pm 4.2\%$ ($n = 9$)、前 267.5 ± 22.8 日は $54.7 \pm 2.6\%$ ($n = 4$)、前 359.8 ± 28.8 日は $51.9 \pm 2.8\%$ ($n = 6$) であった。

④CTR、BNP と EF の関係：上記の関係式より、BNP が 20 pg/ml の時、CTR は 50.5% で EF が 42%、心不全症状が出現した CTR が 60.8% の時点では、BNP は 287 pg/ml、EF が 13% であった。

【考察】

ナトリウム利尿ペプチドが心機能を反映することは知られており、特に BNP は左室収縮機能のみならず拡張機能とも関係がある。しかし、BNP は循環動態が安定している患者では正常値を示すこともあり、今回の検討でも 4 例が EF40% 未満であるにもかかわらず BNP 値は正常であった。一方、BNP/ANP 比は呼吸困難が心疾患由来か呼吸器疾患由来の鑑別¹⁾や肺高血圧の有無の検索²⁾に役立つ。そこで、EF 低下かつ BNP 正常例を EF、BNP とともに正常例と鑑別するために BNP 値と BNP/ANP 比を用いたところ 3 例の心機能障害を正確に判定できた。残る 1 例は僧帽弁閉鎖不全を有し聴診にて鑑別可能と考えた。今後、CTR や心エコーによる心機能判定が困難な症例でも BNP と BNP/ANP 比を用いることで DMD の心機能障害を外来でもより簡便にかつ正確に判定可能である。

【まとめ】

BNP 値と BNP/ANP 比により DMD の心機能障害は判定可能である。

【文献】

- 1) Davis M, et al : Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnea. Lancet 343 : 440-44, 1994.
- 2) Nagaya N, et al : Secretion patterns of brain natriuretic peptide and atrial natriuretic peptide in patients with or without pulmonary hypertension complicating atrial septal defect. Am Heart J 136(2) : 297-301, 1998.

mdx マウスの神経筋伝達に及ぼすプレドニゾン長期投与の作用

分担研究者 田村拓久
共同研究者 福留隆泰、渋谷統壽
国立療養所川棚病院

緒言

プレドニゾン (PSL) は Duchenne 型進行性筋ジストロフィー (DMD) に対し、進行を抑制し筋力を維持する効果があるとされているが、その作用機序は確定されていない。Hudecki らは mdx マウスに 8 週間、PSL2mg/kg/day 投与して運動能力の改善を報告している。また、Jacobs らは rat に 8 日間、PSL5mg/kg/day 投与して運動による筋障害の防止を報告している。われわれは昨年度の本学会で、PSL の急性作用として少量投与 (1mg/L) は神経筋伝達を促進するが、大量投与 (20mg/L) は抑制することを報告した。

本研究は PSL の長期間投与が mdx マウスの神経筋伝達に及ぼす作用を検討することを目的とした。

方法

生後 5 週齢の mdx マウス (n=3) に PSL0.2mg を 3 回/週 (約 5mg/kg/day に相当) 背部皮下に 30 週間注射した。対照群 (n=2) には生理食塩水 0.2ml を注射した。投与終了後、横隔膜神経筋標本を作製し微小電極法を用いて MEPP と EPP を記録した。また、同様の実験を SCN マウスで行い比較した。

結果

mdx マウスの生食投与群で MEPP 振幅は 0.92 ± 0.05 mV (n=36)、quantal content (m) は 54.6 ± 5.0 (n=19) であった。PSL 投与群では MEPP 振幅は 1.02 ± 0.08 mV (n=41)、 m は 43.9 ± 5.1 (n=23) であったが両群間に有意差はなかった。

SCN マウスの生食投与群で MEPP 振幅は 1.08 ± 0.07 mV (n=32)、 m は 39.5 ± 5.6 (n=21) であった。PSL 投与群では MEPP 振幅は 0.85 ± 0.02 mV (n=40)、 m は 31.5 ± 1.4 (n=23) であり、MEPP 振幅の低下は有意 ($p < 0.001$) であった。SCN マウス (生食投与群) と mdx マウス (生食投与群) を比べてみると MEPP 振幅の有意な低下 ($p < 0.05$) と m の有意な増加 ($p < 0.01$) を認めた。SCN マウス (生食投与群) と mdx マウス (PSL 投与群) と比べても同様の変化を認めたが有意差はなかった。

考察

mdx マウスではジストロフィン欠損が原因で運動終板が変性し MEPP 振幅は低下するが、これによる神経筋伝達障害を補うために m が増加し神経筋伝達の安全閾は維持されると報告されている。本研究でも生食投与群で SCN マウスと mdx マウスを比較すると同様の有意な変化を認めた。

一方、SCN マウスの生食投与群と mdx マウスの PSL 投与群の比較では、MEPP 振幅低下と m の増加を認めたが

有意差はなかった。このことは mdx マウスで生じる運動終板の変性を PSL が抑制する可能性を示している。神経筋伝達の安全閾 (f) は、T を筋線維収縮が生じる静止膜電位閾値として下記の式で表すことができる。

$$f = (\text{MEPP amplitude} \times m) / (\text{RMP} - T)$$

(RMP-T) は SCN マウスと mdx マウスで同値と仮定すると、SCN マウスの f は PSL により約 38% 低下し mdx マウスでは約 11% 低下している。 m の低下の割合は SCM マウスで約 21%、mdx マウスで約 20% と差のないことから、SCN マウスにおける f の低下は MEPP 振幅低下の影響が大きいと考えられる。

正常ラットに PSL0.4mg または 20mg を 30 日間投与すると運動終板の構造が破壊されることが示されている。運動終板が破壊されると MEPP 振幅は低下するが、破壊の程度が SCN マウスで大きく mdx マウスで小さいことが f 低下の割合の差になっていると考えられる。

mdx マウスでは正常マウスに比べて f はむしろ増加することが示されており、本研究でも約 18% の増加を認めた。mdx マウスに PSL を投与すると f は約 20% 低下することから、神経筋伝達に対する作用のみでは PSL が筋ジストロフィーの進行抑制や筋力維持に有効とは考え難い。しかし、PSL はジストロフィン欠損による運動終板の変性を抑制する可能性があることから運動終板以外の筋組織における変性抑制作用も期待され、これは DMD に対し有用な効果を発現するであろう。

結論

PSL は長期投与により mdx マウスや SCN マウスの神経筋伝達の安全閾を低下させた。安全閾の低下の割合は SCN マウスで大きく、これは PSL による運動終板の破壊が SCN マウスで強いことが原因と考えられた。mdx マウスでは SCN マウスに比べて MEPP 振幅が有意に低下し m が有意に増加していたが、mdx マウスに PSL を投与するとその変化が抑制された。これはジストロフィン欠損による運動終板の変性を PSL が抑制する可能性を示唆した。この変性抑制作用が運動終板以外の筋組織でも生ずると仮定した場合、DMD に対し効果を発現すると考えられた。

参考文献

1. Hudecki MS. Et al. Strength and endurance in the therapeutic evaluation of prednisolone-treated mdx mice. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 79:45-60, 1993
2. Jacobs SCJM. Et al. Prednisone can protect against exercise-induced muscle damage. J Neurol 243:410-416, 1996
3. Nagel A. et al. Neuromuscular transmission in the mdx mouse. Muscle Nerve 13:742-749, 1990
4. 佐藤 聡ら：実験的重症筋無力症ラット及び正常ラット運動終板に対するステロイドの影響。臨床神経 25:990-1000, 1985

胃電図を用いた進行性筋ジストロフィー患者の胃運動機能の評価

Application of electrogastrogram to evaluate gastric function in patients with progressive muscular dystrophy.

班員 寺本仁郎 (国立療養所再春荘病院内科)
共同研究者 大林光念、内野誠 (熊本大学神経内科)
安東由喜雄 (熊本大学臨床検査医学)
内田友二、梶原瑞恵、今村重洋
(国立療養所再春荘病院神経内科)

【緒言】 進行性筋ジストロフィー (PMD) 患者においては、発症後比較的早期より嘔気・嘔吐、胃部不快、腹部膨満などの消化器症状を認めるが、これらの出現メカニズムについては依然不明な点も多く、特にこれらの患者における胃の平滑筋運動の機能を客観的に評価した報告は、これまでほとんどない。

胃の平滑筋運動を電気生理学的に評価する一つの方法として古くから胃電図が用いられてきたが¹⁾、近年の医療機器の発達に伴い、この検査法の精度もより高まり、消化器症状を呈する患者の胃平滑筋の運動機能を客観的に評価しうる有意義な検査法として改めて注目されてきている²⁾³⁾⁴⁾。

【目的】 PMD 患者に認められる嘔気・嘔吐、胃部不快、腹部膨満などの消化器症状の出現メカニズムを明らかにし、これらに対する適切な治療法を考案するため、本疾患患者における胃平滑筋の運動機能を、胃電図を用い電気生理学的に評価する。

【対象】 PMD 患者 15 例 (Duchenne 型 7 例、Becker 型 8 例、平均年齢 42.3 ± 15.3 歳)、および消化器症状や自律神経障害を認めない健常者 8 例 (Duchenne 型 7 例、Becker 型 8 例、平均年齢 42.3 ± 15.3 歳)。

【方法】

(1) 胃電図の記録

十分なインフォームドコンセントの後、上記の各々の被験者にポータブル型胃電図記録計 (ニプロ胃電計) を装着し、胃平滑筋の電気活動を経皮的に記録した。なお食事は、全例午前 11 時 30 分からの 15 分間で 360 Cal のビスケット、および 300ml の水を摂取させるよう統一した。

(2) 胃電図の解析

胃電図の周波数は、< 2.4 cpm: brady gastria、2.4–3.6 cpm: normal gastria、> 3.6 cpm: tachygastric の 3 つの成分に大別されることから、各被験者における食前、食事中 (食事開始後 7 分)、食後各時点での平

均周波数、および上記 3 大周波数成分の出現頻度の変化を調べるとともに、食事開始後平均周波数最大となるまでの時間を算定し、PMD 患者群と健常者群との間で比較検討した。

【結果】

- (1) PMD 患者 15 例中 8 例 (Duchenne 型患者 7 例中 5 例、Becker 型患者 8 例中 3 例) において、胃電図上健常者に比し有意な食前の平均周波数低下を認めた。
- (2) PMD 患者の罹病期間と平均周波数との間に有意な相関は認めなかった。
- (3) Duchenne 型患者、Becker 型患者ともに、健常者同様食前、食事中 (食事開始後 7 分)、食後のいずれの時点においても胃電図の 3 大周波数成分のうち normal gastria の比率が最も高かったが、食事開始から平均周波数が最大となるまでの時間は、Duchenne 型、Becker 型患者群で健常者群の平均に比し有意に遅延していた。

【結論】

PMD 患者においては、食前、および食事中の胃平滑筋収縮のペースとなる電気活動が低下しており、この異常が本症で認められる嘔気・嘔吐、胃部不快、腹部膨満などの消化器症状の原因となりうる可能性が示唆された。今後は、これらの消化器症状を訴える PMD 患者に対し、各々の胃電図データをもとに、消化機能賦活薬投与のタイミングや食事の摂取方法の工夫を行い、患者の苦痛を少しでも取り除く努力を行う必要があると考えられた。

【参考文献】

1. Alvarez WC. The electrogastrography and what it shows. JAMA 78: 1116-1118, 1922
2. Smout AJ, van der Schee EJ, and Grashuis JL. What is measured in electrogastrography? Dig. Dis. Sci. 25: 179-187, 1980
3. Abell TL and Malagelada JR. Electrogastrography. Dig. Dis. Sci. 33: 982-992, 1980
4. Chen JD and Mccallum RW. Gastric slow wave abnormalities in patients with gastroparesis. Am. J. Gastroenterol. 87: 477-482, 1992

DMD患者の尿路系障害

班 員 隈本 健司
共同研究者 大庭 健一、塩屋 敬一
国立療養所宮崎東病院

緒言

デュシャンヌ型筋ジストロフィー(以下DMD)では骨格筋の著しい筋力低下に加え、心臓や肺の機能低下をきたす。その一方で外眼筋や括約筋はしばしば機能が保存されている。機能低下の程度が筋によってなぜ差があるのかは明らかではない。

今回、合併症としては頻度が少ない排尿機能障害について検討し、DMDで比較的長く保持されている身体機能の一つが破綻を起こす要因について考察した。

対象と方法

最近5年間に当院の筋ジス病棟に入院したDMD患者15例を対象とした。平成7年10月から平成12年9月までの期間で、尿路系の障害(排尿困難、尿失禁、尿閉、残尿、反復性尿路感染、膀胱尿管逆流)の出現の有無や尿道カテーテルの使用について診療録を調査し、臨床経過を比較した。

結果

対象となったDMD患者の平均年齢は19.8歳で、5年間に2例の死亡があった。NIPPVが9例で実施されていた。尿路系の障害をおこした症例は1例で急性の尿閉であった。この他出血性膀胱炎を2回おこした症例が1例、誤嚥や喀痰による窒息で状態が悪化し、全身管理の一つとしてカテーテルによる排尿管理を行ったのが2例であった。慢性の尿失禁や反復性尿路感染の症例はなかった。

症例

尿閉をおこした症例は現在20歳で、エクソン44の欠失が確認されている。8歳で歩行不能となり、15歳でNIPPVが導入され、17歳で24時間のNIPPVとなった。17歳時に呼吸器感染に伴い呼吸状態が悪化、その際急性の尿閉と精神症状が出現した。状態の改善とともに自律排尿が回復し、現在特別な膀胱機能障害を残していない。精神症状はその後そううつ病の診断を受けた。尿閉をおこす可能性のある抗精神薬は尿閉をきたした時点では使用されていなかった。尿閉は1回のみであったが、腹部膨満や便秘などの消化器系の症状をその後反復して認めている。

考察

排尿中枢は、大脳皮質、橋および、腰仙髄にあり、平滑筋である排尿筋と内尿道括約筋、横紋筋である外尿道括約筋と腹筋が排尿に参与する。ジストロフィンはこの筋にも存在している。

DMD患者が排尿障害を起こすハイリスク因子として、ジストロフィン欠失に伴う直接の筋障害、側弯による神経障害、側弯の手術合併症、長期臥床、抗精神薬などの薬剤、精神障害によるものが考えられる。しかし、DMD患者の尿路系の障害の報告は少なく、当院の経験も1例のみで膀胱機能障害を残すことなく回復したことから、筋の変性による直接の障害は考えにくい症例であった。

Caressら¹⁾は、尿閉1例、尿失禁5例、排尿困難1例をDMD患者で経験し、電気生理学的な検討から、膀胱の myopathic な変化は少なく、排尿をコントロールする神経の異常によるものが多いと報告した。精神症状が出現している場合にはこうした症状が出やすくなり、また、側弯とその手術合併症の影響を協調している。

DMDでは、機能低下が目立つのはある程度の筋力を要する筋で、機能低下が目立たないのは小さな力で作用する筋と、臨床的に分けることができる。体の変形や一般状態の悪化は、筋力を必要とし機能低下が目立つ筋を原因として起こる。変形や状態の悪化が、身体をコントロールする神経の機能障害をもたらす、身体の恒常性に影響を与えると考えられる。DMDで十分に機能保持されている排尿機能も、状態の悪化や変形、精神症状の影響などから二次的に機能障害が出現すると考えられた。

結論

DMD患者の排尿障害は少なく、まれに認められた場合は、膀胱や括約筋の直接の障害よりも上位の神経のコントロールの障害が推測された。今後筋ジス患者の管理が進み、ライフスパンが伸びた場合、新しい形での尿路系の問題が出現する可能性も考えられるが、排尿機能はDMDではよく保存された機能の一つであり、その異常の出現は他の要因によると考えられた。

参考文献

- 1) Caress J B et al. Muscle & Nerve 19:819-822 1996.

筋ジストロフィー患者の皮膚組織におけるジストロフィン関連蛋白の発現

園田至人¹⁾, 中江めぐみ¹⁾, 宇都 正¹⁾, 児玉知子¹⁾, 福永秀敏¹⁾, 新山尚仁²⁾, 樋口逸郎²⁾

¹⁾ 国立療養所南九州病院 ²⁾ 鹿児島大学医学部第三内科

【緒言】

ジストロフィン骨格筋のみならず平滑筋においても発現が認められる。皮膚平滑筋組織である立毛筋のジストロフィン染色にて、筋生検同様に DMD/BMD の診断が可能であることを平成 11 年度の当研究班において報告した。今回我々は、皮膚生検によるジストロフィン関連蛋白の発現を免疫組織化学的に検討し、サルコグリカノパチー診断の可能性を検討した。また、皮膚生検による保因者診断の可能性も加えて検討した。

【方法】

臨床症状、遺伝子診断や筋生検などにて診断された DMD 5 例, BMD 1 例, 肢体型筋ジストロフィー 5 例, Kugelberg-Welander 病 2 例, 脊髄性進行性筋萎縮症 1 例の上腕または前腕から得られた皮膚組織を生検直後にイソペンタンを用いて急速凍結し液体窒素内に保存。その後、クリオスタットで 10 μ m にカットし連続切片を作製した。また、ウイルス性筋炎ならびに横紋筋融解壊死が疑われ筋生検、皮膚生検ともに所見を認めなかった各 1 例を正常コントロールとして用いた。さらに、筋ジスが疑われた息子と軽度の筋力低下を認める母親の皮膚生検も行った。標本作製後を、H.E 染色とアクチン、ジストロフィン (C 末, N 末, Rod) ならびにジストロフィン関連蛋白である α -dystroglycan (α -DG), β -dystroglycan (β -DG), α -sarcoglycan (α -SG), β -sarcoglycan (β -SG), γ -sarcoglycan (γ -SG), δ -sarcoglycan (δ -SG) に対する抗体を用い免疫染色を行った。

【結果】

立毛筋のジストロフィン染色は、DMD で C 末陽性, N 末・Rod 陰性。BMD で C 末・N 末陽性, Rod 淡く陽性。その他の疾患は、C 末・N 末・Rod 全て陽性であった。

親子例では、息子は C 末淡く陽性, N 末陰性, Rod 淡く陽性で BMD と考えられた。母親はモザイクパターンを示し保因者と考えら

れた。

立毛筋のジストロフィン関連蛋白の免疫染色は、正常コントロールにおいて、 α -DG・ β -DG・ α -SG・ β -SG・ γ -SG・ δ -SG 全て陽性であった。肢体型筋ジストロフィー 5 例のうち 3 例に α -SG 発現低下を認めた。

【考察】

進行性筋ジストロフィーの立毛筋におけるジストロフィン染色に関しては、A. Marbini らが報告しているが、ジストロフィン関連蛋白の発現を検討した報告はない。また、立毛筋以外の平滑筋組織において、 α -SG は骨格筋に特異的で平滑筋には発現していないとする報告や、平滑筋では α -SG が ϵ -SG に置換されているとする報告がある。しかし、今回我々の研究で立毛筋は骨格筋同様に α -DG・ β -DG・ α -SG・ β -SG・ γ -SG・ δ -SG の全ての発現を認めた。さらに、肢体型筋ジストロフィー 5 例のうち 3 例に α -SG 発現低下を認め、これら 3 例がサルコグリカノパチーである可能性が示唆された。今後、遺伝子診断による確認が必要である。

また、皮膚生検により息子が BMD, 母親が保因者と考えられる親子例を経験した。母親の立毛筋において、ジストロフィンが発現している平滑筋細胞と発現していない平滑筋細胞とが混在するモザイクパターンを示したことは、保因者の骨格筋と同様の所見である。本例が保因者であることを遺伝子診断で確認できれば、今後皮膚生検は簡便で有用な保因者診断の検査方法と考えられる。

【結論】

- ・皮膚生検は、筋生検と同様にサルコグリカノパチーの診断に有用と考えられた。
- ・皮膚生検による保因者診断の可能性が示唆された。

【参考文献】

1. Marbini A. et al: Dystrophin expression in skin biopsy Immunohistochemical localisation of striated muscle type dystropin. *J. Neurol. Sci.*, 129; 29, 1995.
2. Roberds S. et al: Missense mutation in the adhalin gene linked to autosomal recessive muscular dystrophy. *Cell* 78; 625, 1994
3. Straub V. et al: epsilon-sarcoglycan replaces alpha-sarcoglycan in smooth muscle to form a unique dystrophin-glycoprotein complex. *J Biol Chem* 274; 27989, 1999

Ullrich 型先天性筋ジストロフィーの病因は VI 型コラーゲン (collagen VI) の完全欠損である

源河圭一郎 (国立療養所沖縄病院)

樋口逸郎 (鹿児島大学第 3 内科)

末原雅人 (国立療養所沖縄病院)

Ullrich 型先天性筋ジストロフィー (Ullrich 病) は近位関節の拘縮と遠位関節の過進展を特徴とする疾患であるが、その病因はこれまで不明であった。今回我々は沖縄病院に入院中の 2 症例において本疾患の病因と考えられる蛋白欠損を発見したので報告する。

症例は 20 歳と 21 歳の男で両患者とも孤発例であり両親には異常を認めない。臨床症状は極めて類似しており、全身性の筋萎縮、筋力低下を認め、本症に特徴的な近位関節の拘縮と遠位関節の過進展、脊柱変形を認める。知能および感覚は正常で血清 CK も正常であった。経過は進行性で呼吸不全のためそれぞれ 17 歳と 18 歳時に気管切開施行。上腕二頭筋の筋生検所見は結合織の増殖、筋線維の大小不同、変性壊死線維など dystrophic な変化を認めた。我々は細胞外マトリックスの蛋白異常の存在を推定し collagen III, IV, VI, VII を含む各種モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に検討を行った。

その結果、collagen IV は Ullrich 病の 2 症例とも他の神経筋疾患とともに陽性に染色された。collagen VI は control や肢帯型筋ジストロフィーでは基底膜周辺および結合織が染色され、Duchenne 型や Becker 型では結合織の増殖に伴い

collagen VI も増強していたが、Ullrich 病においては結合織の増殖が著明であるにもかかわらず、collagen VI の発現が完全に欠損していることが明らかになった。collagen VI の完全欠損は骨格筋のみならず生検皮膚においても認められた。他の疾患においては collagen VI の異常は認められず、collagen VI の完全欠損は本症に特異的な病理所見であった。

我々は Ullrich 病の臨床的特徴から、細胞外マトリックスの何らかの蛋白異常の存在を推定し検討した結果、本疾患の 2 症例において本症特異的に collagen VI の完全欠損を認めた。collagen VI の完全欠損は骨格筋だけでなく皮膚にも認められ、その異常は全身に及ぶ可能性が高いと思われる。collagen VI の遺伝子異常は常染色体優性遺伝の Bethlem myopathy で報告されているが、その機序は collagen VI 蛋白の haploinsufficiency によるとされており、完全欠損を呈した報告はない。Bethlem myopathy は関節拘縮を来すという点では Ullrich 型先天性筋ジストロフィーと類似しているが、その他の臨床症状や遺伝形式の違いによって鑑別可能である。本疾患の collagen VI 遺伝子異常の有無については現在検索中であるが、collagen VI の免疫組織化学的染色により Ullrich 病の診断が可能であり、本疾患が疑われる他症例においても検討する必要がある。

文献

I Higuchi, M Suehara et al. Collagen VI deficiency in Ullrich's disease. Ann Neurol, in press.

受精卵診断における展望

分担研究者 貝谷久宣

(社)日本筋ジストロフィー協会

共同研究者 河端静子、米園弥生

[緒 言]

平成5年に鹿児島大学医学部 永田行博教授がデュシャンヌ型筋ジストロフィーの長男のいる夫婦に対する「着床前診断」の実施を同大学倫理委員会に申請した。これを機に、着床前診断の代表的な対象疾患として『筋ジストロフィー』がクローズアップされた。

平成8年度より日本産科婦人科学会理事会内に「診療・研究に関する倫理委員会」が設置され、平成10年に着床前診断を学会の審査等を条件に認める：「会告」が定められた。これをよりどころに鹿児島大学医学部倫理委員会は、平成11年1月28日永田教授の申請を承認、この臨床研究実施は同大学より日本産科婦人科学会に申請された。これにたいし、平成12年2月26日、(社)日本産科婦人科学会から承認しない旨の最後報告がなされた。

これまでの経過を概観し、(社)日本筋ジストロフィー協会の関与について報告する。

[方 法]

平成9年3月、(社)日本筋ジストロフィー協会理事は、(社)日本産科婦人科学会会長、倫理委員会委員長、その他の役員および鹿児島大学医学部永田行博教授と意見交換を行った。

平成10年3月14日、(社)日本産科婦人科学会主催「着床前診断に関する公開討論会」に(社)日本筋ジストロフィー協会よりシンポジストとして貝谷理事が参加。

平成10年6月10日に開催された「着床前診断に関する第2回公開討論会」にも(社)日本筋ジストロフィー協会よりシンポジストとして横田昌樹理事および貝谷嘉洋会員が参加。

平成11年2月13日、厚生省精神・神経疾患研究委託費「遺伝子性筋疾患の根本治療への基盤研究」と共催にて公開シンポジウム「遺伝子医療における社会的・倫理的問題を考える」を開催。

平成11年2月17日、(社)日本筋ジストロフィー協会は鹿児島大学倫理委員会委員長および(社)日本産科婦人科学会会長宛てに申入書を送付。2月19日、同文書をマスコミへも送付。

平成12年2月5日、厚生省精神・神経疾患研究委託費「遺伝子性筋疾患の根本治療への基盤研究」と共催にて、公開シンポジウム「遺伝子医療における社会的・倫理的問題を考える-Part2」を受精卵診断に焦点をしばって開催。

[結 果]

平成11年5月24日付けの申請：「着床前遺伝子診断の臨床応用」にたいし、平成12年2月26日、(社)日本産科婦人科学会から鹿児島大学医学部産婦人科へ審議結果の最終報告がなされた。その内容は『申請対象疾患がデュシャンヌ型進行性筋ジストロフィーである本件では、エクソン44欠失が同定されています。この場合遺伝子診断が優先されるべきであり、性別判定による着床前診断の実施は承認できません。

着床前診断の実施にあたっては、クライアントに対して第三者的な立場から公平な情報を提供できる遺伝学および生殖医学の専門家によるカウンセリングの実施が必要です。

クライアントのためにも早急に原因遺伝子(エクソン44)の診断を導入されることを望みます。』というものであった。

[考 察]

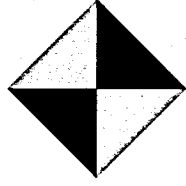
(社)日本産科婦人科学会の報告は「着床前性別診断ではなく、受精した胚が患者かどうかわかるよう技術が進歩してからにしてもらいたい。現在の方法だと正常な男児胚(半数)の扱いに問題があり、時期尚早と考える」と、(社)日本筋ジストロフィー協会が申入れた内容を十分考慮していただけのものであると考える。

[結 論]

(社)日本筋ジストロフィー協会は、『生殖医療』に対して、患者家族の意識統一は避け、持てる情報を積極的に提供し、その技術の進歩と安全性が確認されたものについては、あくまでも当事者が判断・決定するという方針です。

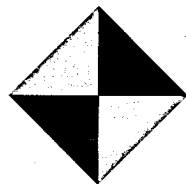
しかし、「着床前診断」については倫理的問題、技術面、母体や卵子に及ぼす影響、経済的問題など、不安材料がまだまだ多いのが現状です。

実施にあたっては、医療者だけではなく第三者的な立場からのカウンセリングが保証されるような体制作りを、研究班としても取り組んでいただきたい。



平成13年度

実績報告書



研究費の名称 = 精神・神経疾患研究委託費

研究課題名 = 筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究

研究期間 = 2001-2002

主任研究者名 = 石原傳幸 (国立療養所箱根病院)
分担研究者名 = 神野 進 (国立療養所刀根山病院)、松岡幸彦 (国立療養所鈴鹿病院)、足立克仁 (国立療養所徳島病院)、福田清貴 (国立療養所原病院)、箭原修 (国立療養所道北病院)、大澤真木子 (東京女子医大)、三池輝久 (熊本大)、石川幸辰 (国立療養所八雲病院)、岩谷道生 (国立療養所岩木病院)、今野秀彦 (国立療養所西多賀病院)、中田好則 (国立療養所千葉東病院)、清水潤 (国立療養所下志津病院)、白井素子 (国立精神・神経センター精神保険研究所)、大矢寧 (国立精神・神経センター武蔵病院)、若田宣雄 (東邦大)、末岡浩 (慶応大)、近藤浩 (国立療養所新潟病院)、荒巻晴道 (国立療養所箱根病院)、本家一也 (国立療養所医王病院)、渡辺宏雄 (国立療養所長良病院)、樋口嘉久 (国立療養所宇多野病院)、三木哲朗 (愛媛大)、安東範明 (国立療養所西奈良病院)、竹島泰宏 (神戸大)、吉岡三恵子 (神戸総合療育センター)、多田和雄 (国立療養所兵庫中央病院)、下山良二 (国立療養所松江病院)、佐野壽昭 (徳島大)、菅 理恵 (国立療養所筑後病院)、後藤勝政 (国立療養所西別府病院)、田村拓久 (国立療養所川棚病院)、今村重洋 (国立療養所再春荘病院)、隈本健司 (国立療養所宮崎東病院)、園田至人 (国立療養所南九州病院)、石川清司 (国立療養所沖縄病院)、貝谷久宣 (筋ジス協会)

研究目的 = 本研究は平成8年より平成10年度にかけて行われた「筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班」に続いて3年間にわたり行われた。研究の重点主眼は遺伝相談法の確立、血栓塞栓症の治療法確立、及び脊柱側弯症外科治療の普及であった。第1と2の点については前身の研究班からの継続であったが、第3の点については前身の研究班での研究に側弯症による重篤な合併症が気づかれるようになり、その対策として手術療法の普及促進を重点項目として加えた。

研究方法 = 患者の臨床ニーズに直結した方法で行われた。

結果と考察 = 本年度のプロジェクト別の研究発表題数は下記の表に示す。

1. 遺伝子診断・出生前診断 4
2. 遺伝相談 10
3. 先天性筋ジストロフィー 4
5. 筋強直性ジストロフィー 9

6. 画像診断 3
7. 臨床病態 9
8. 心肺不全 5
9. 凝固異常 4
10. 薬物療法 5
11. 外科療法 4
12. 疫学・データベース 1

以下には各プロジェクト別にまとめを記す。

1. 遺伝子診断・出生前診断プロジェクト

遺伝子診断法の研究としては東埼玉の川村がジストロフィン遺伝子の微少変異を詳細に研究し欠失、重複、点変異家系での保因者診断が技術的に可能であることを立証した。他病型の筋ジストロフィーの遺伝子診断については、平成13年度に西多賀の高橋らが日本人dysferlin遺伝子変異の特徴はこの遺伝子の全体に変異が見られ、C末に変異が集中する外国人とは差があると報告した。また東埼玉の加藤らは福山型先天性筋ジストロフィー患者及び保因者における遺伝子変異をLAPCR法で解析し従来よりも早く、簡便に解析する方法を開発し注目された。

班員の末岡(慶大産婦人科)が受精卵診断に関するパンフレットを作成し、今年度からは日本筋ジストロフィー協会のホームページに受精卵診断フォーラムと名付け公開し患者・家族からの反響を調査した。まだ受精卵診断が議論されるようになって日が浅く、ますますの啓蒙が必要であることが痛感される調査内容であった。出生前診断についても確たるコンセンサスが無い現状にある我が国では受精卵診断については今後の各界の議論の収束を待たねばならないが、受精卵診断の具体的な情報を社会に向けて発信したという点では当班の業績の一つと考えたい。

2. 遺伝相談プロジェクト

毎年の夏に行われたワークショップでは遺伝相談について基礎、具体的なロールプレイ、現時点で適当と思われる方法の具体的提示を行い全国的同じレベルの遺伝相談が行われることを期待してきた。前身の班では当事者能力のない子供の遺伝子診断について議論し、そのICフォームを作成し、国立病院・療養所のみではなく各大学の小児科や神経内科に配布した。今回の班では未成年者の女子における保因者診断について3年間の討議が行われた。その結果12歳以下の小学生までは保因者診断を原則的に行わないというコンセンサスを得た。まだ未成年で生殖については全く意見が固まっていない女子にたとえ親の理解があったとしてもDNA検索による保因者診断を施行することは適当ではないというが、当班の医師・倫理研究者・法律家の一致した意見となった。最終年度にはこの際に使用するICフォームが完成したので、前回と同じように各方面に配布する予定である。

このプロジェクトの構成員は小児科医師・産婦人科医師・倫理研究者・法学者、患者代表などであり意見の完全な一致を見ることは困難であったが、この研究班は他の研究班と異なり、社会とのインターフェイスの役割を担うという自覚があり困難な研究を継続した。患者代表の筋ジストロフィー協会の貝谷らは患者のアンケート調査を行い国立療養所での遺伝相談がまだ十分でないことを報告した。このプロジェクトからは遺伝相談を行うには臨床医は多忙すぎて遺伝相談に時間が割けない、外国には遺伝相談カウンセラーがこの役割をはたしているという指摘があり、今後日本でも遺伝相談カウンセラーが、各療養所で遺伝相談を実施するようになれば、もっと患者・家族の悩みに対処できるであろうと思われる。遺伝相談カウンセラーの筋ジストロフィー床を持つ施設への定員化を提言する。

3.先天性筋ジストロフィープロジェクト

当初の目的は既知の病型とは異なる患者の集積を目的にしたが、主に福山型先天性筋ジストロフィーの表現型についての研究が目立った。平成12年度からは樋口（沖繩、鹿大）よりUIIrich型先天性筋ジストロフィーがcollagen VIの完全欠損であるという発表がなされて衝撃を与え、今年には遺伝子異常まで検索が進み確実な研究成果であることが証明された。Bethlem myopathyと同じ遺伝子異常ではあるが、どうして表現型が全く異なるのかは未だ不明ではあるが、世界的な研究成果と評価できる。最初の目的であった非福山先天性筋ジストロフィーの症例も神戸の吉岡を中心として少しずつ集積されている。

4.筋強直性ジストロフィープロジェクト

現在国立療養所筋ジストロフィー病棟ではDuchenne型筋ジストロフィー入院患者が増加している。このために療養所医師の関心は筋強直性ジストロフィーに向っており発表演題数も多く全演題の13%を占めた。遺伝子診断から病理、電気生理、核医学、生理学的研究と幅広く研究が行われた。Duchenne型筋ジストロフィーと異なり中枢神経系をも含めた全身的な病気であり、その病態の解析は困難である。しかし、川棚の田村の偽性心不全の概念提唱など少しずつ病態解析につながる研究が行われてきている。本症の大部分に見られる呼吸不全対策について鈴鹿の松岡らは小数例ながらも鼻マスクによるNIPPV成功例を報告している。本病において気管切開による人工呼吸治療を行ってもDuchenne型筋ジストロフィーのようにはQOLが上昇しないことから人工呼吸治療に踏み切れないと言うのが大多数の意見であり、今後の治療のガイドライン作成が望まれる。

5.画像診断プロジェクト

CTやMRIを用いて骨格筋障害進展課程の解析や病型間の骨格筋障害の差などの研究が行われた。LGMD2A

では下腿でGastrocnemiusよりもSoleusが侵されるという点でdystrophinopathyと異なり、LGMD2C、2Dではdystrophinopathyに比べ障害が軽度であった。またLGMD2Cでは遠位筋が特徴的に侵されていた。またLGMD2Bとして1986年にBrainに記載された症例のdysferlin染色結果が報告され、ホモ接合体ではdysferlinは欠損し、ヘテロ接合体では減少していることが明らかにされ、臨床的表現型と符合していたことが報告された。以上は徳島の足立らの研究成果である。平成13年度には下志津の清水が大きな筋バンクを検索し、dysferlin染色を行った結果を報告している。高CK血症と診断された筋でdysferlinが欠損していた症例が呈示されて今後dysferlinopathyの臨床的概念が変遷してゆくであろうと予感させた。下志津の中山らはMRIを使い運動制限がどのような効果を生み出すかをLGMD兄弟例で3年間に渡り検討した。その結果筋痛を生じない程度の運動制限は筋萎縮の進行を抑えたと結論し運動制限を推奨した。

6.臨床病態

筋音図や胃電図などの新しい解析法が導入された。未だこれらの方法が無いと治療できないという時点まで至っていないが今後の臨床面での活用が期待される。Duchenne型やBecker型における精神症状の検討も行われた。従来より判明していた通りDuchenne型で半数がFIQ70以下であった（兵庫中央 高橋ら）。これまでと違いさらに遺伝子異常との関係が神戸大の竹島らにより検索された。DystrophinのisoformのひとつであるP140の有無と知能低下の関連性が検討されてきたが、彼らの研究では関連性は無いと判定された。鈴鹿の松岡らはdystrophinopathyの精神症状と遺伝子異常の関係を調べたがここでも一定の関係は見いだせなかった。

7.心肺不全プロジェクト

呼吸不全については以前よりも演題数が減少してきているのは、治療法が確立されてきたことを示している。東埼玉の谷田部らによりminitracheostomy tubeによる人工呼吸法の治療経過が示された。この方法では術式が簡単で短時間で終了する。また早期より食事摂取が可能で、発声も全例で可能であるという利点がある一方で、カフ付カニューレではないことから人工呼吸としての効率はよくないという欠点を持つ。気管の一部が狭小化して通常の太さカニューレが挿入できなかったがminitracheostomy tubeで救命し得た症例を報告し、複数の治療メニューを持つことが重要であるとした。平成12年度夏のワークショップではDuchenne型における呼吸不全治療の第一選択であるNIPPVの治療期間は平均5年程度であろうという結論であった。

心不全治療については、未だに有効な治療法が確立されていないため報告は多い。左心不全のマーカーと

してのBNP測定の有用性については確立され、左心不全治療の第一選択薬としてのACE阻害剤の有用性も確立された。今後は β ブロッカーの投与時期・投与方法などについて研究する必要がある。脳血管障害や心筋梗塞を起こした症例などの報告もされた。

8. 凝固亢進プロジェクト

当研究班の主眼として出発した。研究中に主な原因の1つとして脱水状態が関与するとの指摘があり、病棟では水分摂取を注意するようになった。その結果最近では典型的な出血性肺梗塞はほとんど見られなくなった。プロジェクトとしては西奈良の安藤を中心として全国的に血液を集め研究し、warfarin投与試験を行うべく努力してみたが、「凝固線溶系検査で血栓準備状態が示唆された患者で、過去に血栓梗塞症の既往があるか、心機能障害が確認された患者」という条件に適合する症例が全国で10例しか集まらず断念した。しかし、TATやd-dimerといった凝固線溶系の検査所見の異常が認められており、この面での研究の必要性が減じたわけではない。今後はeconomy class症候群と同一なのかどうかの面からもう一度見直す必要がある。VEGF (vascular endothelial growth factor) の高値が存在することを刀根山の齊藤らが報告した。

9. 薬物療法プロジェクト

副腎皮質ステロイドの効果は刀根山の神野、東京女子医大の大澤らを中心に研究され、確立された治療法となった。他に筋強直性ジストロフィーの呼吸障害に対するセロトニンセプターアゴニスト投与 (医王)、clenbuterol (神経センター)、グリチルチリン (筑後) などが投与された。再春荘の大林らにより胃蠕動を促すクエン酸モサプリドの効果は胃電図を用いて証明された。現在アメリカで試験されているクレアチン投与の試みも発表された (川棚)。

10. 外科療法

重点目標の一つ脊柱手術については3年で千葉東の中田らは10例の手術を行った。手術時間も長く出血量も多い、また1ヶ月以上の入院を必要とするなど大手術であるが、徐々に例数を増しつつある。また患者家族からも手術はどうするのかといった問いも聞かれるようになり、今後例数は増加するものと思われる。手術結果は現在のところは重篤な合併症もなくQOLも改善し、患者家族からは肯定的な反応が見られる。岩木の山田らはRideauの腸腰靭帯切除術を行い良好な結果を得ている。今後も手術療法も平行して治療法の中に取り入れられるべきであると考え。以上が3年間の総括であるが、これまでに成し遂げられず今後の研究により克服されなければならない点も多く存在するので列挙しておく。

1. 遺伝子診断

dystrophin遺伝子診断については詳細な研究が一部

の施設で可能とはなったが、研究者の動向によっては確立された方法が瞬時に無くなる可能性がある。新しい成果があまり期待できない分野となってしまったからである。また将来に姉妹が保因者診断を希望する場面を想定して、生存している間に患者のDNAを保存しておく必要がある。全国に数カ所センターを作りこのような機能を果たすべきであると提言する。

2. 遺伝相談

これまではDuchenne型の遺伝相談に絞って研究を進めてきたが、他の病型について具体的な相談法を確立すべく研究する必要がある。また遺伝相談カウンセラーを養成し配置する必要がある。

3. 先天性筋ジストロフィー

非福山型で、かつ非merosin欠損型、かつ非ullrich型症例を全国的に集積して検討する必要がある。この点については国立療養所のスケールメリットが発揮しうる。

4. 心肺不全

左心不全薬物療法の具体的ガイドラインを作成しなければならない、また筋強直性ジストロフィーの呼吸不全の治療ガイドラインの作成も必要。

特に筋強直性ジストロフィーについては今後も大きな努力を傾けて研究する必要がある。

5. 凝固亢進

今後も凝固線溶系異常メカニズムの検討が必要である、筋ジストロフィー患者のみではなく健常人の治療にも通じるようなメカニズムが発見される可能性があるからである。

福山型先天性筋ジストロフィー患者および保因者のPCR法による診断

分担研究者

石原傳幸 国立療養所箱根病院神経内科

研究協力者

加藤るみ子 国立療養所東埼玉病院小児科

川村 潤 同神経内科

菅原裕史、松本直通 長崎大学医学部原研遺伝

1. 研究目的

福山型先天性筋ジストロフィーFukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD)は乳児期早期からの筋ジストロフィー病変に中枢神経系の奇形を伴う常染色体劣性遺伝疾患で、日本における先天性筋ジストロフィー症の大部分を占める。日本人に特異的に多く、約80-90人に1人が保因者と考えられる。FCMD原因遺伝子は第9番染色体長腕31領域に存在し、1,383bpの翻訳領域を持ち、461アミノ酸からなる蛋白質fukutinをコードしている。FCMD遺伝子異常により正常なfukutin蛋白が産生されないと、骨格筋や脳の神経細胞に形態学的な異常を生じると考えられる。

FCMD患者染色体の約90%はこの遺伝子の長い3'非翻訳領域内に3,062bpのレトロトランスポゾン挿入変異を有する。多くの患者、とくに典型例や軽症例の8割前後は挿入変異がホモで認められる。残りの大部分は1本に挿入変異があり他方は塩基挿入や点変異などの別の変異を持つヘテロであり、重症例に多い。

われわれは頻度の高いレトロトランスポゾン挿入変異の有無を簡便にスクリーニングするPCR系を設計し、患者および保因者の迅速診断を試みた。

2. 研究方法

FCMD遺伝子3'非翻訳領域内のレトロトランスポゾン挿入部(cDNA5,889-5,890位)を挟むようにPCRプライマーを設計した。LA PCR法によって得られた約3,000bpのPCR産物をクローニング、シーケンスし、その塩基配列情報から目的のレトロトランスポゾンであることを確認した。スクリーニング PCRは正常遺伝子配列のみを増幅する系と、異常挿入部分を有する場合に増幅する系の2種類を設計した。

対象は国立療養所東埼玉病院に通院もしくは入院(死亡例も含め)の患者8名およびその家族である。遺伝子診断の承諾を得て、末梢血リンパ球からDNAを抽出して検査を行った。

3. 研究結果

患者8名中7名は正常配列を持たず、異常配列のPCR

系のみ増幅するレトロトランスポゾン挿入変異のホモであった。残り1名の患者は双方のPCR系で増幅し、挿入はヘテロであると考えられた。4家族に対しては父または母あるいは双方に保因者診断を行った。挿入をホモでもつ患者の両親はみな挿入変異の保因者であることが確認された。ヘテロの患者の母親は挿入変異を持たず、挿入変異は父親から患者に伝えられたと推測される。母親はFCMD遺伝子の点変異など別の変異を伝えたものと考えられる。

4. 考察

このPCR系を用いることにより、少ない検体量でレトロトランスポゾン挿入によって生じる福山型先天性筋ジストロフィーの迅速診断が可能である。挿入以外の変異をホモに持つFCMD症例は検出できないが、その場合は非常に重症で胎生致死の可能性があるので、この方法で日本のFCMD患者の大多数はスクリーニングできると考える。患者や保因者の診断の他、出生前診断、さらに非福山型先天性筋ジストロフィー症との鑑別診断にも広く応用できる。挿入以外の遺伝子異常が疑われる1家系についてはさらに解析を続け、過去の報告例と比較検討していきたい

5. 参考文献

Kobayashi K, et al. : An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 394: 388-392, 1998.

Kondo-Iida E, et al. : Novel mutations and genotype-phenotype relationships in 107 families with Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD). *Hum Molec Genet* 8: 2303-2309, 1999.

筋ジストロフィーにおけるVEGF

分担研究者 神野 進

(国立療養所刀根山病院・神経内科)

背景

筋ジストロフィーには潜在的な血液凝固線溶異常があり、筋崩壊と密接に関連している1)。また、血清 soluble vascular cell adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble E-selectinなどの可溶性接着分子も筋崩壊と関連している可能性がある2)。今回われわれは、血液凝固線溶系活性化、接着分子発現の両者に関与すると考えられる血管内皮細胞に注目し、血管内皮細胞透過性亢進・活性化などを促すVascular endothelial growth factor (VEGF) 3)と筋崩壊・凝固線溶系マーカーとの関連を探った。

目的

筋ジストロフィーにおける血清VEGFの意義を検討する。

対象・方法

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)17例, Becker型筋ジストロフィー(BMD)5例, 福山型筋ジストロフィー(FCMD)12例, 脊髄性筋萎縮症2型(SMA type 2)4例, 計38例 (男性30例, 女性8例, 4歳~23歳, 平均14.6歳)の血清VEGF, creatine kinase (CK), fibrin and fibrinogen degradation products (FDP)を測定した。また, 対照として健常成人5例 (女性)の血清VEGFを測定した。VEGFの測定はR&D systems (ELISA)のキットを用いた。

結果

血清VEGFは, DMD 209.7pg/ml (SE, 34.6), BMD 188.0 pg/ml (39.1), FCMD 189.4pg/ml (48.8), SMA type 2 117.7 pg/ml (19.4), 対照 161.3 pg/ml (38.0)と, 筋ジストロフィー群で高値の傾向であったが, 群間の有意差はなかった(ANOVA)。CK, FDPとの間に有意な関係は認めなかった。

考察

筋ジストロフィー群ではVEGFが上昇しており, 血管内皮細胞に何らかの変化があることが推測される。これは筋崩壊に伴う二次的变化である可能性が高いが, 筋崩壊増悪因子である可能性は否定できない。VEGFとCK, FDPとの関連は有意ではなかったが, VEGFは

筋ジストロフィーの筋崩壊・凝固線溶異常の病態に関連すると考えられる。

参考文献

- 1) Saito T, Takenaka M, Miyai I, et al. : Coagulation and Fibrinolysis Disorder in Muscular Dystrophy. Muscle Nerve 2001; 24: 399-402.
- 2) 齊藤利雄, 山本裕子, 神野 進. : 筋ジストロフィーにおける可溶性接着分子. 脳と発達 2002; 34: in press.
- 3) Maeno N, Takei S, Masuda K, et al. : Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in Kawasaki disease. Pediatr Res 1998; 44: 596-9.

共同研究者 齊藤利雄 山本裕子*
横江 勝 国富厚宏
松村 剛 野崎園子
(国立療養所刀根山病院・神経内科
・研究検査科*)

Dystrophin異常症に対する 少量prednisoloneの効果

分担研究者 神野 進
(国立療養所刀根山病院神経内科)

【目的】一昨年より私たちはdystrophin異常症における運動機能障害の進展に少量のprednisolone(PSL)が抑制効果を有するか否かを検討してきた。少量投与全例で1年以上の経過を観察できたので報告する。

【対象・方法】対象患者は4名。3名ではdystrophin遺伝子の欠失を、1名では生検筋組織でdystrophin欠損を認めた。症例1, 3, 4はデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD), 症例2はベッカー型筋ジストロフィー(BMD)と臨床診断された。

PSL服用開始の年齢は4歳2ヶ月から8歳3ヶ月で、体重1kgあたり0.33mgのPSLが隔日朝に投与された。

患者・家族に本研究の趣旨、PSLの副作用などを十分説明し、親権者から承諾を得た。

運動機能(ADLテスト等)は既に報告した方法1)で評価した。筋力は肩外転、股屈曲・伸展、膝屈曲・伸展、足底屈・背屈の両側筋群についてダニエル法で測定した。

【結果】体重あたりのPSL服用量は体重増加に伴い減少し、最終評価時点(63~120週)では0.24~0.29mg/kgBWとなった。動作遂行時間の推移を追跡できた項目は10m走行と階段(16cm, 5段)昇りであった。DMD3例における服用前の10m走行時間は6秒以下であったが、最終評価週では7~7.6秒に延長した。BMDの1例では3.5秒から3秒に短縮した。階段昇り時間ではBMD例(PSL投与開始4歳2ヶ月)とDMD1例(投与開始4歳8ヶ月)では前値より若干、短縮したが、他の2名では延長した。

関節可動域範囲は4例とも次第に縮小した。

1例(8歳代にPSL投与開始)に著明な体重増加(62.7%増)を認めた他、注意すべき有害事象はみられなかった。

【考察】4歳代に少量PSLを投与した2例(DMD, BMD各1例)では、1年以上にわたり良好な運動機能を維持し得たが、関節拘縮の進展を抑止できなかった。関節可動域訓練の併用が必要である。筋ジストロフィーの運動機能障害進展に対する少量PSL抑制効果の検討には二重盲検比較試験が必要である。

【文献】

1) 姜 進: デュシェンヌ型筋ジストロフィーの薬物治療-特に副腎皮質ホルモンについて- 臨床神経, 36: 1338-1440. 1996

研究協力者: 斉藤利雄, 松村 剛, 国富厚宏, 横江勝, 野崎園子(国立療養所刀根山病院神経内科)

歩行期のDMD患者に対する理学療法の意義

分担研究者 神野 進

(国立療養所刀根山病院・神経内科)

【目的】

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)患者の歩行能力を維持することは、移動能力の確保という意味だけでなく、生命予後にも密接に関係すると言われている。そこで歩行可能な時期からホームプログラムを実施した群(実施群)と実施しなかった群(未実施群)の歩行能力喪失時点と可能時点のデータを比較することで、歩行不可能となる原因、および下肢の伸張運動を中心としたホームプログラムの効果を探ることを目的とした。

【対象と方法】

当院外来通院中のDMD患者で、検査に協力可能な者21名を対象とした。歩行能力喪失年齢は、平均10.7±2.1歳(7.6~14.4歳)であった。症例を実施群10名(12.1±1.9歳)と未実施群11名(9.4±1.5歳)の2群に分け、2群間および各群の可能時点と喪失時点で検討した。可能時点のデータは喪失時点よりさかのぼって1年以内で期間の最も長いものを用いた。歩行が不可能となった原因を探るために、機能障害の指標として徒手筋力検査法(MMT)と関節可動域測定法(ROMT)の結果を用いた。その他歩行に影響を与える項目として身長伸び、体重の増加、肥満度指数(BMI)との関連、さらに歩行能力と四つ這い移動との関係も検討した。

MMTで選択した筋群は、骨盤の引き上げ、股屈曲・伸展・外転筋、膝屈曲・伸筋の6筋群で、各筋群筋力の総和の平均値で比較した。ROMTで選択した運動方向は、足関節背屈、膝伸展、股伸展・内転の4運動方向で、各ROMの総和の平均値で、また各運動方向のROMの左右差をその総和で比較した。

動作はいずれも物的・人的介助なしとし、「歩行可能」は10mを90秒以内で歩けること、「四つ這い移動可能」は3mを移動できることとした。ホームプログラムは、歩行能力喪失時点からさかのぼって最低でも17ヶ月間、週3回以上実施されていた。

【結果】

年齢は実施群が未実施群より有意に高かった。歩行が可能であるかどうかにかかわらず実施群の身長は未実施群より高く、また両群とも喪失時点の身長は可能時点より高かった。体重も身長と同様の結果であった。

未実施群の喪失時点のROMは可能時点より有意に減少していた。また可能時点に差はなかったが、喪失時点の未実施群のROMは実施群より有意に減少していた。ROMの左右差の総和では、未実施群は喪失時点で可能時点より増大していたが、実施群ではばらつきが大きく両時点の差はなかった。両群とも喪失時点の筋力は可能時点より低下していた。また両時点とも実施群の筋力は未実施群より弱かった。未実施群の喪失時点のBMIは可能時点より高かったが、実施群では差はなかった。

筋力、ROM、BMIの3項目について、筋力が強く、ROMが大きく、BMIが小さい方が歩行にとって有利と考え、各項目ごとに21名中で最も有利な値を100%、最も不利な値を0%として、両群で両時点の平均値とその変化を比較した。可能時点では、筋力とBMIで未実施群が大きく上回り、ROMは実施群がわずかに上回っていた。喪失時点では、ROMで実施群が、筋力で未実施群が大きく上回り、BMIは実施群がわずかに上回っていた。低下率は、未実施群では3項目とも15%以上であったが、実施群は一桁台であった。喪失時点で3m四つ這い移動が不可能であった者は7名で、全員実施群であった。10m歩行と3m四つ這い移動の可能期間は、歩行は実施群が未実施群より有意に長かったが、四つ這い移動は差がなかった。

【考察】

実施群では、(1)喪失時点の年齢が未実施群より高い、(2)未実施群より可能時点のROMの減少が少ない、(3)可能時点と喪失時点でROMの減少がほとんど見られない、(4)ROMの左右差総和が50度を越えた者が2名いる、(5)低下率は上記3項目中で筋力が最も大きい、(6)喪失時点で3m四つ這い移動は10名中7名が不可能であった、以上のことより実施群が歩行不可能となった原因は、ROM制限の増大よりもむしろROMの左右差の増大、筋力低下、体重の増加、身長伸びのいずれかもしくはそれらの組み合わせであると考えられる。

未実施群では、(1)ROMが有意に減少した、(2)ROMの左右差が有意に増大した、(3)低下率はROMが最も大きい、(4)喪失時点で3m四つ這い移動は全員可能であった、(5)喪失時点でも筋力は実施群の可能時点より強い、以上のことより未実施群が歩行不可能となった主な原因は、ROM制限とROMの左右差の増大にある。

成長により増加する身長、病勢の進展による筋力低下とROM制限は避けることができない。しかしながら、平均低下率を超えて悪化している項目は二次障害であり、PTとして治療の余地があると考えられる。実施群はホームプログラムの効果が現れているのに対して、未実施群に見られた急激なROM制限の増大は二次障害である可能性が高く、実施群のように伸張運動を積極

的に実施することで歩行能力維持の可能性が示唆される。

共同研究者：植田 能茂 藤本 康之 山本 洋史
河島 猛 鍋島 隆治 斉藤 利雄*
松村 剛* 野崎 園子*
(国立療養所刀根山病院・
リハビリテーション科・神経内科*)

筋強直性ジストロフィーの呼吸障害の経年的変化

松岡幸彦

国立療養所鈴鹿病院

【目的】筋強直性ジストロフィー (MyD) の呼吸障害に対する治療指針作成に向け、その自然経過を記載することは重要である。今回は当院患者の呼吸障害の経年的変化を報告する。

【対象・方法】当院外来および入院患者のうち、3年以上にわたって各種呼吸機能検査を施行した成人型筋強直性ジストロフィー23例 (男性18例、女性5例)。CTGリピート数により以下の4群に分類した。

I群	1000未満	2例
II群	1000以上～1500未満	8例
III群	1500以上～2000未満	6例
IV群	2000以上	5例

評価の項目はスパイログラム、血液ガス、夜間パルスオキシメーターのデータより計算した夜間低酸素指数 (NHI)である。スパイログラムの予測値はBaldwinの予測式より計算した。

【結果】

*対象患者の臨床経過

観察開始時点での年齢は38歳～59歳、平均 47.0 ± 5.9 歳。観察期間は3年～12年、平均 7.3 ± 3.3 年である。追跡は患者が死亡ないし呼吸器装着を開始した時点で中止とした。死亡が6例、呼吸器装着に至ったものが8例、気管切開が3例であった。

*呼吸機能

1.スパイログラム

全例拘束性換気障害のパターンを示した。 $\%VC$ と年齢は有意な負の相関を示した ($r = -0.45$, $P < 0.0001$)。回帰式 ($y = 95.7 - 1.08x$) より計算すると、 $\%VC$ が40%になるのが約55歳、30%となるのが約65歳となる。同じ年齢層で比較するとIV群はII群より $\%VC$ が低値であった。

2.血液ガス所見

観察開始時点で半数以上で Pco_2 が50mmHg以上の高値を示した。

3.NHI

NHIと年齢の間には有意な相関は認められなかった。但し個々の症例で見ると加齢とともに上昇する例が多く見られた。またI群～IV群で比較しても一定の傾向は見られなかった。I群のCTGリピート200の男性例

では46歳の時点でNHIが200を超える高値を示していたが、この例は睡眠時の上気道の閉塞の著しい例であった。NHIと $\%VC$ の間、NHIと Pco_2 の間にはいずれも有意な相関は認められなかった。

【考察】

前回の本学会議において本症に対する人工呼吸療法の有効性を報告したが、症例の選択や導入時期を考える上での基礎資料とすべく今回の研究を行った。これまでに本症の呼吸障害の経年的検討を行った報告は少ない。井後は、機能障害の進行したMyD 12例で検討し、 $\%VC$ と罹病期間との間に有意な負の相関がみられたと報告している。本研究においては罹病期間ではなく、年齢と $\%VC$ との間に負の相関がみられている。回帰式の傾きで示される進行の速度は両者でほぼ一致おり、呼吸機能の障害が加齢とともに緩徐に進行すると考えられた。CTGリピート数で分けた群間の比較では、群で $\%VC$ が低値であった。

睡眠時の呼吸異常の評価はNHIを用いて行った。NHIは、年齢、 $\%VC$ 、 Pco_2 などのパラメーターとの間には一定の傾向は認められなかった。デュシェンヌ型筋ジストロフィーの場合には、 $\%VC$ が20%を下回るとNHIが130以上の高値になるのに対し、本症ではこうした傾向が見られないことが報告されている。この結果は、本症の睡眠時呼吸異常が、閉塞型、中枢型、混合型など様々なパターンを呈し、睡眠時の肺胞低換気の増悪のみではないことを反映するものと考えられる。そのため症例によっては昼間の $\%VC$ や血液ガス所見が保たれているにもかかわらず、NHIが異常高値を示す例が存在する。自験例でもこうした例に夜間のみNIPPVを施行し有効であった例を経験している。今後は夜間パルスオキシメーターのみならず、睡眠ポリグラフを施行し本症の睡眠時呼吸異常のより詳しい病態解析が必要であろう。

【参考文献】

- 1.井後雅之：筋緊張性ジストロフィー進行例における呼吸機能障害の経年的検討 臨床神経33：845-849、1993
- 2.川井充、他：夜間低酸素指数—神経筋疾患による夜間低換気に対する夜間動脈血酸素飽和度モニターを用いた新しい指標 臨床神経35：1003-1007、1995
- 3.尾方克久、他：呼吸機能と夜間酸素飽和度の対比からみたDuchene型および筋強直性ジストロフィーにおける呼吸不全の相違 臨床神経36：850-853、1996

Duchenne型筋ジストロフィー患者の母親の 検診結果

— 8年間のまとめ —

足立克仁¹⁾、齋藤美穂¹⁾、阿部多賀子¹⁾、
高森雅子¹⁾、廣野 明²⁾、川井尚臣³⁾

¹⁾ 国立療養所徳島病院内科

²⁾ 同神経内科

³⁾ 高松市民病院内科

緒 言

Duchenne型筋ジストロフィーの母親には、しばしば骨格筋症状や心症状を呈する方がみられる¹⁾。われわれは平成6年度より毎年一回、当院入院Duchenne型患者の母親の検診を行い、Duchenne型の女性保因者の中には骨格筋障害に加え心機能障害が多くみられることを当班会議で発表してきたが、今回は8年間のまとめを報告した。

方 法

Duchenne型患者の母親40名(34~61歳)について、家系図と血清CK活性値にて、さらに一部では生検筋のジストロフィン免疫組織化学、サザン法によるジストロフィン遺伝子検索などにて保因者か非保因者かの検討を行った。そして、この40名について、骨格筋機能としては血清CK値と最も障害される大腿二頭筋のCT値を、心機能としては心エコーと血漿ナトリウム利尿ペプチドである心房性ペプチド(ANP)値と脳性ペプチド(BNP)値を調べた。

結 果

1. 40名の母親のうち確実な保因者は24名(34~61歳)であった。

2. 確実な保因者24例の血清CK活性値は83~2,925U/L(962.5±920.2, mean±SD)(正常値<200)であり、19例(79%)が上昇を示していた。経過は、低値例ではほぼ横這いであったが、高値例では変動が著しかった。

3. 確実19例の大腿二頭筋CT値は 56~50(9.3±35.7)(正常値>40)であり、16例(84%)が低値を示した。経過は少しずつ減少し、障害は緩徐に進行した。

血清CK値とCT値とは負の相関($r=-0.79, p<0.001$)を示した。

4. 確実22例の左室拡張末期径(LVDd)は38~62mm(50.1±6.0)(正常値<50)であり、11例(50%)が拡張していた。左室短縮率(FS)は39.9~9.4%(25.6±8.6)(正常値>27)であり、14例(64%)が低値であった。経過は一定していなかった。

5. 確実16例の血漿ANP値は8~110pg/ml(37.8±31.8)(正常値<43)であり、3例(19%)が高値であった。18例の血漿BNP値は4~210pg/ml(42.9±48.3)(正常値<18.4)であり、12例(67%)が低値であった。経過は変動がみられ、利尿剤、ACE阻害剤等の治療3例では治療初期で改善がみられた。

6. 血清CK値とLVDdとは正の相関($r=0.51, p<0.05$)を、血清CK値とFSとは負の相関($r=-0.53, p<0.05$)を示した。

考 察

8年間にわたり40名のDuchenne型患者の母親のうち確実な保因者24例について骨格筋機能と心機能の検診を行い、その成績を述べた。

保因者のほぼ8割には、明らかな骨格筋障害がみられ、この障害は5~8年でさらに進行した。また、6割の保因者には拡張型心筋症様所見がみられ、一部は心不全症状もみられた。さらに、この骨格筋障害と心障害は関係があり、骨格筋障害が強いほど心障害も強い関係がみられ、中には心不全がみられた例もあり、このような例には治療を要する。

結 論

Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者では、骨格筋障害の強い例で心障害が強く、筋力低下のある母親は心機能の定期的な評価と症例により治療が必要である。

参考文献

1) Adachi K, et al.: Plasma levels of brain natriuretic peptide as index for evaluation of cardiac function in female gene carriers of Duchenne muscular dystrophy. *Int Med*, 36: 497, 1997

Dysferlinopathyにおける骨格筋障害と心筋障害との関係

—臨床・病理学的検討—

柏木節子¹⁾、足立克仁²⁾、木村千代美¹⁾、
乾 俊夫³⁾、馬木良文²⁾、川井尚臣³⁾、
佐野壽昭⁴⁾

¹⁾国立療養所徳島病院内科、²⁾同神経内科
³⁾高松市民病院内科
⁴⁾徳島大学第一病理

緒 言

三好型筋ジストロフィー(LGMD2B)の遺伝子産物はdysferlinであり、本蛋白質は種々の組織で発現するが、特に、骨格筋、心筋、胎盤で多く認められるといわれている。我々は、骨格筋のdysferlinの免疫組織化学でdysferlinの欠損を認めた症例とその家系員について、骨格筋障害と心筋障害との関係を臨床・病理学的に検討した。

対象と方法

対象は免疫組織化学でdysferlinが欠損していた2家系2症例とその家系員2症例で、うち1症例は剖検例である。年齢は49～68歳で、男性2例、女性2例である。骨格筋評価の方法として徒手筋力テスト、血清CK活性値の測定、下腿CT像の検討、筋生検を行った。一方、心機能障害の評価の方法としては、胸部X線像による心胸郭比の測定、血漿ANP値および血漿BNP値の測定、心臓超音波検査による左室拡張末期径などの測定を行った。これらの成績と剖検所見をもとに骨格筋の障害と心機能障害とを比較検討した。

結 果

1. 臨床経過では、2家系ともにDuchenne型筋ジストロフィーに比べ緩徐な進行を示した。症例により、病態の進行に幅がみられたが、40歳頃に歩行不能となった。
2. 長期に経過を追い得た症例(1例)の徒手筋力テストの経過では、発症当初は腓腹筋で他の下肢筋よりも強い筋力低下を認めたが、経過に伴い四肢全体および躯幹に強い筋力低下が認められるようになった。
3. 血清CK活性値では、1000IU/Lを越えて上昇していた例でも、経過に伴い徐々に低下し、正常値(200IU/L以下)に近い値となった。
4. 下腿CT像(3例)では、進行例のため下肢全体に著明な筋萎縮像を認めた。
5. 2家系の家系員(各1名)について筋生検を行い、ともにHE染色で筋ジストロフィー性変化を認めた。そして、dystrophinは認められたが、dysferlinは完全に欠損し

ていた。

6. 心胸郭比(3例)では、拡大例が1例みられたが、他は50%以下であった。
7. 血漿ANP値(3例)では2例で軽度の上昇を認めたが、血漿BNP値(3例)では60～70pg/mlを越える症例も2例みられた。
8. 心臓超音波検査(3例)では左室拡張末期径、左室収縮末期径で拡張は認められず、駆出率、短縮率ともに正常ないし軽度の低下が認められるのみであった。
9. 剖検例(1例)の心臓では、心重量は360gと肥大はなく、心嚢液の貯留は認められなかった。また、心筋のHE染色では心筋線維はやや萎縮していたが、肥大した線維の混在も認められた。しかし、骨格筋にみられた変性・壊死所見はなく、脂肪細胞の浸潤は骨格筋に比較して軽度であった。

考 察

我々は、Duchenne型筋ジストロフィー¹⁾、Becker型筋ジストロフィー²⁾、カルパインパチー³⁾、サルコグリカノパチー⁴⁾の骨格筋障害および心機能障害について報告してきた。

本研究では今回、骨格筋のdysferlin免疫組織化学でdysferlinの欠損を確認した三好型遠位型筋ジストロフィーの家系について、骨格筋障害と心機能障害を種々の項目において比較検討したが、対象とした全ての症例で、骨格筋障害に比べ心機能障害が極めて軽度であった。このことはdysferlinの役割が骨格筋に比べ心筋では小さいことを示唆する。

結 論

三好型筋ジストロフィーにおける心機能障害は、病理学的にも臨床的にも骨格筋障害に比較して軽度であった。これは心筋におけるdysferlinの役割が骨格筋に比べて小さいことを示唆する。

文 献

- 1) 柏木節子、川井尚臣、他：Duchenne型筋ジストロフィーにおける心機能の血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド濃度による評価。臨床神経, 36:7-11,1996.
- 2) 足立克仁、柏木節子、他：Calpainopathy (LGMD2A)とBecker型筋ジストロフィーとの心筋・骨格筋障害の比較検討。筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究 平成12年度研究報告書 印刷中。
- 3) 足立克仁、馬木良文、他：Sarcoglycanopathy (LGMD2C,2D)とDuchenne型筋ジストロフィーの心筋・骨格筋の障害における比較検討。筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究 平成12年度研究報告書 印刷中。

水分摂取及び抗血小板薬はDMD（BMD）の血液凝固障害に有利に働くか？

福田 清 貴

国立療養所原病院

目的

DMD（BMD）において、肺梗塞等の血液凝固障害に起因すると考えられる血管閉塞病変の存在が指摘されているが、水分摂取に気をつけることにより、血液凝固障害による疾病が減少した印象がある。また、以前に2度の脳梗塞の既往のあるBMD患者に抗血小板薬を投与したところ、5年以上1度も梗塞症状をおこしていない。水分摂取や抗血小板薬の投与によりDMD（BMD）の血液凝固障害に起因する疾病は予防できるのか検討する。

方法

採血前1週間の1日尿量の平均の多少と血液凝固線溶系検査データとの間に関係があるのかを検討する。”ジピリダモール（25mg×3/日）の投与の有無により血液凝固線溶系のデータに変化があるか検討する。

表1. 尿量の多少と血液凝固線溶系の関係

症例	1日尿量	DD	PIC	TAT	PTF1+2
		1.0未満	0.8以下	3.0以下	0.4-1.4
		(線溶系)		(凝固系)	
1	1636	1.53 ↑	0.8	2.8	0.46
2	1563	0.5以下	0.5	1.3	0.44
3	1517	0.5以下	1.0 ↑	2.4	0.51
4	1234	0.5以下	0.7	53.0 ↑	1.09
5	1079	0.5以下	1.1 ↑	1.3	0.52
6	921	0.5以下	1.2 ↑	7.0 ↑	0.50
7	909	0.5以下	0.5	1.0以下	0.37 ↓
8	799	0.5以下	0.7	3.7 ↑	0.36 ↓
9	679	0.5以下	0.6	1.0以下	0.24 ↓
10	653	0.5以下	0.8	2.7	0.35 ↓

結果

①尿量の少ない患者にPTF1+2の値が低い傾向が見られたが、統計学的に有意な差は認められなかった。(表1)。②ジピリダモール投与患者と非投与患者の間に有意な差は認められなかったが、非投与群でTAT亢進している例が3例あった(表2)

表2. ジピリダモール投与・非投与と血液凝固線溶系の関係

症例	ジピリダモール	DD	PIC	TAT	PTF1+2
		1.0未満	0.8以下	3.0以下	0.4-1.4
		(線溶系)		(凝固系)	
1	(+)	1.53 ↑	0.8	2.8	0.46
②	(+)	0.5以下	1.1 ↑	1.3	0.52
3	(+)	0.5以下	0.5	1.0以下	0.37 ↓
4	(+)	0.5以下	0.6	1.5	0.40
1	(-)	0.5以下	0.5	1.3	0.44
2	(-)	0.5以下	1.0 ↑	2.42	0.51
3	(-)	0.5以下	0.7	53.0 ↑	1.09
4	(-)	0.5以下	1.2 ↑	7.0 ↑	0.50
5	(-)	0.5以下	0.7	3.7 ↑	0.36 ↓
6	(-)	0.5以下	0.6	1.0以下	0.24 ↓
7	(-)	0.5以下	0.8	2.7	0.35 ↓

考察

今回の研究には、障害度や車椅子生活かベッド上生活か、心不全の有無や年齢の因子が入っておらず、また症例数も少ないので、今後症例数を増やすとともに研究計画を練り直して検討する必要があると思われた。

筋強直性ジストロフィーにおける頸部画像所見の再検討

班 員 荒巻晴道 (国立療養所箱根医院)
共同研究者 横山照夫、土屋一郎、伊藤浩明、
石原傳幸、大熊正彦

要旨 : 当院入院中の筋強直性ジストロフィー患者22例に対し(男性11例、女性11例)頸部単純X-P,CT,MRI検査を施行し頸椎の骨変化とそれに起因する頸随病変の存在を検討した。OPLL 2/22例(9.1%),骨棘形成5/22(22.7%),椎間板ヘルニア 2/22(9.1%),椎体癒合1/22(4.5%),椎体 cyst 1/22(4.5%)を認めた。OPLLの1例では骨変化に伴い脊髄の著しい圧迫と偏位を認めた重篤な脊髄障害へ進展する可能性が考えられた。

目的 : MyDでは従来よりOPLLの存在をはじめとして頸椎症の合併があると報告されてきた。これまでは単純 X-P,CTの所見が主であり頸随への影響については検討が十分ではない。我々はMRI検査を頸椎変化と付随する頸随病変の存在を検討した。またCTG repeatsとOPLLの関係を検討した。

対称・方法 : 当院入院中のMyD患者22名 男性11名(平均年齢53.2歳)女性11名(平均年齢53.4歳)を対象に単純XP頸椎CT,頸部MRIを可能なかぎり撮影した。全例でCTG repeatを計測した。

結果 :

症例1 42歳男性 20歳時に下肢脱力にて発症。現在は車椅子での生活となっている。明らかな感覚障害は認めず、また排尿・排便困難も認めていない。四肢深部腱反射は全身で低下し、その他の錐体路徴候も陰性。C5-7にて連続性のOPLLを認め最小有効脊柱管前後径が9mmに低下し脊髄の圧迫と偏位を認めた。CTG repeat数は3.0-3.3Kbであった。

症例2 66歳女性 現在のはかろうじて杖歩行可能となっている。神経所見としては軽度の痴呆と四肢の脱力を認める。明らかな感覚障害は認めずまた排尿・排便困難も認めていない。錐体路徴候は認めなかった。頸部画像検査にてC5に軽度OPLLを認めたが脊髄への影響を認めなかった。CTG repeat数は6.0Kbであった。

画像上では脊髄への圧迫症状は認めずまた臨床上も錐体路症状や感覚障害、排便・排尿障害は認めなかった。まとめるとOPLL 2/22例(9.1%),骨棘形成5/22(22.7%),椎間板ヘルニア2/22(9.1%),椎体癒合1/22(4.5%),椎体 cyst 1/22(4.5%)であった。

考察 : MyDにおけるOPLLの合併は当院の村上等によりS61年に報告され4/16例にOPLLが観察された。S61年畑野等は3/13例、H6年大竹等は18/67例のOPLLを報告し、一般成人のOPLLの発生率が2%であるのに対しMyD患者では23-26%と高い率にOPLLが合併するとされてきた。今回のシリーズでは22例(9%)とOPLLの合併率が低かった。

OPLLとCTG repeats数との相関は症例数が2例と小数のため比較が困難であるが少なくともOPLL合併例でCTGの極端な延長は認められなかった。筆者もOPLLを合併したMyD症例で、転倒により頸部以下の完全四肢麻痺に進展した症例を経験した。OPLLを合併した1例では臨床徴候ははっきりしないものの画像上で頸髄の偏位・変形を認めており重篤な頸椎障害を容易に起こしうると考えられた。

結論 : MyDにおけるOPLLの合併は深刻な頸髄における脊髄損傷を引き起こす原因となりうる可能性があり、部位によっては四肢麻痺のみではなく呼吸麻痺をも来す可能性もある。長期入院のMyD患者が増加しつつある国立療養所の筋萎縮症病棟においては、常に留意しなければならない合併症の一つである。

筋強直性ジストロフィーにおける核医学による心機能評価

班員 筋原 修
共同研究者 澤田 潤、榎本 (中谷) 雪
榎本博之、木村 隆、橋本和季

目的

筋強直性ジストロフィーは多彩な筋外症状を呈することが知られている。その中で心合併症としては房室伝導ブロックをはじめとする刺激伝導系の異常が突然死の一因として以前より注目されている。一方、剖検心筋の病理学的検討では種々の心筋変性所見が刺激伝導系以外にも認められることが指摘されている。このことから刺激伝導系異常以外の心筋症としての心合併症の評価も生命予後の検討及び病態の解明において必要と考えられる。しかし、筋強直性ジストロフィーでは、経過を通じて、臨床的な心不全兆候を欠くこともあり、この点における検討は十分にはなされていない。そこで今回我々は、比較的低侵襲の検査法である、心筋シンチグラフィを用い、筋強直性ジストロフィーの心機能について評価、検討を行った。

方法

当院入院中の筋強直性ジストロフィー患者23名(男性13名、女性10名、平均年齢 50.5 ± 9.0 歳)を対象とし、患者本人及び家族に検査について説明し、同意を得た上で行った。

末梢白血球より遺伝子解析を行い、CTGリピート数を決定した。早朝空腹時血糖及びHbA1cにより糖尿病の有無について検討した。

核医学検査以外の心機能評価法として、経胸壁心臓超音波検査、胸部X線写真、12誘導心電図、Holter心電図及び、血中BNP (brain natriuretic peptide) 及びANP (arterial natriuretic peptide) を測定し、心不全及び不整脈について評価した。

心筋シンチグラフィは、 ^{99m}Tc -MIBI (血流シンチグラフィ)、 ^{123}I -BMIPP (脂肪酸代謝シンチグラフィ)、 ^{123}I -MIBG (交感神経機能シンチグラフィ)の3種類の核種を使用した。評価方法は3種類の核種においてSPECT (single photon emission computed tomography) を用いて5つのSegment (心尖部、前壁、後壁、中隔、外側) にわけ、各々のSegmentでの集積異常を4段階評価のDefect Scoreを用いて、評価した。

結果

臨床徴候及び心筋シンチグラフィ以外の諸検査で心不全徴候を認めない症例においても、CTGリピート

数が2000を越える群では何れの核種においても部分的な集積低下を認めた。

血中BNP、ANPといった液性因子は虚血性心疾患などでの検討では心不全の重症度と相関すると言われていたが、今回の検討では経胸壁心臓超音波検査上得られた駆出率、壁運動能などの指標、及びCTGリピート数とは相関しなかった。

心筋シンチグラフィ上の異常所見についても経胸壁心臓超音波検査上得られた駆出率、壁運動能などの指標、Holter心電図上の不整脈の重症度とは相関せず、また移動能力や年齢を加味した多重比較でも相関を指摘できなかった。

また、血流シンチグラフィとされている ^{99m}Tc -MIBIで明らかな集積低下を認めるにもかかわらず、 ^{123}I -BMIPP、 ^{123}I -MIBGで集積異常を認めない症例が20例中2例あった。

考察

CTG リピート数に相関する何らかの心筋変性所見が心筋シンチグラフィによって評価されうると考えられた。

^{99m}Tc -MIBIにおいて、 ^{123}I -BMIPP、 ^{123}I -MIBGでは異常が検出されないsegmentで集積低下が認められることは、 ^{99m}Tc -MIBIを血流シンチグラフィと考えた場合には矛盾する。また、同じく血流シンチグラフィとされている、 ^{123}I -TIを用いた研究ではこのような報告はない。この二つの核種を比較すると、心筋への取り込み経路として ^{123}I -TIがNa-K ATPaseによる能動輸送に対して、 ^{99m}Tc -MIBIは受動拡散によるとされる点。また、貯留において、 ^{123}I -TIが細胞膜電位に依存する一方で、 ^{99m}Tc -MIBIでは細胞膜電位とともにミトコンドリア膜電位にも影響されるとされる点である。一方、筋強直性ジストロフィーでは横紋筋においてミトコンドリア機能異常が指摘されている。このことから、血流ではない心筋への取り込みないしは貯留の過程における、心筋細胞の機能異常を反映している可能性が示唆される。

結論

筋強直性ジストロフィー患者において心筋シンチグラフィの異常所見は心不全の重症度との相関は認められなかった。

筋強直性ジストロフィー患者の心筋変性の評価法として心筋シンチグラフィは有用と考えられた。

^{99m}Tc -MIBIによる心筋シンチグラフィは筋強直性ジストロフィーの心筋変性の評価法となりうる可能性が示唆された。

心筋変性の病理学的所見と心筋シンチグラフィの所見との対応付けが、今後必要と考えられた。

筋強直性ジストロフィー患者と一側性横隔膜神経麻痺患者における横隔膜運動の比較について

班 員 箭原 修
(国立療養所道北病院、神経内科)
共同研究者 澤田 潤、榎本 (中谷) 雪
榎本博之、木村隆、橋本和季
(国立療養所道北病院、神経内科)

緒言

呼吸筋（横隔膜や肋間筋）の動きから胸郭の評価を判定することは、呼吸機能との関連だけでなく病状の進行や予後を知る上で重要と思われる。筋強直性ジストロフィー(MyD)患者では横隔膜の形状は、吸位では正常対照群と違い上方に凸の形状を示し、吸気時と呼気時の横隔膜の形状を比較すると相似している症例が多く、横隔膜の筋力低下があることを報告した。

そこで一側横隔膜神経麻痺の患者とMyD患者との横隔膜の動きを比較検討し、そこからMyDにおける横隔膜の筋力低下について検討した。

対象・方法

対象は筋強直性ジストロフィー患者10人と一側性横隔膜神経麻痺4人で原因は特発性が3人でpost op (MG) が1人である。

方法は血管造影装置を用いて、臥位と座位で努力の呼吸運動を行い最大吸気と呼気の運動を正面像と側面像から連続撮影した。これらの画像から最大呼気と最大吸気における横隔膜をトレースし、基準点を決めてそれを基準にして重ね合わせた。また、横隔膜の形状の相似性については、吸気と呼気の横隔膜のトレースを重ね合わせ、検討した。

結果

横隔膜神経麻痺患者の横隔膜の運動は程度の差はあるが、吸気と呼気で上下の動きは認められ、その形状は吸気と呼気でも上に凸で相似的になりMyD群と似ていた(表1)。しかし、MyD群と違い横隔膜神経麻痺の患者では肋間筋の筋力が保持されているので胸骨を含め胸郭の前方の動きが十分にあり、胸郭の動きが呼吸運動に強く関与していた。機能の違いが比較できた。

考案

神経・筋疾患では呼吸筋の低下は肺活量の減少の指標となり、またその程度が強くなると動脈血ガスで炭酸ガス分圧の増加と酸素分圧の低下となり呼吸不全になり、生命の予後を決める。しかし、呼吸筋の動きは

表1.吸気と呼気における横隔膜の相似性

正面像における相似性	MyD 横隔膜 麻痺	10/10 (100%) 4/4 (100%)
側面像における相似性	MyD 横隔膜	8/10 (80%) 4/4 (100%)

胸郭を動かし肺に空気の出し入れを行う。一般的に横隔膜は呼吸運動では吸位では平坦で呼位では上方に凸の形状を示す。今回の検討ではMyD群の横隔膜は横隔膜神経麻痺と同じ動きを示した。

これはMyD群の横隔膜は筋力が低下を示すものと思われる。この原因として横隔膜自体の筋萎縮が強いのか、それとも神経原性によって筋力低下が生じたのかが問題となるが今後のさらなる検討が必要である。

呼吸機能の肺活量に関わる横隔膜の関与である。横隔膜は呼気では弛緩し、吸気では活動する。吸気における胸郭の動きでは、まず前胸郭が前方に移動始め、その後に横隔膜が下方に移動しながら活動する。しかし、スパイロやpeak flow curveではおもに呼気の運動に関与したものであり、横隔膜の機能をこれらの検査から直接評価するのは現状では難しいと思われる。

結論

MyDで横隔膜の機能を一側の横隔膜神経麻痺患者と比較することは有用であった。とくに横隔膜神経麻痺の患者では胸骨と肋間筋の動きが保たれているので、呼吸運動を考える上で重要であった。

文献

- 1) 石原傳幸ら：筋強直性ジストロフィー症の呼吸病理. 医療49 (増刊号3) : 765.
- 2) William A. Whitelaw : Topography of the diaphragm. In the Thrax, ed by Charis Roussors. New York, Marcek Dekker, Inc. 1995, p590

ヒト線維芽細胞のMyoD遺伝子導入による筋管細胞への分化誘導とジストロフィン蛋白の発現

分担研究者：石川 幸辰¹

共同研究者：青柳智幸²、石川 悠加¹、南 良二¹

国立療養所八雲病院小児科¹、研究検査科²

【目的】 筋分化制御因子であるMyoDを非筋細胞である線維芽細胞など中胚葉系細胞に遺伝子導入することにより筋管細胞へ分化誘導することが可能になった(1),2),3)。今回、市販で入手可能なレトロウィルスを用い、分化誘導を試みたので報告する。

【方法】 ベクターの選択：薬剤耐性遺伝子を含み組み換え細胞の選別が容易であること、薬剤耐性遺伝子と挿入遺伝子が同一プロモーターの支配を受け、薬剤耐性細胞に高率な挿入遺伝子発現を期待できること等の理由からpFB-Neo Retroviral Vector (STRATAGENE)を選択した。

組み換えベクターの作成：ベクターにマウス由来MyoD cDNA (熊本大学医学部発達小児科 藤井 績先生より御恵与) を挿入し、組み換えベクターを作成後、Competent Cell JM109 (Promega)に導入した。

パッケージング細胞への遺伝子導入：組み換えベクターとポリカチオンであるLipofectAMINE (BRL)を混合し複合体を作成し、この複合体を細胞の食作用によりパッケージング細胞ψ2 (同種指向性) に導入し、さらに、一過性に産生されたウィルスをパッケージング細胞PA317 (両種指向性) に感染させた。ポリブレン加培養、数日後、薬剤(G418)による選別を行い出現した耐性コロニーを培養した。ウィルス力価の高いものを正常ヒト線維芽細胞に感染させMyoD遺伝子の導入を行った。

【結果】 組み換え細胞において細胞融合 が認められ、免疫染色によりジストロフィン蛋白の発現 が確認できた。これによりMyoD遺伝子導入による線維芽細胞の筋細胞への形質転換が証明された。今回の組み換えレトロウィルスベクターの組み換え率は7~10%であったが、レトロウィルスの利点である染色体への書き込みのため、薬剤選別により組み換え細胞のみを大量に培養し入手することが可能となり、筋生検に変わる手法として期待される。

【考察】 レトロウィルスの宿主細胞における染色体への書き込みは宿主の細胞分裂時に発生する。分裂速度の速いcell lineではウィルス感染後2~3日で薬剤選別を

行い良好な結果が得られたが正常細胞は同様ではなかった。今回用いた正常ヒト線維芽細胞においてダブルリングタイムが約4日であったため、3度の細胞分裂に要すると予想される日数(12日後)に薬剤選別時期を設定し良好な結果を得た。

これらの手法により、筋生検が入手又は施行不能な年長症例に対して、RNAを分析の出発材料にする遺伝子解析を可能にするほか、抽出蛋白の生化学的分析も可能なため、遺伝子変異の不明なDMD症例での出生前診断にも応用可能であると思われる。

【文献】

1. Weintraub, H et al. (1989) : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 5434-5438.
2. Sancho, S et al. (1993) : N Engl J Med 329, 915-920.
3. Roest, PAM et al. (1996) : Neuromusc Disord 6, 195-202.

Duchenne型進行性筋ジストロフィーにおける心機能と血漿ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド濃度に関する検討

分担研究者：石川幸辰¹

共同研究者：尾形仁子²、石川 悠加¹、南 良二¹

¹国立療養所八雲病院小児科

²札幌社会保険総合病院循環器内科

【目的】 Duchenne型進行性筋ジストロフィー（以下、DMD）は10歳代から高率に拡張型心筋症様の心病変を合併し、時に重篤となるため早期からの経過観察が必要である。ヒト脳性ナトリウム利尿ペプチド（以下、BNP）は心筋障害の鋭敏な指標とされている。今回、DMD患者について血漿BNP濃度と心エコー図（以下、UCG）による心機能指標の関係につき検討した。

【対象及び方法】 対象は心不全症状がなく、心不全発症の既往もなく、薬物療法を受けていないDMD患者25例。全例歩行消失しており、車椅子を使用している。全例にUCGを施行し、各種心機能指標を計測した。UCG前後約2週間以内に安静時に採血し、BNP値を測定した。

【結果】 BNPと左室駆出率（LVEF）・及び主室内径短縮率（%FS）について検討した。1) LVEFが低下し正常下限の50%を下回ってもBNPは正常範囲（<2pg/ml）の低い値に止まっていた。LVEFが約40%以下になってから、BNPが急速に上昇する傾向がみられた。2) %FSが低下し正常限の28%を下回ってもBNP値は正常範囲の低い値に止まっていた。%FSが約20%以下になってからBNPが急速に上昇する傾向がみられた。

【症例1】 11歳。LVEF 39.9%、%FS 17.9%。BNP 2.5pg/ml。心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）<10 pg/ml。ノルアドレナリン（NA）227 pg/ml。

【症例2】 17歳。LVEF 35.9%、%FS 17.9%。BNP 5.4pg/ml。ANP<10 pg/ml。NA 306 pg/ml。

【考察】 血漿BNP濃度は左室収縮能の低下につれて上昇することが知られている。今回の検討ではBNPはLVEF及び%FSがかなり低下してから急速に上昇する傾向がみられた。DMDでは心筋障害が進行してからBNPが上昇する可能性があり、本症においてBNPは心筋障害の指標として不十分な面もありうると思われた。心不全患者では運動負荷によりBNPが上昇することが知られている。本症では骨格筋障害のため車椅子を使

用しており、心負荷が軽減している事もBNPの上昇の遅延に関係する可能性があると思われる。

【文献】

1) McDonagh TA, Robb SD, Mudoch DR et al. : Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction. Lancet 1998 ; 351 : 9-13.

2) Steele IC, McDowell G, Moore A et al. : Responses of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide to exercise in patients with chronic heart failure and normal control subjects. Eur J Clin invest 1997; 27: 270-276.

福山型先天性筋ジストロフィーにおける感染罹患時の急性筋融解症に関する検討 -特にステロイドの効果について-

分担研究者 大澤真木子 (東京女子医科大学小児科)
共同研究者 白川清吾、服部圭太、宇杉朋子、曾根久美子、野田尚子、李 シュセン、砂原真理子、永木 茂、池中晴美、斎藤加代子
(東京女子医大小児科)

緒言：福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD) において感染罹患を契機に一過性筋力低下、血清CK値上昇を呈する例が屢々経験される。我々は、このウイルス感染に伴う急性筋融解症について報告してきた¹⁾。今回は同エピソードを呈したFCMD例で、ステロイド投与群と非投与群の比較を中心に、後方視的に治療効果を検討した。

方法：対象は1999年1月から2001年9月の3年間に何らかのウイルス感染で当科に入院したFCMD延べ30例である。診療記録をもとに発症前後の運動機能レベル(上田ら)、血清CK値の変化、ミオグロビン尿の有無、原因ウイルスを検討した。ステロイド投与の効果、運動機能回復に要した期間およびCKの低下率(ステロイド開始日から翌日、非投与群では入院初日から翌日のCKの低下率、すなわち一日でCKが最高値の何%低下したか)で比較した。また急性期と回復期で血清を採取しえた5例と血清CK上昇を伴わないウイルス感染を呈したFCMD例の発熱時の血清4検体を対照としてIL-6を測定した。

結果：一過性筋力低下、血清CK値上昇を来したのはのべ7例(23%)で、2回罹患した1例を含む。年齢は1~4歳5ヶ月(平均2歳6ヶ月)。男2例、女5例。ウイルス感染発症前CK値の平均は全体で5224IU/l、投与群で4705IU/l、非投与群で5915IU/lと差はなかった。投与前CK最高値の平均は全体で35333IU/l、投与群で43268IU/l、非投与群で24754IU/lと前者の方が高値であった。

感染病巣は肺炎、気管支炎が各1例、他の5例は上気道炎(1例はヘルパンギーナ)であった。入院時CRPは0.0~3.1(平均0.8)mg/dlであった。原因ウイルスはコクサッキーB5抗体価上昇1例、咽頭からコクサッキーA6型、A4型が各1例分離された。咽頭ぬぐい液でエンテロPCR陽性を2例で認めた。

2例で人工呼吸管理を要した。ミオグロビン尿を5例に認めたが、腎不全に至った例はなかった。有熱期間

は1~4日(平均2日)で発熱初日を1病日とすると1~10病日(平均4.7病日)に筋力低下が顕在化した。運動機能レベルは、CK最高値を呈した日にほぼ一致して低下し、うち4例は定額も消失した。

ステロイド投与例は4/7例(プレドニン静注0.5~0.8mg/kg×3回/日3日間3例、メチルプレドニゾロンパルス30mg/kg×3日間1例)であった。投与群と非投与群を比較すると、前者で比較的急速なCKの低下を認めたが、後者でも緩徐にCK値は低下し、7日目には両群ともほぼ発症前まで低下した。CKの低下率は、ステロイド投与群で平均48.6%、非投与群で26.9%と前者で有意に高かった。

運動機能が発症前と同レベルまで回復するまでの期間は、不明1例を除き、最短12日、最長87日。全体で平均35日であった。ステロイド投与群では平均51日、非投与群では平均19日と前者が長かったが、投与群の方がCK値が高値であったり、肺炎が重症であるなど比較的重症例が多かったためと考えられた。

血清サイトカインの測定結果は急性期平均7.48pg/ml、回復期は全例測定感度以下であった。CK上昇を伴わない発熱時のIL6は平均15.94pg/mlであった。IL6は炎症性サイトカインの一つで発熱と一致して上昇していると考えられ、筋融解症例はほぼ解熱後でありCK上昇と相関ははっきりしなかった。

考察：ウイルス感染による筋融解の機序は不明だが、ウイルスが細胞内に侵入するとウイルスの核酸合成がすすみ、細胞自身の核酸、蛋白合成が阻害された結果、細胞膜が部分的に破壊され形態学的に変化するといわれている。これが筋融解につながると推測される。一方、ウイルス感染により産生された炎症性サイトカインが直接筋細胞に作用することも考えられるが、池中らは筋生検を施行した2例では炎症細胞浸潤など筋炎の所見はなかったとしている。

結論：ウイルス感染を契機に発症した一過性急性筋融解症においては、エンテロウイルス属、特にコクサッキーウイルスが関与していることが多かった。

ステロイドの有効性は、運動機能回復にようする期間ではその有効性は明らかでなかったが、短期的には血清CK値を急速に低下させる効果があった。ミオグロビン尿による腎不全、筋力低下による呼吸不全を早期に予防する手段としてステロイドは有用である可能性がある。血清サイトカインの関与は明らかでなかった。

参考文献：池中晴美、河原三紀、柳垣 繁ら：先天性筋ジストロフィーにおける感染症罹患時の一過性筋力低下；東女医大誌 2000；70(臨増)：40~46

病型不明の小児期発症筋ジストロフィーに対する遺伝相談

大澤真木子（東京女子医科大学小児科）
白井素子（国立精神・神経センター神経保健研究所）、
末岡 浩（慶応大学医学部産婦人科）、
中井 博史（国立療養所八戸病院）、
川村潤（国立療養所東埼玉病院）、
斎藤 有紀子（北里大学医学部）、
玉井 真理子（信州大医療技術短期大学）、
丸山 英二（神戸大学大学院法学研究科）、
土屋 貴志（大阪市立大学文学部）、
掛江 直子（国立精神・神経センター神経保健研究所）

1980年代後半にDuchenne型、Becker型筋ジストロフィーの遺伝子およびその遺伝子産物であるdystrophinが発見された。それ以後、他の筋ジストロフィー関連遺伝子が続々と発見され、2001年12月現在では25以上の関連遺伝子が報告されている。頻度としては、Duchenne型Becker型が最も多く、X連鎖性劣性遺伝、患者さんの姉妹の子が同じ病気を発症する可能性があるという情報は、マスメディアを通して世の中に伝わっている。現実問題として、遺伝相談の現場には、dystrophinの免疫組織化学染色を実施された、或いはdystrophin遺伝子を検査された患者さんの関係者ばかりでなく、生存・非生存に関わらず末検査の患者さんの関係者が「病型不明の小児期発症筋ジストロフィーであるのに、X連鎖性劣性遺伝と決めつけて」遺伝相談に訪れることが多い。また一方では、偶然血液検査でAST、ALTの異常を発見され、肝生検やインターフェロン療法まで某大学病院の内科で実施されたDuchenne型保因者の女性も存在する。

方法：兄弟が病型不明の小児期発症の筋ジストロフィーである女性血縁者の遺伝相談を実施する場合の遺伝子検査に際して、インフォームド・コンセントを得るに当たり、必要な書式について「保因者診断意思決定支援プログラム」として検討してきた。病型・遺伝形式については多種類あるが、Duchenne型Becker型を中心に作成した。

結果：構成は医師用マニュアル、女性血縁者用説明文書、患者用説明不文書、より成る。医師用マニュアルには、クライアントと患者の同意が必要なこと、患者・女性血縁者への十分な説明が必要なこと、同意能力

のない患者は対象としないこと、これらの原則を患者家族に説明し了承を得ることの必要性を述べ、また、16歳未満の無症候性保因者の検査は原則として行わないこと、患者が11歳未満の場合、保因者診断のための遺伝子検査を行わないこと、を述べ、基本原則を作成した背景となった考え方を記述した。2)女性血縁者用説明文書では、保因者診断の説明を受ける前に理解して欲しいこととして、筋ジストロフィーの遺伝形式、保因者診断の概要、患者の病型確定や遺伝子診断への同意の必要性、同意書、遺伝子診断の具体的な手順、結果開示説明文書、意思確認書からなる。

考案：これらの文書を作成するにあたり、保因者か否かを検討する際、患者本人の遺伝子検査が必要になるが、そのインフォームド・コンセントをどのように得るべきかが問題になった。小児期発症のため、患者に同意能力がない場合も多く、また、患者に病名・病態の告知をためらわせる病気の特徴が存在し、検査目的が他の血縁者の診断意思決定のためである場合もあり、目的を告げることが患者の心情を傷つけると考えられ、検査の説明が十分に行われて来なかったのが現状であった。しかし、病名・病態を説明しないまま、本人以外がその医療情報を把握し、他者のためにのみ利用活用することは、患者からインフォームド・コンセントの機会を奪い、一般に認められている検査を拒否する機会や遺伝相談にアクセスする機会を保証されないことになり、人権侵害とも考えられ、同意能力のある患者に対しては、遺伝子検査の内容・目的を告げ、本人納得の上遺伝子検査を行うことが患者の人格を最も尊重することになるという前提のもとに作成した。16歳以上の患者に対する遺伝子検査の説明文書・意思確認書の試案を作成した。この際遺伝子検査の同意能力を16歳相当以上にした理由は、臓器移植のための臓器提供の意思表示が15歳以上であること、献血できる年齢、3省庁のヒトゲノム遺伝子解析研究指針の資料提供を16歳以上にしていることに因る。結果開示に際し、遺伝学的に説明すべき事項を中心に提案した。

今後の問題点:今回の文書作成では、患者の承諾の無い遺伝子検査は行うべきでない、11歳未満の患者の保因者診断のための遺伝子検査は行わないということを前提としたが、更に検討を続ける必要があるかもしれない。また、Duchenne型、Becker型以外の病型についても同様の冊子を作成する必要があるだろう。

高calprotectin血症に伴う家族性高亜鉛血症の合併により血中CK値の著明な変動をきたしたDuchenne型筋ジストロフィーの1例

分担研究者 大澤真木子

(東京女子医科大学小児科)

共同研究者 齋藤義朗¹、齋藤加代子¹、平野幸子¹、池谷紀代子¹、鈴木暁子¹、宍倉啓子¹、藤川 敏²、中川 清³、岩佐霞子³、萬野純恵⁴、高桑雄一⁴、守屋 真⁵、溝口信行⁵、丸子俊成⁵、

Barbara E Golden⁶

¹ 東京女子医大小児科

² 同大膠原病リウマチ痛風センター ³ 同大科学教室

⁴ 同大生化学教室 ⁵ 三菱三原病院小児科

⁶ Department of Child Health, Aberdeen University

【背景】 リウマチ性炎症性疾患において血中CK値が正常対象に比べ低値との報告¹⁾、またBecker型筋ジストロフィーで関節炎の経過中にCK値が一過性に正常化したとの報告²⁾があり、全身性炎症によるCK値低下の機転が存在する可能性がある。

【症例】 14歳男児。

【家族歴】 母が9歳時若年性関節リウマチと診断。ぶどう膜炎合併。25歳時までステロイド剤服用。

【現病歴】 乳児期に精神運動発達遅滞・低緊張・貧血・肝脾腫にて発症。血中CK(806IU/l)、CRP高値、赤沈亢進、リウマチ因子陽性を指摘。筋生検上筋線維の大小不同・壊死/再生線維を認めた。多発性筋炎の疑い下ステロイド剤投与開始。多発性関節炎・発熱・頸部リンパ節腫脹を反復し、各種抗免疫療法に抵抗性で筋萎縮・筋力低下が進行。9歳時起立不能、10歳時上肢挙上不能。血中CK値は早期より125-25000 IU/lと著明に変動。14歳時精査入院。血中CK値とCRP値の間に逆相関の傾向があることに気付かれた。

【身体所見】 身長128cm(-3.5SD) 体重20.8kg (-2.7SD) 頭囲53cm (-0.8SD)。脾腫2cm。知的障害中等度。全身性筋萎縮・近位筋優位の筋力・筋緊張低下、右凸の側彎、右膝関節変形を認む。座位保持可、寝返り不可。巨舌以外筋仮性肥大なし。

【検査所見】 Hb 10.9g/dl, WBC 1500 (N 36.5, L 58.5, Mo 1.9, Eo 0.8 %), Plt 32.0万。ESR 68 mm/hr, CRP 2.2

mg/dl, CK 988 IU/l, Aldolase 26.2 IU/l, LDH 1790 IU/l。自己抗体陰性、甲状腺機能正常。NCV・脳波・ABR・VRP・頭部MRI正常。筋MRIで炎症所見なし。染色体46,XY。10カ月時の筋生検検体を免疫染色にて再検、dystrophin陰性、utrophin陽性、血管壁のMAC陽性。CD4, CD8陽性細胞は対照のDMDと同程度存在。dystrophin遺伝子(PCR法)の欠失を認めず。貧血・白血球減少の原因検索中1085 μg/dl(正常65-110)の高亜鉛血症を発見。母も高値。ゲル濾過法・原子吸光法により血中亜鉛の大部分はアルブミン分画よりも高分子の分画に存在すること、ELISA法により、血漿calprotectin高値(9.0g/l, 母6.1g/l;正常<1mg/l)が判明。

【考察】 乳幼児期に関節炎・貧血・肝脾腫等で発症した高亜鉛血症は孤発例2例の報告があり^{3,4)}、1例で亜鉛結合蛋白であるcalprotectinの異常高値(6.5g/l)が確認されている⁵⁾。同蛋白はS100蛋白に分類される多機能蛋白で、顆粒球中に豊富に存在。抗細菌作用・炎症修飾作用を有し、感染症・膠原病などの炎症性疾患で最高値100 mg/l程度まで上昇する。本母子例により、遺伝性のcalprotectin代謝障害が存在し、リウマチ症状を呈することが確立された⁶⁾。本例はDMDにこの疾患が合併したと推測され、乳児期の低緊張や血中CK値の変動はこの合併による修飾によると思われる。全身性炎症によるdystrophinopathyにおけるCK値低下の機序は不明であり、calprotectinの関与も未知であるが、筋細胞膜への直接作用による安定化・utrophinの発現亢進・筋組織中リンパ球への抑制作用などが推測される。

【文献】 1) Sanmarti R, et al. : Reduced creatine kinase activity in inflammatory rheumatic diseases. J Rheumatol 1996;23:310-2

2) Maegaki Y, et al. : Normalization of creatine kinase level during arthritis in a patient with Becker muscular dystrophy. Neurology 1999;52:172-4

3) Hambidge KM, et al. : Hyperzincemia in a patient with pyoderma gangrenosum. J Pediatr 1985; 106: 450-1

4) Sampson R, et al. : A case of hyperzincemia with functional zinc depletion: a new disorder? Pediatr Res 1997;42:219-25

5) Richmond R, et al. : Dysregulation of calprotectin metabolism is associated with a multi-system autoimmune disease. Arch Dis Child 1999;80:A67

6) Saito Y, et al. : Hyperzincemia with systemic inflammation: a heritable disorder of calprotectin metabolism with rheumatic manifestations? J Pediatr: in press

トランスジェニックマウスを用いた血管平滑筋におけるジストロフィンの基礎解析

分担研究者 三池輝久 熊大・発達小児科
研究協力者 伊藤薫、木村重美、小篠史郎、宮城俊彦
熊大・発達小児科
荒木喜美、阿部訓也、山村研一
熊大・臓器形成
鈴木 操
熊大・動物資源開発
三輪 岳志
大阪大学・遺伝情報実験施設

緒言

DMDでは筋膜でジストロフィン(dy)が欠損しているが、筋壊死のメカニズム及びdyの生理作用は不明である。我々はDMDで筋壊死が起こるメカニズムにはnNOSの関与などによる血管平滑筋の機能障害に伴う異常(1)と血液凝固系の亢進が関与していると考えに至っている。そこで、mdxマウスの血管平滑筋のみにdyを発現させたトランスジェニックマウス作製し、血管病変に由来する筋壊死の有無を検討すればdyの生理機能についての大きな情報が得られるのではないかと考えた。

方法

平成12年に報告したように、mdxマウスの血管平滑筋特異的にジストロフィンを発現させる(骨格筋には発現させない)ことを目的に、ヒト平滑筋 α -アクチンプロモーター(EA4.7)(2)にヒトのジストロフィンcDNA全長をつなぎ、次いでSV40のPolyA signalをつないだコンストラクト(E4.7-dy-An)を構築した。次にこのコンストラクトが実際にdyを発現できるかをC2C12細胞(マイオブラスト)にリポフェクション法で導入し、in vitroでジストロフィン染色を行い、その発現を検討した。

その後、作製したE4.7-dy-AnをC57BL/6のマウスの受精卵約800個にマイクロインジェクションし、仮親マウスの子宮にその卵を戻した。生まれたマウスのしっぽよりDNAを抽出後、プロモーターの一部をプローブに用いてサザングプロテイングを施行し、E4.7-dy-Anが個体に導入されているかを確認した。また、同時にプロモーター領域とジストロフィン領域にプライマーを設定しPCR法でも確認をした。

結果

E4.7-dy-AnをC2C12細胞に導入した後、ジストロフ

イン染色をして、dyの発現を調べた結果、約20%の細胞がジストロフィン陽性であった。ネガティブコントロールのトランスフェクションをしなかった細胞には陽性細胞は認めなかった。

800個のマウスの受精卵にマイクロインジェクションし、仮親にその卵を戻した結果、41匹のマウスが生まれた。その内2匹死亡した。残った39匹のマウスをサザングプロット法とPCR法によるスクリーニングの結果、7匹のトランスジェニックマウスを得ることができた。このうち1匹が原因不明で死亡した。結局得られたトランスジェニックマウスは6匹である。

考察

E4.7-dy-Anの作製は全長で19kbである。ベクターの長さを含めると22kbあり、プラスミドの増殖できる限界の長さである。このコンストラクトを通常の方法で作製するには多大の労力と時間を要した。よって、平成12年度に報告した様に、まず、必要な制限酵素のサイトを人工的に作製し、そのサイトを利用して容易にこのコンストラクトを作製することが出来た。

筋分化の過程でジストロフィンの発現はマイオチューブより確認できるようになる。C2C12細胞はマイオブラストであるため、ジストロフィンの発現を認めない。このE4.7プロモーターでは、マイオブラストで遺伝子の誘導は可能である(2)。よって、C2C12細胞にE4.7-dy-Anを導入後、ジストロフィン陽性細胞を認めれば、このコンストラクトがdyを発現することが可能と考えてよい。

E4.7-dy-Anをマウスの受精卵に導入後、6匹のトランスジェニックマウスを得ることができた。この6匹をmdxマウスと交配して血管平滑筋のみにdyが発現するmdxトランスジェニックマウスを得る予定である。その後、このマウスを用いて血管平滑筋に於けるdyの機能を解析する。

結論

平成13年度はmdxの血管平滑筋のみにdyを発現させることが可能であるコンストラクトを持つ6匹のトランスジェニックマウスを得ることができた。

参考文献

- 1 Chang, W.J et al. : Neuronal nitric oxide synthase and dystrophin-deficient muscular dystrophy, Proc Natl Acad Sci U S A, 93, 9142-7. 1996
- 2 Nakano, et al. : Transcriptional regulatory elements in the 5' upstream and first intron regions of the human smooth muscle α actin encoding gene. Gene 99 285-289 1991

筋ジストロフィー患者に対する フットポンプの使用

山田 史朗、岩谷 道生

国立療養所 岩木病院 整形外科

【はじめに】

筋ジストロフィー患者の死因としてDuchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 患者の血栓塞栓症が注目されてきた。また筋緊張性ジストロフィー (MYD) 患者においても血栓準備状態にあるという報告がある。

整形外科領域においても人工関節置換術後の深部静脈血栓症や肺塞栓症が問題となっている。その予防法としてWafarin 投与など薬物療法的なアプローチも行なわれているが、足静脈圧迫装置 (フットポンプ) を使用することでも同等の効果が得られるとされている。我々は筋ジストロフィー患者にフットポンプを用い線溶系、凝固系、循環系についてその影響を検討したので報告する。

【対象および方法】

当院に入院中のDMD患者17名、MYD患者25名に対し採血を施行しPT、APTT、fibrinogen、D-DimmerおよびBNPを測定した。その結果をもとに足静脈圧迫装置 (SIGMAX 社製PLEXIPULSE 以下フットポンプ) 装着に同意が得られたDMD患者6名、MYD患者10名の4ヵ月後の変化を検討した。また装着4ヶ月の時点でのTATについて装着者と非装着者の検討を行なった。装着条件はDMD患者が隔日で2時間以上、MYD患者は連日1時間の装着とした。

【結果】

施行前

PT またはAPTTの異常をDMDでは3名/17名、MYD3名/25名に認めた。Fibrinogen 異常をDMDでは3名/17名、MYD7名/25名に認めた。D-Dimmerの異常をDMDでは4名/17名、MYD8名/25名に認めた。BNPの異常をDMDでは5名/17名、MYD12名/25名に認めた。

これらの中で患者のなかからDMD6名、MYD10名にフットポンプを装着した。

DMD装着者

PTもしくはAPTT異常者数は3名から4名になった。Fibrinogen異常者数は1名で変化はなかったが平均値は343mg/dlから313.1mg/dl へと減少した。D-Dimmer

の異常者数は2名で変化はなかった。BNPの異常者数は5名で変化はなかった。1名の著明なBNP上昇を反映して平均値は31.5 μ g/dlから40.0 μ g/dlと増加した。

MYD装着者

当初は10名が装着していたが2ヶ月の時点で鬱状態のため1名の装着を中止し計9名となった。

PTもしくはAPTT異常者数は2名から0名になった。Fibrinogen異常者数は6名から3名になった。平均値は448.0mg/dlから359.3mg/dl へと減少した。D-Dimmerの異常者数は4名で変化はなかった。BNPの異常者数は7名から5名となった。平均値は44.0 μ g/dlから20.6 μ g/dlと減少した。

TAT

装着者は平均8.5ng/mlで非装着者の平均は16.5ng/dlであった。両者に有意差は認められなかったが、装着者に低い傾向が認められた。

【考察】

筋ジストロフィー患者の血栓準備状態の原因として骨格筋の収縮不足による静脈還流の低下、心不全によるうっ血、毛細血管の内皮細胞の形態異常などが上げられている。また血栓形成におけるVirchowの3因子として血管壁の損傷・血流の停滞・凝固亢進が知られている。歩行可能な患者でも血液凝固系に異常が認められ、DMDでは筋ジストロフィー自体が血栓準備状態であるという考えのある一方で、長期臥床や不動化の悪影響は否定できない。そこで血流 (おもに静脈還流) の改善により血栓形成のrisk factorの軽減や凝固亢進状態の改善が期待できるかの検討を行なった。経過観察期間が4ヶ月と短期ではあるが装着によりfibrinogenとTATについてよい影響を与える可能性が示された。ともに高値である状態は血栓形成の危険因子とされておりこの状態が今後も維持されるものか興味深い。

下肢静脈還流の増大による心臓への影響が心配されたが、下大静脈の容積のコンプライアンスが大きいせいもあってか心機能については大きな変化は認められなかった。

今のところ装着により大きな合併症もなく、患者にも気持ちがよいと好評であり長期の観察を継続する予定である。

Duchenne 型筋ジストロフィーの下肢手術 —第4報—

岩谷 道生、山田 史朗

国立療養所 岩木病院 整形外科

【目的】

Duchenne 型筋ジストロフィー（以下DMD）は、進行性の筋疾患で筋力低下だけでなく関節の拘縮、立位バランスの障害等により、10歳前後で歩行困難となる。我々は、歩行能力維持と拘縮の改善を目的に、Rideauが報告している腸脛靭帯（以下ITB）切除を中心とした下肢手術を本邦では最初に行ってきた。術前・術中に注目した点と我々の改良点を若干の考察を含めて報告する。

【対象および方法】

2001年12月までDMD男児8例を対象に手術を施行した。手術時年齢は5歳11カ月から8歳3カ月で、術後経過観察期間は4ヶ月から4年である。術前の機能障害度（厚生省の筋ジストロフィー研究班）はstage Iが2例、stage IIが2例、stage IVが4例であった。

術前の股関節の屈曲外転拘縮の評価としてdangling leg testに注目した。仰臥位で下腿を垂らし正中線上で大腿の挙上を行ったときの外転について評価を行う方法である。定量化は行わず、正中で挙上できないものを陽性としたが8例とも陽性であった。さらに我々は大腿外側でのITBによる圧迫に着目し、同部の陥凹を全例とも確認した。

手術は全身麻酔下で行った。原法では hip flexion contractor release、lateral thigh contracture release、knee flexion contracture release、heel cord contracture releaseの4カ所のreleaseからなるが、我々はhip flexion contracture release、lateral thigh contracture releaseのみを行った。Lateral thigh contracture releaseとして最初の4例は原法通りに大腿骨大転子から外顆にかけて皮切を加えITBと筋間中隔を切除した。最近の4例ではcosmesityも考え皮切を2つに分けて皮下にトンネルを作成し同様の処置を行った。Hip flexion contracture releaseとして上前腸骨棘に皮切を加え、大腿筋膜張筋、縫工筋の起始部を切離した。後療法はギプス固定や特別な装具を使わず、翌日から全荷重での立位訓練、2日目から歩行訓練を開始した。

【結果】

術中所見では症状が進行しているほど筋の変性が明らかであった。全例、術直後のstageの悪化は認めな

かった。術後に立位不能となった3例の年齢は9歳10ヶ月から11歳2ヶ月であった。短期的に運動機能の改善が認められた症例もあった。

【考察】

DMD はジストロフィンが欠失し筋線維の崩壊を引き起こすと考えられ、対症療法が中心である。本法はRideauが報告して以来欧州では長期の報告もなされている。わが国ではStage IVからstage Vへの移行期間が平均8カ月であるが、術後2年以上stage IVを維持していた症例も2例あり、hoppingや走ることが可能となるなど運動機能が短期間にせよ改善された症例もあることから下肢機能の維持には有効と考えている。

本来Rideauの推奨する適応はstage IやIIの初期の症例である。そのためその時期に家族に手術に対する同意が得られにくい。可能な限りのインフォームドコンセントに加え患者の家族間で手術の感想を話し合ってもらった。

最初の4例は創が大きくケロイド状となったため現在は小皮切を2つ組み合わせている。術後の疼痛が軽減し後療法も進みやすくなったと考える。

適応を選べば今のところほぼ全例に何らかの機能の改善が認められたことからこの手術は有効と判断している。

【結語】

DMD 男児8例に Rideauの推奨する下肢手術の変法を行いその有効性を認めた。

Duchenne型筋ジストロフィー患者の 脊柱変形に関する多施設調査（第二報）

岩谷 道生

国立療養所 岩木病院 整形外科

【緒言】

2000年度、筋ジストロフィー研究石原班の班員の協力を得て多施設のDuchenne型筋ジストロフィー患者の脊柱変形の横断的調査し、報告した。昨年の内容を要約すると、1)13歳以上で歩行不能となるとその半数に30°以上の側弯が生じること、2)脊柱の変形は必ずしも全例に起こるのではなく変形の強弱やパターンの違いが生ずること、3)高度変形となると肺活量の低下が起こる傾向があること、4)気道の閉塞を起こし得るほどの変形は比較的まれであること、5)骨盤傾斜角と脊柱変形に伴う訴えの間に関係があり、その改善が脊柱変形の治療目的となることである。経年的に同一疾患を観察すること、横断的調査の症例数をふやすことを目標に今年(2001)度にもおなじ施設を対象に同様の調査を行った。

【対象と方法】

今回調査協力の得られたのは全国9施設で、Duchenne型筋ジストロフィー患者、8から19歳の年齢の範囲、73例である。調査項目は、昨年度同様、坐位と臥位でのX線評価、ADL評価、肺活量、脊柱変形による問題点などである。

【結果と考察】

2年続けて経年的に調査できたのは44例、今回新たに29例の調査が可能であった。今回の調査は、73例を用いた横断的調査と経年的な症例に関しては主に進行に関して検討した。

レントゲン所見は有効な方法で検査が行われたものは50例、うち坐位側面を観察できたのは30例であった。

レ線前後像では、胸腰椎のシングルカーブ、右凸16例、左凸6例、腰椎のみのシングルカーブ右凸2例、左凸10例、胸椎のみのシングルカーブ6例、胸椎右凸のダブルカーブ4例、カーブのないもの6例であり、昨年とその構成は大きく変わらなかった。今回の調査で、わずか1年間に急激な進行を認めた例があり、急激に進行する時期を認識する事の重要性が明らかとなった。進行が予想されるのは、起立不可能となった頃に一致しており、この時期に頻回な検査と治療の検討することが望ましいと考えられる。

また、本年は骨盤傾斜角と側弯に伴う訴えの間に相

関はなく、昨年と違う結果となった。

側弯と肺活量の問題については、筋力低下を伴っている、また、基準となる身長や基準肺活量の算定が困難である点から今回の調査からは除外された。正しい評価法の確率は困難であるが必要と考えられる。

今回、新たに坐位矢状面の形態に注目し、分類し、進行の予測に使えるかどうか、検討した。2年間フォローでき、かつ坐位側面のある23例を対象にした。脊椎の変形を正常、腰椎の後弯、胸腰椎前弯の3タイプに分け検討した。3タイプとコブ角の間には関係がなかったが、機能障害度との関係をみると、腰椎後弯型では7でとどまっている場合が多く、この型は姿勢は悪いが坐位をとるに当たって機能的な変形なのかもしれないことが示唆された。胸腰椎前弯型では坐位をとれない、脊椎の可動性が失われ、また二次的に気管の変形も著明となることから、このタイプを手術などにより防止することが臨床的には重要ではないかと思われた。

いずれにせよ、筋力低下より起こってくる脊柱変形を従来通りに冠状面のみで評価するCobb法ではADLでの困難を表すには不十分であり、矢状面の後弯変形を含めた三次元的な評価法が必要であると考えられる。

加えて、本年も今回の調査の問題点としては、施設間の調査方法の格差や筋ジストロフィー患者と整形外科医との関わりの薄さがあげられた。

今後、さらに経年的に同一疾患を観察すること、横断的調査の症例数をふやすことにより得られる情報は筋ジストロフィー患者の脊柱変形に対する管理法を確立するにあたり重要なものになると考えられる。

Myotonic dystrophyにおける 大脳白質病変についての組織学的検討

Morphometrical analysis of the cerebral white matter
degeneration in myotonic dystrophy

班員 今野秀彦 (国療西多賀病院神経内科)
共同研究者 高橋俊明、金原禎子、吉岡 勝
斉藤 博 (国療西多賀病院神経内科)
高瀬貞夫 (広南会広南病院神経内科)

目的: Myotonic dystrophy(MyD)の大脳にも種々の組織学的な変化が指摘されている。灰白質では神経原線維変化や好酸性封入体の出現、一方、白質では髄鞘の脱落が報告されている。特に白質の変化は、脳MRIでも異常所見として確認されるものであるが、しかし、髄鞘を構成する細胞であるoligodendroglia(ODG)についての報告は見られない。今回、MyD2例の剖検脳で、髄鞘の淡明化との関連からODGの消退について定量的に検討を行った。

対象及び方法: MyD2症例の剖検脳からH.E., K.B., Bodian, Holzer等の一般染色、GFAP免疫染色標本を作成し、光学顕微鏡下に観察した。

症例1: 死亡時43才、男性。父親に類症あり。中学卒業頃、両手の脱力および把握性ミト-7で発症。禿頭・視力低下・糖尿病を伴い肺炎で死亡。全経過約30年。

症例2: 死亡時62才、男性、家族歴なし。32才頃、禿頭と性欲減退で発症。白内障・把握性ミト-7・嚥下困難・全身筋力低下を示し肺炎にて死亡。全経過約29年。糖尿病はなし。

方法: 大脳のK.B.染色標本で前頭葉と側頭葉の白質にみられた境界不明瞭な淡明化巣について、隣接するH.E.染色標本で、これに一致する領域の小円形核の数を接眼マイクロメータと10倍の対物レンズを用いて実測した。淡染部と正染色部とで1mm²の範囲をそれぞれ5カ所を計測しその平均値で比較検討した。淡染部でのGFAP免疫染色で陽性細胞が乏しかったことから、計測された核の大部分はODGと考えた。同様に淡明化の見られた2症例、すなわちALS例(症例3)と転位性脳腫瘍の症例(症例4)を対照症例とした。

結果:

	前頭葉		側頭葉	
	正染色部	淡染部	正染色部	淡染部
症例1(MyD) 43y.o. M	406.4	237.2(58.3%)	505.2	329.6(65.2%)
症例2(MyD) 61y.o. M	411.2	263.0(64.0%)	394.2	280.6(72.6%)

症例3(ALS) 69y.o. F 448.2 421.8(94.1%) 505.8 433.6(85.7%)

症例4(B.T.) 69y.o. M 398.2 375.4(94.3%) 507.6 354.8(69.9%)

実測数を表に示したが、MyD例の2例では前頭葉と側頭葉とも淡染部では正染色部に比較して、約60-70%の核の減少が認められた。症例4の側頭葉での減少は、腫瘍の近傍であったことによると思われた。更に、他の標本での観察からMyD例では、髄鞘の染色性の低下と大径軸索の減少が観察され、ALS例(症例3)では、軸索とともに髄鞘にも染色性の低下が見られた。また転位性脳腫瘍の症例(症例4)では、染色性は保たれていたが線維密度の低下が明らかであった。

考察: 髄鞘染色での淡明化にも種々の病態があり、症例3(ALS例)のような標本作成過程で生じたアーチファクトと考えられる場合や腫瘍周辺部の浮腫に伴って線維密度の低下を来してくる場合のあることが示された。これに対し、MyDでは、髄鞘のみならず軸索にも変化が生じており、髄鞘の構成細胞であるODGにも障害がおよんでいることが確認された。一般に中枢神経組織の障害に対して反応性グリアの増加が生じるものであるが、MyDの場合軽微な変化が長期間に亘って慢性に進行していることが想定されることから、組織反応も乏しいものと考えられる。脳MRIでの白質病変は前頭葉と側頭葉に観察されることが多いことから、髄鞘の変化は軸索変性に伴った二次的なものと考えられる。しかし、軸索の変性は神経細胞の変性にも関連するものであるにもかかわらず、今回の症例のように大脳皮質の細胞構築に乱れは確認されないのが一般であり、今後は大脳皮質についても定量的な検討が必要と思われた。

頸部脊髄症を生じた 筋緊張性ジストロフィーの1例

Myotonic dystrophy associated with cervical myelopathy
: a case report

今野秀彦 (国立療養所西多賀病院神経内科)
松原吉宏, 山崎 伸, 川原 央, 石井祐信
(同整形外科)

[症例] 51歳, 女性

[現病歴] 35歳時, 近医で筋緊張性ジストロフィーの診断を受けた。2000年3月から両下肢の脱力感が出現し, 一本杖歩行となった。2001年4月, 目薬を使おうとして頸椎を後屈した際, 上肢から尺側2指への電撃痛が出現, 5月, 下肢脱力が進行し, walker歩行となり当院神経内科入院, その後, 当科へ紹介された。

[現症] Lhermitte様徴候が陽性で頸椎の後屈で上肢から尺側2指へのしびれが再現された。両四肢遠位筋にG-Pの筋力低下を認め, 深部腱反射は全て低下していた。Hoffmann, Babinski反射は陰性であった。両前腕尺側から尺側2指にかけて痛覚過敏がみられた。JOA scoreは現疾患により12点満点で(2,1,0,2,2,3)=10であった。

[画像所見] 頸椎X線側面像で発育性狭窄や動的狭窄, OPLL, Spurは認められなかった。脊髄造影では正面像でC6/7でIncomplete blockがみられ, 側面像で前方から軽度の圧迫が認められた。CTMではC6/7で右側優位に前方からわずかに脊髄が圧迫されていた。MRIではC6/7高位でT1強調で椎間板の突出, T2強調で髄内に高輝度領域がみられた。MRIから椎間板ヘルニアの存在を疑い, 椎間板造影を行った。側面像でテント状の硬膜外漏出を認め, 占拠率は23%, SACは10mmであった。CTDでCTMでの脊髄変形の部位に造影剤の貯留を認め, 椎間板ヘルニアの存在を示唆した。

[治療] 手術はC6-7前方除圧固定術を行った。頸部筋群は白色を呈し, 萎縮していた。明らかなPLLからのヘルニア脱出孔, ヘルニア腫瘤はなかった。術後Lhermitte様症状の消失, 上肢から尺側2指のしびれが改善した。JOA scoreは(2,1,1,2,2,3)=11となった。神経学的な改善は軽度であったが, 満足度は高かった。

[考察] 自験例では現疾患のため四肢腱反射の低下があること, 巧緻障害や歩行障害が脊髄症の症状とoverlapし, とらえがたかったことから診断に注意が必要であ

った。診断に際して, 知覚障害とLhermitte様徴候が有用であった。しかし, 本疾患は内分泌疾患として糖尿病を合併することが多く, 糖尿病性ニューロパチーによるしびれや知覚障害を合併するとさらに診断は困難になるものと考えられる。また, 周術期管理の問題点として筋弛緩薬に対して, 筋強直を増悪させるため使用できないこと, 心疾患, 呼吸機能低下がみられることから全身状態の観察がより一層重要である。

日本人三好型遠位型筋ジストロフィーにおける dysferlin遺伝子変異とその臨床的特徴

Dysferlin mutations and genotype-phenotype
correlation in Japanese patients with Miyoshi myopathy.

分担研究者 今野秀彦

(国立療養所西多賀病院神経内科)

研究協力者 高橋俊明、鴻巣武、斎藤博 (同神経内科)

近藤恵美 (同臨床検査科)

中井博史 (同小児科)

埜中征哉、荒畑喜一

(国立精神・神経センター)

青木正志、水野資子、糸山泰人

(東北大学医学部神経内科)

三好型遠位型筋ジストロフィーは常染色体劣性遺伝形式をとり筋萎縮が腓腹筋に優位で若年発症、血清CK高値が特徴である。1998年に肢帯型筋ジストロフィー2B(LGMD2B)と共通の原因遺伝子dysferlinがクローニングされた。本邦三好型遠位型筋ジストロフィー患者でのdysferlin遺伝子変異と臨床的特徴の検討を行った。

臨床的に診断された三好型遠位型筋ジストロフィー32家系、肢帯型筋ジストロフィー5家系及び高CK血症2家族においてdysferlin遺伝子異常の検索を行った。インフォームドコンセントを得た患者末梢血リンパ球からDNAを抽出し、全55個のエクソンごとにPCR法にて遺伝子を増幅しSSCP法にて遺伝子変異をスクリーニングした。検出された変異をPCR産物からの直接塩基配列決定法にて同定した。

三好型遠位型筋ジストロフィー24家系、肢帯型筋ジストロフィー3家系、高CK血症2家系(うち1家系では1アレルにのみ)に計19種類の患者特異的な遺伝子変異が認められた。これらの変異の多くは途中で終止コドンが出現するtruncating mutationであった。dysferlin遺伝子変異は外国例ではC末端付近に集中していたが、日本人においては同遺伝子全体に均等に見られた。G1310+1A変異は4家系、C1939G変異は3家系、G3370T変異は5家系、3746delG変異は5家系、及び4870delT変異は3家系に認められた。これら5種類の変異で66%を占め日本人に頻度が高いと思われた。本研究で遺伝子変異が確認された三好型遠位型筋ジストロフィーの発症年齢は13歳から37歳までにわたり平均 22.2 ± 7.0 歳であった。CK値は最も低い症例でも1,289IU/lあり平均は $5,498 \pm 4,188$ IU/lと高値を示した。既報告例1)も含めた日本人dysferlinopathyの平均発症年齢は23歳であったG3370T変異をもつ症例では平均発症年齢が13歳と早くCK値も16,155IU/lと非常に高値

を示した。これらのことからG3370T変異は軽症型、G3510A変異は重症型と関連している可能性があると考えた。

次に肢帯型筋ジストロフィーに占めるLGMD2Bの割合を調べるため無作為に肢帯型筋ジストロフィー患者のdysferlin遺伝子変異をスクリーニングした。対象は1999年4月から2000年9月まで当院に入院し臨床的に肢帯型筋ジストロフィーと診断された15家系である。方法は上記三好型遠位型筋ジストロフィーのときと同様である。5家系で患者特異的な遺伝子変異が認められた。これらLGMD2B患者では発症年齢は17歳から28歳までにわたり平均 22.7 ± 4.6 歳であった。経過途中からの長期フォロー例が多く発症初期の血清CK値は不明であったが、最近の血清CK値はLGMD2B患者いずれも正常値を上回っていた。対象となった肢帯型筋ジストロフィー患者の3分の1にdysferlin遺伝子変異がスクリーニングされたことよ肢帯型筋ジストロフィーのうちLGMD2Bの占める割合は比較的高いものと思われた。

参考文献

1) Mstsumura T, Aoki M, Nagono A, et al.: Molecular genetic analysis of dysferlin in Japanese patients with Miyoshi myopathy. Proc. Japan Acad. 75, Ser. B, 207-212, 1999.

Duchenne型筋ジストロフィーを伴う 脊柱変形に対し下部腰椎までの 後方矯正固定術を行った2例の意義と問題点

中田好則、高相晶士、井上雅俊、大塚嘉則
国立療養所千葉東病院整形外科

【緒言】 Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)を伴う脊柱変形は進行性であり、座位バランスや心肺機能にも著しい悪影響をもたらし、早期の手術治療が提唱されている。今回、DMDを伴う脊柱変形2例に対し腰仙移行部を含まない下位腰椎までの後方矯正固定術を行い、その意義と問題点につき検討した。

【対象と結果】 【症例1】 15歳、男性。3歳時にDMDの診断を受け9歳時に歩行不能となり、車椅子移動となった。13歳時に側彎が出現し、14歳時に高度側彎となり当科を受診。座位バランスが悪く、体幹支持に側方マットを当て、さらに両上肢で支えていた。%VCは44.2%、PaO₂は79.2mmHgで軽度低下していた。術前レ線像ではT5-L3間に64°、頂椎L1の右凸側彎と、19°の骨盤傾斜、T7-L5間に61°の後彎が認められた。Paragon SystemにAtlas cableを併用し下位腰椎までの後方矯正固定術を行った。術中、脊柱傍筋は線維化が著しく、ほとんど弾性が認められないため数箇所横切を加えることにより展開可能となった。椎弓が脆弱なためにcantilever操作時にL5の凸側の椎弓骨折が生じ、T2よりL4までの後方固定となった。手術時間は8時間、出血量は2080mlであったが、自己血輸血およびセルセイパーで対処できた。術後、35°の側彎、14°の骨盤傾斜、29°の後彎となったが、その後進行し、術後2年ヶ月の現在では、骨癒合を認めるもののそれぞれ46°、19°、34°となった。座位バランスでは右肩拳上位となっているが、座位の保持能が改善され、両上肢の機能が著しく向上した。また、車椅子とベッドとの移動介護も著しく改善した。術後の呼吸機能は、%VCが術後9ヶ月で39.0%、術後1年2ヶ月で39.4%、術後1年9ヶ月で36.6%と軽度低下した。【症例2】 14歳、男性。2歳6ヶ月でDMDの診断を受け、10歳時より車椅子移動となった。12歳5ヶ月時に側彎を指摘され、当科を受診した。術前%VC44.6%でその他はほぼ正常範囲であった。座位での体幹支持に両上肢を必要としており、functional quadriplegiaに近い状態であった。術前レ線像では、T7-L4間に56°頂椎T12の右凸側彎と、17°の骨盤傾斜、T7-L4間に66°の後彎が認められた。牽引レ線像で側彎は21°となり、両腸骨稜とL5とのなす角度は

10°と骨盤傾斜の改善の可能性が認められた。手術は後方よりParagon SystemとAtlas cableを用いたT3からL5までの矯正固定術を行った。手術時間は7時間10分、出血量は900mlであった。術後21°の側彎、6°の骨盤傾斜、27°の後彎となった。術後2年3ヶ月の現在それぞれ24°、7°、27°とレ線上はほとんど悪化していない。右肩拳上位の座位バランスは、保持能が改善され、箸を使った食事摂取が可能となり、家族による移動介助も容易となった。しかし、術後11ヶ月より、頸部の筋力低下のためバランスが崩れ現在頸椎装具が必要となりつつある。術後の呼吸機能は、%VCが術後4ヶ月で46.7%、1年3ヶ月で47.1%となったが、1年8ヶ月では23.5%とかなりの低下を認めてきている。

【考察】 DMDによる脊柱変形の手術目的は、1)座位保持能の向上により、上肢を使った体幹支持が不要となることによるfunctional quadriplegiaの改善、2)易介護性、3)呼吸機能の改善、4)延命効果などがあるが、後二者に関しては議論のあるところである。今回の2症例では、ともに、1)および2)が獲得でき、親の満足度が著しく高かった。3)に関しては症例1では軽度認められたが症例2では不明である。4)に関しては現在症例数が少なく現在のところ判定はできない。手術法に関しては、骨盤または仙椎までの長範囲固定術を推奨している報告が多く、その成績も安定している。しかし、骨盤までの固定による合併症、すなわち手術時間、出血量の増大、長範囲固定にみられるL5-Sでの関節およびそれによるロッド、スクリュウの折損、L5-S固定後の前屈、後屈制限によるADL障害が考えられる。この術式に比較して下位腰椎、特にL5までの固定の意義として、1)L5に付着している強靱なiliolumbar ligamentsを介しての骨盤傾斜の改善の可能性、2)手技的に容易であり、患者および家族に受け入れやすいため多施設で手術が可能である、3)手術時間、出血量の軽減が考えられる。一方、問題点としては1)脆弱な椎体、椎弓によるinstrumentation手術におけるスクリュウやフックの脱転、2)骨盤傾斜の改善度や低下や、術後の進行(特にL4までの固定例)、3)残存した骨盤傾斜による腰痛の可能性、4)矢状面バランスの改善度の低下である。今回、術中矯正にて15の椎弓骨折を起こし、L4までの固定となった症例1では術後に骨盤傾斜が悪化した。また、症例2では術後7°の骨盤傾斜が残存した。しかし、両症例ともに座位保持が著しく改善された。すなわち、術後のレ線像での骨盤傾斜の程度とADL障害との相関性は認められなかった。術中及び術後の合併症として、心肺機能障害、創感染、尿路感染、ロッドの折損及び脱転が高率(32~61%)であると報告されており、症例1において術中矯正による椎弓骨折が認められた。いずれにせよ、DMDに対する手術は高

率な合併症を伴い、家族のコンセンサスが必要である。

【結語】 今回の2例より、症例によってはL5までの固定術にて十分なQOLの改善が得られると考えた。

【文献】 1) Broom, M.J., et al.: Spinal fusion augmented by Luque - rod segmental instrumentation for neuromuscular scoliosis. J.Bone Joint Surg., 71-A:32-44,1989.

2) Galassco C.S.B., et al.: Spinal stabilization in muscular dystrophy. J.Bone Joint Surg., 74-B:210-214,1992.

Duchenne型筋ジストロフィーに伴う 脊柱変形に対する後方矯正固定術の短中期経過

中田好則, 高相品士, 井上雅俊, 大塚嘉則,
国立療養所千葉東病院整形外科

【緒言】 Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)を伴う脊柱変形に対して早期の手術治療が提唱されつつあるものの、術中術後の合併症も高率であるとの報告も散見され、我が国においては未だ一般化されていないのが現状である。筆者らは1997年7月から2001年9月までにDMDを伴う脊柱変形に対し後方矯正固定術を10症例行ってきたので、それらにつき、検討、考察を行った。

【対象と方法】 1997年7月から2001年9月までにDMDを伴う脊柱変形に対し後方矯正固定術を行った10症例を対象とした。手術方法は脊椎後方矯正固定術であり、固定する範囲はカーブを含み、上位は胸椎とし、下位は骨盤までの固定をすすめる文献もあるが、骨盤は脆弱かつ小さいこと、出血量、および手術時間の短縮のため、また骨盤傾斜とADL障害の程度とは一致しないなどの考えから、筆者らは第5腰椎(L5)までの固定とした。初期症例の2例は上位胸椎までの固定を行っているが、症例3から以後の症例は頸椎を含めた上位胸椎の可撓性の温存のため、中位胸椎までの固定として固定範囲を短縮している。また、症例6までは手術時間の考慮からワイヤーとフックのみの脊椎への設置としたが、以後は矯正と固定性に優れる椎弓根スクリューを腰椎に用いている。なお、全症例で術前自己血貯血を行い、1000~1200mlの貯血にて手術にのぞんでいる。それらの症例について、脊柱変形の矯正、手術時間、出血量、手術前後、経過時での呼吸能の変化、生活上での変化を検討、考察した。

【結果】 側彎は平均で術前79°(50°~114°)が術後31°(8°~38°)に、後彎は術前73°(44°~75°)が術後33°(21°~38°)に矯正され、良好な矯正が認められた。呼吸能の変化を%VCで経過観察した。最も長い経過観察が可能であった症例は4年4ヵ月であった。短中期経過であるが、全例侵襲の大きな手術を行うことによる術直後の呼吸能の低下を認めなかったが、経過の長い2例をみると、呼吸能の低下は続き、現在、症例1、2は、それぞれ22.3%、20.2%と低下をみている(Table-1)。その他の症例でも呼吸能は不変もしくは斬減の傾向であった。手術時間は、通常の側彎症手術と比べ、変性

し、硬化した軟部を展開したり、ワイヤーを多数設置するために、平均7時間29分(5時間36分~9時間7分)であり、やや長い傾向であった。出血量も、特に多くなく、平均1317ml(630~2459ml)で、輸血は全て自己血と術中自己血回収装置による回収血と術後回収血で対処し、同種血輸血は全例回避可能であった。その他、術後に認められた良い結果は、座位で背もたれが不要になった、家族による車椅子への移動が容易になった、座位バランス不良による下肢鈍痛が良くなった、後側彎による腹部膀胱圧迫による頻尿が改善された、食べ物が飲み込みやすくなった、喀痰がだしやすくなった、呼吸しやすくなった。つぎに、術前、術後の症状を検討した。術前は10例とも座位バランスが悪く、体幹支持に側方マットを当て、さらに両上肢で支えていた。また5例に座位での強い腰痛を認めた。しかし、座位バランス不良は全例術後改善し、強吸がしやすくなった、授業で習字ができるようになった、写真にうつるのが楽しみになった、ゲームボーイがしやすくなった、後側彎がどんどん進行してしまうのではないかとという将来の不安が少しでも解消された、などであり、ADLの改善によるQuality of Lifeの向上、また心理的にも良い影響を与えていた。術後に認められた問題点は、急激な腰椎部の矯正によると考えられる座位での強い腰痛4例、頸部の筋力低下のため、頭部を支えられない6例、感染徴候を認めない原因不明の発熱4例が認められたが、経過観察のみで全例軽快し、とくに頸部の筋力低下は、術後早期に座位をとることにより予防できることが判明した。また原因不明の発熱の1例は尿中ミオグロビン陽性であり、特に、臨床的問題はなかったが、悪性高熱症も疑われた。その他の問題点として、後彎の改善と脊柱の可撓性の低下により摂食、書字が困難となったが、固定範囲の短縮や机の高さの調節で対処した。また、手術直後は体幹バランスが良くとも経時的に悪化が認められる症例も判明した。また原因不明の発熱の1例は尿中ミオグロビン陽性であり、特に、臨床的問題はなかったが、悪性高熱症も疑われた。

【考察】 近年のDMD患者に対する多角的治療の恩恵により、その予後も改善されつつある。しかしながら本邦においては未だその手術的治療の知見については皆無に等しい。今回の検討の結果よっても、座位保持は維持もしくは改善され、腰痛も問題とならなかった。呼吸能と延命効果については、%VCの改善は認めず、不変もしくは斬減の傾向を認めたが、この結果で呼吸能の低下のすべてを評価すべきでなく、胸郭の狭小化による、肺活量の低下の阻止には効果があるのではないかと推察をしている。そうした中で、この手術的治療の最大の利点は、座位バランスの改善を中心としたADLの改善によるQuality of Lifeの向上、変形の

進行が阻止されるという将来への希望といった心理的な側面であると考えられた。しかしながらこの手術はリスクが高く、手術にあたっては十分なインフォームドコンセントが不可欠であり、そのうえでの慎重な手術適応の決定が重要である。

免疫染色を用いたdysferlin異常疾患の検索と臨床像の対応

分担研究者：清水潤（国療養下志津病院臨床研究部）
共同研究者：宮崎泰、藁谷正明、増田直樹、本吉慶史
（国療養下志津病院神経内科）

背景

dysferlin発現異常による筋疾患にはさまざまな臨床像があることが指摘されてきた。また、二次的な発現低下症例の報告もあり、dysferlin発現異常がどのような筋疾患の臨床像に関係するか明らかにする必要がある。

目的

生検筋バンクを対象とし、抗dysferlin抗体を用いた免疫染色でdysferlin発現異常症例のスクリーニングをおこない、発現異常が認められた症例の臨床像の多様性を検討すること。

方法

筋生検症例ファイルのなかから、臨床的にMMと診断した症例、臨床と筋病理像より確定診断がつかなかった症例、慢性筋炎症例の生検筋に関して、抗dysferlin抗体(Ham1/7B6,Novocastra)を用いた免疫染色でスクリーニングをおこない染色性低下症例を抽出し、これらの症例に関して、臨床情報と骨格筋CTを検討した。

結果

1) dysferlin発現異常症例の同定 (表1)

81例の中から染色性低下例18例(MM10例、LG7例、慢性筋炎1例、特発性高CK血症1例)を抽出できた。症

表1 dysferlin発現異常症例の臨床像

症例番号	発症年齢	診断	dysferlin免疫染色	家族歴	CK (IU/L)	腕関節		膝関節		足関節	
						Gm	IP	Q	Hm	TA	GC
1	20	MM	(-)		6145	5	5	5	5	5	4+
2	40	MM	(-)	弟	3530	4	5	5	5	4+	3+
3	45	MM	不均一弱		1427	5	5	5	5	5	5
4	47	MM	(-)		1234	3	4	4	4	5	3
5	35	MM	(-)	祖母	5070	3+	3-	3-	3+	5	4-
6	47	MM	(-)		2714					TA>GC	
7	37	MM	(-)	弟	8075	5-	5-	5-	5-	5+	4+
8	32	MM	不均一弱	弟、妹	2082	5	5	5	5	5	4
9	39	LG	不均一弱	祖母、叔父	3003	4-	3+	3-	4-	5-	3-
10	27	LG	(-)	弟	7050	3+	4	3-	3+	4+	3+
11	24	LG	(-)	兄	7758	3	3	3	4-	5	5
12	49	LG	(-)		4300	2+	3-	4-	2	4+	5
13	28	筋炎	不均一弱		4460	4+	5-	4+	5	5-	3
14	35	LG	不均一弱		1507	2+	3+	2+	3	5-	4
15	43	LG	(-)		3439	5	5	3-	5-	5-	4+
16	22	LG	(-)		11105						
17	19	高CK血症	(-)		5834	5	5	5	5	5	5
18	48	MM	(+)		4497	5	5	5	5	5	3
19		MM	(-)	臨床情報なし							

MM: 三好型遠位型筋ジストロフィー、LG: 肢帯型筋ジストロフィー

例には、組織内の全ての筋線維で全く染色性を認めないものから(陰性)、淡い染色性を細胞質内に認める線維が散見されるもの(不均一弱)、細胞膜に一致して染色性を認めるが弱いもの(症例18)(弱陽性)などとさまざまなものを認めた。染色性が陰性症例、不均一弱症例はMM群にも(LG+筋炎)群にも存在した。疾患コントロール群では、すべての筋線維細胞膜に一致した強い染色性を認めた。

2) dysferlin発現異常症例の臨床像

発症年齢は MM群28.6歳(19~35歳)、(LG+筋炎)群24.8歳(14~33歳)と(LG+筋炎)群で若年であった。CK値は MM群 3785 IU/l(1234~8075)、(LG+筋炎)群 5328 IU/l(1507~11105)と(LG+筋炎)群で高値であった。筋力は(LG+筋炎)群では遠位に比して近位の障害がめだつが、MM群でもの近位部の障害がかなり目立つものが見られた。一方、(LG+筋炎)群ではMM群と同様に下腿背屈より底屈の障害が強い傾向が特徴であった。表2に骨格筋CTでの各筋の残存度は(表2)、MM群でも(LG+筋炎)群でも傍脊柱筋、大腿屈筋群、下腿底屈筋群が障害され易く、大腰筋、薄筋、下腿背屈筋群が残りやすいなど、両群で類似の傾向があることがわかった。

表2 骨格筋CTを用いた各筋の残存度の症例ごとの比較

症例番号	診断	年齢	腕部			大腿			下腿			ヒラメ
			傍脊柱筋	大腰筋	中脛筋	内側側頭筋	外側側頭筋	縫工筋	半膜筋	半腱筋	前脛骨筋	
1	MM	20	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	MM	40	1	3	4	5	5	5	5	3	1	3
3	MM	45	5	2	5	5	5	5	5	5	5	5
4	MM	47	1	3	3	5	2	2	1	1	4	5
5	MM	35	3	3	4	5	2	2	2	2	3	4
6	MM	47	4	2	4	5	3	3	2	2	3	4
7	MM	37	2	3	3	5	4	5	2	2	3	4
9	LG	39	1	2	2	2	3	3	2	2	1	1
10	LG	27	5	4	4	5	3	2	5	5	1	1
11	LG	24							4	4	4	4
12	LG	49	1	4	3	3	3	1	1	2	1	1
13	筋炎	28	1	2	3	5	4	4	4	4	4	3
14	LG	35	1	2	3	5	2	2	1	3	1	1
17	高CK血症	19	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

残存筋の割合>90%:5点、90~75%:4点、75~50%:3点、50~25%:2点、25%>:1点
表では、筋残存度が2点以下(残存度が50%以下)の筋に関して背景塗りです。

考察

本検討でみられた染色性の多様性が、dysferlinに関連する蛋白の異常に伴う二次的な変化である場合が含まれている可能性もあり免疫染色性とdysferlin遺伝子異常との対応が必要と考えた。一方、臨床的特徴のみから診断した臨床診断MM型の症例が、弱陽性の症例18も含めて全例で染色性の低下を認めたことは、本疾患の中心となる臨床像が均一であることが改めて確認されたと解釈した。また、今回の検討でのMM群と(LG+筋炎)群は類似した臨床的特徴を持っており、生検筋の免疫染色性において、染色性消失と不均一低下の両方がMM群と(LG+筋炎)群の両方に含まれていたことより、これらの両群においては筋におけるdysferlinの発

現低下自体が比較的均一な臨床像の形成に関与する可能性が推定された。特発性高CK血症例は、発症が遅いMM型/LG型と考えるべきか異なる疾患かは遺伝子レベルでの検討と同時に経過を追っていく必要がある。また、臨床型の多様性に関しては、さらに多数例での検討が必要であろう。

dysferlinの骨格筋での役割を解明していくことが、病態機序の解明およびさらには本疾患の治療のために重要な点であると考えた。

デュシャンヌ型筋ジストロフィー症におけるNIPPVの有効性

分担研究者：清水 潤

(国療下志津病院臨床研究部、東大神経内科)

共同研究者：宮崎 泰、増田直樹、藁谷正明、

本吉慶史 (国療下志津病院神経内科)

背景と目的

NIPPVは機器の取り扱いの簡便さ、軽量であること、値段の安さ、安全性、快適さ、発声が可能なことなどの点で他を凌いでいる¹。NIPPVは夜間の低換気症状、中枢性呼吸不全に有効であるとの報告^{2,3}があるが、特にデュシャンヌ型筋ジストロフィー症における長期的な予後に関するNIPPVの有効性については議論が進行中である。そこでデュシャンヌ型筋ジストロフィー症症例をNIPPVの使用者および非使用者に分けて初診時よりの経過期間を比較してみた。

対象および方法

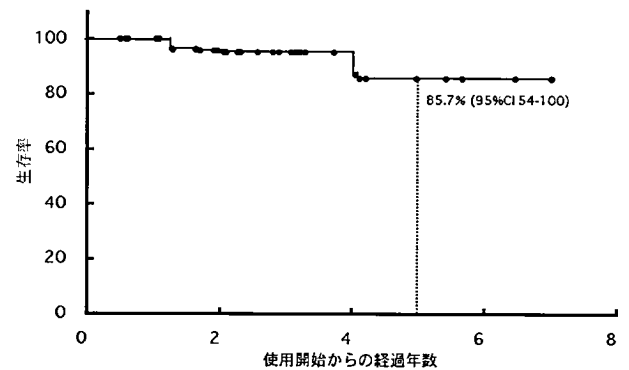
対象は下志津病院神経内科で2001年3月までに臨床的に診断されたデュシャンヌ型筋ジストロフィー症189例。データベースを用いて189例をNIPPVの使用者と非使用者に分けて初診よりの経過期間を比較した。主として2001年3月の時点で何らかの形で当院と関わりを持っているA群と観察期間中に死亡したB群に分けて分析した。経過期間は日数を365で割った値(単位は年数)を用い、期間の比較には2-tailのStudent's t検定を用いた。

結果

A群は135例、B群は54例でA群中のNIPPV使用者は32例で平均年齢は22.9+/-5.02歳、初診時の平均年齢は10.7+/-6.46歳、初診時よりの経過年数は12.2+/-6.25年であった。A群中のNIPPV非使用者は103例で平均年齢は18.5+/-6.63歳、初診時の平均年齢は10.2+/-5.67歳、初診時よりの経過年数は8.38+/-5.70年であった。B群中のNIPPV使用者は6例で死亡年齢は22.3+/-5.57歳、初診時の平均年齢は10.9+/-4.71歳、初診時よりの経過年数は11.4+/-7.96年であった。B群中のNIPPV非使用者は48例で死亡年齢は21.3+/-5.88歳、初診時の平均年齢は10.3+/-4.29歳、初診時よりの経過年数は11.1+/-5.54年であった。A群とB群をまとめるとNIPPV使用者は38例、非使用者は151例で初診時の年齢に有意な差は認められなかったが初診よりの経過期間はそれぞれ12.1+/-6.44

年と9.23+/-5.77年となりNIPPV使用者で経過期間が有意(p<0.01)に長かった。またNIPPV使用者での呼吸器開始時点よりのKaplan-Meier曲線では1年生存は100%、3年生存は95.5%、5年生存は85.7%(95%CI:54-100)となっていた。またB群の死亡者の死亡時年齢の推移(図省略)では93年頃呼吸器が導入されてから死亡時年齢が上昇していたが2000年に至っても呼吸器を使用せずに10代の後半で死亡する症例が依然として認められた。

図) NIPPV使用者の生存曲線



考察

これまでの報告ではNIPPVの有効性を認めないものがあ⁴。当院の過去の検討でも呼吸器の種類による比較においてNIPPVの他の呼吸器に対する有効性は認められず、同時にNIPPVの在宅治療の問題点が指摘された(平成9年度報告)。今回の検討では観察開始時点でNIPPVの使用者が決められたものではなく、死亡者の死亡時年齢の推移を見ても呼吸器を使用せずに早期に死亡する症例があり呼吸不全以外の要素の影響を考慮する必要がある。しかしながら、呼吸器導入にいたる症例が比較的重症例であることを考えると、呼吸器使用者の経過年数が非使用者に比較して有意に長いことはNIPPVの有効性を示すものであると考えた。心機能が低下して投薬を行われている場合や呼吸器を導入しにくい精神発達遅滞を有する場合の影響の評価は今後の課題である。

参考文献

1. Bach JR. Chest 1993;104:1702-06.
2. Simonds AK et al. : Thorax 1998 ; 53 : 949-52.
3. Piper AJ et al. : Eur Respir J 1996 ; 9 : 1515-22.
4. Raphael JC et al. : Lancet 1994 ; 343 : 1600-1604.
5. Miller G et al. : Brain Dev 1985 ; 7 : 7-9

小児期発症の筋ジストロフィーの保因者診断をめぐる諸問題(1)：研究の概要

分担研究者

白井泰子（精神保健研究所 NCNP）

共同研究者

丸山英二（神戸大学大学院法学研究科）

土屋貴志（大阪市立大学大学院文学研究科）

斎藤有紀子（北里大学医学部）

佐藤恵子（国立がんセンター臨床試験管理室）

玉井真理子（信州大学医療技術短期大学部）

掛江直子（精神保健研究所 NCNP）

中井博史（国立療養所八戸病院）

大澤真木子（東京女子医科大学小児科）

緒言：小児期発症筋ジストロフィー患者に対するジストロフィン遺伝子検査の目的は、(1)筋疾患が疑われる小児の確定診断を目的とする場合(タイプI)、(2)患者の母・姉妹等の女性血縁者の保因者診断・出生前診断を目的とする場合(タイプII)の2つに大別される。タイプIのジストロフィン遺伝子検査のインフォームド・コンセント手続き(IC手続き)に必要な文書(遺伝子検査説明書/同意書、病気の説明書、結果説明文書/意思確認書)については、平成8-10年度に一式を作成して班員の利用に供した。一方、タイプIIの目的で行われる遺伝子検査の場合、患者は、自分の母や姉妹等の女性血縁者の保因者診断・出生前診断のために彼の遺伝情報が必要だという理由で遺伝子検査を受けることを要請される。このように、病型不明の小児期発症筋ジストロフィー患者の姉妹等の保因者診断の目的で行う遺伝子検査のIC手続きにおいては、(1)保因者診断・出生前診断を希望する女性(クライアント)の同意だけでなく、(2)クライアントの兄弟である患者本人の同意(病型確認のための遺伝子検査に対する同意および保因者診断への遺伝情報の提供に対する同意)が不可欠となる。そこで、両者に対するIC手続きを整合性をもって行うために、考慮すべき問題点をフローチャート化して検討すると共に、クライアントおよび患者の同意能力の判断基準と同意能力に即した同意要件について吟味した。こうした検討を行った後、「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」として、保因者診断を希望するクライアントに対するIC手続関連文書一式ならびに、その兄弟である患者のIC手続関連文書一式の作成を試みたので報告する。

成果:

1. 「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」の基本原則：本プログラムの作成にあたっては、次の諸点を基本原則とした：

- a)医療者は、クライアントや患者の意思を尊重し、自己決定を支援するコーディネーターとなること。
- b)保因者診断は、クライアントならびに患者の同意に基づいて行う(クライアントと患者の双方に、病名・遺伝検査の目的等を説明し、同意を得ること)。
- c)保因者診断の実施基準と同意取得の手続き：両者共に16歳以上相当の同意能力があること。同意は本人から得ること。
- d)医療者は、これらの基本方針をクライアントを含む家族に説明し、了解を得ること。なお、“患者に説明できない”、“患者の同意が得られない”等の場合は、家族内で話し合いを行い、自主的に解決してもらうこと。

2.小児期発症筋ジストロフィーのジストロフィン遺伝子検査をめぐる問題状況の把握と論点の整理：当該問題をめぐる問題状況把握のために検査目的別の論点指摘用フローチャートを作成し、論点の指摘と基本原則からみた対応について検討した(土屋報告)。

3. 「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」におけるインフォームド・コンセントについて：クライアントおよび患者の同意能力の判断基準を示し、両者の同意能力に即した同意要件について吟味した(丸山報告)。

4. 「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」関連文書作成

(1)医師用マニュアルならびにとクライアント用文書の作成：医師用マニュアル、クライアントに対する説明書/同意書、結果説明文書/意思確認書を作成した(佐藤報告)

(2)患者用文書：の作成：患者本人に対する説明書/同意書、結果説明文書/意思確認書を作成した(斎藤報告)

5. 遺伝相談(出生前診断・保因者診断を含む)におけるカウンセラーの役割について検討した(玉井報告)

小児期発症の筋ジストロフィーの遺伝子検査をめぐる諸問題(2) :

問題状況の把握と論点の整理

土屋貴志 (大阪市立大学大学院文学研究科)
共同研究者 白井泰子 (精神保健研究所 NCNP)
丸山英二 (神戸大学大学院法学研究科)
斎藤有紀子 (北里大学医学部)
佐藤恵子
(国立がんセンター臨床試験管理室)
玉井真理子
(信州大学医療技術短期大学部)
掛江直子 (精神保健研究所 NCNP)
中井博史 (国立療養所八戸病院)
大澤真木子 (東京女子医科大学小児科)

1. 一般的な注意点

小児期発症筋ジストロフィーの遺伝子検査について、その目的別の留意点をフローチャートの形で整理した。

フローチャートの中では、質問項目を菱形、回答項目を長方形、結論を楕円形、議論を残している結論を雲形ないし八角形、の枠で、それぞれ示した。また「検査できない」という結論については、楕円形に×をつけた。

まず最初に、一般的な注意点を二つ述べる。一番目の注意点は「このフローチャートは検査に関して考慮すべき点を論理的な順序に従って整理したものであり、必ずしも実際の手順(取るべき手続きの流れ)を示したものではない」ということである。たとえば、保因者診断の実際の手順と用いる文書については、「筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラムを利用される担当医師のみなさまへ」(医師用マニュアル)の3.(p.2)を参照頂きたい。

二番目の注意点は「今回作成し配布した説明・同意文書一式は、このチャートに示された内容すべてをカバーする趣旨のものではない」ということである。筋ジストロフィー石原班遺伝相談プロジェクトでは、1998年に、患者本人の病型確認を目的として、おおむね6歳未満(相当の同意能力)の患者に遺伝子検査を行う場合の、説明・同意文書を作成した(フローチャートでは「タイプI 患者本人の病型確認」→「患者の同意能力は?」→「6歳未満相当【状況A】」以下の部分に該当)。今回作成したのは、患者の母や姉妹が保因者診断することを目的とし、患者本人が遺伝子検査を受けたことがなく、患者が生存中である場合(チャートのほぼ中央付近、「患者本人が生存中か?」→「生存中」以下の部分)に用いる説明・

同意文書一式であり、これら以外の場合については、まだ説明・同意文書は作成していない。

2. フローチャートの要点

以下、フローチャートの要点を説明する。

第一に、遺伝子検査の目的を、患者本人の病型確認のみを目的とするもの(タイプI,右側)と、患者の母ないし姉妹の保因者診断・出生前診断を目的とするもの(タイプII,左側)に大きく分けた。保因者診断や出生前診断を行うためには、患者の遺伝情報が必要である。つまり、検査を求めて来るクライアント(患者の母や姉妹)が、自分自身の検査(保因者診断)や胎内の胎児の検査(出生前診断)に同意するだけでなく、患者本人が、患者自身に行われる遺伝子検査に対して同意を与えていなければならないと考えた。フローチャートが「患者本人が遺伝子検査を受けたことがあるか?」以降(大きな2段目以降)に展開しているのはそのためである。

第二に、保因者診断や出生前診断は、クライアント(つまり患者の母や姉妹)が16歳未満の場合は、原則として実施しないこととした。その理由は、16歳未満の者には完全な同意能力が認められないと考えるからである。この原則はまた、女性の婚姻適齢が16歳とされていること(民法731条)にも合致している(丸山論文を参照)。

第三に、全般として、検査を実施したり、過去に行われた検査の結果を利用するにあたっては、本人の病型確認を目的とする遺伝子検査(タイプI)に関して示した同意能力の程度に応じた基準(6歳未満相当の場合は親権者が同意していること、6歳以上11歳未満相当の場合は親権者が同意し本人が拒否していないこと、11歳以上16歳未満相当の場合は親権者が同意し本人が了承している[アセントを与えている]こと、16歳以上の場合は本人が同意していること)を準用した。しかし、この準用についても、以下に述べるように、若干議論を残している。

3. 今後の検討課題

最後に、保因者診断・出生前診断を目的とする遺伝子検査に関して、今後検討すべき課題として残った点を、三つ挙げておく。

第一に、患者本人が以前に遺伝子検査を受けていて検査結果はあるが、患者がすでに亡くなっており、検査結果の利用について患者本人の同意を得ることはできないけれど、患者が生前に拒否の意思表示もしていなかった、という場合に、患者の遺族の同意だけで検査結果を利用してよいかどうか、という問題である。フローチャートの中では、雲形の枠に「検査結果利用可?」とある箇所である。

第二に、患者、ないし血縁関係のある他の患者はす

で亡くなっているが、へその緒など、患者の組織が保存されていて、それを検査することを患者が生前に拒否してはいなかった、という場合のことである。この場合も患者本人の同意を得ることはもはやできないが、かといって遺族の同意だけで検査を実施してよいかどうか、という問題がある。フローチャートでは、雲形の枠に「検査実施？」とある箇所である。

以上の二つの点については、保因者診断ないし出生前診断を希望しているクライアントが同時に患者の遺族でもある場合が多いと予測されるが、その場合、患者の利益を第一に考慮すべき遺族としての決定が、クライアントとしての利害と、必ずしも一致するとは限らない、という問題を取り上げたものである。

第三に、患者が生存中で、まだ遺伝子検査を受けていないが、16歳未満ないしそれ相当の同意能力である場合、原則として検査せずとしてしまっただけか、という点である。フローチャートでは、八角形の枠に「原則として検査せず？」とある箇所である。この問題については、当プロジェクトの基本姿勢としては、検査しないことを原則とした。ただし、「筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラムを利用される担当医師のみならず」の1. の2) (p.1)および4. の8.<患者の同意能力が不十分な場合>(p.5)にあるように、年齢は16歳以上であるが同意能力が16歳未満相当の場合は親権者の同意と本人の了承を得ること、また、11歳以上で16歳未満相当の場合は、特段の事情があるときのみ、親の同意と本人の了承を得ること、を条件に、それぞれ例外的に検査の実施を認めている。だが、11歳未満相当の場合は、保因者診断のための遺伝子検査は行わないとしている。

しかしながら、丸山論文にあるように、国内でも国外でも、11歳未満相当の場合に、保因者診断や出生前診断のための患者の遺伝子検査が、親の同意によってなされているという現実に鑑みて、11歳未満相当の場合にも親の同意によって検査を認めようという考え方もあり、議論の余地を残している。

小児期発症の筋ジストロフィーの遺伝子検査をめぐる諸問題(3): 保因者診断とインフォームド・コンセント

丸山英二 (神戸大学大学院法学研究科)
共同研究者 白井泰子 (精神保健研究所 NCNP)
土屋貴志 (大阪市立大学文学部)
斎藤有紀子 (北里大学医学部)
佐藤恵子
(国立がんセンター臨床試験管理室)
玉井真理子
(信州大学医療技術短期大学部)
掛江直子 (精神保健研究所 NCNP)
中井博史 (国立療養所八戸病院)
大澤真木子 (東京女子医科大学小児科)

本報告では、デュシェンヌ型筋ジストロフィーを念頭に置いて、患者の母や姉妹等(以下、「クライアント」という)の保因者診断のために行われる患者に対する遺伝子検査、及びクライアントの保因者診断についてのインフォームド・コンセントの問題を論じる。

保因者診断においては、患者の遺伝子変異が特定されることが、クライアントに対する検査実施の前提となる。したがって、インフォームド・コンセントについても、患者の遺伝子検査とクライアントの遺伝子検査の双方について検討することが求められる。その際の論点は、同意能力と、同意能力が肯定された場合における具体的な説明と同意のあり方ということになる。後者については、佐藤報告、斎藤報告に譲り、ここでは、同意能力に関わる問題を論じる。

未成年者の同意能力に即した同意要件については、すでに、われわれのグループで、本人の病型確認を目的とした遺伝子検査を念頭に置いて、一応の基準を示している(6歳未満相当：親権者が同意していること、6歳以上11歳未満相当：親権者が同意し本人が拒否していないこと、11歳以上16歳未満相当：親権者が同意し本人が了承していること、16歳以上：本人が同意していること)。

保因者診断におけるクライアントに対する遺伝子検査については、上述の本人の病型確認を目的とした検査に関する基準において、16歳未満に相当する者には完全な同意能力を認めていないこと、及び、女性の婚姻適齢が、「男は、満18歳に、女は、満16歳にならなければ、婚姻をすることができない」と定める民法731条の規定によって16歳とされていることから、クライアントの能力が16歳未満のものに相当する場合には、実

施しないこととした。すなわち、クライアントが16歳以上に相当する同意能力をもっていなければ保因者診断は行わない、ということである。

患者の遺伝子検査については、原則として、16歳相当以上の理解・判断力を持つ患者本人が遺伝子検査に同意していることを、その実施の条件とし、例外的に、特段の事情がある場合にのみ、11歳以上で16歳未満相当の患者について、親の同意と本人の了承で検査の実施を認めることとした。その背後にある考えは、上述の、16歳未満に相当する者には完全な同意能力は認められないことと、同意能力を欠く者については、本人の利益にならない医療行為の実施は認められないという考えである。

しかし、現実には、国内外とも、保因者診断や出生前診断を目的とする患者の遺伝子検査が、親の同意によってなされている。それが認められる理由としては、(1)本人に対する不利益・危険が小さく、(2)クライアントをはじめ他の家族の必要性が高く、(3)他に方法がないことや、(4)家族の自律的決定は尊重されるべきこと、が考えられる。

これまで、われわれのグループでは、このような根拠で、保因者診断目的の、同意能力を欠く患者の遺伝子検査が正当化しきれるものか、について議論は尽くされていない。したがって、以下の叙述は、あくまで丸山の試論ということになる。

上記の四つの理由のうち、(1)について敷衍すると、不利益・危険のうち身体的なものは、採血に伴うものに限られる。また、社会的・心理的な不利益・危険としては、一般に、保険加入、学校・職場、結婚、日常生活などにおける差別のおそれが挙げられるが、既発症の患者については、遺伝子検査で遺伝子変異が判明することで本人に対して新たな不利益・危険が生じることはない(他面、患者本人の検査結果が漏洩し、患者が罹患している病気が遺伝病だと周りに知られると、患者の家族が、隣近所、学校、職場などで差別されるといふ危険がありうる)のではないかと考えられる。

(2)については否定しがたいと思われる。(3)については、将来、医学の進歩によって、否定されるようになることがありうるが、現時点では、あてはまるといわれている。(4)については、わが国だけでなく、欧米でも持ち出されることが多い理由ではないかと思われる。

かりに、このような理由で、保因者診断目的でなされる患者の遺伝子検査が容認されうるとした場合には、(1)~(4)に加えて、患者を人として尊重し、その保護に欠けるところがないよう保障するために、(4)の趣旨を徹底させるためのものとして、(4)家族内に異論がないこと、を求め、さらに、(5)本人が遺伝子検査を拒否しないこと(その前提として、同意能力が認められない患者についても、検査についてなんらかの説明がな

されなければならないこと。そのうえで、現実の拒否もクライアントとの関係から推定される拒否もないこと)、(6)上記の(1)～(5)が満たされていることが倫理委員会などで確認されていること、を求めるのが望ましいと考えられる。

筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム(1)：

医師用マニュアルとクライアント用文書

佐藤恵子

(国立がんセンター臨床試験管理室)

共同研究者 白井泰子 (精神保健研究所 NCNP)

丸山英二 (神戸大学大学院法学研究科)

土屋貴志 (大阪市立大学文学部)

斎藤有紀子 (北里大学医学部)

玉井真理子

(信州大学医療技術短期大学部)

掛江直子 (精神保健研究所 NCNP)

中井博史 (国立療養所八戸病院)

大澤真木子 (東京女子医科大学小児科)

筋ジストロフィーの患者をもつ女性血縁者(母や姉妹など)の保因者診断を実施する場合は、患者の遺伝子診断の情報が必要となる。このため、患者および女性血縁者の両方に遺伝子検査の説明を行い、同意を得る必要がある。しかし、患者が若年のため同意能力が不十分の場合が多いこと、保因者診断の説明が難しいこと、患者に拒否されると保因者診断が実施できないことなど、さまざまな理由から、インフォームド・コンセントの手続きが必ずしも適正に行われているとは言い難い。

そこで、患者および女性血縁者への説明や意思確認の手続きが適切に行われることを目的とした「保因者診断意思決定支援プログラム」を作成した。本プログラムでは、患者や女性血縁者を含む家族全体をクライアントととらえ、医師は家族間の問題を調整し、それぞれの意志決定を支援する役割と位置づけた。そして、1) 医師用マニュアル、2) 女性血縁者用説明文書・同意書と結果開示用文書、3) 患者用説明文書・同意書と結果開示用文書の3種類の文書を作成した。医師用マニュアルと女性血縁者用説明文書・同意書および結果開示用文書の概要を以下に示す。

1) 医師用マニュアル

医師用マニュアルでは、保因者診断の基本原則および基本原則を作成した背景となった考え方を提示した上で、本プログラムの手順、説明文書の使用方を説明した。基本原則は、①保因者診断の実施にはクライアントと患者の同意が必要であること、このため患者および女性血縁者へ遺伝子検査の目的を含め、十分な説明を行うこと、②原則として同意能力のない患者は保

因者診断の対象としないこと、③プログラムを使用する医療従事者には、基本的な方針を共有した上で、家族内の調整役になること、そして、これらの原則を家族に説明して了承を得ること、とした。

保因者診断の具体的な手順は、①来談者との面接でクライアントおよびその背景とニーズを特定し、今後の説明方針を決定する、②女性血縁者へ十分な情報を提供し、意思を確認する、③患者に十分な情報を提供し、意思を確認する、④女性血縁者と患者の遺伝子検査を実施する、⑤それぞれの結果を開示する、とした。

2) 女性血縁者用説明文書

女性血縁者用の説明文書は、①保因者診断の説明を受ける前にご理解いただきたいこと、および②保因者診断についての説明書・同意書の2部で構成した。①では、筋ジストロフィーの遺伝形式や保因者診断の概要、保因者診断には患者の遺伝子診断への同意が必要なこと、ならびに遺伝子診断の具体的な手順などを説明した。②では、筋ジストロフィーの説明、遺伝子検査の方法、検査でわかること、子どもをもつときの選択肢などについて説明した。一方、結果開示用の説明文書では、診断の方法と内容、診断後の対応などについて説明した。意思確認書では、結果の保管方法および遺伝情報や残りの血液の利用方法に関して、使用の目的や使用範囲、使用する際の条件などについて詳細な設問を設定し、本人の意思ができる限り反映されるように構成した。

本プログラムは実際には使用されていないため、今後保因者診断を実施する際に試用し、原則や方法、文書の構成や内容等について実施可能性や有用性を調べ、さらに検討する必要があると思われる。

筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム(2)：患者用文書の作成をとおして

斎藤有紀子 (北里大学医学部)

共同研究者 白井泰子 (精神保健研究所 NCNP)

丸山英二 (神戸大学大学院法学研究科)

土屋貴志 (大阪市立大学文学部)

佐藤恵子

(国立がんセンター臨床試験管理室)

玉井真理子

(信州大学医療技術短期大学部)

掛江直子 (精神保健研究所 NCNP)

中井博史 (国立療養所八戸病院)

大澤真木子 (東京女子医科大学小児科)

●同意のない検査の実状

これまで筋ジストロフィーの臨床現場では、患者に遺伝子検査を行なう場合、患者本人に同意能力がある場合でも、本人に検査の内容・目的が説明されることなく、あるいは、患者本人の同意を得ることなく、行われることも少なくなかった。

その理由として、①筋ジストロフィーが小児期発症のため、診療の対象となる患者に同意能力のない場合も多く、同意能力をもつ患者もその流れの中で対応されてきた可能性があること、②決定的な治療法が確立しておらず、進行性であること、遺伝子疾患であること、予後がシビアなこと、など、医療者に病名・病態の告知をためらわせる病気の特性が複数存在することから、そもそもの病名・病態を告げられていない患者が多く、そのため必然的に医療者が検査の説明をしない(できない)場合が多いこと、③検査の目的が、患者本人の診療から離れ、もっぱら他の血縁者の診断・意思決定のためである場合も少なくなく、目的を告げることがかえって患者の心情を傷つけると考えられてきたこと、④他疾患に比べ、臨床診断としての遺伝子検査が比較的早い時期に導入されたため、昨今のような文書による説明・同意のプロセスが必ずしも必要な手続きと考えられてこなかったこと、などが考えられる。

●問題の所在

しかし一方で、患者に病名を秘匿し、患者の病態を説明しないまま、目的を告げずに検査を行ない、患者以外の人だけが患者の医療情報を把握し、患者情報を他者の目的のためにのみ利用・活用する、という状況は、患者からインフォームド・コンセントの機会を奪い、

患者にとっては、一般の人には認められている検査を拒否する機会や、遺伝相談にアクセスする機会を保障されないという新しい人権侵害の可能性を生じさせている。扱われる情報が遺伝子に関わるものであることを思うと、本来、より厳格なインフォームド・コンセント、個人情報保護、遺伝カウンセリングの実施などが患者に保障されるべきであるが、患者が事実を秘匿され、情報から阻害されているために、関係の情報にアクセスすることも難しい。

このように、筋ジストロフィーの遺伝子検査については、周囲の人が患者を「慮って」行動すること、あるいは、行動してきたことや、これまで標準的であった医慣習が、一方で、患者の人権・人格を大きく損なう(損なってきた)という、ジレンマを含むということが出来る。

●議論の経緯

遺伝相談プロジェクト・白井グループでは、患者への病名告知の是非をはじめ、在宅・施設などさまざまな環境に置かれている患者に対し、遺伝子検査の内容や目的を告げること・告げないこと、それぞれのメリット・デメリット、患者に直接の利益とならない検査の是非、すなわち、もっぱら家族のために行なう検査の正当性など、ジレンマを多く含む課題について3年間議論を重ねてきた。倫理・人権の視点と、臨床現場の実情とが、ともに筋道を通しながら共通の基盤を見いだすことは容易なことではなく、話し合いは、進んでは立ち止まり、何度も振り出しにもどっては主張の吟味を重ねあうという、ねばり強い継続作業を必要とした。

その結果、白井グループでは、「同意能力のある患者に対しては、遺伝子検査の内容・目的を告げ、本人納得の上で遺伝子検査を行なうことが、患者の人格を最も尊重することになる」「患者に黙って遺伝子検査を実施することを、少なくともこれからの医療の現場で正当化することは難しい」という結論にいたり、3年間の成果として、「同意能力のある16歳以上の患者に対する遺伝子検査の説明文書・意思確認書」の試案を作成した。

●患者用文書の配慮事項

この試案は、プロジェクトの課題にそって、「姉妹の保因者診断に伴う患者の遺伝子診断」に焦点を絞っている。「必ずしも病名告知を受けていない患者に過剰な心理的負担を与えない文面」「16歳の患者が読んで理解できる内容」「医療関係者が口頭で説明しにくい問題について、文章化されることで患者の理解をうながし、医療者の心理的負担も軽減する」などの点について留意されている。

●むすびにかえて

病名を告げ、病気の予後を告げ、遺伝子検査の目的を告げることは、患者・家族・医療者にとって、これまでも、そしてこれからも、少なからぬストレスであることは確かだろう。「患者に黙って」「傷つける人・ストレスのかかる当事者の数を極力少なくして」「しかし家族が情報を得るための検査を行ないたい」という「現場のニーズ」は、今後も常に残り続けると思われる。

しかし、筋ジストロフィーの医療を、より患者中心のものにするために、この困難な問題から目を背けたり、問題と向き合う機会を先送りすることなく、検査の説明の機会を患者-家族-医療者が情報を共有する契機とし、それぞれがお互いの生命・身体・人権の問題を大切に考える... その手がかりのひとつとして、本文書が活用されることを願っている。

保因者女性の心理と遺伝カウンセリング

玉井真理子

(信州大学医療技術短期大学部)

共同研究者 白井泰子 (精神保健研究所 NCNP)

丸山英二 (神戸大学大学院法学研究科)

土屋貴志 (大阪市立大学文学部)

佐藤恵子

(国立がんセンター臨床試験管理室)

斎藤有紀子 (北里大学医学部)

掛江直子 (精神保健研究所 NCNP)

中井博史 (国立療養所八戸病院)

大澤真木子 (東京女子医科大学小児科)

■はじめに

遺伝カウンセリングの場合では、保因者診断を求めて訪れる女性にしばしば出会う。保因者診断の目的は、ほとんどの場合において、家系内の疾患を回避したうえでの挙児である。自分の兄や弟の疾患をわが子では回避したい、第1子の疾患を、第2子では回避したい。そうした希望に応えるかたちで、保因者診断やそれに続く出生前診断が行われている。そして、出生前診断によって胎児の疾患が判明すれば、多くの場合、妊娠の継続を断念することになる。したがって、保因者診断は、出生前診断やその結果としての人工流産と切り離すことはできず、それに伴う当事者の心理について理解しておく必要がある。

■胎児異常による人工流産後の心理過程

胎児異常による人工流産後の心理過程に関する研究は、欧米において中絶が合法化され、その一方で出生前診断が徐々に普及してきた、1970年代の後半から行われてきた。そのなかで、①悲嘆反応は、死産や出生直後に子どもを亡くした場合のそれよりも強く、そして長く続く、②悲嘆反応には、妊娠を継続しないという決定をしたことに対する罪の意識と、疾患を有した子を身ごもったことによる自己評価の低下が伴っている、③夫婦間の心理過程における不一致(discordance)に対する配慮が必要である、などが指摘されてきた。また、Blumberg(1975)は、悲嘆反応は、X連鎖劣性遺伝病の保因者女性においてより強い傾向があることを示唆している。

■ある保因者女性との面接より

筆者は、小児期発症のX連鎖劣性遺伝病の児を第1子にもち、第2子の妊娠に際して保因者診断と出生前診断のために来院したクライアントととの面接を経験した。クライアント(来院時妊娠9週)は、遺伝子検査によってまず保因者であることが判明し、そののち、出生前診断によって胎児も罹患していることが判明したため、妊娠の継続を断念した。

面接の中では、①すでに生まれているわが子の存在を否定することになるという罪悪感、②わが子に疾患を伝えてしまったのは自分であるという自責感、③ほかの人だって検査を受けているのだからと言い訳をしている自分に対する嫌悪感、④これから先も健康な子を産むことができないかもしれないという恐怖感、⑤夫にさえもわかってはもらえないという孤立感、⑥こんな辛い経験をしたら一生立ち直れないかもしれないという焦燥感、が語られた。

また、人工流産から約1年後に当時を振り返って、以下のように語っている。「上の子のことを否定しているようで、それが一番辛かった。同じ病気で、上の子はかわいいかわいいで育ててるのに、なんで二番目の子はダメなんだろうって、なんで僕はダメなのって言われているような気がして・・・。世の中ってみんな、母は強いて言うけど、わたしはそうじゃない。結局自分を守るために、自分の生活を守るために、二人目のその子殺しちゃうわけだから「障害の子を育てるだけで、世間の人って、大変なのにえらいわね、障害の子はそうやって授かる、育てられる家に生まれてくるんだよって言われて、自分のなかでもそういうふうに、一人目の子が病気で生まれたことも、だんだん受け容れていったのに、それを全部否定していることになるから、それが切なかった。それは、今も辛いです」上の子のこと、やっぱりかわいくてかわいくて、そういうふうで育てていて、嬉しいこともあるし、だから、上の子が生まれてきたことだって、後悔っていうか、そういうのないんだけど、そう思うときに、でもやっぱりわたしは、二人目は産まなかったんだよなっていう、そういう気持ちがいつもくっついてくる」

■結びにかえて

遺伝カウンセリングには、医学的な情報提供の側面(教育的側面)と心理社会的支援の側面がある。上記のような複雑な心理過程に寄り添うためには、当事者の心理について理解するとともに、心理社会的支援の重要性に対する認識を深め、より専門的な立場から心理的支援を行えるスタッフをチームの中に招き入れることが必要である。

文献

Blumberg, B.D. et al.: The psychological sequelae

of abortion performed for a genetic indication.
American Journal of Obstetrics and Gynecology, 122,
799-808, 1975.

Proportional assist ventilation(PAV)を用いた呼吸機能評価

分担研究者 大矢 寧

(国立精神・神経センター武蔵病院神経内科)

共同研究者 川井 充

(国立精神・神経センター武蔵病院神経内科)

目的

筋萎縮に伴う呼吸機能低下についてproportional assist ventilation(PAV)を用いて胸郭コンプライアンスを評価し、病態解明に役立てる。

方法

Proportional assist ventilation(PAV)は患者の吸気努力を吸気流速と吸気量を測定しながらサポート圧を制御する換気方式である。作った気道内陽圧による吸気流速の上昇に対してさらに陽圧を上げて行く制御方式であるために、患者固有のelastance, resistanceを越えた設定にした場合には吸気が終了せず、圧・流量が高すぎる状態が生じる(run-away現象)。

BiPAP Vision(Respironics社製、フジ・アールシー)のPAV modeを用いて、assist 100%の設定で内圧上限20-25cmH₂Oに達しやすくなるVolume assist (VA; elastance), Flow assist(FA; resistance)を計測する。

VA(cmH₂O/L)は通常15以下で、拘束性肺疾患では25程度(以上)とされ、

BiPAP Visionでは最高58まで設定可能である。

FA(cmH₂O/L/sec)は通常4程度、閉塞性肺疾患では12程度(以上)とされている。

対象

人工呼吸器療法を行っている、肺活量(VC)1.0L以下の患者11名(9名は従圧式、2名は従量式)

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD) 4名
(うち1名は気管切開)

acid maltase deficiency(AMD; 糖原病Ⅱ型) 3名
(うち1名は気管切開・従量式)

先天性ミオパチー(CM) 1名

筋強直性ジストロフィー(MyD) 3名
(うち1名は従量式)。

他に

VC 1.0L以下のNIPPV未施行MyD患者 2名

可能な限り再検したが、定期的に受診している患者では約半年後に再検し、経過を観察した。

結果

座位または仰臥位でのVA(cmH₂O/L)はDMDでは22~38、AMDでは11~20程度、CMでは約23、MyDでは5~22、1名だけが38~58以上であった。

FA(cmH₂O/L/sec)は12以下で、多くの患者で4-5で、閉塞性障害は認めなかった。

肺活量が0.5L前後のMyD患者でのVAは、2名で6~22であった。MyDの1名はVAが38~58以上で(58でも圧上昇が17cm H₂O程度で、不快感も訴えず、計測範囲を越えていた)、胸腰椎は骨棘形成が著明で後彎したまま可動性がなく、腹部は内臓脂肪が多かった。

座位で0.6LのVCが、臥位で0.3Lに低下するAMD患者1名では、VAが座位で13、臥位で17と変化した。この患者はその後、坐位のVAは上昇傾向で、1年後には臥位では補助呼吸の必要度が高まり、臥位での十分な計測は困難になった。またCMの1名でも坐位から臥位でVCは低下したが、VAは増加した。

考察

一呼吸ごとに変動する揺らぎがあるため、計測はおおよその数値に留まるが、通常の呼吸機能では評価でき難いコンプライアンスが評価できると考えた。

ここで得られた数値はDMDなどでの過去の文献例¹²⁾と同等であった。過去の報告ではVCが1.0L以下の症例はごく僅かしか認められないが、様々な神経筋疾患患者の数値を平均して、正常者よりもelastanceが高かったと報告されている。

今回の測定では、同程度の肺活量でも、elastanceの値は様々で、胸郭のコンプライアンスは患者の個々の病態に応じて様々であった。

DMDとAMDでは、DMDの方が胸郭のelastanceは高い(complianceが低い)傾向であった。これはDMDでは筋短縮が生じやすく、AMDでは一般に生じにくいことと矛盾して、臨床的印象とも合致している。CMの1名も小胸筋などに筋短縮が生じていて、elastance高値と合っていた。

MyDは一般にelastanceは低い、一部には胸椎可動性消失と腹部内臓脂肪増加に伴い、著明に高い患者がいることが示された。MyDでは進行しないと筋短縮は比較的的生じにくい、胸郭のelastanceは筋短縮の他に、脊椎などの骨病変や腹部の状態も関わっている。

筋萎縮が強い患者では体位によっても異なることが少なくないが、本評価法は体位変換に伴う変化を評価することもでき、elastanceの変化を伴っていた。

結論

PAVで求めたVAは臨床的印象とも合う新しい有用な指標である。

文献

- 1) Gibson GJ, Pride NB, Davis JN, Loh LC: Pulmonary mechanics in patients with respiratory muscle weakness. *Am Rev Respir Dis* 115: 389-395, 1977
- 2) Baydur A: Respiratory muscle strength and control of ventilation in patients with neuromuscular disease. *Chest* 91: 330-338, 1991

ジストロフィーマウスの骨格筋と hydroxyl radical

班 員 若田 宣雄

共同研究者 井口裕章・杉本英樹

東邦大学医学部第4内科

緒言

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)における筋線維の壊死再生はジストロフィンの欠損が報告されて久しい。しかし根本的治療法の開発には至っていない。われわれは骨格筋のfree radicalについて研究をつづけているが、人工的壊死筋においてhydroxyl radicalが上昇することを確認した。今回はDMDのモデルマウスであるmdxマウスの骨格筋におけるhydroxyl radical産生の様子を検討した。

対象および方法

1. hydroxyl radicalの測定

2・4・8・14週令のmdxマウスと対照としての同週令のB10マウスを使用した。サリチル酸300mg/kgを腹腔内に注射し、15分後に断頭屠殺して四肢筋を採取した。筋肉の5倍程度の量の過塩素酸溶液を加え、ガラスホモジュナイザーでホモジュネイトしたものを、4℃で15分間15000回転で遠心分離した。上清を高速液体クロマトグラフィーにかけ、サリチル酸とhydroxyl radicalの反応生成物である2,3および2,5-dihydroxybenzoic acid(DHBA)を測定した。⁽¹⁾⁽²⁾ 各値はサリチル酸との比で示した。

2. SODの測定

2・4・8週令のmdxマウスと対照としての同週令のB10マウスを使用した。断頭屠殺して得た筋肉の5倍程度の量の過塩素酸溶液を加え、ガラスホモジュナイザーでホモジュネイトしたものを、4℃で15分間15000回転で遠心分離した。その上清を用いてニトロブルーテトラゾリウム(NO₂-TB)を用いたNBT還元法にてSODの活性値を算出した。

結果

		2,3-DHBA	2,5-DHBA
2W	B10	0.810±0.084	7.053±1.360
	Mdx	0.858±0.060	7.430±0.898
4W	B10	1.804±0.142	11.834±0.756
	Mdx	1.444±0.113	14.908±0.929*
8W	B10	1.229±0.097	10.794±0.848
	Mdx	1.183±0.074	12.580±0.485
14W	B10	1.485±0.085	12.703±0.591
	Mdx	1.184±0.089	11.291±0.980

2週令では2,3-DHBA、2,5-DHBAとも、8・14週令では2,5-DHBAがmdxで高い傾向にあり、4週令では2,5-DHBAがmdxで有意に高値を示した。(* p<0.05)

	SOD	B10	mdx (U/g protein)
2W		2.217±0.187	2.152±0.137
4W		1.579±0.123	1.756±0.194
8W		3.574±0.501	4.328±0.276

SODについては、4・8週令にmdxで高い傾向が見られた。

考察

mdxマウスでは生後10日目頃から筋の壊死再生が始まり、30~60日目頃に最も盛んになると言われており、今回mdxマウスにおいて2・4週の筋壊死の始まる時期にhydroxyl radicalが高値となったことから、mdxマウスの骨格筋の壊死再生の初期の段階においてhydroxyl radicalが関与している可能性があると考えられた。また、スーパーオキシドスカベンジャーであるSODが4・8週令のmdxマウスで高い傾向にあることから、この時期にスーパーオキシドが増加し、これを抑制する為にSODが増加した可能性が考えられた。

結論

mdxマウス骨格筋において、生後2・4週でhydroxyl radicalが、生後4・8週でSODが高値を示していた。これらの結果から、mdxマウスの筋の壊死再生の一部にフリーラジカル何らかの形で関与していると考えられた。

参考文献

- (1) Grootveld M, Halliwell B; Aromatic hydroxylation as a potential measure of hydroxyl-radical formation in vivo. *Biochem. J* 237:499-504, 1986
- (2) McCabe DR, Maher TJ, Acworth IN; Improved method for the estimation of hydroxyl free radical levels in vivo based on liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr. B* 691:23-32, 1997

受精卵診断フォーラムのインターネット公開と意見

末岡 浩, 佐藤健二, 中林 章, 吉山礼子,
松田紀子, 土屋慎一, 大澤淑子, 上野ひろ子,
時澤公子, 吉村泰典

慶應大学医学部産婦人科学教室
研究協力: 貝谷久宣, 米園弥生
(社)日本筋ジストロフィー協会

緒 言

日本産科婦人科学会が、着床前遺伝子診断に対するガイドラインを公開してからすでに2年が経過した¹⁾。しかし、1例の実施もなされていない現実がある。実施審議過程の中で本邦における社会環境整備、とくに物的な社会福祉の整備のみならず、社会を構成する人々の認識や心の準備が不十分であったことが指摘され、実施の遷延に大きく起因している。しかし、実施を希望する人々の意思が公開される媒体が存在せず、また、実施する医療側にもこれらのクライアントと共有する意見交換の場が存在しなかったことも事実である。従って、着床前遺伝子診断の技術開発とともに、本法に対する社会の認識を把握し、また社会に対する十分な説明を行い理解を得ること、さらに、誤解を解くことは、実施する上で極めて重要な作業である。社団法人日本筋ジストロフィー協会の協力を得て「受精卵診断フォーラム」のホームページを公開し、会員が容易に実際の診断内容、技術、問題点、現状などについて知識を得ることができる情報発信を行い、さらにそれに関して会員との意見交換を行う媒体を作製した。このことによって着床前遺伝子診断の概要とそれが惹起しうる問題に対する理解、そしてそれに対応する対策と配慮などを示すことが可能となり、疾患に苦悩する患者及び家族の要望や質問、意見などについて検討することを目標とした。

方 法

筋ジストロフィー協会のホームページの中にある会員用のページ“夢の扉”の中に“受精卵診断フォーラム”を公開した。ホームページの構成概要を以下に示す。「はじめに」の項に、この公開の目的を明示した。

1. 受精卵診断(着床前診断)とは: 定義, 方法の概要。
2. 出生前診断との違い: 受精卵診断の概念が, 出生前診断とどのように異なるのかを比較表を含め示した。
3. 体外受精及び胚移植の流れと受精卵診断: 受精卵診

断は、体外受精及び胚移植を原則とするため、その具体的な流れを図示。

4. 受精卵診断の歴史と世界各国の現状: これまでにこの技術が開発されてきた歴史と世界の実施現状。
5. 日本産科婦人科学会の見解と我が国の現状: 本邦においては、すでに実施している他の国々と社会性、倫理観などに差があることから、実施者側の団体である日本産科婦人科学会がまとめたガイドラインを原文のままホームページに提示した。
6. 私たちの取り組み: 現段階での診断可能な病型の範囲, 診断精度, 対象疾患家系への精神的側面調査と面接による希望や理解の検討などを基に作製した慶應義塾大学の着床前遺伝子診断プロトコル(案)を示した²⁾。①誤診断を防ぐため卵細胞質内精子注入法(ICSI)法による顕微授精法。②割球生検及び極体生検の併用による診断精度の向上。③性別診断による代用ではなく、疾患遺伝子本体の診断を原則とする。④deletion typeの遺伝子変異に加え, point mutationやduplicationなど各種の遺伝子型に対しても取り組む。⑤スクリーニングと理解される染色体異数体の検索を行わない, などについて明示。
7. 対象となる疾患: 会員の直面している筋ジストロフィーのうちDuchenne型も適応となるであろうことを示した。
8. 受精卵診断の方法と診断精度: 精度は100%ではなく, また, 診断可能な病型も現在制限があることを示した。
9. 安全性: 確立されていないことを明示。10. 皆さんのご意見を: 会員の意見, 質問などを受付, これに対して返答する形式とした。

結 果・結 論

会員からの返答は、多数ではなかったがこれらを意見、要望、質問の3項目に分類した。(1)意見: ①医学の進歩の1つとして位置付けられる。②人間の尊厳は守るべきである。③出生前診断と受精卵診断の違いがわからなかったので以前は反対をした。(2)要望: ①遺伝子診断と受精卵診断をシステム化して欲しい。②カウンセリングを充実して欲しい。③1日も早く実施を期待している。④保険診療を希望する。⑤研究及び議論を続けて欲しい。⑥学会は困っているクライアントが喜びを得られるような活動をして欲しい。(3)質問: ①具体的な実施例に関して知りたい。②質問する窓口を知りたい。③診断できる筋ジストロフィーの病型について知りたい, 例えば, 福山型など。④学会の在り方に対する疑問。

総合的には、インターネットにアクセスし、意見を積極的に寄せた会員からは科学の進歩を否定する意見

はみられなかった。その中で議論の継続を前提に、さらなる社会認識のための啓蒙の必要性が示唆された。実施に向けては、すぐに解決できることではないが、継続的な社会整備の充実が必要と考えられた。インターネットを使用しない会員に向けて、情報誌を媒体とした情報提供と意見の交換が必要と考えられる。

参考文献

- 1) 会告「着床前診断」に関する見解. 日産婦誌, 50: 22,1998.
- 2) 土屋慎一, 末岡 浩, 他: 極体診断を併用した疾患遺伝子診断を原則とした慶應義塾大学式診断ストラテジーとその成績.日受着誌, 17: 4-7, 2000.

Duchenne型筋ジストロフィー死亡例の臨床的検討

近藤 浩、近藤 類、米持洋介、
牧野邦比古、石川 厚

国立療養所新潟病院神経内科

緒 言

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)の臨床管理における問題点を明らかにするため、過去10年間におけるDMD死亡例の臨床的・病理学的特徴につき検討した。

方 法

1991年8月～2001年7月の10年間に、国立療養所新潟病院入院中に死亡したDMD患者25例を対象とし、臨床経過、死亡原因、病理所見等につき検討した。

結 果

死亡年齢は、12～37歳、平均 22.9 ± 7.2 歳であった。直接死因は、心不全悪化15例(60%)、食物・痰による窒息4例(16%)、肺炎による呼吸不全悪化4例(16%)、突然死2例(8%)であった。特に20歳未満で進行性に心機能が低下し死亡した例が8例(32%)あった。心不全治療例は21例(84%)、治療開始年齢は12～30歳、平均17.1歳。人工呼吸管理例は11例(44%)、呼吸管理開始年齢は16～25歳、平均20.0歳、気管切開施行例は8例(32%)、気管切開施行年齢は18～28歳、平均22.4歳であった。心不全治療開始から死亡までの期間は、0.3～15年、平均5.5年であり、心不全顕性化後1年以内に死亡した例も2例あった。人工呼吸管理開始から死亡までは1～11年、平均5.5年、気管切開施行から死亡までは1～10年、平均5.6年であった。気切者8例の死因は、心不全悪化7例、肺炎1例であった。特異な合併症として、経過中に脱水とともに脳梗塞を来した例が1例あった。

剖検例は8例あり、死亡年齢は18～32歳、平均23.3歳であった。骨格筋の変性以外の所見として、心筋の変性・線維化が共通に見られ、肝の脂肪変性が6例、大動脈の狭小・菲薄化が3例あった。肺梗塞の所見はなかった。外眼筋封入体が2例で見られた。中枢神経系の病変としては、脳梗塞が2例にあり、うち1例は無症候性であった。脳回異常が7例、異所性神経細胞が7例でみられた。脳重は1115～1700g、平均1405gであった。

考 察

人工呼吸管理により呼吸不全死は少ないが、心不全

の進行による死亡が多い。特に若年時から心不全をきたす例は予後不良であり、感染等を契機として進行性に心機能は低下し、肺鬱血、胸水貯留、肝鬱血・黄疸、腹水等を伴いながら死に至る例が多かった。中には治療に反応なく、心不全症状出現後3ヶ月余で死に至った例もあった。突然死の2例も心不全を有し、剖検での心筋障害が強いため、不整脈など心臓との関連が推測された。

筋ジス研究福永班のデータベース¹⁾では、1999年10月から2000年9月末の1年間の全国国立療養所でのDMD死亡者は36例あり、死亡年齢は14～42歳、平均26.7歳で、死因は、心不全が50%、呼吸不全が33%などで、そのうち気切例14例では、死因として心不全が6例で最も多かった。

DMDの全身管理法の進歩により、死亡年齢は時代とともに延長しており²⁾、死因も変化しているものと思われる。従来は死因として呼吸不全、心不全がほぼ同数であったが³⁾、呼吸管理により呼吸不全死は減少し、心不全管理がDMDの予後決定に重要となっている。ACE阻害剤等による早期治療により予後改善がみられているが、心不全の急速進行例の管理が今後の課題である。

また、脱水に伴い脳梗塞を来した例が1例、無症候性の脳梗塞が1例あり、凝固系の異常、脱水等には注意を要する。

剖検所見としては、知能障害の有無とは無関係に、脳回異常、異所性神経細胞など中枢神経系の発達異常を示唆する所見があり、脳機能との関連は不明だが、DMDの中枢神経障害を検討する上で注目される。

結 論

DMDの予後決定因子として心不全の管理が重要であり、治療法の検討が今後の課題である。剖検例では筋以外の所見として中枢神経系の形態異常があり、中枢神経障害を検討する上で重要な所見と思われる。

参考文献

- 1) 福永秀敏 他：筋ジス病棟データベース。筋ジストロフィー患者のケアシステムに関する総合的研究班，2001
- 2) 石原傳幸：X染色体性筋ジストロフィー。杉田秀夫他編 新筋肉病学。南江堂，1995，p.502-516
- 3) 向山昌邦 他：本邦剖検例の概況。祖父江逸郎他編筋ジストロフィー症の臨床。医歯薬出版，1985，p.49-55

DMD患者に対するアンギオテンシン変換酵素阻害剤の早期投与について

本家一也、大野一郎

国立療養所医王病院

緒言

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)の高年齢者では、血管拡張による心臓後負荷の軽減、心筋保護作用、呼吸障害によるレニン-アンギオテンシン系亢進に対する抑制を目的として、ほぼ全例にアンギオテンシン変換酵素阻害剤(ACEI)が投与されている。しかし、いつから投与を開始するかについては様々な意見があり、標準化されていない。現在、若年者での投与例は少ないと思われるが、10才以前から心電図異常を認める例が多く、また、15才以前に心筋症の悪化する症例もあることから、早期からの投与が必要と考えている。昨年6月より若年者に対してACEIの投与を開始し、その有用性について検討しているが、今回は、10才以前に投与を開始した症例について報告する。

対象および方法

対象患者は外来および入院中のDMD患者12名で、ACEI投与開始時の年齢は6才から10才、運動機能障害度は1から6、体重は18.5 kgから43.9 kgであった。ACEIにはマレイン酸エナラプリル(レニベース)を使用し、2.5あるいは5mgを連日、朝1回投与した。投与期間は現在までで5から16ヶ月となっている。有用性の検討のために、心胸郭比(CTR)、心電図、血清CK値、運動機能障害度を経時的に調べるとともに、副作用症状の有無の調査や血圧測定、血液検査を行った。なお、本研究については患者、家族に十分に説明し、同意、参加希望のもとに行っている。

結果

CTRの推移については、50%以上の4例中、経過の短い1例を除く3例でそれぞれ55から47%、53から50%、56から50%に低下し、50%以下の症例についても、1例を除いて低下しているか、変化はなかった。血清CK値の推移では、ステージ1の2例でそれぞれ10000前後から2000前後に、30000台から10000台に低下したが、その他の症例では特に変化はなかった。運動機能障害度については、投与期間中3例でそれぞれ2から3、2から3、6から7に移行し、9例で変化はなかった。副作用については、全例において咳、低血圧などの副作

用症状は認められず、また、血液検査においても特に異常を認めていない。

考察

従来よりDMDでは心不全死が15%ぐらいに認められ、そのほとんどが10才から15才の若年者で占められるとされている。本研究に参加している15才以下のDMD患者19名のACEI投与前の検査では、7才時頃からVIR/S比が1以上などの心電図異常を認める例があり、10才以上ではほとんどの症例で異常を認めた。また、CTRについても10才以下の12例中4例で50%以上と心拡大を認めた。心筋症の重症度とCTRはよく相関すると言われており、これら心拡大を認める患者が若年での心筋症重症例になる可能性が高いと思われる。心筋症が重症化してからのコントロールは困難であり、若年での心不全死を防止するには早期からの治療が必要と考える。今回の検討では心拡大を認めた4例中3例でCTRは低下した。ACEIは心筋保護を目的に軽症から中等度の心筋症に使用されているが、心拡大を認める10才以下のDMD患者では単独投与でも有効と考えられる。投与量については大人に対する投与量から通常のおりに計算した投与量としたが、特に副作用は認められなかった。以上よりDMD患者では心拡大の有無に関わらず、心電図異常を認めるようになる7才ごろから全員に心筋保護を目的としてACEIを投与すべきと考えられる。

結論

10才以下の若年DMD患者の心筋症に対してもマレイン酸エナラプリルは有用であった。10才以下ですでに心拡大を認める患者もいることから、全てのDMD患者において7才頃より心筋保護のため、本薬剤の投与を開始していくべきである。

DMD患者の心室性期外収縮と各検査所見との関係
—特に12誘導心電図でのQT時間に注目して—

渡辺宏雄¹⁾

加藤義弘^{1) 2)}、山田重昭¹⁾

国立療養所長良病院小児科¹⁾

岐阜大学医学部スポーツ医科学²⁾

【緒言】 昨年度に引き続きDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)患者における心室性不整脈に関する研究を行った。2連発以上の重症心室性不整脈の出現と、12誘導心電図所見、心臓超音波検査所見、血中ANP、BNP値の関係を明らかにすることを目的とした。

特に12誘導心電図でのQT時間(QT)とRecovery Time(RT)に着目した。RTはQRSの立ち上がりからT波の最大微分点までの時間であり、局所心筋までの興奮伝導と活動電位の終了までの時間を反映するとされている。

【方法】 入院中のDMD患者27名を対象に24時間ホルター心電図記録を行った。その結果、2連発以上の心室性期外収縮(PVC)のみられた症例を重症群(13例)、PVCがみられないかみられても単発性のものであった症例を軽症群(14例)とした。

同時期に12誘導心電図の記録を行い、QT計測ソフト(フクダ電子社製QTD-1)を用いQTとRTの計測を行った。各誘導においてそれぞれQTとRTの計測を行い、それぞれ最大のQT(RT)となる誘導と最小となる誘導間の差をQTd(RTd)とした。心電図記録は昼食後12時30分から14時までの間に行った。心臓超音波検査Mモード法にて、左室拡張末期径(LVDd)と左室駆出率(EF)の計測を行った。また採血により血中ANP、BNP濃度の測定を行った。

【結果】 軽症群と重症群の各検査結果の平均±標準偏差を表に示す。RTd、ANP、BNP、LVDdにおいて軽症群と重症群の間で有意差がみられた。QTd、年齢、EFでは有意差はみられなかった。

	軽症群(n=14)	重症群(n=13)
年齢	32.1±10.2	31.1±7.3
QT d (msec)	54.6±26.1	47.8±18.0
RT d* (msec)	49.9±24.6	84.4±36.6
ANP* (pg/ml)	39.5±20.5	56.4±25.1
BNP* (pg/ml)	15.0±15.4	70.3±54.7
LVD d* (mm)	43.1±9.1	56.1±11.6
EF (%)	45.7±18.9	30.2±17.8

*: p<0.05

【考察】

昨年度の研究では、DMD患者においてLown分類による心室性不整脈の重症度が大きくなるほどQTdも大きくなる傾向がみられた。今年度も、再度12誘導心電図のQT時間に注目し検討した。

今年度はQT計測ソフトを用いQTとRTの計測を行った。特にRTの計測はT波の最大微分点で決定されるため、測定者による誤差が少なく、再現性が高いとされている。拡張型心筋症の症例において持続性心室性頻拍をみとめる群ではRTdが大きくなっているとの報告がある¹⁾。従来RTは体表面心電図による単極誘導された心電図について検討されているが、12誘導心電図においても同様にRTの計測は有用であるとの報告²⁾があり、今回は12誘導心電図にて検討した。その結果、QTdでは有意差はみられなかったがRTdは重症群で有意に大きくなった。DMD患者においてRTdの測定は、血中BNP値や心エコー検査のLVDdの所見とともに重症心室性不整脈の予測に有用であると考えられた。

【文献】

- 1) 宮下豊久ほか：体表面recovery time(RT)を用いた拡張型心筋症における持続性心室頻拍の予測と機序の検討。心電図14：516, 1994
- 2) Nonokawa M et al：Activation-recovery intervals of 12-Lead electrocardiograms before and after catheter ablation in patients with Wolf-Parkinson-White syndrome. Jpn Circ J 65：294, 2001

福山型筋ジストロフィーにおける 心筋病変の検討

樋口嘉久 田村晃浩 竹花一哉 白坂幸義
光吉 出 (国立療養所宇多野病院)
斎藤加代子 (東京女子医大小児科)

[はじめに]

進行性筋ジストロフィーにおいて心筋症は注意すべき合併症である。今回われわれは当院にて経過観察中の福山型筋ジストロフィー(FCMD)患者における心筋病変について年齢、遺伝子型および臨床症状との関連について検討したので報告する。

[方法]

当院受診中のFCMD患者14例で、11例はDNA(microsatellite)分析によって、他は福山らの診断基準により診断した。男5例、女9例で年齢は4才から25才(平均17.3才)にわたっており、3組の同胞例を含んでいた。これらの例に心臓超音波検査(US)を施行し、その重症度と他の臨床的特徴を比較検討した。また2例に対して心筋シンチグラムを施行してUS所見と比較した。

USによる重症度分類は以下の基準を用いた。

Grade I : 正常壁運動

Grade II : 部分的な壁運動異常/低下

Grade III : 左室内径短縮率(%FS)<25% の
壁運動低下。

[結果]

US分類ではGrade I群4例、II群5例、III群5例であった。10歳以降の患者では全てII群あるいはIII群に分類され、Grade I群の平均年齢7.6才はII群(20.7才)およびIII群(22.3才)に比べて有意に低かった。(p<0.05, t検定)

III群のGenotypeは3例がHomozygote、2例がCompound heterozygoteであり、II群では5例中4例がHomozygote(1例は未検査)、I群では4例中Homozygote、Heterozygote各1例(2例が未検査)であった。呼吸不全やてんかんの合併にも特に群間差を認めなかった。また同胞例のうち1組において年長例がII群、年少例がIII群に分類された。

心筋シンチグラムではUSの運動低下領域に一致してUptake低下が認められた。

[考察]

FCMDの心筋症は年齢と相関して進行すると考えられた。年長例、特に10才代後半からは定期的に評価することが重要である。またHomozygote例でも心筋病変が進行すること、および同胞内で比較的軽症な年長例がみられることからGenotypeと心筋病変重症度との関連はないと考えられた。

[結論]

1. FCMDにおける心筋病変は年齢と相関して進行すると考えられた。心筋病変の進行とGenotypeとの関連は認められなかった。
2. FCMDの年長例においては心筋病変について定期的な評価が必要と考える。

参考文献

Kayoko Saito et al. : Am J Med Genet 2000;92:184

Eri Kondo-Iida et al. : Hum Mole Genet 1999 ; 8:2303

DM1の創始者染色体

班員 三木哲郎

愛媛大学医学部老年医学

共同研究者 山縣英久 近藤郁子

愛媛大学医学部衛生学

名倉潤

愛媛大学医学部老年医学

[緒言]

筋強直性ジストロフィー1型(DM1)の遺伝子異常がどのようにしてできたかについて種々のモデルが提唱されているが、まだよくわかっていない。これはトリプレットリピートがどうして伸長するのかと関連して解明すべき課題である。これまでわれわれは日本人のDM1患者変異アレルがほとんどの白人と同様にハプロタイプAであり、CTGリピート数が20以上の患者予備軍から50以上の患者まで徐々に伸長していく多段階モデルを提唱した。今回さらにリピート周辺26kb領域(テロメア側よりDMWD遺伝子-DMPK遺伝子-SIX5遺伝子の順で並んでいる)にある新しい遺伝子多型マーカーを追加して患者家系を使った、より詳細なハプロタイプ解析と連鎖不平衡解析を行い、DM1の創始者染色体を追求した。

[方法]

ゲノムデータベースよりSNPs情報を検索し、またヒトゲノムドラフト配列情報よりマイクロサテライトとなりそうな多型候補を見つけた。日本人の健常者集団において多型と確認後、PCR-RFLP法、TaqMan-PCR法、アレル特異的PCR法を用いて300名以上の構成員からなる日本人DM1患者家系を解析した。

[結果]

ヘテロ接合性の高い遺伝子多型は、DMWD遺伝子のプロモーター領域のマイクロサテライト、DMWD遺伝子の第1イントロンのSNP、DMPK遺伝子のプロモーター領域のSNP、DMPK遺伝子の3'側かつSIX5遺伝子のプロモーター領域の2つのSNP、SIX5遺伝子の第3エキソンにある2つのSNP、であった。本研究では5種類の新規遺伝子多型が同定され、この領域は既報告の8箇所の遺伝子多型と併せて、13箇所の多型で集団をハプロタイプに分類できる。5種類の多型の部位をテロメア側よりA, B, C, D, Eとすると、予測されたようにこれらの多型の間に強い連鎖不平衡が見られた。

しかし、SIX5遺伝子第3エキソンの2つの遺伝子多型DとEの連鎖不平衡だけは違った状況であった。すなわちC/G多型ではCはCTG19リピート以上のアレルと連鎖し、GはCTG5リピートすべておよび大部分のCTG11-13リピートのアレルと連鎖していたが、237bp離れたC/T多型ではCはCTGリピート5と17以上のアレルと連鎖し、Tは大部分のCTG11-13リピートアレルと連鎖した。

[考察]

この事はDM1の創始者染色体が存在する事、異常遺伝子は従来言われてきたCTG5リピート由来ではなく、ある限られたCTG19リピート以上の集団の先祖由来であり、SIX5遺伝子第3エキソン領域で昔、欠失や逆位など大きな遺伝子変異があった事が示唆された。

[結論]

DM1の創始者染色体は、従来言われてきたCTG5リピート由来ではなく別の形で存在する。

[参考文献]

- 1) Imbert G, Kretz C, et al. : Origin of the expansion mutation in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 4: 72-76, 1993.
- 2) Neville CE, Mahadevan MS, et al. : High resolution genetic analysis suggests one ancestral predisposing haplotype for the origin of the myotonic dystrophy mutation. *Hum Mol Genet* 3: 45-51, 1994.
- 3) Yamagata H, Miki T, et al. : Association of CTG repeats and the 1-kb Alu insertion/deletion polymorphism at the myotonin protein kinase gene in the Japanese population suggests a common Eurasian origin of the myotonic dystrophy mutation. *Hum Genet* 97: 145-147, 1996.
- 4) Yamagata H, Nakagawa M, et al. : Further evidence for a major ancient mutation underlying myotonic dystrophy from linkage disequilibrium studies in the Japanese population. *J Hum Genet* 43: 246-249, 1998.

Duchenne型筋ジストロフィーにおける好酸球浸潤

安東範明¹⁾, 村田顕也²⁾, 上野 聡²⁾

¹⁾国立療養所西奈良病院 神経内科

²⁾奈良県立医科大学 神経内科

(緒言) Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD), Becker型筋ジストロフィー(BMD)では、リンパ球特にCD 8 陽性細胞が筋組織内に浸潤することが多い。Weinstock らは、筋生検にてリンパ球に加え著明な好酸球浸潤を認め、好酸球筋炎(EPM)との鑑別を要した生後15ヶ月のBMDの1例を報告した¹⁾。好酸球は、しばしば、Tリンパ球と共に炎症部位にも浸潤することから、細胞性免疫への関与が推定されている。特に、近年、筋ジストロフィーのモデルであるmdx mouse にて、好酸球が、筋ジストロフィーの病態にも関与する可能性が報告されている。

そこで、私たちは、DMD, BMDにおける好酸球浸潤の程度をリンパ球および好酸球遊走因子と共に検討した。

(対象および方法) 対象はDMD3例。BMD3例。未治療のEPM3例、多発筋炎(PM) 6例を対照とした。筋生検後、5ミクロンの連続凍結切片を作成し、組織化学染色し、CD8, 好酸球顆粒蛋白であるMajor basic protein (MBP),好酸球の遊走因子の一つであるeotaxin を認識するモノクローナル抗体を用い免疫染色を行った。

(結果)

(筋組織内の浸潤細胞数の検討)

CD8陽性細胞数はDMD, BMDに比べEPM, PMでは増加傾向にあった。MBP陽性細胞、eotaxin陽性細胞はPM, DMD,BMDに比べEPMでは、統計学的に有意に増加していた。一方、PM,DMD,BMD 間では筋組織内に浸潤したMBP, eotaxin陽性細胞数は統計学的には有意差を認めなかった。

(筋組織内における各細胞の分布の検討)

EPMではMBP陽性の好酸球はCD8陽性リンパ球と共に間質内に浸潤していた。また、好酸球とその遊走因子であるeotaxinの分布はほぼ一致していた。さらに、MBPは好酸球表面のみならず、筋線維膜にも沈着し、一部空胞形成し崩壊過程にある筋線維表面にも沈着していた。

PMではMBP陽性の好酸球はCD8陽性リンパ球と共

に浸潤していたがその数はEPMより少なかった。好酸球とその遊走因子であるeotaxinはの分布はほぼ一致していた。

DMDではCD8陽性リンパ球や好酸球は浸潤していたがその数は炎症性ミオパチーに比べ非常に少なかった。さらに、浸潤好酸球はCD8陽性細胞と離れて存在しており、好酸球遊走因子であるeotaxin の分布もMBP とも関連なく分布していた。PM,DMD の筋線維膜にもMBPは沈着していたが、EPMほど著明でなく、DMDでは特に筋線維表面への沈着はごく軽度であった。

(考察) Caiらは、mdxマウスの骨格筋内の好酸球浸潤は通常のマウスにくらべ著明で、特に若いmdxマウスでは高度であること。この好酸球浸潤はステロイド投与により減少すること。好酸球内の顆粒蛋白であるMBPは筋線維に接した部分に集簇し、さらに好酸球が接した筋線維の一部は崩壊していたことを報告している。

好酸球は、IL-5 やeotaxinといった遊走因子により局所に集簇し、脱顆粒する。好酸球からでたMBPは直接脂質二重膜の融合、崩壊を引き起こすことから、mdxマウスにて観察された筋細胞膜崩壊はMBPによって引き起こされた可能性がある。今回、DMDでは、筋線維膜上のMBPはEPMやPMに比べ非常に軽度ではあるが沈着しており、好酸球顆粒の何らかの関与が示唆される。ステロイドは好酸球の遊走を抑制することから、DMDにおけるステロイド投与は筋組織内の好酸球浸潤を抑制するという観点からは有意義と考えられる。しかし、DMDにおける好酸球とその遊走因子の分布がPMとは異なっていたことから、DMDでは、炎症性ミオパチーとは異なった投与方法を検討する必要がある。

(参考文献)

Weinstock et al. : J child Neurol 1997, 12: 146-148

筋ジストロフィーの血栓準備状態に関する 全国調査

安東範明¹⁾、平田幸蔵¹⁾、福田清貴²⁾、石原傳幸³⁾、
川井 充⁴⁾、上野 聡⁵⁾

¹⁾ 国立療養所西奈良病院神経内科

²⁾ 国立療養所原病院小児科

³⁾ 国立療養所箱根病院神経内科

⁴⁾ 国立精神神経センター武蔵病院神経内科

⁵⁾ 奈良県立医科大学神経内科

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィーをはじめとする筋ジストロフィーは、近年の呼吸管理や心不全治療の進歩により平均寿命が30歳位まで延長した¹⁾。呼吸不全と心不全による死亡が減少するとともに、第3の死因として肺梗塞、脳梗塞など血栓塞栓症での死亡が近年注目されている。筋ジストロフィー患者は一般に血栓準備状態であることが明らかになっており、長期臥床や心不全、不整脈が危険因子となることが推定されている。

今回我々は、全国レベルで、筋ジストロフィーの凝固線溶系亢進状態の実体を明らかにする目的で調査を行った。

対象と方法

対象は全国筋ジストロフィー担当27国立療養所等に入院中のDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)およびBecker型筋ジストロフィー(BMD)の男性患者。各施設にて採血上の注意事項に留意した上で採血を行い、血液を同一検査機関(SRL)に集め、以下の凝固線溶系マーカーを求めた。①プロトロンビン値(PT)、②活性化部分トロンボプラスチン値(aPTT)、③トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体(TAT)、④プロトロンビンフラグメントF1+2(PTF1+2)、⑤プラスミン-α2プラスミンインヒビター複合体(PIC)、⑥D-dimer。

同時に、調査票記入方式にて生年月日、身長、体重などの患者プロフィール、血栓塞栓症の既往歴、下肢機能障害度、人工呼吸の有無と種類、採血前2ヶ月以内の胸部X線写真での心胸郭比(CTR)、心エコー検査での心駆出率(EF)、末梢血所見、BNP、ANPについて調査した。

結果

17施設からDMD164例(24.2±5.8歳)、BMD26例(44.8±10.7歳)の結果が得られた。DMDの下肢機能障

害度は全例ステージⅥ以上で、ステージⅥが8例、ステージⅦが50例、ステージⅧが106例だった。人工呼吸は使用無しが59例、NIPPVが67例、TIPPVが38例だった。BMDの下肢機能障害度はステージⅤが8例、ステージⅥが2例、ステージⅦが4例、ステージⅧが12例だった。人工呼吸は使用無しが15例、NIPPVが4例、TIPPVが7例だった。

DMDの凝固線溶系マーカーの結果で、PTの異常値出現率(以下、異常率)は33.5%、aPTTの異常率は68.3%と、aPTTの異常率が大きかった。この2つとも、全ての異常値は短縮しているのではなく、むしろ延長していた。TATの異常率は36.0%、PICの異常率は53.7%で、線溶系優位に亢進していた。PTF1+2の異常数は84例で、異常率は51.2%だった。内訳は正常範囲以上が15例、正常範囲以下が69例と、低下している症例が多かった。D-dimerの異常率は16.5%だった。

BMDの凝固線溶系マーカーの結果も同様の傾向だった。PTとaPTTの異常は全て延長だった。PTF1+2の異常は高値1例、低値4例だった。

DMDとBMDで、TAT、PIC両者の異常を示した者は、それぞれ40例(22.4%)と5例(19.2%)だった。DMDでCTR55%以上の症例は31例(19.6%、n=158)、EF40%以下の症例は24例(49.0%、n=49)、CTR55%以上もしくはEF40%以下の症例は49例だった。BMDでCTR55%以上の症例は4例(15.4%、n=26)、EF40%以下の症例は6例(66.7%、n=9)、CTR55%以上もしくはEF40%以下の症例は9例だった。

昨年度の班会議にて提唱したワーファリン臨床試験の対象である「心機能障害が示唆され、凝固線溶系検査で異常が認められた患者」すなわち、「CTR55%以上もしくはEF40%以下で、TAT、PIC両者の異常を示した者」は、DMDで11例、BMDでは1例だった。

血栓塞栓症の既往については、DMDでは既往のある者はなく、BMDで2例に脳梗塞の既往があった。そのうちの1例はPICとD-dimer、もう1例はPICが高値だった。

TAT、PICと各調査項目の相関について、各データは正規分布していなかったのでSpearman検定をおこなった。DMDで、TATとPICの間に有意な正の相関があった。また、PICと年齢(age)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン値(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)の間に有意な正の相関を認めた。

DMDで、下肢機能障害度ステージⅧの症例は、ステージⅥとⅦに比べPICが有意に高値だった。また、NIPPVとTIPPVの陽圧人工呼吸を受けている症例は、人工呼吸無しに比べ、TAT、PICともに有意に高値を示した。

考 察

凝固線溶系の最終段階である、フィブリノーゲンからフィブリンが生成され、さらにそれが線溶する過程は明らかに亢進していることがわかった。そして、凝固外因系と内因系については、何らかのフィードバックにより抑制されている可能性が示唆された。DMDにおいて、脊柱の手術の後に出血が止まりにくいとの報告もあり凝固亢進と矛盾する報告であったが、これは凝固外因系と内因系がむしろ抑制されていることと関係があるのかもしれない。

そして、DMD、BMDの血栓準備状態のメカニズムについては以下のように考えられた。すなわち、不動性や陽圧人工呼吸による静脈還流の低下があり、下肢の静脈など末梢での凝固線溶系が亢進する。これに慢性呼吸不全や脱水傾向などからの多血症による血液粘稠性の増加が影響している。

従って、予防策としては、長時間の車椅子に際しては、下肢を他動的に動かすなど静脈還流を補助することや、脱水の予防が効果的だと考えられた。薬物療法としてのワーファリンについては、凝固外因系は、多くの症例でむしろ延長していることより、その適応について慎重に考慮する必要がある。また、当初考えられた、臨床試験の適応になる対象は、試験の成立が困難なほど少数例であることがわかった。

カプトリル長期中にアロプリノール併用により Stevens-Johnson症候群を 発症したBMDの一症例

安東範明 平田幸蔵

(国立療養所西奈良病院 神経内科)

上野聡

(奈良県立医科大学 神経内科)

諸言

Duchenne型筋ジストロフィーでアンギオテンシン変換酵素阻害薬であるカプトリルが心機能改善の効果が認められている。今回尿酸高値を認めた無症候性の高尿酸血症のBMD患者にアロプリノールの投与。投与後Stevens-Johnson症候群を発症したカプトリル長期投与中のBMD例を経験したので報告する。

症例

48歳男性。ジストロフィン染色及び遺伝子検索は施行されていないが、一般的な筋生検所見及び臨床経過よりBMDの診断をうけている。当院入院時の胸部Xpで心胸郭比の拡大、心エコー上EFの低下、HANP値の上昇を認め、カプトリル20mg/日の投与開始。EFの改善はなかったが、臨床症状、心胸郭比及びHANP,BNPは著明に改善、以後状態は安定。平成13年7月3日定期検査で血中尿酸値が12mg/dlと上昇。無症候性であったが、7月4日よりアロプリノール300mg/日を開始。尿酸値は7月30日に2.9mg/dlまで低下。

今回の経過

8月11日(アロプリノール投与後38日目)右肘関節に掻痒感を伴った紅斑出現。13日右手指に同様な紅斑出現。ステロイド外用薬にて軽減。16日38.5℃の発熱。以後3日間欠的に高熱を認めた。同時に顔面、頸部及び体幹にかけて風疹様の紅斑が出現し拡大傾向を示した。19日よりヒドロコルチゾン200mg/日の投与を2日間施行、紅斑は軽減。8月20日の検査結果で白血球分画で好酸球比が21.4%と上昇。BUNが中等度高値を示した。

しかしヒドロコルチゾンの投与中止後紅斑が再度出現。新たに眼球結膜、口唇、亀頭部に粘膜病変が出現。白血球分画にて好酸球%著明に上昇、22日アロプリノール中止、プレドニゾロン30mg/日より開始。紅斑自体は消退傾向であったが、粘膜病変は増悪。口唇、口腔内潰瘍著明となり表皮剥離も進行、肘部関節及び体幹の滲出性紅斑がかなり広範囲に存在しそのいくつかは水泡形成後に破裂、皮膚の表皮剥離を形成。表皮剥離の個々の大きさはほとんど直径3cm以内であった。投与薬剤及び臨床経過からStevens-Johnson症候群と考

え、経静脈ヒドロコルチゾン300mg/日の投与を開始。9月3日の検査結果で好酸球分画0.1%著明に軽減。皮膚病変も改善傾向を示した。なおこの期間中の検査で紅斑などの皮膚病変の原因となるウイルスの抗体価の上昇は認めなかった。

考察

Stevens-Johnson症候群は原因自体が十分解明されていない非常に稀な薬疹の重傷症である。原因薬剤は多岐にわたるが、本症例では発症前2ヶ月間に新しく投与した薬剤はアロプリノールだけであり、本剤が原因と考えられる。Shahidaら¹⁾は症例報告で非ステロイド性消炎薬の投与を受けていた関節痛患者が高尿酸症の診断でアロプリノール300mg/日の投与をされ、3週間後にStevens-Johnson症候群を発症したと報告。文献中でアロプリノールの発疹の出現率は2%程度であるが、アンピシリン併用時又は腎機能低下時に使用した場合その頻度は20%に上昇し、腎機能低下時の利尿薬(特にサイアザイド)の併用は発症の危険因子になると述べている。またD.J.Pennel²⁾らは慢性腎不全、慢性心不全及び多発性関節炎に高血圧を合併した患者に利尿剤及びカプトリル投与。その後無症候性の高尿酸血症を認めアロプリノール200mg/日の投与を開始。投与後40日後に発疹、乾性咳及び顔面浮腫で発症したStevens-Johnson症候群例を報告している。カプトリル自体にはStevens-Johnson症候群の原因となった報告はないが、発疹の報告は多い。アロプリノールの投与により発熱、発疹、白血球増加、好酸球血症、肝細胞障害、腎機能障害を引き起こすAllopurinol hypersensitivity症候群が知られている。その機序は免疫機能の関与が考えられているが、腎機能低下が誘因であるとの指摘もある。今回の症例では心機能低下もあり利尿剤の投与等を行い、血液検査上もBUN軽度上昇を認めていた。今回のStevens-Johnson症候群の発症は腎不全が潜在している中で、アロプリノールを投与それにカプトリルが何らかの影響を与え発症した可能性が考えられるが、その詳細は不明である。今後は腎機能低下時特にカプトリル投与時のアロプリノールを投与には注意が必要である。

参考文献

- 1) Shahida Basahir, Syed Mahmood Ali Sha,Ijlal Babar. : Allopurinol Induced Stevens-Johnson Syndrome : Case Report. J.Pak. Med.Assoc,2000;50:207-209
- 2)D.J.Pennell,T.O.Nunan,M.JO' Doherty,et all. : Fatal Stevens-Johnson Syndrome in a patient on captoril and Allopurinol.Lancet,1984;1:463

当院におけるジストロフィン異常症の遺伝子解析：この1年間のまとめ

竹島泰弘^{1, 3)}、足立佳代^{1, 2)}、八木麻理子^{1, 2)}、中村肇^{1, 3)}、松尾雅文^{2, 3)}

神戸大学大学院医学系研究科小児科学¹⁾、
遺伝病統御学²⁾、遺伝子診療部³⁾

【はじめに】 Duchenne型/Becker型筋ジストロフィー(DMD/BMD)におけるジストロフィン遺伝子異常は、通常マルチプレックスPCR法、サザンブロット法によって診断されている。当院においては、平成11年に本疾患に対する遺伝子診断が高度先進医療として承認され、また同年遺伝子診療部が設置されて、これまでに多数例の本疾患に対する遺伝子解析を施行してきている。今回、この1年間の当院におけるジストロフィン遺伝子異常症の遺伝子解析に関してまとめ報告する。

【方法】 対象は平成12年7月より平成13年6月までに当院を受診したジストロフィン異常症の35家系39人である。遺伝子診断に関するインフォームドコンセント後、サザンブロット法あるいはジストロフィンcDNAの解析によって欠失・重複等の大きな変異、およびスプライシング変異の解析を行った。前医においてマルチプレックスPCR法による解析が行われている場合は、それを参考にした。これらの方法によって変異が同定し得なかった症例は、筋あるいは白血球より抽出したRNAを用いてRT-PCR法によって解析を行い、さらにcDNA全領域を20領域に分け、その塩基配列を直接塩基配列解析法によって決定することにより点変異などの微小変異の同定を行った。

【結果】 解析した39例中DMDが31例、BMDが5例、DMD保因者が3例であった。遺伝子異常は欠失が20家系(DMD19例、BMD1例)、重複が4家系(DMD3例、BMD1例)点変異が6家系(DMD5例、BMD1例)、スプライシング異常1家系(DMD)で、残り4家系は明らかな欠失がみられず微小変異解析中であった。

欠失20例中13例はエクソン45-50周辺の欠失好発部位に欠失が見られた。DMDでみられた重複はエクソン3-5、54-55、56の3家系であり、BMDではエクソン3-7の1家系であった。DMDでみられた点変異はいずれもナンセンス変異であり、エクソン10、20、38に各1例と、エクソン44に異なった変異を2例認めた。

【考案】 今回、この1年間に当院遺伝子診療部を受診したジストロフィン遺伝子異常症39例の解析を行った。従来のサザンブロット法や、マルチプレックスPCR法のみでは変異を同定し得なかった症例に対し、mRNAの解析を行うことにより、スプライシング異常のみならず、点変異の同定も可能であった。35家系中31家系において遺伝子異常を同定し、残り4家系についても現在解析中である。

臨床場において的確な遺伝相談を行う上において、遺伝子異常を同定することは重要である。さらに近年、個々の症例の遺伝子異常に応じたDMDに対する治療法の研究成果が報告されてきている。点変異に関してはアミノグリコシド系抗生物質によるナンセンス変異の読み飛ばしやDNA/RNAキメラオリゴによる点変異の修正などの基礎研究の成果が報告されてきており、我々も欠失変異に対し、アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いたエクソンスキッピング誘導によりout-of-frame変異をin-frame変異に修正するDMD治療の臨床応用を検討している。今後このような個々の症例の遺伝子異常に応じた「オーダーメイド」の治療法を考えていく必要があるが、このような治療法を考える上において、個々の症例の遺伝子異常を同定することは不可欠である。診断のための遺伝子解析から治療のための遺伝子解析へと変わってきている。

Duchenne型筋ジストロフィー児の知能

竹島泰弘^{1, 3)}、小椋たみ子⁴⁾、松嶋隆二⁴⁾、足立佳代^{1, 2)}、
中村肇^{1, 3)}、松尾雅文^{2, 3)}

神戸大学大学院医学系研究科小児科学¹⁾、
遺伝病統御学²⁾、遺伝子診療部³⁾、
神戸大学文学部・心理学⁴⁾

【はじめに】 Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)において、そのおよそ30-40%の症例に精神遅滞の合併がみられるが、ジストロフィン遺伝子異常によって精神遅滞が生じる機構は明らかではない。今回、DMD症例の知能評価を行い、DMDにおける知能分布と知能の特徴及び遺伝子異常との関係について検討を行った。

【方法】 当院遺伝子診療部において知能評価を施行したDMD40名を対象とした。WISC-R実施群19名(年齢7歳~15歳10ヶ月、平均10.39歳)、WPPSI実施群9名(年齢4歳7ヶ月~6歳6ヶ月、平均5.54歳)、新版K式発達検査実施群12名(年齢1歳5ヶ月~4歳10ヶ月、平均3.10歳)であった。ジストロフィン遺伝子異常を同定している症例に関しては、遺伝子異常がジストロフィンアイソフォームのひとつであるDp140の発現に影響を及ぼす群と及ぼさない群にわけ、さらに検討を行なった。

【結果】

① 知能指数分布：WISC-Rの全検査IQ平均は85.0(SD15.54)、WPPSIの全検査IQ平均は71.77(SD17.97)、新版K式発達検査の全領域DQ平均は65.0(SD19.3)であった。新版K式発達検査実施群のDQが低かった。すべての検査をこみにしてIQ(新版K式はDQ)90-109を平均、110以上を平均以上、89以下を平均以下の3群に分けると、平均以下70%、平均30%、平均以上は0%で、IQ69以下の精神遅滞は40%であった。

② 遺伝子異常と知能：今回検討した40例において34例では遺伝子変異が同定されており、欠失23例、重複4例、点変異7例(いずれもナンセンス変異)であった。Dp140のプロモーターがイントロン44に存在するため、遺伝子異常がエクソン44より上流にとどまっている群(Dp140+)とエクソン45より下流におよんでいる群(Dp140-)に分けて比較検討した。Dp140+群(16例)の全検査IQの平均は81.0(SD18.5)で、Dp140-群(18例)の全検査IQの平均は71.3(SD17.7)であり、Dp140-群でIQが低い傾向がみられた。さらに今回検討した症例における全検査IQ

の平均値(IQ75)の上下で分類したところ、全検査IQと言語性IQではDp140+群に比べDp140-群においてIQが75以下である症例の割合が有意に高かった。

③ 動作性知能(PIQ)と言語性知能(VIQ)：WISC-R、WPPSI実施群でPIQとVIQを比較するとPIQが有意に高かった。PIQがVIQに比べ15点以上高い子どもは53.6%であり、VIQ優位は7.1%であった。新版K式実施の乳幼児は認知・適応と言語・社会DQで有意な差はなかった。下位検査について、WISC-Rでは、評価点は類似、理解が低く(6点台)、迷路が一番高かった(12点台)。WPPSIでは、理解、単語が低く(2点台)、迷路が一番高かった(9点台)。今回検討したDMD児では、言語概念化能力と言語表出能力の低下が特徴的であった。WISC-Rで、動作性IQは車椅子を使用していない群で使用群より数値は高かったが有意な差はなかった。

【考察】 今回の検討によってDp140(-)であることがIQが低いことと有意に関連していることが明らかとなった。Dp140は中枢神経系において発現しており、脳におけるジストロフィンの機能と関係している可能性がある。また、DMD児の知能が健常集団よりも低い側に偏った分布であること、動作性IQが言語性IQに比べ優位であることは従来の報告と一致していた。

今回、DMD児における精神遅滞のひとつの要因がDp140(-)にある可能性が示唆されたが、Dp140(+)でも精神遅滞を呈する症例があり、精神遅滞を規定する要因に関してさらに今後の研究が必要である。

先天性筋ジストロフィー (CMD) の1亜型： 福山型CMDの表現型を持つが、遺伝的に 異なる亜型について

吉岡三恵子

神戸市総合療育センター・
神戸市立中央市民病院 小児科

佐々木 博, 馬場 清

倉敷中央病院 小児科

戸田達史

大阪大学大学院医学系研究科未来医療開発専攻
ポストゲノム疾患解析学講座ゲノム機能分野

緒言

先天性筋ジストロフィー(CMD)は生後間もなく筋緊張と筋力の低下を来す疾患であるが、我が国では福山型CMD(FCMD)がその大部分を占めている。近年、FCMDの原因蛋白フクチンが明らかにされてから¹⁾、フクチン遺伝子に変異を認めないCMD症例も散見されるようになった。我々は一昨年以來、このようなCMD症例を集積してきたが、今回文献例を加えてこれらの症例の特徴を検討した。

対象及び方法

臨床的にはFCMDの診断基準を満たすが、フクチン遺伝子に変異を認めない症例。本邦では我々が報告した2家系3症例²⁾の他に、三浦らの1例³⁾。本邦以外では、台湾から2家系3症例⁴⁾及びオーストラリアからの1家系2症例⁵⁾。これら6家系、9症例(男子5例、女子4例)につき、その遺伝学的及び臨床的特徴を検討した。

結果

6家系に近親婚はないが、兄弟発症は3家系。発症はいずれも生後数か月で、高度の筋緊張低下を示し、精神運動発達遅延あり。顔面筋罹患、腱反射の消失、腓腹筋の仮性肥大、関節拘縮はほぼ全例にあり。7例では坐位可能だが、他は頸定までが1例、頸定のないものも1例。3例は発語なく、単語までが5例、1例はかなり良好な言語発達。けいれんは4例で認められ、2例では難治。血清CKは全例が正常の10倍以上の上昇を示し、筋生検でジストロフィーの所見が明らかだが、ジストロフィンやメロシン染色は陽性。CT/MRIでは大脳白質病変の他に厚脳回や多小脳回あり。眼科所見では1例で高度近視と視神経乳頭の蒼白、1例で斜視を認めているが、他の7例では異常なし。フクチンRNAの発現量を1例のリンパ球で調べた所、正常例と同様であった。

考察

今回検討した6家系9症例は、FCMDの臨床的診断基準を満たしているが、フクチン遺伝子に変異は見つからなかった。又、筋生検では筋ジストロフィーの所見は明らかだが、ジストロフィンやメロシン染色は陽性であり、早期発症のジストロフィン異常症やメロシン欠損症は否定される。一方、眼科的異常は少なく、Walker-Warburg syndrome (WWS)やmuscle-eye-brain disease (MEB)は考えにくい。更に、リンパ球を用いて1例で調べたフクチンRNAの発現量は正常であった。以上の所見から、これらの症例は、臨床的にはFCMDに類似しているが、FCMDとは遺伝的に異なるCMDの1亜型であると考えられた。

結論

FCMDと類似の表現型を示し、遺伝学的には異なる6家系9症例の臨床像を検討した。本邦のみならず台湾やオーストラリアからも報告がみられることから、FCMDとは異なるCMDの1亜型と考えられた。

文献

- 1) Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, et al. : An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 394: 388-392, 1998
- 2) Yoshioka M, Kuroki S, Sasaki H, et al. : A variant of congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 24:24-29, 2002
- 3) 三浦清邦、熊谷俊幸、松本昭子他：福山型先天性筋ジストロフィーに類似した先天性筋ジストロフィーの1例。脳と発達 32；S269,2000
- 4) Jong YJ, Kobayashi K, Toda T, et al. : Genetic heterogeneity in three Chinese children with Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Neuromusc Disord* 10: 108-112, 2000
- 5) Stern LM, Albertyn L, Manson JI: Fukuyama congenital muscular dystrophy in two Australian female sibs. *Dev Med Child Neurol* 32:808-813, 1990
- 6) 福山幸夫：福山型先天性筋ジストロフィー症-新疾患単位の認識と今後の課題。日本小児神経学会教育委員会・編 小児神経学の進歩 第30集, 東京：診断と治療社, p.192-197, 2001

高度の精神発達遅滞を呈した ベッカー型筋ジストロフィーの1家系4兄弟例

分担研究者 多田和雄

共同研究者 二村直伸、戸根幸太郎、河本邦彦、

舟川 格、陣内研二、高橋桂一

国立療養所兵庫中央病院 神経内科

【目的】

デュシェンヌ型およびベッカー型筋ジストロフィー(以下DMD/BMD)では精神発達遅滞等の中枢神経症状を伴うことが知られており、最近ではDp140、Dp116、Dp71等のC端側のアイソフォームとの関連も報告されている。またBMDでは精神発達遅滞の合併は比較的稀で、合併したときの程度も軽度とされている。今回我々は、高度の精神発達遅滞を呈したにもかかわらず、運動能力がほぼ正常のBMDの1家系4兄弟例を経験したので、臨床症状、筋病理所見、遺伝子異常について検討した。

【対象、方法】

発端者は33歳男性。主訴は精神発達遅滞、高CK血症の精査であった。正常分娩で、3歳児検診まで運動発育遅延はなかったが、自閉症、精神発達遅滞を指摘され、16歳時にてんかんを発症した。発作は約1分間落ちつきなくそわそわした行動をとった後、20~30秒間の強直間代発作を起こすということであった。以後カルバマゼピンを1日200mg内服している。23歳時に約2000IU/Lの高CK血症を指摘され、全経過を通して運動発達遅滞はなかったが、33歳時に精査を希望して当院を受診した。

CKは2215 IU/lと上昇していたが、筋力は正常で、遠城寺式乳幼児発達検査では、基本的習慣の社会性の発達は1歳9か月と比較的良好であるものの対人関係、発語能力、言語理解能力はいずれも1歳以下の能力しかなく、高度の遅滞を呈した。

第3人全員にも運動能力がほぼ正常であるにもかかわらず高度の精神発達遅滞があり、対人関係、言語の発達の遅れという自閉的傾向が認められ、また第2人にもてんかん発作があった。

発端者の下腿に軽度の偽性肥大があったため、BMDを疑い、本人および両親にインフォームドコンセントを行った上で、ジストロフィン遺伝子検査(multiplex PCR法、サザンブロット法)および左上腕二頭筋生検を行った。

【結果】

multiplex PCR法では4兄弟全員にExon 4の欠失を認め、サザンブロット法によるExon 1-76の解析では、Exon 4が発端者とその弟で欠失しており、母親においてもExon 4が対立遺伝子の片側で欠失していた。筋病理では筋線維の軽度の大小不同、中心核、再生線維を認め、ジストロフィン染色で膜の染色の不連続性を部分的に認めた。ragged red fiberは認めなかった。

【考察および結論】

本家系は原因不明の精神発達遅滞として療養されてきた家系で、20歳を過ぎても全例独歩可能な点、高CK血症、下腿の偽性肥大、遺伝子解析の結果より、BMDと診断した。本家系の特徴は、筋力低下がなく、ジストロフィン染色で膜の染色の不連続性をわずかしき認めなかったように、筋症状が臨床的にも病理学的にも軽症であったにもかかわらず、重度の精神発達遅滞を呈したことであった。

精神発達遅滞の頻度についてこれまでの報告ではIQ70以下を対象としたところ、DMDで30~40%で、BMDでは10%前後という報告もあるものの基本的には稀で、合併した際の程度も軽いとされており、本家系の様に、筋症状が極めて軽症であったにもかかわらず、重度の精神発達遅滞を呈した家系は稀と考えられた。

また本兄弟の精神発達遅滞は、程度、性質とも共通で、自閉症的な精神発達遅滞を呈しておりDMDにみられる特徴を有していた。

近年精神発達遅滞を合併する症例ではC端側に欠失を含み、Dp140、Dp116、Dp71が欠損していることが多いとされている。本症例は著明な精神発達遅滞を示しN端側のExon4の欠失を認めた極めて稀な症例であり、今後は種々のプロモーターの検索も必要である。

筋強直性ジストロフィーの睡眠時呼吸障害による組織低酸素の検討

下山良二、河原仁志、矢野修一

国立療養所松江病院

諸言

筋強直性ジストロフィー(MyD)の睡眠時呼吸障害に対する呼吸管理導入基準は明らかではない。MyDの睡眠時呼吸障害に伴う低酸素血症が、どれだけ組織の低酸素をもたらし、生体へ悪影響を与えるのかをより明らかにすべきと思われた。組織レベルで酸素不足の状態が続くと、ATPの分解が進み、ADP、AMPさらにアデノシン、イノシンそして最終代謝産物である尿酸の産生が増加する。血中アデノシンと尿酸の尿中排泄は睡眠時呼吸症候群による組織低酸素の指標として有用であるとの報告がある^{1) 2)}。最近、近赤外線分光法により局所脳組織の酸素化の状態を非侵襲的にモニターする事が可能となっている。MyDの睡眠時呼吸障害の病態を血中アデノシン、尿中尿酸排泄、および近赤外線分光法を組み合わせ検討した。

方法

対象はMyD症例12例(年齢 50.6 ± 9.2 歳)(平均 \pm 標準偏差)であり、呼吸管理については気切人工呼吸が1例、NPPVが1例、気切+酸素投与が1例、酸素投与のみが2例であった。12例の血中クレアチニン値は0.15から0.91mg/dlにわたり、 0.31 ± 0.22 mg/dl(平均 \pm 標準偏差)であった。眼前及び翌朝に採尿を行い、それぞれの尿中尿酸・クレアチニンを測定し、夜間の尿酸排泄をしめす値として $\Delta\text{UA:Cr} = (\text{早朝UA/Cr} - \text{眼前UA/Cr}) \div (\text{眼前UA/Cr})$ を算出した。($\Delta\text{UA:Cr}$ は正常人では負の値で、睡眠時無呼吸症候群での無呼吸により夜間に尿酸排泄が亢進して、正の値をとることが報告されている¹⁾)。また翌朝に血中アデノシンを測定した。

脳内の局所酸素飽和度(rSO₂)、ヘモグロビン量(HbI)を測定するため、眼前の覚醒時に近赤外線分光法機器(ブレインオキシメーター-TOS-96:TOSTEC社)のセンサーを前頭部に装着し、午後9時から翌朝の午前6時まで測定を行った。パルスオキシメーターによる酸素飽和度(SpO₂)も同時に測定し、SpO₂の結果から川井らの提唱した夜間低酸素指数(NHI)³⁾を求めた。

結果

12例の夜間低酸素指数(NHI)は、0.4から126.5にわた

り、 62.4 ± 38.5 (平均 \pm 標準偏差)であった。

$\Delta\text{UA:Cr}$ で正の値を示したのは1例のみで、この例のNHIは44.4で著明な高値ではなかった。 $\Delta\text{UA:Cr}$ とNHIとの有意な相関は見られなかった。血中アデノシン値とNHIとの有意な相関は見られなかった。rSO₂はSpO₂の著明な低下に伴い、HbIの値は体動によるアーチファクトが大きく判断は困難であったが、HbIの値はrSO₂の低下に伴い上昇する傾向が見られた。

考察

今回はDuchenne型筋ジストロフィーの呼吸管理導入基準とされるNHIが130を越える症例はなく、夜間の尿酸排泄・アデノシンのと組織低酸素との関連を明らかにするにはより多くの重症例の検討が必要であったと思われる。睡眠時無呼吸症候群における近赤外線分光法による報告では無呼吸に一致して脳の酸素ヘモグロビンの減少と総ヘモグロビンの増加が報告されている⁴⁾。我々の検討でも同様に脳の局所酸素飽和度の低下を認めたがヘモグロビン量の正確な判定は困難であった。

結論

今回検討した限りでは、筋強直性ジストロフィーの夜間低酸素指数に対して血中アデノシンと尿中尿酸排泄は相関を認めなかった。酸素飽和度の低下に伴う脳の局所酸素飽和度の低下を近赤外線分光法により示すことが可能であった。

参考文献

- 1) Hasday J D, Grum C M: Nocturnal increase of urinary uric acid : creatinine ratio A biochemical correlate of sleep - associated hypoxemia . Am Rev Respir Dis 1987 ; 135 : 534 - 538
- 2) Findley L J , et al. : Plasma adenosine and hypoxemia in patients with sleep apnea . J Appl Physiol : 1998 ; 159 : 1014 - 1018
- 3) 川井允ら: 夜間低酸素指数—神経筋疾患による夜間低換気に対する夜間動脈血酸素飽和度モニターを用いた新しい指標—臨床神経 1995; 35:1003-1007
- 4) Hayakawa T, et al. : Changes in cerebral oxygenation and hemodynamics during obstructive sleep apneas . Chest 1996 ; 109 : 916 -921

筋ジストロフィー剖検例登録の現況と剖検輯報による筋緊張性ジストロフィー剖検例の集計ならびに剖検心における心筋細胞の細胞接着分子の免疫組織化学的検討

香川典子¹、鯖名裕子¹、笠松里美¹、和田美智子²、
佐野壽昭²、足立克仁³

¹徳島大学医療技術短期大学部、

²徳島大学医学部第一病理、

³国立療養所徳島病院

1.筋ジストロフィー剖検例登録の現況

本年度は3例が登録され (Duchenne 2, Myotonic 1)、
総数450例となった。

2.剖検輯報による筋緊張性ジストロフィー剖検例の集計

[目的] 昨年、剖検輯報に掲載された筋ジストロフィー剖検例について、剖検登録票と比較したところ、重複掲載例数が少なく、輯報と登録票とで病型別症例数に違いがみられ、輯報での最多病型は筋緊張性ジストロフィー(MyD)であった。今回、剖検輯報におけるMyD剖検例の集計と解析を行った。

[対象および方法] 日本病理学会編剖検輯報18輯(1975年剖検)から41輯(1998年剖検)に掲載されているMyDを選び出し、MyD剖検総数、男女比、年別掲載例数、平均寿命について調べた。

[結果と考察] (1)MyD剖検総数：295例 (2)男女比：191：103≒1.8：1 (3)年別掲載例数：表1参照 (4)平均寿命：54.1歳(男：53.2歳、女：56.3歳)。近年MyD剖検数は年間20～30例あることが判明した。剖検輯報は本邦におけるMyD剖検例の大部分を知ることができるが、記載欄に限りがあるため、剖検登録をすすめる必要があると思われた。

3.剖検心における心筋細胞の細胞接着分子の免疫組織化学的検討

[目的] 筋ジストロフィーでは心不全が合併症としてしばしばみられる。また筋緊張性ジストロフィー(MyD)では刺激伝導系障害が問題視されている。最近、細胞接着分子であるneural cell adhesion molecule (NCAM)やN-cadherinが心筋細胞の介在板に存在し、心筋細胞の収縮機構に関与していることが報告されている。今回、我々は筋ジストロフィー患者の心筋細胞における細胞接着分子の発現を検討した。

[対象および方法] 対象は国立療養所徳島病院で剖検さ

れたDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)20例、Becker型筋ジストロフィー(BMD)3例、MyD4例で、各患者の剖検心におけるN-cadherin、NCAM、 β -cateninの発現をそれぞれに対するマウスモノクローナル抗体を用い、labelled streptavidin biotin(LSAB)法で免疫染色し、検討した。コントロールとして病変のない剖検心を用いた。

[結果] 1. N-cadherin、NCAM、 β -cateninは対照および筋ジストロフィーのいずれの病型においても心筋細胞の介在板に存在した。2. 細胞接着分子の中ではN-cadherinの発現が最も保たれていた。3. これら細胞接着分子の発現は対照に比較し、いずれの病型においても変性した心筋細胞で低下していた。4. NCAMはN-cadherinや β -cateninと異なり、介在板だけでなく心筋細胞の細胞膜にも認められ、各筋ジストロフィーにおいて線維化巣の内外に残存する心筋細胞表面に特に強く認められた。

[考察] DMD/BMDおよびMyDでは心筋細胞の細胞接着分子の発現が低下しており、その原因の一つに心筋細胞の変性萎縮に伴う変化が考えられた。心筋細胞の介在板における細胞接着分子発現の低下は、心筋細胞の収縮や刺激伝導系に障害をきたし、筋ジストロフィーにおける心不全や不整脈の原因の一つになり得ると考えられた。NCAMは心の刺激伝導系のみならず、心筋細胞の変性壊死にも関与している可能性が示唆された。

(表1) 年別掲載例数

剖検年	総掲載数	筋ジス数	MyD数
' 75	23085	14	2
' 76	22849	22	2
' 77	25984	27	2
' 78	30067	21	3
' 79	32859	35	7
' 80	36134	39	2
' 81	39021	40	7
' 82	39050	44	8
' 83	39737	57	12
' 84	39918	53	11
' 85	40250	44	4
' 86	40021	36	14
' 87	39399	52	11
' 88	39515	54	15
' 89	38531	45	13
' 90	38426	41	14
' 91	36594	50	18
' 92	34218	60	15
' 93	32095	47	17
' 94	28675	60	21
' 95	28782	68	24
' 96	27842	52	17
' 97	27502	74	30
' 98	26754	63	26

筋強直性ジストロフィーの中樞運動伝導時間とCTGリピート数の相関

菅 理恵 大石文芽 高瀬敬一郎 荒畑 創
荒川健次 酒井徹雄 藤井直樹

国立療養所筑後病院 神経内科

緒言

筋強直性ジストロフィーのCTGリピート数と臨床重症度は関連していると報告されている。^{1) 2)} また、筋強直性ジストロフィーの中樞運動伝導時間は健常成人と比較すると延長していると報告されている。³⁾ しかし、筋強直性ジストロフィーのCTGリピート数と中樞運動伝導時間の相関についての報告はない。そこで今回これらの相関について検討した。

対象 方法

対象：当科入院中の筋強直性ジストロフィー5名(男性1例 女性4例)年齢(47-58歳 平均52.8)身長(141-160cm 平均151.8cm)。

方法：磁気刺激；刺激装置はMAGSTIM200。刺激コイルは中間直径90mm円形コイルを用いた。記録は右短母指外転筋にて行った。大脳皮質刺激は円形コイルの中央をC_zの位置にコイルに反時計回りの電流が流れる向きにおいて刺激した。頸部神経根刺激ではC₇にコイルのエッジをおいて刺激した。刺激閾値は安静時刺激にて有意な誘発電位が得られた強度とし刺激強度は閾値+10%とした。

：CTGリピート数；白血球にて計測した。

いずれの検査もインフォームドコンセントを得ておこなった。

結果

全例で大脳皮質刺激、頸部刺激で誘発された。大脳皮質刺激では閾値(60-75% 平均65%)潜時(19.3-25.3ms 平均22.38)頸部刺激では閾値(55-65% 平均59%) 潜時(11.9-17.6ms平均13.68)であった。中樞運動伝導時間は7.7-10ms平均8.7msであった。CTGリピート数は(1850-2350 平均2000)であった。中樞運動伝導時間とCTGリピート数の有意な相関はなかった。

考察

身長の影響を比較的受けない上肢の中樞運動伝導時間を計測した⁴⁾。今回の5例では著明な延長を示した例はなかった。年齢と身長を一致させた正常コントロールの検査を行い中樞運動伝導時間の延長の有無を再

検討すると伴にさらに例数を増やしての検討が必要だと考えられる。

結論

今回、検査した5例では上肢中樞運動伝導時間とCTGリピート数の有意な相関は認めなかった。今後、例数を増やしての検討が必要である。

参考文献

- 1) Tsilfidis C et al. : Correlation between CTG trinucleotide repeat length and frequency of severe congenital myotonic dystrophy. *Nat Genet* 1: 192-195, 1992
- 2) Harley HG et al. : Expansion of an unstable DNA region and phenotypic variation in myotonic dystrophy *Nature* 355: 545-6, 1992
- 3) Oliveri M et al. : Magnetic stimulation study in patients with myotonic dystrophy. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 105: 297-301, 1997.
- 4) Tobimatsu S et al. : Effects of sex, height and age on motor evoked potentials with magnetic stimulation. *J Neurol* 245 : 256-261, 1998

ベッカー型筋ジストロフィーにおける 遺伝相談の1例

分担研究者 後藤勝政

(国立療養所西別府病院・神経内科)

共同研究者 斎藤伸道

(済生会福岡総合病院・産婦人科、現：新古賀病院)

加藤圭次

(国立別府病院・産婦人科)

緒言

デュシャンヌ型筋ジストロフィーでは、遺伝相談がしばしば行われるが、デュシャンヌ型に比べ軽症のベッカー型筋ジストロフィーにおいても相談を受けることがある。しかしながら、どのように遺伝相談に応じるかについては、いろいろ難しい問題点もある。われわれの経験したベッカー型筋ジストロフィーの遺伝相談の1例を提示し、問題点を検討する。

症例

このケースは1998年に行なわれたものである。クライアントは20歳の女性である。クライアントの父親はベッカー型筋ジストロフィーにて国立療養所西別府病院に通院している。父親は4歳頃発症し、40歳で車椅子生活となった。心拡大があり、利尿剤を1994年6月から、ジゴキシンを1995年1月から服用している。筋生検にてベッカー型筋ジストロフィーの所見があり、ジストロフィン遺伝子のexon45,47に欠失が認められた。1997年8月と1999年7月に脳梗塞(左片麻痺)を発症しているが、麻痺はごく軽度残っているのみで、会社員として現在も働いている。四肢近位部優位の筋力低下をみとめるが、自力で手動車椅子操作が可能な状態である。

遺伝相談

妊娠8週5日にあたる1998年8月10日、出生前診断希望にて済生会福岡総合病院を紹介され受診した。父親が患者であることから、クライアントは確実な保因者であり、出生前診断は遺伝子異常(欠失)の部位が確定しているので、ほぼ100%確実に診断を行うことが出来る。染色体検査では46XYで男児と判明し、羊水絨毛検査が行なわれた。絨毛のDNA検査にて胎児は祖父と同じ、exon45,47の欠失を有することが判明した。(1998年8月14日)。相談の結果、次の妊娠の時はもし障害があっても産むつもりだが、今回は中絶するという事にな

った。

その後、2回目の妊娠の際には、特に遺伝相談を受けず、1999年11月4日に元気な女児が誕生している。

考察

ベッカー型において行われた遺伝相談の1例を報告した。個人、家族、それぞれの考え方があると思われるが、ベッカー型における遺伝相談の問題点について検討したい。

日本人類遺伝学会から出されている遺伝カウンセリング・出生前診断に関するガイドラインに、付：出生前診断に関する見解があるが、筋ジストロフィーの出生前診断では“出生前診断に関する見解”の中でつぎの3項目が該当する¹⁾。

d.妊婦が重篤なX連鎖遺伝病のヘテロ接合体

e.夫婦のいずれもが重篤な常染色体劣性遺伝病のヘテロ接合体

f.夫婦のいずれかが重篤な常染色体優性遺伝病のヘテロ接合体

重篤か否かの判断は、家族により、個人により異なると思われる。病状・家族の状況・希望によっては、対象疾患となり得るものがある²⁾、とされている。

デュシャンヌ型に比べて、比較的良性と思われるベッカー型に対し、どこまで、あるいは、どのように遺伝相談・出生前診断を行なえばよいのかについては統一した見解がなく、個々の症例で対処しなければならない。

さまざまな遺伝性疾患で出生前診断を行い、胎児の異常が見つかった場合には約90%が中絶を望んでいたと報告されている。ベッカー型筋ジストロフィーも、クライアントの父親(患者)が、自分のような苦勞は孫には絶対させたくない、という場合が多いといわれるが、医療側はなるべく中絶をさせたくないという意見が多い。

参考文献

1) 大澤真木子：遺伝相談における遺伝子診断実施の適応と倫理的背景。筋ジストロフィーにおける遺伝子診断・遺伝相談ガイドブック。筋ジストロフィーの臨床・疫学及び遺伝相談に関する研究(筋ジス第3班)p29-38,1995。

筋強直性ジストロフィーの脳性ナトリウム利尿ペプチド

分担研究者 田村拓久¹⁾
共同研究者 福留隆康¹⁾ 松尾秀徳¹⁾ 澁谷統壽¹⁾
谷田部可奈²⁾ 重山俊喜²⁾ 川村 潤²⁾
石原傳幸³⁾

国立療養所川棚病院¹⁾
国立療養所東埼玉病院²⁾
国立療養所箱根病院³⁾

キーワード

筋強直性ジストロフィー BNP ANP 心機能
心筋障害

【はじめに】

血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)は心機能評価に用いられ、Duchenne型筋ジストロフィーの心機能診断にも応用されている。しかし、筋強直性ジストロフィー(MyD)の血漿ナトリウム利尿ペプチドと心機能の関連を検討した報告は少ない。そこで、MyDを対象にBNPの臨床的意義を検討した。

【対象】

MyD 25例で、年齢は41.2-67.5歳(53.1±7.4歳)。合併症は、心不全、ペースメーカー植え込み(VVI type)、心房粗動が各々1例、糖尿病が3例存在した。

【方法】

心エコー法による左心機能指標(拡張終期径(Dd)、心筋重量、Pombo法による駆出率(EF)、E波からの減速時間(DT)、E/A比)、MIBGおよびTL心筋SPECTでの心臓/縦隔比(H/M比)と洗い出し率(WR)、心電図指標(PR間隔、QRS幅)および心胸郭比とナトリウム利尿ペプチドの関係を解析した。

【結果】

BNPの常用対数値と各指標の関係を示す。

①心エコーによる心機能

Ddや左室心筋重量とBNPの間には関係はなかった(Dd; n=22, r=0.359, p=n.s.、左室心筋重量; n=18, r=-0.204, p=n.s.)。また、左室機能を表すEF、DTやE/A比とBNPの間に有意差は認めなかったが(EF; n=22, r=-0.044, p=n.s.、DT; n=8, r=-0.219, p=n.s.、E/A比; n=8, r=-0.570, p=n.s.)、E/A比が最も小さい2例のBNPは高値を示した(E/A:BNP; 1.06:83.6 pg/ml、1.07:21.8 pg/ml)。

②心筋SPECTの指標

MIBGでは、後期像H/M比とBNPに関係はなかったが(n=14, r=-0.309, p=n.s.)、H/M比は全例3以下で、最も低値2例のBNPは147 pg/mlと211 pg/mlであった。WRとの間にも関係はなかった(n=11, r=-0.192, p=n.s.)。また、TLの早期像H/M比やWRの間にも関係はなかったが(H/M比; n=14, r=0.153, p=n.s.、WR; n=12, r=-0.229, p=n.s.)、2例を除きWRの低下を認めた。

③心電図指標

PR間隔およびQRS幅とBNPの間には、弱い相関を認めた(PR間隔; n=18 r=0.548, p=0.0185、QRS幅; n=20, r=0.556, p=0.0109)。

④心胸郭比

心胸郭比とも関係はなかった(n=16, r=0.247, p=n.s.)。

⑤血漿心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)

BNPは8例で高値を示したが、左心機能障害を認めた症例は、心不全例の1例のみであった。また、同時にANPも高値であった症例は、心不全例とペースメーカー植え込み例の2例であった。

【考察】

MIBG心筋SPECT後期像のH/M比が低値の症例やTL心筋SPECTでの洗い出し率が低値の症例が多く、また、刺激伝導障害が高度な症例ほどBNPは高値であったことから、MyDのBNPの上昇には何らかの心筋障害が関与していることが疑われた。しかし、25例中8例のMyDでBNPは高値であったが、左室収縮機能障害を認めた症例は1例のみであり、MyDではBNPの上昇のみで心不全診断は行えない。

一方、非生理的ペーシングモードであるVVI typeのペースメーカー植え込み例では、心機能とは関係なくANP、BNPともに上昇することが言われている¹⁾。BNPに加えANPも高値であった症例は、心不全例とペースメーカー植え込み例のみであり、MyDの心機能障害の指標としては、心房負荷を表すANPがBNPより優れている可能性を示唆した。ただし、今回の検討では、MyDの心機能障害例は1例のみであり、今後症例を増やした解析が必要である。

【まとめ】

①MyDのBNP上昇には何らかの心筋障害が関与していることが疑われたが、心機能障害との関連は少ない。

②MyDの心不全診断には、ANPがBNPより優れている可能性が示唆された。

【文献】

1) Horie H, et al.: Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker for atrioventricular sequence in patients with pacemakers. Pacing Clin Electrophysiol. 22(2): 282-290, 1999.

筋ジストロフィー患者へのクレアチン投与の試み

分担研究者 田村拓久

共同研究者 福留隆泰、渋谷統壽

国立療養所川棚病院

緒言

クレアチンは筋細胞内でエネルギーバッファーとして働いており、①ATPの分解を妨げる②蛋白質合成を促す③蛋白質崩壊を防げる④細胞膜を安定化させる、といった作用が報告されている。このことからスポーツ医学では筋力増強作用、疲労予防作用、筋肉増大作用があることが知られており、筋ジストロフィー患者でも同様の作用が期待される。本研究では入院中の筋ジストロフィー患者にクレアチンを投与して、筋力増強の有無および副作用発現について検討した。

方法

入院中のデュシャンヌ型筋ジストロフィー3名(DMD1: 16歳,機能障害度VII,クレアチニン係数6.7, DMD2: 19歳,機能障害度VIII,クレアチニン係数1.6, DMD3: 23歳,機能障害度VII,クレアチニン係数4.6)と福山型筋ジストロフィー2名(FCMD1: 19歳,機能障害度VIII,クレアチニン係数2.1, FCMD2: 18歳,機能障害度VIII,クレアチニン係数2.0)を対象にクレアチンを投与した。DMDの3症例では呼吸器リハビリを併用した。クレアチンは一日20gを一週間投与し、その後は一日5gに減量して、合計12週間投与した。

投与前後で①身長・体重②FIMスコア③ピンチ力④呼吸機能⑤血液・尿生化学検査の測定を行った。

結果

投与前後での変化を ⇒ で表す。

① 身長・体重

DMD1: 41.1kg⇒42.3kg, DMD2: 29.6kg⇒27.7kg, DMD3: 41.7kg⇒41.2kg, FCMD1: 34.9kg⇒33.3kg, FCMD2: 36.6kg⇒36.2kgで、全体の平均値に有意差はなかった。

② FIMスコア

投与前後で変化なし (DMD1: 72点, DMD2: 67点, DMD3: 68点, FCMD1: 55点, FCMD2: 61点)。

③ ピンチ力

DMD1: 2.4kg⇒2.2kg, DMD2: 1.1kg⇒1.0kg, DMD3: 1.1kg⇒1.0kg, FCMD1: 0.2kg⇒0.4kg, FCMD2: 1.3kg⇒1.3kgで、全体の平均値に有意差はなかった。

④ 呼吸機能

DMD1: 35.3%⇒37.3%, DMD2: 22.9%⇒25.4%, DMD3: 21.6%⇒25.1%, FCMD1: 20.7%⇒20.2%, FCMD2: 43.9%⇒41.3%で、全体の平均値に有意差はなかった。しかし、DMDの3症例に限った場合は有意($P<0.05$ by student's t test)に増加していた。

⑤ 血液・尿生化学検査

投与後のCPK減少は3例(DMD1, DMD2, FCMD2)に認め、LDH減少は2例(DMD2, DMD3)に認めたが、全体の平均値に有意差はなかった。

GOT, GPTおよび γ GTPの増加を1例(DMD1)に認めた(GOT: 51IU/L⇒77, GPT: 122IU/L⇒262, γ GTP: 42IU/L⇒45)。この例ではクレアチン投与を中止したところ、すみやかに肝機能は改善し腹部CT上も脂肪肝などの異常所見を認めなかった。

尿中の24時間クレアチン排泄量は全例で増加(DMD1: 1018.5 mg/day⇒3625.0, DMD2: 290.5 mg/day⇒1428.8, DMD3: 894.3 mg/day⇒1450.0, FCMD1: 494.1 mg/day⇒4786.6, FCMD2: 385.8 mg/day⇒3872.4)していたが、DMD2例とFCMD例で著明であった。

尿中の24時間クレアチニン排泄量はDMD1: 282.2 mg/day⇒268.0, DMD2: 45.5 mg/day⇒248.4, DMD3: 188.5 mg/day⇒136.4, FCMD1: 70.6 mg/day⇒137.9, FCMD2: 72.5 mg/day⇒112.0と変化したが、投与前のクレアチニン係数が小さい例(機能障害度VIII)で増加していた。

考察

Walterらは36例の筋ジストロフィー患者(機能障害度I~IV)にクレアチンを8週間投与して四肢筋力の増強を報告している。また彼らは呼吸機能に変化なしと報告しており、われわれの結果と異なっている。クレアチンの筋力増強作用発現には筋肉トレーニングが必要とされているが、Walterらの症例と比べてわれわれの症例が重症であることから四肢筋力の増強を認めなかったものと考えられる。また、われわれのDMD症例は呼吸器リハビリテーションを併用していたことから、呼吸機能の改善が得られたと考えられる。

過剰のクレアチンは、Cr transporter proteinの発現を抑制して細胞内へのクレアチン取り込みが低下すると報告されている。われわれの症例では、24時間クレアチニン排泄量の増加例では24時間クレアチン排泄量が著増しており、筋細胞内への取り込み低下が疑われる。

結論

重症の筋ジストロフィー症例でも、呼吸器リハビリの併用により呼吸機能が改善する可能性がある。

クレアチニン係数が小さな症例では、5g/日の投与量が過剰となる可能性がある。

副作用として肝機能障害に注意を要する。

参考文献

1. Walter MC et al. : Creatine monohydrate in muscular dystrophies: A double-blind, placebo-controlled clinical study. *Neurology* 54:1848-1850, 2000
2. Guerrero-Ontiveros ML. et al. : Creatine supplementation in health and disease. Effects of chronic creatine ingestion in vivo: down-regulation of the expression of creatine transporter isoforms in skeletal muscle. *Molecular & Cellular Biochemistry* 184:427-437, 1998

平成13年度班会議実績報告書

胃電図を用いたクエン酸モサプリド投与による進行性筋ジストロフィー患者の胃運動機能改善効果の判定

班 員 今村重洋

(国立療養所再春荘病院神経内科)

共同研究者 大林光念(熊本大学神経内科)

【緒言】

昨年、進行性筋ジストロフィー(PMD)の胃蠕動運動機能について、胃電図を用いた定量的な評価を行い解析した結果、PMD 患者群においては食事開始から胃の蠕動運動が最大となるまでの時間が健常者群の平均に比し有意に遅延していることが明らかになった。

【目的】

そこで今回は消化管運動促進剤であるクエン酸モサプリドが PMD 患者における食後の胃の蠕動運動の遅延を改善しうる可能性について胃電図を用いて評価した。

【対象および方法】

対象は PMD 患者15例(Duchenne 型7例、Becker 型8例、平均年齢 43.3 ± 14.7 歳)、および消化器症状や自律神経障害を認めない健常者8例(平均年齢 35.1 ± 16.5 歳)。各々の被験者にポータブル型胃電図記録計(ニプロ胃電計)を装着し、胃平滑筋の電気活動を記録した。食事は全例午前11時30分からの15分間で 360 kcal のビスケット、および 300ml の水を摂取させるよう統一し、PMD 患者15例については、クエン酸モサプリド非内服時と食前30分にクエン酸モサプリド 5mg の内服を行った場合の両者について記録した。胃電図の周波数は、 < 2.4 cpm: brady gastria, $2.4 - 3.6$ cpm: normal gastria, > 3.6 cpm: tachygastria の 3 つの成分に大別されることから、PMD 患者群と健常者群、および PMD 患者群におけるクエン酸モサプリド非内服時と内服時について、食前30分、食事中(食事開始後7分)、食後30分各時点での平均周波数、および上記3大周波数成分の出現頻度の変化を調べるとともに、食事開始後平均周波数最大となるまでの時間を算定し比較検討した。

【結果】

(1)クエン酸モサプリド非内服時では、食事開始から胃蠕動運動が最大となるまでの時間は、Duchenne 型患者群、Becker 型患者群で健常者群の平均に比し有意に

遅延していた(健常者： 24.00 ± 8.91 分、Duchenne 型患者群： 45.14 ± 15.33 分、Becker 型患者群： 36.00 ± 10.66 分、 $p < 0.05$)。

(2)クエン酸モサプリド内服時では、Duchenne 型患者群、Becker 型患者群ともに、非内服時に比し食事開始から胃蠕動運動が最大となるまでの時間が有意に短縮傾向にあった(Duchenne 型患者群： 33.29 ± 9.21 分、Becker 型患者群： 25.67 ± 11.00 分)。

(3) Duchenne 型患者群、Becker 型患者群ともにクエン酸モサプリド内服時の食事中(食事開始後7分)、および食後30分の tachygastria の比率がクエン酸モサプリド非内服時に比し増加していた。

【結論】

PMD 患者の消化管運動は、消化管運動促進剤の投与で改善しうる可能性が示唆された。今後は各種の消化管運動促進剤の効果を検討するとともに、薬の適切な投与時間などを検討する必要がある。

筋ジストロフィー患者におけるグレリンの検討

班 員 隈本健司

(国立療養所宮崎東病院)

共同研究者 大庭健一 塩屋敬一 安部なつみ

(国立療養所宮崎東病院)

中里雅光 椎屋智美

(宮崎医科大学第3内科)

緒言

成長ホルモン分泌促進因子受容体(GHS-R)に作用する内因性リガンドが、1999年、Kojimaらによって胃から発見された¹⁾。グレリンと名付けられたこのホルモンは、成長ホルモンの分泌活性以外に摂食亢進や体重増加、消化管の機能調整などエネルギー代謝に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

筋ジス患者の治療をすすめる上で栄養状態の評価は重要な問題であり、栄養の評価に用いられているこれまでの指標に加えて、指標としてのグレリンの有用性について検討を行った。

対象・方法

デュシャンヌ型筋ジストロフィー患者8例とベッカー型筋ジストロフィー患者2例を対象とした。早朝空腹時に採血を行い、測定は宮崎医科大学第3内科に依頼した。グレリンはRIA法で測定された。

グレリンと、臨床ステージ、やせや肥満といった体格、体重、BMI、身長、HbA1c、BNP、ANP、CK、摂取カロリー、年齢、血糖値との関連性をみた。

結果

グレリンの値との相関係数を表1に示す。体重、BMIで強い負の相関が認められ、臨床ステージ、栄養摂取量、年齢、CK、血糖値、BNP、ANPとははっきりした相関を認めなかった。

表1 グレリンと各因子との相関

因子	相関係数	P
体重	-0.791	0.0045 p<0.05
BMI	-0.771	0.0068 p<0.05
身長	-0.680	0.0282 p<0.05
HbA1c	-0.673	0.0307 p<0.05
臨床ステージ	0.546	0.1051 NS
栄養量	-0.419	0.2377 NS
年齢	-0.186	0.6192 NS
CK	-0.005	0.9903 NS
血糖値	0.175	0.6391 NS
BNP	0.204	0.5838 NS
ANP	0.084	0.8240 NS

考案

ヒトには作用する物質が知られていない受容体が数多く存在している。これらの受容体に作用する新しい生体内ホルモン・内因性リガンドの研究は、生体機能の解明や創薬に有用な手段の一つと考えられている。

グレリンは胃のA-like細胞(X細胞)から分泌され²⁾、強力な成長ホルモン分泌刺激を有している。脳と消化管を機能的に結びつけ生体の栄養状態の調節にかかわる。成長ホルモンを介さない摂食亢進作用、体重増加作用、胃酸分泌・胃運動亢進作用の他、循環器系への作用も知られるようになった。グレリンの受容体は全身に存在し、その作用が広い範囲におよぶことが推測されている。健常者では肥満、やせ、BMIと強い関係が認められている。

筋ジス患者においても、体重やBMIと有意の負の相関を示した。症状が進行し、やせの傾向が強くと、栄養学的な問題が示唆される症例はグレリンの著しい増加が認められた。

グレリンの値が上昇していれば、体として栄養を要求している状態であり、低下していれば摂取過剰の状態と考えられる。筋ジス患者がやせに向かってきているのか、経管栄養であればその量は適切であるかなどの判断に客観的な指標となると考えられた。筋ジス患者は進行性の筋萎縮に伴う除脂肪体重の減少など筋ジス患者特有の病態を有しており、今後も継続的な検討が望まれる。

結論

筋ジス患者においてもグレリンの分泌機能は十分に保持されており、健常者と同じように体重やBMIと有意の負の相関を示した。グレリンの持つ幅広い生理作用の解明と臨床応用は今後の研究課題であるが、BNP測定のように、筋ジス患者の病態、特に栄養状態の評価に有用な検査の一つになることが示唆された。

文献

- 1) Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al.: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature 402:656-60 1999.
- 2) Date Y, Kojima M, Hosoda H, et al.: Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. Endocrinology 141: 4255-4261 2000.

Mechanomyography (筋音図法) を用いた筋疾患の新たな診断法の検討

〓園田至人、児玉知子、福永知、西郷隆二、
前村和俊、福永秀敏

国立療養所南九州病院神経内科

三田勝巳、赤滝久美

愛知県身障者コロニー・発達障害研究所

緒言

従来、筋疾患の電気生理学的検討は筋電図(EMG)を中心になされてきた。しかし、神経疾患と比較して得られる情報は限られていた。一方、筋の機械的活動と関連した体表面微細振動(筋音)が注目されている¹⁾²⁾。これまでは良好な記録が困難であったが、近年トランスデューサーとして小型加速度計を応用することで、筋音の周波数分析などが容易になってきた。この周波数分析、振幅の変化を観察することで運動単位(Motor unit)の情報を得ることができる¹⁾²⁾が、臨床応用はほとんどなされていない。本研究はこの筋音図(MMG)を筋ジストロフィー患者を中心とする筋疾患に臨床応用可能か否かを検討する事が目的である。

対象・方法

小型加速度計(トランスデューサー)を用い、以下の方法で検討した。

- ①正常者にて上腕二頭筋をランプ収縮させた際のEMG、MMGを同時記録、周波数と振幅(root mean square amplitude: RMS amplitude)を測定した。
- ②Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)患者(25歳)にて正中神経刺激の際の母指外転筋でのEMG、MMGを同時記録し検討した。

結果及び考察

①正常者の最大収縮(MVC)に至るまでに MMGの周波数、RMS amplitudeより以下の様に4段階に分類、それぞれの発生機序が考えられ、それぞれ動員される筋線維タイプが推定された³⁾。

1) 20%MVC以下の段階

RMS amplitudeの緩徐増大、周波数の急速増大を示す。Type I fiberの動員の影響と考えられる。

2) 20-30%MVCの段階

RMS amplitudeが漸増し周波数の増加割合が軽度低下する。type I 加え、type II fiberの動員が開始される時期であると考えられる。

3) 50-60%MVCの段階

周波数の一時的な減少とRMS amplitudeの加速が見られる。type II b fiberの参入時期と考えられる。

4) 60%MVC以上の段階

RMS amplitudeの減少と周波数の最終的増大を示す。運動単位が全て動員された段階と考えられる。

②DMD患者での正中神経刺激の記録ではEMGは正常コントロールと類似の波形であったが、MMG波形では、コントロールの多相性の波形に比較し、大きな急峻な単相性の振れが現れ、その後穏やかな数個の振動を認めた。解釈は現時点では不明だが、単相性の振れが筋の機械的な活動と関係し、その後の振動は軟部組織などの受動的な減衰振動と推定された。

結論

今回MMGを筋ジストロフィー(DMD)患者に初めて応用した。今後は筋音図、筋電図の時間波形を振幅を含めた定量化や、スペクトル解析による周波数領域での解析を進め、筋ジストロフィー患者の筋の収縮機能特性の更なる検討が必要と考えられた。

参考文献

- 1) Orizo, C.: Muscle sound: basis of the introduction of a mechanomyographic signal in muscle studies. Crit.Rev.Biomed.Eng. 21: 201-243, 1993
- 2) 赤滝久美、三田勝巳: 筋音による筋収縮過程の推定. 日本ME学会雑誌BME. 8:30-38,1994
- 3) Akataki, K., Mita, K., Wakatabe, M., et al.: Mechanomyogram and force relationship during voluntary isometric ramp contractions of the biceps brachii muscle. Eur.J.Ap.Physiol. 84:19-25,2001

Ullrich型先天性筋ジストロフィーの遺伝子学的及び免疫組織化学的検討

Genetic and immunohistochemical studies on Ullrich's disease

班 員	石川清司	(国立療養所沖縄病院)
共同研究者	樋口逸郎	(鹿児島大学第3内科)
	末原雅人	(国立療養所沖縄病院)
	白石匡史	(鹿児島大学第3内科)
	納 光弘	(鹿児島大学第3内科)

最近、福山型をはじめ先天性筋ジストロフィーの病因解明が進んでいる。Ullrich型先天性筋ジストロフィー(Ullrich病)は近位関節の拘縮と遠位関節の過進展を特徴とする疾患であるが、1930年にドイツのUllrichが初めて報告して以来、遺伝子座も欠損蛋白もこれまでのところ不明であった。今回我々はUllrich病の病因と考えられるCollagen VIの蛋白欠損と遺伝子異常を明らかにしたので報告する。

【対象と方法】

Ullrich病2症例を含む各種神経筋疾患生検筋における筋膜、および細胞外マトリックスの異常の有無あるいは筋再生異常の有無を、collagen III, IV, VI, VIIをはじめとした細胞外マトリックスの構成成分及び筋膜の構成蛋白に対する各種モノクローナル抗体、さらにdesmin, NCAM, developmental myosin heavy chain (MHC), thrombomodulinなどの筋再生関連蛋白に対するモノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に検討した。さらに欠損の見られたcollagen VIについては構成する3個の遺伝子(COL6A1, COL6A2, COL6A3)のtriple helical domainを9ペアーのプライマーを用いてPCRにて増幅し、精製したPCR産物について自動シーケンサーにより塩基配列を解析した。

【結果】

生検筋のcollagen VI染色は、Duchenne型やBecker型では結合織の増殖に伴いcollagen VIの発現が増強していたが、Ullrich病の両症例においては結合織の増殖が著明であるにもかかわらず、全く染色されなかった。生検皮膚の免疫染色でも、collagen VIはcontrolやDuchenne型筋ジストロフィーなどの他の疾患では真皮が著明に染色されたが、Ullrich病の2症例では骨格筋と同様全く染色されなかった。培養皮膚線維芽細胞においても、Ullrich病ではcollagen VIが欠損していた。さらにUllrich病の非常に小さな筋線維では再生線維のマーカとされているdesminやNCAMは強く発現していたが、developmental MHCとthrombomodulinの発現

は極めて弱かった。

Ullrich病症例1の遺伝子解析の結果、collagen VIの3個の遺伝子のうち $\alpha 1$ と $\alpha 3$ には異常は見られなかったが、collagen VI $\alpha 2$ 鎖遺伝子のtriple helical domainに26塩基の欠失を伴うhomozygous frameshift mutationが認められた。

【考察】

Ullrich病患者の特徴的な臨床症状から、骨格筋だけでなくなんらかの細胞外マトリックス成分の異常を推定し検索した結果本症におけるcollagen VI欠損が明らかになった。Ullrich病の一例で明らかになったcollagen VI $\alpha 2$ 鎖遺伝子のexon 14の26塩基の欠失を伴うhomozygous frameshift mutationの存在のため、その169塩基下流にstop codonが出現していることが明らかになった。collagen VIは $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ chainの3本がtriple helixを形成しモノマーとなるが、Ullrich病では異常な $\alpha 2$ chainが存在するために不安定な分子が形成され細胞内で速やかに分解されるものと考えられる。

Ullrich病では血清CKもそれほど高値にはならず、Duchenne型筋ジストロフィーのような筋膜の欠損に伴う筋線維の壊死といったメカニズムでは本症骨格筋のdystrophicな変化は説明困難である。Ullrich病の2症例の小径筋線維においてdesminやNCAMが強く発現しているにもかかわらず、developmental MHCとthrombomodulinの発現が極めて悪かったことは、なんらかの筋成熟障害、筋再生障害を示唆する所見であると思われる。

collagen VIのヘテロの遺伝子異常は常染色体優性遺伝の良性ミオパチーであるBethlem myopathyで報告されているが、その発症機序はdominant negativeあるいはhaploinsufficiencyによるとされており、collagen VI蛋白の完全欠損を呈した報告はない。今回明らかになったUllrich病のcollagen VI $\alpha 2$ 鎖遺伝子のhomozygous mutationは全身に広く分布すべきcollagen VIの完全欠損を来し、本症の広範な臨床症状を説明しうるものであり、collagen欠損が重症の筋ジストロフィーの病因となることを示した初めてのものである。

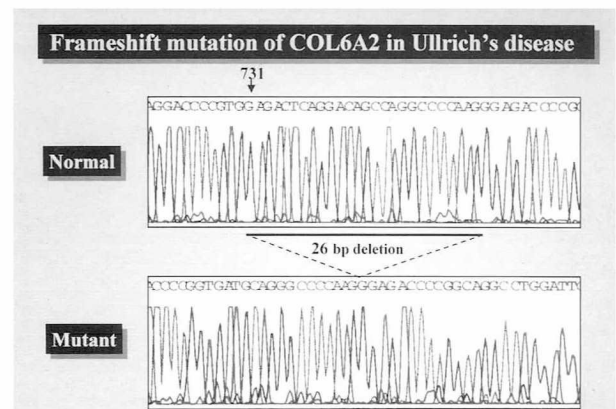
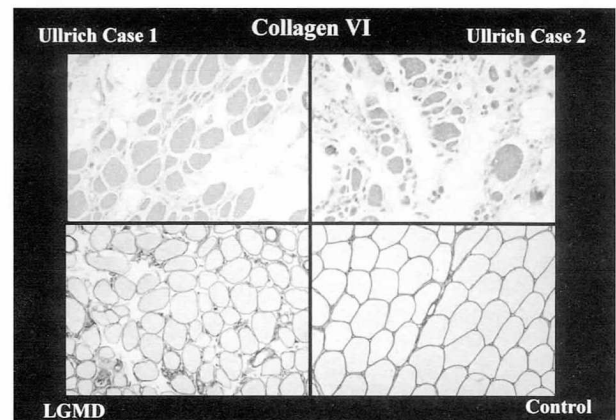
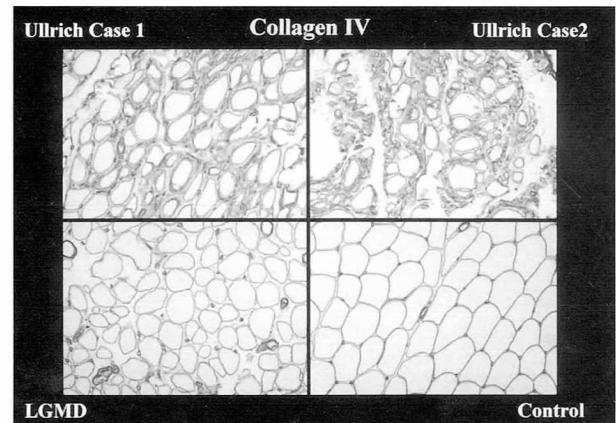
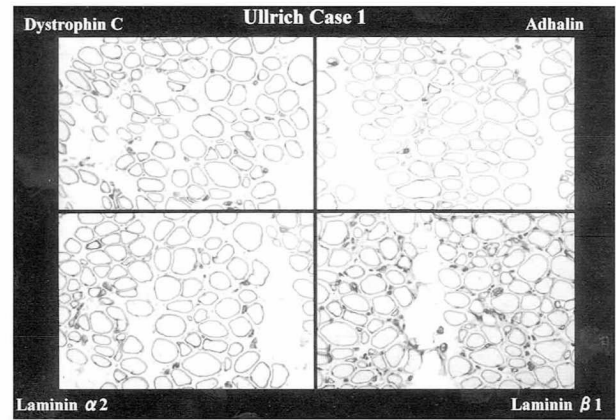
【結論】

1. Ullrich 病2症例の骨格筋および皮膚において本症特異的にcollagen VI蛋白欠損を認めた。
2. Ullrich病の一例でcollagen VI $\alpha 2$ 鎖遺伝子のhomozygous frameshift mutationが認められ、本症の少なくとも一部の症例はcollagen VI遺伝子変異による、collagen VI蛋白欠損が病因であることが明らかになった。
3. 本症の筋病変の形成には筋膜、細胞外マトリックスの構造異常のみならず、筋線維の成熟、再生異常が関

与する可能性が高いものと思われる。

【文献】

1. Ullrich O. : Kongenitale atonisch-sklerotische Muskeldystrophie ein weiterer Typus der heredodegenerativen Erkrankungen des neuromuskularen Systems. Z Ges Neurol Psychiat 1930;126:171-201.
2. Higuchi I, Suehara M, Iwaki H, Nakagawa M, Arimura K, Osame M. : Collagen VI deficiency in Ullrich's disease. Ann Neurol 2001;49:544
3. Higuchi I, Shiraishi T, Hashiguchi T, et al. : Frameshift mutation in the collagen VI gene causes Ullrich's disease. Ann Neurol 2001;50:261-265



遺伝相談—療育相談にみられた問題点 —過去5年間のファイルから—

分担研究者 貝谷久宣

(社)日本筋ジストロフィー協会

共同研究者 河端静子、米園弥生

〔緒言〕

筋ジストロフィー患者およびその親族の家族計画を考える際に、医療者もしくは遺伝相談カウンセラーから十分な対応を得ようとしないタイプの存在が問題となる。保因者のタイプ別に対応していくことの必要性について報告し、この分野における今後のより円滑な患者—医師関係の確立に資す。

〔方法〕

過去5年間に日本筋ジストロフィー協会に相談のあった約2,000件の事例(おもに電話相談)から、保因者のタイプを大別することを提案し、その対応を考える。

〔結果〕

○保因者のタイプをA：自分から進んで医療機関に相談に行く、B：親に勧められるなどして医療機関に相談に行く、C：医療機関に相談に行かない、の3タイプに分ける。

○Aタイプの特徴は、自分の人生、将来(拳児)について真剣に考えており、筋ジストロフィーや遺伝について勉強しており、自分なりの倫理観を持っており、不安がある。

○Bタイプの特徴は、Aタイプにみられる特徴を半分しか持ち合わせていない。すなわち、自分の人生、将来(拳児)について、まあまあ考えており、筋ジストロフィーや遺伝について少し勉強しており、自分なりの倫理観があまりはっきりしておらず、少し不安がある。

○Cの医療機関に相談に行かないタイプの特徴は、C-1：Bタイプで相談に行くことを勧めてくれる人もなく漠然と不安な状態、または、親が勧めても診断結果を知るのも怖いからと相談に行かない(一番数の多いタイプだと推定される)、C-2：Aタイプに近いが、産まれてくる子が筋ジストロフィーであっても育てていこう、それでも子供がほしいとの考えに達している、C-3：Aタイプにみられる特徴を持ち合わせていない、C-4：何事も自然なままがよいという考え方、の4つに大別される。ここで問題なのは、C-1とC-3タイプ。

C-1、C-3タイプは、自分の人生、将来(拳児)につ

いて、考えておらず、筋ジストロフィーや遺伝について勉強しておらず、倫理観がはっきりしていない。そして、妊娠してから急に不安が増大できれば健康な子がほしいと考える。

保因者診断を受けていないまま妊娠して出生前診断を希望するのはC-1、C-3のタイプに多い。初めての遺伝相談は、神経内科ではAタイプ、Bタイプへの対応、産婦人科ではC-1、C-3タイプへの対応となる。

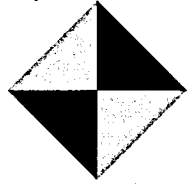
C-1、C-3のタイプが保因者診断を受けていないまま妊娠して出生前診断を希望した場合には、時間切れで、3/4は健常児であるにもかかわらず人工流産してしまうケースにつながりやすい。

C-1、C-3のタイプが少し悩み、じわっと不安に思いつながりながらでも遺伝相談を受けないまま妊娠を継続。悩んでいるうちに時間切れで、拳児をのぞまないままに筋ジストロフィー児を出産した場合には親が患児の子育てに立ち向かって行けないケースにつながりやすい。

C-1、C-3のタイプを対象に、遺伝相談に行こうという気にさせるような「指導書」が必要。筋ジストロフィー協会などの対応としては、A、Bタイプには27ヶ所の筋ジストロフィー専門医のいる国立療養所を紹介する。C-2、C-4タイプには、遺伝相談の必要はなく、筋ジストロフィー児を産んだ場合の福祉、助成制度などの相談におうじる。C-1、C-3タイプには、指導書を紹介する。

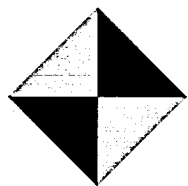
〔考察〕

筋ジストロフィー医療は医療界における患者—医師/医療スタッフの関係が最も円滑に行なわれている分野の一つである。また、遺伝相談についても研究の進んでいる病気である。それでも保因者への遺伝相談の場合、医療機関に相談に訪れないタイプの群へは、手を差し伸べられないでいる現状がある。特に研究の進歩を享受することなく、望まないまま患児を出産してしまうケースをふせぐため、保因者がきちんと遺伝相談を受けるため医療機関を来訪しようと思えるような指導書が必要である。ぜひ、研究班の共同テーマとして作成していただきたい。



論文集

(平成11年度～平成13年度)



I. 筋ジストロフィーおよび膜イオンチャネル異常症

Duchenne 型筋ジストロフィー*

石原 傳幸¹

1. 概 念

筋ジストロフィーの定義は遺伝性で進行性の筋力低下を呈するミオパチーと定義される。この定義は1891年にドイツのErbにより作られた¹⁾。原因から定義された概念ではないので、病因を異にする疾患群が含まれることとなる。これ以後に様々な疾患が筋ジストロフィーより分離されてきた。例えば糖原病は、常染色体劣性遺伝疾患で、筋力低下が進行するが筋ジストロフィーとは考えられていない。したがって、現在では遺伝性で進行性という2つの条件のほかに、既知のミオパチーではないという条件も加えなければならない。

1868年にDuchenneが現在Duchenne型(仮性肥大型)筋ジストロフィー(DMD)と呼ばれている疾患を詳細に記載した²⁾。腓腹筋などに著明な肥大をみることから仮性肥大型筋ジストロフィーともいわれる。小児期に発症し、進行性の経過をとり、若年で死亡するという悲惨な経過をとることから、多くの研究がなされてきた。1986年アメリカのKunkelグループの研究によりdystrophin遺伝子が発見されて、この遺伝子の異常によりdystrophinという蛋白質が形成できないことがDMDの原因であることが判明した³⁾。この蛋白質が筋膜に存在することを明らかにしたのは、我が国の荒畑らのグループであった。他の項目で述べるBecker型筋ジストロフィー(BMD)は同じ遺伝子の異常で発症するallelic diseaseであり、BMDでは不完全なdys-

trophinが形成される。DMDは重症型、BMDは良性型と呼ばれることもある。dystrophin遺伝子はX染色体短腕に存在するので遺伝形式は性染色体(伴性)劣性遺伝疾患で通常男子のみに発症する。

2. 分 類

性染色体劣性遺伝形式をとる筋ジストロフィーとしては、DMDやBMDのほかにX染色体長腕のemerin遺伝子異常によって発症するEmery-Dreifuss型筋ジストロフィー(EDMD)がある。DMDの経過は驚くほど均一であるが、他の項目で述べられるようにX染色体の欠失部分が大きいと近くに存在する遺伝子をも巻き込み慢性肉芽腫、McLeod症候群、グリセロールキナーゼ欠損症などを合併する。

3. 病 因

原因はdystrophinが形成されないことにあるのは明白である。dystrophinは筋膜直下に存在しアクチンフィラメントと筋膜に存在するdystroglycanをつないでいる蛋白質である。この蛋白質が存在しないとなぜ筋ジストロフィーになるのかは、まだ明確ではない。しかし、あるべき場所に蛋白質がないと筋膜が脆弱になるであろうことは容易に想像できる。もともと筋細胞は収縮・弛緩という運動を行っており、筋膜はこのストレスに常にさらされているという特徴がある。このストレスに耐えきれず、筋膜の破壊が生じ、筋細胞膜が破壊され細胞外より

Key words : 筋ジストロフィー, 遺伝子診断, Gowers徴候, 遺伝子治療, 心肺不全 *Duchenne muscular dystrophy ¹Tadayuki ISHIHARA: 国立療養所東埼玉病院神経内科 Department of Neurology, National Higashi-saitama Hospital

Caイオンなどが流入して筋細胞自体が破壊されてゆくのではないかと想像されている。ほかに mast cell の役割を重視する説もある⁴⁾。

この破壊プロセスはすべての骨格筋でみられ、心筋も例外ではない。平滑筋にも dystrophin は存在するが、平滑筋異常については存在するという説と平滑筋は障害されないという説があり決着していない⁵⁾。

4. 病 態

a. 検査成績

血液検査では血清CKの上昇が著しい。5歳以下の小児では血清CK値は数千から数万に上昇する。筋炎ではせいぜい1,000以内の上昇であるから、CK値が著明な上昇をみせるときにはDMDを疑う。ただし、CK値が数十万まで上昇することはないので、このオーダーの上昇をみたときには横紋筋融解症を考える。針筋電図では短く、低電位、多相性の活動電位が認められ、典型的な筋原性所見と診断される。神経伝導速度は正常範囲内にとどまる。筋CTでは躯幹から近位筋に筋容積の減少や脂肪化が認められる⁶⁾。大腿部では縫工筋と薄筋のみが他の筋に比べ残存する。CT上大殿筋のすべてが脂肪化する時点が歩行能力を喪失する時期と一致する。筋生検では筋細胞が円形化し、多数の過収縮線維をみる。壊死・再生線維が必ずみられる。年齢が進み死亡した時点でも、筋肉をみると必ず壊死・再生線維が認められる。病気の進行とともにtype 2 fiberが消失しtype 1 fiberの比率が増加する。筋の免疫組織化学的検討を行うことにより確定診断が可能となる。すなわち抗 dystrophin 抗体染色を行うと筋膜に dystrophin が存在しないことで診断できるのである。生化学的に Western blotting により dystrophin 欠損を証明して確定診断する場合もある。従来は病歴や診察結果と上記診断法を組み合わせで診断を行ってきた^{7,8)}。

最近では観血的な筋生検で診断するよりも遺伝子診断を行うことにより確定診断を行う場合が多くなった。痛い手術をしなくても、ヘパリン採血 20 ml で診断がつくからである。DNAを

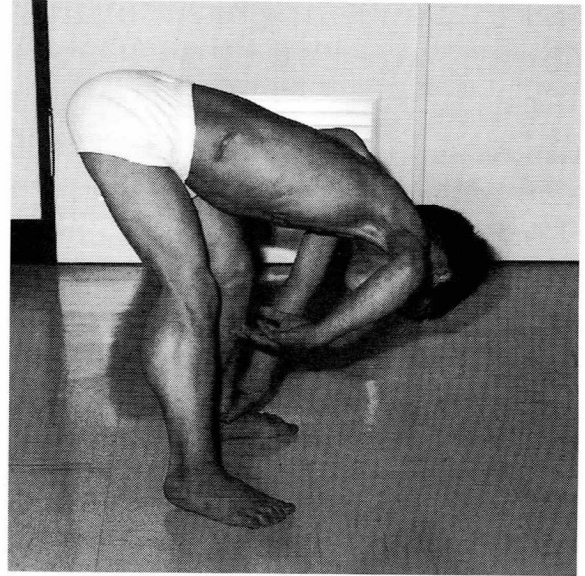


図1 Duchenne型筋ジストロフィーの腓腹筋仮性肥大と登攀性起立(Gowers 徴候)

分離して multiplex PCR 法で検索すると約 55% の確率で dystrophin 遺伝子欠失が証明できる。Southern blot 法を組み合わせると 10 ないし 15% の症例で dystrophin 遺伝子の重複を検出できる。ここまでの検索でも異常が検出できない場合は、もう 1 回採血して RNA を分離する。RNA から cDNA を作製し直接シーケンスを行うと、20% 程度の症例で微小変異(点変異など)が証明できる。現在 90% 程度の確率で dystrophin 遺伝子異常が証明できる。遺伝子異常が不明の 10% は他の病気が紛れ込んでいる可能性が強い⁹⁾。

b. 症候論

DMD は生下時には発症はしていない。生後まもなくの成育も異常はみないが、多くの症例で歩行開始年齢が遅れる。歩き始めても駆けることができない、高いところから跳び降りない、階段昇降が拙劣などの症状が現れ、早ければ 2 歳、おそくても 4 歳までには両親や周囲が異常に気付く。来院時には腓腹筋が肥大して堅く触れ(仮性肥大)、床からの立ち上がりには大腿部に手をつく登攀性起立(Gowers 徴候)が認められる(図 1)。歩行時には腹を前に突き出し、腰を振って歩く動揺性歩行(waddling gait)が認められる。診察時には必ず両足跳びと片足跳びを

観察する。これが両方可能であればDMDは否定的である。4ないし5歳では発育がスパートするために筋力は強くなり病気の勢いが改善するようにみえるが、小学校入学の頃には床からの立ち上がりが不能となり、階段昇降もますます拙劣となる。やがて椅子からも立ち上がれなくなり、歩行不能となる。この時点が平均9歳である。ただし、下肢の手術療法や装具療法を組み合わせ得ると14歳まで歩行可能となる。車椅子に乗車すると多くの症例で急速に脊椎側弯症が進行する。やがては車椅子の操作も不能となり、電動車椅子処方を余儀なくされる。15歳程度で10%内外の症例が左心不全を併発し死亡する。ここを切り抜けると平均19歳程度で呼吸不全を併発し人工呼吸器を装着する。人工呼吸器使用についての予後はよく10年以上生存することは珍しくはない。

5. 診 断

最近の診断法は前述したとおり遺伝子診断法が第一選択となった。遺伝子異常が証明できてもDMDとBMDの鑑別はできないので、前記の両足・片足跳びを行わせてみる。これが可能ならばBMDを考える。

幼児期の鑑別診断としては糖原病2型のPompe病やWerdnig-Hoffmann病、(皮膚)筋炎を考える。血清CK値や筋電図所見が参考となるが、筋生検を行って確定診断をつけることが多い。

6. 治療と予後

a. 根本的治療

遺伝子治療が考えられるが、まだ人体には応用されていない。軽症BMDより採取したmini-dystrophinをウイルスベクター(アデノウイルス)の遺伝子に挿入して、dystrophin遺伝子異常により発症するmdxマウスの筋肉に注射するとdystrophinが発現することは確かめられているが、作られたdystrophinに対する抗体が出現する、2回目の注射からは拒絶反応が起こりベクターが殺されてしまい、注射しても無効になってしまうなどの壁が乗り越えられないのが現状である。またdystrophin遺伝子は巨大であ

り、そのままではベクターに挿入できない大きさであるという悩みも存在する。現在では抗原性のないベクターの開発を目指して研究が行われている。米国ではsarcoglycanopathyの症例で遺伝子治療が既に開始されており、今後DMDにも応用される日がくると期待される。

神戸大学の松尾らは最近オリゴヌクレオチドを用いてdystrophin神戸と呼ばれているexon 19異常のDMDでスプライシングを誘発してエクソスキップを誘発してDMDをBMDに変換しようという新しい試みに挑戦中である。新しい治療法として注目を集めているが、まだ結果の報告はない^{10,11)}。

胎児性幹(ES)細胞移植も有力な治療法になるかもしれないと期待されている。骨髄細胞には筋細胞となり得る幹細胞が含まれていることが見いだされたのは1998年のことであり、その後米国でヒトのES細胞採取・培養に成功して脚光を浴びてきた新しい治療法である。再生医療という革命ともいべき治療法の出現であり、今後の発展に期待したい。

b. 薬物療法

従来は薬物は効果ないとされてきたが、副腎ステロイドホルモンの投与が推奨されるようになった。確かに臨床的には効果がある。投与開始時期は定説がないが、ステロイドには身体発達を抑制する働きもあるので、6歳頃を目安としている。著者は体重1kg当たり0.75mgのprednisoloneを1カ月10日間連続投与する方法を採用している¹²⁾。この方法で投与すると体重増加程度の副作用しか発現しない。効果はすぐに発現するが、2割程度の症例では無効とされる。なぜ効果が発現するのかは不明である。約2年程度進行を遅らせるとされる。

最近ゲンタマイシンの効果が注目されている。この薬剤には点変異を修復する作用があり、微小変異により発病したDMD症例で効果が出る可能性があるが、腎毒性などの副作用の出現する可能性があり、慎重に投与する必要がある。まだDMDで投与されるには至っていない。

c. 合併症治療

左心不全については、心機能の指標として心

胸郭比, UCG, 血清BNPが有用である。UCGでは左室駆出率(EF)が40%以下の症例を左心不全と判定している。最近では血液検査で経過が簡単にチェックできるBNPが指標として使われることが多くなった。正常値は20pg/ml以下であるが, 100pg/mlまでは放置してよいが, 100pg/ml以上で治療を開始する。第一選択はACE阻害剤である。次にジギタリス, 利尿剤を投与する。予後は不良で現在でも発症してから2年程度で死亡してしまう。

呼吸不全については, 脊椎側弯症が原因の一つであり放置すれば変形だけでなく気管や気管支の閉塞を引き起こすことから, 最近では脊柱固定術を推奨している。小学校高学年から中学校程度の症例で手術を行う。呼吸不全の主要な原因は呼吸筋の変性である。呼吸筋変性の原因としては, 呼吸筋の筋ジストロフィーによる変性と残存呼吸筋細胞の疲労による変性が考えられる。

治療としては人工呼吸器治療が必要不可欠である。第一選択の人工呼吸器治療法としては鼻マスクによる陽圧式人工呼吸器治療(NIPPV)があげられる。鼻マスクをつけるだけで十分な換気が得られるので普及してきた。在宅でも十分施行可能である。筋ジストロフィー呼吸不全の最初は夜間のみで十分であるから, 昼間は人工呼吸器を使用せずに活動できる。また呼吸器が小さくて, 携帯可能であることから旅行を楽しむ症例も多く, QOLのよい治療法である。この治療法の平均治療期間は約5年である。呼吸不全が進行すれば気管切開を行い通常の陽圧式人工呼吸器を装着する。酸素吸入が不要な例が多いので在宅治療も可能である。気管切開症例の予後はよく, 治療期間はまだ判明していない。最近著者らはminitracheostomyによる陽圧式人工呼吸器治療を開発中であり, この方法では会話が可能, 食事摂取を妨げないなどの利点がある¹³⁻¹⁵⁾。

文 献

- 1) Erb W: Dystrophia muscularis progressiva. klinische und pathologisch-anatomische Studien. Dtsch Z Nervenheilk 1: 13-94, 1891.
- 2) Duchenne GB: Recherches sur la paralysie musculaire pseudo-hypertrophique ou paralysie myosclerosique. Archives generales de Medicine, 6 ser. 11: 5, 179, 305, 421, 552, 1868.
- 3) Kunkel LM, Hoffman EP: Duchenne/Becker muscular dystrophy: a short overview of the gene, the protein, and current diagnostics. Br Med Bull 45: 630-643, 1989.
- 4) Gorospe JR, et al: A role for mast cells in the progression of Duchenne muscular dystrophy? Correlations in dystrophin-deficient humans, dogs, and mice. J Neurol Sci 122: 44-56, 1994.
- 5) Boland BJ, et al: Skeletal, cardiac, and smooth muscle failure in Duchenne muscular dystrophy. Pediatr Neurol 14: 7-12, 1996.
- 6) 石原傳幸, 里宇明元: CT像からみた筋病変の推移. 神経内科 33: 114-120, 1990.
- 7) Arahata K, et al: Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide. Nature 333: 861-863, 1988.
- 8) Hoffman EP, et al: Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. N Engl J Med 318: 1363-1368, 1988.
- 9) 川村 潤, 石原傳幸: デュシェンヌ, ベッカー型筋ジストロフィー. 神経・筋疾患遺伝子診断ハンドブック Q&A, p61-70, 医学書院, 1999.
- 10) 武田伸一: 筋ジストロフィーに対する遺伝子治療研究の現状. 医学のあゆみ 179: 301-306, 1996.
- 11) 松尾雅文: ジストロフィン遺伝子の多重プロモーターとジストロフィン分子種の多様性. 医学のあゆみ 179: 281-285, 1996.
- 12) Sansome A, et al: Steroids in Duchenne muscular dystrophy; pilot study of a new low-dosage schedule. Neuromuscul Disord 3: 567-569, 1993.
- 13) Ishikawa Y, et al: A management trial for Duchenne cardiomyopathy. Am J Phys Med Rehabil 74: 345-350, 1995.
- 14) Bach JR, et al: Life satisfaction of individuals with Duchenne muscular dystrophy using long-term mechanical ventilatory support. Am J Phys Med Rehabil 70: 129-135, 1991.
- 15) Nomori H, Ishihara T: Pressure-controlled ventilation via a minitracheostomy tube for patients with neuromuscular disease. Neurology 55: 698-702, 2000.

筋強直性ジストロフィー患者の咳嗽反射

高橋 宣成^{*1,*4} 花山 耕三^{*1} 問川 博之^{*1}
石原 傳幸^{*2} 千野 直一^{*3}

Cough Reflex in Myotonic Dystrophy Subjects

Nobushige TAKAHASHI,^{*1,*4} Kozo HANAYAMA,^{*1} Hiroyuki TOIKAWA,^{*1}
Tadayuki ISHIHARA,^{*2} Naoichi CHINO^{*3}

Abstract: The purpose of this study is to investigate the abnormality of cough reflex in myotonic dystrophy (MyD) patients. Fourteen MyD patients, with mean age of 54.0 years, and age-matched 14 healthy adults took part in this study. They inspired the nebulized saline solution (control) and citric acid delivered by an ultrasonic nebulizer for 1 minute. Citric acid was dissolved in saline providing incremental concentrations from 5.6 mg/ml to 360 mg/ml. In this way, participants were promoted to cough. We counted the number of coughs for 2 minutes (1 minute during inspiration, and 1 minute after), and determined the cough threshold as the concentration at which the patient coughed at least 10 times. In the patients group, the thresholds were higher than the control group. We concluded cough reflex was impaired in MyD patients. (*Jpn J Rehabil Med* 2002; 39: 141-144)

要 旨: 筋強直性ジストロフィー患者での「咳嗽反射の閾値」の異常の有無について検討した。対象は、筋強直性ジストロフィー患者 14 名（男性 6 名，女性 8 名，平均年齢 54.0 歳）および年齢と性別をマッチさせた健常者 14 名（54.2 歳）である。生理食塩水およびクエン酸溶液（5.6～360 mg/ml）を低濃度のものから順にそれぞれ 1 分間被検者に吸入させ，その後 1 分間観察時間を置いた。各濃度の溶液吸入開始後の 2 分間に誘発される咳嗽の回数が，初めて 10 回以上となる濃度を閾値とした。その結果，患者群で咳嗽反射の閾値が有意に高かった（ $p=0.011$ ）。健常者群と比較し，患者群では，クエン酸溶液吸入での咳嗽が誘発されにくいといえる。（*リハ医学* 2002; 39: 141-144）

Key words: 筋強直性ジストロフィー (myotonic dystrophy), 咳嗽反射 (cough reflex), 誤嚥性肺炎 (aspiration pneumonia)

はじめに

筋強直性ジストロフィー（以下 MyD）患者において，誤嚥性肺炎はよく知られた合併症の 1 つである。松岡ら¹⁾は，MyD 患者の死因の 57% は呼吸器感染

症・呼吸不全で，その大部分は誤嚥性肺炎であったとしている。また，岸林ら²⁾は，MyD 患者の死因の 50% が呼吸不全・肺炎であったと報告している。

誤嚥性肺炎は誤嚥に伴い発症するが，誤嚥は必ずしも肺炎発症に直結しない。咳嗽反射や粘液線毛輸送系

2001 年 9 月 12 日受付，2002 年 2 月 18 日受理

^{*1} 国立療養所東埼玉病院リハビリテーション科/〒 349-0196 埼玉県蓮田市大字黒浜 4147

Department of Rehabilitation Medicine, National Higashisaitama Hospital

^{*2} 国立療養所東埼玉病院内科/〒 349-0196 埼玉県蓮田市大字黒浜 4147

Department of Internal Medicine, National Higashisaitama Hospital

^{*3} 慶應義塾大学医学部リハビリテーション医学教室/〒 160-8582 東京都新宿区信濃町 35

Department of Rehabilitation Medicine, Keio University School of Medicine

^{*4} 現在：市川市リハビリテーション病院リハビリテーション科/〒 272-0802 千葉県市川市柏井町 4-229-4

Department of Rehabilitation Medicine, Ichikawa Rehabilitation Hospital

などといった気道清掃力や、好中球やマクロファージといった貪食系細胞、また免疫系の活動により、肺炎が予防される³⁾。すなわち、これらはいわば生体の防御機構であり、その破綻により誤嚥性肺炎が発症する。従って、誤嚥性肺炎の発症を予測するには、単に誤嚥の有無のみでなく、防御機構の検討が必要である。

問川ら⁴⁾は、MyD患者における嚥下障害について検討し、嚥下造影で誤嚥が確認された者の中には、臨床的に肺炎の既往のない者も存在し、検査上の誤嚥の有無と肺炎の既往は必ずしも一致なかったとしている。

佐々木らによれば、健常人では加齢による咳嗽反射の障害は見られず⁵⁾、誤嚥性肺炎を生じた高齢者では咳嗽反射が誘発されにくい状態になっている⁶⁾。

今回我々は、その防御機構の1つである咳嗽反射に着目し、MyD患者での「咳嗽反射の閾値」の異常の有無について検討した。

対 象

対象は、MyD患者および年齢と性別をマッチさせた健常者である。

MyD患者は、臨床症状で診断された当院入院中の者のうち、食事摂取が可能で、検査の主旨が理解でき、協力的である者とした。人工呼吸器を24時間装着している者は除外した。一方、健常者とは、脳血管障害や神経筋疾患、嚥下障害、誤嚥性肺炎の既往を認めず、日常生活動作が自立している者とした。

被検者には、検査内容の説明を文書と口頭で行い、同意を得た上で検査を行った。

方 法

さまざまな濃度のクエン酸溶液を、ネブライザーによってエアロゾル化し、被検者に吸入させることにより、咳嗽を誘発し、「咳嗽反射の閾値」を測定した。

吸入液としては、クエン酸一水和物360mgに生理食塩水(以下、生食)1mlを加えた溶液を基準に、倍々希釈で7段階(360~5.6mg/ml)、および生食の8種類を用いた。吸入は、車椅子あるいは椅子で座位をとり、ジェット式ネブライザー(デビルピス社製、No.646)を用い、ノーズクリップを装着して行った(図1)。被検者には、なるべく自然な呼吸のペースでネブライザーのマウスピースをくわえて吸入し、口か



図1 吸入の写真

らマウスピースを離して呼出するよう指示した。吸入を1分間行い、その後1分間の観察時間を置いた。各段階の間には2分間以上の休憩時間をとった。

はじめに生食の吸入を行い、次いで最も濃度の低い5.6mg/mlの溶液から順次1段階ずつ濃度を上げて繰り返した。

評価は、各濃度の溶液を吸入している1分間と観察時間1分間との計2分間に誘発される咳嗽の回数で行った。初めて10回以上咳嗽がみられた溶液の濃度を閾値とし、その時点で検査を終了とした。

統計処理には、Mann-WhitneyのU検定を用いた。

この方法は、関沢ら⁷⁾の方法に若干の変更を加えたものである。関沢らは5回の咳嗽がみられた濃度を閾値としていた。しかし、マウスピースをくわえただけで軽くむせる者などもあり、吸入により咳嗽が誘発されたことを確実に確認する意味で回数を増やし10回を閾値とした。また、関沢らは、1分間の吸入後3分間の観察時間を置いていた。しかし、咳嗽がみられるのは、吸入中、あるいは、吸入直後であり、遅くとも20~30秒後である。観察時間は1分間で充分であると判断とした。実際、その後の2分間以上の休憩時間に咳嗽反射が誘発された者はいなかった。

結 果

当院入院中のMyD患者約20名のうち対象となったのは14名(男性6名、女性8名、平均年齢54.0歳:以下、患者群)であった。全例、座位での食事摂取が自力で可能であった。

対照の健常者14名(以下、健常者群)の平均年齢

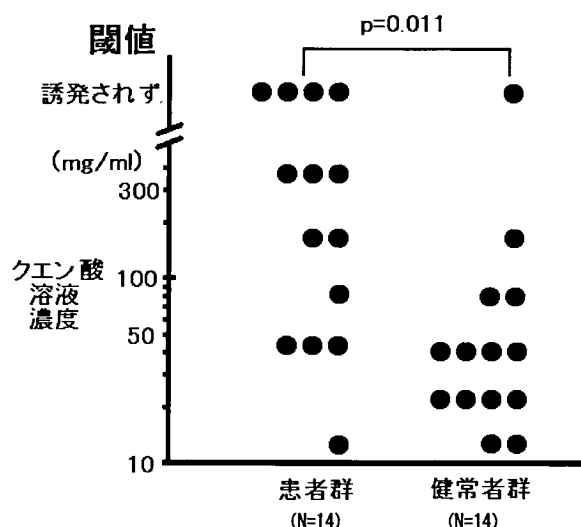


図2 各濃度の溶液で、初めて10回以上咳嗽が誘発された（閾値となった）被検者の数を示す。

は54.2歳であった。

生食と5.6 mg/mlのクエン酸溶液で閾値に達した者はなく、すべての被検者で、咳嗽反射の閾値は11.2 mg/mlより高かった。健常者群では、一番濃いクエン酸溶液（360 mg/ml）でも咳嗽が誘発されなかった者が1名だけだったのに対し、患者群では4名であった。患者群で咳嗽反射の閾値が有意に高かった（ $p=0.011$ ）（図2）。

考 察

MyDの咳嗽反射については、松本ら⁹⁾の症例報告が見られるのみで、系統だった研究はなされていなかった。今回の研究により、患者群で咳嗽反射の閾値が有意に高いことがわかった。

咳嗽は、喉頭や気管、気管支、肺胞などに存在する咳受容体からの信号が、求心性迷走神経が主体の求心性経路を通じて、延髄の咳中枢に伝達され、その後遠心性迷走神経、下喉頭神経、肋間神経などを遠心性経路とし、効果器である喉頭、気管、気管支、腹筋などに至ることで生じる⁹⁾。また、咳中枢は、上位中枢（大脳皮質）の支配も受けている⁹⁾。

MyD患者における咳嗽反射障害の原因としては、これらの経路のいずれかでの異常が考えられる。

MyDではインスリン、アンドロゲンなどホルモンの受容体に異常をきたす^{10,11)}ことが知られているが、咳受容体が異常をきたしている可能性もあると考えられる。

また、MyDは知能低下などの中枢神経症状を伴う

ことは広く知られており¹²⁾、中枢神経系の何らかの異常が咳嗽反射の閾値上昇に関与している可能性がある。一方、MyDに末梢神経障害が合併するか否かは議論の分かれるところである^{13~16)}が、末梢神経障害に伴って咳嗽反射が障害されている可能性も否定はできない。

Addingtonらは、脳卒中患者を対象に酒石酸を用いて今回と同様の研究を行っている^{17,18)}。その結果、咳嗽反射誘発検査で異常を示したものは誤嚥性肺炎を生じやすいとしている。今回の患者群には、肺炎の既往のあるものは含まれていなかった。しかし、咳嗽反射が誘発されにくくなっていることから、誤嚥性肺炎発症のリスクが高いと考えられる。

なお、健常者群で咳嗽反射が誘発されなかった1例は、ヘビースモーカーであった。鈴木ら¹⁹⁾は、今回と同様のクエン酸溶液を用いた咳嗽反射誘発の実験において、喫煙者群では、非喫煙者群と比べて咳嗽反射誘発閾値が上昇していたと報告している。

一方、MyD群で咳嗽反射の閾値が低い例が見られた。MyDは各種症状の進行はさまざまであり、咳嗽反射に関しては障害が軽度であったと考えられる。

本論文の要旨は、第37回日本リハビリテーション医学会学術集会で発表した。

文 献

- 1) 松岡幸彦, 小長谷正明, 斎藤由扶子: 筋強直性ジストロフィーの予後と死因. 医療 1996; 50: 547-550
- 2) 岸林 潤, 保坂和子, 土屋一郎, 西岡昌紀, 春原経彦: 筋強直性ジストロフィー (非先天型) の予後・死因. 医療 1999; 53: 515-519
- 3) 川端 厚, 一山 智, 下方 薫: 誤嚥性肺炎と宿主防御. 化学療法の領域 1997; 13: 2252-2257
- 4) 間川博之, 花山耕三, 安藤久恵, 田村拓久, 石原傳幸, 川城丈夫: 筋ジス患者の嚥下障害に関する研究 長期観察例の報告. 厚生省精神・神経疾患研究10年度研究報告書 筋ジストロフィー患者のQOLの向上に関する総合的研究. 1999; 316-318
- 5) Katsumata U, Sekizawa K, Ebihara T, Sasaki H: Aging effects on cough reflex. Chest 1995; 107: 290-291
- 6) Sekizawa K, Ujiie Y, Itabashi S, Sasaki H, Takashima T: Lack of cough reflex in aspiration pneumonia. Lancet 1990; 335: 1228-1229
- 7) 関沢清久, 佐々木英忠: 咳反射と呼吸器疾患. 日胸疾会誌 1990; 28: 29-34
- 8) 松本久子, 網谷良一, 渡辺茂樹, 李 雲柱, 新実彰勇, 坪井和正, 陳 和夫, 大井元晴, 中村慎一, 久世文幸: 胸部異常陰影を契機に発見され、肺胞低換気を呈した筋緊

- 張性ジストロフィーの1例. 日胸疾会誌 1996; 34: 997-1002
- 9) 古屋佳昭, 堀江孝至: 咳・痰の病態生理. JOHNS 1994; 10: 1505-1508
- 10) Mishra SK, Chetty S, Kataoka M: Abnormal insulin receptor binding in cultured monocytes in myotonic muscular dystrophy. *Biochem Med Metab Biol* 1992; 47: 161-167
- 11) Zhang L, Leeflang EP, Yu J, Arnheim N: Studying human mutations by sperm typing: instability of CAG trinucleotide repeats in the human androgen receptor gene. *Nat Genet* 1994; 7: 531-535
- 12) 川井 充, 齊藤祐子, 中山貴博, 内山 剛, 谷田部可奈: 筋強直性ジストロフィーの中樞神経系病変分析 MRIによる検討. 厚生省精神・神経疾患研究8~10年度研究報告書 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究. 1999; 311
- 13) Cros D, Harnden P, Pouget J, Pellissier JF, Gastaut JL, Serratrice G: Periferal neuropathy in myotonic dystrophy: a nerve biopsy study. *Ann Neurol* 1988; 23: 470-476
- 14) Russo LS: Altered motor neuron excitability in myotonic dystrophy. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1991; 31: 461-466
- 15) Logullo F, Censori B, Danni M, Del Pesce M, Di Bella P, Provinciali L: Peripheral neuropathy in myotonic dystrophy: electrophysiological and clinical features. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1992; 32: 515-520
- 16) 松本俊介, 長谷川修, 小宮山純, 栗田竜子, 久保田(奈良)優貴子: 筋強直性ジストロフィーに固有の末梢神経障害の合併はない. *神経内科* 1996; 44: 248-252
- 17) Addington WR, Stephens RE, Gilliland K, Rodriguez M: Assessing the laryngeal cough reflex and the risk of developing pneumonia after stroke. *Arch Phys Med Rehabil* 1999; 80: 150-154
- 18) Addington WR, Stephens RE, Gilliland KA: Assessing the laryngeal cough reflex and the risk of developing pneumonia after stroke. *Stroke* 1999; 30: 1203-1207
- 19) 鈴木和夫, 岡元和文, 黒瀬満郎, 佐藤俊秀, 緒方健一, 森岡 享: 喫煙者の咳反射は弱い. *麻酔* 1993; 42: 1562

Dystrophin異常症に対するPrednisolone治療

分担研究者 神野 進

(国立療養所刀根山病院神経内科)

平成11年度

関節拘縮が無いか軽微な、Dystrophin異常症の若年患者に少量のPrednisolone(PSL)を投与し、その効果を観察した。

対象は4歳以下の患者2名で、体重1kgあたり0.33mgのPSLを隔日朝に投与した。PSL投与に先立ち保護者から承諾を得た。

症例1：在胎39週(3390g)。頸のすわり4ヶ月、寝返り7ヶ月、お座り・つかまり立ち8ヶ月、伝い歩き9ヶ月、ひとり歩き18ヶ月。4歳時に歩容異常、易転倒のため小児神経専門医を受診、臨床徴候、CK高値(20,585U/l)、dystrophin DNA欠失(49,50,51,52)などを根拠にDMDと診断された。1999年7月6日に当院初診。血清CK値は35,590U/l(MM97%, MB3%)。ジャンプ不能。同年9月1日(4歳8ヶ月)からPSL投与開始。

症例2：在胎40週(2900g)。頸のすわり3ヶ月、お座り6ヶ月、ひとり立ち9ヶ月、ひとり歩き13ヶ月。1歳5ヶ月時に熱性痙攣を起こし、公立病院を受診。その際、高CK血症(20,000~75,000U、正常値20~200)を指摘された。筋疾患を疑われ、dystrophin DNA検査を受け、45,47,48,49の欠失を指摘された。1997年3月25日当院初診(血清CK値 10,270~27,310U/l 正常上限277)。走行やジャンプが可能である。臨床的にはBMDと診断した。dystrophin DNA欠失(45,47,48,49)を認めた。1999年11月17日(4歳2ヶ月)からPSL投与開始。

運動機能評価は既報の方法で行った¹⁾。

PSL投与前の臨床指標などを表に示した。PSL投与期間は2週間~3ヶ月であり、現時点ではPSL効果を評価することは困難である。長期の臨床観察を続ける予定である。

Prednisolone投与前の指標

症例	1	2
運動機能障害度	I-a	I-a
10m走行(秒)	5.7	3.5
5段(16cm)昇り(秒)	5.2	2.4
股関節可動域(伸展 R/L)	25°/25	25°/25
足関節可動域(背屈 R/L)	20°/10	30°/30

平成12年度

Dystrophin異常症の運動機能障害進展に対する少量PSLの抑制効果を引き続き検討した。平成11年度に報告した症例1については51週、症例2については17週の評価を実施できた。

動作遂行時間の推移を追跡できた項目は階段(16cm,5段)昇りと10m走行であった。前者については、症例1では5.2(前値)、6.7、4.0、4.5秒(51週後)、症例2では2.4(前値)、1.6秒(17週後)であった。後者については、症例1では5.7(前値)、5.4、5.5秒(51週後)、症例2では3.5(前値)、3.5(17週後)であった。

右股関節伸展の可動域は、症例1では25(前値)、20、15、10度(51週後)、症例2では25(前値)、20度(17週後)に、右足関節背屈のそれは、症例1では20(前値)、15、20、15度(51週後)、症例2では30(前値)、25度(17週後)で、ともに縮小した。

血清CKは有意の変動を示さなかった。

4歳代にPSLを投与しても関節可動域制限を抑止できないようである。投与量が少ないことに起因しているかは今後の検討課題である。日常生活動作の維持には、PSL服用していても関節可動域訓練の併用が不可欠である。

平成13年度

4歳代にPSL投与を開始した2名に6歳代あるいは8歳代にPSL投与を開始した2名を加え、少量PSLがdystrophin異常症の運動機能障害進展を抑制するか否かを検討した。追加の症例3はdystrophin遺伝子の欠失(48、49、50、51、52)を、症例4は生検筋組織でdystrophin欠損を示し、ともに臨床的DMDと診断されている。

体重あたりのPSL服用量は体重増加に伴い減少し、最終評価時点(63~120週)では0.24~0.29mg/kgBWとなった。

臨床診断がDMDの3例における服用前の10m走行時間は6秒以下であったが、最終評価週では7~7.6秒に延長した。BMDの1例では3.5秒から3秒に短縮した。階段昇り時間時間はBMD例とDMD1例(投与時年齢4歳8ヶ月)では前値より若干、短縮したが、他の2名では延長した。

関節可動域範囲は4例とも次第に縮小した。

8歳代にPSL投与開始の1例は体重の著明増加を示したが、有害事象は認めなかった。

4歳代に少量PSLを投与した2例(DMD、BMD各1例)では、1年以上にわたり良好な運動機能を維持し得たが、関節拘縮の進展を抑止できなかった。関節可動域訓練の併用が必要である。筋ジストロフィーの運動機能障害進展に対する少量PSLの抑制効果については二重盲検比較試験が必要である。

【文献】

- 1) 姜 進: デュシェンヌ型筋ジストロフィーの薬物治療-特に副腎皮質ホルモンについて-。臨床神経, 36: 1338-1440. 1996

筋ジストロフィーにおける血清 Vascular endothelial growth factor

斉藤利雄, 山本裕子*, 横江 勝, 国富厚宏, 松村 剛,
野崎園子, 神野 進

国立療養所刀根山病院・神経内科・研究検査科*

要 旨

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)17例, Becker型筋ジストロフィー(BMD) 5例, 福山型筋ジストロフィー(FCMD)12例, 脊髄性筋萎縮症2型(SMA type 2)4例の血清vascular endothelial growth factor(VEGF), creatine kinase(CK), fibrin and fibrinogen degradation products(FDP), および対照群5例の血清VEGFを測定した. 血清VEGFは, DMD 209.7pg/ml (SEM, 34.6), BMD 188.0 pg/ml(39.1), FCMD 189.4pg/ml(48.8), SMA type 2 117.7 pg/ml(19.4), 対照群161.3 pg/ml(38.0)であった. CK, FDPとの間に有意な関係は認めなかったが, 筋ジストロフィー群でVEGFは上昇しており, VEGFは筋ジストロフィーの筋崩壊・凝固線溶異常の病態に関連する可能性がある.

見出し語

筋ジストロフィー, vascular endothelial growth factor (VEGF)

緒 言

筋ジストロフィーには潜在的な血液凝固線溶異常があり, 筋崩壊と密接に関連している¹⁾. また, 血清soluble vascular cell adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble E-selectinなどの可溶性接着分子も筋崩壊と関連している可能性がある²⁾. われわれは, 血液凝固線溶系活性化, 接着分子発現の両者に関与すると考えられる血管内皮細胞関連因子に注目し, vascular endothelial growth factor (VEGF)と筋崩壊・凝固線溶系との関連を検討した.

対象・方法

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)17例, Becker型筋ジストロフィー(BMD)5例, 福山型筋ジストロフィー(FCMD)12例, 脊髄性筋萎縮症2型(SMA type 2)4例, 計38例(男性30例, 女性8例, 4歳~23歳, 平均14.6歳)を対象とし, 血清VEGF, creatine kinase(CK), fibrin and fibrinogen degradation products(FDP)を測定した. また, non-age matchedの健常成人5例(女性)を対照とし, 血清VEGFを測定した.

疾患の診断は遺伝子検査あるいは筋生検に加え臨床症状によった^{3, 4, 5)}. VEGFの測定にはenzyme-linked

immunosorbent assay kit(R&D systems)を, FDPの測定にはlatex凝集法を用いた.

対象の運動機能は, ambulatory(able to stand and walk without support), able to stand and walk with support, chairboundの3群に分類した.

統計学的検定

各パラメーターの比較にはone way factorial ANOVAを用い, Fisher's least significant difference testをpost hoc testとして用いた. 統計学的有意差を $p < 0.05$ とした.

Table

	DMD	BMD	FCMD	SMA type 2	Control	(Institute control)
n	17	5	12	4	5	
Sex [‡]	17/0	5/0	6/6	2/2	0/5	
Age [†] (years old)	11.7±1.3 [†] (4.2~23.4)	11.6±2.2 [†] (4.3~16.5)	13.9±1.8 [†] (5.6~22.7)	18.9±2.3 [†] (12.6~23.7)	26.0±0.7 [†] (23.7~27.6)	
Functional status [‡]	2/1/12	5/0/0	0/0/12	0/0/4	5/0/0	
VEGF (pg/ml)	209.7±34.6 (46.2~505.0)	188.0±39.1 (106.0~334.0)	189.5±48.8 (0.1~606.0)	117.7±19.4 (76.7~168.0)	161.3±38.0 (46.5~283.0)	
CK (U/l)	6,191±1,448 (254~20,041)	7,088±5,093 (361~27,310)	2,151±453 (446~4,728)	38±8 (19~52)	-	(38~277)
FDP [§] (μg/ml)	20.6±3.6 [§] (2.1~47.4)	17.0±12.2 (1.7~65.8)	8.1±1.7 [§] (2.0~18.9)	0.8±0.2 [§] (0.5~1.3)	-	(<10)

Table

Summary of demographic features, serum VEGF, CK and FDP in patient and control groups

DMD: Duchenne muscular dystrophy, BMD: Becker muscular dystrophy, FCMD: Fukuyama congenital muscular dystrophy, SMA: spinal muscular atrophy, VEGF: vascular endothelial growth factor, CK: creatine kinase, FDP: fibrin and fibrinogen degradation products

Data for age and laboratory results are mean ± SEM (range).

£ men / women

§ ambulatory (able to stand and walk without support) / able to stand and walk with support / chairbound

† one-way factorial ANOVA $p < 0.001$: DMD and Control: BMD and Control: FCMD and Control: SMA type 2 and Control

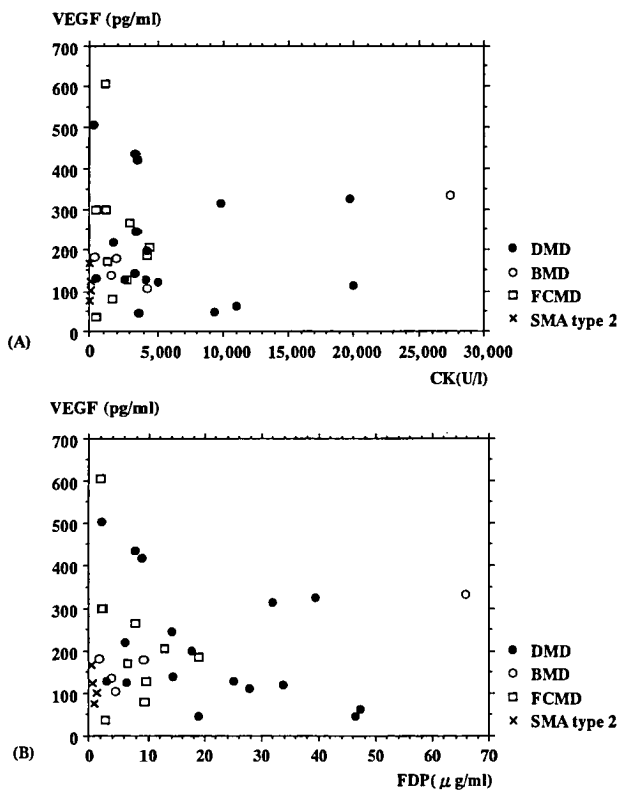
§ one-way factorial ANOVA $p < 0.05$: DMD and FCMD: DMD and SMA type 2

結果

各群の年齢, 運動機能, 血清VEGF, CK, FDPの結果をTableに示す. 疾患群間の年齢には有意差を認めなかったが, 対照群の年齢は各疾患群に比し有意に高値であった. DMDの2例, BMDの全例で歩行能は保たれていたが, DMDの2例, FCMDとSMA type 2の全例は車椅子を使用していた.

血清VEGFは筋ジストロフィー群で高値傾向であったが, 群間の有意差はなかった. DMDのFDPはFCMD, SMA type 2に比し有意に高値であった. 血清VEGFとCK, FDPとの間に有意な関係は認めなかった(Figure (A), (B)).

Figure



Figure

(A) Correlation of CK and VEGF in patient groups.
 (B) Correlation of FDP and VEGF in patient groups.

The serum levels of VEGF did not correlate with those of CK or FDP in patient groups.

DMD: Duchenne muscular dystrophy, BMD: Becker muscular dystrophy, FCMD: Fukuyama congenital muscular dystrophy, SMA: spinal muscular atrophy, VEGF: vascular endothelial growth factor, CK: creatine kinase, FDP: fibrin and fibrinogen degradation products

考察

本検討では、筋ジストロフィー群にVEGFの上昇例を認めた。一般にVEGFは組織の低酸素状態で誘導されることが知られており⁹⁾、血管炎や脳血管障害などの病態に深く関わるとされている^{7,8,9)}。

DMDやFCMDの筋病理では血管内腔の閉塞や内皮細胞の形態的異常が報告されており^{10,11)}、DMD、BMD、FCMDでは血液凝固線溶異常により筋組織での微小循環障害が起こる可能性がある¹⁾。その結果としてVEGFが上昇するのか、また筋ジストロフィーに血管炎類似的病態が存在するか否かは明らかではないが、血管内皮細胞を含み血管系の異常による筋崩壊助長の可能性は否定できない。本検討の結果は、筋ジストロフィーでは筋組織での低酸素状態およびそれに伴う筋崩壊増悪が起こり得ることを示唆する。

CK、FDPとの関連は明らかでなかったが、VEGFは筋ジストロフィーの筋崩壊・凝固線溶異常の病態に関

連する。

参考文献

- 1) Saito T, Takenaka M, Miyai I, et al. : Coagulation and Fibrinolysis Disorder in Muscular Dystrophy. *Muscle Nerve* 2001; 24: 399-402.
- 2) 齊藤利雄, 山本裕子, 神野 進. : 筋ジストロフィーにおける可溶性接着分子. *脳と発達* 2002; 34: in press.
- 3) Dubowitz V. : *Muscle disorders in childhood*, 2nd ed. London: Saunders, 1995: 34-133.
- 4) Osawa M, Sumida S, Suzuki N, et al. : Fukuyama type congenital progressive muscular dystrophy. In: Fukuyama Y, Osawa M, Saito K, eds. *Congenital muscular dystrophy*. Amsterdam: Elsevier, 1997: 31-68.
- 5) Dubowitz V. : *Muscle disorders in childhood*. 2nd ed. London: Saunders, 1995: 325-69.
- 6) Nomura M, Yamagishi S, Harada S, et al. : Possible participation of autocrine and paracrine vascular endothelial growth factors in hypoxia-induced proliferation of endothelial cells and pericytes. *The Journal of Biological Chemistry* 1995; 270: 28316-28324.
- 7) Maeno N, Takei S, Masuda K, et al. : Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in Kawasaki disease. *Pediatr Res* 1998; 44: 596-9.
- 8) Slevin M, Krupinski J, Slowik A, Kumar P, Szczudlik A, Gaffney J. : Serial measurement of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor- β 1 in serum of patients with acute ischemic stroke. *Stroke* 2000; 31: 1863-1870.
- 9) Matsuyama W, Hashiguchi T, Umehara F, et al. : Expression of vascular endothelial growth factor in tuberculous meningitis. *J Neurol Sci* 2001; 186: 75-79.
- 10) Miike T, Sugino S, Ohtani Y, Taku K, Yoshioka K. : Vascular endothelial cell injury and platelet embolism in Duchenne muscular dystrophy at the preclinical stage. *J Neurol Sci* 1987; 82: 67-80.
- 11) Sugino S, Miyatake M, Ohtani Y, Yoshioka K, Miike T, Uchino M. : Vascular alterations in Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1991; 13: 77-81.

Serum Vascular Endothelial Growth Factor in Muscular Dystrophy

Toshio Saito, Yuko Yamamoto*, Masaru Yokoe, Atsuhiko Kunitomi, Tsuyoshi Matsumura, Sonoko

Nozaki and Susumu Shinno

Departments of Neurology and *Clinical Laboratory,
Toneyama National Hospital, Toyonaka, Osaka

To investigate the pathophysiology of muscular dystrophy, we measured serum levels of vascular endothelial growth factor(VEGF), creatine kinase(CK) and fibrin and fibrinogen degradation products(FDP) in 17 patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD), 5 with Becker muscular dystrophy(BMD), 12 with Fukuyama type congenital muscular dystrophy (FCMD) and 4 with spinal muscular atrophy(SMA) type 2, and also serum VEGF in 5 healthy controls. The serum levels of VEGF were as follows; DMD, 209.7 ± 34.6 pg/ml(46.2~505.0); BMD, 188.0 ± 39.1 pg/ml (106.0~334.0); FCMD, 189.5 ± 48.8 pg/ml(0.1~606.0); SMA type 2, 117.7 ± 19.4 pg/ml(76.7~168.0); controls, 161.3 ± 38.0 pg/ml(46.5~283.0). The serum levels of VEGF were higher than those of SMA type 2 and controls, but not with significance. Although there was no significant correlation between the serum levels of VEGF and those of CK or FDP in any groups, VEGF might reflect the hypoxic condition in muscle tissue and be related with the process of muscle destruction and coagulation-fibrinolysis disorder in muscular dystrophy.

Key words

muscular dystrophy , vascular endothelial growth factor (VEGF)

ABSTRACT: To investigate whether there are any basic abnormalities of coagulation and fibrinolysis in muscular dystrophy, we measured serum levels of the MM isozyme of creatine kinase (CK-MM), fibrin and fibrinogen degradation products (FDP), plasma levels of fibrinogen, antithrombin (AT), and D-dimer in 36 patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD), 11 with Becker muscular dystrophy (BMD), 5 with Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMD), 5 with myotonic dystrophy (MyD), and 5 with spinal muscular atrophy (SMA) type 2. FDP levels were elevated in the patients with DMD, BMD, and FCMD (1.0 to 84.9 µg/ml), but not in the patients with MyD and SMA type 2. In DMD, BMD, and FCMD, FDP levels significantly correlated with CK-MM, but not with age, fibrinogen, AT, D-dimer, and type of dystrophy (multiple regression analysis; $r^2 = 0.814$, $P < 0.0001$). These findings suggested that enhanced coagulation and fibrinolysis are associated with muscle degeneration in patients with DMD, BMD, and FCMD.

© 2001 John Wiley & Sons, Inc. *Muscle Nerve* 24: 399–402, 2001

COAGULATION AND FIBRINOLYSIS DISORDER IN MUSCULAR DYSTROPHY

TOSHIO SAITO, MD,^{1,2} MARINA TAKENAKA, MD,² ICHIRO MIYAI, MD, PhD,¹

YUKO YAMAMOTO,³ TSUYOSHI MATSUMURA, MD,¹

SONOKO NOZAKI, MD, PhD,¹ and JIN KANG, MD, PhD¹

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

² Department of Pediatrics, Yodogawa Christian Hospital, 2-9-26 Awaji, Hugashiyodogawa-ku, Osaka, Japan

³ Department of Clinical Laboratory, Toneyama National Hospital, 5-1-1 Toneyama, Toyonaka, Osaka, Japan

Accepted 24 October 2000

Thrombosis, such as pulmonary embolism and cerebral infarction, is a complication of muscular dystrophy.^{2,8,10,13,19} The incidence of cerebral infarction in Duchenne muscular dystrophy (DMD) is reported to be 0.75 to 1.8%,¹⁰ although that of pulmonary embolism remains unclear. These complications usually occur in patients with advanced disease and congestive heart failure.^{8,10,19} Cerebral infarction, however, has been reported in DMD patients without congestive heart failure.¹³ This raises the question of whether there are basic abnormalities in coagulation and fibrinolysis in patients with muscular dystrophy. We therefore investigated the coagu-

lation and fibrinolysis status in patients with muscular dystrophy without congestive heart failure.

SUBJECTS AND METHODS

We studied 57 patients (52 men and 5 women) with muscular dystrophy and 5 (3 men and 2 women) with spinal muscular atrophy (SMA) type 2⁷ in the outpatient clinic or chronic care facility of Toneyama National Hospital. The patients with muscular dystrophy included 36 patients with DMD and 11 with Becker muscular dystrophy (BMD) diagnosed by muscle biopsy or gene analysis,^{1,4,12} 5 with Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMD), diagnosed on muscle biopsy and neuroimaging findings,¹⁸ and 5 with myotonic dystrophy (MyD), diagnosed clinically.⁶ Patients with congestive heart failure taking any cardiac medication such as digitalis, diuretics, and an ACE inhibitor were excluded. Eighteen of 36 patients with DMD, and all with BMD and MyD were able to stand and walk without support. Two of 36 patients with DMD were able to stand and walk with support. Sixteen of the 36 pa-

Abbreviations: AT, antithrombin; BMD, Becker muscular dystrophy; CK-MM, MM isozyme of creatine kinase; DMD, Duchenne muscular dystrophy; FDP, fibrin and fibrinogen degradation products; FCMD, Fukuyama congenital muscular dystrophy; MyD, myotonic dystrophy; SMA, spinal muscular atrophy

Key words: coagulation and fibrinolysis; D-dimer; fibrin and fibrinogen degradation products (FDP); MM isozyme of creatine kinase (CK-MM); muscular dystrophy

Correspondence to: T. Saito; e-mail: saitot@toneyama.hosp.go.jp

© 2001 John Wiley & Sons, Inc.

tients with DMD, and all the patients with FCMD and SMA type 2 were chairbound.

We measured serum levels of the MM isozyme of creatine kinase (CK-MM), total fibrin and fibrinogen degradation products (FDP), plasma levels of fibrinogen, antithrombin (AT), and D-dimer, and the platelet count. Latex agglutination test was used as a measuring method of FDP and enzyme-linked immunosorbent assay was used for D-dimer.¹⁷

Informed consent was obtained from all patients and their families. The study was approved by our local ethics committee.

Statistical Analysis. Comparison of each parameter of the patients relied on one-way factorial ANOVA. Fisher's least significant difference test was used as a post-hoc test for multiple comparison. Statistical significance was accepted at $P < 0.05$.

RESULTS

Demographic features, and coagulation and fibrinolysis parameters of the patients are summarized in Table 1. Age was comparable among the patient groups. The levels of FDP were elevated ($>10.0 \mu\text{g/ml}$) in 26 of 36 patients with DMD, 4 of 11 with BMD, and 4 of 5 with FCMD, but was not elevated in the patients with MyD and SMA type 2. The levels of D-dimer were elevated ($>66.0 \text{ ng/ml}$) in 28 patients with DMD, 4 with BMD, 3 with FCMD, 1 with MyD, and 1 with SMA type 2. The levels of CK-MM, FDP, and D-dimer in the patients with DMD showed significant elevation, compared with the patients with

BMD, MyD, and SMA type 2 ($P < 0.05$). Fibrinogen, AT, and platelet count all were in the normal range and did not differ among the patient groups significantly.

Because some patients with DMD, BMD, and FCMD showed elevated levels of FDP, in these three patient groups we performed multiple regression analysis with FDP level as the dependent variable, and with age, CK-MM, fibrinogen, AT, D-dimer, and dummy value (assigned to categorical variables; DMD, BMD, and FCMD) as independent variables. Multiple regression analysis ($r = 0.902$, $r^2 = 0.814$, $P < 0.0001$) showed that the level of FDP significantly correlated with that of CK-MM [standard coefficient 0.810, $p < 0.0001$, Fig. 1(A)], but not with age, fibrinogen, AT, D-dimer, and type of disease (Table 2). Although the correlation between D-dimer and FDP was not statistically significant in the patients with DMD, BMD, and FCMD, they were both elevated [Fig. 1(B)].

DISCUSSION

In the present study, we showed an elevation of both serum FDP and plasma D-dimer in patients with DMD, BMD, and FCMD. Elevation of both parameters indicates enhanced fibrinolysis following activation of the coagulation cascade and consequent fibrin thrombus *in vivo*.⁵ The serum level of FDP significantly correlated with that of CK-MM in patients with DMD, BMD, and FCMD. Multiple regression analysis revealed that this correlation did not depend on type of muscular dystrophy. Elevated

Table 1. Summary of demographic features, coagulation and fibrinolysis parameters in patients.

	DMD	BMD	FCMD	MyD	SMA type 2	(Normal range)
<i>n</i>	36	11	5	5	5	
Age (years)	11.0 ± 3.7 (2.4 to 19.6)	11.8 ± 3.2 (6.5 to 16.5)	8.9 ± 2.8 (6.3 to 13.6)	13.7 ± 6.9 (3.6 to 23.0)	18.2 ± 4.2 (11.5 to 22.5)	
Functional status*	18/2/16	11/0/0	0/0/5	5/0/0	0/0/5	
CK-MM (U/L)	8,189 ± 6,504† (556 to 26,851)	4,061 ± 3,605† (543 to 10,744)	3,757 ± 2,240 (1,296 to 5,642)	347 ± 174† (163 to 611)	45 ± 27† (21 to 89)	(32 to 197)
FDP (μg/ml)	24.0 ± 19.1‡ (1.0 to 84.9)	7.9 ± 7.0‡ (2.0 to 24.9)	14.7 ± 7.1 (4.6 to 21.3)	2.1 ± 0.6‡ (1.4 to 3.0)	1.0 ± 0.2‡ (0.7 to 1.3)	(≤10.0)
Fibrinogen (mg/dl)	268.0 ± 70.0 (161.0 to 426.0)	253.5 ± 42.1 (186.4 to 341.0)	238.6 ± 24.7 (201.0 to 256.3)	320.1 ± 95.8 (200.0 to 459.9)	247.2 ± 41.5 (200.0 to 307.0)	(150.0 to 470.0)
AT (mg/dl)	27.9 ± 3.0 (23.1 to 35.4)	28.0 ± 3.7 (24.7 to 37.4)	24.6 ± 5.6 (15.7 to 30.0)	24.5 ± 3.2 (21.6 to 29.2)	25.4 ± 3.4 (20.8 to 28.0)	(15.0 to 39.0)
D-dimer (ng/ml)	165.9 ± 130.7§ (21.4 to 559.0)	72.1 ± 37.4§ (44.3 to 176.0)	113.0 ± 114.4 (34.8 to 310.0)	50.6 ± 31.3§ (21.9 to 104.0)	41.0 ± 23.6§ (23.0 to 79.6)	(≤66.0)
Platelet count (×10 ³ /mm ³)	272.3 ± 71.4 (122.0 to 425.0)	288.0 ± 45.2 (221.0 to 373.0)	321.0 ± 53.0 (241.0 to 374.0)	278.4 ± 85.8 (209.0 to 426.0)	234.2 ± 60.0 (135.0 to 282.0)	(120.0 to 450.0)

AT, antithrombin; BMD, Becker muscular dystrophy; CK-MM, MM isozyme of creatine kinase; DMD, Duchenne muscular dystrophy; FCMD, Fukuyama congenital muscular dystrophy; FDP, fibrin and fibrinogen degradation products; MyD, myotonic dystrophy; SMA, spinal muscular atrophy.

*Ambulatory (able to stand and walk without support)/able to stand and walk with support/chairbound.

†,‡,§One-way factorial ANOVA $P < 0.05$: DMD and BMD, DMD and MyD, DMD and SMA. Data for age and laboratory results are mean ± SD (range).

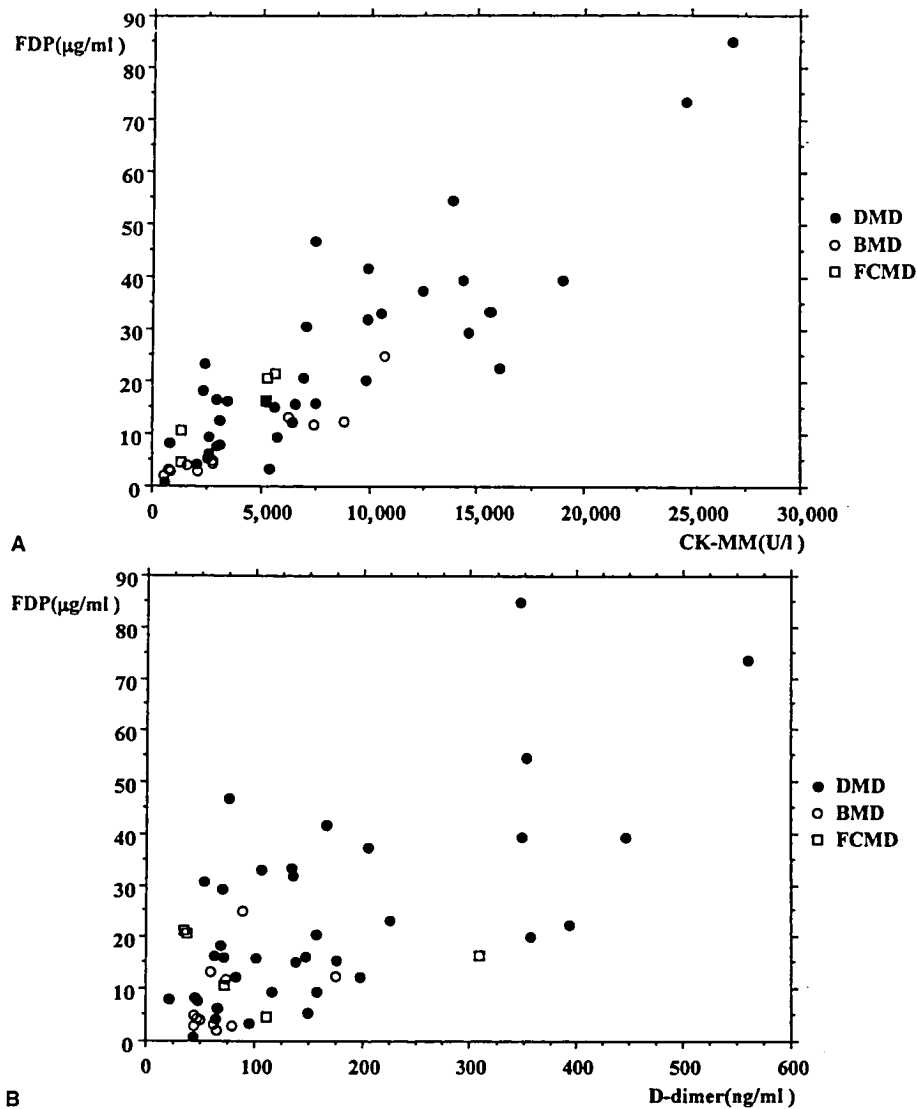


FIGURE 1. Correlation of serum CK-MM and fibrin and fibrinogen degradation products (FDP) (A) and of D-dimer and FDP (B) in patients with DMD, BMD, and FCMD. Serum CK-MM level is significantly correlated with FDP level, irrespective of type of disease. BMD, Becker muscular dystrophy; CK-MM, MM isozyme of creatine kinase; DMD, Duchenne muscular dystrophy; FCMD, Fukuyama congenital muscular dystrophy; FDP, fibrin and fibrinogen degradation products.

CK-MM reflects ongoing muscle degeneration in muscular dystrophy.⁹ MyD and SMA type 2 with mild muscle degeneration did not show enhancement of coagulation and fibrinolysis. These findings suggest that enhanced coagulation and fibrinolysis are related to active muscle degeneration in DMD, BMD, and FCMD.

In muscular dystrophy, destabilization of muscle fiber membrane is supposed to induce leakage of CK-MM and other muscle components, leading to muscle destruction.^{12,14} Enhanced coagulation and fibrinolysis in DMD, BMD, and FCMD may be induced by some components that leak from muscle. Thus, experimental models of crush syndrome have

Table 2. Results of multiple regression analysis for serum fibrin and fibrinogen degradation products level in patients with DMD, BMD, and FCMD.

	Standard coefficient	P value
Age	-0.172	0.0838
CK-MM	0.810	<0.0001
Fibrinogen	0.076	0.3151
AT	0.014	0.8421
D-dimer	-0.083	0.4246
DMD	0.012	0.9236
BMD	-0.144	0.2078

AT, antithrombin; BMD, Becker muscular dystrophy; CK-MM, MM isozyme of creatine kinase; DMD, Duchenne muscular dystrophy.

revealed that infusion of muscle extract induces a rise in plasma fibrin-split products, and multiple thrombi occluding vessels in many organs.³ However, muscle destruction in muscular dystrophy is continuous in contrast to the rapid process seen in crush syndrome. Accordingly, other components than those seen in crush syndrome may play an important role in the coagulation cascade in DMD, BMD, and FCMD. Several reports have shown abnormally swollen endothelial cells and replication of basement membrane on small vessels, and platelet adhesion, aggregation, and embolism in small vessels in FCMD as well as in DMD.^{11,15,16,20} These histopathological findings may well relate to our results.^{16,20}

Our results suggest that enhanced coagulation and fibrinolysis are secondary to muscle degeneration in DMD, BMD, and FCMD. Whether such abnormalities are involved in the pathogenesis of complications such as cerebral infarction and pulmonary embolism, and whether these basic abnormalities are more enhanced in patients with advanced disease and congestive heart failure, requires further study.

REFERENCES

1. Arahata K, Ishiura S, Ishiguro T, Tsukahara T, Suhara Y, Eguchi C, Ishihara T, Nonaka I, Ozawa E, Sugita H. Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide. *Nature* 1988;333:861-863.
2. Biller J, Ionasescu V, Zellweger H, Adams HP, Schultz DT. Frequency of cerebral infarction in patients with inherited neuromuscular diseases. *Stroke* 1987;18:805-807.
3. Blachar Y, Fong JSC, de Chadarévian JP, Drummond KN. Muscle extract infusion in rabbits: a new experimental model of the crush syndrome. *Circ Res* 1981;49:114-124.
4. Bonilla E, Samitt CE, Miranda AF, Hays AP, Salviati G, DiMauro S, Kunkel LM, Hoffman EP, Rowland LP. Duchenne muscular dystrophy: deficiency of dystrophin at the muscle cell surface. *Cell* 1988;54:447-452.
5. Budzynski AZ, Olexa SA, Pandya BV. Fibrin polymerization sites in fibrinogen and fibrin fragments. *Ann N Y Acad Sci* 1983;408:301-314.
6. Dubowitz V. *Muscle disorders in childhood*. 2nd ed. London: Saunders; 1995. p 283-299.
7. Dubowitz V. *Muscle disorders in childhood*. 2nd ed. London: Saunders; 1995. p 325-369.
8. Gaffney JF, Kingston WJ, Metlay LA, Gramiak R. Left ventricular thrombus and systemic emboli complicating the cardiomyopathy of Duchenne's muscular dystrophy. *Arch Neurol* 1989;46:1249-1252.
9. Goto I, Nagamine M, Katsuki S. Creatine phosphokinase isozymes in muscles. *Arch Neurol* 1969;20:422-429.
10. Hanajima R, Kawai M. Incidence of cerebral infarction in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 1996;19:928.
11. Hathaway PW, Engel WK, Zellweger H. Experimental myopathy after microarterial embolization: comparison with childhood X-linked pseudohypertrophic muscular dystrophy. *Arch Neurol* 1970;22:365-378.
12. Hoffman EP, Wang J. Duchenne-Becker muscular dystrophy and the nondystrophic myotonias: paradigms for loss of function and change of function of gene products. *Arch Neurol* 1993;50:1227-1237.
13. Matsuishi T, Yano E, Terasawa K, Nonaka I, Ishihara O, Yamaguchi Y, Okudera T. Basilar artery occlusion in a case of Duchenne muscular dystrophy. *Brain Dev* 1982;4:379-384.
14. Menke M, Jockusch H. Decreased osmotic stability of dystrophin-less muscle cells from the mdx mouse. *Nature* 1991;349:69-71.
15. Miike T. Maturation defect of regenerating muscle fibers in cases with Duchenne and congenital muscular dystrophies. *Muscle Nerve* 1983;6:545-552.
16. Miike T, Sugino S, Ohtani Y, Taku K, Yoshioka K. Vascular endothelial cell injury and platelet embolism in Duchenne muscular dystrophy at the preclinical stage. *J Neurol Sci* 1987;82:67-80.
17. Nieuwenhuizen W. A reference material for harmonisation of D-dimer assays. *Thromb Haemost* 1997;77:1031-1033.
18. Osawa M, Sumida S, Suzuki N, Arai Y, Ikenaka H, Murasugi H, Shishikura K, Suzuki H, Saito K, Fukuyama Y. Fukuyama type congenital progressive muscular dystrophy. In: Fukuyama Y, Osawa M, Saito K, editors. *Congenital muscular dystrophy*. Amsterdam: Elsevier; 1997. p 31-68.
19. Riggs T. Cardiomyopathy and pulmonary emboli in terminal Duchenne's muscular dystrophy. *Am Heart J* 1990;119:690-693.
20. Sugino S, Miyatake M, Ohtani Y, Yoshioka K, Miike T, Uchino M. Vascular alterations in Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1991;13:77-81.

鼻マスク間歇性陽圧換気に関する本邦の現状

— 神経筋疾患の分野から —

国立療養所刀根山病院副院長 しんの 神野 すすむ 進

1. 本邦におけるHMVの現況

従来、本邦では呼吸器を自宅に持ち込んで生活することは夢物語に等しかった。在宅人工呼吸療法（home mechanical ventilation：HMV）が在宅ケア・メニューの一つとして市民権を得たと唱道される今日でさえ、一部の医師や看護婦（特に訪問看護婦）を除けば、HMVを習知する医療関係者は極めて少ない。特定の医療機関や一部の医師でなければ実施できない医療は一般医療とは言い難い。

HMVは平成2年4月に保険医療として承認されたが、HMVに対する社会の見方もそれほど変化したとは考えられない。人工呼吸器の補助を受けながら生命を維持する人々の療養場所は、やはり病院内であるとする考えが一般的のようである。数年前に、検査の際、投与された睡眠薬で高度脳障害を来たした裁判事例の判決文の中でも判事はそのように述べている。ただし在宅療養を切望する保護者の心情を無視することができないので、在宅療養を認めざるを得ないと言葉を継いだのである。

HMVは患者や家族が自身のQOLの維持・向上のために、自らがそれを切望することを表明して実施されるものであることに変わりない。

2. 呼吸不全治療に対する医師の姿勢

近年、治療（あるいは医療）に対する患者や家族の考えの変化を反映して、医師の姿勢も少しずつ変化してきた。疾患が完全治癒せず何らかの機能障害を残した時、あるいはいまだ不治の疾患で機能障害が現れた時、医師は常に無力感を覚えながらも、患者・家族の意思を尊重して、患者に治療法選択の自己決定を促しつつ、患者を最善の状態におくための診療を行うようになってきた。

従来、軽視されがちであった後遺症や合併症の対策にも真剣に取り組むようになってきたのである。



このような傾向は医師に限らず、看護婦、保健婦など医療関係職種のすべてに認めることができる。

呼吸障害に対する非侵襲的治療は、医師など医療関係者の医療に対する姿勢の変化をうかがい知る好例といえる。HMVを受けている患者が急増している要因の一つはここにある。

3. 本邦における非侵襲的換気療法の歴史

非侵襲的換気療法の歴史は1920年後半の「鉄の肺（iron lung）」の開発に遡る。「鉄の肺」はchest respiratorに発展して、1930年代後半にpoliomyelitis（ポリオ）の呼吸不全患者に使用された。

本邦では東埼玉病院の石原医師が1984年1月以降、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの呼吸管理に米国Emerson社のchest respiratorを繁用し、10年以上にわたり寿命の延長をみた患者を呈示したことから、chest respiratorは一定の評価を得ることになった。

同年にフランスで筋ジストロフィーの呼吸不全患者に鼻マスクによる間欠的陽圧換気（nasal mask intermittent positive pressure ventilation、NIPPV）が行われ、呼吸不全が改善したという報告がされた¹⁾。さらに種々の神経筋疾患に対するNIPPVの治療成績が相ついで報告される^{2)~6)}につれ、NIPPVは新しい呼吸管理法として注目され始めた。そしてわずか15年間でNIPPVは非侵襲的換気療法の大きな潮流に発展した。本邦では、1988年に大竹医師（当時、国立療養所岩木病院整形外科医長）が筋ジストロ

フィーの呼吸不全にNIPPV治療を導入した。著者も1990年7月にデュシェンヌ型筋ジストロフィー患者に初めて導入し、長期にわたる管理が可能であることを経験した。本邦では筋ジストロフィー病棟を有する全国立療養所がNIPPVをすでに導入しており、いまや筋ジストロフィー呼吸不全治療の第一選択として定着したといえる。

4. 非侵襲的換気療法が 有効な神経筋疾患

神経筋疾患は、その随伴する呼吸不全に対して非侵襲的換気療法が著効する疾患群である。呼吸不全を起こしうる神経筋疾患は多い。呼吸中枢が近在する脳橋や延髄の脳血管障害で観察される呼吸障害は予後不良の兆候であり、長期の呼吸管理の対象にならない。

ギラン・バレー症候群では横隔膜神経や肋間神経の末梢神経障害により、重症筋無力症では神経筋接合部ブロックにより、呼吸運動情報が呼吸筋に伝達されないため重篤な呼吸障害が生じる。これら二疾患では呼吸管理の下に原疾患の適切な治療を施せば、呼吸障害を含む諸症状は改善するので長期の呼吸管理は必要としない。

筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic lateral sclerosis：ALS）を含む運動ニューロン病、ポリオ、ポリオ後遺症等では呼吸運動ニューロンが障害を受け、呼吸障害が永続するため長期の呼吸管理が必要になる。

呼吸障害が高率におこるミオパチーには、デュシェンヌ型、筋強直性、肢帯型や先天型の筋ジストロフィー、ネマリソミオパチー、中心核ミオパチー、酸性マルターゼ欠損症、カルニチン欠乏症、ミトコンドリア脳筋症、多発性筋炎などがある。筋症状が見逃され、呼吸障害で発症したものと誤解されることもある。ミオパチーがもたらす呼吸障害も永続することが多い。神経筋疾患の分野では、運動ニューロン病（特にALS）とミオパチーによる呼吸障害が長期呼吸管理の主たる対象になる。

5. 非侵襲的換気療法の 適応と開始基準

横隔膜、腹筋、肋間筋は呼吸運動に関与する主要

筋群であり、一般に呼吸筋と呼ばれる。胸鎖乳突筋や斜角筋も吸気補助筋として働く。運動ニューロン病では呼吸筋を支配する運動ニューロンが侵され、呼吸筋や吸気補助筋が二次的に障害されるため、またミオパチーではそれらが一次的に侵されるため、筋力低下や筋萎縮を来す。呼吸筋の筋力低下は胸郭運動を制限をもたらし、換気不全を来すことになる。

その結果、動脈血炭酸ガス分圧（ PaCO_2 ）が上昇、酸素分圧（ PaO_2 ）が下降する。また呼吸筋の筋力低下のため反復性の嚥下性肺炎、睡眠中の上気道閉塞なども随伴し、複雑な呼吸不全病像を呈することもある。肺炎を合併したり、痰量が多く頻回の吸引が必要になる場合を除けば、神経筋疾患ではNIPPVの適応になると考えてよい。

呼吸不全は、「原因のいかんを問わず、動脈血ガス、とくに O_2 と CO_2 が異常で、そのために生体が正常な機能を営み得なくなった状態」と定義され⁷⁾、数値的には室内気吸入時の PaO_2 が60Torr以下となる状態が呼吸不全と診断される。

また呼吸不全状態が1ヵ月以上持続すると慢性呼吸不全と呼ばれ、さらに PaCO_2 が45Torr以下に留まる場合をⅠ型呼吸不全（肺機能不全）、45Torr以上に上昇する場合をⅡ型呼吸不全（換気不全）と分類される。

神経筋疾患の呼吸不全症状は、通常、徐々に現われる特徴がある。定期検査で血液ガス分析を行い、数値の変動に注意することが重要である。呼吸不全の初期症状は覚醒不良、早朝の頭重感や頭痛、全身倦怠感であり、受診のたびに問診する配慮が必要である。口唇や爪のチアノーゼ、顔色不良、冷汗、頰脈、流涎、食欲不振、胃部不快感、急性胃拡張などがみられる場合、呼吸不全はかなり進行していると考え、急いで対処するべきである。

神経筋疾患にみられるⅡ型呼吸不全では、 PaO_2 が70Torr以上であるにもかかわらず、 PaCO_2 はすでに60Torrを超え、何らかの呼吸不全症状を呈していることがある。また神経筋疾患では酸素投与により自力呼吸が妨げられ PaCO_2 が上昇し、呼吸状態が悪化することもある。

したがって、 SpO_2 のみで呼吸不全状態を追跡することには危険が伴うので、必ず動脈血を採取し、 PaCO_2 を測定した上で呼吸状態の変化を正しく把握することが肝要である。

神経筋疾患の呼吸不全の指標としては、 PaO_2 より PaCO_2 の方が有用である。

NIPPVの開始基準にはさまざまな意見がある。フランスのRideauらは肺活量が低下し始めた時に(すなわち超早期に) NIPPVを開始するのが良いと主張している⁸⁾。日中の血液ガス成績が大した異常を示さなくとも、夜間の低酸素血症 (desaturation) が顕著である時、夜間のみ呼吸管理を行うべきだと意見もあるが、現在、本邦でもっとも繁用されている筋ジストロフィーの呼吸不全治療の開始基準は、日中 PaCO_2 値が60Torrを超えた時点で呼吸管理を開始するというものである。筆者もこの開始基準を採用しており、今のところ不都合を感じていない。ALSでは呼吸不全状態を呈してからの進行が筋ジストロフィーに比べて急速であり、50Torrを超えた時点で呼吸管理を開始することが望ましいと筆者は考えている。

6. 非侵襲的換気療法の実際

非侵襲的換気療法の代表は鼻マスクを着用して行うNIPPVである。複数の会社から種々の材質、サイズの鼻マスクが販売されているが、患者の鼻の大きさや形状に適合したものを選択する。

鼻マスクの最大の問題は、鼻マスクで鼻周囲、とくに鼻根部の皮膚が圧迫されて生じる褥瘡である。鼻マスクと顔を密着させることにのみを心掛け、鼻マスクを顔に強く押しつけないことが褥瘡を防止につながる。個人用型どりマスクを試用するのも良い。鼻根部褥瘡のためマスクの装着困難を来した時は、鼻プラグに変更するが、この場合でも鼻孔の拡大や鼻孔周囲の皮膚損傷は避けがたい。顔全体を覆うface maskを使用することもある。

睡眠中のエアリーク防止用としてstrapless oral nasal interface (SONI) やリップシールが使用される。鼻マスクに替わるものとして覚醒時専用のマウスピース (パイプ型) がある。

NIPPVに用いられる人工呼吸器は、これまで従量式や従圧式の呼吸器が主流であったが、最近ではマスクからの (広く気道からの) エアリーク量をキャッチし、それを補正して送気するBilevel Positive Airway Pressure (BIPAP) の換気法が注目されるようになった。BIPAPを導入した呼吸器も数種類が登場し、鼻マスクからのエアリークや鼻マ

スクによる褥瘡もかなり解消された。しかし、誤嚥を反復したり唾液分泌が多い患者や気道感染症を併発している患者は、気道閉塞などの危険が高く、BIPAPの適応とはならない。

まとめ

筆者は、全国の国立療養所において筋ジストロフィーの呼吸不全治療が多少の変更や修正はあっても共通のガイドラインで実施されていると考えている。筋ジストロフィーのHMVに関する小冊子も、筋ジストロフィー研究岩下班的業績として筆者の編集で平成11年3月に刊行された。国立療養所刀根山病院 (<http://www.hosp.go.jp/~toneyama/> 神経内科紹介欄) や日本筋ジストロフィー協会のホームページにリンクされているのでご覧になっていただきたい。

最後に、人工呼吸器による呼吸管理を受ける時、あるいは在宅療養に移行する時に患者さんや家族の方がどのように対処するべきかを医師の立場から述べさせてほしい。

呼吸不全になりつつある状態 (潜在的呼吸不全) にあると医師から説明されて、平然としていられる人は恐らくいない。患者さんも家族の方もショックを受け、時にはパニック状態に陥ることと思う。十数年の前の国立療養所筋萎縮症病棟 (筋ジス病棟) では、そのような状態になった患者さんや家族の方を多く見受けた。呼吸管理を受けている患者さんの入院が少ない国立療養所筋ジス病棟では、今でも同様であろう。

患者さんや家族の方には医師の説明を良く聞いて頂きたいと思う。医師は十分な時間を割いて、病状、検査所見、呼吸不全の一般的事項、呼吸不全治療の方法や手段、生活様式の変化に関すること、等について説明しますので傾聴して下さい。また、呼吸管理施行後、身体状態が安定して在宅での生活を希望された時も、医師はHMVについて詳細な説明をすることと思う。医師は担当する患者さんの希望が実現する努力を惜しまないので、医師と良好な人間関係を築かれるようお願いしたい。

HMVに移行し家庭での生活に慣れてくると、患者さんや家族の方が在宅移行の際に抱いていた不安感が次第に薄れていく。これは当然のことであるが、自信過剰につながってはいけないと思う。院内で幾

日も研修を受け、専門職を凌ぐまでに技量を高めても、いざという時は病院での処置には及ばない。病室のような自宅自室を見学させていただいたことがあるが、家庭で終日、医療的ケア（医師や看護婦による）や介護的ケアを受けることが制度的に困難な現時点では例外的な事例といわざるを得ない。

近い将来における一般化、普遍化を示唆する先例なら別であるが、単なる特例であれば議論する意義もあまりない。患者さんが（ひいては家族の方が）社会における自分の位置を確認することも療養を意義あるものにするために重要であると筆者は思う。

日本を最長寿国にした国民皆保険制度を多くの国民は評価し、支持しているように考える。介護を要する高齢者を主たる対象とする介護保険制度も昨年4月に施行された。国民皆保険制度と介護保険制度は医療、介護の底上げを図るシステムである。国民の多くが、必要な医療や介護を、望む場所で受けたいと真摯に考えるならば、経済不況、人口構造の著しい変化の状況下で、施設ケアや在宅ケアのあり方、各々に投入すべき財源や人的資源の確保・分配、治療機器の開発、基盤強化などについて、国民的議論

が必要である。本邦は外国に比べて緩やかながら望ましい方向に向かっていると筆者は考えるが異論もあろう。

参考文献

- 1) Delaubier A.: Traitement de l'insuffisance respiratoire chronique dans les dystrophies musculaires. In: Memoires de certificat d'etudes superieures de reeducation et readaptation fonctionnelles. Paris: University R Descartes, 1984:1-124
- 2) Rideau Y.: Management of the wheelchair muscular dystrophy patient: prevention of death (abstract). 4th International Congress on the Neuromuscular Diseases, Los Angeles, 1986
- 3) Bach J, Alba A, Mosher R, Delaubier A.: Intermittent positive pressure ventilation via nasal access in the management of respiratory insufficiency. Chest 92:168-170, 1987
- 4) Ellis E, Bye P, Bruderer J, Sullivan C.: Treatment of respiratory failure during sleep in patient with neuromuscular diseases. Am Rev Respir Dis 135:148-152, 1987
- 5) Kerby G, Mayer L, Pingleton S.: Nocturnal positive pressure ventilation via nasal mask. Am Rev Respir Dis 135:738-740, 1987
- 6) Segall D.: Noninvasive nasal mask-assisted ventilation in respiratory failure of Duchenne muscular dystrophy. Chest 93:1298-1300, 1988
- 7) 笹本 浩, 横山哲朗: 肺不全と呼吸不全. 呼吸と循環, 17: 4-8, 1969
- 8) Rideau Y, et al: Monaldi Arch Chest Dis. 50:235-238, 1995

お知らせ

セミナー『褥瘡ケア最前線』

照林社が開催

褥瘡ケアについての最新セミナー「エキスパートナース・フォーラム 2001 褥瘡ケア最前線」が開催される。セミナーのテーマは、「褥瘡マネジメントにおける最良の実践（ベスト・プラクティス）」。

褥瘡管理の具体的な指標や、証拠や研究にもとづく褥瘡ケアの方法を紹介するとともに、管理が困難といわれる、感染褥瘡、ポケットのある褥瘡、がん患者の褥瘡におけるベスト・プラクティスを考える。

セミナーには、褥瘡状態判定ツールのPSST (Pressure Sore Status Tool) を開発したバーバラ・ベイツ

ージェンセン氏（南カルフォルニア大学）らを迎え、東京と京都において、講演や事例発表などを予定している。主催は、看護関連書籍の出版で知られる照林社。

【東京会場】

◆日時：7月20日（金祝）9：00～17：00

♥場所：日本都市センターホテル
コスモスホール（千代田区平河町2-4-1、TEL 03-3265-8211）

【京都会場】

◆日時：7月22日（日）9：00～17：00

♣場所：国立京都国際会館（左京区宝ヶ池、TEL 075-705-1234）

【主なプログラム（両会場共通）】

◆基調講演：真田弘美氏による「日本の褥瘡ケアの現状と課題」

♥セミナー1：ベイツージェンセン氏

による「褥瘡マネジメントの最良の方法と質管理の指標」

◆セミナー2：ベイツージェンセン氏による「褥瘡マネジメントの実際；感染褥瘡、褥瘡ポケット、がん患者の褥瘡」

♣事例発表と討議：梶西ミチコ氏（福岡大学病院）、植村直子氏（埼玉医科大学病院）による発表と、河合修三氏（関西医科大学皮膚科）、ベイツージェンセン氏による討議。司会は真田弘美氏。

【費用と定員】15,000円（資料、昼食代込み）、各会場700名

【問い合わせ】照林社・褥瘡セミナー事務局

〒112-0002 東京都文京区小石川2-3-23 春日尚学ビル

TEL； 03-5689-7377

forum@shorinsha.co.jp

筋ジストロフィー病棟における SpO₂ モニタリングシステムの構築齊藤利雄 神野 進 恩地俊夫¹⁾野崎園子 松村 剛 津田倫代²⁾本杉ふじえ²⁾ 小倉 剛³⁾

要旨 入院病床数80床中60数名が人工呼吸器装着患者の筋ジストロフィー専門病棟に、経皮的酸素飽和度 (SpO₂) モニタリングシステムを導入した。ナースステーションの大型モニタで各患者の SpO₂、脈拍が同時に把握可能で、異常出現時には携帯受信器で病棟勤務者にそれが通報される。筋ジストロフィー病棟の安全な人工呼吸療法の確立のために、このシステムが果たす役割は大きい。

(キーワード: 筋ジストロフィー, SpO₂ モニタリングシステム, 人工呼吸療法, 危機管理)

CONSTRUCTION OF SpO₂ MONITORING SYSTEM IN
THE CHRONIC CARE FACILITY FOR MUSCULAR DYSTROPHY

Toshio SAITO, Susumu SHINNO, Toshio ONJI¹⁾,
Sonoko NOZAKI, Tsuyoshi MATSUMURA, Michiyo TSUDA²⁾,
Fujie MOTOSUGI²⁾ and Takeshi OGURA³⁾

SpO₂ monitoring system was introduced in muscular dystrophy chronic care facility of Toneyama National Hospital. Due to the system, the data of SpO₂ and pulse rate of every patient with muscular dystrophy under the mechanical ventilation are indicated on the monitor in nurse station timely at a time. For the treatment of respiratory failure of muscular dystrophy, mechanical ventilation therapy is essential. The system is useful tool for management of safety and risk in the treatment of respiratory failure using mechanical ventilation.

(Key Words : muscular dystrophy, SpO₂ monitoring system, mechanical ventilation, management of risk)

近年の各種人工呼吸療法の普及は、筋ジストロフィー医療にも深く浸透し、確立された治療法となりつつある¹⁾。これにより筋ジストロフィーおよびその類縁疾患患者の生命予後は著しく改善した。国立療養所刀根山病院には、全80床の筋ジストロフィー専門病棟（わかば病棟）2個病棟があり、平成13年1月現在、tracheal intermittent positive pressure ventilation (TIPPV), non-invasive positive pressure ventilation (NIPPV) をあわせた人工呼吸器装着入院患者は60数名を数える。一方、在宅人工呼吸療法 (Home mechanical ventilation; HMV) を受ける患者数も40名を越える。

100名を越える人工呼吸器装着患者を抱える当院では、

危機管理面において在宅・入院を問わず十分な呼吸モニタリングが必要とされる状況下にある。HMV に対しては電話回線を用いたアラーム通報システムを早期から導入し、一定の成果をあげているが²⁾³⁾、病棟でも安全な呼吸管理体制を確立すべく、平成12年1月から経皮的酸素飽和度 (SpO₂) モニタリングシステムを導入し同年夏から本格稼働を開始した。

システムの構成 (Fig. 1)

計測値収集システム (Fig. 2(A))

計測値モニタリングシステム (Fig. 2(A))

アラームページングシステム (Fig. 2(A))

国立療養所刀根山病院 Toneyama National Hospital 神経内科 ¹⁾会計課 ²⁾看護部 ³⁾院長

Address for reprint : Toshio Saito, Department of Neurology, Toneyama National, Hospital 5-1-1 Toneyama, Toyonaka, Osaka, 560-8552, JAPAN

Received January 31, 2001

Accepted April 20, 2001

ファイリングシステム (Fig. 2(A))
 パルスオキシメーター60台 (Fig. 3(A))
 EtCO₂ モニタ 2台
 携帯受信器 (ページャ) 6台 (Fig. 4(F))

システムの概要 (Fig. 1)

筋ジストロフィー病棟2個病棟 (各40床) の全80床にネットワークを設置する。うち各病棟30床ずつ計60床にパルスオキシメーターを、各病棟1床ずつ計2床に EtCO₂ モニタを配置する。

患者の指や耳介にプローブ (Fig. 3 (B, C, D)) をつけて得られたパルスオキシメーター、EtCO₂ モニタのデータはネットワークを介し計測値収集システムで収集され、計測値モニタリングシステムにより各病棟内のナースステーションに設置された2台の大型ディスプレイに常時表示される (Fig. 2 (B, C), Fig. 4(B)), モニタ表示されるデータは2秒ごとに更新される。

計測データのアラーム設定は患者個別におこなわれ (Fig. 4 (A, E)), 設定された異常値を越えて15秒間経過すると、モニタ画面に異常値出現の警告表示がされる (Fig. 4(D)). アラームページングシステムにより、各病棟の最高3台のページャにもそれが伝えられる。ページャには異常発生の表示がされ、警告音あるいは振動で携帯者に異常発生を伝える (Fig. 4(F)). ページャの呼び出し開始までは約5秒必要である。

例えば、人工呼吸器・回路などの異常で計測データに異常値が出現した場合、ナースステーションのモニタに異常値出現のアラーム表示がされる。同時にアラームページングシステムにより、ナースの携帯するページャにもその情報が伝えられ、ナースは病棟のどこに

いても異常値の出現した患者のいる病室に駆けつけられる。

一方、10秒ごとのデータはファイリングシステムにより約3ヵ月間ファイリングされ、トレンド表示により経時の変化をモニタ画面で追跡することができる (Fig. 4 (C)). 必要に応じMOなど他のメディアへの

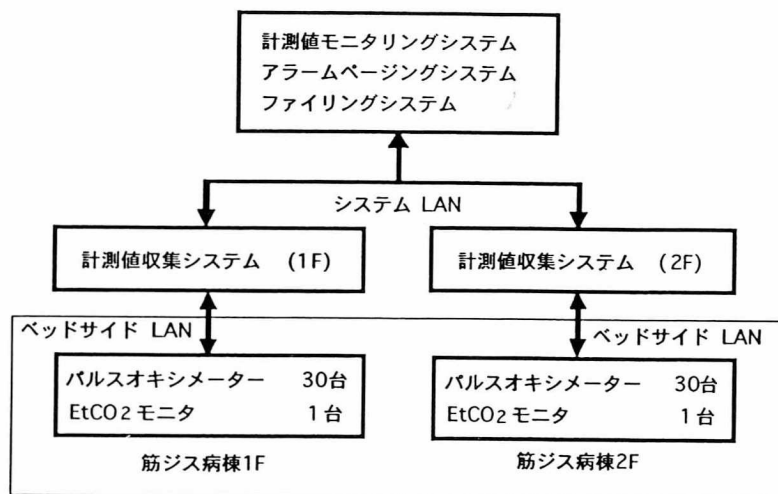


Fig. 1 Structure of SpO₂ monitoring system.

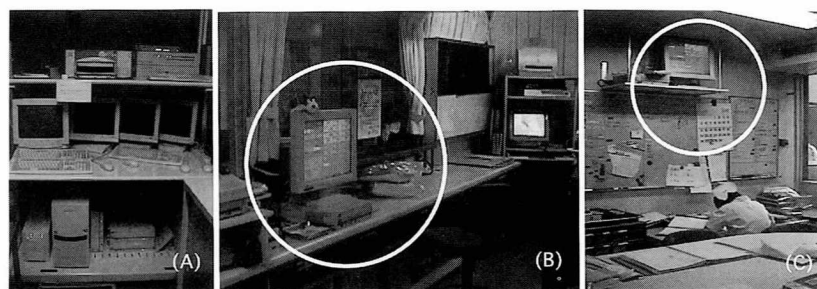


Fig. 2 (A) Computers for data-collection, data-monitoring, alarm paging, and filing.

(B, C) Two monitor displays are set in each nurse station.

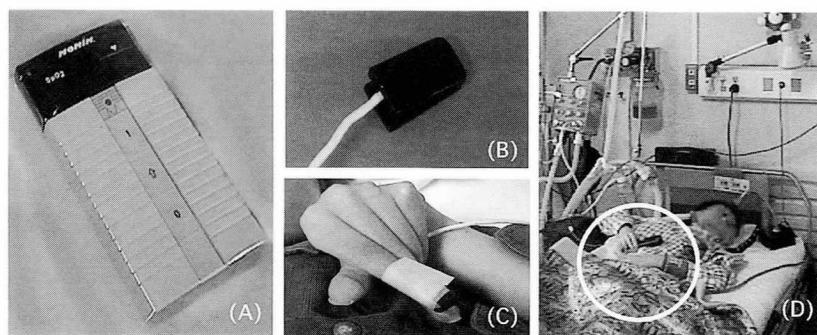


Fig. 3 (A) Pulse oxymeter.

(B) Ear probe.

(C) Finger probe.

(D) The probe is attached to patient's ear or finger.

記録も可能である。

稼働状況

主要な稼働時間帯である夜間は、配置されたパルスオキシメーターは全稼働し、モニタのデータも2秒ごとに刻々と更新される (Fig. 4 (B)). 日中は、ベッドを降りて電動車椅子で移動する患者も多く、各病棟のパルスオキシメーター稼働数は数台にとどまり、ナースステーションのモニタ表示も「不在」表示になっているものも多い。EtCO₂ モニタは重症患者に適宜使用されている。

人工呼吸器・回路のトラブルにより呼吸状態が変化した患者への早期対応で危機回避ができた例もあり、導入以前より迅速な対応が可能となっている。一方、プロブのずれ、パルスオキシメーターの頻回の電池切れなどでも異常値は出現し、病棟スタッフの業務を煩雑化している面もある。

考察

人工呼吸療法は筋ジストロフィー医療に欠くことのできないものとなり、筋ジストロフィー専門病棟の大半の患者が人工呼吸器使用患者となる現状は、一部の施設のみにとどまらず、全国規模で広がつつある¹⁾。使用される人工呼吸器の種類も多様であり、取り扱い方も一様ではない。一方、日中でも十分とはいえぬ看護スタッフ数には大きな変化はなく、準夜、深夜勤務帯にはその数はさらに少なくなる。こういった状況下、このシステムは看護スタッフの補助的役割を担い、特に病棟勤務者の少ない準・深夜勤務帯に大きな役割を果たすことが期待される。ナースステーションの大型モニタやアラームページングシステムは、異常発生を視覚・聴覚・振動と各種媒体で病棟勤務者に伝え、たとえ病棟勤務者が少数であっても異常発生時対応の徹底を図ることを目指した。

実際、大きな事故につながりかねないようなトラブルでも、システムの活用で回避できたと考えられたケースも出てきている。しかし、本システムはまだ開発途上段階である。煩雑な電池交換、複雑な操作・取り扱いなどハード面、運営面での問題が山積みし、場合によっては本来の医療業務に支障をきたしかねないこともある。一

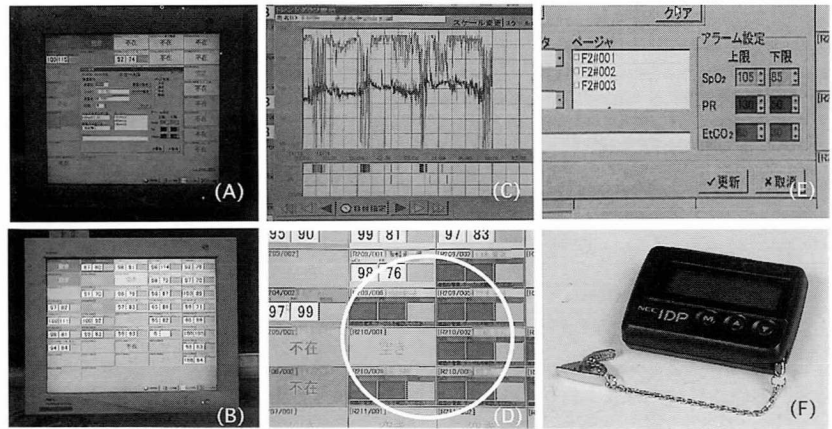


Fig. 4 (A) Patient management file on monitor display.
(B) Operation at night. Datas on monitor are renewed every two seconds.
(C) Trend graph. Data less than 3 months is checked on monitor at any time.
(D) Alarm is indicated on monitor for abnormal data.
(E) Alarm limits of SpO₂, PR, and EtCO₂ for every patient are established on patient management file.
(F) Pager.

方パルスオキシメーター数の不足から、モニタする患者の選別で医療者側にジレンマが生じることもあり、システムは多数の人工呼吸器装着患者のいる病棟運営に欠かせぬものともなりつつある。

システム導入で、呼吸状態に関する多くの情報が把握可能となり、危機管理面の徹底は図られつつある。しかし、われわれの医療行為は、システムに依存したのではない。常にベッドサイドで患者の状態を確認する姿勢を忘れなければ、医療事故の大多数は回避可能である。最終的に問われるのはわれわれ医療者の姿勢であることはいうまでもない。

文献

- 1) 姜 進：神経疾患—state of arts 治療法をめぐる最近の進歩 神経筋疾患と在宅人工呼吸療法。医のあゆみ別冊 神経疾患 State of arts Ver. 1 : 386-388, 1999
- 2) 松村 剛, 姜 進：在宅人工呼吸療法支援システム構築の試み。難病と在宅ケア 6 : 25-28, 2000
- 3) 松村 剛, 斉藤利雄, 宮井一郎ほか：パソコン通信による SpO₂ モニタリングと TV 会議システムを利用した在宅人工呼吸療法支援システム構築の試み。臨神経 40 : 683-688, 2000

(平成13年1月31日受付)

(平成13年4月20日受理)

2. 筋ジストロフィーのステロイド療法

2.1 はじめに

筋ジストロフィーの治癒をもたらす方法は、現時点ではまだ確立されていない。近年における遺伝子工学の飛躍的な発展は、患者や家族に筋ジストロフィーの根治療法と目される遺伝子治療への期待を膨らませている。現在、筋ジストロフィーの遺伝子治療はまだ動物実験の段階にある。遺伝子治療が現実のものになるまでの期間、筋ジストロフィー患者を診療する臨床医は筋ジストロフィーの進行を抑制する薬物治療、合併症や機能維持のための治療に精励する責務を負っている。本稿では筋ジストロフィーのステロイド療法について概説する。

2.2 筋ジストロフィーの薬物治療

まず筋ジストロフィーの薬物治療の歴史を簡単に触れておきたい。筋ジストロフィーの薬物治療は1930年初頭に始まった。これまで多数の薬剤が筋ジストロフィー患者に試用されてきた。1930年代にはadrenalinやamino acids、1940年代にはvitamins (E、B6)、1950年代から1960年代にはanabolic steroidsやnucleotides、1970年代にはcorticosteroidsやallopurinol (xanthine oxidase inhibitor)、1980年代にはcalcium channel blockers、Coenzyme Q10、methysergide (serotonin antagonist)、superoxide dismutase、growth hormone inhibitorなどが種々の病型の筋ジストロフィー患者に投与された。本邦でも呉・沖中のadrenalin治療(1930年)、杉田、石原らによるprotease inhibitorのloxistatin治療(1991年)、里吉、木下らによる膜内aminopeptidase B inhibitorのbestatin治療(1991年)が世界に先駆けて行われた。

多くの薬剤は治験方法自体がpoor qualityであるために、その有効性が否定された。厳格なrandomized controlled trialで薬効が検定された数少ない薬剤の中で、有効性がありとされた唯一がステロイドである¹⁾。

2.3 筋ジストロフィーに対するステロイド治療

ステロイド治療の対象になった筋ジストロフィーは主としてデュシェンヌ型(Duchenne muscular dystrophy、以下DMD)である。DMDは、Xp21に局在するdystrophin遺伝子の異常により筋病変が惹起される代表的な病型で、伴性劣性遺伝形式をとる。投与

対象として選択されることが多いのは、この病型は他の病型に比し患者数が多く、臨床診断や臨床経過の把握が容易であることに基因する。これまでに報告された主たるものを表10.2.1に示す。ステロイドとして常用されてきたのはprednisolone(以下PSL、商品名プレドニン)であるが、近年、欧米ではそのoxazoline誘導体であるdeflazacortも試用されている。

1974年、DrachmanらはDMD患者に初めてPSL治療のopen試験(体重1kgあたりPSL2mg連日投与、2~3ヵ月後に2日分の2/3を隔日投与、観察期間28ヵ月間)を行い、PSLに運動機能障害の進展を抑制する効果があると報告した²⁾。しかし同年、Siegelらは6~9歳のDMD患者7名を対象に行ったage-matched controlled study(体重1kgあたり5mg隔日投与、観察期間3年間)の結果では、PSL効果は認められないと反論した³⁾。その後、しばらくPSLの有効性に関する論争が続いた。1987年、BrookeらはDMD33名(5~15歳)に体重1kgあたりPSL1.5mgを6ヵ月間連日投与し、対照170名に比べて筋力が増強したと報告した⁴⁾。このBrookeの報告はopen試験であったが、運動機能の変化を多数例からなる対照群と比較検討しており、高い信頼性を得ることになった。Brookeの報告以来、PSLの有効性が信じられるようになった。1987年、DesilvaとDrachmanは1974年の第一報の追加報告を行い、歩行期間が対照群(38名)に比し、PSL群では約2年間延長することを示した⁵⁾。1989年、Mendellらは103名のDMD患者に6ヵ月間のrandomized、double-blind、trialを実施し、PSL0.75mg/kg/day、1.5mg/kg/dayの2群において、投与3ヵ月までは偽薬群に比し明らかに筋力が増強することを認めた。彼らは筋力増強の効果が一時的であるが、副作用が軽微でありPSL投与は意義あると主張した⁶⁾。1991年、Griggsらは多施設による6ヵ月間のrandomized、controlled trialを実施し、PSL0.75mg/kg/day群(34名)やPSL0.3mg/kg/day群(33名)は、対照の偽薬群(32名)と異なり、投与開始10日後から1ヵ月間で筋力が増強し、その後プラトーとなり、6ヵ月持続することを示した。また高用量群に筋力の増強は顕著であり、副作用も高率であることも示した⁷⁾。

筆者らも1991年10月から、患者や家族からインフ

フォームド・コンセントを得て、7歳代のDMD患者10名にPSLの投与を開始し、その効果を観察し始めた。PSLの投与量は、効果と副作用を勘案して、1mg/kg/day、隔日とした。PSLの効果判定は、立っている、椅子に坐る、椅子から立ち上がる、しゃがむ、這う、床から立ち上がる、階段を昇る、階段を降りる、歩く、の九つの日常生活動作 (activities of daily living、以下ADL) をビデオ記録し、4～7段階に評価するADLテスト、仰臥位からの立ち上がり、仰臥位からの起き上がり、椅子から立ち上がり、階段4段昇り、

10m 走行、3m 這行、の6動作の所要時間を測定する運動機能テスト、徒手筋力テスト、関節可動域測定を投与前、投与後48週までは12週ごとに、48週以降は24週ごとに実施した成績を下に行った。48週時の効果判定については、同じプロトコルで実施されたloxistatin 治験の偽薬群 (7歳代12名) の成績と比較して行った。投与48週後にADLが維持されていた患者の割合は、PSL群10名中7名 (70%)、loxistatin 偽薬群12名中3名 (25%) であり、PSL群に有意に多かった ($P<0.05$)。6動作の平均所要時間は、24、48

表 10.2.1 デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する Prednisolone 治療

Authors	Design	Follow-up	Dosage	Results
Drachman (1974)	Open 14 cases (3 ~ 7yrs)	28 months	Prednisone 2 mg/kg/day after 2 ~ 3 months 2/3 of original two-day dose on alternate day	Improvement
Siegel (1974)	Double-blind 7 cases (6 ~ 9yrs)	3 years	Prednisone 5 mg/kg on alternate day	Not effective
Brooke (1987)	Open 33 cases (5 ~ 15yrs)	6 months	Prednisone 1.5 mg/kg/day	Improvement
Desilva (1987)	Open 16 cases (3 ~ 16yrs)	1 ~ 11years	Prednisone 2 mg/kg/day after 2 ~ 3 months 2/3 of original two-day dose on alternate day	Improvement
Mendell (1989)	Double-blind 103 cases (5 ~ 15yrs)	6 months	Prednisone 0.75 mg or 1.5 mg/kg/day	Improvement
Griggs (1991)	Randomized Double-blind 99 cases (5 ~ 15yrs)	6 months	Prednisone 0.3 mg or 0.75 mg/kg/day	Improvement
Mesa (1991)	Double-blind controlled 28 cases (5 ~ 11yrs)	9 months	Deflazacort 1 mg/kg/day	Improvement
Griggs (1993)	Randomized Double-blind 107 cases (5 ~ 15yrs)	18 months	Prednisone 0.75 mg/kg/day	Improvement
Sansome Dubowitz (1993)	Open 32 cases (6 ~ 14yrs)	18 months	Prednisone 0.75 mg/kg/day during 10days, at the beginning of each month	Improvement
Bäckman (1995)	Double-blind cross over 41 cases (4 ~ 19yrs)	1 years	Prednisone 0.35 mg/kg/day	Improvement
姜 (神野) (1996)	Open 10 cases (7yrs)	5 years	Prednisolone 1 mg/kg on alternate day	Improvement

週ともに loxistatin 偽薬群より PSL 群で短縮、24 週時の仰臥位からの起き上がり時間は、PSL 群で有意に短縮した ($P < 0.05$)。しかし、図 10.2.1 に示すように、長期になるにつれ ADL を維持する患者の割合が低下し、96 週～144 週では ADL 維持症例は 40% 程度に減少し、192 週以降では全員が ADL を維持できなかった⁸⁾。下肢関節の可動域が進行性に縮小する患者では、筋力が比較的保存されているにも拘わらず、ADL が悪化する傾向を認めた。PSL の投与後、血清 CK は下降傾向を示した。著明な体重増加、高血糖、尿糖などの副作用はなかった。

2.4 他の筋ジストロフィー病型に対するステロイド治療

他の病型に対するステロイド治療に関する最近の報告を紹介する。顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (facioscapulohumeral muscular dystrophy、以下 FSHD) は、4q35 に局在する遺伝子の異常により発症する病型である。優性遺伝形式をとる。従来、この病型では筋線維内に炎症性細胞の浸潤を認める率が高く (約 40%)、ステロイドの治療効果を期待し、PSL が投与されてきた。ステロイド治療が有効であるとする報告^{9,10)}は多いが、その効果は短期間のうちに消失するとされてきた¹¹⁾。1997 年、Tawil らは 8 名の FSHD 患者に一日量として体重 1kg あたり 1.5mg (最高一日量 80mg) の PSL を 12 週間にわたり投与し効果を観察したが、有効性を実証できなかったという¹²⁾。

1998 年、Connolly らは筋線維内に炎症性細胞浸潤

を示し、遺伝子診断で α -sarcoglycanopathy (常染色体劣性遺伝形式の肢帯型筋ジストロフィーの一種で、17q21 に責任遺伝子が局在する) が確定した 8 歳の患者に 2mg/kg/day の PSL を投与し、筋力の増強と転倒回数の減少を認めたと報告した¹³⁾。6 ヶ月後、PSL を 1mg 隔日に減量したところ、転倒回数は増したので PSL を再び増量し、運動機能低下の抑止を図ることができたという。

2.5 ステロイド効果の発現機序

ステロイド効果の発現機序は未だ不明であるが、一部の筋ジストロフィー患者には有効であることは多数の臨床医が確信するところである。患者によりステロイドの臨床効果は異なることも事実である。ステロイド効果がみられない患者では、遺伝子変異が重篤な蛋白異常を来し、重度の病状を惹起するからであると推測されているが、詳細は不明である。

ステロイド効果、換言すると、すなわち筋力増強や運動機能改善は筋ジストロフィーの病型に関係なく投与後 10 日目から現われ、2～3 年程度持続すると推測されている。ステロイド効果の発現機序に関しては、PSL が筋細胞の dystrophin 発現を高める¹⁴⁾、dystrophin 欠損を代償するとされる常染色体 gene のコード蛋白である utrophin の発現を促進する可能性がある¹⁵⁾、CD8+ の cytotoxic/suppressor T 細胞の選択的減少をもたらし、筋崩壊を抑制して筋力増強や筋容量を増加させる¹⁶⁾、などの仮説が提起されている。今後、ヒト組織やモデル動物を用いてステロイド効果の

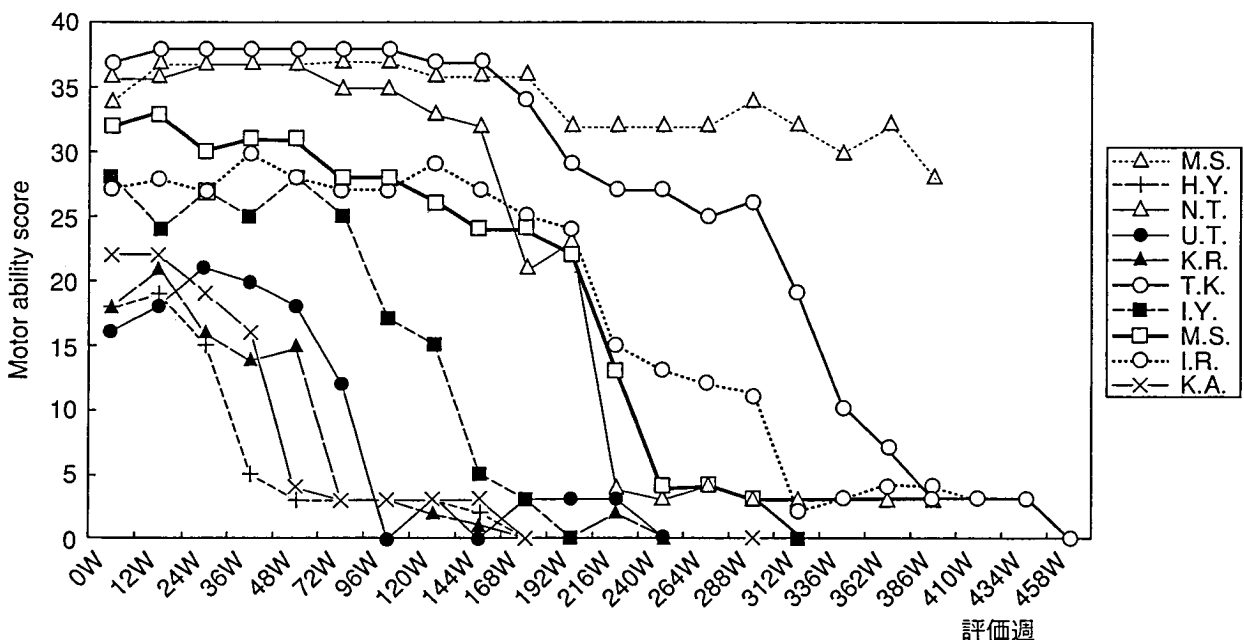


図 10.2.1 Motor Ability Score の推移 (DMD10 例)

発現機序を詳細に研究し、その機序を解明する必要がある。

2.6 ステロイド治療の実際

本邦では筋ジストロフィーに対するPSL治療が保険医療になっていないことをまず断っておかねばならない。筋組織に炎症性細胞の浸潤を認めた時は筋炎として、湿疹などアレルギー性疾患を合併している時はその疾患に対する治療薬として投与できるので、診療報酬請求上の法的問題は生じない。ステロイド治療を実施している施設では保険医療の範囲内で筋ジストロフィーに対する効果を観察していると言ってよい。

現在、筋ジストロフィーに対するPSL治療の開始基準はない。3歳前後に運動機能障害の顕在化を契機に診断されるDMDでは、筆者は副作用などの問題点に充分留意するという前提の下で、診断確定後できるだけ速やかにPSL治療を行うのが良いと考えている。動作障害の重要な因子である関節拘縮が現れる前にPSL治療を開始することにより、良好な臨床効果が期待できると考えるからである。当初、筆者は運動機能の生理的発達にPSLが与える影響を懸念して、生理的発達がピークを迎える7歳代の患者にPSLを投与した。しかし、7歳代のDMD患者では既に足関節や股関節の可動域制限や拘縮が現れ、それらにより運動遂行能力が低下し、PSL効果が全くみられないことも経験したので、最近では、インフォームド・コンセントを得た上で5歳代のDMD患者にPSLを投与している。PSL効果は10歳代のDMD患者でもみられると言われており、治療はいつから開始してもよいと思われる。

投与方法はいろいろ工夫されている。一般的に、PSL投与量が多いほど、効果が強く、かつ副作用も現れやすいとされる。投与のPSLが副腎皮質機能を抑制しないよう配慮することが重要である。体重増加(20%以上)、血圧上昇、行動異常、成長障害などの副作用にも配慮が必要である。副作用を無視できる最少有効量も探索されており、Bäckmanらは、体重1kgあたり0.35mgのPSLを連日投与し効果を認めている¹⁷⁾。SansomeとDubowitzは月の始めに0.75mg/kg/day、10日間連続投与し、残り20日間を休薬する方法が副作用を少なくする理想的な方法であると推奨している¹⁸⁾。筆者は体重1kgあたり1mgを隔日朝食後に投与している。

Mesaらは、PSLのoxazoline誘導体であるdeflazacortがPSLに比べ副作用が軽微であり、筋ジ

ストロフィーに対する有力な薬剤であると主張している¹⁹⁾が、本邦では現在、同薬を使用できない。

PSL治療をいつ終了するかも重要な問題であるが、判断する基準は現時点ではない。患者が歩行能を失った時期に終了することが多いようである。上肢機能の維持のために治療を継続するという考えもある。著者は、歩行能を喪失した時点において保護者に治療継続の意思を確認し対処している。重大な副作用が出現したら、速やかに治療中止しなければならないことは言うまでもない。

2.7 おわりに

本邦には筋ジストロフィーに対するステロイド治療のrandomized controlled trialの実績がない。早急にrandomized controlled trialが企画され、その有効性を確認する作業を開始することが肝要である。できればPSLと、PSLに比し副作用が軽微なdeflazacortの二剤の治療研究が望まれる。

文献

- 1) Dubowitz V: Prednisone in Duchenne dystrophy. *Neuromusc Disord* 1: 161-163, 1991
- 2) Drachman DB, Toyka KV, Myer E: Prednisolone in Duchenne muscular dystrophy. *Lancet* 2: 1409-1412, 1974
- 3) Siegel IM, Miller JE, Ray RD: Failure of corticosteroid in the treatment of Duchenne (pseudohypertrophic) muscular dystrophy. Report of a clinically matched three year double blind study. *Illinois Med J* 145: 32-36, 1974
- 4) Brooke MH, Fenichel GM, Griggs RC et al: Clinical investigation of Duchenne muscular dystrophy: interesting results in a trial of prednisone. *Arch Neurol* 44: 812-817, 1987
- 5) Desilva S, Drachman DB, Mellits D et al: Prednisolone treatment in Duchenne muscular dystrophy. *Arch Neurol* 44: 818-822, 1987
- 6) Mendell JR, Moxley RT, Griggs RC et al: Randomized double blind six month trial of prednisone in Duchenne muscular dystrophy. *N Eng J Med* 320: 1592-1597, 1989
- 7) Griggs RC, Moxley RT, Mendell JR et al: Prednisone in Duchenne dystrophy. A randomized, controlled trial defining the time course and dose response. *Arch Neurol* 48: 383-388, 1991
- 8) 姜 進: デュシェンヌ型筋ジストロフィーの薬物治療—特に副腎皮質ホルモンについて—*臨床神経*

- 36: 1338-1340, 1996
- 9) Munsat TL, Piper D, Cannicella P et al: Inflammatory myopathy with facioscapulohumeral distribution. *Neurology* 22: 335-347, 1972
- 10) Wulff JD, Lin JT, Kepes JJ: Inflammatory facioscapulohumeral muscular dystrophy and Coats syndrome. *Ann Neurol* 12: 398-401, 1982
- 11) Munsat T, Bradley WG: Serum creatine phosphokinase levels and prednisone treated muscle weakness. *Neurology* 27: 96-97, 1977
- 12) Tawil R, McDermott MP, Pandya S et al: A pilot trial of prednisone in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology* 48: 46-49, 1997
- 13) Connolly AM, Pestronk A, Mehta S et al: Primary α -sarcoglycan deficiency responsive to immunosuppression over three years. *Muscle and Nerve* 21: 1549-1553, 1998
- 14) Hardiman O, Sklar RM, Brown RM Jr: Methylprednisolone selectively affects dystrophin expression in human muscle cultures. *Neurology* 43: 342-345, 1993
- 15) Pasquini F, Guerin C, Blake D et al: The effect of glucocorticoids on the accumulation of utrophin by cultured normal and dystrophic human skeletal muscle satellite cells. *Neuromusc Disord* 5: 105-114, 1995
- 16) Kissel JT, Burrow K, Rammohan KW et al: Mononuclear cell analysis of muscle biopsies in prednisone treated and untreated Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 41: 667-672, 1991
- 17) Bäckman E, Henriksson KG: Low dose prednisolone treatment in Duchenne and Becker dystrophy. *Neuromusc Disord* 5: 233-241, 1995
- 18) Sansome A, Royston P, Dubowitz V: Steroids in Duchenne muscular dystrophy; Pilot study of a new low dose schedule. *Neuromusc Disord* 3: 567-569, 1993
- 19) Mesa LE, Dubrovsky AL, Corderi J et al: Steroids in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromusc Disord* 1: 261-266, 1991

(神野 進)

神経ネットワークシリーズ

3. Calpainopathy (LGMD 2 A) の臨床像

—Becker 型筋ジストロフィーとの比較—

足立克仁 川井尚臣*

(キーワード: カルパインopathy, 筋ジストロフィー, ベッカー型)

CLINICAL FEATURES OF CALPAINOPATHY (LGMD 2 A) IN COMPARISON WITH BECKER MUSCULAR DYSTROPHY

Katsuhito ADACHI and Hisaomi KAWAI*

(Key Words : calpainopathy, muscular dystrophy, Becker type)

1995年, Richard ら¹⁾により初めて常染色体劣性肢帯型筋ジストロフィー患者に, 骨格筋に特異的な蛋白分解酵素であるカルパイン3²⁾の遺伝子異常のあることが報告された. 本病型は肢帯型筋ジストロフィーのうち LGMD 2 A に分類されている.

我々はカルパイン3の遺伝子異常を見出したカルパ

イノパチー症例(4家系6症例, 55~64歳, 男性4例, 女性2例)(Fig. 1)について, 日常診療で鑑別が難しい Becker 型筋ジストロフィー症例(男性8症例, 41~65歳)と比較して, その臨床像の特徴を述べる.

カルパイン3の遺伝子異常は, 家系1, 2ではG 1080 C, 家系3では1796 ins A, そして家系4では ΔC at-35 of exon 12である(詳細は文献³⁾参照).

筋萎縮の分布

自験のカルパインopathy症例はいずれも四肢近位部に優位な筋萎縮を示し, Becker 型にみられる腓腹筋の仮性肥大は明らかでなかった. Fig. 2-A には症例 2-IV-6 (58歳)の, Fig. 2-B には Becker 型(41歳)の下肢筋 CT 像を示した. 両例とも下腿筋に比べ大腿筋に強い障害がみられた. カルパインopathy症例は Becker 型症例にみられる薄筋の肥大はなく, また, 腓腹筋に比べヒラメ筋の障害が強くみられた. 筋障害の様式は Becker 型では逆の関係であった.

Fig. 2-C, D には複数の症例について CT 値を下肢筋の各々の筋で調べ, それぞれの残存率で表し比較した. すなわち, 1肢の2つの断面のうち最も高値を示す平均値を100%とし, 91%以上, 90~61%, 60~31%そして

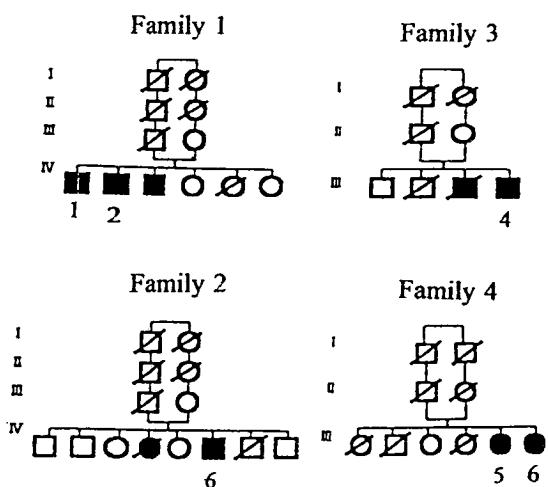


Fig. 1 Family pedigrees with calpainopathy. Consanguineous marriages are seen in all of 4 families.

国立療養所徳島病院 National Sanatorium Tokushima Hospital 内科

*高松市民病院 Takamatsu Municipal Hospital 内科

Address for reprints : Katsuhito Adachi, Department of Internal Medicine, National Sanatorium Tokushima Hospital, 1354 Shikiji, Kamojima-cho, Oe-gun, Tokushima 776-8585 JAPAN

Received December 14, 2000

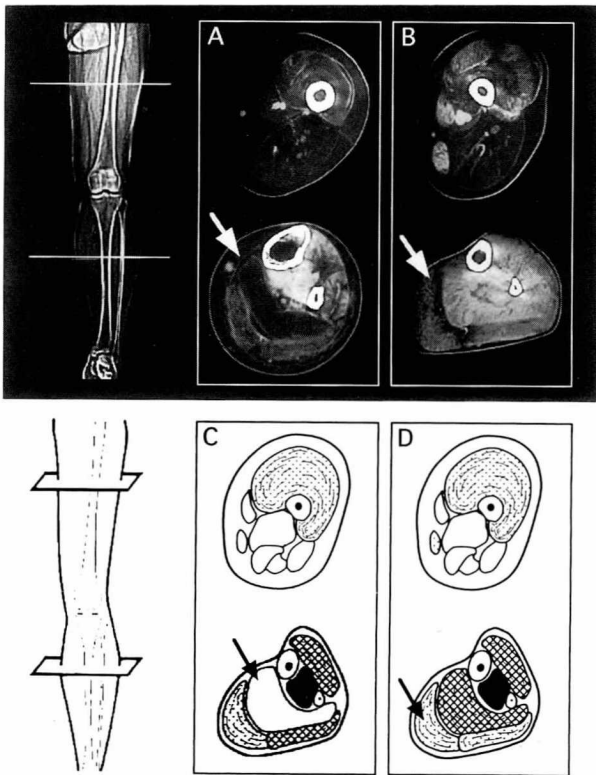


Fig. 2 A) Muscle CT scan in the left leg of a 58-year-old patient with calpainopathy (2-IV-6), Soleus muscle (arrow) is affected more than gastrocnemius muscle. B) Muscle CT scan of a 41-year-old BMD patient. Gastrocnemius muscle (arrow) is affected more than soleus muscle. C) Schematic presentation of percentages of mean CT numbers in the affected muscles in left legs of 4 patients with calpainopathy. Soleus muscle (arrow) is also affected more than gastrocnemius muscle. D) Schematic presentation of percentages of mean CT numbers in the affected muscles in left legs of 5 BMD patients. Gastrocnemius muscle (arrow) is also affected more than soleus muscle.
 ■ : 100-91%, ⊗ : 90-61%, ⊞ : 60-31%, □ : 30%.

30%以下の4段階に分けて表した。やはりカルパインopathy症例のヒラメ筋の障害は前記の特徴を有していた⁴⁾。

血清CK活性値の上昇

カルパインopathy症例では、132~596 IU/L (正常200以下)であり、Becker型症例では100~880 IU/Lとともに正常値あるいは中等度上昇を示した。しかし、青年期では、カルパインopathy症例はBecker型症例に比べるとやや低く、上昇は正常人の値の10倍程度であった。

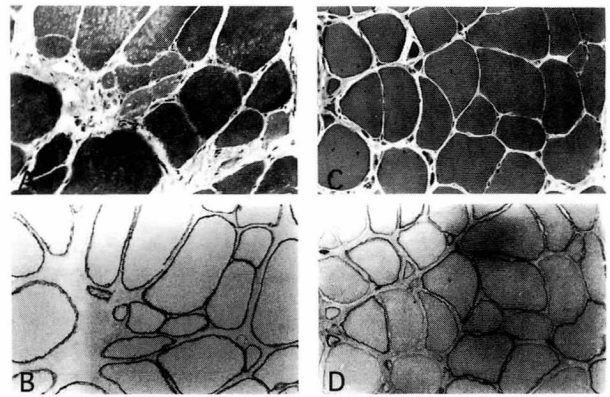


Fig. 3 A) Histopathology of the biopsied tibialis anterior muscle from a calpainopathy patient 1-IV-2. HE staining shows variation of fiber size, rounding of fibers, and proliferation of interstitial tissue. B) Immunostaining for dystrophin from a patient 1-IV-2. Dystrophin is normally found on the sarcolemma. C) HE staining of the biopsied muscle from a 51 year-old BMD patient shows dystrophic changes. D) Immunostaining for dystrophin from a 51-year-old BMD patient shows patchy or faint staining (350x).

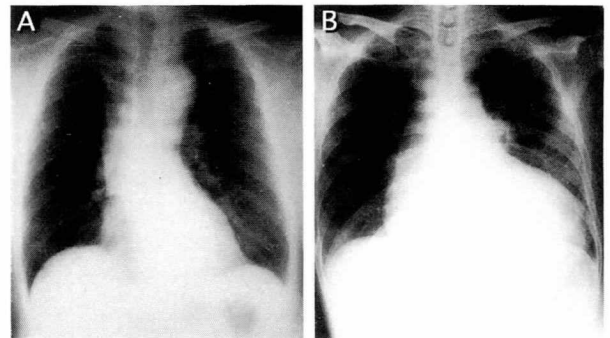


Fig. 4 A) Chest X-ray film of a 58-year-old patient with calpainopathy (2-IV-6). Cardiothoracic ratio (CTR) is normal (48%). B) CTR of a 60-year-old BMD patient increased to 70%.

骨格筋の免疫組織化学

カルパインopathy症例の前脛骨筋の生検像では、筋細胞の大小不同、間質の増生などいわゆるジストロフィー性変化がみられたが、壊死・変性、再生細胞はきわめて少なく、opaque細胞は認めなかった (Fig. 3-A)。分葉線維⁵⁾はみられなかった。免疫組織化学では、ジストロフィン (Fig. 3-B)、サルコグリカンなどは筋細胞膜上に正常に染色された。

Becker型では筋細胞の変性・壊死がみられ (Fig. 3-C)、opaque細胞も認められた。ジストロフィン faint あ

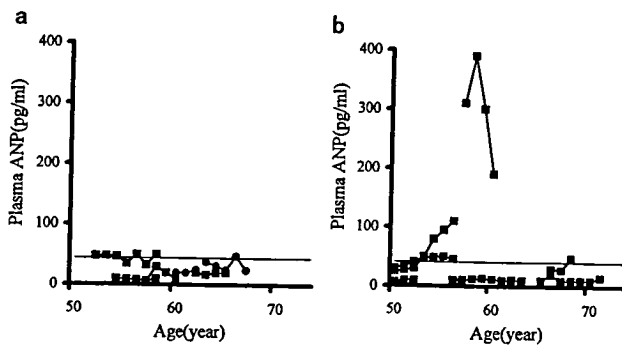


Fig. 5 a) Correlation between the plasma levels of atrial natriuretic peptide (ANP) and the ages in 6 patients with calpainopathy. The line shows upper limit of normal values of the plasma ANP level. ■, ●=affected males and females, respectively. b) Correlation between the plasma ANP levels and ages in 8 BMD patients. Some patients show high ANP levels.

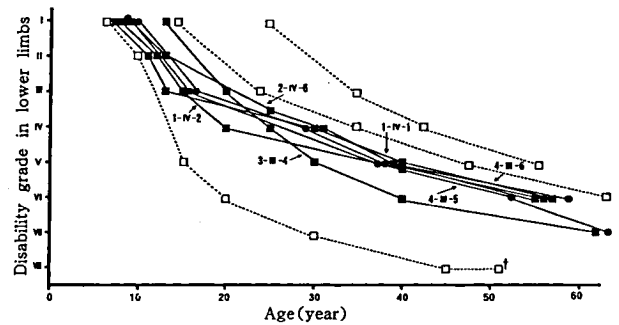


Fig. 6 Clinical progression as shown by lower extremity disability grade. Higher the value, worse the disability. Solid lines indicate the results from calpainopathy patients and dotted lines those with BMD.

るいは, patchy に染まった (Fig. 3-D).

心機能障害

カルパインopathy症例では心胸郭比 (CTR) の拡大はみられず (Fig. 4-A), 心エコーでの左室拡張末期径 (LVDd) (32~42 mm), 左室短縮率 (FS) (26.4~40.6%) も正常範囲であった. 血漿心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) 値 (5~50 pg/ml) (Fig. 5-a) と血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) 値 (4~55 pg/ml) にも高度な上昇はみられなかった. 一方, Becker 型の心機能は正常例から高度障害例までみられた. 高度障害例 (60歳) は CTR は70% (Fig. 4-B), LVDd は 52.7 mm (正常40~50 mm) と拡大し, FS は8% (正常27~43%) と高度に減少していた. また血漿 ANP は 400 pg/ml (正常43以下) (Fig. 5-b), 血漿 BNP 値は 700 pg/ml (正常18.4以下) と高度に上昇していた.

同疾患の心障害の違いは, カルパイン3は骨格筋に特異的に発現する²⁾が, ジストロフィン³⁾は心筋にも発現することに起因するものと考えられた.

臨床経過

カルパインopathyの発症年齢は6~10歳 (平均9.0歳) で, 歩行不能年齢は37~40歳 (平均38.6歳) であった. これらの症例の臨床経過は比較的緩徐進行性で, 互いに類似していた (Fig. 6). 文献的にもこのような報告がみられる⁶⁾. 一方, Becker 型では, 発症は早い例で7歳から遅い例で23歳であり, 歩行不能年齢は15歳から50歳

までと幅が認められた (Fig. 6).

カルパインopathyが Becker 型に比べ経過が良好である一因に, カルパインopathyの心障害が Becker 型に比べ軽いことがあげられる.

おわりに

本文のカルパインopathy症例は, 遺伝子異常が同定される以前は, 常染色体劣性の肢帯型と診断されていた. すなわち, これらの症例は典型的ないわゆる常染色体劣性の肢帯型筋ジストロフィーの特徴⁷⁾を有している.

カルパインopathyの確定診断については, 遺伝子異常の確認を必要とするが, 生検骨格筋中のカルパイン3のウエスタンブロットによる検索⁸⁾も重要である.

文献

- 1) Richard I, Brenguier L, Dincer P et al : Multiple independent molecular etiology for limb-girdle muscular dystrophy type 2 A patients from various geographical origins. *Am J Hum Genet* 60 : 1128-1238, 1997
- 2) 反町洋之, 小野弥子, 鈴木絃一 : 3肢帯型筋ジストロフィー B その他 (骨格筋特異的カルパイン異常), 「筋ジストロフィーはここまでわかった PART 2」-筋ジストロフィー症厚生省精神・神経疾患研究委託費研究連絡協議会編-東京, 医学書院, p 125-137, 1999
- 3) Kawai H, Akaike M, Kunishige M et al : Clinical, pathological, and genetic features of limb-girdle muscular dystrophy type 2 A with new calpain 3 gene mutations in seven patients from three Japanese Families. *Muscle Nerve* 21 : 1493-1501,

1998

- 4) 足立克仁, 川井尚臣, 川尻真和ほか: 眼でみる神経内科-59. Dystrophinopathy, sarcoglycanopathy ならびに calpainopathy の骨格筋 CT. 神経内科 53 Suppl 2 : 118-119, 2000
- 5) Tagawa K, Taya C, Hayashi Y et al : Myopathy phenotype of trasgenic mice expressing active site-mutated inactive p94 skeletal muscle-specific calpain, the gene product responsible for limb girdle muscular dystrophy type 2 A. Hum Molec Genet 9 : 1393-1402, 2000
- 6) Urtasun M, Saenz A, Roudaut C et al : Limb-girdle muscular dystrophy in Guizuzcoa (Basque Country, Apain). Brain 121 : 1735-1747, 1998
- 7) 川井尚臣, 足立克仁, 三好和夫: 進行性筋ジストロフィー, 常染色体劣性型 肢帯型. Clin Neurosci 3 : 292-294, 1985
- 8) 川井尚臣, 足立克仁, 乾 俊夫ほか: Calpain 3 の遺伝子異常が認められた常染色体劣性肢帯型筋ジストロフィー (LGMD 2 A) の4家系9症例の臨床, 筋病理, 遺伝子異常ならびに骨格筋における calpain の発現. 「厚生省精神・神経疾患研究委託費平8-10年度研究報告書筋ジストロフィー及び関連疾患の臨床病態と治療法に関する研究」p52-55, 1999
(平成12年12月14日受付)

Duchenne型筋ジストロフィー患者の母親の 検診結果

－ 8年間のまとめ－

足立克仁¹⁾、齋藤美穂¹⁾、阿部多賀子¹⁾、
高森雅子¹⁾、廣野 明²⁾、川井尚臣³⁾

¹⁾ 国立療養所徳島病院内科、²⁾ 同神経内科

³⁾ 高松市民病院内科

要 旨

Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者24例の骨格筋機能と心機能について、8年間の経過と両機能の関係を明らかにした。

保因者の8割には、明らかな骨格筋障害がみられ、この障害は5～8年でさらに進行した。また、6割には拡張型心筋症様所見がみられ、一部は心不全の治療を要した。さらに、骨格筋障害の強い例で心障害が強く、筋力低下のある保因者は心機能の定期的な評価と症例により治療が必要である。

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィーの母親には、しばしば骨格筋症状や心症状を呈する方がみられる。われわれは平成6年度より毎年一回、当院入院Duchenne型患者の母親の検診を行い、Duchenne型の女性保因者の中には骨格筋障害に加え心機能障害が多くみられることを発表してきた¹⁻³⁾が、今回は8年間のまとめを報告する。

対象と方法

Duchenne型患者の母親40名(34～61歳)について、家系図と血清CK活性値にて、さらに一部では生検筋のジストロフィン免疫組織化学、サザン法によるジストロフィン遺伝子検索にて保因者か非保因者かの検討を行った。そしてこの40名について、骨格筋機能としては血清CK値と最も障害⁴⁾される大腿二頭筋のCT値を、心機能としては心エコーと血漿ナトリウム利尿ペプチドである心房性ペプチド(ANP)値と脳性ペプチド(BNP)値を調べた。

結 果

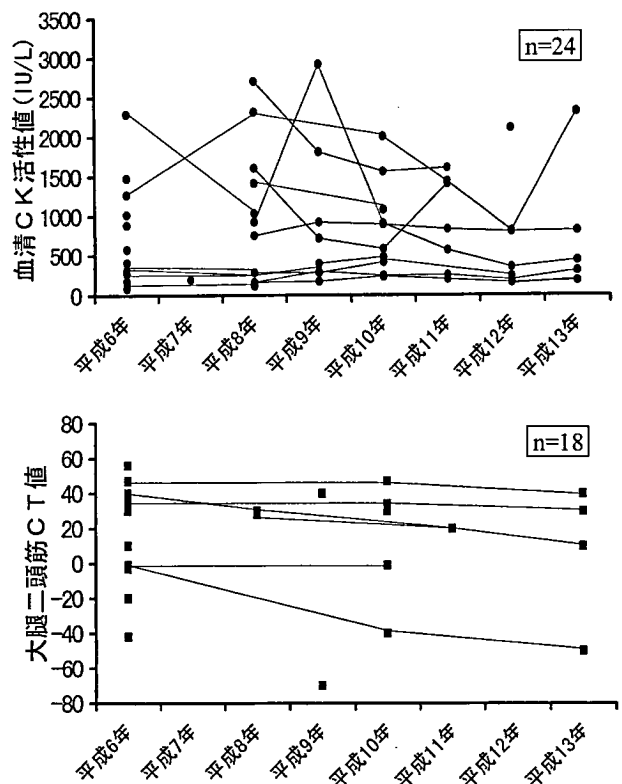
1. 40名の母親のうち確実な保因者(確実例)は24例(34～61歳)であった。

2. 確実な保因者の血清CK活性値とその経過

24例の血清CK活性値は83～2,925U/L(962.5±920.2, mean±SD)(正常値<200)であり、19例(79%)が上昇を示していた。

経過は、低値例でほぼ横這いであったが、高値例では変動が著しかった(図1上段)。

図1. 確実例の血清CK活性値(上段)と
大腿二頭筋CT値(下段)の経過



3. 確実例の大腿二頭筋CT値とその経過

19例の大腿二頭筋CT値は 56～-50(9.3±35.7)(正常値>40) 4)であり、16例(84%)が低値を示した。

経過は少しずつ減少し、障害は緩徐に進行した(図1下段)。

4. 確実例の血清CK値とCT値との関係

19例で調べた両者の関係は負の相関($r=-0.79$, $p<0.001$)を示した。

5. 確実例の心エコー測定値とその経過

22例の左室拡張末期径(LVDd)は38～62mm(50.1±6.0)(正常値<50)であり、11例(50%)が拡張していた。

22例の左室短縮率(FS)は39.9～9.4%(25.6±8.6)(正常値>27)であり、14例(64%)が低値であった。

経過は一定していなかった。

6. 確実例の血漿ナトリウム利尿ペプチド値とその経過

16例の血漿ANP値は8～110pg/ml(37.8±31.8)(正常値<43)であり、3例(19%)が高値であった。

18例の血漿BNP値は4～210pg/ml(42.9±48.3)(正常値<18.4)であり、12例(67%)が高値であった。

経過は変動がみられ、利尿剤、ACE阻害剤等の治療3例では治療初期で改善がみられた(図2)。

7. 確実例の血清CK活性値と心エコー測定値との関係

19例で調べた血清CK値とLVDdとは正の相関($r=0.51$, $p<0.05$)を、血清CK値とFSとは負の相関($r=-0.53$, $p<0.05$)を示した(図3)。

図2. 確実例の血漿ANP値(上段)と血漿BNP値(下段)の経過

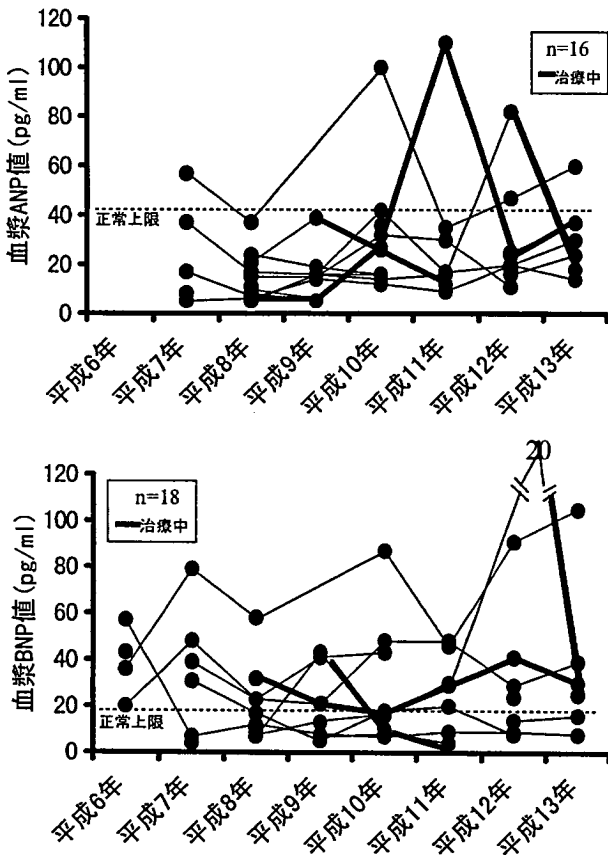
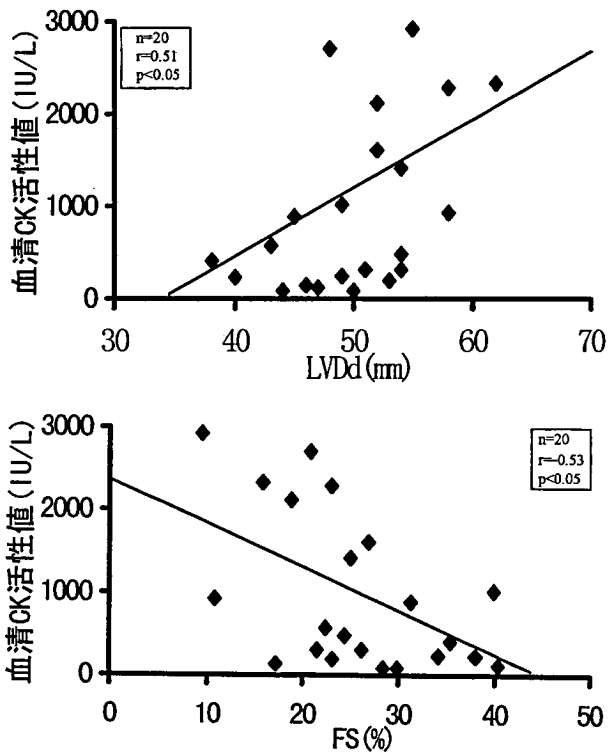


図3. 血清CK値と左室拡張末期径(上段)、左室短縮率(下段)との関係



考 察

8年間にわたり40名のDuchenne型患者の母親について骨格筋機能と心機能の検診を行った。このうちの24例が確実な保因者と診断できた。この確実例についての成績を述べた。

保因者の8割には、明らかな骨格筋障害がみられ、下肢筋CT像の経過を追うと、この障害は5~8年でさらに進行した。

また、6割の保因者には、心エコー所見から拡張型心筋症様所見が確認された。

血漿BNP値は血漿ANP値より左室機能障害を鋭敏に反映するといわれている^{5, 6)}が、本成績も同じであり、7割の保因者で上昇がみられた。

一部は心不全の治療を要したが、その効果は治療初期には有効であった。すなわち、血漿BNP値、血漿ANP値は初期には下がるが、長期にわたるとまた少しずつ上昇する例がみられた。心筋の変性の進行のためと考えられた。

この心障害と骨格筋障害とは関係があり、骨格筋障害が強いほど心障害も強い関係がみられた。

以上、骨格筋障害の強い例で心障害が強く、筋力低下のある保因者は心機能の定期的な評価が必要で、心不全症例では治療を要すると思われた。

参考文献

- 1) 上田由利子、川井尚臣、足立克仁ほか：Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者における心機能障害。臨床神経35：1191-1198,1995
- 2) Adachi K, H. Kawai, M. Saito, et al. : Plasma levels of brain natriuretic peptide as index for evaluation of cardiac function in female gene carriers of Duchenne muscular dystrophy. Int Med, 36: 497-500, 1997
- 3) 足立克仁、齋藤美穂、川井尚臣ほか：Duchenne型筋ジストロフィー女性保因者における不顕性の心障害。神経内科46：253-258,1997
- 4) 足立克仁、木村千代美、赤池雅史ほか：Duchenne型筋ジストロフィーの女性保因者における骨格筋障害の検討。平成8年度厚生省精神・神経疾患研究委託費による研究報告書(2年度班・初年度班)1997, p239
- 5) 柏木節子、足立克仁、川井尚臣ほか：Duchenne型筋ジストロフィーにおける心機能の血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド濃度値による評価。臨床神経36：7-11, 1996
- 6) H. Kawai, K. Adachi, C. Kimura, et al. : Secretion and clinical significance of atrial natriuretic peptide inpatients with muscular dystrophy. Arch Neurol. 47 : 900-904, 1990

Dysferlinopathyにおける骨格筋障害と心筋障害との関係 —臨床・病理学的検討—

柏木節子¹⁾、足立克仁¹⁾、木村千代美¹⁾、乾 俊夫²⁾、
馬木良文²⁾、川井尚臣³⁾、佐野壽昭⁴⁾

¹⁾国立療養所徳島病院内科、²⁾同神経内科、
³⁾高松市民病院内科、⁴⁾徳島大学第一病理

緒言

三好型筋ジストロフィー(LGMD2B)の遺伝子産物はdysferlinであり、本蛋白質は種々の組織で発現するが、特に、骨格筋、心筋、胎盤で多く認められるといわれている。我々は、骨格筋のdysferlinの免疫組織化学でdysferlinの欠損を認めた症例とその家系員について、骨格筋障害と心筋障害との関係を臨床・病理学的に検討した。

対象と方法

対象は免疫組織化学でdysferlinが欠損していた2家系2症例とその家系員2症例で、うち1症例は剖検例である。年齢は49～68歳で、男性2例、女性2例である。骨格筋評価の方法として徒手筋力テスト、血清CK活性値の測定、下腿CT像の検討、筋生検を行った。一方、心機能障害の評価の方法としては、胸部X線像による心胸郭比の測定、血漿ANP値および血漿BNP値の測定、心臓超音波検査による左室拡張末期径などの測定を行った。これらの成績と剖検所見をもとに骨格筋の障害と心機能障害とを比較検討した。

結果

1. 臨床経過では、2家系ともにDuchenne型筋ジストロフィーに比べ緩徐な進行を示した。症例により、病態の進行に幅がみられたが、40歳頃に歩行不能となった。
2. 長期に経過を追い得た症例(1例)の徒手筋力テストの経過では、発症当初は腓腹筋で他の下肢筋よりも強い筋力低下を認めたが、経過に伴い四肢全体および躯幹に強い筋力低下が認められるようになった。
3. 血清CK活性値では、1000IU/Lを越えて上昇していた例でも、経過に伴い徐々に低下し、正常値(200IU/L以下)に近い値となった。
4. 下腿CT像(3例)では、進行例のため下肢全体に著明な筋萎縮像を認めた。
5. 2家系の家系員(各1名)について筋生検を行い、ともにHE染色で筋ジストロフィー性変化を認めた。そして、dystrophinは認められたが、dysferlinは完全に欠損していた。
6. 心胸郭比(3例)では、拡大例が1例みられたが、他は

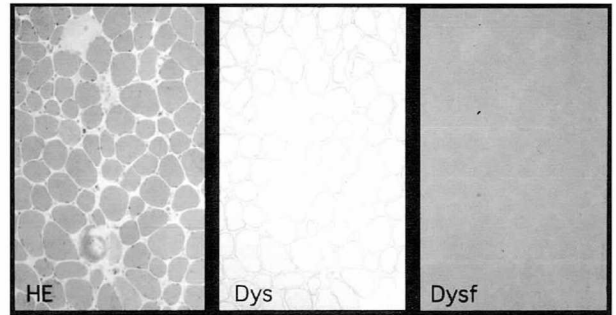


図1：症例1の筋生検像。HE染色(左)では大小不同、変性・壊死所見が認められた。Dystrophinの免疫組織化学ではdystrophinの欠損は認められなかった(中央)。一方、dysferlin免疫組織化学ではdysferlinの完全な欠損が認められた(右)。

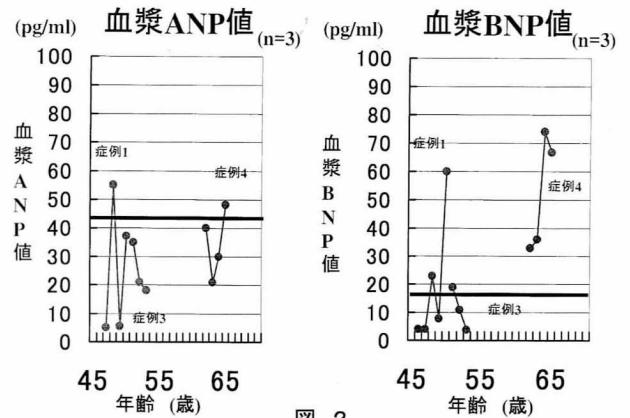


図2：Dysferlinopathy(3例)における血漿ANP値及び血漿BMNP値。血漿ANP値では2例に軽度の上昇が認められたが、血漿BMNP値では60～70pg/mlを越える症例が2例みられた。

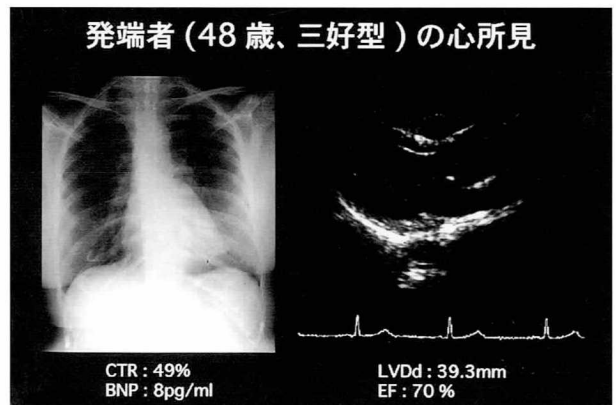


図3：症例1の胸部X線像(左)と心臓超音波検査像(右)。心陰影の拡大はなく、心臓超音波像にも明らかな異常所見はみられなかった。ともに正常の像である。

- 50%以下であった。
7. 血漿ANP値(3例)では2例で軽度の上昇を認めたが、血漿BNP値(3例)では60～70pg/mlを越える症例も2例みられた。
8. 心臓超音波検査(3例)では左室拡張末期径、左室収縮末期径で拡張は認められず、駆出率、短縮率ともに正常ないし軽度の低下が認められるのみであった。
9. 剖検例(1例)の心臓では、心重量は360gと肥大はなく、心嚢液の貯留は認められなかった。また、心筋のHE染色では心筋線維はやや萎縮していたが、肥大した線維

の混在も認められた。しかし、骨格筋にみられた変性・壊死所見はなく、脂肪細胞の浸潤は骨格筋に比較して軽度であった。

考 察

我々は、Duchenne型筋ジストロフィー¹⁾、Becker型筋ジストロフィー²⁾、カルパインオパチー²⁾、サルコグリカノパチー³⁾の骨格筋障害および心機能障害について報告してきた。

本研究では今回、骨格筋のdysferlin免疫組織化学でdysferlinの欠損を確認した三好型遠位型筋ジストロフィーの家系について、骨格筋障害と心機能障害を種々の項目において比較検討したが、対象とした全ての症例で、骨格筋障害に比べ心機能障害が極めて軽度であった。このことはdysferlinの役割が骨格筋に比べ心筋では小さいことを示唆する。

結 論

三好型筋ジストロフィーにおける心機能障害は、病理学的にも臨床的にも骨格筋障害に比較して軽度であった。これは心筋におけるdysferlinの役割が骨格筋に比べて小さいことを示唆する。

文 献

- 1) 柏木節子、川井尚臣、他：Duchenne型筋ジストロフィーにおける心機能の血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド濃度による評価. 臨床神経, 36:7-11,1996.
- 2) 足立克仁、柏木節子、他：Calpainopathy (LGMD2A)とBecker型筋ジストロフィーとの心筋・骨格筋障害の比較検討. 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究 平成12年度研究報告書 印刷中.
- 3) 足立克仁、馬木良文、他：Sarcoglycanopathy (LGMD2C,2D)とDuchenne型筋ジストロフィーの心筋・骨格筋の障害における比較検討. 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究 平成12年度研究報告書 印刷中.

DMD (BMD) における水分摂取 (尿量) 及び抗血小板薬の血液凝固線溶系に与える影響

福田 清貴

国立療養所原病院

目的

Duchenne型筋ジストロフィー(以下DMD)／Becher型筋ジストロフィー(以下BMD)において、肺梗塞や脳梗塞等の血液凝固障害に起因すると考えられる血管閉塞性病変の存在が指摘されているが、水分摂取に気をつけることにより血液凝固障害による疾病が減少した印象がある。

一方、以前に2度の脳梗塞の既往のあるBMD患者に抗血小板を投与しつづけたところ、5年以上1度も梗塞症状をおこしていない。

水分摂取や抗血小板薬の投与によりDMD(BMD)の血液凝固障害に起因する疾病は予防できるのかを検討する。

方法

1日尿量の多少と血液凝固線溶系検査データとの間に関係があるのかを検討する。1日尿量は採血前1週間の1日尿量の平均値を使う。一般凝固系検査としてPT、APTT、凝固系マーカーとしてTAT、PTF1+2、線溶系マーカーとしてDD、PICを用いた。

また、抗血小板薬の投与の有無により血液凝固線溶

系のデータに変化があるか検討する。抗血小板薬としてはジピリダモール25mgを1日3回投与した。

結果

表1は尿量と血液凝固線溶系のデータを示したものである。尿量の少ない症例7～10においてPTF1+2の値が低い傾向が見られたが、統計学的な有意差は認められなかった。

表2はジピリダモール投与している患者(上段)と投与していない症例(下段)の血液凝固線溶系検査のデータである。非投与群においてTATが亢進している症例が3例みられた。投与群の症例は脳梗塞の既往が投与前に2度ある症例である。軽度のPICの亢進が認められた。

考察

尿量の多少及びジピリダモール投与の有無と血液凝固線溶系検査の間の関係を見るとある程度の傾向は認められたが、統計学的に有意なものではなかった。これは、今回の研究に、障害度や車椅子生活かベッド上生活か、心不全の有無や年齢の因子が入っておらず、また症例数も少ないためと考えられるので、今後、症例数を増やすとともに研究計画を練り直して検討する必要があると思われる。

表1 尿量の多少と血液凝固線溶系の関係

症例	一日尿量 (ml)	PT (sec)	PT (%)	PT	APTT	DD	PIC	TAT	PTF1+2
		10-13	70-140	(RATIO) 0.9-1.1		25.0-40.0	1.0未満	0.8以下	3.0以下
		(線溶系)			(凝固系)				
1	1636	11.9	81	1.09	38.2	1.53↑	0.8	2.8	0.46
2	1563	12.1	78	1.11↑	43.1↑	0.5以下	0.5	1.3	0.44
3	1517	11.3	92	1.03	36.6	0.5以下	1.0↑	2.4	0.51
4	1234	10.9	100	1.00	39.8	0.5以下	0.7	53.0↑	1.09
5	1079	10.6	107	0.97	33.3	0.5以下	1.1↑	1.3	0.52
6	921	11.2	94	1.02	40.7↑	0.5以下	1.2↑	7.0↑	0.50
7	909	11.5	88	1.05	36.9	0.5以下	0.5	1.0以下	0.37↓
8	799	11.8	83	1.08	42.6↑	0.5以下	0.7	3.7↑	0.36↓
9	679	13.0	66↓	1.19↑	38.4	0.5以下	0.6	1.0以下	0.24↓
10	653	12.2	77	1.11↑	38.8	0.5以下	0.8	2.7	0.35↓

表2 ジピリダモール投与・非投与と血液凝固線溶系の関係

症例	ジピリダモール	PT (sec)	PT (%)	PT(RATIO)	APTT	DD	PIC	TAT	PTF1+2
		10-13	70-140	0.9-1.1		25.0-40.0	1.0未満	0.8以下	3.0以下
		(線溶系)			(凝固系)				
1	(+)	11.9	81	1.09	38.2	1.53↑	0.8	2.8	0.46
②	(+)	10.6	107	0.97	33.3	0.5以下	1.1↑	1.3	0.52
3	(+)	11.5	88	1.05	36.9	0.5以下	0.5	1.0以下	0.37↓
4	(+)	11.7	85	1.07	44.4↑	0.5以下	0.6	1.5	0.40
1	(-)	12.1	78	1.11↑	43.1↑	0.5以下	0.5	1.3	0.44
2	(-)	11.3	92	1.03	36.6	0.5以下	1.0↑	2.4	0.51
3	(-)	10.9	100	1.00	39.8	0.5以下	0.7	53.0↑	1.09
4	(-)	11.2	94	1.02	40.7↑	0.5以下	1.2↑	7.0↑	0.50
5	(-)	11.8	83	1.08	42.6↑	0.5以下	0.7	3.7↑	0.36↓
6	(-)	13.0	66↓	1.19↑	38.4	0.5以下	0.6	1.0以下	0.24↓
7	(-)	12.2	77	1.11↑	38.8	0.5以下	0.8	2.7	0.35↓

[特集]

なぜ呼吸不全は起こるのか —その発症メカニズムを解く—

6

神経筋疾患

石原 傳幸

(ISHIHARA Tadayuki)

国立療養所箱根病院神経内科(副院長)

Key Words

呼吸筋, 肺胞低換気, 運動単位, 筋ジストロフィー, 筋萎縮性側索硬化症

■ はじめに

神経筋疾患患者を長期間にわたって経過観察すると次々に患者が呼吸不全に陥っていくことに気づく。これらの患者では、検査上は動脈血の酸素分圧が低下して炭酸ガス分圧が上昇するという肺胞低換気の像を呈する。肺胞低換気は、筋強直性ジストロフィーのように中枢性肺胞低換気を呈することもあるが、大部分は呼吸筋の筋力低下のために出現する末梢性肺胞低換気である¹⁾。肺疾患のように肺組織が侵されているわけではなく、呼吸筋が働かず肺にガスが到達しないために呼吸不全となるのである²⁾。

神経筋疾患における呼吸筋を理解するためには、まず運動単位概念を理解する必要がある。

1 運動単位

運動単位は周知のように運動神経(脊髄前角に存在する)と軸索、神経筋接合部および複数の筋細胞からなる。1つの運動神経に対して支配する筋細胞の比率はinnervation ratioと呼ばれる。ヒトの下肢ではこの比率は1:2000程度とされており、外眼筋では1:10程度といわれている。人の呼吸

筋ではこの比率は明らかではないが1:数百程度と思われる。筋疾患で筋細胞自体が1つずつ障害されれば、呼吸筋筋力低下の進行速度は遅いと考えられる。しかし、筋萎縮性側索硬化症のような脊髄前角疾患では神経細胞が脱落すれば、1つの運動単位がそのまま消失するから、進行は段階的で急速であると理解される。運動単位は、以前から樹にたとえられ、Motor Unit Treeなる言葉も存在している(図1)。図2に示すようにこの樹でたとえば、Charcot-Marie-Tooth病のような末梢神経疾患での呼吸筋障害の性質は両者の中間に属する。

2 剖検呼吸筋病理

1980年にDuchenne型筋ジストロフィーの剖検筋肉を組織化学的に検索していたところ呼吸筋のみに限局した構造物が認められることに気付いた³⁾。この構造物は凍結切片のNADH-TR染色やATPase染色で陰性に染色され、ホルマリン固定標本では検出できない(図3)。当初は筋ジストロフィーのみに認められるのかと考えたが、筋萎縮性側索硬化症のような神経原性疾患にも少数出現することが判明した。さらに肺結核後遺症による呼吸不全



図1 運動単位

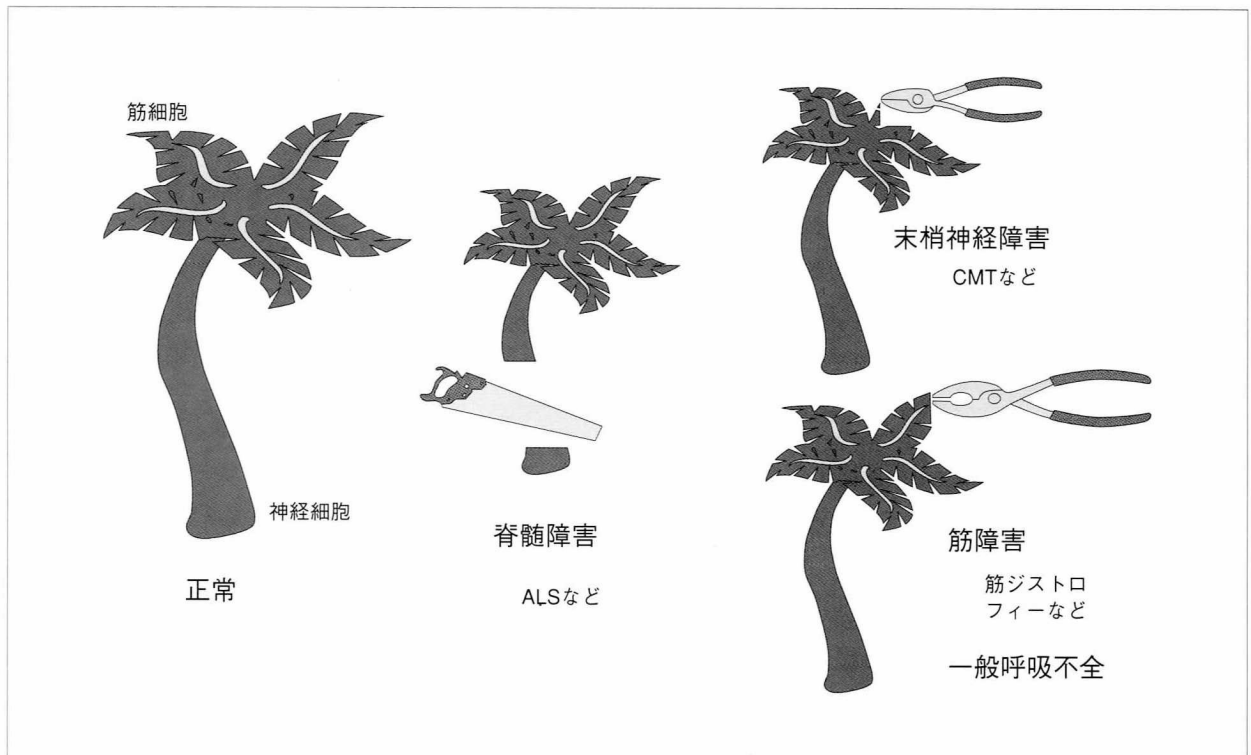


図2 呼吸不全における障害部位

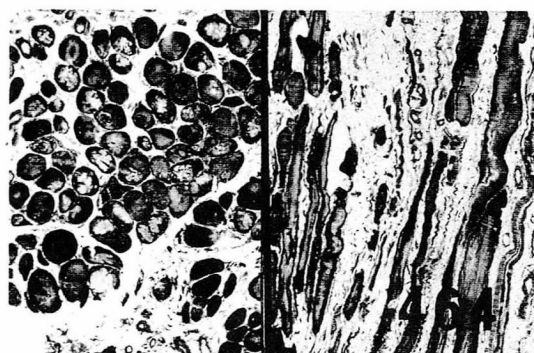


図3 Duchenne型筋ジストロフィー剖検横隔膜 (NADH-TR染色)

筋線維内部の陰性に染色された部分(紫色に染色されていない部分)が呼吸筋のセントラルコアである。

や肺線維症などの呼吸筋にも多数認められることが判明した。すなわち、この構造物は神経筋疾患だけではなく、肺疾患による呼吸不全症例にも出現することが判明したのである(表1)。呼吸不全を認めずに死亡した神経疾患や脳卒中患者の呼吸筋にはこの構造物は認められなかった⁹⁾。

われわれはこの構造物が先天性ミオパチーの1型であるcentral core病のcentral coreによく似ているところから呼吸筋のセントラルコアと名前を付けた。

電子顕微鏡で検索するとこの構造物では通常のサルコメア構造が消失していることが証明された。免疫組織化学的にはこの部分ではアクチン、ミオシンが消失していた⁵⁾。なんらかのタンパク質の破壊が起こっていると想像されることから、通常筋細胞壊死に関係するacid phosphatase染色やCa染色を施行したが陰性であった。これに対して抗ubiquitin抗体染色は陽性でありproteasomeがこの部分でのタンパク破壊に関係することが示唆された。

3 呼吸筋のセントラルコアの意義

呼吸筋は心筋と同様に生命を維持するのに重要な筋肉であり、休息を許されない筋であり、通常骨格筋とは異なる筋肉であるから、他の筋と異なる所見が出現してもおかしくはないが、その意義については休息を許されない筋であることが、

大きな要因になっているはずである。呼吸筋のセントラルコアは呼吸不全に共通してみられる変化であることから考察して次のような仮説を立てた。

筋ジストロフィーのような筋疾患では筋細胞は1つひとつ壊死を起こしていき、残った細胞がoverworkに陥ることは容易に想像できよう。また本来ならば正常な呼吸筋を持っているはずの肺結核後遺症や肺線維症の患者の呼吸筋は肺組織が大量に破壊されて、ガス交換の効率が低下したために過呼吸を強いられるようになりoverworkになったと考えられる。このように呼吸筋のセントラルコアは呼吸筋の疲労の病理学的変化と位置づけた。作業仮説として種々の疾患に当てはめて考えてきたが、いまだ矛盾する場面には遭遇していない。また共同研究者の熊谷らがラットを高炭酸ガス環境下で飼育し、呼吸筋に人と同様の呼吸筋のセントラルコアを作り出すのに成功したこともわれわれの説を支持する有力な証拠となっている。

呼吸筋のセントラルコアの出現率は疾患によって異なる。たとえば前述のように筋萎縮性側索硬化症では呼吸筋のセントラルコアの出現率は小さい。また筋強直性ジストロフィーの呼吸筋にも呼吸筋のセントラルコアは少ない。なぜかと考えると、筋萎縮性側索硬化症では神経が侵されるために筋肉自体は動かなくなり疲労しないし、同様に筋強直性ジストロフィーでは中枢性肺泡低換気のために呼吸筋が働かないから疲労しないと考えれば納得できよう。

4 呼吸筋のセントラルコアの出現

共同研究者の野崎は、多数例の非神経筋疾患呼吸不全患者の剖検筋を解析して、Hugh-Jones II度以上の呼吸不全が3ヵ月続けば呼吸筋のセントラルコアが出現することが考えられると報告した。呼吸筋のセントラルコアはすでにCiesielskiらによりイヌの横隔神経の持続的電気刺激により作り出されており、その実験では刺激持続期間は3ヵ月であり、野崎のいう期間と同様であることが興味深い。筆者は肺結核後遺症の呼吸不全が末期で急

表1 呼吸筋のセントラルコアの出現率

	横隔膜	肋間筋
神経筋疾患		
Duchenne型筋ジストロフィー	98%	87%
肢帯型筋ジストロフィー	100	100
福山型先天性筋ジストロフィー	100	40
先天性筋ジストロフィー	100	100
ネマリン・ミオパチー	100	100
筋萎縮性側索硬化症	40	0
脊髄性筋萎縮症	67	
呼吸不全症例		
肺結核後遺症	86	86
肺線維症	100	100
肺癌	50	0
食道癌	100	100
非呼吸不全症例		
脳卒中	0	0
脳腫瘍	0	0
Parkinson病	0	0
悪性腫瘍	0	0

速に進むのもこの呼吸筋疲労が大きな要因ではないかと想像している⁹⁾。

呼吸筋のセントラルコアの出現は呼吸不全の何と関係するのであろうか。従来われわれは低酸素が重要ではないかと考えてきたが、前述の熊谷らは高炭酸ガス環境下飼育ラットで呼吸筋のセントラルコアが作成できたところから炭酸ガスの影響を強く疑っている^{7,8)}。

5 筋ジストロフィーにおける hemodynamic study

Duchenne型筋ジストロフィーは一般には肺組織に異常はない。われわれは約20年前には左心不全で全例が死亡するのだらうと想像していた。左心不全治療を行う目的でSwan-Ganzカテーテルを挿入し検索したところ、左心不全のみの症例は確かに存在した。しかし、検査上呼吸不全を認める症例はすべてForrester subset 1に分類されて左

心不全は合併しないことが判明した。また右心室(混合静脈血)と動脈血同時採血した結果では呼吸不全症例では動脈血酸素分圧(Arterial Partial Pressure of Oxygen; PaO₂)が50Torr以下で混合静脈血の酸素分圧(Mixed Venous Oxygen Pressure; PvO₂)が35Torr以下となり全身細胞の低酸素が出現すると考えられた。左心不全症例のみならず、呼吸不全症例にも必ず肺高血圧症が認められた。現時点では20年前よりも呼吸器や心不全に対する治療が進み、単純な病態ではないと思われるが、われわれの経験は現在では繰り返すことのできない貴重なデータとなった。

■ まとめ

神経筋疾患の呼吸不全の成り立ちを考察してきたが、まだまだわからないことが多く、今後の研究の発展を願う。

■文 献

- 1) 高杉知明, 石原傳幸, 川村 潤, 他: Myotonic Dystrophy - 成因からケアまで - 呼吸不全 - 特に睡眠時無呼吸について. 臨床神経 35 : 1486-1487, 1995
- 2) 石原傳幸: 呼吸不全をめぐる神経筋疾患. 内科 71 : 703-707, 1994
- 3) 石原傳幸, 井上 満, 埜中征哉, 他: 横隔膜筋に core 構造を認めた Duchenne 型筋ジストロフィーの一例. 神経内科 12 : 495-497, 1980
- 4) 石原傳幸, 宮川雅仁, 五味慎太郎, 他: 呼吸筋疲労に見るセントラルコア. 呼吸と循環 36 : 137-143, 1988
- 5) 石原傳幸, 清水輝夫, 杉田秀夫, 他: 呼吸不全における呼吸筋の病理 - 組織化学および免疫組織化学. 日本胸部臨床 47 : 379-385, 1988
- 6) 野崎博之, 石原傳幸, 高嶋修太郎, 他: 「呼吸筋セントラルコア」の発現時期の検討. 胸部疾患会誌 30 : 851-855, 1992
- 7) 熊谷美穂, 近藤哲理, 石原傳幸, 他: 慢性 CO₂ 暴露ラット横隔膜における呼吸筋セントラルコア. 胸部疾患会誌 35 : 386-390, 1997
- 8) 熊谷美穂, 近藤哲理, 太田保世, 他: 高炭酸ガスと呼吸筋. *The Lung perspectives* 8 : 162-165, 2000

筋強直性ジストロフィーにおける頸部画像所見の再検討

班 員 荒巻 晴道
共同研究者 横山 照夫、土屋 一郎、伊藤 浩明、
石原 博幸、大熊 正彦
国立療養所箱根病院

要 旨：

我々は当院入院中の筋強直性ジストロフィー患者22例に対し(男性11例、女性11例)頸部単純X-P、CT、MRI検査を施行し頸部の骨変化とそれに起因する頸髄病変の存在を検討した。OPLL 2/22例(9.1%)、骨棘形成5/22(22.7%)、椎間板ヘルニア2/22(9.1%)、椎体癒合1/22(4.5%)、椎体cyst 1/22(4.5%)を認めた。OPLLの1例では骨変化に伴い脊髄の著しい圧迫と偏位を認めた重篤な脊髄障害へ進展する可能性が考えられた。

目 的：

MyDでは従来よりOPLLの存在をはじめとして頸椎症の合併があると報告されてきた。これまでの報告は単純X-P、CTの所見が主であり頸髄への影響については詳細には行われなかった。今回、我々は単純X-P、CTに加えMRI検査を加えてMyDにおける頸椎変化と付随する頸髄病変の存在を検討した。またこれまでCTG repeatsとOPLLの関係を検討した報告が見られなかったので、この点についても検討した。

対象・方法：

当院入院中のMyD患者22名 男性11名(平均年齢53.2歳)女性11名(平均年齢 53.4歳)を対象に単純XP頸椎CT、頸部MRIを可能なかぎり撮影した。全例でCTG repeatsを計測した。

結 果：

症例1 42歳男性 20歳時に下肢脱力にて発症。四肢の筋脱力及び筋萎縮の為に現在は車椅子での生活となっている。神経所見としては中等度の痴呆(HDS-R 19/30)と四肢の筋萎縮及び脱力を認め上肢近位にてMMT3/3 遠位2/2 下肢は近位・遠位とも2/2以下に低下している。明らかな感覚障害は認めず、また排尿・排便困難も認めていない。四肢深部腱反射は全身で低下し、その他の錐体路徴候も陰性であった。頸部画像検査ではC5-7にて連続性のOPLLを認め最小有効脊椎管前後径が9mmに低下し脊髄の圧迫と偏位を認めた。CTG repeat数は3.0-3.3Kbであった。

症例2 66歳女性30歳時に手指の脱力にて発症。以後四肢に脱力と筋萎縮が広がり現在はかろうじて杖歩行可能となっている。神経所見としては軽度の痴呆(HDS-R 21/30)と四肢の脱力を認め上肢近位にてMMT3/3 遠位2/2 下肢は近位・遠位とも2/2以下に低下している。明らかな感覚障害は認めず排尿・排便困難も認めていない。錐体路兆候は認めなかった。頸部画像検査にてC5に軽度OPLLを認めたが脊髄への影響を認めなかった。CTG repeat数は6.0Kbであった。

その他にも頸部画像検査上では骨の変化を認めたが脊髄への圧迫症状は認めずまた臨床上也錐体路症状や感覚障害、排便・排尿障害は認めなかった。異常骨変化をまとめるとOPLL2/22例(9.1%)、骨棘形成5/22(22.7%)、椎間板ヘルニア2/22(9.1%)、椎体癒合1/22(4.5%)、椎体cyst 1/22(4.5%)であった。骨病変とCTG repeatの関係は表1に示した。

考 察：

MyDにおけるOPLLの合併は当院の村上等によりS61年に報告され4/16例にOPLLが観察された。S61年畑野等は3/13例、H6年大竹等は18/67例のOPLLの合併を報告し、一般成人のOPLLの発生率が2%であるのに対しMyD患者では23-26%と高率にOPLLが合併するとされてきた。今回のシリーズでは22例中2例(9%)とOPLLの合併率がやや低下していた。解離の原因は不明であるが症例数による違いの可能性も否定しきれない。OPLLとCTG repeats数との相関は症例数が2例と少数のため比較が困難であるが少なくともOPLL合併例でCTGの極端な延長は認められなかった。国分等はOPLLは年齢に伴い徐々に肥厚し脊椎管前後径に対し骨化巣の厚みが40%を越えたところで神経症状が出現しやすくなるが、軽度の骨化巣でも転倒などを契機に容易に重篤な脊髄障害を呈するとしている。加えて当院の土屋等はMyDの骨代謝の検討にて、筆者の一人も他院でOPLLを合併したMyD症例で、転倒により頸部以下の完全四肢麻痺に進展した症例を経験している。我々のOPLLを合併した1例では臨床徴候ははっきりしないものの画像上で頸髄の偏位・変形を認めており重篤な頸椎障害を容易に起こしうると考えられた。当症例では合併症の予防の為に頸部固定装具の装着を行っている。(手術治療については本人へのinformed consentを行っている最中である。)他にも画像上頸椎変化を認めたが、脊髄に影響する病変はみとめられなかった。

結 論：

MyDにおけるOPLLの合併は深刻な頸髄における脊髄損傷を引き起こす原因となりうる可能性があり、部位によっては四肢麻痺のみではなく呼吸麻痺をもきす

可能性もある。

長期入院のMyD患者が増加しつつある国立療養所の筋萎縮症病棟においては、常に留意しなければならない合併症の一つである。

画像所見のまとめ

OPLL	2/22例	(9.1%)
骨棘形成	5/22	(22.7%)
椎間板ヘルニア	2/22	(9.1%)
椎体癒合	1/22	(4.5%)
椎体cyst	1/22	(4.5%)

Basophilic cytoplasmic inclusions in a case of sporadic juvenile amyotrophic lateral sclerosis

Hitoshi Aizawa^{a,*}, Takashi Kimura^b, Kazuki Hashimoto^b, Osamu Yahara^b, Koichi Okamoto^c, Kenjiro Kikuchi^a

^aFirst Department of Medicine, Asahikawa Medical College, Asahikawa 078-8510, Japan

^bDepartment of Neurology, Dohoku National Hospital, Asahikawa 070-0901, Japan

^cDepartment of Neurology, Gunma University School of Medicine, Maebashi 371-8511, Japan

Received 6 December 1999; received in revised form 10 April 2000; accepted 18 April 2000

Abstract

A 24-year-old woman presented with progressive muscle atrophy and weakness of the right upper extremity. Subsequently her weakness rapidly extended to the left upper extremity, neck and lower extremities. Neurological examination disclosed involvement of the lower motor neuron system. She died 7 months after the onset. There was neuronal loss and reactive gliosis in the anterior horns of the spinal cord and much less frequently in the motor cortex. Basophilic cytoplasmic inclusions were observed in the thalamus and brain stem as well as the upper and lower motor neurons. Ultrastructurally, the inclusions lacked a limiting membrane and consisted of a meshwork of filamentous structures associated with granules. The inclusions failed to react with antibodies against phosphorylated neurofilament or cystatin C. Most of the inclusions show no reaction with anti-ubiquitin antibody, however, a few inclusions show granular reaction product deposits with this antibody. The inclusions were not immunostained with antibodies against TGN46 and MG-160, markers of the trans-Golgi network and the medial cisternae of the Golgi apparatus, respectively, suggesting that they were not derived from the Golgi apparatus which was fragmented. © 2000 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Juvenile amyotrophic lateral sclerosis; Basophilic cytoplasmic inclusion; Ubiquitin; Golgi apparatus

1. Introduction

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), which is characterized by progressive degeneration of motor neurons, is usually a disease of middle and late life, and juvenile sporadic ALS cases have rarely been reported. Characteristic basophilic cytoplasmic inclusions have been documented in several of these cases [1–5]. The basophilic cytoplasmic inclusions were also observed in an elder ALS case as well [6]. In this communication, we report another

such case and present immunohistochemical observation of basophilic cytoplasmic inclusions.

2. Patient and methods

2.1. Case report

A 24-year-old female noticed progressive muscle weakness of the right upper extremity. She rapidly developed weakness of the left upper extremity and neck and gait disturbance as well. A careful family history revealed no evidence of neurological disorders. Six months after the onset, neurological examination disclosed flaccid tetraparesis with muscle atrophy, neck weakness and hypo-

*Corresponding author. Tel.: +81-166-68-2442; fax: +81-166-68-2449.

E-mail address: aizawah@asahikawa-med.ac.jp (H. Aizawa).

Cortical silent period in the tongue induced by transcranial magnetic stimulation

Takayuki Katayama ^{a,*}, Hitoshi Aizawa ^{a,1}, Kenji Kuroda ^{a,1}, Yasuhiro Suzuki ^{a,1},
Kenjiro Kikuchi ^{a,1}, Takashi Kimura ^{b,2}, Kazuki Hashimoto ^{b,2}, Osamu Yahara ^{b,2}

^a First Department of Medicine, Section of Neurology, Asahikawa Medical College, 2-1-1 Midorigaoka-Higashi, Asahikawa 078-8510, Japan

^b Department of Neurology, National Douhoku Hospital, 7 Hanasaka-cho, Asahikawa 070-0901, Japan

Received 22 January 2001; received in revised form 22 August 2001; accepted 25 September 2001

Abstract

Cortical silent period (SP) of the limb muscles is thought to reflect the cortical excitability. However, the lingual SP has not been examined precisely even in normal subjects. We investigated SP in the tongue induced by transcranial magnetic stimulation (TMS) in 18 controls. Surface electrodes were placed on the lingual dorsum using a bipolar technique. A round coil (13.5 cm in outer diameter) connected with Magstim 200 stimulator was placed on the motor cortex of the tongue, and the intensity of the stimulation was increased stepwise to maximum. SP was detected in all subjects especially at the contralateral side to the stimulated side, without contamination of peripheral SP. The duration of SP depended on the stimulus intensity, while the degrees of muscle contraction did not influence SP. SP of the tongue showed similar characteristics to that of limb muscles. This suggests that SP of lingual muscles can be clinically useful for the evaluation of corticobulbar excitability. © 2001 Published by Elsevier Science B.V.

Keywords: Transcranial magnetic stimulation; Tongue; Human

1. Introduction

Transcranial magnetic stimulation (TMS) is a useful technique in the functional evaluation of upper and lower motoneurons in humans [1]. Furthermore, TMS has been applied to evaluate corticobulbar projection, and it has successfully been used to measure the central conduction time [2–9]. Another measurable index in TMS is the cortical silent period (SP), which is an electromyographic silence evoked after magnetic or electrical stimulation [10–12]. In the limb muscles, cortical SP evoked by TMS is shorter in patients with Parkinson disease (PD) than in normal subjects, and L-DOPA prolongs SP in patients with PD [13–16]. It is thought the shortening of SP in patients with PD is due to cortical hyper-excitability [13–16]. It has been reported that patients with spinocerebellar degeneration have a long cortical SP [17]. However, there are no precise reports regarding the SP in lingual muscles except

for a preliminary study in only two normal subjects using the genioglossus muscle [18]. Therefore, normative data concerning lingual SP is unknown. We investigated SP of the tongue in normal subjects, and we have considered the clinical utility of the measurement of SP in lingual muscles.

2. Subjects and methods

We studied 18 normal subjects (15 males and 3 females) with a mean age of 39.6 years of age (range 24–67). Informed consent was obtained from all subjects. TMS was performed using a Magstim 200 stimulator (Novametrix, UK) and a circular coil (13.5 cm in outer diameter) with a peak magnetic field of 1.0 T (according to the manufacturer's specifications). The edge of the coil was placed over the motor cortex of the lingual muscle. The position of the coil was adjusted to ensure that magnetic evoked potentials (MEP) were maximal. The coil current was applied anticlockwise as viewed from above for the stimulation of the left hemisphere, while it was applied clockwise for the right hemisphere, and the intensity of stimulation was increased stepwise to maximum.

* Corresponding author. Tel.: +81-166-68-2442; fax: +81-166-68-2449.

E-mail address: katayuka@asahikawa-med.ac.jp (T. Katayama).

¹ Tel.: +81-166-68-2442; fax: +81-166-68-2449.

² Tel.: +81-166-51-3161; fax: +81-166-53-9184.

CASE REPORT

Hypoxic ventilatory depression in a patient with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes

SHINOBU OSANAI, TORU TAKAHASHI, HIROYUKI ENOMOTO, NOBUYUKI SATOH, OSAMU YAHARA, YUJI AKIBA, SATORU FUJIUCHI, HITOSHI NAKANO, YOSHINOBU OHSAKI AND KENJIRO KIKUCHI

First Department of Medicine, Asahikawa Medical College, Asahikawa, Japan

Hypoxic ventilatory depression in a patient with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes

OSANAI S, TAKAHASHI T, ENOMOTO H, SATOH N, YAHARA O, AKIBA Y, FUJIUCHI S, NAKANO H, OHSAKI Y, KIKUCHI K. *Respirology* 2001; 6: 163–166

We describe a case of a 21-year-old man with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) who presented with hypoxic ventilatory depression. He had chronic hypoventilation, which was not explained by weakness of respiratory muscles. His hypercapnic ventilatory response was not impaired. In contrast, hypoxic ventilatory depression was observed in the isocapnic progressive hypoxic response test. After exposure to hypoxic conditions, his respiratory frequency decreased and tidal volume was unchanged. The hypoxic ventilatory depression was partially blocked by pretreatment with aminophylline. In conclusion, we need to be careful with patients with MELAS who are hypoxaemic because a vicious circle of hypoxia and hypoventilation can occur.

Key words: adenosine, aminophylline, hypoventilation, hypoxic ventilatory depression, neuroeffector, respiratory failure.

INTRODUCTION

Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) is a form of mitochondrial disease associated with mutations in mitochondrial DNA that affects adenosine triphosphate (ATP) production by oxidative phosphorylation.¹ In MELAS, an abnormality of mitochondrial function induces lactic acidosis and various changes in multiple organ systems.² There are several reports of mitochondrial encephalomyopathy with depression of ventilatory response to chemical stimuli.^{3–5} In these reports, it has been inferred that the cause of a depressed ventilatory response to chemical stimuli was related to an abnormality of the respiratory centre rather than weakness of respiratory muscle.

We describe a patient with MELAS who presented with hypoxic ventilatory depression. It has been hypothesized that hypoxic ventilatory depression might be due to accumulation of adenosine, which is an inhibitory neuroeffector, in the respiratory centre.⁶ Therefore, we investigated the participation of adenosine on the mechanisms of hypoxic ventilatory depression in the present patient, using an adenosine receptor antagonist.⁷

CASE REPORT

A 21-year-old man was admitted to the Asahikawa Medical College Hospital (Hokkaido, Japan) due to episodic headaches, dizziness, vomiting and stroke-like symptoms. He was normal at birth and there was no history of cardiopulmonary disease in childhood. The family history included the sudden death of his mother at the age of 32 years. Although he had stunted growth during adolescence, he received good grades in high school. There were several episodes of gait and visual disturbance for 3 months prior to admission. These symptoms were transient over a few days. On admission, his height was 157 cm, weight was 36 kg and body mass index was

Correspondence: Shinobu Osanai, First Department of Medicine, Asahikawa Medical College, 2-1-1 Midorigaoka Higashi, Asahikawa, Hokkaido 078-8510, Japan. Email: shinobuo@asahikawa-med.ac.jp

Received 8 June 2000; revised 1 November 2000; accepted for publication 10 November 2000.

筋強直性ジストロフィーにおける横隔膜の呼吸運動について

班 員 箭原 修

(国立療養所道北病院 神経内科)

共同研究者 澤田 淳、榎本(中谷)雪

榎本博之、木村 隆、橋本和季

緒 言

筋強直性ジストロフィー症(MyD)で呼吸筋の評価をする方法としては生理学的検査のスパイロや動脈血ガス分析などが用いられている。呼吸筋の筋力の画像的な評価方法としては胸部単純X線写真上での検討であった。呼吸筋(横隔膜や肋間筋)の動きから胸郭の評価を判定することは、呼吸機能との関連だけでなく病状の進行や予後を知る上で重要と思われ。しかしながら、今まではこれについての検討は非常に少ない。さらに、呼吸筋の筋力の低下が認められた時に、どのような呼吸運動をするのか大変興味ある。今回我々は、連続撮影法で横隔膜運動と胸郭運動を動的に解析し、呼吸機能検査・血液ガスの結果も含めて検討し評価し、一側横隔膜神経麻痺の患者とMyD患者との横隔膜の動きを比較検討し、そこからMyDにおける横隔膜の筋力低下について検討した。

対象・方法

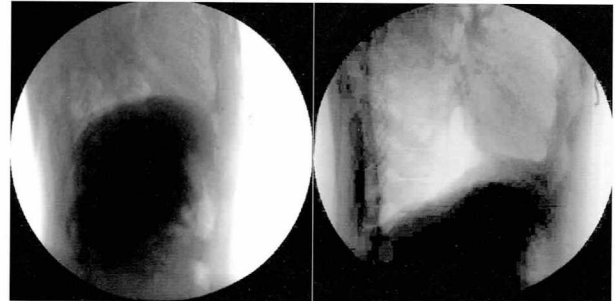
対象は当院に入院しているMyD10例、成人対照(control)7例である。さらに一側性横隔膜神経麻痺患者4人(特発性3人、post op(MG)1人)である。

方法は血管造影に使用されているDSA装置(GE社製Advantx-E-LCX)を用いて最大吸気・呼気動作を臥位・坐位に分けて連続撮影し、画像をコンピュータに取り込み解析した。呼吸運動は正面像・側面像でそれぞれ連続3回の吸気・呼気動作を行わせた。これらの画像から最大呼気と最大吸気における横隔膜をトレースし、基準点を決めてそれを基準にして重ねあわせた。また、横隔膜の形状の相似性については、吸気と呼気の横隔膜のトレースを重ねあわせ、検討した。

結 果

血管撮影で得られた対照とMyDにおける胸郭と横隔膜の側面画像である(図1Aは対照、図1BはMYD)。対照では吸気と呼気での横隔膜の動きでは形状が違っている。一方MyDではその形状には呼吸運動で違いは目立たない。

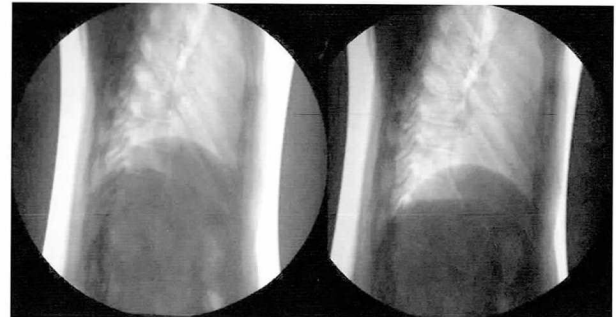
1A



呼気

吸位

1B



呼気

吸位

図1.横隔膜の呼吸運動における側面画像。

横隔膜の形状について、正面像と側面像から呼吸運動における相似性について、検討した。

表1に示したように、対照群との比較でMyD群では側面像や正面像ともに形状の変化がなく、

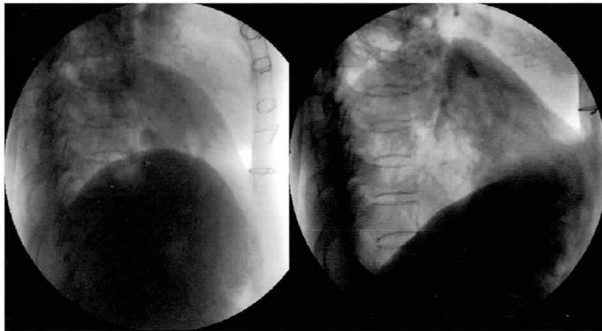
表1.MYDと対照における横隔膜の形状

		I	II
正面像に おける相似性	MyD	7人	3人
	control	0人	7人
側面像に おける相似性	MyD	8人	2人
	control	0人	7人

Iは上に凸、IIは平坦または下に凸。MyD群とcontrol群の間には $P<0.01$

呼気でも吸気でも上に凸の形状が示された。一方対照群では呼気と吸位での違いが明らかであり(表1)、横隔膜に十分な運動力があり、筋力があると思われた。

MyD群における横隔膜筋力の低下が示唆されたので、一側横隔膜神経麻痺の患者における横隔膜の呼吸運動における形状について検討を行った(図2)。



呼気 吸位

図2. 一側性横隔膜神経麻痺の呼吸運動における側面画像.

一側性横隔膜神経麻痺では麻痺側の横隔膜の呼吸運動は呼気と吸気ではほとんど形状を変えないで、上に凸の形状を示していた。これらの所見は一側性横隔膜神経麻痺の全症例で認めた(表2)。

表2. MyDと一側性横隔膜神経麻痺における横隔膜の形状

正面像における 相似性	MyD 横隔膜麻痺	10/10 (100%) 4/4 (100%)
側面像における 相似性	MyD 横隔膜麻痺	8/10 (80%) 4/4 (100%)

考案

連続撮影法を用いた方法では、常に動的な検討が可能で、呼吸運動を3回の施行の中から実際に観察しながら選択が可能であり、より再現性も評価できると思われる。

また、正常者の胸郭運動・横隔膜運動を観察すると正面像で十分な横隔膜運動が見られるうえに、側面像では胸郭の前後の運動が維持されている。

一般的に横隔膜は呼吸運動では吸位では平坦で呼位では上方に凸の形状を示す。今回の検討では筋強直性ジストロフィーの横隔膜は横隔膜神経麻痺と同じ動きを示した。

横隔膜の形状が最大吸位でも下方に凸にならないので、最大呼位と最大吸位における横隔膜の形状がほぼ同じに示したことは、横隔膜の筋力低下を示すものである。しかし石原らはMyDの横隔膜の剖検でALSやDuchenne dystrophyのそれと比較して横隔膜や呼吸筋が保たれていると報告しているが、病状のレベルや腹筋等の比較検討が必要である。

呼吸運動についてMyD患者が検査の目的を充分理解して上で、努力をしたかどうかの問題になるが、検査前に最大吸位と最大呼位の呼吸運動を行い、血管造影

撮影時も数回の呼吸運動から適した画像を検討に用いた。呼吸運動は努力しているものと判断した。

これは筋強直性ジストロフィーの横隔膜は筋力が低下を示すものと思われる。この原因として横隔膜自体の筋萎縮が強いのか、それとも神経原性によって筋力低下が生じたのかが問題となるが今後のさらなる検討が必要である。呼吸機能の肺活量に関わる横隔膜の関与である。横隔膜は呼気では弛緩し、吸気では活動する。吸気における胸郭の動きでは、まず前胸郭が前方に移動始め、その後に横隔膜が下方に移動しながら活動する。しかし、スパイロやpeak flow curveではおもに呼気の運動に関与したものであり、横隔膜の機能をこれらの検査から直接判定するのは現状では難しいと思われる。

結論

筋強直性ジストロフィー症において横隔膜は病状と関連なく、筋力低下を示す。この原因として、神経性に由来するものか、筋自体の萎縮によるかは現段階では明らかにできない。血管造影装置を用いた呼吸筋の評価は有用である。

文献

- 1) 箭原 修ら：筋緊張性ジストロフィーの呼吸機能と動脈血ガスについて、神経内科、24：287、1986
- 2) 箭原 修ら：筋緊張性ジストロフィー症の呼吸機能、厚生省特定疾患・筋ジストロフィー症(祖父江班)・昭和58年研究報告書、303、1983
- 3) 石原傳幸ら：筋強直性ジストロフィー症の呼吸病理、医療49(増刊号3)：765.
- 4) 橋本和季ら：筋強直性ジストロフィー症の横隔膜誘発電位と呼吸機能について、平成8年度厚生省精神・神経疾患研究委託費による研究報告書、1997、p246
- 5) William A. Whitelaw：Topography of the diaphragm. In the Thrax, ed by Charis Roussors. New York, Marcek Dekker, Inc. 1995, p590

「ヒト線維芽細胞のMyoD遺伝子導入による筋管細胞への分化誘導とジストロフィン蛋白の発現」

石川 幸辰¹、青柳智幸²、石川 悠加¹、南 良二¹
国立療養所八雲病院小児科¹、
研究検査科²

はじめに

Weintraubらにより報告されたMoDをはじめとするMyoD familyであるMyoD、Myf-5、MRF4、myogeninの筋分化における機能が解明されてきた¹⁾²⁾。これらは、bHLH構造を有する転写因子であり、特に、筋発生の初期に作用するMyoDは、非筋細胞である線維芽細胞など中胚葉系多機能細胞に遺伝子導入することにより筋芽細胞へ分化誘導することが可能である³⁾⁴⁾⁵⁾。今回、私共は、市販で入手可能なレトロウイルスベクターを用い、ヒト線維芽細胞から筋芽細胞への分化誘導を試みたので報告する。

I 対象及び方法

ベクターの選択：薬剤耐性遺伝子を含み組み換え細胞の選別が容易であること、薬剤耐性遺伝子と挿入遺伝子が同一プロモーターの支配を受け、薬剤耐性細胞に高率な挿入遺伝子発現を期待できること等の理由からpFB-Neo Retroviral Vector (STRATAGENE)を選別した。

組み換えベクターの作成：ベクターにマウス由来MyoD cDNA (熊本大学医学部発達小児科 藤井 績先生より御恵与)を挿入し、組み換えベクターを作成後、Competent Cell JM109 (Promega)に導入した。発現したコロニーについて挿入遺伝子の方向とベクターのセルフライゲーションのチェックを行ない選択したコロニーをL-ブロス培地で大量培養し、組み換えベクターをアルカリSDS、ポリエチレングリコール法で抽出、精製した。

パッケージング細胞への遺伝子導入：組み換えベクターとポリカチオンであるLipofectAMINE (GIBCOBRL)を混合し複合体を作成し、この複合体を細胞の食作用によりパッケージング細胞ψ2 (同種指向性)に導入し、さらに、一過性に産生されたウイルスをパッケージング細胞PA317 (両種指向性、ATCC)に感染させた。ポリブレン加培養、数日後、薬剤(G418)による選別を行い出現した耐性コロニーを培養した(図1)。ウイルスの産生量については、マウス線維芽細胞に感染させ、G418耐性コロニーの出現頻度(G418 cfu/ml)により評価した。ウイルス力価の高いものを正

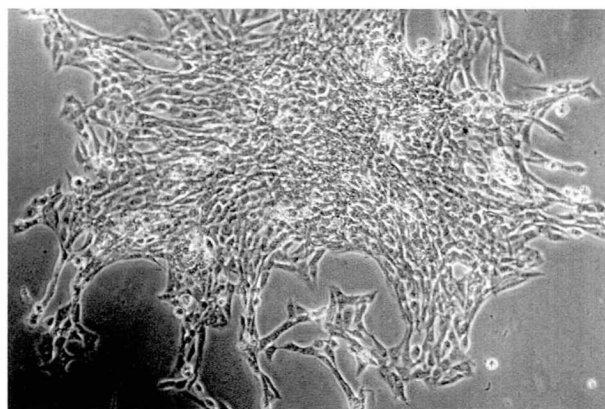


図1. G418 耐性コロニー (PA317細胞)。

常ヒト線維芽細胞に感染させMyoD遺伝子の導入を行った。免疫染色用の細胞は、別に、カバーガラス上で培養し、冷アセトン固定後、C末端を認識するDYS3抗体 (NOVOCASTRA)による間接蛍光抗体法で染色した。

II 結果

組み換え細胞において細胞融合が認められ(図2)、免疫染色によりジストロフィン蛋白の発現が確認できた(図3)。これによりMyoD遺伝子導入による線維芽細胞の筋細胞への形質転換が証明された。今回の組み換えレトロウイルスベクターの組み換え率は7~10%であったが、レトロウイルスの利点である染色体への書き込

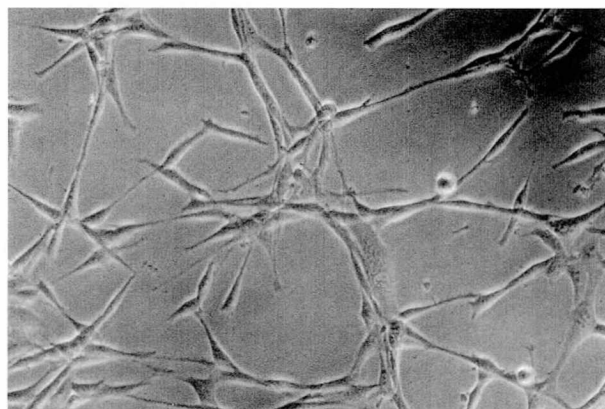


図2. MyoD導入正常ヒト線維芽細胞の筋芽細胞への形質転換。



図3. MyoD導入正常ヒト線維芽細胞から分化した筋芽細胞におけるジストロフィン蛋白の発現。

みのため、薬剤選別により組み換え細胞のみを大量に培養し入手することが可能となった。

III 考案

レトロウイルスの宿主細胞における染色体への書き込みは宿主の細胞分裂時に発生する。分裂速度の速い cell line ではウイルス感染後2~3日で薬剤選別を行い良好な結果が得られたが正常細胞は同様ではなかった。今回用いた正常ヒト線維芽細胞においてダブリングタイムが約4日であったため、3度の細胞分裂に要すると予想される日数(12日後)に薬剤選別時期を設定し良好な結果を得た。

これらの手法により、筋生検が入手又は施行不能な年長症例に対して、RNAを分析の出発材料にする遺伝子解析を可能にするほか、抽出蛋白の生化学的分析も可能なため、遺伝子変異の不明なDMD症例での直接的な出生前診断にも応用可能であると思われる。今後の課題としては、遺伝子導入効率を高め(~10%)、ハーベストまでの時間(4-6週)を短縮するためには、アデノウイルスベクターの選択も必要と思われる

文 献

- 1) Weintraub H. : The MyoD family and myogenesis: redundancy, networks, and thresholds. *Cell* 1993;75 ,1241-4.
- 2) 村上信行、埜中征哉 : 骨格筋の壊死と再生. 杉田秀夫、編. 別冊・医学のあゆみ—臨床から分子遺伝学まで. 東京 : 医歯薬出版, 1997:8-12.
- 3) Weintraub H, Tapscott SJ, Davis RL, et al. : Activation of muscle-specific genes in pigments, nerve, fat, liver, and fibroblast cell lines by forced expression of MyoD. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989; 86 , 5434-8.
- 4) Sancho S, Mongini T, Tanji K, et al. : Analysis of dystrophin expression after activation of myogenesis in amniocytes, chorionic-villus cells, and fibroblasts. A new method for diagnosing Duchenne's muscular dystrophy. *Engl J Med* 1993; 329 , 915-20.
- 5) Roest PAM, Van der Tuijn AC, Ginjaar HB, et al. : Application of in vitro myo-differentiation of non-muscle cells to enhance gene expression and facilitate analysis of muscle proteins. *Neuromusc Disord* 1996; 6 , 195-202.
- 6) Roest PAM, Bakker E, Fallaux FJ, : Verellen-Dumoulin C, Murry CE, den Dunnen JT. New possibilities for prenatal diagnosis of muscular dystrophies: forced myogenesis with an adenoviral MyoD-vector. *Lancet* 1999; 353 : 727-8.

Progression in a Case of Kearns-Sayre Syndrome

ABSTRACT

The quantitative relationship between deleted mitochondrial DNA and the clinical course of patients with Kearns-Sayre syndrome is poorly understood. We investigated this point using tissue samples obtained at age 10 years when the patient was diagnosed as Kearns-Sayre syndrome and at age 20 years when he died of disseminated intravascular coagulation. By long polymerase chain reaction, a shortened mitochondrial genome (8.8 kb; normal, 16.6 kb) was detected in the patient. By quantitative competitive polymerase chain reaction, the percentage of deletion-carrying mitochondrial DNA was not increased as expected and did not differ significantly by tissue type or sampling time or correlate with clinical course. Although we could not demonstrate that the amounts of wild-type mitochondrial DNA decreased with accelerating progression, it was emphasized that such a reduction of mitochondrial DNA in various tissues, including those of the central nervous system, could play a significant pathogenetic role, since only wild-type mitochondrial DNA is functional in patients with large-scale deletions of mitochondrial DNA. (*J Child Neurol* 2000;15:750-755).

Kearns-Sayre syndrome is a multisystemic neurodegenerative disorder of childhood with chronic progressive external ophthalmoplegia, pigmentary retinal degeneration, complete heart block, elevated cerebrospinal fluid protein, and cerebellar dysfunction.^{1,2} A single large deletion of mitochondrial DNA has been identified in Kearns-Sayre syndrome; Zeviani et al identified mitochondrial DNA deletions in muscle biopsy specimens from all of seven patients with Kearns-Sayre syndrome they studied,³ and Moraes et al described mitochondrial DNA deletions in 15 of 18 patients with Kearns-Sayre syndrome.⁴ These authors found no significant correlations among size or site of the deletion, biochemical abnormality involving mitochondrial enzymes, and clinical severity. Shanske et al⁵ have demonstrated by Southern blot analysis in an autopsy case that the percentage of mitochondrial DNA showing the deletion varied widely among tissues, from 4% in smooth muscle to about 50% in skeletal muscle.

However, some reports suggest that qualitative or quantitative abnormality could be related to disease severity.⁶ Poulton et al have found a tandem direct duplication of mitochondrial DNA to be a hallmark of Kearns-Sayre syndrome, particularly early-onset cases.^{7,8} Few reports have focused on correlations between percentage of mitochondrial DNA with rearrangements and the severity or progression of Kearns-Sayre syndrome.^{6,9} In this study, we correlated the percentages of deleted mitochondrial DNA in serially obtained tissue samples with clinical course in a Japanese patient with severe Kearns-Sayre syndrome.

Materials and Methods

Case Report. A 10-year-old Japanese boy was admitted to Hokkaido University Hospital with muscle weakness, ptosis, mental retardation, and hearing loss. Clinical features of this boy have been described in detail by Goto et al¹⁰; in a muscle biopsy specimen, histologic and molecular findings

established a diagnosis of Kearns-Sayre syndrome. A large 8.8-kilobase (kb) mitochondrial DNA deletion was identified in muscle and renal biopsy specimens by Southern blot analysis. Densitometry showed normal-length and deleted mitochondrial DNA to be 30% and 70% of the total, respectively. At age 15 years, truncal ataxia became apparent as a gait disturbance. At age 16 years, the patient entered the National Yakumo Hospital and an affiliated special school. A trial of thyroïd-releasing hormone injections for truncal ataxia showed only a transient effect. At age 17 years, muscle weakness and dysphagia gradually began to worsen. Cardiacrome,¹¹ a preparation containing cytochrome c, flavin mononucleotide, and thiamine diphosphate, was administered intravenously. At 18.5 years, ambulation was lost. Finally, consciousness was lost (Japan Coma Scale rating, 200 to 300). The cerebrospinal fluid concentration of protein was 129 mg/dL (normal, 8 to 32 mg/dL); lactate, 25.2 mg/dL (normal, 11 to 16 mg/dL); and pyruvate, 1.57 mg/dL (normal, 0.7 to 1.2 mg/dL). Essentially similar values had been observed at age 10 years. Computed tomography showed bilateral, symmetric areas of low density in the thalamus and putamen, as had been noted previously. Aspiration pneumonia was followed by adult respiratory distress syndrome. After long-term intubation, tracheostomy was performed. Second-degree atrioventricular block developed. At 19.5 years, complete atrioventricular block had ensued and was uncontrollable by atropine sulfate or continuous β -agonist infusion. When a pacemaker was implanted, the pectoralis major muscle was biopsied. Magnetic resonance imaging (MRI) at 19.6 years showed progression of diffuse cerebral atrophy, especially in the frontal lobe (Figure 1A). Fluid-attenuated inversion-recovery MRI demonstrated prolongation in the periventricular region and frontal white matter on T₂-weighted images (Figure 1B). At age 20 years, severe diarrhea was followed by acute renal failure. After antibiotics were started to treat a right lung abscess, the patient died of disseminated intravascular coagulation. While a complete autopsy was not permitted, we were authorized to obtain specimens from the pectoralis major muscle and cerebrospinal fluid.

Long Polymerase Chain Reaction of Mitochondrial DNA. Total DNA was isolated from muscle biopsy specimens taken at ages 10 and 19 years, and from the postmortem muscle and cerebrospinal fluid specimens taken at age 20, as well as peripheral blood leukocytes (taken at age 20). Two sets of primers (MT1, 2) with sequences according to De Coo et al¹² were employed for long polymerase chain reaction (PCR), which accurately amplified the complete intact mitochondrial genome (16.6 kb, Figure 2). Briefly, 500 ng of total DNA were amplified according to the manufacturer's protocol using a TaKaRa LA PCR kit (version 2; TaKaRa Biomedicals, Tokyo, Japan). Samples were incubated at 94°C for 1 minute. Thirty cycles of shuttle PCR (at 98°C for 20 seconds and at 68°C for 15 minutes) were performed and then followed by incubation at 72°C for 10 minutes. Amplification was performed using an ASTEC PC-700 thermal cycler (Sci-Media, Tokyo). PCR products were separated on a 0.8% agarose gel containing ethidium bromide.

Quantitative Competitive Polymerase Chain Reaction of Mitochondrial DNA. The patient had a large deletion of 8730 base pairs (bp) between nucleotides 6904 and 15633 according to the Cambridge numbering sequence¹³ (Figure 2); this was distinct from a common mitochondrial DNA deletion with a direct repeat (Goto et al, personal communication, 1998). The forward primer KSS1F (5'-GAATAGACGTAGACACACGAGCA-3', nucleotides 6790 to 6812) and reverse primers KSS2R (5'-GCTAATAACAATGCCAGTCAGGC-3', nucleotides 6979 to 6958) and KSS4R (5'-AAAGTGATTGGCTTAGTGGGC-3', nucleotides 15719 to 15699) were newly designed to identify wild-type and deletion-carrying mitochondrial DNA, respectively. The forward primer KSS1F was 5' end-labeled with a fluorescent marker (fluorescein-iso-thiocyanate). Primer pair KSS1F/2R amplifies wild-type mitochondrial DNA containing the 5' end of a break-point junction, while primer pair KSS1F/4R amplifies mitochondrial DNA harboring a break-point junction in the deleted region (Figure 3A). Using a mixture of three primers, wild-type and deletion-carrying mitochondrial DNA were amplified simultaneously by conventional PCR. To obtain optimal conditions for quantitative PCR, each PCR product derived from wild-type and deletion-carrying mitochondrial DNA was purified using Genepure (Nippon Gene, Tokyo), subcloned using a TA cloning kit (pGEM-T Vector Systems; Promega, Madison, WI), and quantified. Of each product, 0.5 ng was amplified for several cycles to determine optimal conditions. Reaction mix volumes were



Figure 1. Axial magnetic resonance images at 19.6 years in a patient with Kearns-Sayre syndrome. A, T₂-weighted image showing diffuse cerebral atrophy with frontal accentuation that was noted to be progressive. B, On T₂-weighted fluid-attenuated inversion-recovery sequence, prolongation was evident in periventricular region and frontal white matter.

50 μ L containing 1.5 mM of each dNTP, 0.5 μ M of each primer, 67 mM Tris-HCl (pH 8.8), 6.7 mM MgCl₂, 16.7 mM (NH₄)₂SO₄, 5 units of Taq DNA polymerase (Boehringer Mannheim, Germany), and 500 ng of total genomic DNA. The samples were amplified for 18 cycles of denaturation at 94°C, annealing at 53°C, and extension at 65°C (Figure 3B). One microliter of 100-bp fluorescently labeled internal marker (5 fmol/ μ L, Sizer 100, Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) was added to 4- μ L aliquots of PCR product. Five microliters of fluorescently labeled PCR products were electrophoresed by an ALF

II DNA Sequencer (Pharmacia Biotech). Relative proportion of wild-type and deleted mitochondrial DNA were estimated by Fragment Manager software (version 1.0, Pharmacia Biotech).

To identify duplications in mitochondrial DNA, primer pair KSS1F/2R was employed in long PCR. If duplications were present in mitochondrial DNA, a 190-bp band of PCR product seen in wild-type mitochondrial DNA and the 8.0-kb insertion fragment would be observed simultaneously (Figure 4).

Results

Long Polymerase Chain Reaction of Mitochondrial DNA. Primer pair MT1F/1R amplified the complete intact mitochondrial genome (16.6 kb) in normal subjects (Figure 5A; lanes 1 and 2) and a band of reduced size (8.8 kb) in the patient with Kearns-Sayre syndrome. Although a trace band of intact mitochondrial DNA was observed in lane 5, the PCR products of the patient were predominantly derived from mitochondrial DNA with the deletion. Using the primer pair MT2F/2R, which was positioned in the region of deletion, intact mitochondrial DNA was amplified only from the patient's mitochondrial DNA (Figure 5B), meaning that the patient had heteroplasmy (two populations of mitochondrial DNA). Long PCR is diagnostic for identification of mitochondrial DNA deletion in Kearns-Sayre syndrome, but quantitative coamplification of wild-type and deletion-carrying mitochondrial DNA is difficult because of a difference in efficiency of PCR amplification. To solve this problem, we performed quantitative competitive PCR.

Quantitative Competitive Polymerase Chain Reaction of Mitochondrial DNA. Wild-type and deleted mitochondrial DNA were identified readily by PCR amplification using primer sets KSS1F/2R and 4R (190 and 200 bp, respectively; Figure 3A). Quantitative PCR was performed in 18 cycles (Figure 3B). Under these

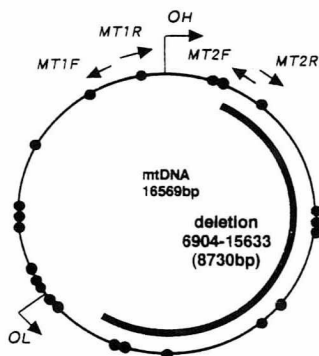


Figure 2. Deletion in patient studied over time by long polymerase chain reaction (PCR). Schematic presentation of mitochondrial genome and deleted region in patient with Kearns-Sayre syndrome. Primer set MT1F (5'-CAAGGTGTAGCCCATGAGGTGGCAAG-3', nucleotides 1330 to 1355) and MT1R (5'-GCTGCATTGCTGCGTGCTTGATGCTT-3', nucleotides 778 to 753) was located in 12S ribosomal RNA gene; primer set MT2F (5'-TGAGGCCAAATATCATTCTGAGGGGC-3', nucleotides 15149 to 15174) and MT2R (5'-TTTCATCATGCGGAGATGTTGGATGG-3', nucleotides 14841 to 14816) was located in cytochrome *b* gene, which was situated in deleted region of patient. OH and OL indicate the origins of replication of the heavy strand and the light strand, respectively. Closed circles indicate transfer RNAs.

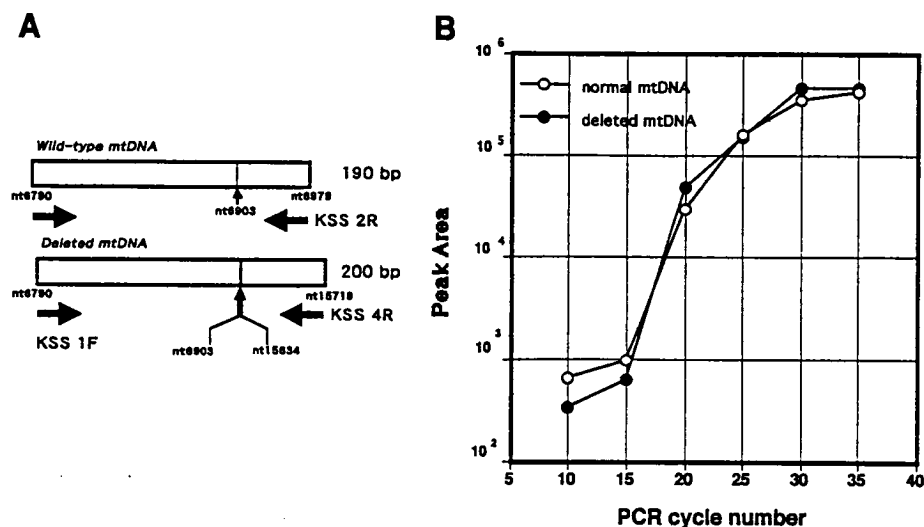


Figure 3. Quantitative competitive polymerase chain reaction (PCR) of mitochondrial DNA. *A*, Schematic representation of simultaneous PCR amplification of wild-type and deletion-carrying mitochondrial DNA. Primer pair KSS1F/2R amplifies 190 bp of wild-type mitochondrial DNA containing 5' end of break-point junction; primer pair KSS1F/4R amplifies 200 bp of deleted mitochondrial DNA harboring break-point junction in deleted region. *B*, Each 0.5 ng of subcloned fragments derived from PCR products of wild-type and deleted mitochondrial DNA was amplified at various PCR cycle numbers to obtain optimal conditions for quantitative PCR.

conditions, the percentage of mitochondrial DNA with the deletion was estimated in mitochondrial DNA derived from biopsy and necropsy specimens. Skeletal muscle (sampled at age 10 years), leukocytes (age 20 years), and cerebrospinal fluid sediments (age 20) had 60% to 65% of mitochondrial DNA showing the deletion without a significant difference between time points or clinical course, even though these are different tissues. In fact, a somewhat lower proportion (39% and 49%) of mitochondrial DNA with the deletion was seen in muscle samples (at ages 19 and 20 years) than in muscle sampled earlier (Figure 6, Table 1).

Detection of Duplications by Long Polymerase Chain Reaction. Using two sets of primers (MT1, 2) described by De Coo et al,¹² we could not amplify the expected duplicated mitochondrial DNA (25.5 kb). When we employed the region-specific primer set to avoid amplification of the deleted region, a 190-bp band of PCR product seen in wild-type mitochondrial DNA and the 8.0-kb insertion fragment were observed simultaneously only in the patient's leukocytes at age 20 years; this amplification was performed using primer pair KSS1F/2R by long PCR (Figure 7). Mitochondrial DNA duplications were not present in the patient's muscles, only in his leukocytes.

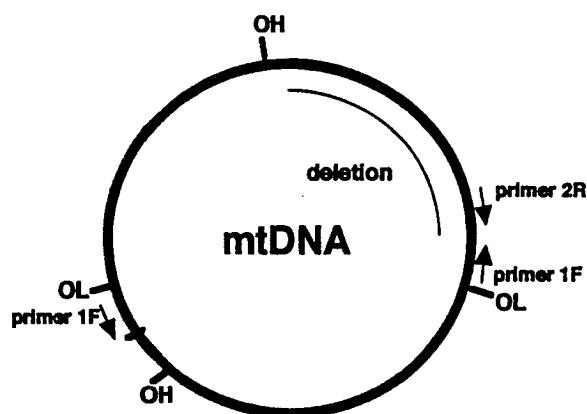


Figure 4. Detection of duplicated mitochondrial DNA by long polymerase chain reaction using region-specific primer pair KSS1F/2R.

Discussion

Neurologic abnormalities in this patient with Kearns-Sayre syndrome progressed in parallel with increasing abnormalities seen on MRI^{14,15} (Figure 1A and B). Although in early reports the clinical severity of the mitochondrial encephalomyopathy in patients with mitochondrial DNA deletions did not correlate with size, site, mitochondrial enzyme activity, or proportion of deleted mitochondrial DNA,^{3,4} the question of whether the clinical course observed correlates with the percentage of deleted mitochondrial DNA remains of interest. Few reports have noted a correlation between the percentage of mitochondrial DNA with rearrangements and the severity or progression of Kearns-Sayre syndrome.^{6,9} In our patient, no significant difference or correlation was seen between the course and the proportion of deleted mitochondrial DNA (Table 1). Since all seven patients with Kearns-Sayre syndrome whom they studied had a proportion of mitochondrial DNA deletion exceeding 45%, Zeviani et al have suggested that phenotypic expression of Kearns-Sayre syndrome requires deletion of a minimal threshold amount of mitochondrial DNA.³ Hayashi et al¹⁶ also have demonstrated that when mitochondrial DNA from a patient with chronic progressive external ophthalmoplegia was introduced into clonal HeLa cells lacking mitochondrial DNA and deletion-carrying mitochondrial DNA exceeded 60% of total mitochondrial DNA, overall mitochondrial translation progressively decreased and cytochrome *c* oxidase activity was reduced. These results indicated that large-scale deletions of mitochondrial DNA produced mitochondrial dysfunction. However, we could not recognize a significant increase of mitochondrial DNA deletion in proportion with time despite rapid clinical progression. Other factors appear to be responsible for progression in our case. Moraes et al¹⁷ demonstrated that most cytochrome *c* oxidase-deficient fibers in muscle from a patient with chronic progressive external ophthalmoplegia had increased levels of deletion-carrying mitochondrial DNA and also a reduced absolute amount of wild-type mitochondrial DNA as indicated by in-situ hybridization and single-fiber PCR. Therefore, rapid clinical progression in our patient might have been caused by a reduction of wild-type and deleted mitochondrial DNA and followed by disrupting mitochondrial protein synthesis, although we could not demonstrate that the amounts of wild-type

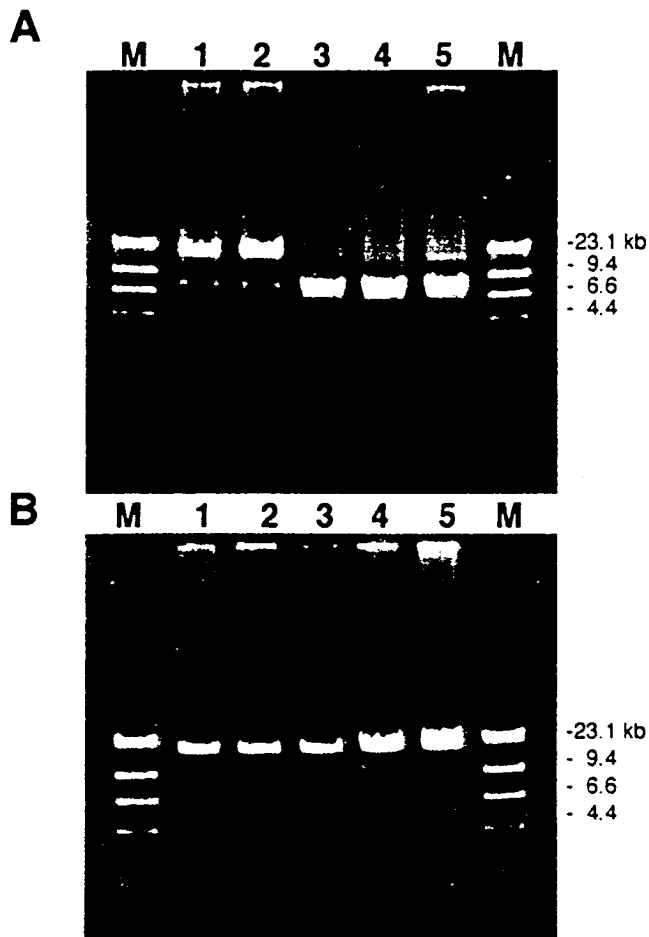


Figure 5. A, Long PCR of mitochondrial DNA demonstrating deletion in patient with Kearns-Sayre syndrome. Primer pair MT1F/1R amplified complete intact mitochondrial genome (16.6 kb) in normal subjects (lanes 1 and 2) and a band of reduced size (8.8 kb) in the patient. B, When primer pair MT2F/2R, positioned in region of deletion, was used, only intact mitochondrial DNA was amplified in patient's mitochondrial DNA. M = molecular weight markers (phage X174 *Hind III* digested); lanes 1 and 2 = leukocytes derived from normal subjects; lane 3 = patient's pectoralis major muscle (age 19); lane 4 = patient's pectoralis major muscle (age 20); lane 5 = patient's leukocytes (age 20).

and deleted mitochondrial DNA decreased with accelerating progression. The reduction of wild-type mitochondrial DNA is especially meaningful since only wild-type mitochondrial DNA is functional in such patients. Progression in our case is responsible for rapid involvement of the central nervous system. The analysis of autopsied brain tissue might have clarified the pathogenicity of the deteriorating clinical course in our case; unfortunately, we could not perform an autopsy of our patient. In analysis of cerebrospinal fluid sediments, the same levels of deleted mitochondrial

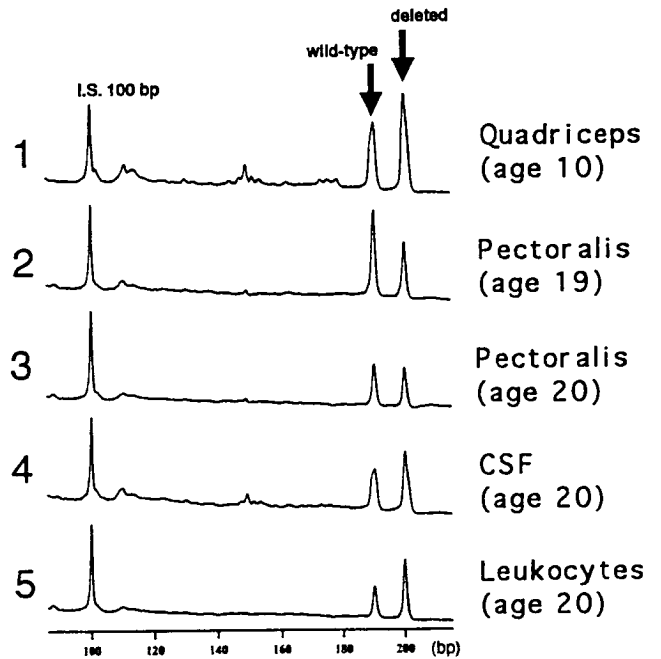


Figure 6. Fluorescently labeled PCR products containing 1 μ L of 5 fmol/ μ L internal marker as reference were electrophoresed by ALF II DNA Sequencer. Relative proportion of wild-type and deleted mitochondrial DNA was estimated by Fragment Manager software. IS = internal marker (100 bp); lane 1 = patient's quadriceps muscle biopsy specimen (age 10); lane 2 = patient's pectoralis major muscle (age 19); lane 3 = patient's pectoralis major muscle (age 20); lane 4 = patient's cerebrospinal fluid sediments (age 20); lane 5 = patient's leukocytes (age 20).

DNA as in muscle obtained earlier was also observed. This finding leads to speculation that the same process might occur in a patient's brain tissue.

The mechanism in our case differs from that in cases involving a point mutation of mitochondrial DNA; Holt et al¹⁸ first described patients with a variable combination of developmental delay, retinitis pigmentosa, dementia, seizures, ataxia, neurogenic muscle weakness, and sensory neuropathy as having a heteroplasmic point mutation of mitochondrial DNA (T→G transversion at base pair 8993 in the adenosine triphosphatase [ATPase] subunit 6 gene), finding some correlation between clinical severity and the amount of mutant mitochondrial DNA in patients. Similarly, Tatuch et al have confirmed that a high copy number of mutant mitochondrial DNA caused Leigh syndrome, while lower copy numbers were associated with asymptomatic or milder forms.^{19,20} Such a correlation between disease severity and the percentage of mutant mitochondrial DNA would not apply to patients with Kearns-Sayre syndrome with mitochondrial DNA deletions because

Table 1. Characteristics of Deleted and Rearranged Mitochondrial DNA Derived From Sequential Tissue Samples

Tissue	Age, years	% of Mitochondrial DNA Showing Deletion	Duplication of Mitochondrial DNA
Quadriceps femoris	10	61	None detected
Pectoralis major	19.5	39	None detected
Pectoralis major	20	49	None detected
Cerebrospinal fluid sediments	20	60	None detected
Peripheral leukocytes	20	65	Detectable by long polymerase chain reaction



Figure 7. Mitochondrial DNA duplications were present only in patient's leukocytes. M = molecular weight markers (phage X174 *Hind III* digested); lanes 1 and 5 = leukocytes derived from normal subjects; lane 2 = patient's quadriceps muscle biopsy specimen (age 10); lane 3 = patient's pectoralis major muscle (age 19); lane 4 = patient's leukocytes (age 20).

mitochondrial DNA with large-scale deletions can lack templates for many transfer RNAs.

The extent of deletion in our case was 8730 bp with a breakpoint between nucleotides 6903 and 15634. Although mechanisms involving slipped replication or legitimate recombination via direct repeats have been suggested as the major cause of human mitochondrial DNA deletions,²¹ the deleted region in our patient was not flanked by direct repeats and was not similar to the target sequence for the topoisomerase II site.^{22,23} The deletion included cytochrome *c* oxidases I, II, and III of complex IV; ATPases 6 and 8 of complex V; reduced nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenases 3 to 6 of complex I; 9 of 22 transfer RNAs, as well as cytochrome *b* genes. Mitochondrial DNA with this deletion could not maintain effective mitochondrial protein synthesis. Recently, Wang et al²⁴ disrupted the gene encoding mitochondrial transcription factor A, which regulated transcription and replication of mitochondrial DNA, in mouse heart and muscle. Mutant mice showed dilated cardiomyopathy and atrioventricular heart conduction blocks as seen in Kearns-Sayre syndrome. Furthermore, homozygous knockout embryos exhibit a severe mitochondrial DNA depletion with abolished oxidative phosphorylation.²⁵ As mitochondrial transcription factor A binds upstream of the light- and heavy-strand promoters of mitochondrial DNA, large-scale mitochondrial DNA deletions in our case might have influenced mitochondrial DNA transcription and replication. Accordingly, reduction in the amounts of wild-type mitochondrial DNA might be a significant pathogenetic factor influencing clinical severity or progression in patients.

Poulton et al recently described two patients with Kearns-Sayre syndrome and diabetes mellitus with tandem direct duplications

of mitochondrial DNA demonstrated in blood cells by Southern blot analysis.^{26,27} These rearrangements were easily detectable in both blood cells and muscle using PCR to amplify a DNA segment spanning the abnormal junction between duplicated portions. These authors also demonstrated at least three distinct types of rearrangement in mitochondrial DNA: duplication, deletion monomer, and deletion dimer. From findings in 18 patients with Kearns-Sayre syndrome or chronic progressive external ophthalmoplegia, all patients with Kearns-Sayre syndrome had mitochondrial DNA duplication and deletion dimers.⁷ Finally, these investigators concluded that duplication of mitochondrial DNA could represent transient recombination intermediates in some tissues, and this could be a hallmark of Kearns-Sayre syndrome.^{8,28} Amplification of duplicated mitochondrial DNA using long PCR has been reported by Fromenty et al²⁹ and when we used this method with a region-specific primer to avoid amplifying the deleted region, we could amplify the duplication as an 8.0-kb insertion fragment present only in the patient's blood cells. Examining tissue distribution of mitochondrial DNA duplication. Fromenty et al demonstrated particularly high proportions of duplication in the heart.²⁹ The pathogenicity or clinical significance of this duplication is still unknown, although specific identification of duplications by long PCR might help elucidate their suspected role as intermediates in the formation of deletions.⁷ Unfortunately, insufficient material was available from our patient to analyze tissue distribution of mitochondrial DNA duplication. The large-scale mitochondrial DNA deletion in our patient included the gene for cytochrome *c* oxidase subunit I as well as other protein-coding genes and many transfer RNA templates. The cytochrome *c* oxidase subunit I gene also was interrupted in the patients described by Poulton et al.^{26,27} This region could be important for mitochondrial DNA replication, and disruption of this region might induce intermediate molecules, such as duplication and deletion dimers. In our system, the other molecules, such as deletion dimers or duplication dimers, etc., were not detectable, which were possible to increase in mitochondrial DNA molecules of various tissues instead of a reduction in wild-type and deleted mitochondrial DNA. Further explanations of mechanism involving mitochondrial DNA rearrangements will provide new insights.

Yukitoshi Ishikawa, MD, PhD
*Neuromuscular Clinic Division
 and Department of Pediatrics
 National Yakumo Hospital*
 Yu-ichi Goto, MD, PhD
*Department of Mental Retardation
 and Birth Defect Research
 National Institute of Neuroscience
 National Center of Neurology and Psychiatry
 Kodaira, Tokyo*
 Yuka Ishikawa, MD
 Ryoji Minami, MD
*Neuromuscular Clinic Division
 and Department of Pediatrics
 National Yakumo Hospital
 Yakumo, Hokkaido, Japan*

Received August 31, 1999. Accepted for publication Sept 13, 1999.

Address correspondence to Dr Yukitoshi Ishikawa, Neuromuscular Clinic Division and Department of Pediatrics, National Yakumo Hospital, Yakumo-cho, Miyazono-cho 128, Hokkaido 049-3198, Japan. Tel: 81-01376-3-2126; fax: 81-01376-4-2715; e-mail: y-ishi@host.or.jp.

Acknowledgments

This work was supported by grants from the National Center of Neurology and Psychiatry of the Japanese Ministry of Health and Welfare.

References

1. Kearns TP, Sayre GP: Retinitis pigmentosa, external ophthalmoplegia, and complete heart block: Unusual syndrome with histologic study in one of two cases. *Arch Ophthalmol* 1958;60:280-289.
2. Goto Y, Koga Y, Horai S, Nonaka I: Chronic progressive external ophthalmoplegia: A correlative study of mitochondrial DNA deletions and their phenotypic expression in muscle biopsies. *J Neurol Sci* 1990;100:63-69.
3. Zeviani M, Moraes CT, DiMauro S, et al: Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology* 1988;38:1339-1346.
4. Moraes CT, DiMauro S, Zeviani M, et al: Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. *N Engl J Med* 1989;320:1293-1299.
5. Shanske S, Moraes Ct, Lombes A, et al: Widespread tissue distribution of mitochondrial DNA deletions in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology* 1990;40:24-28.
6. Larsson NG, Holme E, Kristiansson B, et al: Progressive increase of the mutated mitochondrial DNA fraction in Kearns-Sayre syndrome. *Pediatr Res* 1990;28:131-136.
7. Poulton J, Deadman ME, Bindoff L, et al: Families of mtDNA rearrangements can be detected in patients with mtDNA deletions: Duplications may be a transient intermediate form. *Hum Mol Genet* 1993;2:23-30.
8. Poulton J, Morten KJ, Weber K, et al: Are duplications of mitochondrial DNA characteristic of Kearns-Sayre syndrome? *Hum Mol Genet* 1994;3:947-951.
9. Mohri I, Taniike M, Fujimura H, et al: A case of Kearns-Sayre syndrome showing a constant proportion of deleted mitochondrial DNA in blood cells during 6 years of follow-up. *J Neurol Sci* 1998;158:106-109.
10. Goto Y-I, Itami N, Kajii N, et al: Renal tubular involvement mimicking Bartter syndrome in a patient with Kearns-Sayre syndrome. *J Pediatr* 1990;116:904-910.
11. Nakagawa E, Osari S, Yamanouchi H, et al: Long-term therapy with cytochrome c, flavin mononucleotide and thiamine diphosphate for a patient with Kearns-Sayre syndrome. *Brain Dev* 1996;18:68-70.
12. De Coo IF, Gussinklo T, Arts PJ, et al: A PCR test for progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome on DNA from blood samples. *J Neurol Sci* 1997;149:37-40.
13. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al: Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981;290:457-465.
14. Crisi G, Ferrari G, Merelli E, Cocconcelli P: MRI in a case of Kearns-Sayre syndrome confirmed by molecular analysis. *Neuroradiology* 1994; 36:37-38.
15. Kapeller P, Fazekas F, Offenbacher H, et al: Magnetic resonance imaging and spectroscopy of progressive cerebral involvement in Kearns Sayre syndrome. *J Neurol Sci* 1996;135:126-130.
16. Hayashi J-I, Ohta S, Kikuchi A, et al: Introduction of disease-related mitochondrial DNA deletions into HeLa cells lacking mitochondrial DNA results in mitochondrial dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:10614-10618.
17. Moraes CT, Sciacco M, Ricci E, et al: Phenotype-genotype correlations in skeletal muscle of patients with mtDNA deletions. *Muscle Nerve* 1995; Suppl 3:S150-S153.
18. Holt IJ, Harding AE, Petty RK, Morgan-Hughes JA: A new mitochondrial disease associated with mitochondrial DNA heteroplasmy. *Am J Hum Genet* 1990;46:428-433.
19. Tatuch Y, Christodoulou J, Feigenbaum A, et al: Heteroplasmic mtDNA mutation (T-G) at 8993 can cause Leigh disease when the percentage of abnormal mtDNA is high. *Am J Hum Genet* 1992;50:852-858.
20. Tatuch Y, Pagon RA, Vitek B, et al: The 8993 mtDNA mutation: Heteroplasmy and clinical presentation in three families. *Eur J Hum Genet* 1994;2:35-43.
21. Mita S, Rizzuto R, Moraes CT, et al: Recombination via flanking direct repeats is a major cause of large-scale deletions of human mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Res* 1990;18:561-567.
22. Schon EA, Rizzuto R, Moraes Ct, et al: A direct repeat is a hotspot for large-scale deletion of human mitochondrial DNA. *Science* 1989;244: 346-349.
23. Blok RB, Thorburn DR, Thompson GN, Dahl HH: A topoisomerase II cleavage site is associated with a novel mitochondrial DNA deletion. *Hum Genet* 1995;95:75-81.
24. Wang J, Wilhelmsson H, Graff C, et al: Dilated cardiomyopathy and atrioventricular conduction blocks induced by heart-specific inactivation of mitochondrial DNA gene expression. *Nat Genet* 1999;21:133-137.
25. Larsson NG, Wang J, Wilhelmsson H, et al: Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat Genet* 1999;18:231-236.
26. Poulton J, Deadman ME, Gardiner RM: Duplications of mitochondrial DNA in mitochondrial myopathy. *Lancet* 1989;1:236-240.
27. Poulton J, Deadman ME, Gardiner RM: Tandem direct duplications of mitochondrial DNA in mitochondrial myopathy: Analysis of nucleotide sequence and tissue distribution. *Nucleic Acids Res* 1989;17: 10223-10229.
28. Poulton J, Morten KJ, Marchington D, et al: Duplications of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Muscle Nerve* 1995;Suppl 3:S154-S158.
29. Fromenty B, Carrozzo R, Shanske S, Schon EA: High proportions of mtDNA duplications in patients with Kearns-Sayre syndrome occur in the heart. *Am J Med Genet* 1997;71:443-452.

第42回日本小児神経学会総会 脊髄性筋萎縮症(SMA)の基本と臨床

西尾 久英¹

¹ 神戸大学医学部公衆衛生学

石川 幸辰²

² 国立療養所八雲病院小児科

I ワークショップの目的

脊髄性筋萎縮症(SMA)は、小児科医がよく遭遇する神経筋疾患の1つであり、乳児健診でフロッピーインファントを見ればSMAの最重症型であるWerdnig-Hoffmann病を疑う必要がある。以前からSMAは脊髄前角細胞の変性に基づく神経原性筋疾患であり、常染色体劣性遺伝形式をとることは知られていたが、疾患の本態が何であるかについては不明であった。しかし、1995年にSMAの責任遺伝子候補としてsurvival motor neuron(SMN)遺伝子とneuronal apoptosis inhibitory protein(NAIP)遺伝子がクローニングされて以来、SMAの基礎的・臨床的研究は急速に進み、疾患の本態の解明も間近に迫った。またSMAなどの神経疾患における呼吸管理の最近の進歩は目を見張るものがある。今回のワークショップは、現時点におけるSMAの基本情報(基礎的・臨床的研究の両方面を含む)を提供することを目的として企画されたものである。

II 講演発表要旨

本稿では、抄録原稿もしくは学会終了後にいただいた発表要旨原稿をそのままの形で掲載した。

見出し語 脊髄性筋萎縮症、SMN遺伝子、遺伝子解析、遺伝子治療、遺伝相談

1. SMN遺伝子について

本症は脊髄運動ニューロンの変性脱落を特徴とする遺伝疾患である。1995年、ポジショナルクローニングにより染色体5q13上の疾患遺伝子座がクローニングされ、その後の解析によりsmnがSMAの疾患原因遺伝子として確立された。SMN蛋白の機能として、スプライシングに関わるなど幾つかのモデルが提唱されているが、我々はSMAの発症を説明できるSMNの機能としてBcl-2への結合を通じたアポトーシス抑制機能の増強を提唱してきた。Bcl-2-SMNモデルは、SMAの病態である神経変性を良く説明できること、およびSMAにおいて神経脱落が運動神経に局限するという現象をBcl-2の発現と機能により説明できることなどから、有力な

モデルと考えられる。本学会では、SMNとBcl-2の相互作用に必須の領域の同定(各々エクソン6とBH4ドメインの一部とその近傍)とSMN機能の分子レベルでの記載に役立つBcl-2の抗アポトーシス機能の解析結果を報告した。特にBcl-2はミトコンドリアで機能しアポトーシス促進因子シトクロムcの漏出をそのチャネルVDACを閉孔することにより抑制していることを示した。(辻本賀英 大阪大学大学院医科系研究科バイオメディカル研究センター)

2. Molecular basis of spinal muscular atrophy in Chinese and an SMA mouse model

The survival motor neuron (SMN) gene is present in humans in a telomeric copy, SMN1, and several centromeric copies, SMN2. Homozygous mutation of SMN1 is associated with proximal spinal muscular atrophy (SMA). We analyze the deletions of SMN1 in 101 patients from 86 Chinese SMA families. Deletions of exons 7 and 8 of the SMN1 were detected in 100%, 78.6%, 96.6% and 16.7% in type I, II, III, and adult-onset SMA patients, respectively.

To understand the functional role of SMN1 in SMA, we produced mouse lines deficient for mouse Smn and transgenic mouse lines that expressed human SMN2. Smn^{-/-} mice died during the peri-implantation stage. In contrast, transgenic mice harbouring SMN2 in the Smn^{-/-} background showed pathological changes in the spinal cord and skeletal muscles similar to those of SMA patients. The severity of the pathological changes in these mice correlated with the amount of SMN protein that contained the region encoded by exon 7. Our results demonstrate that SMN2 can partially compensate for lack of SMN1. The variable phenotypes of Smn^{-/-} SMN2 mice reflect those seen in SMA patients, providing a mouse model for this disease.

(Yuh-Jyh Jong, Kaohsiung Medical University)

3. SMAの臨床分子遺伝学

最近、SMA患者を診断する一助として、SMN1遺伝子の欠失が用いられるようになってきた。保因者診断については、SMN1遺伝子のコピー数、CAリピート多型の解析によって診断した報告が出されている。出生前診断についても、SMN1遺伝子の欠失診断とSMN遺伝子領域のCAリピート多型の解析を組み合わせて実施されるようになった。CAリピート多型の解析によって母体組織の混入のチェック、胎児染色体の検索が可能になるため、SMN1遺伝子欠失の有無の判断を補完することが可能になる。

4. I型SMAの遺伝子解析：genotype-phenotype relationship

SMAの重症度を規定する因子として、遺伝子欠失のサイズとSMN2のコピー数等が報告されている。しかし、これだけでは説明出来ない例も多い。今回I型SMA患者に限定して、SMN1、NAIPt、p44tに至る範囲の遺伝子欠失を解析し、その欠失パターンと臨床像を比較検討した。SMN1 geneのエクソン7および8、p44t geneのC-133、C-151、C-236はPCR-RFLP法で、NAIPt geneのエクソン5はPCR法で、さらにp44tのN-1839はSSCP法で欠失を検出した。症例1はI型SMAとしては比較的軽症で、2歳まで呼吸不全を起こさなかった。症例2~4は典型例で、重症度の差はなく、ともに生後4ヵ月以内に呼吸不全に陥った。全例にSMN1のエクソン7&8の欠失を認めた。症例2、症例3ではSMN1、NAIPt、p44tの5'側(C-133)に至る広範囲の欠失を認めたのに対し、最も軽症の症例1ではNAIPtからp44tのC-151に至る範囲で欠失を認めなかった。このことは欠失サイズと重症度に相関があることを支持した。ところが症例4はNAIPtに欠失を認めず、従って欠失のサイズは症例2、3より小さいと考えられたが、重症度は症例2、3と同程度であった。従って重症度と欠失のサイズとの間に常に相関があるとは限らないことが示された。症例1はp44tの5'側(C-133)にもう一つ欠失があったが、この欠失の臨床的意義は不明であった。

(藤井達哉 滋賀県立小児保健医療センター小児科)

5. SMAの支持療法／呼吸管理

SMAのインターベンションとして、Bachらは、家族を含めた心理サポート、筋・関節・胸郭の拘縮予防、脊柱側彎の予防と矯正、日常生活動作(ADL)自立の工夫、栄養・消化管合併症管理、呼吸筋補助の手段の習得を挙げている。この中で、SMA type1でも長期に有効と報告された非侵襲的呼吸管理について述べている。SMA type2と3の11例で、呼吸機能や臨床経過に応じて、air stacking、夜間や上気道炎時のnoninvasive intermittent positive pressure ventilation (noninvasive IPPV)、徒手介助排痰法、mechanical in-exsufflator (MI-E)を導入した。症状の改善、上気道炎時の急性呼吸不全の軽減をはかることができた。適切な呼吸リハビリテーション導入は、SMAの生命と生活の維持に有用である。

(石川悠加 国立療養所八雲病院小児科)

6. 乳児型脊髄性筋萎縮症の遺伝相談／遺伝子検査と在宅医療導入後の変化

乳児型脊髄性筋萎縮症(SMA)はかつては3歳までに

死亡したが、呼吸管理や在宅医療の進歩により予後が飛躍的に改善した。また、遺伝子診断は診断確定と出生前診断を可能にした。これらの変化が遺伝相談に与えた影響を知る目的で診断、治療、出生前診断に関する保護者の選択について検討した。検討対象は過去6年間に経験したSMA I型、II型2例である。I型のうち症例1のみ在宅に移行した。2例は家族が、積極的な治療を選択せず、1例は病院の受け入れが出来なかった。1例は在宅ケアを考え可能な地域への転居を準備中である。出生前診断は長期入院中離婚した例、経過を見ていない1例以外の家族について行われたが、すべて両親の希望である。親の選択は価値観だけでなく、個々の家庭、地域医療事情によって様々な影響を受けると考えられた。遺伝子診断や在宅人工換気が可能になるまでは、治療、家族計画に関する選択は限られていた。今日選択の幅は広がったが、それだけ悩みも多くなり、適切な情報提供、遺伝相談の需要が増加したともいえる。診断治療に関する生命倫理的な検討と在宅医療、遺伝子診断、遺伝相談の機会がどの患者、家族にも提供できるような医療システムを構築することが重要である。

(富和清隆 大坂市立総合医療センター小児神経内科)

7. 脊髄性筋萎縮症の臨床像と筋病理

脊髄性筋萎縮症(SMA)では、SMN遺伝子などの異変により脊髄前角運動ニューロンなどの変性や脱落が生じ、その結果として骨格筋に神経原性変化が認められる。SMAの筋病理所見として、群萎縮(reoup atrophy)と筋線維タイプ群化(fiber type grouping)が重要である。群萎縮は脱萎縮は脱神経の、筋線維タイプ群化は神経再支配の、それぞれ反映である。群萎縮と筋線維タイプ群化の“バランス”が、病勢を判断する手がかりとなる。私達は過去9年間に、筋病理学的にSMA II型2例とIII型2例を診断した。このうち2例は、深部腱反射が正常なため、あるいは筋電図所見から、筋生検時にSMAの可能性は低いと考えられていた。1例は群萎縮がなく筋線維タイプ群化のみを認め、H&E染色だけではSMAの病理診断を見落とす可能性があった。筋病理学的に、群萎縮と筋線維タイプ群化の程度で臨床病型をある程度推測できた。神経学的診察と筋電図をしっかりと行い、積極的に遺伝子診断を考慮すれば、“SMA”の診断のためには、筋生検は不要になる可能性があると考えられた。

(松岡太郎 大坂市立豊中病院小児科)

8. 脊髄性筋萎縮症II型(中間型)の中樞神経病理

SMAの中樞神経病理については、SMA I型(Werdnig-Hoffmann病)における検討が主で、SMA II型(中間型)の報告は稀である。今回、SMA II型の年齢

の異なる二剖検例(5歳、37歳、両例ともSMN1遺伝子エクソン7、8の欠失を認めた)を経験し、SMAの病態への関与が議論されているアポトーシスについても神経病理学的に検討した。中枢神経病理所見は、程度の差はあるがSMA I型に類似し、脊髄および脳幹(下位脳神経核)の運動神経細胞の変性と脱落、脊髄前根の萎縮と有髄線維の減少およびglial bundleの出現が主病変であった。一方、SMA I型で認められる視床病変は認められなかった。また、今回検討した2例とも中心前回Betz細胞の減少、脊髄側索の大径有髄線維の減少を認め、上位運動ニューロン病変の関与も示唆された。さらに、アポトーシスに関連した検索では、症例1の下部腰髄の前角においてTUNEL陽性の運動神経細胞を認め、本症の神経変性へのアポトーシスの関与が推定された。本症の神経変性に対しては、今後も分子生物学的・神経病理学的な検討を進めることが重要であると考えられた。

(荒木 聡 都立神経病院神経小児科)

Ⅲ おわりに—SMAの治療を目指して

現在では、SMN遺伝子がSMAの責任遺伝子であり、NAIP遺伝子やp44遺伝子はSMAの病態に何らかの形で関与していると認識されるようになった。SMAの病因、病態は急速に解明されつつあり、SMA研究が治療法の確立へ展開する基盤が整ってきたのである。

本学会の終了後に、培養細胞実験で、Htra2- β 1と呼ばれるスプライシング因子を用いてSMN2遺伝子のスプライシングを抑制し、エクソン7を有する完全長mRNAを増加させることができたという報告が出された。もしヒト個体においても、SMN2遺伝子から完全長mRNAが十分量転写され、機能的なSMN蛋白が十分量合成されることができれば、SMN1遺伝子の欠失は代償され、SMAは治る病気になると思われる。

これまで根本的治療がなく、合併症の予防や管理、QOL(quality of life)の向上を図るしかできなかったSMAの医療の現場に、新たに“遺伝子治療”や“遺伝子制御による治療”という選択肢が加わる日もそう遠くないと期待される。

I. 筋ジストロフィーおよび膜イオンチャネル異常症

福山型先天性筋ジストロフィー*

大澤真木子¹

日野なおみ¹

1. 概念・定義—同義語—

概念：先天性筋ジストロフィー(CMD)という語は、生後数カ月以内に筋力低下、筋緊張低下、関節拘縮を示し、筋生検上ジストロフィー変化を示す児に用いられる。我が国では、福山型CMD(FCMD)¹⁻³⁾が多い。

定義：FCMDは、広範囲な中枢神経系(大脳・小脳・脳幹・網膜)の形成障害と、顔面筋罹患を伴う進行性筋ジストロフィーが共存する全身性疾患である。

同義語：精神遅滞を伴うCMD、中枢神経障害を伴うCMD、福山型脳筋ジストロフィー、筋ジストロフィーを伴う多小脳回症、congenital cerebro muscular dystrophy(先天性脳筋ジストロフィー)。小児慢性特定疾患のリストでは先天性遺伝性筋ジストロフィーとなる。

2. 分類¹⁻¹²⁾

CMDの分類は未確立。FCMDは臨床症状に幅があり、亜型が提唱され、亜型間に連続性を認める(表1)。遺伝子分析で典型・軽症例は創始者染色体(ancestral haplotype)²⁾のホモ、重症型はヘテロが多い。

3. 病因

戸田らのグループは⁸⁾、患者染色体のほぼ90%に、原因遺伝子の3'非翻訳領域内に約3kbの挿入配列が存在することを見だし、1種のcDNAを得、福山型原因遺伝子を発見した。正

常の福山型遺伝子は、第9番染色体長腕31領域にあり、cDNAとして約7,000bpであり、同遺伝子は本症罹患部位である骨格筋、心筋、脳で優位に発現していたという。FCMD遺伝子はゲノム上で約100kbにわたり、約100-200bpの9個のエクソンと、6,066bpの第10エクソンからなる。遺伝子産物はフクチンと命名され461アミノ酸(分子量53.7kD)からなり、N末端にシグナル配列をもち、膜貫通ドメインを1個もつかまたはもたない機能未知の新規蛋白で、存在場所は膜か膜外と推定されている⁸⁾。創始者染色体をホモにもつ患者では、3'非翻訳領域内へのDNA挿入により、mRNAが不安定で、直ちに壊れてしまい発症すると推測されている。またDNA挿入のない側の患者染色体には、同遺伝子に2種の点突然変異(exon 3 ノンセンス変異, exon 4 フレームシフト)が発見されている。保因者頻度は約88人に1人。現在日本人以外にフクチン遺伝子に異常のある本症は発見されていない。臨床的FCMDの日本人の小児でもフクチン遺伝子に異常がなかった報告もある。

4. 病態⁹⁾

筋脳眼を中心とする遺伝子異常に基づく系統疾患で、遺伝子異常の結果フクチンの異常が生じ、その結果何らかの機序で、脳表では神経細胞の移動を阻止する機構に、眼では網膜境界面に、骨格筋でも筋基底膜に脆弱性が生じ、結果として前二者では発生過程での異常を形成し、骨格筋では運動による物理的刺激が加わ

Key words：先天性筋ジストロフィー、脳形成障害、網膜異形成、心肺不全、高CK値 *Fukuyama type congenital muscular dystrophy ¹Makiko OSAWA, Naomi HINO: 東京女子医科大学医学部小児科 Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine

表1 FCMD 各亜型の特徴と近縁疾患

特徴	病型	MEB	WWS	FCMD		メロシン欠損II
				重症	典型	
精神遅滞 けいれん		++++ ミオクロームス 有熱性	++++	++++	二次性全汎化を伴う局在関連てんかん(有熱無熱)	- +
脳形成障害 白質の異常 小脳・脳幹低形成 水頭症 眼所見		++++ 先天緑内障 重症近視→失明 白内障, 網膜低形成	++++ 角膜混濁, 小眼球症 網膜異形成, 剥離	++++ 屈折異常 網膜剥離	++++ 屈折異常 網膜剥離	+
定 額 歩 行 仮性肥大 血清CK 初発関節拘縮 筋の選択性 遺伝子座		遅 一時的+	-	遅 +	遅 正常 一時的+	遅 -~+
遺伝子産物		正常→10× 近位 1p34-p32	10× 拇指内転	10-50×* 指節間関節, 股, 膝, 足首 下腿>大腿, 傍脊柱筋 9q31 創始者染色体 のハテロ フクチン	15-80× 内反足 下腿>大腿 9q31 創始者染色体 のホモ フクチン	2-5× 6q2
OMIM その他		253280 極性の出現 VEP 高振幅 男児に多い 18歳頃死亡	236670 極性 子宮内発育不全 口唇・口蓋裂, 外耳道欠損 1歳未満死亡	253800 253800	253800	メロシンの ラミニン α -2鎖 156225

*新生児期には数万に達する。

[注]メロシン欠損症の概念例の報告は, 世界から70例をこえる。詳細にみると, びまん性白質低吸収域を呈しながら, 略正常知能を有するが, 一部に剖検上局在性の多小脳回や厚脳回が発見されている例がある。また同胞に精神遅滞とてんかんを有する例がある。

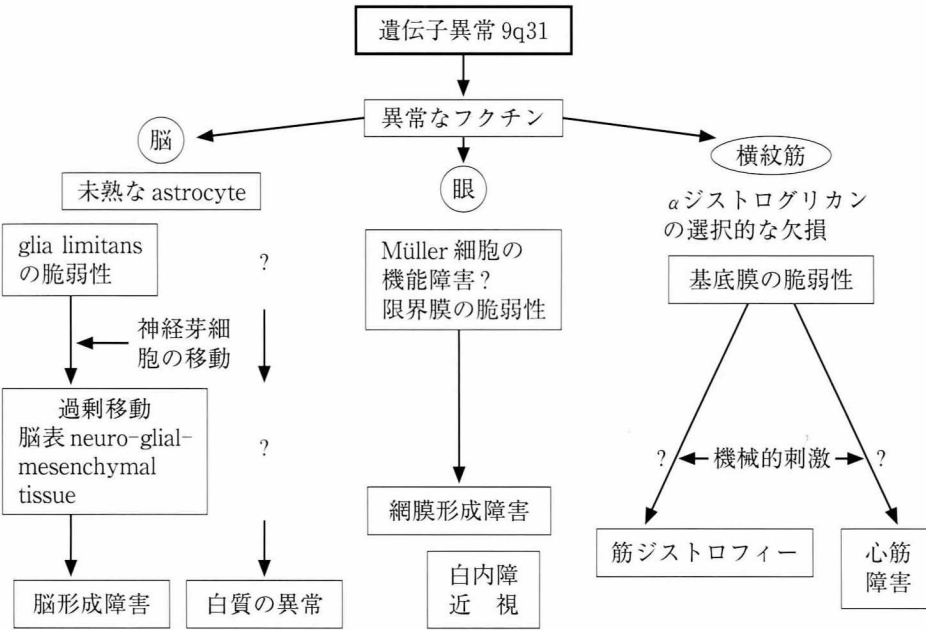


図1 FCMDにおける病態発症機序の推測

り胎生中期以降筋変性過程が進むと推測される(図1)^{1-4,8-13)}。

a. 症 状^{1-4,8-12,14)}

1) 進行性ジストロフィーとしての主症状

全身性、進行性対称性筋弱力・筋萎縮。生後-乳児早期に発症、運動発達が遅れる。新生児期には、四肢の屈曲の程度が少ない。乳児期早期にはときに膝蓋腱反射が陽性。大腿よりも下腿筋の変化が早く(筋CT参照)、多くは足底を床について体重を支えることができない。筋病変の進行にかかわらず、6歳までは中枢神経系の発達に伴い、新運動機能を獲得し、以降低下する。定頸不十分でも坐位保持可能となり得る。約7.5割の症例は、3-4歳時のいざりが最高到達能力である。乳児期から上腕の抗重力運動は肩関節外転90度までのことが多い。6歳以降筋力低下が目立ち、挙上困難となる。約1割強は定頸獲得も困難で、生涯寝たきり。残り約1.5割は3-7歳頃まで歩行を保持。顔面筋罹患のため閉眼、閉口不十分で、流涎あり。乳児期に頬部、幼児期に下腿の仮性肥大を呈し、6歳以降は、筋萎縮が目立つ。筋の進行性短縮による手首背屈時のPIP, DIP(後にMP)の伸展制限、足首の底屈制限、股・膝・肘関節の伸展制限、首の前屈制限、顎の閉口・開口制限を呈する。

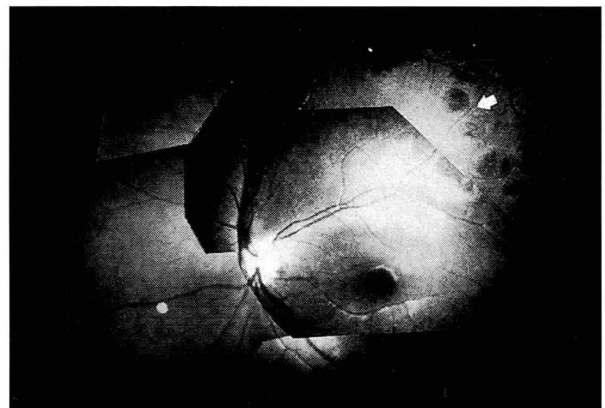


図2 眼底所見

周辺部に、丸くくり抜いたような所見を認める。

2) 中枢神経系症状

知能障害あり。多くは人なつこく社会性良好。けいれんを半数に合併。軽度の発熱(入浴後を含む)に誘発されるけいれんを2-4歳頃に発症。抗けいれん剤投与で治まるが、中止すると10歳前後に無熱性けいれんを起こし、けいれん重積も起こり得る。まれにWest症候群もある。多くは、症候性局在関連てんかん。

3) 眼所見

屈折異常を認め、一部に眼振、眼底周辺部に円形病巣を認める(図2)。網膜剥離、小眼球症を1例に認めた。緑内障例はない。頬部が丸く、

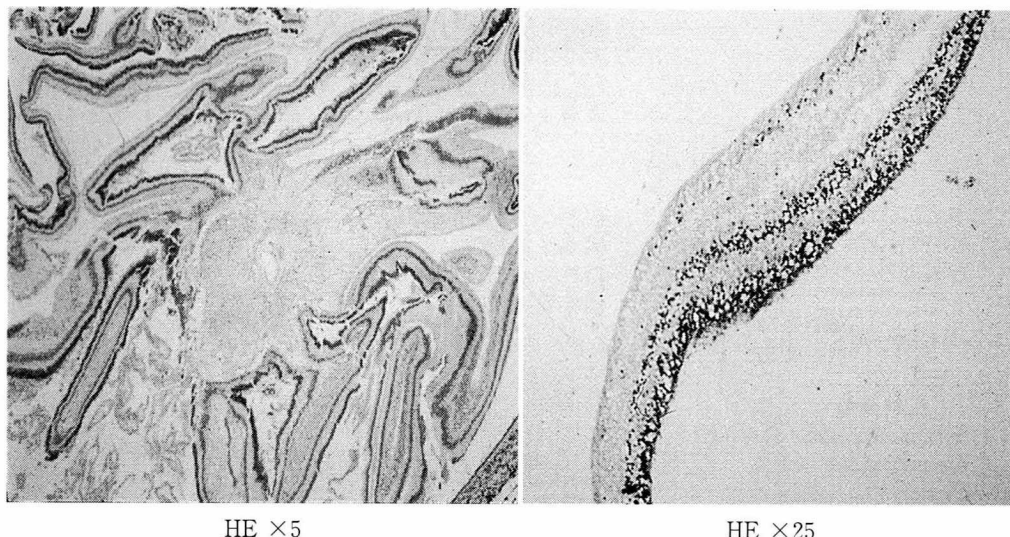


図3 眼病理組織

眼振のみで著明な眼底所見を認めなかった6歳典型例。HE染色，第一次硝子体遺残，網膜剥離(左)，網膜異形成(右)を認めるが，網膜の正常構築が保たれている部位もあった。

乳児期に睫毛内反による表層角膜炎を起こす。眼底所見は非特異的に‘粗造’と表現される例も多いが，Hinoら¹²⁾は，中枢神経系の一部である網膜の異常を病理的にも明らかにした。臨床的無症状例の剖検眼組織でも網膜異形成，硝子体遺残を認め，本症では胎児期から眼病変形成が始まり，病理学的に著明な網膜異形成の病態に至ることを明確にした(図3)。病変成立機序には，ミューラー細胞もその一部である基底膜構成要素の異常，ミューラー細胞の産生する骨格蛋白と glutamate 代謝関連蛋白の免疫活性の低下があることから，同細胞の機能異常が強く関係すると結論し，網膜層構造の形成過程への fukutin 関与の可能性も示唆した。

4) 心肺機能

(1) 心筋障害：10代から心筋障害がある。運動量低下のため，心不全症状が前面に出ることは少ない。一時的歩行可能例では，心筋肥大を示し，心不全が直接死因になり得る。

(2) 拘束性呼吸不全：10歳以降，呼吸筋の筋力低下もあり，上気道感染が重症化しやすくなる。拘束性呼吸不全で，夜間頻繁覚醒，早朝時の頭痛と頭重感が出現。閉口不完全で，唾液の気管への流入による気管攣縮発作，誤嚥肺炎，

無気肺などを併発しやすい。

5) その他留意すべき症状

顎関節亜脱臼，骨折，便秘，胃食道逆流現象，上腸間膜動脈症候群による急性胃拡張，アセトン血性嘔吐症などがある。

皮下組織は一般に堅めで，幼児期以降，膝下の皮膚が光沢をもつ。

ウイルス感染の発熱後に筋力が一時低下することがある。多くは，解熱後に本現象が出現。ときに呼吸器を要す。2週間で回復開始。

精神的緊張・興奮時にアセトン血性嘔吐症様症状と低血糖症を伴うことがある。夜間の絶食時間を短くする。

b. 検査所見

(1) 血清クレアチンキナーゼ(CK)，GOT，GPT，LDH，アルドラーゼが生直後より高値を示し，経年的に減少。乳酸ピルビン酸は正常。

(2) 骨格筋CT上で脂肪による筋置換が認められるが加齢に伴い，著明となる(図4)。

(3) 骨格筋病理組織像は，ジストロフィン，スペクトリンは正常に存在。コネクチン，ジストロフィン結合糖蛋白は活性低下。ラミニン(メロシン)が正常の1/4程度に減少。DRPは細胞膜ではなく細胞質に存在し，細胞内で合成さ



FCMD
MK 6 y

図4 6歳典型例：骨格筋のCT所見

第3腰椎部(上), 大腿中央部(左下), 下腿最大周径部(右下)の筋CT, X線吸収度の低下と筋断面積の変化を示す。後者の減少は大腰筋に9歳以降認められる。下腿の腓腹筋の変化が著しく, 次いで大腿・肩甲帯・第3腰椎体レベルの順に低吸収域(LD変化)がでる。下腿三頭筋, 大腿内転筋, 傍脊柱筋外側のLD変化が最もはやく出現し程度も強く, 前・後頸骨筋, 薄筋, 縫工筋, 腰方形筋ではLDの出現は遅い。

軽症型は, 同年齢典型例に比しLD変化の程度が軽く, '下腿の変化が他のどの筋よりも早く著明に起こる'傾向はなく, これが歩行能力を獲得できる一因と思われた。

れたDRPを膜に結合させる過程の障害の可能性がある。戸田らにより, 本症の骨格筋と心筋で, α -ジストログリカンが選択的に欠損しており, それにより筋細胞基底膜の異常を来している可能性が示された。

(4) 頭部MRIでは, 多小脳回/厚脳回様所見, 白質ジストロフィー様変化(2.5カ月-4歳未満に白質部にT1で低信号, T2で高信号を呈す。加齢に伴い軽減), 脳梁異形成, 小脳, 脳幹病変

がある。透明中隔腔, クモ膜嚢胞を呈する例も多く, 小脳に微小な嚢胞様変化をみる。

(5) 神経生理学的には, 脳波上てんかん様発射が30-40%で陽性。筋電図検査は筋原性, 末梢神経伝導速度は軽度遅延-ほぼ正常。各種大脳誘発電位はほぼ正常。

5. 診断と鑑別診断

体重増加不良, 運動発達遅滞があり顔面筋を

含む筋力低下, 軽度関節拘縮を伴う floppy infant で, 血清CK値, GOT, GPT, LDH, アルドラーゼが高く, 乳酸ピルビン酸が正常で, 1歳以降の筋CTスキャン上, 下腿三頭筋, 大腿四頭筋で脂肪置換によるX線透過性亢進(低吸収域, LD)を認めれば, 本症の疑いが濃厚. 筋生検でジストロフィー様変化を認め, 免疫組織化学染色でジストロフィン, メロシン, アダリンが陽性であれば本症と考える. 重症型では, MEBやWWSが, 軽症例ではメロシン欠損症も鑑別の対象. Todaらは, 典型例とWWSを思わせる重症例の同一家系内報告例を報告している. 9q31の遺伝子検査で, 創始者染色体を認めれば診断可能.

6. 治療と予後

対症療法中心. リハビリテーション, 合併症治療, 心理面のケア, 教育, 遺伝相談などが主体. 保因者の可能性のある親から遺伝相談を受けた場合, 次子が本症である可能性は1/4. 家系により, 連鎖解析により出生前診断可能¹⁵⁾. 平均寿命17.6歳(1歳代-36歳).

文 献

- 1) Fukuyama Y, et al: Congenital progressive muscular dystrophy of the Fukuyama type—clinical, genetic and pathological considerations—. *Brain Dev* 3: 1-29, 1981.
- 2) Osawa M, et al: Congenital progressive muscular dystrophy of the Fukuyama type. In: *Congenital Muscular Dystrophies* (ed by Fukuyama Y, et al), p31-68, Elsevier Science B.V., Amsterdam, 1997.
- 3) 大澤真木子: 先天性筋ジストロフィー. 最新内科学大系71(井村裕夫ほか編), p152-178, 中山書店, 1996.
- 4) Osawa M, et al: A Japanese CMD case with diffuse white matter hyperlucency on CT and normal mentality: A 16 year follow up study. *J Tokyo Wom Med Coll* 66: 95-109, 1996.
- 5) Pini A, et al: Merocine-negative congenital muscular dystrophy, occipital epilepsy with periodic spasms and focal cortical dysplasia. Report of three Italian cases in two families. *Brain Dev* 18: 316-322, 1996.
- 6) Pihko H, et al: Ocular findings in muscle-eye-brain (MEB) disease: a follow-up study. *Brain Dev* 17: 57, 1995.
- 7) Dobyns WB: Walker-Warburg and other cobblestone lissencephaly syndromes: 1995 update. In: *Congenital Muscular Dystrophies* (ed by Fukuyama Y, et al), p 89, Elsevier Science B.V., Amsterdam, 1997.
- 8) Kobayashi K, et al: An ancient retrotransposal insertion cause Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 394: 388-392, 1998.
- 9) Kondo-Iida E, et al: Molecular genetic evidence of clinical heterogeneity in Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Hum Genet* 99: 427-432, 1997.
- 10) Saito K, et al: Haplotype-phenotype correlation in Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Am J Med Genet* 92: 184-190, 2000.
- 11) 加藤郁子ほか: 福山型先天性筋ジストロフィーにおける脳幹, 小脳の形態に関する放射線学的研究. *東女医大誌* 68(10): 772-785, 1998.
- 12) Hino N, et al: Clinicopathological study on eyes from cases of Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 23: 97-107, 2001.
- 13) Yamamoto T, et al: Immature astrocytes in Fukuyama congenital muscular dystrophy: An immunohistochemical study. *Pediatr Neurol* 20: 31-37, 1999.
- 14) 池中晴美ほか: 先天性進行性筋ジストロフィーにおける感染症罹患時の一過性筋力低下. *東女医大誌* 70(臨時増刊): 40-46, 2000.
- 15) Saito K, et al: Prenatal diagnosis of Fukuyama type congenital muscular dystrophy in eight Japanese families by haplotype analysis using new markers closest to the gene. *Am J Med Genet* 77: 310-316, 1998.

Clinicopathological study of transiently ambulant Fukuyama-type congenital muscular dystrophy cases

M. OSAWA¹, Z.P. WANG¹, K. SAITO¹, S. SUMIDA¹, K. SHISHIKURA¹, H. SUZUKI¹, Y. HIRAYAMA¹, H. MURASAGI¹, Y. ARAI¹, N. HINO¹, I. KATO¹, M. SAKAUCHI¹, K. IKEYA¹, E. NAKATA¹, K. HIRASAWA¹, K. ISHIGAKI¹, T. NAKANISHI², M. KOBAYASHI², Y. FUKUYAMA¹

Department of Pediatrics and ¹Department of Pathology, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine, Tokyo; ²Department of Pediatric Cardiology, Heart Institute of Japan, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine, Tokyo, Japan

Detailed clinical observations of ten patients with mild Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD), confirmed by genetic analysis as having the ancestral founder haplotype, followed for 7-29 years, are reported. Muscle involvement was milder than that in typical cases, and differences such as better motor ability, compatible with transient ambulation, transient ability to step up stairs, persistence of deep tendon reflexes up to school age, relatively slow involvement of calf muscles confirmed by computed tomography, and longer life span, up to 30 years old, were found. Dilated cardiomyopathy was observed in adulthood. Cortical dysplasia and ophthalmological abnormalities were not prominent, but a higher frequency of cavum septum pellucidum and cerebellar cysts were found. Pathological study revealed retinal dysplasia in one case without any clinical ophthalmological findings except mild myopia. No significant environmental factors that influence the clinical course of FCMD were identified.

Key words transiently ambulant FCMD, brain MRI, muscle CT.

Introduction

Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD) is a unique congenital muscular dystrophy with facial muscle involvement and mental retardation (MR) due to cerebral dysgenesis (1-5). It is the second most common muscular dystrophy in Japan. Although most cases never become ambulant (2, 4, 5), as Fukuyama et al. discussed in their original paper (1) noting only one exception, some Japanese CMD cases with facial muscle involvement, MR and cerebral dysgenesis are transiently ambulant. We referred to these cases as mild Fukuyama-type CMD

[CMDIII/IV] (2, 4). Haplotype analysis, using microsatellite markers flanking the FCMD locus in these ambulant cases revealed that they share an ancestral haplotype with the more common typical FCMD (6-8). This study aimed to demonstrate the clinicopathological features of long-term follow-up of these cases by attempting to document the clinical picture in detail and to identify distinguishing factors possibly contributing to the better course as compared to typical FCMD.

Study population

The FCMD cases described here had been evaluated at the Department of Pediatrics of the Tokyo Women's Medical University and diagnosed as having FCMD from the clinical findings or muscle biopsy. Of the 129 FCMD cases, 15 mild cases, 101 typical cases, and 13 severe cases were recognized. Of the 15 mild probands, 8 could walk up stairs without support, 5 could walk without support and the other 2 could walk with support or stand with support. Ten cases examined by gene analysis using microsatellite markers, D9S2105-S2170-S2171-S2107-S172, closest to the FCMD gene at 9q31, were selected for this study (Table 1).

The age at presentation at our hospital ranged between 2.5 months (m) to 5 years (y) 8 m, and the age at the final observation ranged from 14 y to 32 y 9 m. Seven patients died at 14 y 0 m, 14 y 0 m, 22 y 9 m, 25 y 1 m, 27 y 6 m, 30 y 7 m and 32 y 9 m. The follow-up period ranged from 6 to 22 years.

Table 1. Clinical features: motor functions, CNS and eye involvement of 10 mild cases.

Case no.	Sex	Age at first visit (years)	Age at last follow-up (years)	Max motor ability		PTR lost age	ATR lost age	Muscle CT (age)	Seizures	Brain MRI/CT					Eye		
				Level	Period					Poly-microgyria	Abnormal WH intensity	Cavum septi pellucidi	Cerebellar cyst	Brain stem hypoplasia	Strabismus	Myopia	Fundus abnormality
1	M	0:3	14:0	8	2:1-7:1	4:9	7:9	ND	FC → AFC	+ a	-	+ a	± a	-	-	+ a	-
2	M	5:8	27:6	7	2:1-6:3	?	?	20:0	AFC	+ a	- → +	+ a	± a	-	-	-	-
3	F	1:9	16:4	8	2:1-9:6	5:10	9:0	5	FC → AFC	artifacts	+ + -	- artifacts	artifacts	+	-	-	-
4	F	2:1	17:9	8	2:5-8:3	7:6	9:0	5	-	+	+++ → +	+	-	-	-	-	rt. persistent pupillary membrane
5	F	3:4	24:0	8	2:1-10:4	7:4	7:4	ND	FC	+	+	+	-	-	+	-	lt. cataract
6	F	1:10	30:7	8	2:1-13:8	?	?	20:10	-	+	-	+	-	-	-	+	-
7	F	7:9	14:0	7	3:0-5:0	?	?	ND	FC	+ a	-	-	+ a	±	-	-	-
8	F	21:7	32:9	5	6:0-7:0	?	?	21:0	-	+	++	+	-	-	+	-	-
9	F	4:8	25:1	7	4:2-7:4	?	?	ND	FC → AFC	CT only	-	+	ND	-	+	-	cataract
10	M	10:8	22:9	7	6:0-7:0	10:9	13:5	14:0	FC → AFC	+	-	+	-	-	-	-	+

FC: convulsion induced by fever AFC: convulsion without fever a: by autopsy rt.: right side lt.: left side A: alive D: deceased Case 8: Complicated by Stein Leventhal Syndrome and urolithiasis Maximum moto ability: 5=stand with support, 7=ambulant, 8=walk up stairs, stand up by themselves; ND: not determined.

Methods

1. Precise data concerning the pre and perinatal history and the course of motor function were analysed in these 10 cases.
2. Cross-sectional muscle CT scans obtained at the mid-calf, mid-thigh and L3 trunk levels in six cases, at 4 y 5 m (cases 3 and 4), 14 y (case 10), 17 y 9 m (case 4), 20 y (case 2), 20 y 10 m (case 6), and 21 y 0 m (case 8). In case 6, the cervical level was also examined. Their findings were compared with those of typical FCMD and DMD.
3. Evaluation of left ventricular (LV) function using M-mode and Doppler echocardiography was carried out in four cases at 7 y 1 m (case 3), 23 y 6 m and 25 y 11 m (case 2), 21 y 10 m (case 10) and 30 y 6 m (case 8). The following LV systolic function parameters were measured; LV end-diastolic dimension (LVEDD), LV shortening fraction (LVSF), and LV wall thickness (LVWth). From the LV inflow velocity curve, peak E (peak velocity in the early passive ventricular filling phase), peak A (peak velocity in the late atrial emptying phase), and peak E/peak A ratio were measured as parameters of diastolic function.
4. CT and MRI of the brain were performed at age 1 y 3 m to 11 y 0 m for CT, and at 14 y 0 m to 28 y 11 m for MRI. Cortical dysplasia, ventricular dilatation, white matter abnormal intensity, cerebellar cysts, brain stem hypoplasia and other structural abnormalities were evaluated and compared with those of typical FCMD. Autopsies were performed in three cases (cases 1, 2 and 7) and the brain findings were briefly observed.
5. Ophthalmological examination was performed in all cases. Pathological evaluation was also performed in case 1.

Results

Genetic analysis

In cases 1-8, gene analysis using the closest microsatellite markers to the *FCMD* gene at 9q31, D9S2105-S2170-S2171-S2107-S172, revealed that they were homozygous for 138-192-147-183-301, which indicates the ancestral founder (A-F) haplotype with a 3kb insertion in the *FCMD* gene as proposed by Toda et al. (9-13), whereas the other 2 were heterozygous for the haplotype having 138-201-157-183-297 (case 9) or 138-201-155-183-297 (case 10).

Clinical Background

Family history was negative except in case 1 whose youngest sister has typical FCMD, and case 8 whose maternal first cousin died at 12 years of age from typical FCMD. Parental consanguinity (second cousins) was positive in case 7.

The pregnancy was uneventful except in two cases whose mothers had toxæmia with threatened premature delivery and placental dysfunction, respectively. In all but case 4 that was delivered by Caesarian section because of dyspnea of the mother, delivery was vaginal and uneventful. The gestational age was normal, and cry and feeding were not problematic except in one case born at 36 weeks gestational age. Photo-therapy was given in case 1 because of severe jaundice. Serum AST and ALT were also examined and led to the discovery of a high serum CK level. Birth weight was appropriate for age in 7 and small for dates in 2 out of 9 term infants. Case 3 had a congenital diaphragmatic hernia and underwent surgery.

All cases, except case 1, showed some sign of muscle weakness at their first visit to our hospital. No involvement of cranial nerves was observed except in cases 3 and 7 who showed an alternating internal squint. Mild ciliary signs were also observed in all cases. There was no case of subluxation of the hip in infancy. Joint contracture developed as pes equinovarus around the age of 5-7 years, which led to loss of ambulation. Since then, shortening of muscles induced multiple joint contractures causing limitation of extension of the hip, knee, and elbow, dorsi- and palmar flexion of the wrist, extension of finger joints and limitation of neck flexion. These contractures developed by age ten. Marked pseudohypertrophy of not only the calves but also the cheeks, forearms, and thighs was noted, at some stage, in all cases when we checked family photos from infancy. Patients had occasional episodes of muscle pain with muscle cramps. Macroglossia was also definitely observed in adolescence.

The ages at which each motor function level was obtained were as follows: head control 4.00±1.67 m (6.56±4.38 m in typical FCMD); maintaining a sitting position 8.64±2.57 m (16.68±13.99 m in typical FCMD); maintaining a standing posture with support or crawling 16.00±5.15 m (44.25±12.58 m in typical FCMD); ambulant 34.40±11.23 m; walking up stairs 48.00±11.43 m. They had never been able to jump or run.

The ages at which loss of each motor function level occurred were as follows: maintaining a sitting position 150.00 ± 15.56 m (127.00 ± 25.31 m in typical FCMD); standing with support or crawling 105.500 ± 24.47 m (81.20 ± 15.53 m in typical FCMD), ambulation 87.67 ± 10.75 m; walking up stairs 78.67 ± 15.95 m.

All but cases 7 and 8 could stand up from the floor by themselves and raise their upper arms with a nearly full range of movement. Patella tendon reflex (PTR) and Achilles tendon reflex (ATR) were present in all except case 2, who presented to us at 5 y 8 m. The former became negative between 4 y and 10 y 9 m of age, and the latter between 7 and 13 years of age. The loss of PTR was earlier in all cases.

All cases showed mental retardation, but it was milder than that of typical FCMD. All cases except cases 9 and 10, who were heterozygous for the A-F haplotype, could speak in sentences with fragments of more than two words with connecting articles (Joshi) and read Hiragana (Japanese alphabet) and simple Chinese characters.

Seizures were induced by relatively low-grade fever in infancy, or without fever starting in early adolescence in all but three cases. In case 1, bathing in hot water triggered seizures, including status epilepticus which lasted more than 30 minutes. One third of the cases showed epileptic discharges. The prevalence of focal epileptic discharges on EEG was higher than that of diffuse epileptic discharges.

Case 1 was treated with steroids in the neonatal period. It is noteworthy that the younger sister, who was never treated with steroids, was not ambulant (6).

Muscle CT

Changes in cases 3 and 4 were milder than those of typical FCMD but more severe than those of Duchenne muscular dystrophy as shown in Figure 1. There was no tendency for early mid-calf change at 4 years of age.

In muscle CT taken around 20 years of age, all images showed only a residual image of fascia, and most muscles could not be recognized because

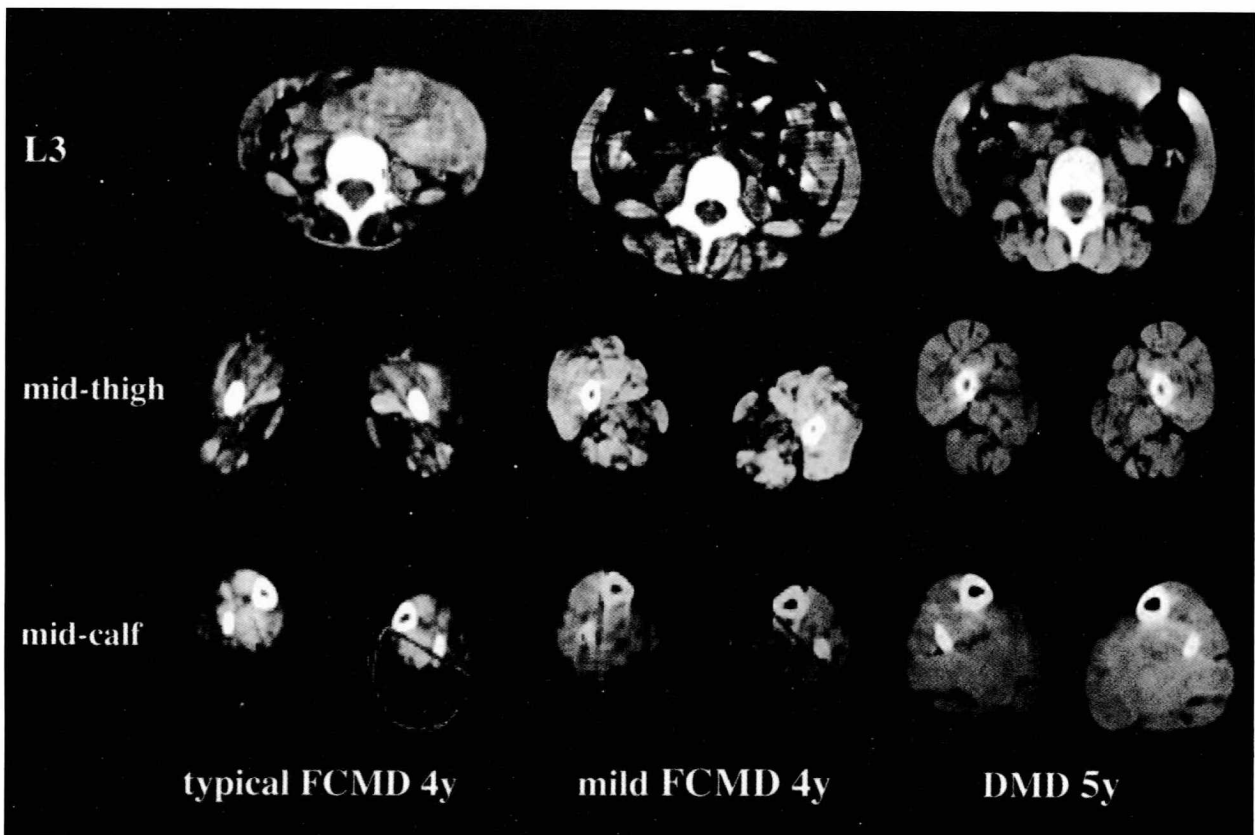


Fig. 1. Muscle CT taken at levels of 3rd lumbar spine, mid thigh, mid-calf in typical (far left), mild FCMD (middle) and Duchenne muscular dystrophy (far right). Marked fatty replacement is seen in soleus and gastrocnemius muscle in patient with typical FCMD, whereas this replacement is less marked in the mild case.

of fatty replacement. In case 6, in whom the cervical level was also examined, m. splenius capitis and m. splenius cervicis were recognizable with some density, indicating that their composition did not consist of only fatty tissue.

Cardiac echocardiography

In case 2, examined at 23 y 6 m and 25 y 11 m, LVEDD was increased at 5.8 and 5.4, respectively (> normal+2 SD), LVSF was decreased at 0.18 (normal > 0.25), and peak E/peak A ratio was decreased at 0.68 (normal > 1), with no associated discomfort but with slight edema of the lower legs. He died at age 28 years of respiratory failure due to pneumonia. In case 10, examined at 21 y 10 m without discomfort but with slight appetite loss, LVEDD was increased but LVSF was not decreased. He died at 22 y of pneumonia at another hospital. In case 8 examined at 30 y

6 m, LVEDD was increased at 4.9 (upper limit of normal), LVSF was decreased at 0.16. She died at age 32 years of suffocation due to choking on food at a restaurant. Case 3 examined at 7 y 1 m showed normal echocardiographic findings. No patient had LVWth abnormalities.

MRI and CT of brain

A wide cavum septum pellucidum was identified in six cases as shown in Table 1. Diffuse hyperlucency of the white matter was recognized when CT images were obtained before the age of 5 years. Diffuse high intensity areas in the white matter were not observed in T2 or flair images after 5 years, except in case 8 in whom it was observed at 28 y 22 m. Multiple long T1, T2 small areas were recognized in the centrum semiovale in MRI taken around 20 years of age. The corpus callosum was well developed, and

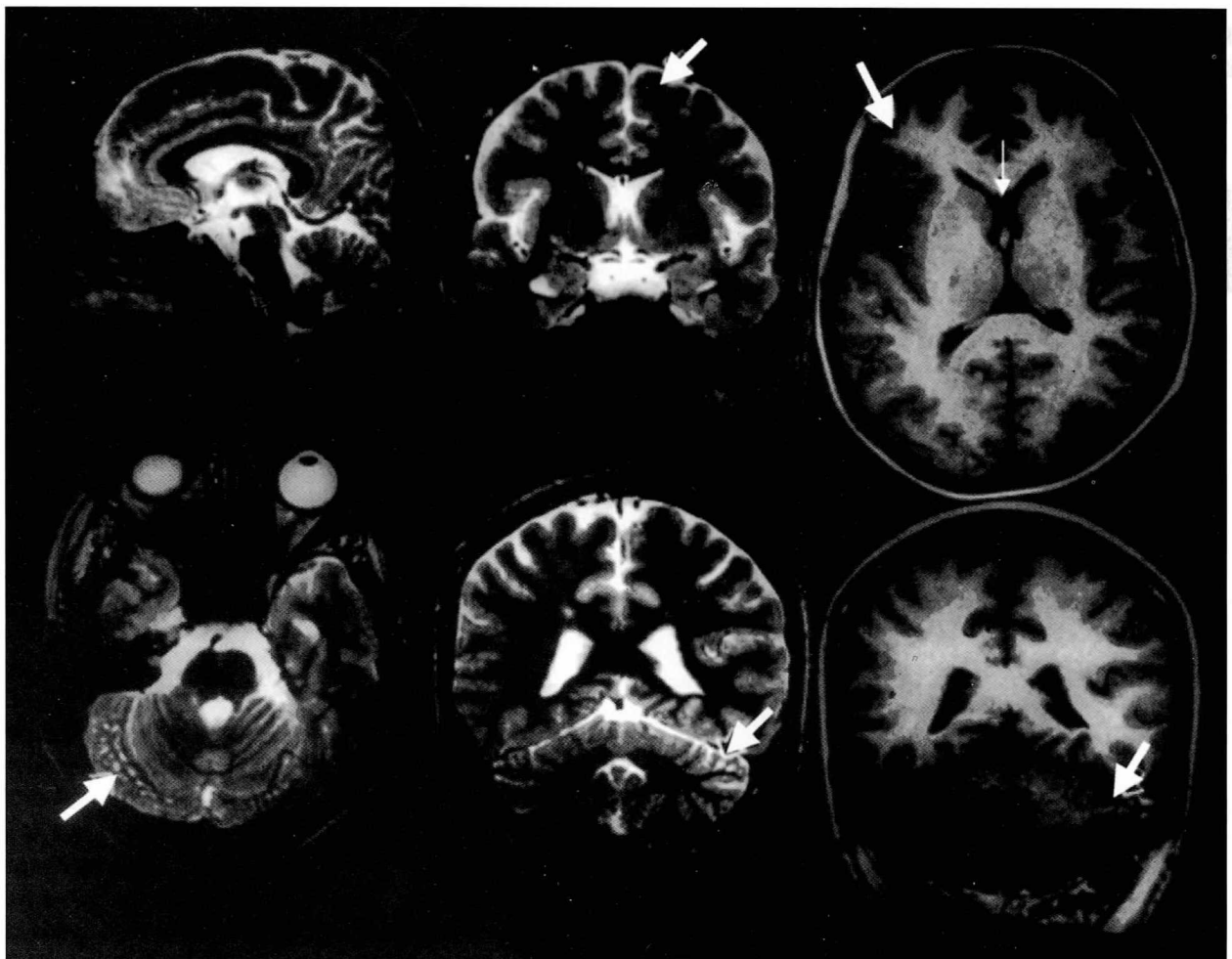


Fig. 2. Brain MRI findings of case 4. Note polymicrogyria in frontal region, wide cavum septi pellucidum and cerebellar cystic lesions (arrowed).

morphologically it was slightly dome-like, compared to those of normal. Cerebellar abnormalities such as disorganized cerebellar folia, recognized as unusual distortions of the cortex and clusters of intraparenchymal cysts, were observed in seven cases at autopsy or on MRI. Polymicrogyria was observed in all cases, mainly in the frontal region with careful evaluation by MRI (Fig. 2).

Brain and muscle pathology

Autopsied brains revealed polymicrogyria, but not agyria, which is observed in severe cases (16), in the frontal, temporal and parietal lobes of the cerebrum. Neuronal heterotopia was observed in the frontal, temporal and parietal cerebrum. Superficial gliosis intermingled with myelinated fibres was observed on the cerebral surface in all three cases. Focal polymicrogyria in the dorsal aspect of the cerebellar hemisphere was observed in cases 1 and 2. The brain stem was covered with glio-neuronal tissue, and mild abnormalities of the pyramidal tract were observed in cases 2 and 7. Dilatation of perivascular spaces in the brain, especially in the basal ganglia, was seen. A cavum septum pellucidum was confirmed in cases 1 and 7. In case 2, immunohistochemical staining revealed the basal lamina of the cortex to be positive for $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, and $\gamma 1$ laminin chains. Mild myelin pallor at the centrum semiovale was present in cases 1 and 7. Immunohistochemical staining of muscle fibre membranes was positive for dystrophin, α -sarcoglycan, β -dystroglycan, laminin $\alpha 2$ chain and spectrin in case 2. Muscle cytoplasm showed granular staining for myosin, actin and desmin. Vimentin staining was observed in connective tissue and regenerative fibres.

Ophthalmologic findings

Mild myopia was found in cases 1, 5, 6, 8 and 9, cataracts without visual disturbance were found in cases 5 and 9, and abnormality of the optic fundi was found in case 10 (8). Pathological study of the eyes in case 1 demonstrated retinal detachment, even though he showed only mild myopia without specific retinal findings (15).

Discussion

Of the 129 FCMD cases 15 mild cases were recognized. The course of ambulant FCMD was relatively good in that these patients obtained the

ability to stand up by themselves and deep tendon reflexes were almost normal in the early stage. Diffuse pseudohypertrophy (possibly true hypertrophy, transiently) was found in all cases with occasional painful muscle cramps in school age. Facial muscle involvement was also milder than those of that typical form of FCMD. Mentality is relatively good. It is unclear what factors are different from those of typical cases despite having inherited the A-F haplotype.

In this series, the number of females predominated over males. It could be difficult to differentiate some of these cases from DMD with mental retardation or limb-girdle dystrophy in childhood. Weiler et al. (17) demonstrated a linkage between limb-girdle muscular dystrophy of a mild autosomal recessive form (LGMD2H) in Hutterite kindred to region 9q31-q34.1 to which the FCMD gene maps, even though finally haplotype analysis revealed 5 recombinations that placed the LGMD locus distal to the FCMD locus.

In general, the level of serum CK after birth is higher than that in infancy in healthy children, whereas marked elevation of CK, up to 60,000 IU, is found in typical CMD in the neonatal period. We speculated that vaginal delivery might exacerbate skeletal muscle damage. It might be possible that differences in the delivery process contribute to the benign course. However, as only one of the ten cases was delivered by Caesarian section, this does not appear to be the case.

One of our cases was treated with steroids in the neonatal period. As steroid therapy has been reported to improve the clinical course of DMD, there is a possibility that neonatal administration of steroids contributed to the benign course in this patient. It is noteworthy that the younger sister, who was never treated with steroids, was not ambulant (6). However, there have been several reports of FCMD families in which siblings had different courses. Furthermore, none of the other 14 cases had been treated with steroids. Although we have no conclusive data, as yet, the possible efficacy of steroid treatment merits further investigation.

In typical FCMD, mid-calf changes preceded those at the other two levels (18). The changes were initially apparent in the calf muscles, and were particularly marked in the soleus and gastrocnemius. These characteristics of muscle involvement were confirmed in a pathological study (19), on the basis of quantitative analysis of histological findings

in the rectus femoris and gastrocnemius, which revealed that fatty infiltration was more marked in the calf than in the thigh. Changes in ambulant FCMD cases were milder and there was no tendency for early mid-calf change, as shown in Fig. 1. It is also noteworthy that PTR became negative before ATR in these ambulant FCMD cases. This accounts, in part, for most typical FCMD patients never becoming ambulant even though they can crawl, stand on their knees or remain standing when assisted with appliances.

Echocardiography revealed that they were suffering from dilated cardiomyopathy even though they showed only subclinical symptoms such as loss of appetite.

Cortical dysplasia, abnormal density in the white matter which became milder with age, ventricular dilatation, arachnoid cysts (4, 5), cavum septum pellucidum, thin dome-like shaped corpus callosum (20) and cerebellar cystic lesions (21) have been demonstrated on CT/MRI in typical FCMD. Hydrocephalus has only rarely been reported. Areas of the midbrain, pons, and superior portion of the cerebellar vermis and the antero-posterior diameters of the midbrain, pons, and cerebellum were smaller than normal. In this series, a wide cavum septi pellucidi was observed in 6 out of 10 cases (60%), and cerebellar cysts were observed in 7 out of 8 cases (87.5%) in whom the findings were evaluated. According to our experience of 52 typical FCMD cases, cerebellar cysts were observed in 13 (25%) and cavum septum pellucidum in 7 (13.7%). Thus, it is clear that cerebellar cysts and cavum septum pellucidum were found more frequently in mild cases than in typical cases.

Pathologically, there was cortical dysplasia (16) and fragility of the pial-gial barrier that seems to have contributed to its pathogenesis (22, 23). EM studies have also reportedly shown minor defects in the basal lamina at the cortical surface and abnormal basal lamina structures around the defective area (24). The neuropathological features of ambulant cases differ somewhat from those of typical cases. The most striking difference is the absence of pachygyria, polymicrogyria and agyria. Furthermore, pyramidal tract abnormalities are comparatively mild.

Cases 1-8 were homozygous for the A-F haplotype with a 3kb insertion of the FCMD gene (9-13), whereas the other 2 were heterozygous for the haplotype having 138-201-157-183-297 (case 9) or 138-201-155-183-297 (case 10). These two

heterozygote cases were ambulant but mental retardation was more severe: they could speak single word but not any sentences. These two haplotypes are inferred to originate from the same ancestor who carried the mutation other than the founder mutation. These haplotypes have never been seen in typical FCMD (8).

The 10 detailed clinical patients, followed for 7-29 years, reported here confirmed the existence of mild cases of FCMD having the ancestral founder haplotype. Further accumulation of cases and meticulous follow-up are needed before definitive conclusions can be drawn. Hopefully, the remarkable advances recently made in gene analysis will shed light on the differences between ambulant and typical FCMD.

Acknowledgements

Authors are grateful to M. Fardeau and F. Tomé for suggestions regarding the manuscript.

References

1. Fukuyama Y, Kawazura M, Haruna H. A peculiar form of congenital muscular dystrophy. *Paediatr Univ Tokyo* 1960;4:5-8.
2. Fukuyama Y, Osawa M, Suzuki H. Congenital progressive muscular dystrophy of the Fukuyama type - clinical, genetic and pathological considerations. *Brain Dev* 1981;3:1-29.
3. Fukuyama Y, Osawa M. A genetic study of the Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1984;6:373-90.
4. Osawa M, Arai M, Ikenaka H, et al. Fukuyama type congenital progressive muscular dystrophy. *Acta Paediatr Jpn* 1991;33:261-9.
5. Osawa M, Sumida S, Suzuki N, et al. Fukuyama type congenital progressive muscular dystrophy. In: *Congenital muscular dystrophies*, Fukuyama Y, Osawa M, Saito K, editors. Amsterdam: Elsevier Science BV; 1997. p. 31-68.
6. Kondo-Iida E, Saito K, Osawa M, et al. Polymorphism analysis of Fukuyama type congenital muscular dystrophy siblings with different phenotypes. *Brain Dev* 1997;19:181-6.
7. Kondo-Iida E, Saito K, Osawa M, et al. Molecular genetic evidence of clinical heterogeneity in Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Hum Genet* 1997;99:427-32.
8. Saito K, Osawa M, Wang Z-P, et al. Haplotype-phenotype correlation in Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Am J Med Genet* 2000;92:184-90.

9. Toda T, Segawa M, Nomura Y, et al. Localization of gene responsible for Fukuyama type congenital muscular dystrophy to chromosome 9q31-33. *Nat Genet* 1993;5:283-6.
10. Toda T, Ikegawa S, Okui K, et al. Refined mapping of a gene responsible for Fukuyama-type congenital muscular dystrophy: evidence for strong linkage disequilibrium. *Am J Hum Genet* 1994;55:946-50
11. Toda T, Miyake M, Kobayashi K, et al. Linkage-disequilibrium mapping narrows the Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD) candidate region to 100kb. *Am J Hum Genet* 1996;59:1313-20.
12. Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, et al. An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 1998;394:388-92.
13. Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, et al. Founder-haplotype analysis in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD). *Hum Genet* 1998;103:323-7.
14. Tsutsumi A, Uchida Y, Osawa M, et al. Ocular findings in Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1989;11:413-9.
15. Hino N, Kobayashi M, Shibata N, et al. Clinicopathological study on eyes from cases of Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 2001;23:97-107.
16. Takada K, Nakamura H, Tanaka J. Cortical dysplasia in congenital muscular dystrophy with central nervous system involvement (Fukuyama type). *J Neuropathol Exp Neurol* 1984;43:395-407.
17. Weiler T, Greenberg CR, Zelinski T, et al. A gene for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in Manitoba Hutterites maps to chromosome region 9q31-q33: evidence for another limb-girdle muscular dystrophy locus. *Am Hum Genet* 1998;63:140-7.
18. Arai Y, Osawa M, Fukuyama Y. Characteristics of muscle involvement evaluated by computerized tomography scanning in early stages of progressive muscular dystrophy: comparison between Duchenne and Fukuyama types. In: Congenital muscular dystrophies, Fukuyama Y, Osawa M, Saito K, editors. Amsterdam: Elsevier Science BV; 1997. p. 119-36.
19. Saida K, Kyogoku M, Hojo H, et al. Congenital muscular dystrophy (Fukuyama type). Quantitative histological study of distribution of affected muscles (in Japanese). *Rinsho Shinkeigaku (Tokyo)* 1973;13:587-96.
20. Wang Z-P, Osawa M, Fukuyama Y. Morphometric study of the corpus callosum in Fukuyama type congenital muscular dystrophy by magnetic resonance imaging. *Brain Dev* 1995;17:104-10.
21. Aida N, Yagishita A, Takada K, et al. Cerebellar MR in Fukuyama congenital muscular dystrophy: polymicrogyria with cystic lesion. *Am J Neuroradiol* 1994;15:1755-9.
22. Yamamoto T, Komori T, Shibata N, et al. Fukuyama congenital muscular dystrophy: cortical dysplasia of the cerebrum in a 20-week fetus. *Neuropathology* 1996;16:184-9.
23. Yamamoto T, Toyoda C, Kobayashi M, et al. Pial-glial barrier abnormalities in fetuses with Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1997;19:35-42.
24. Yamamoto T, Shibata N, Kanazawa M, et al. Early ultrastructural changes in the central nervous system in Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Ultrastruct Pathol* 1997;21:355-60.



Case report

A case of MERRF associated with chronic pancreatitis

M. Toyono^{a,1}, K. Nakano^{a,*}, M. Kiuchi^a, K. Imai^a, H. Suzuki^a, K. Shishikura^a, M. Osawa^a,
K. Shiratori^b, Y. Goto^c, I. Nonaka^d, H. Sugie^e

^aDepartment of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku, Tokyo 162-8666, Japan

^bDepartment of Internal Medicine and Gastroenterology, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

^cDepartment of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience, NCNP, Tokyo, Japan

^dDepartment of Ultrastructural Research, National Institute of Neuroscience, NCNP, Tokyo, Japan

^eDepartment of Pediatric Neurology, Hamamatsu City Medical Center for Developmental Medicine, Hamamatsu, Japan

Received 10 December 1999; received in revised form 6 July 2000; accepted 24 July 2000

Abstract

We report the first case to our knowledge of chronic pancreatitis associated with mitochondrial encephalopathy with the A8344G mitochondrial DNA (mtDNA) mutation. This 10-year-old-girl had suffered from recurrent abdominal pain with elevated serum amylase and lipase since the age of 6, and easy fatigability, tremor and astatic seizures since the age of 8. A biopsy of quadriceps muscle revealed ragged-red-fibers and cytochrome *c* oxidase deficiency. Analysis of mtDNA in peripheral blood identified an A8344G mutation in the mitochondrial tRNA^{Lys} gene. Taken together with physical signs of myoclonic seizures and cerebellar dysfunction, we diagnosed her as myoclonic epilepsy with ragged-red fibers associated with chronic pancreatitis. Although no association between mitochondrial disease and pancreatitis has yet been established, this case suggests it is necessary to consider the participation of mitochondrial abnormality in the pathogenesis of recurrent pancreatitis. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Myoclonic epilepsy with ragged-red fibers; Chronic pancreatitis; Point mutation; A8344G

1. Introduction

Mitochondrial disease has been associated with pancreatic dysfunction in Pearson's disease and diabetes mellitus, but only a few reports have noted any relationship between mitochondrial disease and chronic pancreatitis [1–3]. Diabetes mellitus and deafness associated with the A3243G mutation of tRNA^{Leu(UUR)} have been described in several families [4].

Chronic pancreatitis is a chronic inflammatory disease characterized by acute exacerbations. It is rare in childhood, and we still have a poor understanding of the etiology, clinical features, and prognosis [5–10]. Chronic pancreatitis is thought to have a heterogeneous etiology which may include mitochondrial dysfunction. We report a Japanese patient with myoclonic epilepsy with ragged-red fibers (MERRF) complicated with chronic pancreatitis, and discuss the association between mitochondrial disease and chronic pancreatitis.

2. Case report

A 10-year-old Japanese girl who began to show easy fatigability at the age of four, prior to which she was asymptomatic and fully active. Her family history showed diabetes mellitus in her paternal grandmother and hearing impairment with a history of drug-induced acute pancreatitis in her paternal aunt, but no history of diabetes mellitus or pancreatitis in her maternal relatives. A maternal uncle has epilepsy. She had often complained of epigastralgia with elevation of serum amylase and lipase since the age of 6 years. The biliary system was proved normal without anomaly of the pancreatobiliary ductal junction by endoscopic retrograde cholangiopancreatography during a papiloplasty operation when she was 7-year-old under the diagnosis of chronic pancreatitis in another hospital. She had recurrent aggravation of chronic pancreatitis accompanied with increasing fatigue, and developed tremor of the hands and astatic seizures after the operation. At the age of nine she was admitted to the Department of Gastroenterology of Tokyo Women's Medical University in shock with critical aggravation of pancreatitis, and had markedly elevated serum amylase and lipase levels (1200 and 600

* Corresponding author. Tel.: +81-3-3353-8111; fax: +81-3-5269-7338.
E-mail address: knakano@ped.twmu.ac.jp (K. Nakano).

¹ Present address: Department of Pediatrics, Akita University, 1-1-1, Hondo, Akita city, Akita, Japan

IU/l, respectively). She was referred to the Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University for the control of seizures and investigation of the primary cause of her disease.

Physical examination: she was slight, slender and mildly short in stature. Her abdomen was soft. Cardiovascular and ophthalmologic examination showed no abnormality. Neurological examination showed intention tremor and dysmetria. The deep tendon reflexes were exaggerated with bilateral ankle clonus, but no Babinski sign. Muscle atrophy was not apparent, the manual muscle test level was almost grade four by Daniels method, but she showed proximal muscle weakness predominantly with long-duration exercise.

On initial laboratory investigation, blood counts were normal, and serum amylase, lipase and elastase levels were normal (61 and 45 IU/l, and 224 ng/dl, respectively). The blood levels of lactate (L), pyruvate (P) and L/P ratio were elevated to 28.9 mg/dl (3.3–14.9), 1.23 mg/dl (0.30–0.94) and 23.5 (10–20), respectively. The 3-hydroxybutyrate/acetoacetate ratio in blood was elevated to 4.92 (<2.5). Lactate and pyruvate in cerebrospinal fluid were 28.0 mg/dl (3.3–14.9) and 1.54 mg/dl (0.30–0.94), respectively. Urine amino acid and organic acid analyses were normal. The oral glucose tolerance test showed a normal glucose pattern. The 5-W, 15-min aerobic exercise tolerance test revealed a marked increase in venous L levels and L/P ratio. L levels increased from 43.4 at baseline to 79.1 at 15 min, while the normal range (mean \pm SD) is 12.2 ± 3.5 at baseline to

11.1 ± 1.0 at 15 min. L/P ratios were 30.1 at baseline to 43.0 at 15 min, while the normal range is 16 ± 6.5 at baseline to 15.5 ± 5 at 15 min. Muscle computed tomography (CT) was normal. Brain magnetic resonance imaging (MRI) showed diffuse mild cerebral and cerebellar atrophy (Fig. 1). Her IQ was 79 by the WISC-R. On electroencephalography (EEG), basic activity was θ waves predominantly in posterior and central areas with sporadically continuous slow waves in the frontal and central regions in the awake state. Polyspike discharge was found to be associated with myoclonic attack with digital video EEG monitoring methods. Auditory brain-stem response, visual evoked response and nerve conduction velocities were within the normal range. The electrocardiogram was normal. Histochemistry of quadriceps muscle showed focal cytochrome *c* oxidase (COX) deficiency and many ragged-red fibers. Biochemistry documented a severe decreased in COX activity in the muscle (Table 1). Abdominal CT revealed diffuse pancreatic calcification with dilatation of the main pancreatic duct (Fig. 2). Analysis of mtDNA extracted from peripheral blood revealed the heteroplasmy of the A8344G point mutation in the mitochondrial tRNA^{Lys} gene (Fig. 3). The pancreatic exocrine function study was normal.

After she was diagnosed with MERRF associated with chronic pancreatitis in our department, she began to receive coenzyme Q₁₀, vitamin B₁ and vitamin B₂, in addition to camostat mesilate, pancreatic enzyme preparations and anticonvulsant (Phenytoin). Thereafter, she seldom complained of abdominal pain and felt improvement in

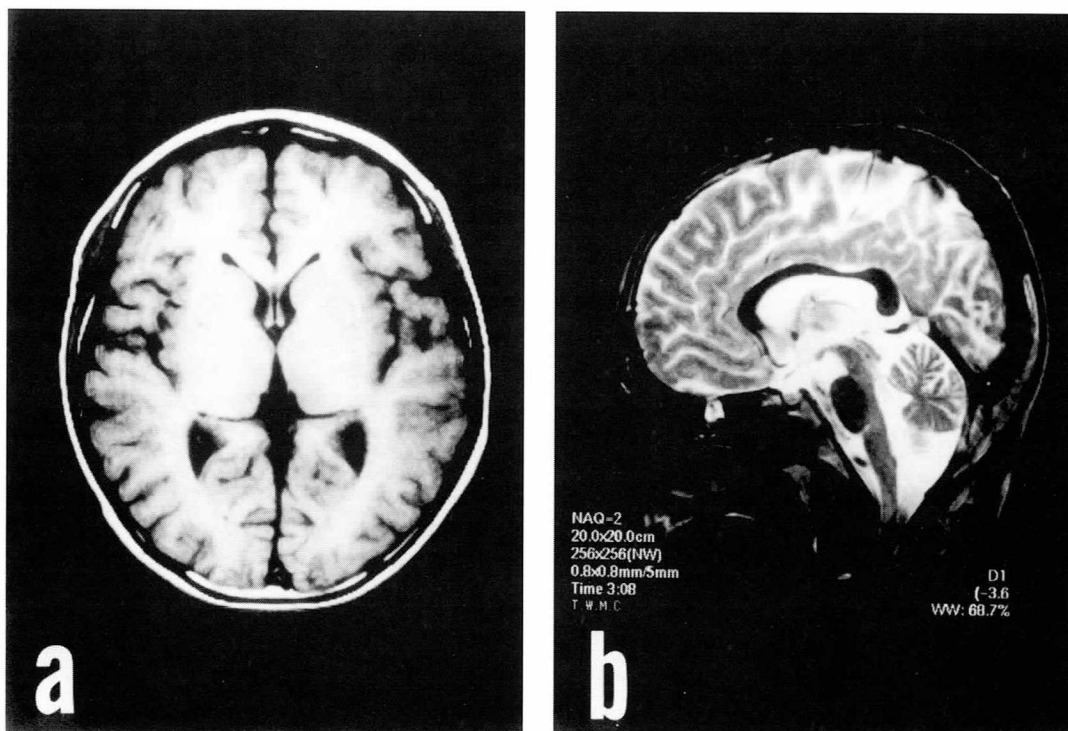


Fig. 1. (a) Axial T1 weighted MRI showing diffuse mild cerebral atrophy. (b) Sagittal T2 weighted MRI showing mild cerebellar atrophy.

Table 1
Mitochondrial enzymes activities on muscle mitochondria^a

	Patient	Controls
Cytochrome <i>c</i> oxidase	1.5	22.8 ± 6.5
NADH-cytochrome <i>c</i> reductase	16.8	20.4 ± 3.9
Succinate cytochrome <i>c</i> reductase	5.5	4.4 ± 2.1
Carnitine palmityl transferase	1.43	1.63 ± 0.44

^a Activities are expressed as nmol/min per mg protein

her easy fatigability after the therapy, though her cerebellar signs remained the same.

3. Discussion

Pancreatitis, especially chronic pancreatitis, is unusual in children and has a different etiological spectrum from that seen in adults. Chronic pancreatitis is a chronic inflammatory disease characterized by acute exacerbations. Hereditary pancreatitis, which is inherited in an autosomal dominant manner with incomplete penetrance [5], is a common cause of chronic pancreatitis in childhood. Recently, Whitcomb et al. [6] and Elitsur et al. [7] demonstrated that a G-to-A transition mutation in the third exon of the cationic trypsinogen gene on chromosome 7 is the cause of hereditary pancreatitis in some families. Other causes include cystic fibrosis, hyperparathyroidism, hyperlipoproteinemia (type I, IV and V), malnutrition and anatomical anomalies of the pancreatic duct and the pancreaticobiliary sphincter [5,8–10].

There have been only three reports to our knowledge of mitochondrial myopathy associated with pancreatitis. The first is a case of chronic pancreatitis with COX deficiency [1]. The patient showed growth retardation, including generalized muscular atrophy and weakness. He complained of recurrent epigastric pain and was diagnosed with chronic pancreatitis, similar to our patient. The second



Fig. 2. Abdominal CT showed diffuse pancreatic calcification and dilation of the main pancreatic duct (→).

P NC PC

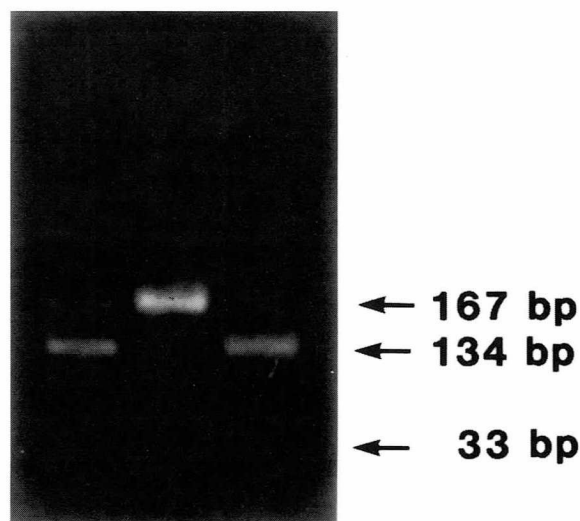


Fig. 3. Analysis of the A-to-G transition at oligonucleotide 8344 by polymerase chain reaction and restriction enzyme (*Bgl*I) digestion. The mutant DNA is cleaved by *Bgl*I into two fragments of 134 and 33 bp. The wild-type mtDNA is not cleaved. The upper 167-bp band is the fragment obtained from wild-type DNA. The patient has both mutant and wild-type fragments (heteroplasmy). P, patient; NC, negative control; PC, positive control.

one is a Caucasian family with maternal diabetes mellitus and signs of mitochondrial dysfunction such as muscular hypotonia, encephalopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes (MELAS) and neurosensory hearing loss, who carry the A3243G point mutation in the mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene. The mother had episodic abdominal cramps and her older son had recurrent pancreatitis [2]. The third report was of an infant with acute pancreatitis with lactic acidosis and the A3243G point mutation in the mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene [3].

Pearson's disease is a syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of bone marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction in infancy [11,12]. Its symptoms change to Kearns–Sayre syndrome with ages. The mtDNA deletions were detected in blood and other tissues in Pearson's syndrome [12,13]. Pearson et al. reported that histologic examination showed acinar atrophy, fibrosis, and hemosiderosis in the pancreas, and that there were no endocrine pancreatic abnormalities [11]. Although the mechanism of pancreatic dysfunction in Pearson's syndrome is unknown, there are no findings of inflammation in the pancreas. Our patient did not have Pearson's disease, because she did not show any exocrine dysfunction despite inflammation in the pancreas and because she had no sideroblastic anemia.

Studies in animals have led to highly reproducible, biochemically and morphologically well-characterized models of acute pancreatitis [14,15]. Lüthen et al. suggested that reduced energy metabolism contributes to the impairment of cellular function in pancreatic tissue during acute

pancreatitis [15]. Under physiological conditions, the considerable energy required for acinar metabolism is supplied via oxidative phosphorylation [16]. The restriction of this activity in vivo by extended ischemic periods [17] or by anoxia or uncoupling in vitro [18] makes acinar cells susceptible to autodigestion. This is relevant because these cells possess a limited capacity for glycolytic ATP production [16]. Halangk et al. evaluated the potential capability of acinar cells to produce ATP and mitochondrial function during the first 24 h of cerulein-induced (a cholecystokinin analogue) experimental pancreatitis in rats [14]. They concluded that cerulein hyperstimulation induces a drastic and long-lasting reduction of the capacity for mitochondrial ATP production which may adversely affect the regeneration of the gland which requires energy. This restricted capacity for mitochondrial ATP production could induce a chronic deficiency of acinar cells. Although the association of mitochondrial disorders with chronic pancreatitis is rare, some cases of the chronic pancreatitis could be induced by the reduced ATP production of abnormal mitochondria.

Diabetes mellitus may be associated with a mutation at 3243 in the mtDNA tRNA^{Leu(UUR)} gene. It is not clear how the 3243 mutation causes the impaired insulin secretion, although mitochondrial oxidative phosphorylation plays an important role in glucose-induced signals leading to insulin secretion in pancreatic β cells [4]. Chronic pancreatitis may cause secondary diabetes mellitus (pancreatic diabetes), and pancreatic endocrine capacities are markedly disturbed in patients with pancreatic diabetes due to calcific pancreatitis as compared with non-calcific pancreatitis [19]. Even though we have not seen any signs of marked endocrine and exocrine dysfunction, it will be necessary to periodically check the endocrine and exocrine function in our case.

In our patient, molecular genetic analysis of blood revealed the adenine to guanine transition at nucleotide 8344 of mtDNA, which is a mutation associated with the MERRF phenotype [20,21]. The main clinical features of MERRF are action myoclonus, myoclonic epilepsy, ataxia, and myopathy with ragged-red fibers (RRF). As our patient has myoclonic epilepsy, cerebellar symptoms, lactic acidosis and mild myopathy with RRF, her clinical features conform to MERRF.

The A8344G mutation is not restricted to the MERRF phenotype. It is associated with other phenotypes including Leigh's syndrome, myoclonus or myopathy with truncal lipomas, proximal myopathy [22], and familial multiple symmetric lipomatosis [23]. Silvestri et al. [22] reported MERRF patients without myoclonus and asymptomatic individuals who carry the MERRF mutation, and they did not find any relationship between the incidence of mutation and clinical severity.

To our knowledge, this is the first report of chronic pancreatitis associated with MERRF showing the A8344G mutation of mtDNA. Our case suggests a need to consider the participation of mitochondrial abnormality in the pathogenesis of recurrent pancreatitis.

Acknowledgements

This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (C) # 9670842 and by a grant from the Morinaga Foundation.

References

- [1] Kato S, Miyabayashi S, Ohi R, et al. Chronic pancreatitis in muscular cytochrome c oxidase deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;11:549–552.
- [2] Oexle K, Oberle J, Finckh B, et al. Islet cell antibodies in diabetes mellitus associated with a mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene mutation. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996;104:212–217.
- [3] Kishnani PS, Van Hove JLK, Shoffner JS, Kaufman A, Bossen EH, Kahler SG. Acute pancreatitis in an infant with lactic acidosis and a mutation at nucleotide 3243 in the mitochondrial DNA tRNA^{Leu(UUR)} gene. *Eur J Pediatr* 1996;155:898–903.
- [4] Kadowaki T, Kadowaki H, Mori Y, et al. A subtype of diabetes mellitus associated with a mutation of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 1994;330:962–968.
- [5] Perrault J. Hereditary pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1994;23:743–752.
- [6] Whitcomb DC, Gorry MC, Preston RA, et al. Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene. *Nat Genet* 1996;14:141–145.
- [7] Elitsur Y, Chertow BC, Jewell RD, Finver SN, Primerano DA. Identification of a hereditary pancreatitis mutation in four West Virginia families. *Pediatr Res* 1998;44:927–930.
- [8] Forbes A, Lenung JWC, Cotton PB. Relapsing acute and chronic pancreatitis. *Arch Dis Child* 1984;59:927–934.
- [9] Ghishan FK, Greene HL, Avant G, O'Neill J, Neblett W. Chronic relapsing pancreatitis in childhood. *J Pediatr* 1983;102:514–518.
- [10] Little JM, Tait N, Richardson A, Dubois R. Chronic pancreatitis beginning in childhood and adolescence. *Arch Surg* 1992;127:90–92.
- [11] Pearson HA, Lobel JS, Kocoshis SA, et al. A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction. *J Pediatr* 1979;95:976–984.
- [12] Rötig A, Cormier V, Blanche S, et al. Pearson's marrow-pancreas syndrome: a multisystem mitochondrial disorder in infancy. *J Clin Invest* 1990;86:1601–1608.
- [13] Cormier V, Rotting A, Quartino AR, et al. Widespread multitissue deletions of the mitochondrial genome in the Pearson marrow-pancreas syndrome. *J Pediatr* 1990;117:599–602.
- [14] Halangk W, Matthias R, Schild L, Meyer F, Schulz HU, Lippert H. Effect of supramaximal cerulein stimulation on mitochondrial energy metabolism in rat pancreas. *Pancreas* 1998;16:88–95.
- [15] Lüthen R, Niederau C, Grendell JH. Intrapancreatic zymogen activation and levels of ATP and glutathione during cerulein pancreatitis in rats. *Am J Physiol* 1995;268:G592–G604.
- [16] Baudin H, Colin M, Dumont EJ. Energy sources for protein synthesis and enzymatic secretion in rat pancreas in vitro. *Biochem Biophys Acta* 1969;174:722–733.
- [17] Spormann H, Sokolowski A, Letko G. Effect of temporary ischemia upon development and histological patterns of acute pancreatitis in the rat. *Pathol Res Pract* 1989;184:507–513.
- [18] Hass HJ, Wilhelm W, Kernnitz P, Letko G. Influence of anoxia, reoxygenation, and uncoupling on survival, respiration, and trypsin-inhibiting capacity of isolated pancreatic acinar cells. *Inv J Pancreatol* 1991;10:39–49.
- [19] Nakamura T, Imamura K, Takabe K, et al. Correlation between pancreatic endocrine and exocrine function and characteristics of pancreatic endocrine function in patients with diabetes mellitus owing to chronic pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1996;20:169–175.

- [20] Tanno Y, Yoneda M, Tanaka K, et al. Uniform tissue distribution of tRNA^{Lys} mutation in mitochondrial DNA in MERRF patients. *Neurology* 1993;43:1198–1200.
- [21] Oldfors A, Holme E, Tulinius M, Larsson NG. Tissue distribution of tRNA^{Lys} A → G (8344) mitochondrial DNA mutation in a case of myoclonus epilepsy and ragged red fibers. *Acta Neuropathol* 1995;90:328–333.
- [22] Silvestri G, Ciafaloni E, Santorelli FM, et al. Clinical features associated with the A → G transition at nucleotide 8344 of mtDNA (“MERRF mutation”). *Neurology* 1993;43:1200–1206.
- [23] Gamez J, Playan A, Andreu AL, et al. Familial multiple symmetric lipomatosis associated with the A8344G mutation of mitochondrial DNA. *Neurology* 1998;51:258–260.

筋ジストロフィーのプレドニン療法

Prednisolone treatment in muscular dystrophy

主任 大澤 真木子教授

東京女子医科大学 医学部 小児科学

炭田 澤子・大澤 真木子・池谷 紀代子・

宍倉 啓子・鈴木 陽子・平山 義人・斎藤 加代子

Sawako SUMIDA, Makiko OSAWA, Kiyoko

IKEYA, Keiko SHISHIKURA,

Haruko SUZUKI, Yoshito HIRAYAMA, Kayoko SAITO

Department of pediatrics (Director; Prof. Makiko OSAWA),

Tokyo Women's Medical University, School of Medicine

Prednisolone treatment in muscular dystrophy

We describe the results of treatment of muscular dystrophy patients with oral prednisolone. A total of 14 boys with Duchenne muscular dystrophy (DMD), 2 with Becker type MD, one with facioscapulohumeral MD and one with scapuloperoneal MD were treated with oral prednisolone at a dose of 0.24-1.01 mg/Kg/2d for 4-36 months. Clinical evaluations included timed functional testing (time needed to turn over, sit up, stand up, and climb nine stairs as fast as possible), grasping power, and functional grade. Prednisolone improved subjective and objective symptoms from 10 days to 2 weeks after administration. There was no dose response associated with improvement on timed functional testing. The longest period of improvement in the time to sit up with prednisolone was 33 months, and in time to stand up was 12-18 months. Temporizing discontinuance of prednisolone administration showed prolongation of timed functional testing, but after patients commenced taking prednisolone again, the results of timed functional testing shortened again. Four DMD boys who started prednisolone administration at the stage at which they were still able to climb stairs remained able to walk beyond the age when they would normally be wheelchair-bound. One became wheelchair-bound at 11.5 years of age. In contrast, although the DMD boys who started therapy after they became unable to stand up from a chair had improved functional

testing, they showed no prolongation of ambulation. There were no major side effects associated with prednisolone. Creatine kinase values decreased after prednisolone administration for 1-5 months and then gradually increased to former values, or continued the decreased values. The effects of prednisolone dose on change in CK values were not uniform. Change in CK values were also not clearly related to improvement of objective and subjective symptoms after prednisolone administration. These results showed clearly beneficial effects of short-term prednisolone administration but effects of long-term use of prednisolone remain unknown. To optimize the benefits of steroids while avoiding side effects, further studies are required to determine the optimal prednisolone dosage, medication method, duration of therapy, and the time to start treatment.

筋ジストロフィー-症のステロイド療法

緒言

筋ジストロフィーに対する原因療法としての遺伝子治療の臨床応用はほど遠く、また臨床応用もされている筋芽細胞移植も、いまだ現実味をおびていない。現時点での筋ジストロフィーに対する治療は、筋線維変性壊死を防ぎ、少しでも進行を遅らせるための薬物療法やリハビリテーションによる関節拘縮予防、心不全、呼吸不全の合併症に対する療法であろう。薬物療法についてはアミノ酸、ビタミン剤、アロプリノール、カルシウム拮抗剤、ノイキノン、ベスタチンなど様々に試みられてきたが、その中で筋痛に対してはダントロレンがやや有効の他は、プレドニンが唯一運動機能進展に抑制効果が報告されている。今回我々は、同意の得られたDMDおよび他の型の筋ジストロフィー-18例にプレドニンを投与し、その効果について検討した。

対象および方法

対象(表1)はDuchenne型(DMD)14例、Becker型2例、顔面肩甲下腿型(FSH)、肩甲下腿型(SP)各1例で、投与開始時年齢は前者より順に5-10歳、17-22歳、39歳、28歳である。DMDの1例(症例14)を除き、投与開始時は全員歩行可能例で、治療効果判定のため運動機能下降期の症例を選択した。投与開始時投薬量は0.24-1.01mg/Kgの隔日投与である。SPの1例ではにきびの副作用軽減のため、途中月初めの10日間投与、その後3日毎の投与に変更した。投薬期間は、治療中止期間を除き4ヶ月から最長3年となった。DMD14例中DNA欠失は5例に認めた。欠失の無い症例および未検例は、免疫組織染色で一部陽性であった症例9を除いてジストロフィンの欠失が認められた。

症例	開始時 年齢(歳)	機能 障害度	投与量 mg/Kg隔日	投与期間 (月)	DNA 欠失	
DMD	1	5	0.48	17	未検	
	2	7	0.88	14	(+)	
	3	8	0.45	18	(-)	
	4	8	0.56	35	(-)	
	5	8	0.66	22	(-)	
	6	8	0.74	13	(-)	
	7	8	1.01	13	(+)	
	8	9	0.57	21	(+)	
	9	9	0.6	15	(-)	
	10	9	0.96	4	未検	
	11	10	0.48	12	(-)	
	12	7	IV	0.34	36	(-)
	13	9	IV	0.32	27	(+)
	14	9	VI	0.75	31	(+)
Becker	15	17	0.24	22		
	16	22	0.43	33		
FSH	17	39	0.26	8		
SP	18	28	0.52	10		

表1 プレドニン治療患者一覧
 II 階段昇降可能、手すり要
 IV 歩行可能
 VI 四つ這い不能、いざり可能

症例	初期客観的評価による改善度						長期評価 機能障害度 の変化	
	投与量 mg/kg/2d	運動機能テスト				握力		CKの変動
	S→P	P→S	起座	起立				
DMD	1	±	±	-	-	-	↑	II→III
	2	±	+	-	-	+	↓↓	II
	3	±	±	±	+	+	↓	II
	4	±	±	+	+	+	↓	II→III→IV→V
	5	±	±	±	+	-	↓→	II→III→IV
	6	±	±	+	-	±	-	II
	7	1.01	±	+	+	+	↓	II
	8	0.57	±	±	+	+	↓	II
	9	0.6	±	-	±	±	↓	II→III
	10	0.96	±	±	±	+	±	II
	11	0.48	±	±	+	±	↓	II
	12	0.34	±	±	+	++	±	IV→V→VI
	13	0.32	+	+	+	不能	±	IV→V
	14	0.75	+	+	不能	不能	-	VI→VII
Becker	15	±	+	±	+	+	↓	II
16	0.43	±	±	±	-	-	↓	II
FSH	17	0.26	±	±	+	+	↓	II
SP	18	0.52	+	+	++	+	↓	II

表2 プレドニン投与による客観的評価
 不可→可++ 延長 低下- ↑増加 ●少し減少
 改善 + 空欄未施行 ↓↓著減 →不変
 不変 ± ↓減少

治療効果は運動機能所要時間(背臥位から腹臥位、腹臥位から背臥位、起坐、起立、階段9段昇降)、握力、機能障害度の変化の客観的評価と主観的評価として自覚症状の改善につき検討した。

結果

1. 運動機能所要時間の変化

1) 背臥位腹臥位(S→P)、腹臥位背臥位変換時間(P→S)

DMD例ではプレドニン開始時機能障害度の進んだ症例13(開始時機能障害度VI)および症例14(IV)で改善が見られた。またSP例で改善が認められた(表2)。図1に腹臥位背臥位変換時間改善例のプレドニン開始後の所要時間の短縮すなわち改善を示した。特に歩行不能後

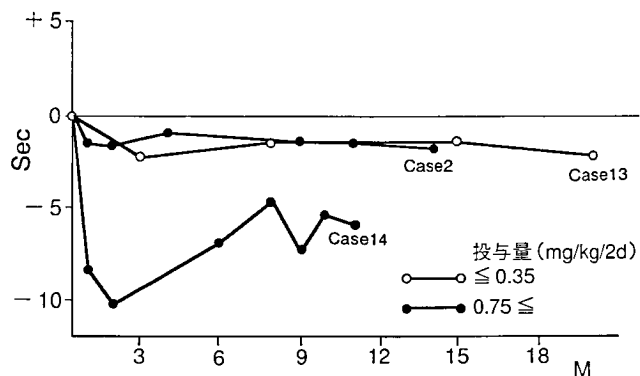


図1 腹臥位背臥位変換時間の変化
 横軸：プレドニン開始後月数
 縦軸：プレドニン開始時所要時間を0とする
 マイナスの方向に時間の短縮を示す

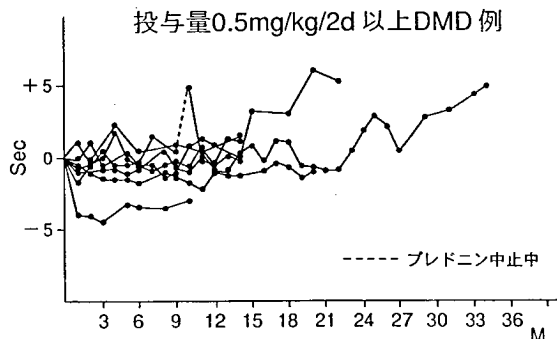
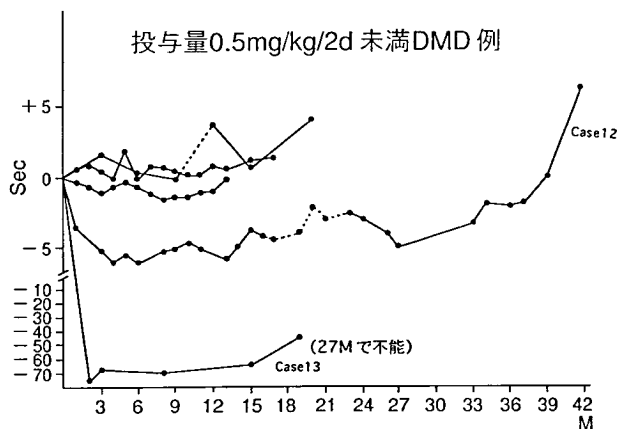


図2 起坐時間の変化
 横軸：プレドニン開始後月数
 縦軸：プレドニン開始時所要時間を0とする
 マイナスの方向に時間の短縮を示す

(VI)に投与開始した例では顕著な改善が見られ、投与後12ヶ月にも改善したタイムを維持していた。

2) 起坐時間

投与量0.5mg/Kg/2d未満DMD例(図2上段)と0.5m/Kg/2d以上DMD例(図2下段)の2群に分けて検討した。いずれの投与群でも投与開始後、起坐時間の短縮が見られた。また短縮効果の少ない例も投与開始前のタイムを維持した。特に治療開始時下肢機能低下のすすんだステ-ジIVの症例13(図2上段；経過中IV→V→27ヶ月で起坐不能と進展)では起座時間の顕著な改善が見られた。症例12は治療開始時機能障害度IVで経過中IV→V→VI(図2上段)と進展したが、プレドニン開始後

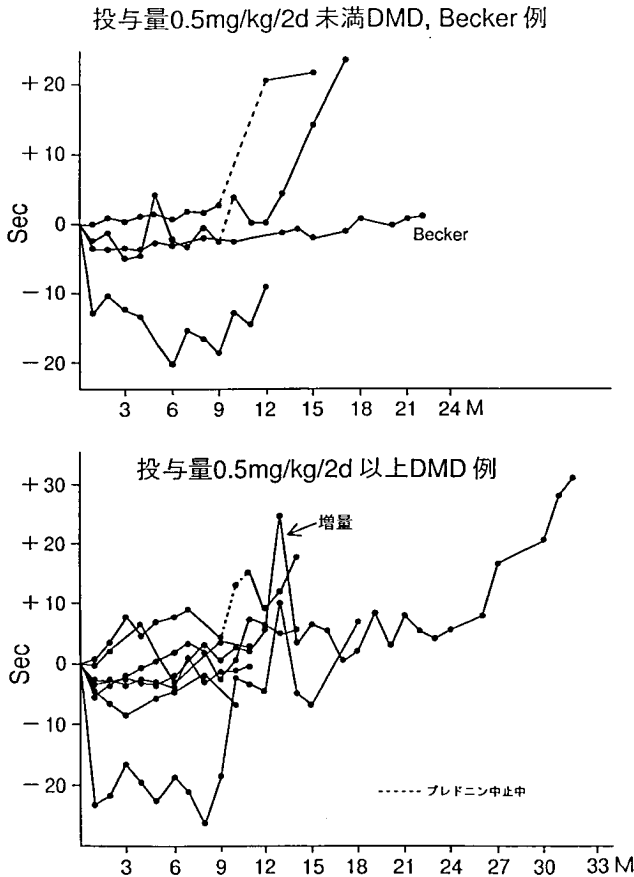


図3 起立時間の変化
 横軸：プレドニン開始後月数
 縦軸：プレドニン開始時所要時間を0とする
 マイナスの方向に時間の短縮を示す

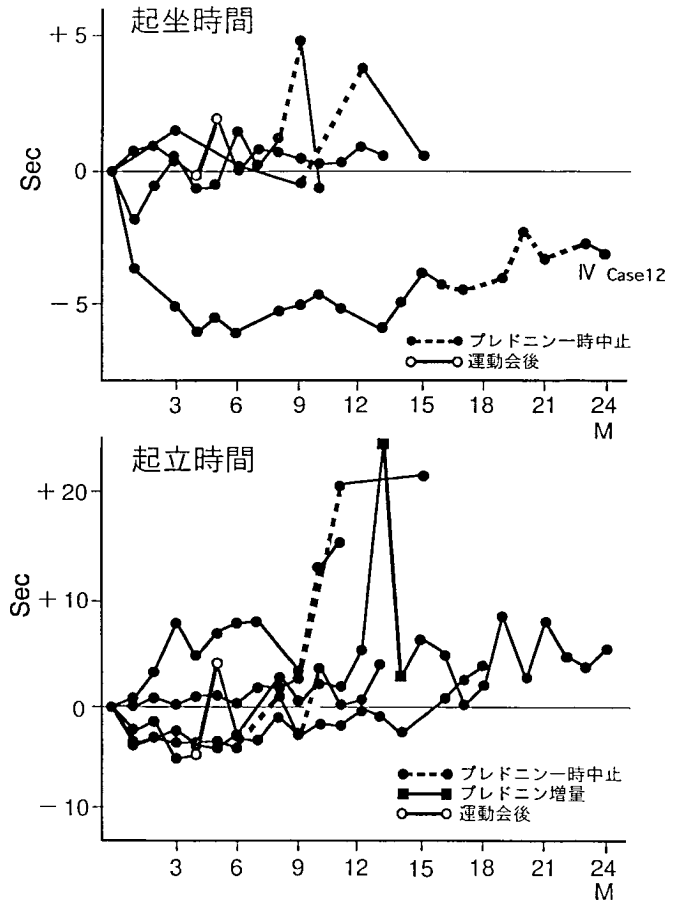


図4 プレドニン一時中止、増量による変化
 横軸：プレドニン開始後月数
 縦軸：プレドニン開始時所要時間を0とする
 マイナスの方向に時間の短縮を示す

33ヶ月時点でも改善した起座時間を維持した。各投与量群間で起坐時間短縮効果の差は明らかでなかった。

3) 起立時間

投与量0.5mg/Kg/2d未満DMD、Becker例(図3上段)と0.5m/Kg/2d以上DMD例(図3下段)の2群に分けて検討した。起立時間についても両群共に、投与後所要時間の短縮が見られた。また短縮効果の少ない例も投与開始前のタイムを維持した。投与量による改善度の差は認められなかった。効果の持続については、症例により差はあるが、ほぼ12ヶ月は改善したタイムを維持しており、その後は徐々に延長していくようだった。投与開始時機能障害、であった症例12DMDでは、プレドニン投与後一時的に(6ヶ月間)起立不能から可能となった。またSP例も起立可能となった(表2)。各投与量群間での効果の差は明らかではなく、今回の投与量間での改善度の差は検討できなかった。

4) プレドニン一時中止、増量による変化(図4)

プレドニン一時中止、増量、運動負荷などの起坐、起立時間への影響を検討した。予防接種などのために一時プレドニン中止した例では、所要時間の一時的延長が見られたが、再投与により再び短縮又は延長の緩徐化が見られた。一方開始時機能障害度IVのケース12

(図4上段)ではプレドニン中止中も改善したタイムを維持していた。運動会后に一時的所要時間の延長が見られ、プレドニン投与中にも過度な運動負荷が加わるとタイムの延長が見られるも、安静後また改善した前値に戻った。経過中起立時間の延長が顕著になってきた症例にプレドニン増量したところ、再短縮し前値にもどる一時的効果が得られた。(図4下段)

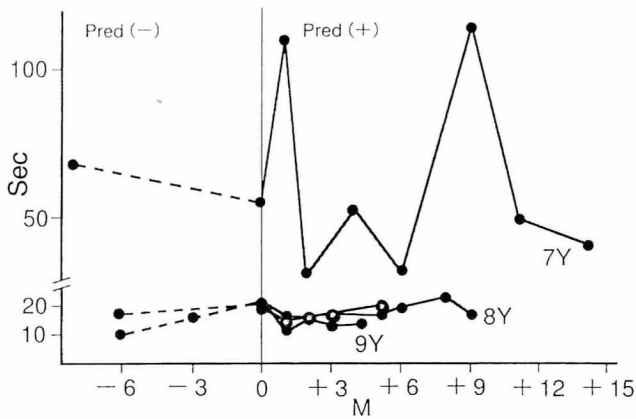
5) 階段9段昇降(図5)

プレドニン開始後の階段9段昇降所要時間を投与6ヶ月前、3ヶ月前と比較した。昇り所要時間については、プレドニン投与前後でタイムの変動は明らかでなかった。降り所要時間については、投与量の少ない9歳例を除いてプレドニン投与前徐々に延長してきたタイムがやや短縮傾向が見られた。

2.握力の変化

投与量0.5mg/Kg/2d未満DMD、Becker、FSH例と0.5m/Kg/2d以上DMD、SP例の2群に分けて検討した(図6)。プレドニン投与後いずれの投与量群でも握力の増加例が見られ、特にFSH、SP例で効果が顕著に見られた。有効例でプレドニン開始18ヶ月後にも効果持続例が見られた。各投与量群間で握力改善効果の差は明

階段9段昇り所要時間 (DMD)



階段9段降り所要時間 (DMD)

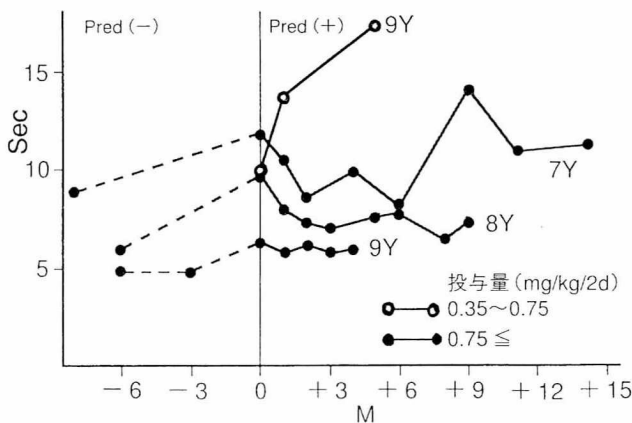


図5 階段9段昇降所要時間の変化

横軸：0は開始時、マイナスは開始前、プラスは開始後月数
縦軸：所要時間

らかでなかった。

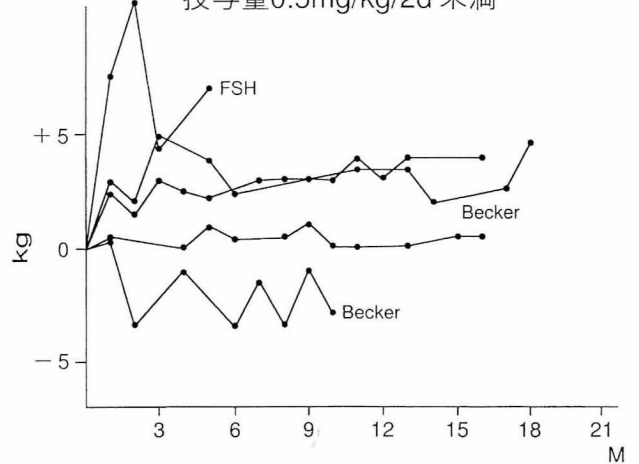
3.プレドニン治療期間中の機能障害度の推移(図7)

DMD14例のプレドニン開始後の機能障害度の推移を検討した。症例1はDMDとしては臨床経過の早いケースで、7歳3ヶ月時には起立不能となり以降プレドニンは中止され来院していない。症例5は10歳4ヶ月で起立不能、症例4は11歳4ヶ月で起立不能、11歳6ヶ月で歩行不能となった。症例12は9歳8ヶ月で歩行不能、症例13は10歳で歩行不能、11歳5ヶ月で起坐不能となった。平均的歩行能力喪失年齢は10歳6ヶ月といわれており、機能障害度IV以降にプレドニン開始した症例では歩行不能年齢がそれを超えることはなかった。階段昇降可能期IIに開始した症例中4例は、10歳6ヶ月を超えて歩行可能であり、うち1例は11歳6ヶ月で歩行不能となった。

4.プレドニン投与による客観的評価

プレドニン投与後の運動機能所要時間、握力、機能障害度の変化などの客観的評価のまとめを表2に示した。背臥位腹臥位、腹臥位背臥位変換時間では、DMD

投与量0.5mg/kg/2d 未満



投与量0.5mg/kg/2d 以上

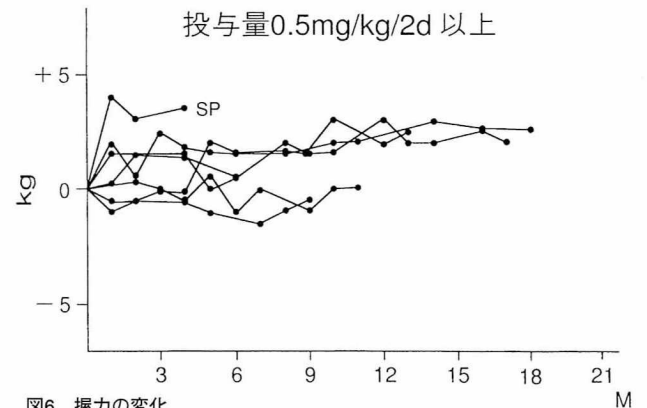


図6 握力の変化

横軸：プレドニン開始後月数

縦軸：プレドニン開始時握力を0とする

プラスの方向に握力増加を示す

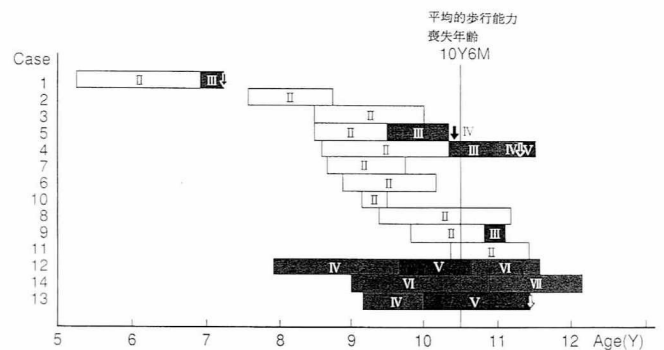


図7 プレドニン治療期間中の機能障害度の推移 (DMD14例)

II 階段昇降可能 V 起立歩行不能、四つ這い可能 + 起立不能
III 椅子から起立可能 VI 四つ這い不能、いざり可能 - 起坐不能
IV 歩行可能 VII いざり不能、坐位保持可能

では投与開始時機能障害度の進んだIV、VIの症例13、14やSP例で改善が見られた。起坐時間ではDMD14例中7例およびSP例で改善が見られた。起立時間では、DMD14例中8例で改善が見られ、症例12では投与前起立不能であったが、投与後6ヶ月まで一時的に可能となった。握力はDMD14例中6例、Becker、FSH、SP各1例で増加が見られた。

5.自覚症状の改善(表3)

転び易さが減り、歩行が安定した、易疲労性が減り、

症例		開始年齢 (Y)	投与量 mg/kg/2d	易転倒 ↓	易疲労性 ↓	歩行安定	その他
2	DMD II	7	0.88				階段昇降が楽になった
3	DMD II	8	0.45	+	+		ロシアンルーレットのレバーがひける
4	DMD II	8	0.74			+	自宅で立たせてもらうのが減った
5	DMD II	8	0.56	+	+		開始10dで改善
6	DMD II	8	0.66	+			
7	DMD II	8	1.01	+		+	階段昇降が楽になった
8	DMD II	9	0.57				階段昇降が楽になった(開始2W)
9	DMD II	9	0.6		+		疲れた後の回復が早い
10	DMD II	9	0.96	+			
11	DMD II	10	0.48	+	+		
12	DMD IV	7	0.34	+			体が軽くなり、四つ這いし易い
15	Becker II	17	0.24		+		持久力(長時間歩行後易疲労性 ↓)
17	FSH II	39	0.26			+	
18	SP II	28	0.52	+			物に揺まらないで座位可能

表3 プレドニン投与による自覚症状改善例

持久力がでた、階段昇降が楽になったなどの自覚症状の改善例が見られた。効果の自覚はDMDおよび他の筋ジストロフィーでも見られた。また投与量の少ない症例12、15、17でも自覚症状の改善効果は得られていた。改善効果は服薬開始10日、あるいは2週より見られた。

6.血清CK値の変動

0.5 mg/Kg/2d未満投与DMD,Becker例と0.5mg/Kg/2d以上投与DMD例の2群に分けて検討した(図8)。両群とも投与開始後1から5ヶ月でCK値の低下が見られ、その後徐々に前値にもどる傾向が見られた。また中には変動の少ない例や低下したCK値が維持される例もあった。投与量とCK値の低下の関係は明らかでなかった。CK変動の少ない症例5、6でも所要時間の改善が得られ(表2)、CK値低下と改善度の関連は明らかでなかった。

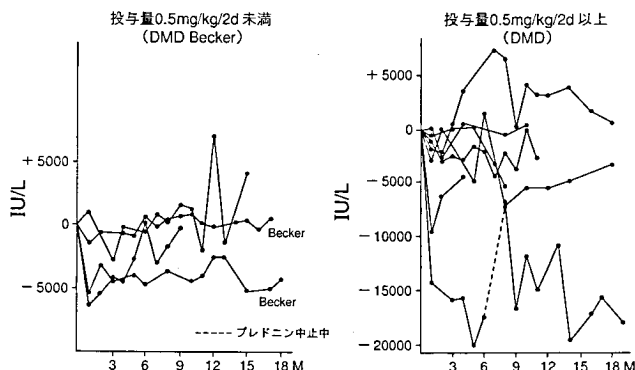


図8 プレドニン投与によるCK変動
横軸：プレドニン開始後月数
縦軸：プレドニン開始時CK値を0とする
マイナスの方向にCK値低下を示す

7.副作用の検討

体重増加はDMD14例中8例および、SP 1例に見られた。一過性コレステロール上昇が17例中4例、にきび1例、長期治療1例にやや多毛傾向がみられた。にきびは3日おきの服薬に変更後改善が見られた。その他血圧、尿異常所見、精神症状、胃腸症状などは認められず、重篤な副作用は見られなかった。図9に投与量0.35 mg/Kg/2d以下、0.35-0.75 mg/Kg/2d、

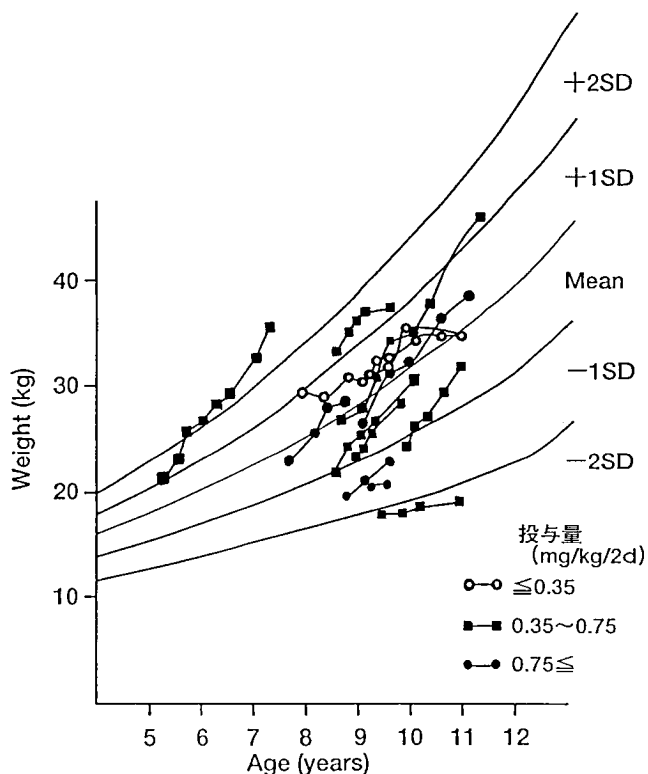


図9 プレドニン投与による体重増加 (DMD例)

0.75mg/Kg/2d以上の3群に分けてDMD例のプレドニン投与中の体重変動を検討した。投与量0.35-0.75、0.75mg/Kg/2d以上の症例では、標準体重曲線より急増しており、一方0.35mg以下のケースではほぼ標準体重曲線に沿って増加しており、プレドニンによる副作用としての体重増加は、投与量が少ない0.35以下では見られなかった。

考 察

1974年Drachmann¹⁾が初めてDMDに対する薬物療法としてプレドニンの有効性を報告して以来、表4に示したように海外では様々な検討がされてきた。無効であったと報告したSiegel²⁾の報告以外はいずれもプレドニンによる筋力や運動機能の改善を報告しているが、その作用機序は不明である。Burrowら¹⁵⁾はプレドニン投与後に筋生検を行い、ジストロフィン量を測定し、投与群と擬薬群で有意差は認められず、ジストロフィン量の改善による筋力改善は否定された。またKisselら¹⁶⁾は免疫組織化学的検討をし、プレドニン投与群でCD8+cytotoxic/Suppressor T細胞およびリンパ球浸潤筋線維数が減少したと報告し、Tリンパ球に関連した免疫学的機序による改善の可能性を示唆した。我々もDMDおよび他の筋ジストロフィーに対してプレドニンを投与し、客観的、主観的改善を得た。

プレドニン治療を始めた当初は、Drachman¹⁾、DeSilvaら⁴⁾の報告では、2-3ヶ月後には初回投与量の2/3に減量しているが、開始時2mg/Kg/d投与と高用量

研究者	対象	投与量	投与期間	結果
Drachman 1974	DMD (3-10Y) n=14	2mg/Kg/d 2-3ヶ月後減量	3-28M	改善
Siegel 1974	DMD (6-9Y) n=14	5mg/Kg/2d(n=7) placebo(n=7)	3Y	無効
Brooke 1987	DMD (5-15Y) n=33	1.5mg/Kg/d	6M	改善
De Silva 1987	DMD (3-10Y) n=16	2mg/Kg/d 2-3ヶ月後減量	1-11Y	改善 歩行可能期間2年延長
Mendel 1989	DMD (5-15Y) n=103	0.75mg/Kg/d(n=33) 1.5mg/Kg/d(n=34) placebo(n=36)	6M	改善 1ヶ月で効果出現、3ヶ月でピーク
Griggs 1991	DMD (5-15Y) n=99	0.3mg/Kg/d(n=33) 0.75mg/Kg/d(n=34) placebo(n=32)	6M	改善 高用量群でより改善
Fenichel 1991	DMD n=49	0.65-0.75mg/Kg/d	12M	改善
Fenichel 1991	DMD N=40	< 0.65mg/Kg/d	12M	改善
Mesa 1991	DMD N=28	1mg/Kg/d(n=14) placebo(n=14)	9M	改善
Griggs 1993	DMD (5-15Y) N=107	0.3mg/Kg/d(n=32) 0.75mg/Kg/d(n=34)	18M (6M placebo)	改善 高用量群でより改善
Sansome 1993	DMD (6-14Y) N=32	0.75mg/Kg/d 月始めの10日	18M	3、6ヶ月で改善 以降緩徐に下降
川井 1993	DMD (10-17Y) N=7	0.8-1mg/Kg/d	8W	改善
Backman 1995	DMD, Becker (4-19Y) N=41	0.35mg/Kg/d	12M (6M placebo)	改善および機能低下の緩徐化
木下 1995	CMD (N=2) Becker, LG (N=12)	1-2mg/Kg/d or 2d 5-10mg/d		
姜 1995	DMD (7Y) N=10	1mg/Kg/2d	120W	48Wで70%が服薬前の運動 機能を維持し短期効果有り 長期効果は乏しい

表4 筋ジストロフィーに対するプレドニン治療

であった。クッシング顔貌、体重増加、行動異常などの副作用は高率に見られ、その後投与量の検討がされてきた。Mendelら⁵⁾は0.75mg/Kg/dと1.5mg/Kg/dで効果を比較検討しているが、両群間で効果および副作用ともに差はなかったと報告している。その後Griggsら⁶⁾はさらに少ない0.3mg/Kg/dと0.75mg/Kg/dで比較検討し、0.75mg/Kg/dの方が副作用(体重増加、クッシング様顔貌、多毛など)は高率であるが、改善もより認められたと言う。Backmanら¹³⁾は0.35mg/Kg/dの少量投与で検討し、機能低下の緩徐化などの有効性を認めている。我々の投与量は隔日投与であるので、一日量に換算すると最少量0.12mg/kg/d、最高量でも0.5mg/kg/dと、海外での使用量に比較しかなり少ない量であるが、運動機能所要時間の改善が得られている。重篤な副作用はなかったが、体重増加についてはやはり半数以上で見られており、投薬量が少なければ(0.35mg/Kg/2d以下)認められていない。しかし投薬中止するほどの体重増加は見られていない。指摘投与量について結論を得るのは困難であるが、少なくとも0.75mg/Kg/d以上の投薬をする必要はないように思われる。

投薬方法についても、副作用を軽減し高い効果を得るための検討がされている。Fenichelら⁷⁾は、隔日投与

と連日投与で比較し、投与後3ヶ月は同等の効果が得られるが、その後は隔日投与の方が効果が劣り、副作用については両群間で差はないと報告した。一方Drachmanら¹⁾は、隔日投与により副作用が軽減したと言っている。Sansomeら¹⁰⁾は、月初めの10日間投与し、連日投与より副作用が少なく改善も得られたと言う。我々の症例のうちSP例で、にきびの副作用軽減目的のため月初め10日間投与したところ、投与期間の10日間と次の10日は改善が得られたが、最後の10日がきつくなると表現していた。プレドニンより副作用が少ないと言われているオキサゾリン誘導体であるDeflazacortの使用での有効性も報告されている^{8) 12)}。

プレドニンの効果はMendelら⁵⁾は投与後1ヶ月で出現し、3ヶ月でピークに達すると報告、Griggsら⁶⁾は10日から1ヶ月で筋力が増強しその後プラト-に達し6ヶ月は持続したと言う。Sansomeら¹⁰⁾も10日で改善が始まり、3ヶ月でmaxに達すると言っている。効果の持続、維持については、Drachmanら¹⁾13例中8例で28ヶ月間、Griggsら⁶⁾の例は18ヶ月は維持したと報告した。姜ら¹³⁾は48週で70%が服薬前の運動機能を維持し、短期効果を認めているも、192週以降は全員ADLを維持できなかったと言う。我々の施設では1ヶ月毎の受診で、客観的効果は1ヶ月受診時より認められており、自覚症状の改善は10日から2週で得られた。効果の持続は、起立時間で12-18ヶ月、起坐時間では最長33ヶ月認められ、握力も投与後18ヶ月で効果持続例があり、運動機能所要時間や握力などの改善効果は2年程度には認められるようである。しかしながら、所要時間の改善を維持している間でも、機能障害度は進展している。階段昇降可能期より投与開始した11例中4例は、平均的歩行能力喪失年齢10歳6ヶ月を超えて歩行可能で、うち1例は11歳6ヶ月で歩行不能となっている。根本的治療でない限り、機能障害度は進展していくわけであるが、進展を緩徐化し歩行可能年齢の延長が見られればプレドニンの効果は有意となるであろう。DeSilvaら⁴⁾は初期投与量2mg/Kg/dで最長11年フォローし、コントロール群のwheelchair bound10.3歳、プレドニン治療例12歳と歩行可能期間が2年延長したと報告している。Backmanら¹³⁾は歩行不能例にも0.35mg/kg/d投与し、歩行可能例に効果は劣るも歩行不能例でも効果、特に肘の伸展および手の屈曲力の改善を得ている。我々の症例14も歩行能力喪失後投与開始し、寝返り時間の改善を得ている。また今回の対象には含まれていないが、車椅子の年長症例にもプレドニン投与を試みており、手の力が少し改善したなど、残存筋力に効果が見られるようで、歩行不能後の症例にも投与を試みる価値はあるかと思われた。興味深い報告では、Dubowitz¹⁴⁾がGowers sign陽性の2歳の症例に対して、プレドニン0.75mg/Kg/dを月初め10日間投与し、走ったり、ジャ

ンブできるようになったと報告している。副作用としては多動性が目立ったと言う。

血清CKは投与2-3週で減少し、3-6ヶ月でもとに戻り、CKレベルの改善と臨床症状の関連はなかったと言う⁷⁾。我々の症例でも投与開始1-5ヶ月はCK減少が見られたが、その後は前値に戻る例、減少した値を維持する例などもあり、一定した傾向は見られなかった。またCK変動の少ない例でも効果が見られ、これまでの報告と同様、CK低下と改善度の関連は認められなかった。

DMD以外の筋ジストロフィ-に対するプレドニンの効果については、Tawilら¹⁴⁾がFSHに1.5mg/kg/dのプレドニン投与を12週行ったが、明らかな効果はなかったと報告している。一方Backmanら¹⁵⁾は、DMDの他にBecker例にも0.35mg/Kg/dの少量投与を行い効果を得ている。我々の対象では、Becker2例、FSH、SP各1例で握力、運動機能所要時間の改善例が見られ、DMD以外の筋ジストロフィ-に対してもプレドニンは試みて見る価値があると思われた。根本的治療が確立していない現在、薬物療法として唯一プレドニンの効果は認められるようである。副作用軽減し、より高い効果を得るための至適投与量、投与方法、投与開始年齢、投与継続期間などの検討がさらに必要であろう。またプレドニン中止後の臨床経過を、未治療群と比較することも検討課題と思われる。

結 語

DMD14例、Becker2例、FSH、SP各1例にプレドニン投与した。投与量は0.24-1.01mg/Kg/2d、投与期間は4-36ヶ月であった。プレドニン開始10日から2週で客観的、主観的改善が出現した。投与量による改善度の顕著な差はなかった。起坐時間に関しては効果の最長持続は33ヶ月、起立時間では約12-18ヶ月であった。一時中止による所要時間の延長および再開による同短縮を認めた。DMDではステ-ジII階段昇降可能に開始した症例中4例が、平均歩行喪失年齢を超えて歩行可能で、うち1例は11歳6ヶ月で歩行不能となった。ステ-ジIV以降開始例では、運動機能所要時間の短縮が認められるも歩行可能期間の延長は得られなかった。重篤な副作用はなかった。CKは開始後1-5ヶ月は減少し、以降前値に戻る例、減少した値が持続する例など様々であった。投与量によるCK減少の程度は一定しなかった。CK変動と改善度の関連は明らかでなかった。プレドニン投与による短期効果は明らかであるが、長期予後への影響はなお不明である。今後至適投与量、方法、投与期間、開始年齢につきさらに検討を要すると思われた。

文 献

1) Drachman DB, Toyka KV, Myer E: Prednisone in Duchenne muscular dystrophy. *Lancet* 2:1409-

- 12,1974
- 2) Siegel IM, Miller JE, Ray RD : Failure of corticosteroid in the treatment of Duchenne(pseudohypertrophic)muscular dystrophy:Report of a clinically matched three year double-blind study.*IMJ* 145:32-3,1974
- 3) Brooke MH, Fenichel GM, Griggs RC : Clinical investigation of Duchenne muscular dystrophy. Interesting results of a trial of prednisone. *Ach Neurol* 44:812-7,1987
- 4) Desilva S, Dracnmann DB, Mellitis D et al. : Prednisone treatment in Duchenne muscular dystrophy: Long-term benefit. *Arch Neurol* 44:812-22,1987
- 5) Mendel JR, Moxley RT, Griggs RC et al. : Randomized, double-blind six-month trial of prednisone in Duchenne muscular dystrophy. *N Engl J Med* 320:1592-7,1989
- 6) Griggs RC, Moxley RT, Mendell JR et al. : Prednisone in Duchenne muscular dystrophy. A randomized, controlled trial defining the time course and dose response. *Arch Neurol* 48:383-8,1991
- 7) Fenichel GM, Mendel JR, Moxley RT et al. : A comparison of daily and alternate-day prednisone therapy in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Arch Neurol* 48:575-9,1991
- 8) Mesa LE, Dubrovsky AL, Corderi J et al. : Steroids in Duchenne muscular dystrophy-Deflazacort trial. *Neuromusc Disord* 1:261-6,1991
- 9) Griggs RC, Moxley RT, Mendell JR et al. : Duchenne dystrophy: Randomized, controlled trial of prednisone (18 months) and azathioprine (12 months). *Neurology* 43:520-7,1993
- 10) Sansome A, Royston P, Dubowitz V: Steroids in Duchenne muscular dystrophy; pilot study of a new low-dose schedule. *Neuromusc Disord* 3:567-9,1993
- 11) Backman E, Henriksson KG : Long-dose prednisolone treatment in Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromusc Disord* 5:233-41,1995
- 12) Reitter B. Deflazacort vs : prednisone in Duchenne muscular dystrophy: trends of an ongoing study. *Brain & Development* 17(suppl):39-49,1995
- 13) 姜 進: <シンポジウム2> 難治性神経疾患の治療の現状 6) デュシャンヌ型筋ジストロフィ-の薬物治療-特に副腎皮質ホルモンについて. *臨床神経* 36:1338-40,1996

- 14) Tawil R,McDermott MP,Pandya S et al. : FSH-DY group.A pilot trial of prednisone in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology* 48:46-9,1997
- 15) Burrow KL,Coovert DD,Klein CJ,Bulmann DE,Kissel JT,Rammohan KW,Burghes AHM,Mendell JR,the CIDD Study Group: Dystrophin expression and somatic reversion in predonisone-treated and untreated Duchenne dystrophy. *Neurology* 41:661-6,1991
- 16) Kissel JT,Burrow KL,Rammohan KW,Mendell JR,the CIDD Study Group: Mononuclear cell analysis of muscle biopsies in predonisone treated and untreated Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 41:667-72,1991
- 17) Workshop report. 47 th ENMC international workshop:treatment of muscular dystrophy 13-15 December 1996,Naaden, the Netherlands. *Neuromusc Disord* 7:261-7,1997

Original article

Clinicopathological study on eyes from cases of Fukuyama type congenital muscular dystrophy

Naomi Hino^{a,*}, Makio Kobayashi^b, Noriyuki Shibata^b, Tomoko Yamamoto^b,
Kayoko Saito^a, Makiko Osawa^a

^aDepartment of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, Kawada-cho 8-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan

^bDepartment of Pathology, Tokyo Women's Medical University, Kawada-cho 8-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan

Received 26 October 2000; received in revised form 11 January 2001; accepted 11 January 2001

Abstract

Fukuyama type congenital muscular dystrophy (FCMD) is an autosomal recessive disorder characterized by progressive muscular dystrophy and dysgenesis of the central nervous system and eyes. To clarify the pathomechanism of the ocular involvement in FCMD, we performed postmortem pathological analyses of eyes from three postnatal FCMD cases, two fetal FCMD cases, and three control cases by macroscopic, histopathological, immunohistochemical and in situ hybridization approaches. The macroscopic and histopathological examinations revealed a variety of ocular abnormalities such as folding, fusion or dysplasia of the retinas in the FCMD cases both with and without ophthalmological alterations. Immunoreactivities for collagen IV and laminin, produced by Müller cells, as the basement membrane components, were less intense in the inner limiting membrane of the FCMD retinas than in that of the control retinas. A number of the perivascular glial cells containing S-100 protein and glial fibrillary acidic protein were increased in the postnatal FCMD cases. Immunoreactivities for vimentin, glutamate transporter-1, glutamine synthase and ornithine aminotransferase, expressed in the Müller cells, were undetectable in the fetal FCMD retinas, and reduced in the postnatal FCMD retinas compared with the control retinas. Fukutin mRNA signals were distributed diffusely in the retinoblast layer of the control retinas, focally in the retinoblast layer of the fetal FCMD retinas, and only in the dysplastic areas with rosette formation of the postnatal FCMD retinas, composed of retinoblasts and other retinal cells including the Müller cells. The present findings suggest that the Müller cells are implicated in the retinal pathology of FCMD. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Autopsy; Eye; Fukutin; Fukuyama type congenital muscular dystrophy; Immunohistochemistry; In situ hybridization; Müller cells; Retinal dysplasia

1. Introduction

Fukuyama type congenital muscular dystrophy (FCMD) is an autosomal recessive disease due to mutations in the gene for fukutin encoded on chromosome 9q31 [1]. In addition to muscle lesions, type 2 lissencephaly and ocular involvement have been reported in FCMD cases [2]. Both these brain and eye lesions are often associated with congenital muscular dystrophies such as Walker-Warburg syndrome (WWS) [3] and muscle-eye-brain disease (MEBD) [4]. The gene linked to MEBD was recently identified on chromosome 1p32-34 [5], while the WWS-linked gene is still unknown. The nosological classification of these disorders is controversial. Ocular manifestations in

FCMD seem to be less remarkable than those of WWS and MEBD, as this tendency has been emphasized [6,7,8]. However, since much new information on ocular abnormalities in FCMD cases has been accumulated, it would be difficult to distinguish FCMD from WWS and MEBD [9]. Thus, it is of importance to study the detailed clinicopathological features of FCMD eyes.

The present study deals with clinical and pathological analyses of eyes from FCMD cases. Previous morphological reports demonstrated a breach of the basement membrane (BM) in both the central nervous system [10–13] and skeletal muscle [14] of FCMD cases. Since the retina belongs to the central nervous system, it is hypothesized that similar changes may occur in the FCMD retinas. The present pathological examinations included histopathological and immunohistochemical approaches, focusing on the Müller cells and BM components as their products, which constitute the inner limiting membrane on the inner surface of the retina.

* Corresponding author. Tel.: +81-3-3353-8111, ext. 31230; fax: +81-3-5269-7338.

E-mail address: naomi-h@zc4.so-net.ne.jp (N. Hino).

Table 1
Clinical characteristics of autopsied postnatal FCMD cases^a

Case	1	2	3
Gender	Male	Female	Male
Haplotype	Homo	Hetero	Hetero
Clinical type	Mild	Typical	Severe
Age at death	14 years 0 months	6 years 10 months	2 years 10 months
Cause of death	Cardiogenic shock	Asphyxia in bath	Congestive heart failure
Family history	+	–	–
Perinatal accident	–	Uteroplacental dysfunction	–
Maximum motor milestone	Ambulant	Sliding	No head control
Verbal development	Fragment of sentences	Fragment of sentences	Phonation
Ophthalmological finding			
Nystagmus	–	+	–
Optic fundi lesion	–	Rough lesion	Retinal detachment
Others	–	–	Vitreous dysplasia, microphthalmia
Seizure	FC → CPS	–	GCS
DQ (examined age)	42 (13:0)	51 (6:7)	71 (0:8)
Neuroradiological findings (MRI/CT)	Cavum septi pellucidi	Delayed myelination, cerebral atrophy	Pachygyria, delayed myelination, brain stem hypoplasia, ventricular dilatation
Muscle biopsy	Myopathic change	E ^b	Myopathic change
Postmortem time	3:30	20:00	2:50
Anatomical diagnosis	FCMD	FCMD	FCMD

^a Abbreviations: CPS, complex partial seizure; FC, febrile convulsion; FCMD, Fukuyama type muscular dystrophy; gwk, gestational weeks; GCS, generalized complex seizure; Hetero, heterotype; Homo, homotype; m, months; NE, not examined; yr, years.

^b History that was not received concerning the results of muscle biopsy at a previous hospital.

Recent molecular genetic investigations identified the FCMD-linked gene *fukutin*. However, both the physiological and pathological functions of the gene product fukutin remain to be determined. To assess a pathogenic role for fukutin in FCMD, we also performed in situ hybridization analysis for fukutin mRNA in FCMD retinas.

2. Materials and methods

2.1. Postmortem pathological examinations

2.1.1. Autopsy cases

We examined brains and eyes obtained at autopsy from three postnatal FCMD patients, cases 1, 2 and 3 (Table 1), two fetal FCMD patients, cases 4 and 5, and three controls, cases 6, 7 and 8 (Table 2). We regarded case 6 as a postnatal control because retinal development is completed by the 36th gestational week. The brains and eyes were macroscopically examined, and the retinas were microscopically studied. The diameters of the eyeballs in cases 1, 2 and 3 were compared with those in age-matched control eyes described previously [15].

The postnatal cases 1, 2 and 3 were evaluated at the Department of Pediatrics of Tokyo Women's Medical University and diagnosed as having FCMD from clinical and muscle biopsy findings. The diagnosis was confirmed by gene analysis for the ancestral haplotype of FCMD at 9q31 [16]. The fetal cases 4 and 5 were diagnosed as having FCMD by prenatal molecular genetic analysis, at their parents request, after the parents granted informed consent

for genetic counseling. Chromosome analysis disclosed 21 trisomy in case 5. None of the parental marriages in these FCMD cases were consanguineous. The father and one of the three younger sisters of case 1 had motor retardation of unknown origin. Two brothers of case 4 and a brother of case 5 were affected with FCMD.

Case 1 showed a mild clinical course, and was clinically indistinguishable from Duchenne type muscular dystrophy with mental retardation. He exhibited no significant ophthalmological alteration. Case 2 showed a typical clinical course with early infancy-onset nystagmus and mottled appearance of retina. Case 3 showed a severe clinical course with marked ophthalmological abnormalities such as retinal detachment, which is also one of the characteristic features of WWS, and suffered from a mild form of Fallot's tetrad.

Table 2
Clinical characteristics of autopsied fetal cases and controls^a

Case	FCMD		Control		
	4	5	6	7	8
Gender	Male	?	Male	Male	?
Haplotype	Homo	Hetero	–	–	–
Clinical type	–	–	–	–	–
Age at death (gestational weeks)	17	14	36	21	10
Postmortem time	4:30	?	16:18	2:50	ND
Anatomical diagnosis	FCMD	FCMD	MCA	CP	?

^a Abbreviations: CP, Cleft palate; FCMD, Fukuyama type muscular dystrophy; gwk, gestational weeks; Hetero, heterotype; Homo, homotype; m, months; MCA, multiple congenital anomalies; ND, not determined.

2.1.2. Tissue preparation

The retinas from the five FCMD cases and three control cases were fixed in 10% formalin and embedded in paraffin. Multiple 4 µm thick sections of each retina were used for histopathology, immunohistochemistry and in situ hybridization.

2.1.3. Histopathology

The retinal sections were stained with hematoxylin-eosin (H&E) and periodic acid-methenamine-silver (PAM). PAM staining selectively depicted the BM.

2.1.4. Immunohistochemistry

The primary antibodies employed for immunohistochemistry were a mouse monoclonal antibody (mAb) to collagen IV (CIV 22; Dako, Glostrup, Denmark; diluted 1:100), a mouse mAb to vimentin (M725; Dako; diluted 1:500), a mouse mAb to glutamine synthase (GS) (6; Transduction Laboratories, Venture Court Lexington, KY, USA; diluted 1:500), a rabbit polyclonal antibody (pAb) to laminin (Progen, Heidelberg, Germany; diluted 1:50), a rabbit pAb to S-100 protein (Dako; diluted 1:800), a rabbit pAb to glial fibrillary acidic protein (GFAP) (Dako; diluted 1:500), a guinea pig pAb to glutamate transporter-1 (GLT-1) (Chemicon, Temacula, CA, USA; diluted 1:1,000), and a rabbit pAb to ornithine aminotransferase (OAT) (kindly donated by Dr T. Matsuzawa; diluted 1:400).

Sections were deparaffinized, rehydrated, quenched with 3% hydrogen peroxide for 10 min at room temperature, for blocking endogenous peroxidase activity, rinsed in phosphate-buffered saline, pH 7.6 (PBS), pretreated with 3% non-immune animal serum for blocking non-specific antibody binding, and then incubated overnight at 4°C with the primary antibodies. Immunoreaction product deposits were visualized with the avidin-biotin-immunoperoxidase complex (ABC) method using the appropriate ABC kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA), 0.2 mg/ml 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride as the chromogen, and 0.002% hydrogen peroxide as the substrate. Immunostained sections were counterstained with hematoxylin. Sections from which the primary antibodies had been omitted served as negative reaction controls. Collagen IV and laminin were used as markers for the BM. S-100 protein, GFAP and vimentin were used as markers for the retinal glial cells including the Müller cells. GLT-1, GS and OAT were used as markers for the Müller cells. Prior to immunostaining with the antibodies to collagen IV and laminin, sections were pretreated with 0.05% proteinase K for 10 min at room temperature. For GS immunostaining, sections were processed for 20 min at 94°C (500 W) in a microwave oven for antigen retrieval. To determine the spatial relationship between the Müller cells and the inner limiting membrane as the BM formed by these cells, the immunohistochemical localization of collagen IV, laminin and vimentin were verified by the mirror image method.

2.1.5. In situ hybridization

DNA probes for in situ hybridization for fukutin mRNA were prepared by the following processes. Total RNA was extracted from non-FCMD human heart muscle using the acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform method [17]. After incubating the extracted RNA with a moloney murine leukemia virus (M-MLV) reverse transcriptase (Life Technologies, Rockville, MD, USA) for 1 h at 37°C, the administered fukutin cDNA was amplified by polymerase chain reaction (PCR) using Takara Ex Taq™ (Takara, Tokyo, Japan) and oligonucleotide primers covering 552–1497 bp of the fukutin gene (Takara). The sequences of the primer set were 5'-GACGGGATAGACTCACTCTC-3' for the sense nucleotide and 5'-TCAATATAACTGGA-TAACCT-3' for the antisense nucleotide. The reaction mixture was processed for 35 cycles in a Zymoreactor thermo-cycler (ATTO, Tokyo, Japan). The PCR amplification profiles consisted of denaturing for 1.5 min at 94°C, annealing for 1 min at 66°C, and extension for 1 min at 72°C. After amplification, the PCR products were electrophoresed in a 1.2% agarose gel. Gels containing DNA at 946 bp corresponding to 552–1497 bp of the fukutin gene were cut and picked up, and the DNA was purified with a BAND-PURE DNA purification kit (Progen, Queensland Australia, Australia). The purified fukutin cDNA was again amplified by PCR, labeled with digoxigenin-11-dUTP (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany), and used as a probe for in situ hybridization.

In situ hybridization analysis was performed on the retinal sections of cases 1, 3, 4 and 7, because postmortem time was less than 5 h in these cases and was uncertain or longer in the other cases. Sections were routinely deparaffinized and rehydrated. Basic proteins on the sections were removed by incubation with 0.2 N HCl for 15 min at room temperature. The sections were washed in 2 × salt sodium citrate (SSC) (1 × SSC = 150 mM NaCl and 15 mM sodium citrate, pH 7.0), pretreated with 10 µg/ml proteinase K (Amresco, Solon, OH, USA) in 20 mM Tris-HCl buffer, pH 7.4, containing 2 mM CaCl₂, for 60 min at 37°C, rinsed in PBS, postfixed in 4% paraformaldehyde in PBS for 5 min, rinsed in PBS, acetylated in freshly made 0.1 M triethanolamine solution, pH 8.0, containing 0.25% acetic anhydride for 10 min, washed three times in 2 × SSC for 5 min, dehydrated, and then air dried. Hybridization was carried out in a moist chamber for 15 h at 42°C. The hybridization mixture contained 2 µg/ml of the digoxigenin-labeled cDNA sense probe, 50% formamide, 5 × SSC, 5 × Denhardt's solution (0.1% Ficoll, 0.1% polyvinylpyrrolidone and 0.1% bovine serum albumin), 0.1% sodium dodecyl sulfate, 100 µg/ml sonicated salmon sperm DNA, and 10% dextran sulfate. The sections were subsequently washed twice in 2 × SSC for 30 min at room temperature, washed twice in 50% formamide/1 × SSC for 10 min at 45°C, and incubated overnight at 4°C with an alkaline phosphatase-conjugated anti-digoxigenin antibody (Roche). The hybridization signals were developed using nitroblue tetrazolium chloride/bromochloroin-

dolyl phosphate according to the manufacturer's instructions (Roche) followed by counterstaining with methyl green. Sections omitting the antisense probe for fukutin mRNA 552–1497 bp or those adding the sense probe were used as negative reaction controls. The location of fukutin mRNA in the retina was verified by comparison with immunolocalization of the markers for the Müller cells and BM.

3. Results

3.1. Macroscopic autopsy findings and histopathological observations

3.1.1. Postnatal FCMD cases

Cases 1 and 2 showed brachycephaly with cerebral and cerebellar micropolygyria but neither pachygyria nor agyria. Case 3 demonstrated micropolygyria, pachygyria and agyria of the cerebrum, and micropolygyria of the cerebellum. No significant macroscopic alterations were seen in the retina or other ocular components of case 1. Microphthalmos was undetectable in case 1, and evident in cases 2 and 3. A cataract was present in case 3.

Histopathological examination revealed retinal dysplasia in H & E-stained sections from all of postnatal FCMD cases. The mild FCMD of case 1 exhibited extensive detachment and local folding and fusion of the retina (Fig. 1A). The inner limiting membrane was discontinuous at the fusing portion of the retina in PAM-stained sections. The typical FCMD of case 2 showed a persistent hyperplastic primary vitreous body (PHPV) with extensive retinal folding, total retinal detachment and a persistent hyaloid artery in H & E-stained sections (Fig. 1B), and discontinuity of the inner limiting membrane in PAM-stained sections. The severe FCMD of case 3 displayed total detachment of the dysplastic retina with partial rosette formation; the rosettes were composed of the inner nuclear layer-like structures mainly of the retinoblasts (Fig. 1C). The PAM stain depicted the BM continuously in the vascular wall and discontinuously the inner limiting membrane-like structures surrounding the rosettes but faintly the outer limiting membrane-like structures enclosed by the rosettes. In addition, the non-vascular BM structures buried in the deep layer of the dysplastic retina were discontinuous in PAM-stained sections (Fig. 1D).

3.1.2. Fetal FCMD cases

Case 4 demonstrated a granular appearance of the cerebral surface, which was prominent in the frontal and parietal lobes, and an immature architecture of the cerebellum. Case 5 showed no significant macroscopic abnormalities of the central nervous system. The control cases did not exhibit any marked changes in the brains and eyes including the retinas. Histopathological examination of H & E- and PAM-stained retinal sections from the control cases disclosed no distinct alterations. Case 4 showed local folding and fusion

of the retina (Fig. 2A), in which the retinal BM structures buried in the fusing portion were discontinuous in contrast to the continuous nature of the vascular BM. The retinoblasts in cases 4 and 5 were arranged as a saw-like protrusion toward the inner limiting membrane (Fig. 2B,C).

3.1.3. Immunohistochemical observations

No immunoreaction product deposits were seen in sections immunostained without the primary antibodies. The findings in the fetal cases are summarized in Tables 3–5. The following findings were confirmed by the mirror image method.

In the fetal control cases, both the inner limiting membrane formed by the Müller cells and the BM of vascular wall were distinctly and evenly immunoreactive with the antibodies to collagen IV and laminin (Fig. 3A). Immunoreactivities for the S-100 protein and GFAP were restricted to the perivascular glial cells. Vimentin immunoreactivity was prominent in endfeet and processes of the Müller cells (Fig. 3B), extending from the inner limiting membrane through the inner plexiform layer and occasionally into the outer plexiform layer of cases 6 and 7, but undetectable in the retina of case 8. GLT-1 and GS were immunohistochemically colocalized with vimentin corresponding to endfeet and processes of the Müller cells in cases 6 and 7 (Fig. 3C,D), and were undetectable in any portions of the retina of case 8. OAT immunoreactivity was restricted to the Müller cell endfeet and processes in cases 6 and 7, and was distributed in the entire portions of the retina in case 8 (Fig. 3E).

In the fetal FCMD cases, immunoreactivities for collagen IV and laminin were uneven or undetectable in the inner limiting membrane with faint staining, while the immunoreactivities for these markers were even in the BM of the vascular wall with distinct staining (Fig. 3F). The structures immunoreactive for collagen IV and laminin bore close resemblance to the PAM-stained BM structures. Immunoreactivities for the S-100 protein and GFAP were undetectable in any portions of the retinas, but were detectable in the optic nerves. No significant vimentin immunoreactivity was found in the fetal FCMD retinas (Fig. 3G). None of the immunoreactivities for GLT-1, GS or OAT were seen in any portions of the fetal FCMD retinas (Fig. 3H,I,J).

We also performed similar immunohistochemical investigations in the postnatal FCMD retinas. Immunolocalization of collagen IV and laminin was similar to that in the fetal FCMD retinas. In addition, the non-vascular BM structures buried in the deep layer of the dysplastic retina of case 3 were unevenly immunoreactive for these BM markers (Fig. 3K), as the PAM stain indicated. Immunoreactivities for the S-100 protein and GFAP were confined to the perivascular glial cells and were more intense than those in the control cases, and the population of immunoreactive perivascular glial cells was higher than that in the control cases. Vimentin immunoreactivity was uneven and less intense in the Müller cell endfeet and processes of the postnatal

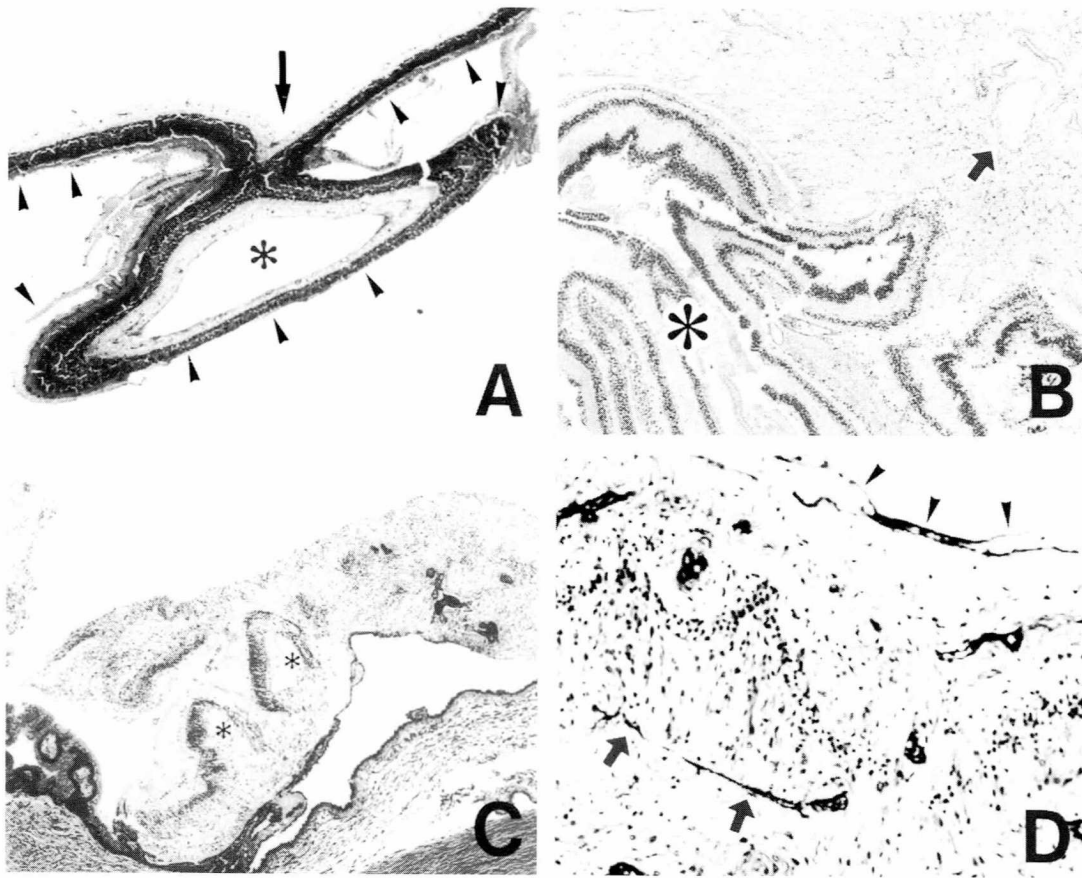


Fig. 1. Histopathology of the retinas from postnatal cases of Fukuyama type congenital muscular dystrophy. (A) Extensive detachment (*arrowheads*) and local folding and fusion (*arrow*) of the retina were seen in case 1 (14 years). Vitreous body (VB) was partially enclosed in a space (*asterisk*) formed by retinal fusion. (B) A persistent hyperplastic primary vitreous body (PHPV) was formed in case 2 (6 years). The retina contained a persistent hyaloid artery (*arrow*) and showed extensive retinal folding (*asterisk*). (C) Retinal dysplasia with rosette formation was found in case 3 (2 years). The rosettes (*asterisks*) were composed of the inner nuclear layer-like structures mainly of the retinoblasts. (D) Retinal dysplasia without rosette formation was also seen in case 3. Both the inner limiting membrane (*arrowheads*) and the basement membrane buried in the deep layer of the retina (*arrows*) are discontinuously depicted, whereas the basement membrane of the vascular wall is continuously depicted. (A–C) Hematoxylin-eosin stain, $\times 10$; (D) Periodic acid-methamine-silver stain, $\times 33$.

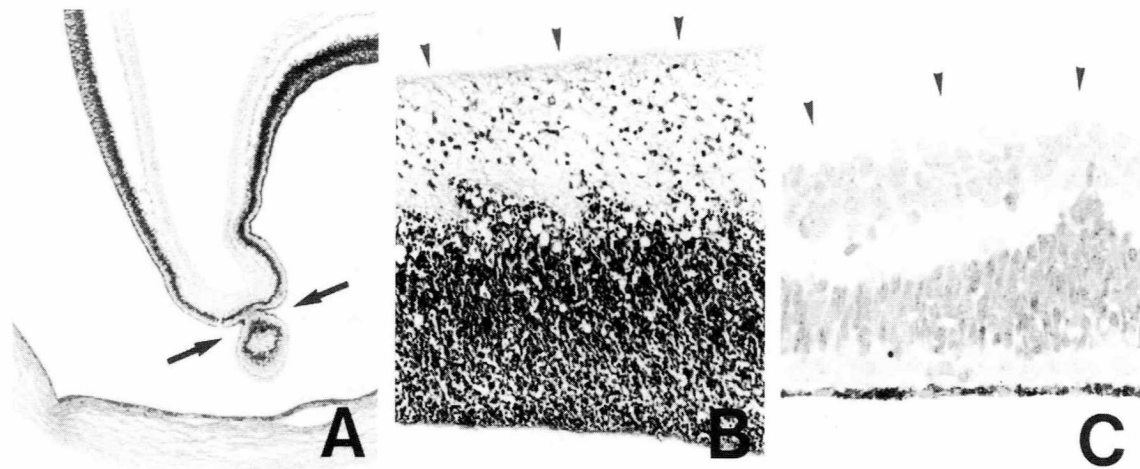


Fig. 2. Histopathology of the retinas from fetal cases of Fukuyama type congenital muscular dystrophy. Local folding and fusion (*arrows*) of the retina was observed in case 4 (17 gestational weeks) (A). A saw-like protrusion of the retinoblast layer toward the inner limiting membrane (*arrowheads*) was seen in case 4 (B) and case 5 (14 gestational weeks) (C). A–C Hematoxylin-eosin stain: A $\times 10$, B $\times 50$, C $\times 100$.

Table 3
Results of immunostaining for BM markers in fetal cases^a

Case	FCMD		Control		
	4	5	6	7	8
Collagen IV					
ILM-BM	± (IR)	±	+	+	+
VW-BM	+	+	+	+	+
Laminin					
ILM-BM	± (IR)	±	+	+	+
VW-BM	+	+	+	+	+

^a Abbreviations: –, not immunoreactive; ±, only weakly immunoreactive; +, distinctly immunoreactive; IR, irregular staining; ILM, inner limiting membrane; BM, basement membrane; VW, vascular wall.

FCMD retinas (Fig. 3L) than those of the control retinas. In addition, in case 3, vimentin immunoreactivity was prominent in the inner limiting membrane-like structures of the dysplastic retina surrounding the rosettes, but was undetectable in the dysplastic retina lacking the rosettes (Fig. 4L). The antibodies to GLT-1, GS and OAT reacted with all of the postnatal FCMD retinas but did not react with any of the fetal FCMD retinas. The immunoreactivities for these Müller cell markers in the postnatal FCMD retinas were, however, less intense than those in the control retinas (Fig. 3L–O).

3.1.4. Expression of fukutin mRNA

No fukutin mRNA signals were seen in sections omitting the antisense probe or adding the sense probe (Fig. 4A,D,G,J). In the fetal control retina, fukutin mRNA signals were densely distributed in the entire retinoblast layer and were mainly composed of retinoblasts and other intermingled cells including the Müller cells (Fig. 4B), whereas vimentin immunoreactivity was localized in the adjacent

Table 4
Results of immunostaining for glial cell markers in fetal cases^a

Cases	FCMD		Control		
	4	5	6	7	8
S-100					
Perivascular glial cell	–	–	+	–	–
Müller cell	–	–	–	–	–
Optic nerve	+	–	+	+	+
GFAP					
Perivascular glial cell	–	–	+	–	–
Müller cell	–	–	–	–	–
Optic nerve	–	–	+	+	–
Vimentin					
Perivascular glial cell	+	–	–	+	–
Müller cell	–	–	+	+	–
Optic nerve	+	+	+	+	+

^a Abbreviations: –, not immunoreactive; +, distinctly immunoreactive.

inner limiting membrane (Fig. 4C). In the fetal FCMD retina, the fukutin mRNA signals were sparsely distributed in the retinoblast layer and more intense in the outer side of the retina (Fig. 4E), in which vimentin immunoreactivity was undetectable in any areas (Fig. 4F). In the postnatal FCMD retinas, the location of the fukutin mRNA signals varied from case to case. In case 1, the signals were preserved in the inner nuclear layer of the partially formed retina and in normal-appearing regions, and reduced in deformed regions compared with the control retina. In case 3, there were two signal expression patterns in the retina as follows. In the dysplastic retina with rosette formation, the mRNA signals were localized in the inner nuclear layer-like structures (Fig. 4H) adjacent to the vimentin-immunoreactive Müller cell endfeet and processes (Fig. 4I). In the dysplastic retina without rosette formation, the signals similar to vimentin immunoreactivity were obscure or negative (Fig. 4K,L).

4. Discussion

The present clinicopathological study demonstrated a variety of macroscopic and microscopic ocular features such as microphthalmos, PHPV, cataract-like lens lesion, retinal dysplasia and other microscopic retinal lesions in the FCMD cases both with and without ophthalmological alterations. Microphthalmos, which had not been observed in our previous clinical survey of FCMD [18], was pathologically observed in case 3 who showed clinical features of microphthalmos [16]. This is the first case showing clinically apparent microphthalmos. Furthermore, microphthalmos was demonstrated pathologically in case 2 with subclinical microphthalmos. There are no previous studies reporting similar clinicopathological findings. Retinal dysplasia was found only in the postnatal FCMD cases, and the severity of retinal dysplasia seemed to be parallel to that of the neurological features. Retinal dysplasia consisted of the detachment, folding or fusion, or rosette formation of the retinas. The discontinuity of both the inner limiting membrane and the BM structures buried in fusing portions or the deep layers of the retina formed a striking contrast to the continuity of the BM of the vascular wall. Thus, the defects of the BM produced by the Müller cells may be of relevance to retinal dysplasia. It is of interest that the retinal dysplasia observed in the present FCMD cases was one of the major ophthalmological features in WWS. Local folding and fusion of the retina and a saw-like protrusion of the retinoblasts toward the inner limiting membrane observed in the fetal FCMD cases may be the initial changes of retinal dysplasia. These observations indicate that ocular involvement is not rare but rather typical of FCMD eyes, and suggests that retinal dysplasia begins during the fetal period.

To determine whether FCMD retinas possess BM abnormalities as well as those in FCMD brains and muscles

Table 5
Results of immunostaining for Müller cell markers in fetal cases^a

Cases	FCMD		Control		
	4	5	6	7	8
Vimentin					
Endfeet	–	–	+	+	–
Processes	–	–	+	+	–
Other positive areas	Ciliary body	Ciliary body	All layers	All layers	Ora serrata
GLT-1					
Endfeet	–	–	+	+	–
Processes	–	–	+	–	–
Other positive areas		All layers	All layers		
GS					
Endfeet	–	–	+	+	–
Processes	–	–	+	–	–
Other positive areas		All layers	All layers		
OAT					
Endfeet	–	–	+	+	–
Processes	–	–	+	–	–
Other positive areas		All layers	All layers	All layers	

^a Abbreviations: –, not immunoreactive; +, distinctly immunoreactive.

evidenced by electron microscopic and immunohistochemical approaches [14,19,20], we analyzed the immunohistochemical localization of collagen IV and laminin as the major components of the BM. The loss of these substances is thought to affect normal BM functions. The present finding of discontinuous and faint immunostaining patterns for the BM components in the inner limiting membrane formed by the Müller cells of the FCMD retinas was similar to that previously shown in the brains and muscles of FCMD cases [19–21] and non-Fukuyama type congenital muscular dystrophy [21,22]. In addition, the finding of well preserved staining for the BM components in the vascular wall in contrast to the poorly stained inner limiting membrane suggests that the Müller cells are susceptible to the pathomechanisms of FCMD. Collagen IV and laminin are extracellular matrix proteins, and their molecular weights are 300 kDa and 850–1000 kDa, respectively. Since laminin and other BM components not only contribute to the blood brain barrier function but also serve as a guide to migration of the cerebral neurons in collaboration with their receptor $\alpha 6 \beta 1$ integrin [23–26], it is likely that the defects of these substances may cause overmigration of the retinal neurons. Furthermore, $\alpha 6 \beta 1$ integrin, one of the adhesive factors [27], may be involved in retinal fusion.

In the central nervous system, the S-100 protein is a glial acidic protein, and GFAP is a cytoskeletal protein of astrocytic intermediate filaments. The levels of these proteins have been shown to be basically low in the retinal glial cells, including the perivascular glial cells and Müller cells of normal human subjects [28,29] and to be elevated in those of patients with retinal disorders such as retinal detachment in the processes of tissue repair [30,31]. Thus,

the present findings of the lack of the S-100 protein and GFAP in the perivascular glial cells and Müller cells of the fetal FCMD retinas and the increased number of immunoreactive perivascular glial cells but not Müller cells in the postnatal FCMD retinas suggest that maturation of the retinal glial cells, especially the Müller cells, was slower in FCMD than in controls. In respect to this finding, vimentin immunoreactivity was also reduced in the Müller cells of the FCMD retinas, because vimentin is an intermediate filament protein expressed in the Müller cells. Previous studies have shown that both the levels of vimentin and number of the Müller cells are increased in several retinal disorders [32], but not in FCMD, the latter finding is consistent with the present observations. These findings suggest the selective vulnerability of the Müller cells to FCMD.

The Müller cells form the inner and outer limiting membranes to pack up other retinal cells [33], and accomplish metabolic control to maintain the retinal neurons, including energy supply, waste scavenging, ionic homeostasis, and transmitter recycling [34]. The major neurotransmitters in the retina are ‘excitatory’ glutamate and ‘inhibitory’ γ -aminobutyric acid (GABA). Glutamate is synthesized by transamination of α -ketoglutarate in a subset of retinal neurons. When glutamate is released into the synaptic space, GLT-1 on the cell membrane of the Müller cells promptly removes any excess glutamate from the synaptic space to protect the retinal neurons against glutamate excitotoxicity [35]. Subsequently, glutamate is converted to ornithine by OAT or to glutamine by GS in the Müller cells [36,37]. GABA is synthesized by decarboxylation of ornithine or glutamate in other retinal neurons [38]. Thus, OAT and GS for glutamate detoxification and

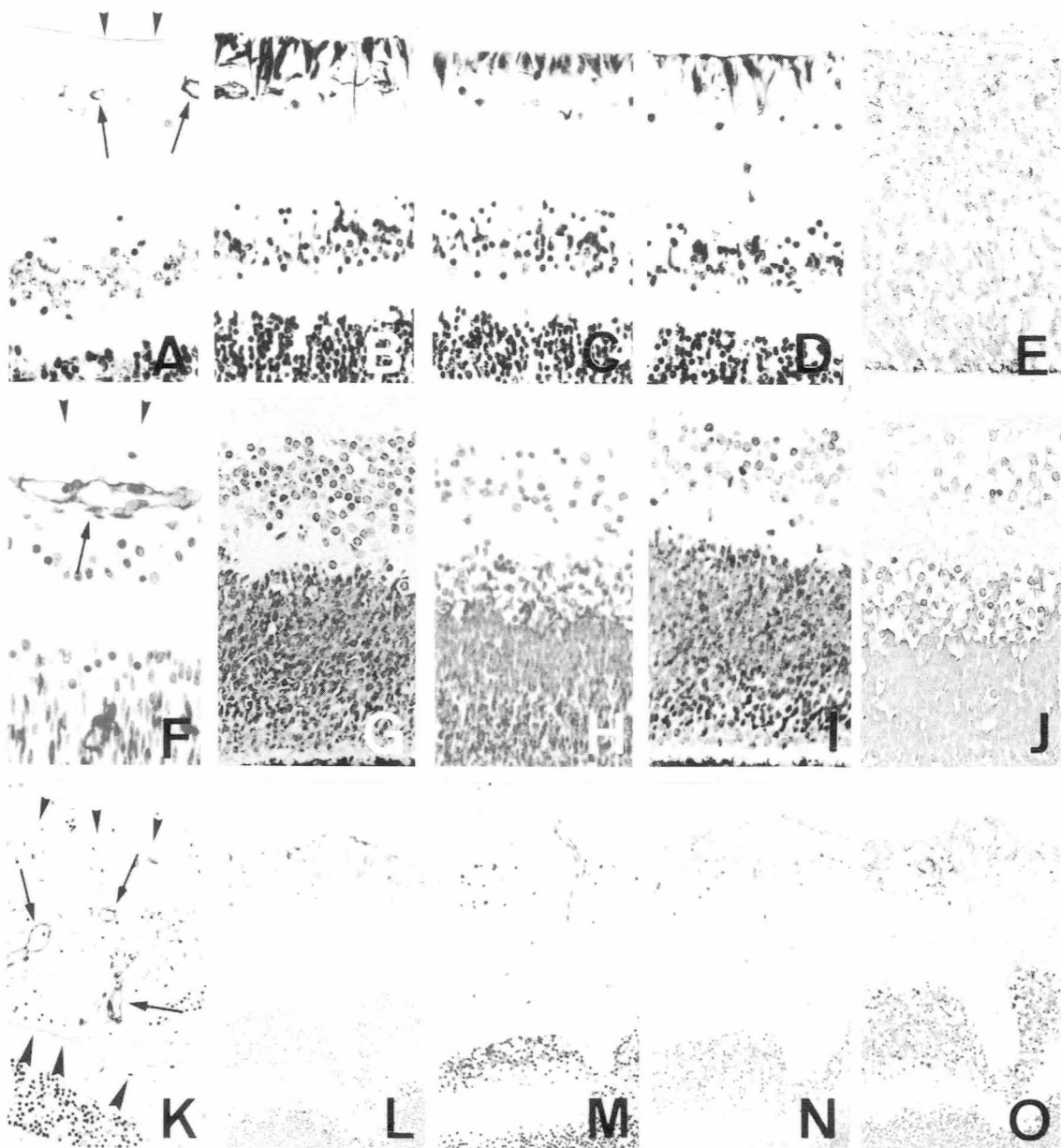


Fig. 3. Immunohistochemistry for collagen IV (A, F, K), vimentin (B, G, L), glutamate transporter-1 (GLT-1) (C, H, M), glutamine synthase (GS) (D, I, N) and ornithine aminotransferase (OAT) (E, J, O) in the retinas of control cases (A–E), and fetal (F–J) and postnatal (K–O) cases of Fukuyama type congenital muscular dystrophy (FCMD). Collagen IV immunoreactivity in the inner limiting membrane (*small arrowheads*) is distinct and even in fetal control case 6 (36 gestational weeks) (A), and faint and uneven or undetectable in fetal FCMD case 4 (17 gestational weeks) (F) and postnatal FCMD case 3 (2 years) (K). In case 3, the non-vascular basement membrane structures (*large arrowheads*) buried in the deep layer of the retina are also discontinuously immunoreactive (K). The basement membrane of the vascular wall (*arrows*) is evenly depicted in control case 6 (A), fetal FCMD case 4 (F), and postnatal FCMD case 3 (K). Immunoreactivities for vimentin, GLT-1 and GS in endfeet and processes of Müller cells are distinct in control case 6 (B–D), faint or undetectable in fetal FCMD case 5 (14 gestational weeks) (G, I) and case 4 (H), and detectable but less intense in postnatal FCMD case 1 (14 years) (L–N) compared with those in control case 6. OAT immunoreactivity was detected with granular staining in control case 8 (10 gestational weeks) (E), faint or undetectable in fetal FCMD case 4 (J), and detectable but less intense in postnatal FCMD case 1 (O). A–O Avidin-biotin-immunoperoxidase complex method; A, F $\times 100$, B–E $\times 80$, G–J $\times 80$, K–O $\times 33$.

GLT-1 for glutamate uptake are thought to be metabolic markers specific for the Müller cells [35–37]. In consideration of these observations, to determine whether glutamate metabolism mediated by the Müller cells is involved in FCMD, we analyzed the immunohistochemical localization

of OAT, GS and GLT-1 in the FCMD retinas. The present finding of the lack of these proteins could indicate that glutamate excitotoxicity, due to altered glutamate metabolism of the Müller cells, is involved in the retinal pathology of FCMD.

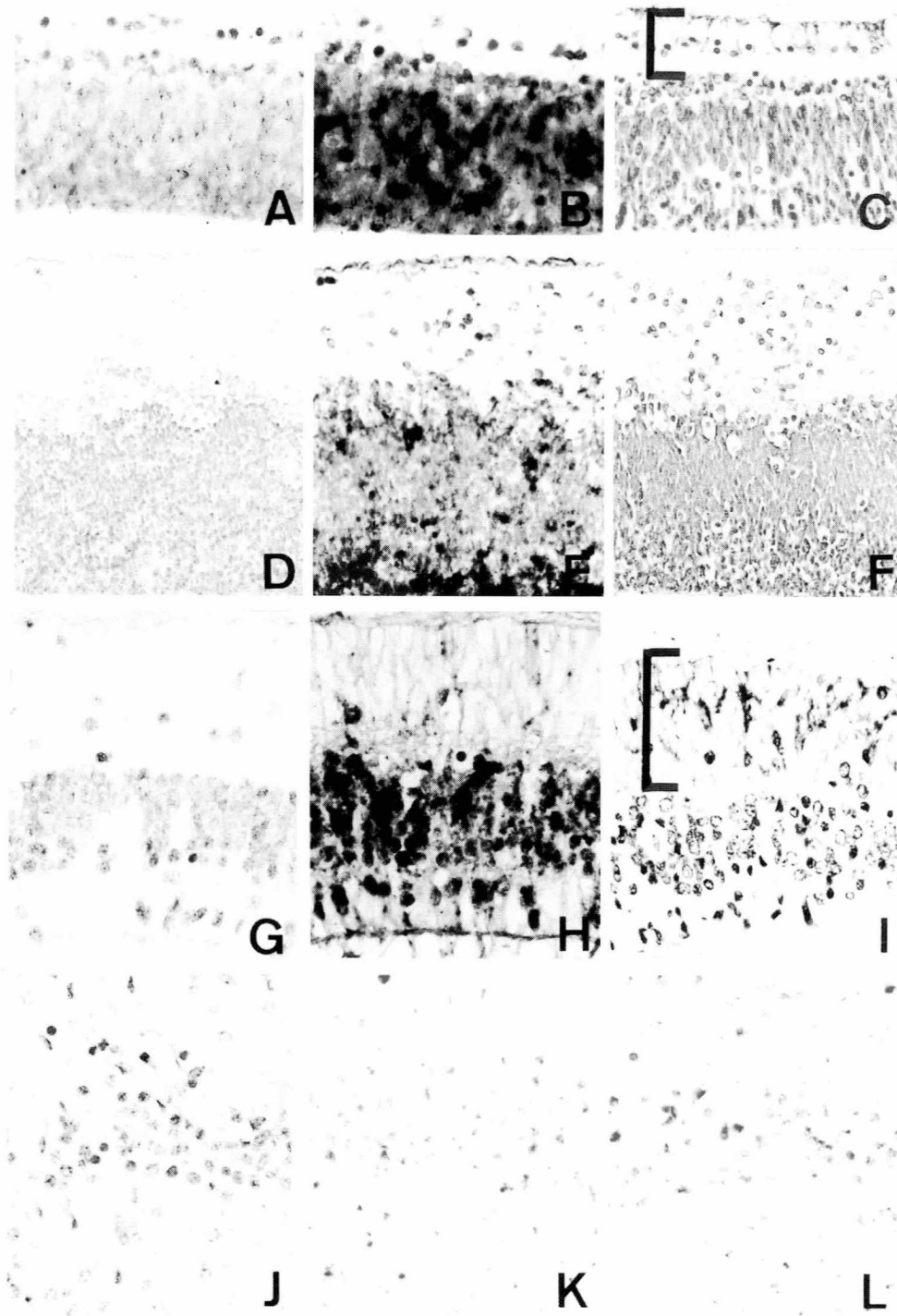


Fig. 4. In situ hybridization for fukutin mRNA and immunohistochemistry for vimentin in consecutive retinal sections from control case 7 (21 gestational weeks) (A–C), fetal FCMD case 4 (17 gestational weeks) (D–F), and postnatal FCMD case 3 (2 years) (G–L). No signals appeared in negative reaction controls (A, D, G, J). In the control retina, fukutin mRNA signals are densely distributed in the entire portions of the retinoblast layer (B) adjacent to the endfeet and processes of the Müller cells immunoreactive for vimentin (C) (*square bracket*). In the fetal FCMD retina, the mRNA signals are sparsely distributed in the retinoblast layer and more intense outside, whereas no significant vimentin immunoreactivity is seen in any areas of the retina (E, F). In the dysplastic retina with rosette formation, the fukutin mRNA signals are localized in the inner limiting membrane-like structures (H) adjacent to the vimentin-immunoreactive Müller cell endfeet and processes (I) (*square bracket*). In the dysplastic retina without rosette formation, both the fukutin mRNA signals and vimentin immunoreactivity are obscure or negative (K, L). A, B, D, E, G, H, J, K Hybridization with digoxigenin-labeled fukutin cDNA probes; C, F, I, L Avidin-biotin-immunoperoxidase complex method; A–L $\times 100$.

The function and location of the fukutin gene product remains to be clarified. In the present study, fukutin mRNA was expressed diffusely in the retinoblast layer of the control retina, and focally in the retinoblast layer of the fetal FCMD retinas and in the inner nuclear layer of the postnatal FCMD retinas. Moreover, in the dysplastic retina of postnatal FCMD, the mRNA signals were restricted to the inner nuclear layer-like structures with rosette formation, and the population of signal-containing cells was lower than that in the control retinas. Since the retinoblast layer, the inner nuclear layer and inner nuclear layer-like structures all contain the perikarya of the retinal neurons and other retinal cells including the Müller cells, fukutin may be closely relevant to cell-to-cell interactions of the retinoblasts with the Müller cells, and the downregulation of fukutin mRNA may be responsible for retinal dysplasia. This is consistent with recent evidence that there are no FCMD patients carrying non-founder mutations in the fukutin gene on both alleles, suggesting that certain levels of fukutin may be essential for life [39,40].

Although the disease entity of FCMD has been established, it is also known that there are some FCMD-like genetic syndromes such as WWS and MEBD, characterized by congenital muscular dystrophy and congenital malformations of the brain (type 2 lissencephaly, progressive hydrocephalus and encephalocele) and eye (severe myopia, corneal opacities, retinal dysplasia, and microphthalmos) [3,4]. Attempts have been made to distinguish these disorders according to the differences in the frequencies of the complications and the severity of the clinical features [3,5,6,40–43]. For example, ocular complications have been shown to be less frequent and less severe in FCMD than in WWS and MEBD. In contrast, there is a clinical case report of two siblings showing that the elder brother with typical FCMD was affected by a retinal detachment while the younger had an encephalocele typical of WWS [44]. From the present and our previous clinical descriptions of FCMD eyes, ‘round lesions’ at the periphery of the retina and abnormal eye movements were significant [18,45,46]. Round lesions have also been described as ‘uneven and grayish mottling of the retina’ in a typical FCMD case, and as a ‘sharply defined rings with atrophic patches’ in a mild FCMD case [18,45,47]. Furthermore, the present study showed several eye lesions including retinal dysplasia in FCMD cases without ophthalmological deficits. Although it remains to be determined whether FCMD is clinicopathologically distinguishable from WWS and MEBD, there may be a pathological process common to these disorders.

In conclusion, we have demonstrated a variety of pathological features of FCMD eyes. Of these features, retinal dysplasia was the most striking, and it is likely that the initial changes in the retinal dysplasia may occur during fetal period. The reduced levels of the BM components, cytoskeletal proteins and glutamate metabolism-related proteins produced by the Müller cells in the FCMD eyes suggest that the defective properties of the Müller cells are

implicated in the retinal pathology of FCMD. The downregulation of fukutin mRNA in the retinoblasts, Müller cells and other retinal cells in the dysplastic retina with rosette formation points to a role for the altered cell-to-cell interaction by mutant fukutin in FCMD-associated retinopathy. Finally, elucidating the functions of the gene products linked to FCMD, WWS and MEBD in association with the behavior of the Müller cells will offer a key to the clarification of the pathomechanisms of these disorders and may contribute to the development of therapeutic strategies.

(Presented in part as a poster at XIV th International Congress of Neuropathology, Birmingham, England, UK, September 3-6, 2000.)

Acknowledgements

The authors thank Dr Kenichiro Kaneko for introducing case 3 to our hospital and are indebted to Yoichiro Kato for valuable advice and encouragement. Thanks also to M. Karita, H. Takeiri, N. Sakayori and S. Iwasaki for their excellent technical assistance. The study was supported, in partially, by a grant (grant no. 11-1) for muscular dystrophy from the Ministry of Health, Welfare and Sports.

References

- [1] Toda T, Ikegawa S, Okui K, Kondo E, Saito K, Fukuyama Y, et al. Refined mapping of a gene responsible for Fukuyama-type congenital muscular dystrophy: evidence for strong linkage disequilibrium. *Am J Hum Genet* 1994;55:946–950.
- [2] Saito K, Osawa M, Wang ZP, Ikeya K, Fukuyama Y, Kondo-Iida E, et al. Haplotype-phenotype correlation in Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Am J Med Genet* 2000;92:184–190.
- [3] Dobyns WB, Pagon RA, Armstrong D, Curry CJ, Greenberg F, Grix A, et al. Diagnostic criteria for Walker-Warburg syndrome. *Am J Med Genet* 1989;32:195–210.
- [4] Santavuori P, Somer H, Sainio K, Rapola J, Kruus S, Nikitin T, et al. Muscle-eye-brain disease (MEB). *Brain Dev* 1989;11:147–153.
- [5] Cormand B, Avela K, Pihko H, Santavuori P, Talim B, Topaloglu H, et al. Assignment of the muscle-eye-brain disease gene to 1p32-p34 by linkage analysis and homozygosity mapping. *Am J Hum Genet* 1999;64:126–135.
- [6] Yoshioka M, Kuroki S, Kondo T. Ocular manifestations in Fukuyama type congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1990;12:423–426.
- [7] Yoshioka M, Kuroki S. Clinical spectrum and genetic studies of Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Am J Med Genet* 1994;53:245–250.
- [8] Haltia M, Leivo I, Somer H, Pihko H, Paetau A, Kivela T, et al. Muscle-eye-brain disease: a neuropathological study. *Ann Neurol* 1997;41:173–180.
- [9] Kimura S, Sasaki Y, Kobayashi T, Ohtsuki N, Tanaka Y, Hara M, et al. Fukuyama-type congenital muscular dystrophy and the Walker-Warburg syndrome. *Brain Dev* 1993;15:182–191.
- [10] Takada K, Nakamura H, Suzumori K, Ishikawa T, Sugiyama N. Cortical dysplasia in a 23-week fetus with Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMD). *Acta Neuropathol (Berl)* 1987;74:300–306.
- [11] Nakano I, Funahashi M, Takada K, Toda T. Are breaches in the glia limitans the primary cause of the micropolygyria in Fukuyama-type

- congenital muscular dystrophy (FCMD)? Pathological study of the cerebral cortex of a FCMD fetus. *Acta Neuropathol (Berlin)* 1996;91:313–321.
- [12] Yamamoto T, Komori T, Shibata N, Kobayashi M, Kondo E, Saito K, et al. Fukuyama congenital muscular dystrophy: cortical dysplasia of the cerebrum in a 20-week fetus. *Neuropathology* 1996;16:184–189.
- [13] Yamamoto T, Toyoda C, Kobayashi M, Kondo E, Saito K, Osawa M. Pial-glial barrier abnormalities in fetuses with Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 1997;19:35–42.
- [14] Ishii H, Hayashi YK, Nonaka I, Arahata K. Electron microscopic examination of basal lamina in Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Neuromuscular Disord* 1997;7:191–197.
- [15] Suzuki T. *Nipponjin no karada* (in Japanese). Tokyo: Asakurashoten, 1996.
- [16] Fukuyama Y, Osawa M, Suzuki H. Congenital progressive muscular dystrophy of the Fukuyama type—clinical, genetic and pathological considerations. *Brain Dev* 1981;3:1–29.
- [17] Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156–159.
- [18] Osawa M, Sumida S, Suzuki N, Arai Y, Ikenaka H, Murasugi H, et al. Fukuyama type congenital progressive muscular dystrophy. In: Fukuyama Y, Osawa M, Saito K, et al., editors. *Congenital muscular dystrophies*. Amsterdam: Elsevier, 1997. pp. 31–68.
- [19] Matsubara S, Mizuno Y, Kitaguchi T, Isozaki E, Miyamoto K, Hirai S. Fukuyama-type congenital muscular dystrophy: close relation between changes in the muscle basal lamina and plasma membrane. *Neuromuscular Disord* 1999;9:388–398.
- [20] Yamamoto T, Shibata N, Kanazawa M, Kobayashi M, Komori T, Ikeya K, et al. Localization of laminin subunits in the central nervous system in Fukuyama congenital muscular dystrophy: an immunohistochemical investigation. *Acta Neuropathol (Berl)* 1997;94:173–179.
- [21] ter Laak XHJ, Leyten QH, Gabreels FJ, Kuppen H, Renier WO, Sengers RC. Laminin- $\alpha 2$ (merosin), β -dystroglycan, α -sarcoglycan (adhalin), and dystrophin expression in congenital muscular dystrophies: An immunohistochemical study. *Clin Neurol Neurosurg* 1998;100:5–10.
- [22] Taratuto AL, Lubieniecki F, Diaz D, Schultz M, Ruggieri V, Saccoliti M, et al. Merosin-deficient congenital muscular dystrophy associated with abnormal cerebral cortical gyration: an autopsy study. *Neuromuscular Disord* 1999;9:86–94.
- [23] Aumailley M, Smyth N. The role of laminins in basement membrane function. *J Anat* 1998;193:1–21.
- [24] Miyagoe-Suzuki Y, Nakagawa M, Takeda S. Merosin and congenital muscular dystrophy. *Microsc Res Tech* 2000;48:181–191.
- [25] de Curtis I, Quaranta V, Tamura RN, Reichardt LF. Laminin receptors in the retina: sequence analysis of the chick integrin $\alpha 6$ subunit. Evidence for transcriptional and posttranslational regulation. *J Cell Biol* 1991;113:405–416.
- [26] Georges-Labouesse E, Mark M, Messaddeq N, Gansmuller A. Essential role of $\alpha 6$ integrins in cortical and retinal lamination. *Curr Biol* 1998;8:983–986.
- [27] Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992;69:11–25.
- [28] Molnar ML, Stefansson K, Marton LS, Tripathi RC, Molnar GK. Distribution of S-100 protein and glial fibrillary acidic protein in normal and gliotic human retina. *Exp Eye Res* 1984;38:27–34.
- [29] Chevez P, Font RL. Practical applications of some antibodies labeling the human retina. *Histol Histopathol* 1993;8:437–442.
- [30] Ben Ezra D, Chan CC. S-100 antigenic determinants in human retina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1987;225:151–153.
- [31] Erickson PA, Fisher SK, Guerin CJ, Anderson DH, Kaska DD. Glial fibrillary acidic protein increase in Müller cells after retinal detachment. *Exp Eye Res* 1987;44:37–48.
- [32] Bek T. Glial cell involvement in vascular occlusion of diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol Scand* 1997;75:239–243.
- [33] Robinson SR, Dreher Z. Müller cells in adult rabbit retina: morphology, distribution and implications for function and development. *J Comp Neurol* 1990;292:178–192.
- [34] Newman E, Reichenbach A. The Müller cell: a functional element of the retina. *Trends Neurosci* 1996;19:307–312.
- [35] Vandenbranden CA, Yazulla S, Studholme KM, Kamphuis W, Kamermans M. Immunocytochemical localization of the glutamate transporter GLT-1 in goldfish (*Carassius aurantus*) retina. *Comp Neurol* 2000;423:440–451.
- [36] Kasahara M, Matsuzawa T, Kokubo M, Gushiken Y, Tashiro K, Koide T, et al. Immunohistochemical localization of ornithine aminotransferase in normal rat tissues by Fab'-horseradish peroxidase conjugates. *J Histochem Cytochem* 1986;34:1385–1388.
- [37] Linsler PJ, Moscona AA. Induction of glutamine synthetase in embryonic neural retina: its suppression by the gliatoxic agent alpha-aminoadipic acid. *Brain Res* 1981;227:103–119.
- [38] Daune G, Seiler N. Interrelationships between ornithine, glutamate, and GABA. II. Consequences of inhibition of GABA- T and ornithine aminotransferase in brain. *Neurochem Res* 1988;13:69–75.
- [39] Kondo-Iida E, Kobayashi K, Watanabe M, Sasaki J, Kumagai T, Koide H, et al. Novel mutations and genotype-phenotype relationships in 107 families with Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD). *Hum Mol Genet* 1999;8:2303–2309.
- [40] Toda T, Kobayashi K. Fukuyama-type congenital muscular dystrophy: the first human disease to be caused by ancient retrotransposal integration. *J Mol Med* 1999;77:816–823.
- [41] Heggie P, Grossniklaus HE, Roessmann U, Chou SM, Cruse RP. Cerebro-ocular dysplasia-muscular dystrophy syndrome: report of two cases. *Arch Ophthalmol* 1987;105:520–524.
- [42] Dobyns WB. Classification of the cerebro-oculo-muscular syndrome(s). Commentary to Kimura's paper (pp 182-191). *Brain Dev* 1993;15:242–244.
- [43] Takada K. Fukuyama-type congenital muscular dystrophy and Walker-Warburg syndrome. Commentary to Kimura's paper (pp 182-191). *Brain Dev* 1993;15:244–245.
- [44] Toda T, Yoshioka M, Nakahori Y, Kanazawa I, Nakamura Y, Nakagome Y. Genetic identity of Fukuyama-type congenital muscular dystrophy and Walker-Warburg syndrome. *Ann Neurol* 1995;37:99–101.
- [45] Chijiwa T, Nishimura M, Inomata H, Yamana T, Nakazaki O, Kurokawa T. Ocular manifestations of congenital muscular dystrophy (Fukuyama type). *Ann Ophthalmol* 1983;15:921–923, 926–928.
- [46] Osawa M, Arai Y, Ikenaka H, Murasugi N, Sumida S, Okada N, et al. Fukuyama type congenital progressive muscular dystrophy. *Acta Paediatr Jpn (Tokyo)* 1991;33:261–269.
- [47] Mishima H, Hirata H, Ono H, Choshi K, Nishi Y, Fukuda K. A Fukuyama type congenital muscular dystrophy associated with atypical gyrate atrophy of the choroid and retina: a case report. *Acta Ophthalmol* 1985;63:155–159.



The *lacZ* gene under the control of the 7 kb of human dystrophin muscle specific promoter is expressed in cardiac muscle but not in adult skeletal muscle in transgenic mice

Masakatsu Ogawa^a, Tadasi Kaname^b, Shigemi Kimura^{a,*}, Ikuyo Kawasaki^c, Keiko Nomura^a, Misao Suzuki^b, Teruhisa Miike^a, Ken-ichi Yamamura^{b,c}

^aDepartment of Child Development, Kumamoto University School of Medicine, 1-1-1 Honjou, Kumamoto, Japan

^bDivision of Transgenic Technology, Center for Animal Resources and Development, Kumamoto University, Kumamoto, Japan

^cDepartment of Developmental Genetics, Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University School of Medicine, Kumamoto, Japan

Received 29 April 2000; accepted 7 August 2000

Abstract

In previous transgenic studies, we reported a 0.9 kb fragment from a mouse dystrophin muscle promoter that contains the regulatory elements required for expression of dystrophin only in the right heart. In this study, to further characterize the regulation of muscle type of promoter, we analyzed promoter activity and tissue specificity using a total 14 kb fragment around the human dystrophin muscular-specific exon 1 in vitro and in vivo. In vitro analysis showed that the *lacZ* construct of the 7 kb promoter and 7 kb intron 1 was expressed 2.5 times as strong as the *lacZ* construct of only the 7 kb promoter in C2/4 myotubes. In vivo analysis revealed expression of both constructs in the whole heart, skeletal muscle and vascular smooth muscle in embryos. However, in adults, the expression in skeletal muscle disappeared. We conclude that the 7 kb upstream region and the 7 kb intronic region included responsible elements for the expression in the heart, but not in skeletal muscle in vivo. It is possible that a strong enhancer element for skeletal muscle exists in some other region. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Dystrophin; Promoter; Heart; Skeletal muscle; *lacZ*; transgenic mouse

1. Introduction

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is an X-linked recessive disorder characterized by progressive loss of muscular strength that occurs in approximately 1 out of 5000 live born males [1]. The affected gene is called the dystrophin gene, and occupies a more than 2500 kb segment of the Xp21 region. The dystrophin gene codes for the 427 kDa dystrophin protein, which is localized mainly in the sarcolemma of the muscle fiber. Several forms of mRNA that have a different exon 1 are transcribed from the dystrophin gene by different promoters, and the protein isoforms are expressed in a tissue-specific manner. The skeletal muscle type was discovered first, and its entire 14 kb cDNA sequence was reported by Koenig et al. [2]. Seventy-nine exons have also been reported by Roberts et al. [3]. Mutations of each exon in DMD patients have been well investigated [4], however, characteristics of the promo-

ter region of the gene remain poorly understood, especially those in vivo.

Recently, anomalies in the dystrophin gene have been discovered in families affected by X-linked dilated cardiomyopathy (XLDCM), and accompanying defects in the vicinity of exon 1 of the skeletal muscle type isoform have been reported by Muntoni et al. [5–8], Milasin et al. [9], and Yoshida et al. [10]. In each of these families, despite the presence of defects in the dystrophin gene, there is almost no accompanying loss of muscular strength. Furthermore, the only symptom is dilated cardiomyopathy. These findings suggested that there would be several enhancers specific for cardiac muscles in this region. We also analyzed dystrophin promoter region in six DMD patients who had no detectable deletions by the Chamberlain [11] and Beggs [12] multiplex polymerase chain reaction (PCR) method. The mutation of dystrophin promoter region or first intron was found in three of their patients. These results suggested that the deletion of the first intron or the muscle type specific promoter element might be responsible for their disease [13].

Therefore, analysis of the regulation of the skeletal

* Corresponding author. Tel.: +81-96-373 5197; fax: +81-96-373 5200.
E-mail address: kimusige@kaiju.medic.kumamoto-u.ac.jp (S. Kimura).

muscle type promoter *in vivo* is important to gain an understanding of the mechanism of XLDCM and DMD.

In order to characterize the promoter region *in vivo*, we produced transgenic mice using the mouse skeletal muscle type dystrophin promoter with the *lacZ* reporter gene [14]. We found that a 0.9 kb upstream region of the skeletal muscle type promoter directed the expression of the transgene in the right ventricle of the heart but not in skeletal muscle of transgenic mice. Since the 0.9 kb fragment contained E boxes and a CArG box [15], we proposed that other elements, such as MEF-2, [16,17] located outside this region may be necessary for authentic expression and that these elements regulate expression in cardiac muscle other than the right ventricle, skeletal muscle, and smooth muscle. To examine this hypothesis, we constructed expression vectors that contained up to 7 kb upstream and 7 kb downstream of exon 1 and investigated their expression *in vitro* and *in vivo*.

2. Methods

2.1. Isolation of genomic clones and DNA sequencing

Yeast artificial chromosomes (YACs) containing muscular-specific exon 1 of the human dystrophin gene were screened with CEPH 'A' Human Mega-YAC DNA Pools (Research Genetics, Huntsville, AL) by PCR using primers HDp-F1 (5'-ATTTCAGACTGTTGGCATCATC-3') and HDp-R2 (5'-GACTGTCCATGGTCACTACA-3'). Then the YAC clones were subcloned into phage vectors.

A 7.5 kb *SpeI*-*PstI* genomic fragment containing the 7 kb 5' upstream region of the dystrophin muscular-specific exon 1 was subcloned into pBluescript II KS (Stratagene, CA, USA) vectors. Deletion mutants were constructed by exonuclease III (Takara, Tokyo, Japan) and sequenced by the dideoxynucleotide method with ABI 373S DNA sequencer (PE Applied Biosystems, Foster, CA).

2.2. Construction of dystrophin promoter-*lacZ* expression vectors

The *lacZ* expression vectors were constructed using a 7.1 kb *SpeI*-*BglIII* fragment containing 7008 bp in the 5' upstream region, a 7.2 kb *BglIII* fragment containing a 7 kb 3' flanking region of exon 1 and a 3.7 kb *HindIII*-*BamHI* fragment of the *lacZ* gene from pCH110 (*E. coli lacZ*; Pharmacia and Upjohn, Bridgewater, NJ). These fragments were subcloned into pBluescript KS II – vectors.

Eleven constructs were prepared using the *lacZ* gene as a reporter (Fig. 1). All constructs contained 72 bp of exon 1. Three constructs (7P-*lacZ*-3I, 1.7P-*lacZ*-7I and 7P-*lacZ*-7I) contained both upstream and downstream regions of exon 1. Six other constructs contained only the upstream region of exon 1. The M0.9P-*lacZ* construct was used in a previous study [14].

2.3. Cells and culture conditions

The C2/4 skeletal muscle cell line (a generous gift from Dr Takeda S. and Dr Fujisawa-Sehara A, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan) was maintained in growth medium composed of Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; Sigma, St. Louis, MO) with 20% fetal calf serum. To induce differentiation, we did not add or reduce any chemical factors but only cultured under the confluent conditions.

2.4. Cell transfection and β -galactosidase assays

Transfection of plasmid DNAs into C2/4 cells was performed using the lipofection method described by Trivedi and Dickson [18]. Seventy thousand cells were plated on 3.5 cm dishes in DMEM. Approximately 24 h later and 2–4 h before transfection, fresh growth medium was added to the cells. Ten micrograms of LIPOFECTA-MINE™ reagent (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD) complexed with 1.6 μ g of DNA was transfected into every 3.5 cm dish covered with C2/4 myoblasts. At the same time, 1.6 μ g of pGL3-Luciferase control vector (Promega, Madison, WI) was also transfected into C2/4 cells to calculate the normalized transfectional efficiency.

β -Galactosidase activities of transfected cells were estimated by the Dual-Light™ reporter gene assay system (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) with the protocol recommended by the manufacturer. β -Galactosidase activities were measured at 3 days post-transfection, by which time cultures had reached confluency and begun to differentiate into multinucleated myotubes.

2.5. Generation of transgenic mice

The production of transgenic mice was carried out as previously described [14]. The fragments for injection were isolated from an agarose gel by electrophoresis, then purified by GENEPURE (Nippon Gene, Tokyo, Japan). Transgenic mice were identified by Southern blot analysis of DNA extracted from tail biopsies. Then, mice (F₀) harboring the transgene were mated with C57BL/6J mice. Pups were screened for the transgene by PCR using punched ear DNA.

2.6. Histochemical staining for β -galactosidase and immunochemical staining for dystrophin

Histochemical detection of bacterial β -galactosidase activity was carried out as previously described [14]. In brief, whole embryos or adult tissues were fixed in 1% formaldehyde, 0.2% glutaraldehyde and 0.02% NP40 in 0.1 M phosphate buffer (PB) for 30 min at 4°C. The fixed tissues were washed three times in PB and incubated in a reacting solution containing 1 mg/ml of X-gal (5-bromo-4-chloro-3 indolyl- β -D-galactopyranoside; Sigma) overnight

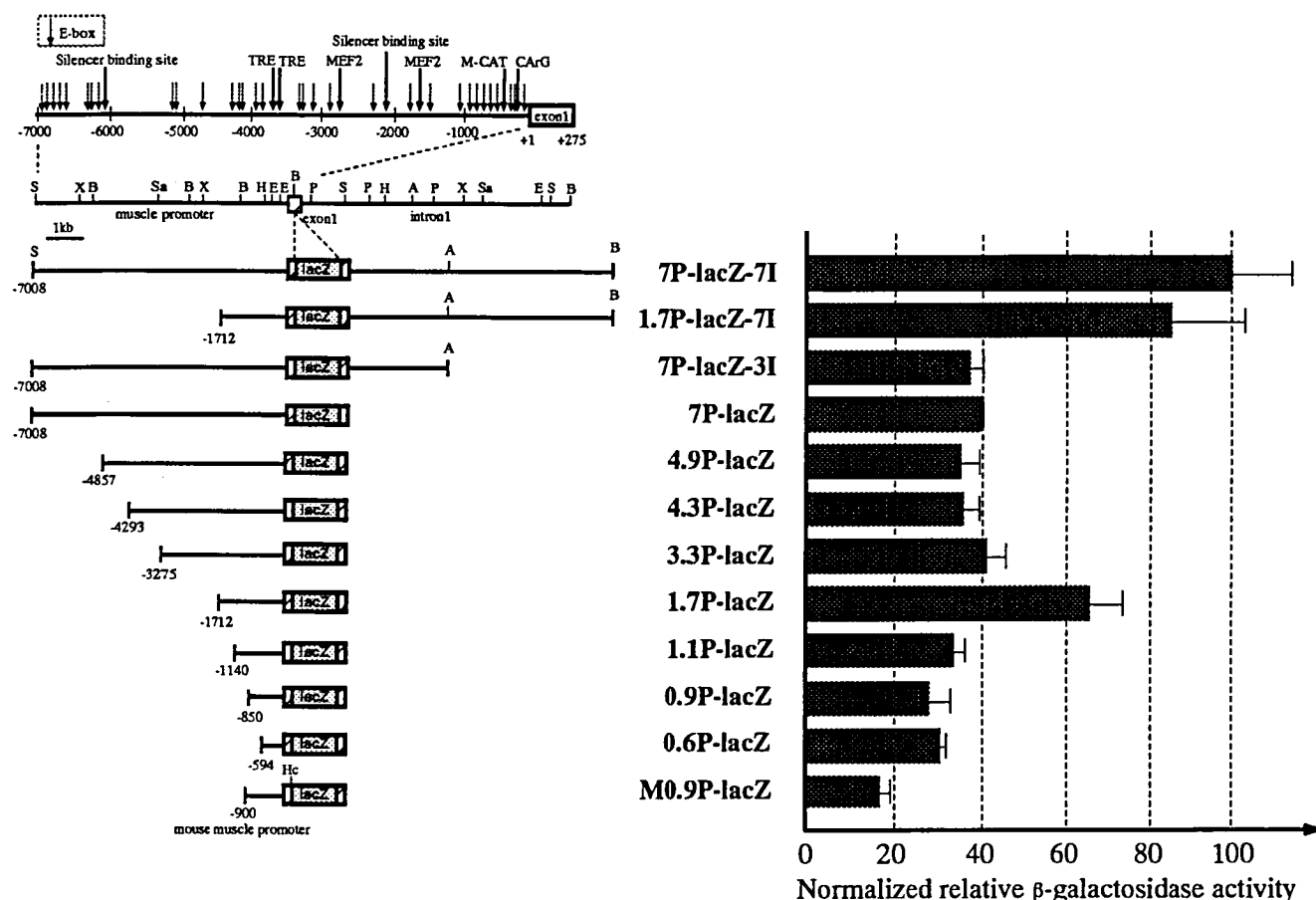


Fig. 1. Left upper panel: restriction map of the human dystrophin muscle promoter region and proximal downstream region of exon 1. The location of the putative *cis*-acting regulation elements is shown in the expanded view. +1 represents the start site of transcription and +275 is the end of exon 1. Left lower panel: schematic representation of constructs of the human dystrophin gene using *E. coli lacZ* as a reporter except for M0.9P-lacZ, which was constructed by mouse muscle promoter [14]. Abbreviations of restriction sites: A, *Apa*I; B, *Bgl*II; Ba, *Bam*HI; E, *Eco*RI; H, *Hind*III; Hc, *Hinc*II; P, *Pst*I; S, *Spe*I; Sa, *Sac*I; X, *Xba*I. Right panel: schematic representation of β -galactosidase activity obtained by transfection experiment in C2/4 myotube. The results displayed are the relative level of expression of each construct when a value of 100 is assigned to the construct with the strongest expression, 7P-lacZ-7I. Values represent the mean plus or minus SEM of three independent experiments.

at 30°C. After staining, the tissues were briefly washed in PB and photographed. Then the tissues were post-fixed overnight in 4% paraformaldehyde in PB at 4°C and then processed for paraffin embedding according to standard procedures. Slides were deparaffinized by washing in xylene for 1 min. Sections, 4 μ m thick, were obtained and counterstained with nuclear fast red.

The dystrophins in mouse skeletal muscle of embryos at 16.5 days post coitum) dpc were detected by the following standard protocol (Vectastain ABC kit, VECTOR, CA). The endogenous peroxidase activity on the deparaffinized slides was blocked with 3% hydrogen peroxide for 5 min and rinsed briefly with phosphate-buffered saline (PBS). Sequentially, the non-specific binding site was blocked with a horse serum (5%), and then incubated with the first antibody (anti-dystrophin antibodies, P-20, 1:50) [19] diluted in PBS for 1 h at room temperature. Following several rinses in PBS, the sections were incubated with a biotinylated goat anti-rabbit antibody (Dako 1/500) for 1 h. After an additional rinse with PBS, the sections were finally

incubated with Vectastain Elite ABC (5 ml PBS + two drop A and B; Vector) for 30 min. The peroxidase activity was revealed using 3',3'-diaminobenzidine (1 mg/ml; Sigma) and hydrogen peroxidase (0.03%) and counterstained with nuclear fast red. Muscle sections were then mounted and visualized by light and fluorescence microscopy (Nikon).

2.7. RNA isolation and Northern blot analysis

Total RNA was isolated from mouse brain, heart, quadriceps and gastrocnemius by the guanidinium isothiocyanate method. Five milligram aliquots of RNA were electrophoresed on 1.0% agarose gels containing 2.1 mol/l formaldehyde, 20 mmol/l 3-[*N*-morpholino]propanosulfonic acid (pH 7.0), 5 mmol/l NaOAc and 1 mmol/l Na₂EDTA, then transferred onto a nylon membrane (Hybond N+; Amersham, Buckinghamshire). The 1 kb *Sac*I-*Eco*RI fragment coding the β -galactosidase gene from pCH110 was used as probe for northern blot analysis.

3. Results

3.1. DNA sequencing

Sequencing of the 7008 bp upstream of exon 1 revealed 32 E-boxes, two sites each for MEF-2, TRE [20–22] and silencer binding sites [23,24], and one site each for M-CAT and the CArG box (Fig. 1). Sequencing up to 4 kb further upstream revealed no major skeletal muscle enhancer motifs other than E boxes. A 316 bp fragment of an unknown gene matching an expressed sequence tag (EST) clone and running in the opposite direction from the dystrophin gene was discovered at the 1.4 kb upstream region from exon 1 [25] (data not shown).

3.2. In vitro expression of lacZ

C2/4 myoblasts were transfected with 12 different constructs, and *lacZ* expression was quantified 72 h later. Based on relative activities of β -galactosidase, the construct of 7P-lacZ-7I showed the strongest expression, followed by 1.7P-lacZ-7I and 1.7P-lacZ (Fig. 1). The construct with the weakest level of expression was M0.9P-lacZ, which used the mouse promoter (Fig. 1).

3.3. Establishment of transgenic mice

We established 38 lines and 16 lines of transgenic mice carrying the 7P-lacZ gene and 7P-lacZ-7I gene, respectively. According to densitometric analysis of Southern blotting data in F₁ mice, they had 1–25 copies of the transgene per haploid genome (Table 1, data not shown).

3.4. X-gal staining of transgenic mice

We produced two kinds of transgenic mouse lines by introducing 7P-lacZ and 7P-lacZ-7I. First, we screened

transgenic mouse lines that expressed the transgene by X-gal staining of embryos at 12.5 dpc and of adult tissues: the brain, heart, diaphragm, quadriceps and gastrocnemius. Twenty-four mice out of 38 lines and eight mice out of 16 lines did not express the transgenes 7P-lacZ and 7P-lacZ-7I at those stages, respectively. In seven of 14 lines expressing the 7P-lacZ gene, the gene was strongly expressed. Of the eight lines of 7P-lacZ-7I transgenic mice, four lines strongly expressed the transgene. We then used these seven and four lines for further investigation (Table 1).

3.5. P-lacZ transgenic mice

Expression was found throughout the atrium in embryos of three lines and in adults of five lines. Expression in the right ventricle was observed in the embryos and adults of all lines. Expression in skeletal muscle was present in embryos of five lines, but it disappeared at either 4 weeks of age or at a later stage. Expression in vascular smooth muscle was observed in embryos of two lines and adults of three lines. Other than muscle tissue, expression was found in the cerebral and cerebellar cortex in one line. Taken together, the transgene was commonly expressed in the heart (Figs. 2A–C, F and 3A, B) and in the embryonic skeletal muscle (Figs. 2D, E and 3C), but not in mature skeletal muscle (Table 1).

3.6. P-lacZ-7I transgenic mice

In three out of four lines, the *lacZ* gene was expressed in the heart during embryogenesis. The transgene was expressed in the right ventricle of all lines in the embryos and adults. Expression in skeletal muscle was present in embryos of three lines, but was not detected in mice at 4 weeks of age or older. The transgene expression also was not observed in mature skeletal muscles. Expression in vascular smooth muscle was found in embryos of two

Table 1
Expression of *lacZ* gene in 7P-lacZ and 7P-lacZ-7I transgenic mice^{a,b}

Line	Copy number	12.5 dpc embryo						Adult						Others
		RA	RV	LA	LV	skm	vsm	RA	RV	LA	LV	skm	vsm	
5	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	
6	1	–	+	–	–	+	–	+	+	+	+	–	–	
8	1	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	–	+	
13	6	–	+	–	–	+	–	–	+	–	+	–	–	
21	1	–	+	–	+	–	–	+	+	+	+	–	–	
23	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	Cerebral cortex, cerebellum cortex
36	20–25	–	+	–	–	–	–	–	+	–	+	–	–	
51	5	+	+	–	+	+	–	+	+	+	+	–	+	
52	1	+	+	+	+	–	–	+	+	–	+	–	–	
54	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	
55	15–20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	

^a Lines 5–36, 7P-lacZ transgenic mice; lines 51–55, 7P-lacZ-7I transgenic mice.

^b RA, right atrium; RV, right ventricle; LA, left atrium; LV, left ventricle; skm, skeletal muscle; vsm, vascular smooth muscle. –, no expression; +, moderate-high level of expression.

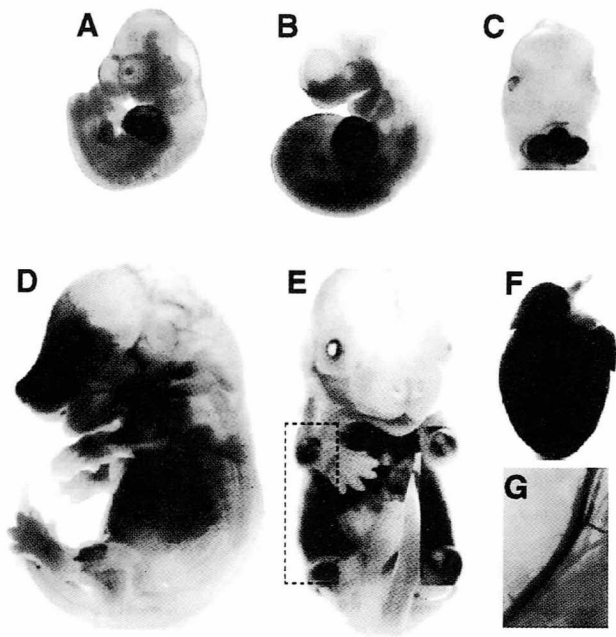


Fig. 2. *lacZ* expression in transgenic mouse at different stage. Transgenic mice harboring 7P-*lacZ* (A-F; Line #5) or 7P-*lacZ*-7I (G; Line #55) were stained for *lacZ* activity. (A) 9.5 dpc embryo. (B) 10.5 dpc embryo. (C) Heart of 12.5 dpc embryo. (D,E) 16.5 dpc embryo, with the cross section of the arm and leg shown in the superimposed square. (F) and (G) are adult mice. (F) Heart. (G) Vascular of hindlimb.

lines and adults of three lines (Fig. 2G). In all the lines, the transgene was expressed more strongly than it was in the 7P-*lacZ* transgenics.

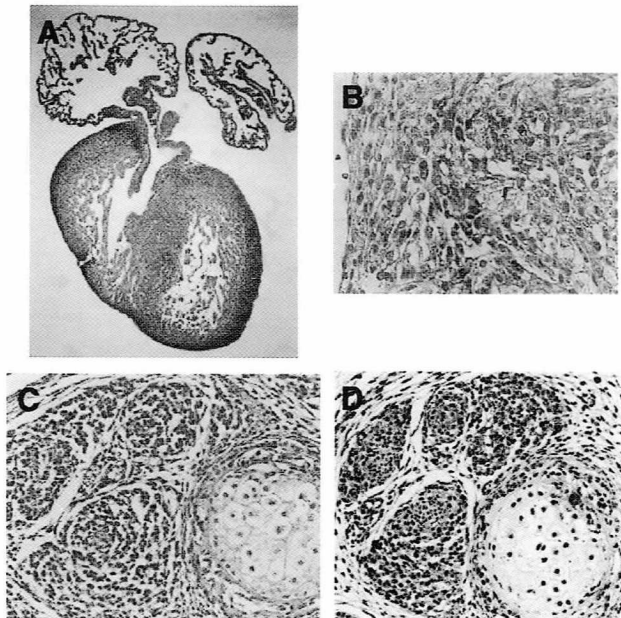


Fig. 3. Expression of 7P-*lacZ* transgene and dystrophin in heart and hindlimb of 16.5 dpc embryo. (A,B,C) X-gal staining, (D) dystrophin staining. Transverse sections of heart (A,B) and hindlimbs (C) of transgenic embryo (Line #5), and hindlimbs (D) of wild type embryo. (A) 20 \times , (B) 400 \times , (C,D) 200 \times .

3.7. Dystrophin expression in embryo

The dystrophin expression was detected in skeletal muscle of embryo hindlimbs at 16.5 dpc (Fig. 3D). Almost all of them were located in cytoplasm of muscle fibers, but a few are located in sarcolemma. Houzelstein et. [26] revealed that in striated muscle, dystrophin transcripts were detectable from about 9 dpc in heart and slightly later in skeletal muscle.

3.8. Northern blotting

Northern blotting was performed on adult tissues in lines #5, #23, #54, and #55, which expressed the *lacZ* gene in the heart and skeletal muscles in embryos at 12.5 dpc. In adults, the gene was still expressed in cardiac muscle of all 4 lines. However, no expression of the transgene was detected in the skeletal muscle by Northern blot analysis (Fig. 4).

4. Discussion

In the present study, we sequenced the 7 kb upstream region of the dystrophin muscular-specific exon 1 and demonstrated that the E box, MEF-2, M-CAT, CArG box and TRE motifs are located within the 4 kb upstream region from exon 1. The E boxes were scattered throughout the entire region. The silencer binding site that was previously discovered as a silencer motif in one of the MHC class I genes, PD1 [23,24], was also found in two sites. A silencer binding site has not been demonstrated in the promoter region of a gene that is expressed in skeletal and cardiac muscle.

In our experiment, C2/4 cells were used. The C2/4 cell is subclone of C2 from mouse skeletal muscle. A murine cell line was needed in order to analyze the regulation of dystrophin, because we used transgenic mice. In C2 myotubes, expression of murine dystrophin is very low [27,28], although we still could recognize the difference of each promoter activity. Findings by analysis of promoter activities of the dystrophin gene using C2/4 skeletal muscle cells are as follows. Among the constructs containing only the upstream region, the 1.7P-*lacZ* gene showed the strongest activity. This suggests that the two silencer binding sites located at the 2.1 and 6.1 kb upstream regions from exon

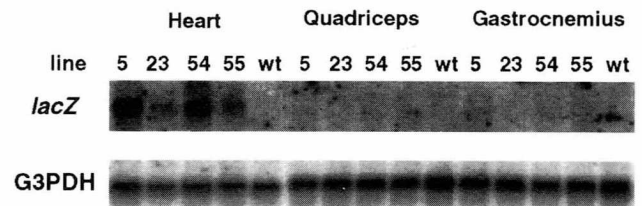


Fig. 4. Northern blotting of total RNA from adult transgenic or wild type mice. The *lacZ* probe is the ³²P-labeled 1 kb *SacI*-*EcoRI* fragment. At the bottom, the same blots stripped and rehybridized to a cDNA probe specific for a glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (G3PDH) gene.

I have a suppressive function in C2/4 cells. As expected, the addition of the 7 kb downstream region which contains the enhancer [29,30] resulted in the enhanced expression of lacZ. The lower level expression of M0.9-lacZ in comparison with 0.9-lacZ appears to be due to the lack of the M-CAT motif in the mouse promoter.

We previously analyzed lacZ expression in transgenic mice using a 0.9 kb mouse muscle type dystrophin promoter and demonstrated that expression is restricted to the right ventricle in all eight lines of transgenic mice at all stages, from embryo to adult [14]. According to these results, a possibility exists that there are entirely different promoters required for specific expression in cardiac and skeletal muscle. Therefore we expect that the regulation of dystrophin gene is very complex.

In the present study, we produced transgenic mice by introducing lacZ constructs containing either a human 7 kb upstream region of exon 1 (7P-lacZ) or 7 kb upstream and 7 kb downstream regions of exon 1 (7P-lacZ-7I). The lacZ expressions of each construct were observed in both ventricles and atria. Taken together, these findings suggest that regulatory elements specific for the right ventricle and for the left ventricle and atria are present within the 0.9 kb upstream region and within 0.9–7 kb upstream region, respectively.

In cardiac muscle, lacZ expression in 7P-lacZ-7I transgenic mice was stronger than that in 7P-lacZ transgenic mouse embryos at 12.5 dpc. However, no difference was observed in the adult heart. In skeletal muscle, the level of lacZ expression was about the same in both lines, from embryo to adult. These results suggest that the enhancer located in intron 1 acts on cardiac muscle during the embryonic period. Klamut et al. [29,30] performed CAT assays using intron 1 on skeletal muscle-derived (L6 and C2C12) and cardiac muscle-derived (H9C2(2-1)) cell lines and found that in L6 and C2C12 cells, the activity of the enhancer in intron 1 is only 10–15% of that in H9C2(2-1) myotubes. The present results are consistent with their findings.

Kelly et al. analyzed reporter gene expression in transgenic mice containing lacZ under transcriptional control of the promoter and 3' enhancer element of the mouse myosin light chain 3F gene that is expressed in skeletal and cardiac muscle [31]. The transgene used in their study contained a 260 bp enhancer element composed of E boxes and MEF-2 that is located at the 3' region of the mouse MLC3F gene. They reported strong expression of lacZ in all skeletal muscle from embryo to adult. In vitro analysis using the C2/7 cell line showed that expression is enhanced more than 60 times by the addition of the enhancer element. In addition, Li et al. [32] and Kuisk et al. [17] reported expression of a reporter gene driven by the desmin promoter that contains a single MEF-2 site and two E-boxes. The lacZ expression was observed in skeletal muscle throughout the body after birth. In our transgenic lines, we did not observe lacZ expression in adult skeletal muscle in spite of the presence of MEF-2 and the E-box. There are two possible mechanisms. The first is

the suppression of expression due to the silencer binding sites. Two sites were identified by our study. However, there could be other unknown silencer sites. The second possibility is the existence of an unknown motif for skeletal muscle in the desmin promoter or the MLC3F promoter and enhancer. This motif may not be present within the 7 kb upstream and 7 kb downstream regions.

It is clear, from the present data and others, that the expression of human muscle type dystrophin transcript is also under a complex control, suggesting a presence of distinct cis-acting elements that regulate expression of transcripts in different tissues, i.e. skeletal, cardiac, and smooth muscle.

In addition, our results are consistent with the fact that there is no loss of muscular strength in XLDCM patients who have deletions spanning more than 50 kb in the vicinity of muscular-specific exon 1 of the dystrophin gene [5]. The responsible gene for XLDCM was shown to be genetically linked to the promoter region of the dystrophin gene [33,34], and that dystrophin was not expressed properly in the reported XLDCM cases [5,9,10]. It is therefore possible that some form of dilated cardiomyopathy is caused by defective expression of the dystrophin gene. Considering these facts, it is speculated that a mutation/deletion occurred in one of the many distinct regulatory elements results in XLDCM without affecting skeletal muscle. Thus, the region around the muscular-specific exon 1, which we used, would play an important role in the expression of the dystrophin gene in muscles of the cardiovascular system rather than skeletal muscle in adults.

It is also possible that a mutation in the regulatory region of the dystrophin gene results in DMD/BMD without apparent mutation in the coding region. To prove this hypothesis, and to gain insight into an etiology of the dystrophin-related diseases, it is of great importance to search and analyze mutations in the regulatory regions of the dystrophin gene of XLDCM or DMD/BMD patients, and to perform functional and structural characterization of dystrophin promoters.

Another possibility of the cause of XLDCM is that the newly identified gene exists in the 5' region of the dystrophin gene. Patarnello et al. [25] reported a 201 bp sequence using inverted PCR, which had homology for 321 bp of the fetal brain EST clone (EST03785, GenBank accession: T05896) in the 5' region of the dystrophin gene. In addition, the mRNA was expressed at low levels in the human heart. In this study, we found a 316 bp sequence, which had almost complete homology with the 321 bp of EST03785 in 1.4 kb upstream region of muscular-specific exon 1 of the dystrophin gene. This putative gene may overlap the dystrophin gene, since transcription starts in the reverse direction with the dystrophin gene. XLDCM may therefore be caused by deletion of the gene.

Acknowledgements

This study was supported by the Science and Technology

Agency, with Special Coordinating Funds for Promoting Science and Technology, and by grants from the Ministry of Education, Science, Culture and Sports of Japan.

References

- [1] Nakagawa M, Nakahara K, Yoshidome H, et al. Epidemiology of progressive muscular dystrophy in Okinawa, Japan. *Neuroepidemiology* 1991;10:185–191.
- [2] Koenig M, Monaco AP, Kunkel LM. The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *Cell* 1988;53:219–226.
- [3] Roberts RG, Coffey AJ, Bobrow M, Bentley DR. Exon structure of the human dystrophin gene. *Genomics* 1993;16:536–538.
- [4] Koenig M, Beggs AH, Moyer M, et al. The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: correlation of severity with type deletion. *Am J Hum Genet* 1989;45:498–506.
- [5] Muntoni F, Cau M, Ganau A, et al. Brief report: deletion of the dystrophin muscle-promoter region associated with X-linked dilated cardiomyopathy [see comments]. *N Engl J Med* 1993;329:921–925.
- [6] Muntoni F, Gobbi P, Sewry C, et al. Deletions in the 5' region of dystrophin and resulting phenotypes. *J Med Genet* 1994;31:843–847.
- [7] Muntoni F, Melis MA, Ganau A, Dubowitz V. Transcription of the dystrophin gene in normal tissues and in skeletal muscle of a family with X-linked dilated cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 1995;56:151–157.
- [8] Muntoni F, Wilson L, Marrosu G, et al. A mutation in the dystrophin gene selectively affecting dystrophin expression in the heart. *J Clin Invest* 1995;96:693–699.
- [9] Milasin J, Muntoni F, Severini GM, et al. A point mutation in the 5' splice site of the dystrophin gene first intron responsible for X-linked dilated cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 1996;5:73–79.
- [10] Yoshida K, Ikeda S, Nakamura A, et al. Molecular analysis of the Duchenne muscular dystrophy gene in patients with Becker muscular dystrophy presenting with dilated cardiomyopathy. *Muscle Nerve* 1993;16:1161–1166.
- [11] Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, et al. Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res* 1990;16:11141–11156.
- [12] Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, et al. Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. *Hum Genet* 1990;86:45–48.
- [13] Kimura S, Fujishita S, Ikezawa M, Ogawa M, Abe K, Miike T. Muscle type promoter and its first intron abnormalities in dystrophin gene in patients with Duchenne muscular dystrophy. *J Child Neurol* 1998;6:290–292.
- [14] Kimura S, Abe K, Suzuki M, Ogawa M, et al. A 900 bp genomic region from the mouse dystrophin promoter directs lacZ reporter expression only to the right heart of transgenic mice. *Dev Growth Differ* 1997;9:257–265.
- [15] Gilgenkrantz H, Hugnot JP, Lambert M, Chafey P, Kaplan JC, Kahn A. Positive and negative regulatory DNA elements including a CCArGG box are involved in the cell type-specific expression of the human muscle dystrophin gene. *J Biol Chem* 1992;267:10823–10830.
- [16] Li H, Capetanaki Y, An E. box in the desmin promoter cooperates with the E box and MEF-2 sites of a distal enhancer to direct muscle-specific transcription. *EMBO J* 1994;13:3580–3589.
- [17] Kuisk IR, Li H, Tran D, Capetanaki Y. A single MEF2 site governs desmin transcription in both heart and skeletal muscle during mouse embryogenesis. *Dev Biol* 1996;174:1–13.
- [18] Trivedi RA, Dickson G. Liposome-mediated gene transfer into normal and dystrophin-deficient mouse myoblasts. *J Neurochem* 1995;64:2230–2238.
- [19] Ommen GJBV, Ginjaar HB, Casula L. From dystrophy to dystrophin: tracing back structure to (dys) function. In: Ozawa E, editor. 3rd Uehara Memorial Symposium: Frontier of Muscle Reserch, Tokyo, July 16–19, Amsterdam: Elsevier, 1991. pp. 381–394.
- [20] Flink IL, Morkin E. Interaction of thyroid hormone receptors with strong and weak *cis*-acting elements in the human alpha-myosin heavy chain gene promoter. *J Biol Chem* 1990;265:11233–11237.
- [21] Subramaniam A, Jones WK, Gulick J, Wert S, Neumann J, Robbins J. Tissue-specific regulation of the alpha-myosin heavy chain gene promoter in transgenic mice. *J Biol Chem* 1991;266:24613–24620.
- [22] Subramaniam A, Gulick J, Neumann J, Knotts S, Robbins J. Transgenic analysis of the thyroid-responsive elements in the alpha-cardiac myosin heavy chain gene promoter. *J Biol Chem* 1993;268:4331–4336.
- [23] Weissman JD, Singer DS. A complex regulatory DNA element associated with a major histocompatibility complex class I gene consists of both a silencer and an enhancer. *Mol Cell Biol* 1991;11:4217–4227.
- [24] Weissman JD, Singer DS. Striking similarities between the regulatory mechanisms governing yeast mating-type genes and mammalian major histocompatibility complex genes. *Mol Cell Biol* 1991;11:4228–4234.
- [25] Patarnello T, Klamut HJ, Danieli GA, Bettecken T, Fracasso C. Conservation of a putative AP1 binding site and complete homology to a fetal brain EST in a region upstream of the core muscle promoter in the human dystrophin gene. *Gene* 1997;200:173–176.
- [26] Houzelstein D, Lyons GE, Chamberlain J. Buckingham. Localization of dystrophin gene transcripts during mouse embryogenesis. *J Cell Biol* 1992;4:811–821.
- [27] Klamut HJ, Gangopadhyay SB, Worton RG, Ray PN. Molecular and functional analysis of the muscle-specific promoter region of the Duchenne muscular dystrophy gene. *Mol Cell Biol* 1990;10:193–205.
- [28] Noursadeghi M, Walsh FS, Heiman-Pterson T, Dickson G. Transactivation of the murine dystrophin gene in human-mouse hybrid myotubes. *FEBS Lett* 1993;320:155–159.
- [29] Klamut HJ, Bosnoyan-Collins LO, Worton RG, Ray PN, Davis HL. Identification of a transcriptional enhancer within muscle intron 1 of the human dystrophin gene. *Hum Mol Genet* 1996;5:1599–1606.
- [30] Klamut HJ, Bosnoyan-Collins LO, Worton RG, Ray PN. A muscle-specific enhancer within intron 1 of the human dystrophin gene is functionally dependent on single MEF-1/E box and MEF-2/AT-rich sequence motifs. *Nucleic Acids Res* 1997;25:1618–1625.
- [31] Kelly R, Alonso S, Tajbakhsh S, Cossu G, Buckingham M. Myosin light chain 3F regulatory sequences confer regionalized cardiac and skeletal muscle expression in transgenic mice. *J Cell Biol* 1995;129:383–396.
- [32] Li Z, Paulin D. Different factors interact with myoblast-specific and myotube-specific enhancer regions of the human desmin gene. *J Biol Chem* 1993;268:10403–10415.
- [33] Berko BA, Swift M. X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1987;316:1186.
- [34] Towbin JA, Hejtmancik JF, Brink FP, Gelb B, McCabe ERB, Swift M. X-linked dilated cardiomyopathy, molecular genetic evidence of linkage to the Duchenne muscular dystrophy (Dystrophin) gene at the Xp21 locus. *Circulation* 1993;87:1854.

Targeted and Stable Gene Delivery into Muscle Cells by a Two-Step Transfer System

Isao Fujii,*† Satoru Suzuki,*‡ Takehito Igarashi,* Makoto Matsukura,† Teruhisa Miike,† and Takashi Shimada*‡¹

*Department of Biochemistry and Molecular Biology and ‡Division of Gene Therapy Research, Center for Advanced Medical Technology, Nippon Medical School, Tokyo 113-8602, Japan; and †Department of Child Development, Kumamoto University School of Medicine, Japan

Received August 3, 2000

We developed a muscle-specific gene delivery system based on two-step gene transfer. The first step involved adenovirus-mediated transfer of the ecotropic retrovirus receptor (EcoRec) gene driven by the muscle-specific desmin promoter. Both human primary myoblasts and fibroblasts were efficiently transduced with this adenovirus vector. However, expression of EcoRec was detected only in myoblasts. In the second step, EcoRec-expressing myoblasts could be stably transduced with the ecotropic retroviral vector with the β -galactosidase gene. Approximately 15% of myoblasts were transduced by this two-step strategy. When the transduced myoblasts were differentiated into myotubes, extensive cell-cell fusion occurred, and the apparent number of β -galactosidase-positive cells increased to 28%. These results indicate that our two-step gene delivery system could be used for targeted and stable gene transfer into muscle cells. © 2000

Academic Press

Muscle cells are important targets for gene therapy of various inherited muscular disorders such as Duchenne muscular dystrophy (1), sarcoglycanopathy (2), and Pompe disease (3). Furthermore, several new strategies in muscle-based gene therapy have been proposed (4). Expression of cell-surface antigen on muscle cells may efficiently elicit potent immune reaction against viral infection (5). Transduced muscle cells may serve as reservoir cells to secrete various soluble factors such as erythropoietin (6), blood clotting factor XI (7), and vascular endothelial growth factor (8).

¹ To whom correspondence should be addressed at Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan. Fax: 81-3-5814-8156. E-mail: tshimada@nms.ac.jp.

One advantage of muscle cells as targets for gene therapy is easy accessibility for repeated direct vector injections. Numerous vector systems have been taken in attempting to transfer therapeutic genes to skeletal muscle (9–12). Among these vehicles, long term gene expression could be achieved by integrating retroviral (10) and AAV vectors (12). These vectors are not tissue-specific and therefore, if the vectors enter into the systemic circulation, all tissues including germline cells may be transduced (13). This may cause serious safety and ethical problems. Therefore, it is essential for development of a vector system that enables persistent expression of a therapeutic protein in only muscle cell.

One possible targeting method is the use of a retroviral vector with a chimeric envelope that binds with high affinity to a specific surface molecule on the target cell (14–16). However, the transduction efficiency of this type of vectors is usually very low, probably because chimerism disturb conformational changes of the envelope protein required for fusion with the cell membrane (17). To overcome this problem, we recently developed a new targeting method based on two step gene transfer (18). In this strategy, ecotropic retroviral receptors (EcoRec) are specifically expressed in target cells prior to ecotropic retroviral gene transfer. In a model experiment, we demonstrated that α -fetoprotein (AFP) positive hepatoma cells were selectively and efficiently transduced by the combination of the adenovirus vector containing the EcoRec gene driven by the AFP promoter and the ecotropic retroviral vector (18).

The aim of the present study was to accomplish muscle-specific gene transfer into primary human myoblast using the same two-step targeting system. Using the adenovirus vector containing the EcoRec gene driven by the muscle-specific desmin promoter, we demonstrated that only myoblasts became susceptible to ecotropic retroviral mediated gene transfer.



MATERIALS AND METHODS

Vector construction. The desmine promoter/enhancer complex (named the DES promoter in this paper) was constructed according to Li and Paulin (19). The desmin enhancer and promoter fragments were separately synthesized by PCR amplification using human genomic DNA from leukocytes of a healthy donor as a template. The primers are as follows: sense 5'-CACCCATGCCTCCTCAGTA-3' and antisense 5'-GGGTGGGGCCTCAAGTTTAT-3' for the enhancer fragment, and sense 5'-AGATAACCAGGGCTGAAAGA-3' and antisense 5'-GCGCTGGCTGGACGAGTAGG-3' for the promoter fragment, respectively. The resultant fragments (enhancer 355 bp, promoter 376 bp) were separately cloned at the *Sma*I site of pUC19. The promoter fragment was digested with *Acc*II to remove the original translational start site located at the 3'-end of the fragment and inserted downstream of the enhancer fragment, yielding pDES.

Recombinant adenoviral vectors were generated using Saito's method (20). A 2.4 kb *Eco*RI-*Eco*RI fragment containing the rat *Eco*Rec cDNA was excised from pJET (21) (provided by J. M. Cunningham) and inserted downstream of the DES promoter of the pDES. The *Eco*Rec expression unit isolated from this plasmid was inserted into the *Swa*I site of the pAdexlw cosmid.

This cosmid DNA containing the expression unit was co-introduced into 293 cells with the *Eco*T221 digested Ad DNA-terminal protein complex (20). The recombinant adenoviral vector, Ad.DESEcoRec, was generated in transfected 293 cells and purified by double CsCl gradient centrifugation (22). The titer of the final preparation was 5×10^9 PFU/ml.

A control adenoviral vector, Ad.CAGEcoRec, and an ecotropic retroviral vector, RE.G1 β gSvNa, containing the β -galactosidase gene and the SV40 early promoter-driven neomycin phosphotransferase gene, was generated as described previously (18).

Cells. Primary human fibroblasts were obtained from a 1-year-old boy with an undiagnosed metabolic disease. Skin and muscle biopsy was performed for confirmation of the diagnosis after obtaining the informed consent of the parents. The fibroblasts and 293 cells (American Type Culture Collection) were maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS; GIBCO BRL), penicillin (100 units/ml), streptomycin (100 μ g/ml), and 10 mg/ml of L-glutamine (GIBCO BRL). Human primary myoblasts (SkMC) and their culture medium kit (SkGMBulletKit) were obtained from BioWhittaker (U.S.A.). Cells were grown at 37°C under a humidified atmosphere of air plus 5% CO₂. Differentiation of myoblasts into myotubes was accomplished by reducing the FBS content of the culture medium to 2%.

Evaluation of gene expression. The luciferase expression plasmid, pDES-Luc, was constructed by inserting luciferase cDNA driven by the DES promoter into PGV-C2 (Toyo). Thereafter, 1 μ g of pDES-Luc and 1 μ g of pCMV-SPORT (GIBCO BRL), a plasmid expressing the LacZ gene under the control of the CMV promoter, were mixed with lipofectamine (GIBCO BRL) in Optimem medium (GIBCO BRL). The mixture was introduced into human primary myoblasts and fibroblasts seeded to a density of 2×10^5 cells/well in 6-well plates. Luciferase and β -galactosidase activities were determined as described (18); luciferase activity was expressed as relative light units (RLU) per β -galactosidase activity.

Expression of *Eco*Rec was assessed using a virus binding assay as described previously (18).

Two-step gene transfer. Primary human myoblasts were seeded to a density of 5×10^5 cells/well in collagen-coated 6-well plates, incubated for 60 min with 10 m.o.i. of Ad.DESEcoRec and then maintained for 2 days in culture. At that time, the cells were incubated with RE.G1 β gSvNa for 2 h in the presence of 8 μ g/ml polybrene, maintained for an additional 2 or 10 days, and then fixed and stained with X-gal as described previously (18).

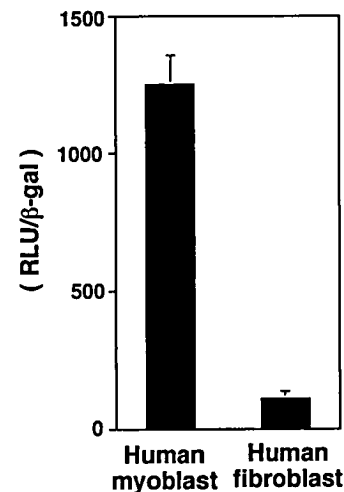


FIG. 1. Muscle specificity of the DES promoter. Human primary myoblasts and fibroblasts were co-transfected with pDES-LUC and pCMV-SPORT as an internal control by lipofection. The cells were lysed 2 days after transfection, and luciferase and β -galactosidase activities were measured; luciferase activity was expressed as relative light units (RLU) per β -galactosidase activity. The data represents the average from three independent experiments. The standard bars represent SD.

RESULTS

Muscle-specific human desmin promoter. Desmin is a muscle-specific intermediate filament protein whose synthesis is specifically initiated in replicating myoblasts (19). We, therefore, wanted to use the regulatory elements of the human desmin gene to express the *Eco*Rec gene in human primary myoblasts. The promoter/enhancer of the desmine gene (DES promoter) was synthesized by PCR amplification using human genomic DNA as a template. The tissue specificity of the DES promoter was confirmed by the luciferase assay. Human primary myoblasts and fibroblasts were transfected with pDES-Luc, luciferase plasmid driven by the DES promoter, and pCMVSPORT, β -galactosidase plasmid driven by the CMV promoter. Transfection efficiency was normalized by measuring β -galactosidase activity. The results showed that the DES promoter was specifically activated in myoblasts, but not in fibroblasts (Fig. 1).

Muscle-specific expression of *Eco*Rec. We constructed the adenovirus vectors containing the *Eco*Rec gene driven by the CAG promoter, Ad.CAGEcoRec or the DES promoter, Ad.DESEcoRec. We first transduced primary human myoblasts and fibroblasts with Ad.CAGEcoRec at an m.o.i. of 10. After 48 h, expression of *Eco*Rec on the surface of transduced cells was measured by using an ecotropic retroviral binding assay. High levels of *Eco*Rec expression were observed on the cell surface of both myoblasts and fibroblasts, indicating that these two types of cells were equally

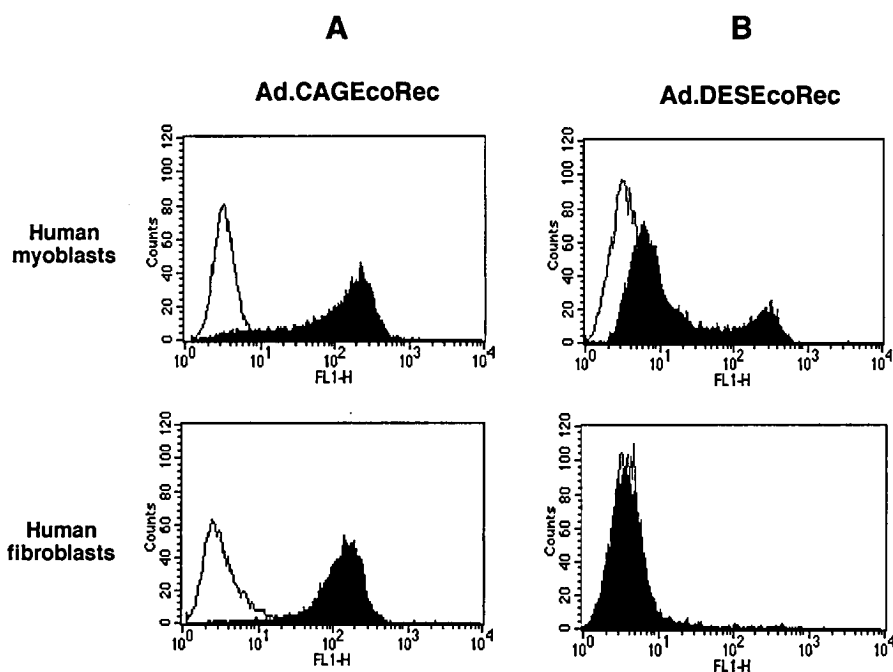


FIG. 2. Adenoviral mediated EcoRec expression. Human primary myoblasts and fibroblasts were transduced with Ad.CAGEcoRec (A) and Ad.DESEcoRec (B) at an m.o.i. of 10. After 48 h, the expression of EcoRec on the surface of transduced cells was measured by ecotropic retroviral binding assay. Shaded peaks represent adenovirus transduced cells, while white peaks are nontransduced control cells.

susceptible to adenoviral mediated transduction (Fig. 2A).

Next, we exposed myoblasts and fibroblasts to Ad.DESEcoRec at an m.o.i. of 10. FACS data revealed that 26.1% of the myoblasts expressed EcoRec, but no expression was detected in fibroblasts (Fig. 2B). When the cells transduced with Ad.DESEcoRec at an m.o.i. of 30, the proportion of the EcoRec expressing cells increased slightly, but the toxic effects of adenoviral vectors became apparent. These results indicate that muscle cell specific expression of the EcoRec could be achieved by using this adenovirus vector, although the efficiency is moderate.

Targeted and stable gene transfer into muscle cells. Two days after incubation with Ad.DESEcoRec, the cells were exposed to the ecotropic retroviral vector containing the β -galactosidase gene, RE.G1 β gSvNa. X-gal staining showed that $15.2 \pm 3.5\%$ of myoblasts were transduced with the retroviral vector (Fig. 3B). In contrast, very few blue cells were detected in fibroblasts treated with Ad.DESEcoRec and RE.G1 β gSvNa (Fig. 3A).

When the transduced myoblasts were differentiated into myotubes, extensive cell-cell fusion occurred (Fig. 3C). The number of β -galactosidase positive cells was $28.5 \pm 4.2\%$. Therefore, cell-cell fusion increased the apparent transfer efficiency of the retroviral vector. These results indicate that primary muscle cells could be selectively and stably transduced by the two step gene transfer method.

DISCUSSION

Persistent expression of the therapeutic gene seems particularly desirable in the case of muscular dystrophies, where myofibers would likely have been subjected to cycles of degeneration and regeneration. The two-step method described here allows muscle specific and stable integration of the gene in the chromosomal DNA. Then, transduced myoblasts were incorporated into nontransduced host muscle fibers in some instances, and the resultant hybrid fibers stably expressed the therapeutic gene. What's more, transduced cells would likely become part of the quiescent pool to be recruited in the event of future muscle fiber degeneration.

Our two-step strategy has several important features. First, the gene transfer, per se, is tissue-specific. The targeting step is dependent on viral attachment to the cell surface. As described, gene transfer can thus be restricted at this step to avoid random integration of genes in nontarget cells such as germline cells (13). Second, transduction efficiency is reasonably high; 15% of primary myoblasts could be stably transduced by this method. This efficiency is comparable to that achieved with an amphotropic retroviral vector (data not shown).

The transduction efficiency of the two-step system is likely to be primarily dependent upon the level of EcoRec expression from the first adenoviral vector. Although nearly 100% of myoblasts were sensitive to

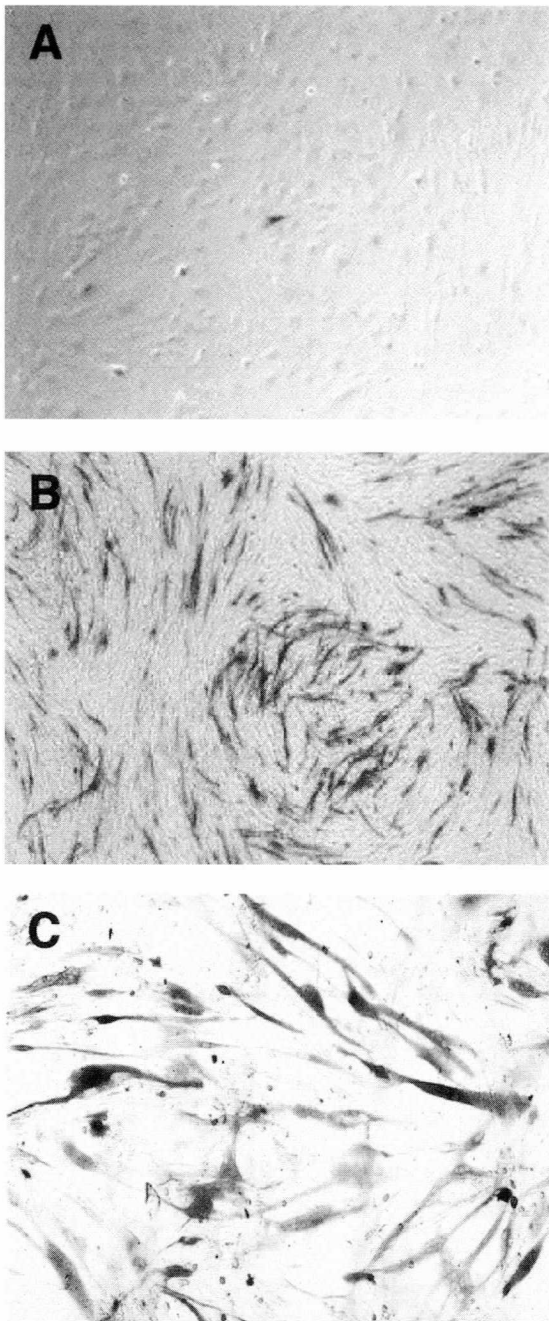


FIG. 3. Targeted and stable transduction by the two-step gene transfer method. Human primary fibroblasts (A) and myoblasts (B, C) were transduced with Ad.DESEcoRec at an m.o.i. of 10. After 48 h, the transduced fibroblasts and myoblasts were incubated with RE.G1 β gSVNa. Ecotropic retrovirus-mediated expression of β -galactosidase was detected by X-gal staining after an additional 48 h (A, B). Doubly transduced human primary myoblasts were differentiated into myotubes by decreasing the concentration of FBS and fused multinuclear myotubes were stained after 10 days (C).

adenoviral transduction (Fig. 2A), high levels of EcoRec expression were detected in 26% of the transduced myoblasts (Fig. 2B). Only minimal expression of EcoRec was observed in the rest of the cells. Bimodal

peak of EcoRec expressing cells may be reflection of differential heterogeneity of human primary myoblast culture (23). It has been reported that when proliferating myoblasts are induced to differentiate, a significant proportion of cells escape from terminal differentiation, while the rest of the cells differentiate. The latter cells showed a undetectable or greatly reduced level of MyoD, which is a transcriptional factor essential for normal development of muscle cells (24). Since the DES promoter is MyoD dependent (25), it is very likely that the activity of the DES promoter is different in these two cell populations.

Several potential problems may still need to be overcome before two-step gene transfer can be used in clinical protocols. First, ecotropic retroviral vectors could not transduce differentiated muscle fibers (26). This shortcoming may be overcome by using lenti virus vectors pseudotyped with the ecotropic retroviral envelopes (27). Second, nonhuman EcoRec may be immunogenic *in vivo* (28). However, it may be possible construct a mutant EcoRec that retained its receptor function but lacked immunogenicity (29). Third, first generation adenovirus vectors elicit cell-mediated immune reaction probably due to E1-independent expression of viral protein in transduced cells (30). This limitation could be overcome by using helper-dependent (31) or deleted (32) adenovirus vectors that lack most of viral coding sequences.

In summary, we demonstrated that the two-step gene transfer system can be used for targeted and stable gene transfer into human primary muscle cells. This concept should be important for further development safe and efficient gene therapy protocols targeting muscle cells.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported in part by grants from the Ministry of Health and Welfare of Japan and the Ministry of Education, Science, and Culture of Japan.

REFERENCES

1. Cornetta, K., Morgan, R. A., Gillio, A. L., Sturm, S., Baltruck, L., O'Reilly, R., and Anderson, W. F. (1991) *Hum. Gene Ther.* **2**, 215-219.
2. Chada, S., DeJesus, C. E., Townsend, K., Lee, W. T. L., Laube, L., Jolly, D. J., Chang, S. M. W., and Warner, J. F. (1993) *J. Virol.* **67**, 3409-3417.
3. Moritz, T., Patel, V. P., and Williams, D. A. (1994) *J. Clin. Invest.* **93**, 1451-1457.
4. Otto, E., Jones-T, A., Vanin, E. F., Stambaugh, K., Mueller, S. N., Anderson, W. F., and McGarrity, G. J. (1994) *Hum. Gene Ther.* **5**, 567-575.
5. Irwin, M. J., Laube, L. S., Lee, V., Austin, M., Chada, S., Anderson, C.-G., Townsend, K., Jolly, D. J., and Warner, J. F. (1994) *J. Virol.* **68**, 5036-5044.
6. Miller, A. R., Skotzko, M. J., Rhoades, K., Beldegrun, A. S., Tso,

- C.-L., Kaboo, R., McBride, W. H., Jacobs, E., Kohn, D. B., Moen, R., and Economou, J. S. (1992) *Hum. Gene Ther.* **3**, 619–624.
7. Chong, H., and Vile, R. G. (1996) *Gene Ther.* **3**, 624–629.
8. Cornetta, K., Moen, R. C., Culver, K., Morgan, R. A., McLachline, J. R., Sturm, S., Selegue, J., London, W., Blaese, R. M., and Anderson, W. F. (1990) *Hum. Gene Ther.* **1**, 15–30.
9. Miller, A. D., and Verma, I. M. (1985) *Mol. Cell. Biol.* **5**, 431–437.
10. Forestell, S. P., Dando, J. S., Bohnlein, E., and Rigg, R. J. (1996) *J. Virol. Methods* **60**, 171–178.
11. Bowles, N. E., Eisensmith, R. C., Mohuiddin, R., Pyron, M., and Woo, S. L. (1996) *Hum. Gene Ther.* **10**, 1735–1742.
12. Kay, M. A., Manno, C. S., Ragni, M. V., Larson, P. J., Couto, L. B., McClelland, A., Glader, B., Chew, A. J., Tai, S. J., Herzog, R. W., Arruda, V., Johnson, F., Scallan, C., Skarsgard, E., Flake, A. W., and High, K. A. (2000) *Nat. Genet.* **24**, 257–261.
13. Halene, S., Wang, L., Cooper, R. M., Bockstoce, D. C., Robbins, P. B., and Kohn, D. B. (1999) *Blood* **94**, 3349–3357.
14. Kasahara, N., Dozy, A. M., and Kan, Y. W. (1994) *Science* **266**, 1373–1376.
15. Peebles, P. T. (1975) *Virology* **67**, 288–291.
16. Yang, Y., Vanin, E. F., Whitt, M. A., Fornerod, M., Zwart, R., Schneiderman, R. D., Grosveld, G., and Nienhuis, A. W. (1995) *Hum. Gene Ther.* **6**, 1203–1213.
17. Cosset, F.-L., Morling, F. J., Takeuchi, Y., Weiss, R. A., Collins, M. K. L., and Russell, S. J. (1995) *J. Virol.* **69**, 6314–6322.
18. Igarashi, T., Suzuki, S., Takahashi, M., Tamaoki, T., and Shimada, T. (1998) *Hum. Gene Ther.* **9**, 2691–2698.
19. Miller, A. D., Garcia, J. V., Suhr, N. V., Lynch, C. M., Wilson, C., and Eiden, M. V. (1991) *J. Virol.* **65**, 2220–2224.
20. Miyake, S., Makimura, M., Kanegae, Y., Harada, S., Sato, Y., Takamori, K., Tokuda, C., and Saito, I. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 1320–1324.
21. Kim, J. W., Closs, E. I., Albritton, L. M., and Cunningham, J. M. (1991) *Nature* **352**, 725–728.
22. Kanegae, Y., Makimura, M., and Saito, I. (1994) *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* **47**, 157–166.
23. Cosset, F.-L., Takeuchi, Y., Battini, J.-L., Weiss, R. A., and Collins, M. K. L. (1995) *J. Virol.* **69**, 7430–7436.
24. Yoshida, N., Yoshida, S., Koishi, K., Masuda, K., and Nabeshima, Y. (1998) *J. Cell Sci.* **111**, 769–779.
25. Li, Z., and Paulin, D. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 6552–6570.
26. Purcell, D. F. J., Broscius, C. M., Vanin, E. F., Buckler, C. E., Nienhuis, A. W., and Martin, M. A. (1996) *J. Virol.* **70**, 887–897.
27. Naldini, L., Blomer, U., Gally, P., Ory, D., Mulligan, R., Gage, F. H., Verma, I. M., and Trono, D. (1996) *Science* **272**, 263–267.
28. Yoshimoto, T., Yoshimoto, E., and Meruelo, D. (1991) *Virology* **185**, 10–17.
29. Wang, H., Kavanaugh, M. P., and Kabat, D. (1994) *Virology* **202**, 1058–1060.
30. Dai, Y., Schwarz, E. M., Gu, D., Zhang, W.-W., Sarvetnick, N., and Verma, I. M. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 1401–1405.
31. Kochanek, S., Clemens, P. R., Mitani, K., Chen, H.-H., Chan, S., and Caskey, C. T. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 5731–5736.
32. Lieber, A., Peeters, M.-J. T. F. D. V., and Kay, M. A. (1995) *Hum. Gene Ther.* **6**, 5–11.

平滑筋におけるジストロフィン機能解明に関する研究

三池輝久、木村重美、伊藤薫、小篠史郎、宮城俊彦

熊本大学医学部小児発達学講座

荒木喜美、阿部訓也、山村研一

熊本大学発生医学研究センター

器官形成部門臓器形成分野

鈴木 操

熊本大学動物資源開発研究センター

技術開発分野

三輪岳志

大阪大学遺伝情報実験センター

遺伝子機能解析分野

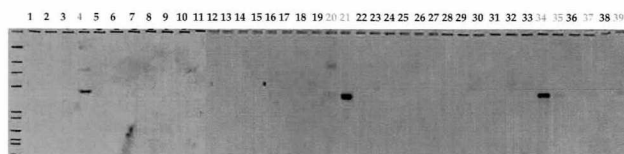
「はじめに」

ジストロフィン(dy)が発見されて既に15年になるうとしている。しかしその生理機能は依然として明確にされていない。ジストロフィンの機能解明は臨床的、遺伝子的治療に欠かすことのできない重要な情報である事は間違いない。筋ジストロフィーを研究の対象としている世界の学者の目は1970年代以来所謂「leaky membrane theory=膜説」に注がれてきた。それは1975年MokriとEnge)によりDMD生検筋に筋細胞の形質膜・基底膜間の離開や形質膜の局所的欠損が見られると報告されたことに端を発する。即ち膜の脆弱性が筋線維崩壊の元凶であると考えられたのである。この所見は所謂Opaque Fiber(OF)と呼ばれる線維に認められるものである。実はこのOFそのものが人口産物線維であることが分かった2)が不思議なことになぜか「膜説」そのものはそのまま生き残り続けたのである。私たちはこの十数年、基盤のない膜説の危うさを主張し、血管を中心とした平滑筋機能不全が循環不全をもたらし結果的に虚血的グループ筋崩壊を引き起こすと考えてきた。ようやく近年にいたり、全身の血管機能へも目が向けられ始め平滑筋に存在するdyの意義が注目されるに至っている。そこで私たちは平滑筋におけるdy機能を確認するために以下の二つの実験を考えた。即ち、全身にdyが欠損するmdxマウスの血管平滑筋にdyを発現させる事によりdyが欠損する筋組織の崩壊を阻止できるのではないか、あるいは正常のマウスの血管平滑筋を取り除くことにより筋崩壊を惹起するのではないかという二つの考えからなる。今回はまずmdxマウスの平滑筋組織にdyを組み入れる実験を開始した。

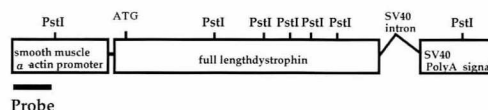
「方法」

mdxマウスの血管平滑筋にdyを発現させることを目的として、ヒト平滑筋 α -アクチンプロモーター(EA4.7)2)にヒトのdycDNA全長をつなぎ、次にSV40のPolyA signalをつないだコンストラクト(E4.7-dy-An)を構築した(図1)。次にこのコンストラクトが実際にdyを発現できるか否かをC2C12細胞(マイオブラスト)にリポフェクション法で導入し、in vitroでdy染色を行い、その発現を検討した。その後、作成したE4.7-dy-AnをC57BL/6マウスの受精卵約800個にマイクロインジェクションし、仮親マウスの子宮に戻した。生まれたマウスの尾よりDNAを抽出し、プロモーターの一部をプローブとしてサザンブロッティングを行い、E4.7-dy-Anが個体に導入されているか否かを確認した。また、同時にプロモーター領域とdy領域にプライマーを設定しPCR法でも確認した。

サザンブロッティングによるトランスジェニックマウスのスクリーニング



PstIによるdigestion

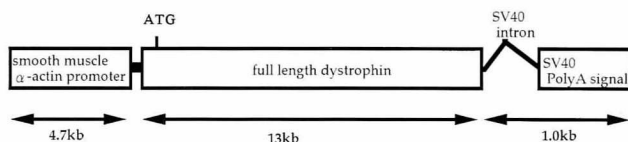


Probe

「結果」

E4.7-dy-AnをC2C12細胞に導入した後、dy染色をしてdyの発現を調べた結果、約20%の細胞に陽性反応を認めた。一方ネガティブコントロールであるトランスフェクションをしなかった細胞群には陽性反応を認めなかった。仮親マウスの子宮に戻した800個のマイクロインジェクションした受精卵から41匹のマウスが生まれた。内2匹は死亡、残り39匹のマウスをサザンブロット法とPCR法によるスクリーニングを行った結果、7匹のトランスジェニックマウスが生まれていることが確認された(図2)。しかし1匹が原因不明で死亡したため結局6匹のマウスを用いて今後の実験を進めることになった。

Transgene for transgenic mouse



「考案」

DMDの筋崩壊の機構については古くから三つの仮説があり討議されてきた。一つは1940年代の呉、沖中らによる自律神経異常説(神経説)、二つ目はWK Engelらが主張した血管異常説、三つ目はAG Engelらによる膜説である。¹⁾先に述べたがこの膜説は病理所見としてのOFを基盤としているわけであり、そのOFに病理像としての基盤が無いことからとうてい受け入れることができないものである。一方、1歳前のDMD病初期症例に置いて筋生検病理像は疑いなくグループ壊死およびグループ再生の所見である。即ち、同時期に多数の壊死に続く再生が起こっている。²⁾このことからも点在するOFをその初期像と考えることはできない。以上のような基礎的な病理像を背景としてこの研究は行われている。さてE4.7-dy-Anは全長19kbである。ベクターを加えると全長22kbに達する。この長さはプラスミドの増殖を得る限界の長さとしてされている。このことがこれまでこのコンストラクト作成に多大の労力と時間を必要とした理由である。この問題を今回、まず必要な制限酵素のサイトを人工的に作製し、そのサイトを利用することによってコンストラクト作成を試み成功した。一方このコンストラクトが実際dyを発現するか否かの検討はマイオブラストであるC2C12細胞を用いた。マイオブラスト時期にはdyは発現せずマイオチューブに成長すると発現してくる。従ってC2C12細胞にE4.7-dy-Anを導入し、細胞の成長とともにdyが発現してくることを確認できればこのコンストラクトが機能することを確認できる。今回の実験から、結果として6匹のトランスジェニックマウスを得ることができた。現在この6匹のマウスをmdxマウスと交配しており、希望的には全身の血管を中心とした平滑筋にのみdyを保有するmdxマウスを作製し、検討を進める。我々の考えによれば血管平滑筋機能がdyにより得られれば骨格筋組織の壊死・崩壊は阻止できることになる。dyは骨格筋のみならず消化器の平滑筋にも存在することは当初から明らかにされたことである。さらに私たちは血管、気管の平滑筋にも存在することを報告し³⁾更にdyは目の網膜のシナプス、中枢神経細胞のシナプス、神経筋接合部や筋腱接合部に多量に存在することを報告してきた。⁴⁾このことから、dyが神経伝達に関わる機能を持っていることが推測されるのであり、筋線維膜の強化蛋白であるなどというアイデアは浮かばない。⁵⁾これまでに私たちが主張してきたように、血管を中心とした平滑筋におけるdyの働きにもっと大きな注意を向けるべきであることを強調したい。大林らはこの研究班会議で昨年及び一昨年に胃電図を用いたDMDの胃運動機能を評価し発表した。この報告によれば食事負荷後に起こる周波数が最大に達する時間がコントロールに比して有意に遅延しておりこの反応は自律神

経機能異常などの一般的な変化によるものではなく、DMD独特の反応であることが分かった。平滑筋の刺激電動は膜から膜へと伝えられる事が知られている(membrane to membrane theory)。即ち、運動という負荷が加わったとき、血管平滑筋が血圧を保ち血液を筋組織に供給しようとする働きの中で血管の緊張を保つべく刺激伝導が行われる際にその反応の遅延状態が起こってしまい十分な血液量の供給が損なわれていることが考えられるのである。組織への血流低下と酸素供給不足が虚血性の筋崩壊を引き起こすと考えればDMDにおける筋の崩壊や全身症状ひいては凝固系の問題も説明ができるのではないか。

参考文献

- 1) Mokri B and Engel AG. : Duchenne dystrophy: Elwtctron-microscopic findings pointing to a basic or early abnormality in the plasma membrane of the muscle fiber. *Neurology* 25:111-1120,1975.
- 2) 三池輝久. : 進行性筋ジストロフィー症の筋病理。熊本医学会雑誌 61:63-79,1987.
- 3) Nakano et al. : Transcriptional regulatory elements in the 5' upstream and first intron regions of the human smooth muscle a-actin encoding gene. *Gene* 99:285-289,1991.
- 4) Miike T. : Maturational defect of regenerating muacle fibers in cases with Duchenne and congenital muscular dystrophies. *Muscle Nerve* 6:545-552,1983.
- 5) Miyatake M, et al. : Possible systemic smooth muscle layer dysfunction due to a defficiency of dystrophin in Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol Sci*93:11-17,1989.
- 6) Miike T, et al. : Immunohistochemical dystrophin raction in synaptic regions. *Brain Dev* 11:344-346,1989.
- 7) Zhao J, et al. : Dystrophin in control and mdx retina. *Brain Dev* 13:135-137,1991.
- 8) Zhao J, et al. : Dystrophin and dystrophin-related protein in intrafusul muscle fibers, and neuromuscular and myotendinous junctions. *Acta Neuropathol* 84:141-146,1992.
- 9) Miyatake M, et al. : Dystrophin: Localization and presumed function. *Muscle Nerve* 14:113-119,1991.

Duchenne 型筋ジストロフィーの下肢手術の経験

—Glorion-Rideau 変法の 3 例—

岩木病院整形外科

山田 史朗・大竹 進・岩谷 道生

弘前大学医学部整形外科学教室

青森県立はまなす学園

原田 征行

岩崎 光茂

要 旨 Duchenne 型筋ジストロフィーは、進行性の筋疾患で 10 歳前後で歩行困難となる。今回我々は、歩行能力維持と拘縮の改善を目的に、Rideau が報告している下肢手術を男児 3 例に行った。手術時年齢は 6 歳 5 か月～9 歳 3 か月で、術後観察期間は 12 か月が 1 例、10 か月が 2 例であった。術前の機能障害度(厚生省筋ジストロフィー研究班)は stage II が 1 例、stage IV が 2 例であった。後療法は特別な装具を使わず、翌日から全荷重での立位訓練、2 日目から歩行訓練を開始した。3 例とも歩行は術後 2 日目で可能となった。観察期間中 stage の進行は認められず股関節の外転拘縮の改善のほか尖足位も改善した。手術の有効性については、現時点での判断は出来ないが、通常 stage IV の例では短期間で歩行不能になる例が多いが、手術した 2 例では現在も歩行可能である事から有効と考えられる。

はじめに

Duchenne 型筋ジストロフィー(以下 DMD)は、ジストロフィンの欠損により筋力の低下を引き起こし、10 歳前後で歩行困難となる進行性の筋疾患である。筋力低下と筋萎縮だけでなく関節の拘縮、立位バランスの低下等も引き起こす。根本的な治療は今のところ確立されていない。今回我々は DMD 患児 3 例に、歩行能力と拘縮および立位バランスの改善に、Rideau⁶⁾らが報告している下肢手術を、報告されている範囲では本邦で初めて行った。術前・術中に注意した点と短期成績および若干の考察を含めて報告する。

対 象

DMD 男児 3 例を対象にした。手術時年齢は 6 歳 5 か月、7 歳 11 か月、9 歳 3 か月で、術後経過観察期間は 1 例が 12 か月、2 例が 10 か月であった。術前の機能障害度(厚生省の筋ジストロフィー研究班)は階段の登りに補助を要する stage II が 1 例、歩行は可能だが起立の出来ない stage IV が 2 例であった。

股関節の屈曲外転拘縮の鋭敏な評価として Rideau が推奨している dangling leg test にも注意した(図 1)。仰臥位で下肢を垂らし正中線上での大腿の挙上と開きで評価を行う方法である。正中位で挙上出来ない場合を陽性とした。

さらに我々は大腿外側での iliotibial band(以

Key words: Duchenne muscular dystrophy(Duchenne 型筋ジストロフィー), lower limb surgery(下肢手術), iliotibial band(腸脛靭帯), compartment syndrome(コンパートメント症候群)

連絡先: 〒 031-8551 青森県八戸市白銀町南が丘 1 青森労災病院整形外科 山田史朗 電話(0178)33-1551

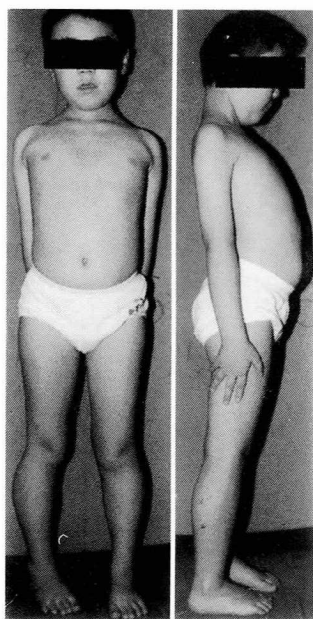
受付日: 平成 11 年 3 月 1 日



図 1. Dangling Leg test



図 2. 大腿外側部
大腿外側部に陥凹を認める



◀ 図 3.
症例 1: 術前

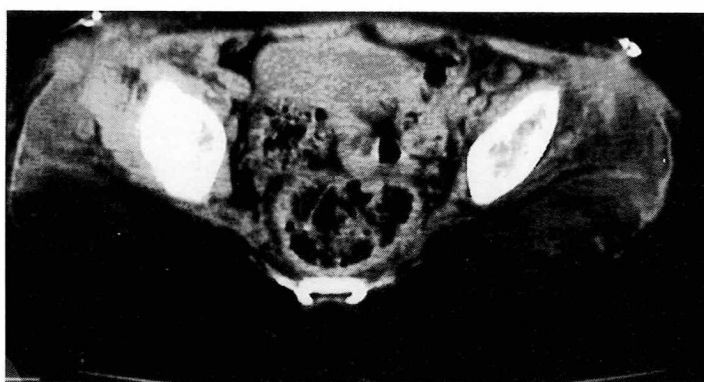


図 4. 症例 1: CT
大殿筋の変性を認める

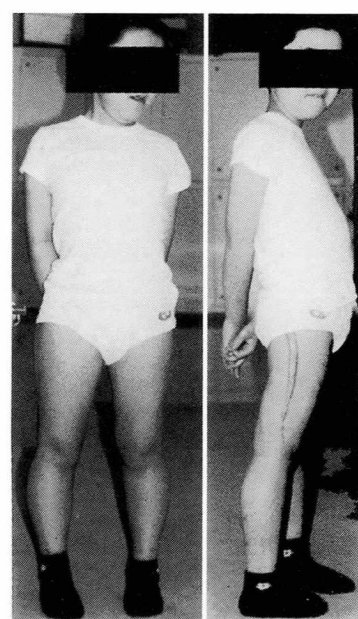


図 5. ▶
症例 1: 術後 1 年

下 ITB) の圧迫に着目し、同部の陥凹を 3 例とも確認した(図 2)。

方 法

手術は 3 例とも全身麻酔下(NLA 2 例, PFK 1 例)で行った。Lateral thigh contracture release として大腿骨大転子から外顆にかけて皮切を加え ITB と筋間中隔を切除した。さらに下肢を動かしてみても緊張のかかる変性した大殿筋の一部に切開を加えた。また hip flexion contracture release として上前腸骨棘に約 3 cm の皮切を加え、大腿皮神経を保護し、大腿筋膜張筋、縫工筋の起始部、更に触診し緊張のかかる臀筋筋膜を切離した。原法ではさらに knee flexion contracture release, heel cord contracture release を追加し

ているが我々を行わなかった。手術時間は 54 分～1 時間 50 分(平均 1 時間 22 分)、出血量は 37～227 g(平均 127 g)であった。

後療法はギプス固定や特別な装具を使わず、翌日から全荷重での立位訓練、2 日目から歩行訓練を開始した。

術中所見

今回の症例では年齢が高くなり症状が進行しているほど外側広筋と大殿筋の変性の進行が明らかであった。また ITB の外側広筋への圧迫を強く認めた。

結 果

3 例とも経過観察期間中に stage の進行は認め

られなかった。股関節の内転・内旋の可動域の拡大, dangling leg test の改善のほか尖足位も改善した。

症 例

1. 症 例 1 : 9 歳 3 か月, 男児

家族歴：母の弟が筋疾患(病名は不明)

現病歴：処女歩行は1歳頃, 2歳5か月の時にうまく走れないとして他医受診の後, 当科紹介となった。

入院時検査所見：GOT 127 IU/l, GPT 181 IU/l, CPK 13760 IU/l

理学所見：床から立ち上がることは出来ず, 立たせてやることで午前中は歩行可能だが午後になると転倒しがちであった(stage IV)。腰椎の前彎, 骨盤の前傾, 膝関節伸展位で立位バランスを保っていた(図3)。股関節の内転は左右とも -15° , 足関節の背屈は 0° であった。Dangling leg test は陽性。大腿外側の陥凹を認めた。CT 所見では大殿筋に一致して変性を認めた(図4)。

術後12か月経過し歩行速度は減少したが現在も歩行能力は維持されている。股関節の内転拘縮, 足関節の背屈制限も改善した(図5)。家族に機能評価としてではなく, 感想を尋ねたところ, 創など気になる点もあるがやって良かったと話しており, 他の患者に本法について肯定的な情報を提供してくれている。

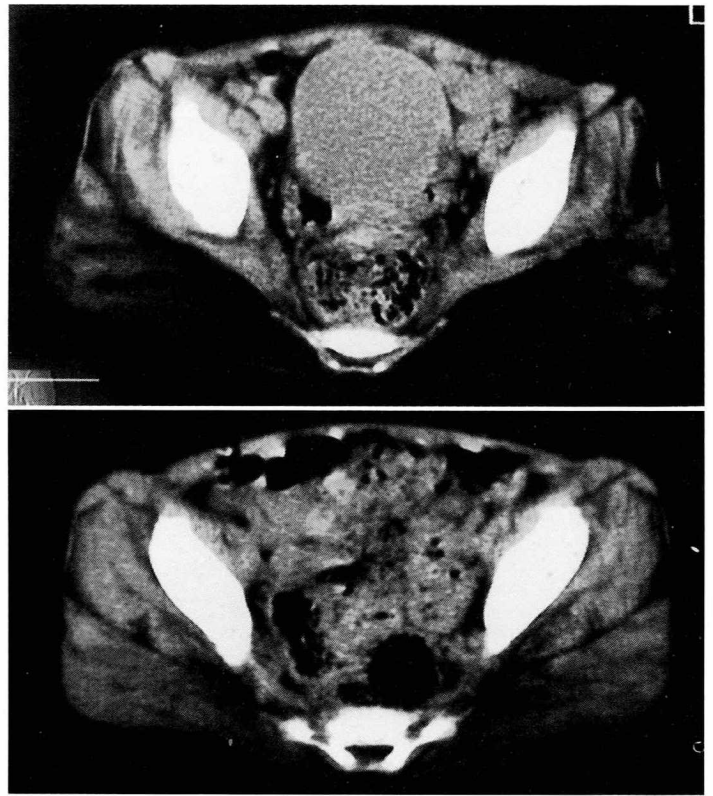
症例2と3は兄弟例である。

2. 症 例 2 : 7 歳 11 か月, 男児

現病歴：処女歩行は1歳8か月頃, Gower's sign 陽性にて当科紹介となった。

入院時検査所見：GOT 127 IU/l, GPT 278 IU/l, CPK 8481 IU/l

理学所見：床からの立位はできないが歩行は可能であった(stage IV)。腰椎の前彎, 骨盤の前傾, 膝関節伸展位で立位バランスを保っていた。股関節の内転は左右とも -10° , 足関節の背屈は 0° であった。Dangling leg test は陽性。大腿外側の陥凹を認めた。



a
b

図 6. 症例 2, 3 : CT

a : 兄で症例 2

b : 弟で症例 3

兄の方が大殿筋の変性を強く認める

3. 症 例 3 : 6 歳 5 か月, 男児

現病歴：処女歩行は1歳8か月, 兄がDMDのためfollow upを行っていた。

入院時検査所見：GOT 246 IU/l, GPT 467 IU/l, CPK 12859 IU/l

理学所見：床からの立位は可能だが階段は登れなかった(stage II)。腰椎の前彎, 骨盤の前傾, 膝関節伸展位ともに兄ほど著明ではなかった。股関節の内転は左右とも -5° , 足関節の背屈は 10° であった。Dangling leg test は陽性。大腿外側の陥凹を認めた。

CT 所見：大臀筋の変性は兄の方が強く認められた(図6)。術後10か月の時点で兄弟とも下肢機能のstageの進行は認められなかった。

考 察

DMDはジストロフィンが欠失しているため筋線維の崩壊を引き起こすと考えられている。根本的な治療は今のところ存在せず, 対症療法が中心

である。下肢機能の維持のため手術的な治療、理学療法、両者の組み合わせなどが行われている。本法は Rideau が報告して以来ヨーロッパ各国では長期のまとまった報告もなされている。Manzur⁴⁾は否定的な結果を、Granata²⁾は拘縮の改善には効果的だが、歩行能力については著明な改善は望めないと報告している。しかし他の多くは有効であったと報告している¹⁾³⁾。我々も stage IV から stage V への移行期間が平均 8 か月⁵⁾であることを考えると、この期間を延長して stage の進行を認めなかったことから下肢機能の維持には有効と考えている。

本法が有効である理由として、Rideau は拘縮の解消により筋力が落ちてきても良いバランスが維持されると述べている。我々は初期には大殿筋の変性・短縮と ITB による外転拘縮と縫工筋の屈曲拘縮の状態で立位バランスを維持するため、骨盤の前傾と腰椎の前彎が生じ、更に四頭筋の筋力低下のため膝を伸展位でロックし、尖足位で立つことを余儀なくされる。この解消が立位バランスの改善につながると考える。

術中に ITB に切開を加えたところ、切開部から外側広筋が筋ヘルニアのようになった症例もあったことから、ITB の緊張による外側広筋への compartment syndrome の様な状態が起きている可能性がある。実際に術前術後で圧を計測してみたが静的な状態では差は見られなかった。しかし動的な状態では影響している可能性があり、これが解消され筋に良い影響を与えているのかもしれない。さらに拘縮があると筋がより疲労することも考えられる。

問題点として、Rideau の推奨する適応は症例 3 の様な初期の症例である。そのため同意が得られにくいことがある。我々は家族に論文の和訳を渡し、手術・麻酔の危険性、日本では初めてであることを説明し実際の手術の VTR も希望があれば見せた上で手術を行った。さらに患者の家族間で手術の感想を話し合ってもらうことも行った。

手術の創が大きく、3 例ともケロイド状になっ

てしまったため、最近の症例では皮切を 2 か所に分け、皮下にトンネルを作製し、ITB の切除を行っている。大きく展開することも筋全体の色調・性状の観察には有効であったが、小皮切の方が術後の疼痛も少なく、後療法もスムーズな印象を受けている。

現在のところ歩行時期が延長する事による心筋への影響や生命予後についての情報はなく、長期の経過報告が待たれる。

今後も注意して経過観察を行う予定である。

まとめ

Duchenne 型筋ジストロフィー患児 3 例に Rideau の推奨する下肢手術を行った。経過観察中に下肢機能 stage の進行は認められず、下肢機能の維持には有効と思われた。(本論文の要旨は第 9 回日本小児整形外科学会学術集会で演述した。)

文 献

- 1) Forst R, Forst J : Importance of lower limb surgery in Duchenne muscular dystrophy. Arch Orthop Trauma Surg 114 : 106-111, 1995.
- 2) Granata C, Giannini S, Merlini L : Letter to the editor, early surgery in Duchenne muscular dystrophy. Experience at Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna, Italy. Neuromusc Disord 4 : 87-88, 1994.
- 3) Goertzen M, Baltzer A, Voit T : Clinical results of early orthopaedic management in Duchenne muscular dystrophy. Neuropediatrics 26 : 257-259, 1995.
- 4) Manzur AY, Hyde SA, Rodillo E et al : A randomized controlled trial of early surgery in Duchenne muscular dystrophy. Neuromusc Disord 2 : 379-387, 1992.
- 5) 野島元雄, 首藤 貴, 松田芳郎ほか : 運動機能障害の解析, 筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究. 昭和 61 年度研究報告書 161-170, 1986.
- 6) Rideau Y, Dupont G, Delaubier A et al : Early treatment to preserve quality of locomotion for children with Duchenne muscular dystrophy. Seminars in Neurology 15 : 9-17, 1995.

Becker 型筋ジストロフィーの遺伝子診断と遺伝相談に 於ける保健婦の重要な役割

中井博史¹⁾, 海上長子²⁾, 菊池とも²⁾,
中村義孝²⁾, 川村みや子³⁾

Hiroshi NAKAI, Nagako KAIJOU, Tomo KIKUCHI, Yoshitaka NAKAMURA, and Miyako KAWAMURA: An important stuff for a genetic counseling and a gene diagnosis in a case of Becker type muscular dystrophy

Summary

A mother had an anxiety to a next pregnancy. She had a girl, and also the mother had an younger brother and an uncle with Becker type muscular dystrophy. She visited our office in the Morioka Public Health Center for a genetic counseling in 1997. At first, she asked about a possibility to have a boy with the genetic disorder. Second she wanted to know whether her daughter might be a carrier of the disease or not. And third, she wanted to know how she could get genetic services of her carrier detection and prenatal gene diagnosis, and also her daughter's carrier detection. Patient 1. (fifty-one of age, the mother's uncle) When this patient was fourteen years old, muscle weakness and gait-disturbance had appeared. After he was diagnosed as muscular dystrophy, he graduated from his school. At his thirty years of age, he was admitted to a hospital because of limitation of daily life. He was considered as a Becker type of the disease because of its mild progression. He worked in a watch store with his friend and supporters till he was attacked by brain infarction at his forty-three years old. Now, he is fifty-one of age. Patient 2. (twenty-one of age, the mother's younger brother) This case had also muscle weakness in his junior high school and was diagnosed the same disease. He can walk alone now, but has not any jobs. After the mother's genetic counseling, however, she could not get an agreement of her husband. We

1) 国立療養所西多賀病院小児科

2) 岩手県盛岡保健所

3) 岩手県立都南の園小児科

2000年3月14日受付

needed several corresponding before she get a final decisions with their family. The important roll of genetic counseling and of medical co-workers were discussed.

Keywords :

Becker type muscular dystrophy	ベッカー型筋ジストロフィー
genetic counseling	遺伝相談
carrier detection	保因者診断
prenatal gene diagnosis	出生前診断
medical co-workers	医療における共同作業

はじめに

遺伝子解析の進展により遺伝子レベルでの診断や治療、または予防のための遺伝子検索などについて語られている。このような中で遺伝子診療における倫理が社会問題となっている。一方、話のいきさつや遺伝に対する考え方の違いから、本来当事者夫婦が二人で考えて、二人で共通の決断をなすべき出産に関わることも、必ずしもすんなり決まらず、コミュニケーションがうまく行かない場合もある。このような中で遺伝子の検査だけが先行し、あるいは人間がこれについて行けず対応困難な遺伝相談例がある。遺伝相談は基本的には助言者による指示的なものであってはいけないとされる (Wertz DC *et al.* 1995)。しかし、助言を求められた場合に方向性を示唆しないで相談は成り立たない (Fuhrmann W. 1980)。このような中でなかなか決断が出来ないで多くの月日を費やしてしまう。このような遺伝相談で共同作業にあたる遺伝相談コーディネーターとしての保健婦の特別な支援を要した 1 例を報告する。

相談事例

1997 年、1 人の女兒を連れた母親が遺伝相談に訪れた。母にはこの時 19 歳の弟と 49 歳になる母方の叔父があって、筋ジストロフィーと診断されている。母は次の子供が欲しいが、①これはどのような病気なのか ②この病気は遺伝するのか ③その原因を自分が持っているのか ④この娘の検査も出来るのかと尋ねた。弟と叔父の病状などから、本ケースでは Becker 型筋ジストロフィーと考えられた。

症例 1 (51 歳：来談者の叔父)

現在障害度 8 で自力歩行は出来ず。病院内で電動車椅子を使用中である。鬱血性心不全、高脂血症、中等度の呼吸不全あり、日中も時間を決めて経鼻間欠的陽圧人工呼吸器 (以下 NIPPV) を使用している。昭和 38 年 (14 歳の時) 両下肢に力が入らなくなり、歩行不安定で近医受診。筋ジストロフィーと診断され、学校を卒業後、30 歳の時、日常生活が困難となり一旦入院した。そこで症状が軽度なことから Becker 型と判断された。41 歳の時、

患者は友人や支援のボランティアの方と共に時計屋を営み、43歳で脳梗塞となって10日間入院。翌年9月、病気の進行により再入院するまで働いていた。そして11月にS状結腸癌が見つかり転院、手術後の経過は良好である。46歳の時、鬱血性心不全にて強心剤・利尿剤の服用を開始している。平成12年2月現在51歳で、四肢体幹の筋萎縮と筋力低下が著明。心不全のためリクライニング式の電動車椅子を使用。食事の部分介助と、それ以外は全介助を要し、上肢関節可動域の維持のため作業療法と両肩、両手指の他動的ストレッチを行っている。合唱サークルに入り、趣味はカラオケ、天体観察などのことである。

症例2 (21歳：来談者の弟)

本例もまた中学生の時に筋力低下が現れた。そして同様の疾患と診断された。歩行困難なため養護学校へ途中から転校し卒業。現在のところ自力歩行は可能であるが定まった仕事には付けず両親の元で療養中である。

遺伝相談の経過

初回の面談では病気についての説明はBecker型筋ジストロフィーと推定されること。この場合遺伝形式は伴性劣性遺伝で、来談者が保因者である確率は50%であることを説明した。病気の確認の為には叔父か弟の遺伝子検査の承諾が必要であり、このケースでは検査が保因者診断や出生前診断につながり得ることから夫との相談と了解が必要である旨を説明した。また一人娘が保因者であるかどうかは今調べるよりも、まず母の直面する問題の解決が先であることを話した。母親は「夫に相談してみます。」と話し、一回目の相談は終了した。

しかし、帰宅後も長い間、夫との話し合いが出来ず、2ヶ月後遺伝相談の広報を見て、再度相談を希望したいと相談窓口の保健婦に電話があった。後で話されたことであるが、夫との結婚はその交際中に第一子の妊娠が分かってからであった。また、来談者の両親が結婚前に夫に叔父や弟の病気について話したものの、来談者自身は夫に対して病名や遺伝的なことには触れたことは一度もなかったとのことであった。また結婚後に夫が別の女性と交際をしていたことが分かったこともあり、夫にも相談が出来ず、来談者がその両親に相談したところ、「希望するなら保因者診断を受けてもいいのではないか」と言われ、どこで検査出来るのかを教えて欲しいとの電話があった。そこで次の面談日を予約したが、当日来談者である母親から相談がキャンセルされた。

遺伝サービスの展開

一旦は予約しても、前進できず立ち止まったり、悩んでいるケースは少なくない。時間をかけて相談内容を整理しながら解決につながるよう保健婦を通じて支援を続けることにした。そして遺伝のことを心配するだけでなく、叔父さんや弟の療養生活の理解や支援も必要であることを伝えた。

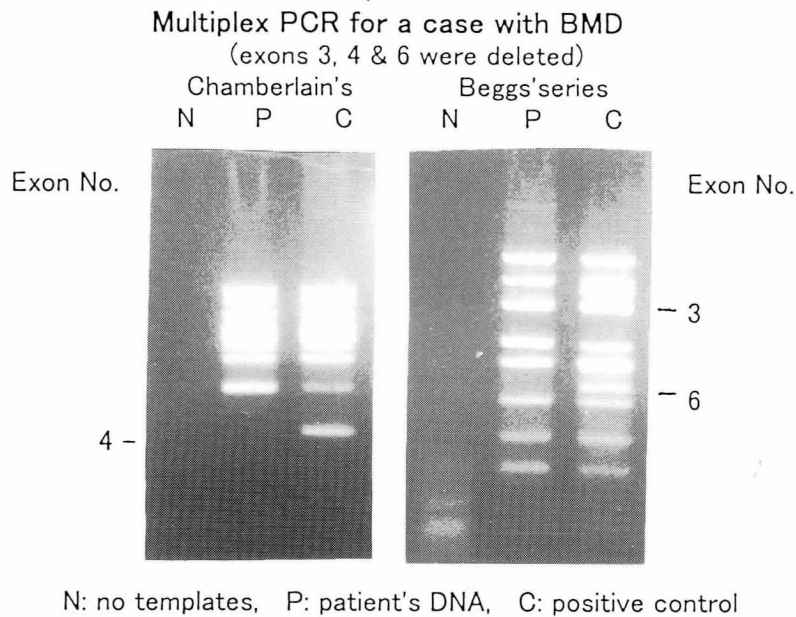


図1 患者で見られた遺伝子欠失
矢印で示した部分（エクソン3, 4, 6）が欠失していた。本ケースではこのことが筋線維の維持に重要な蛋白質の一つジストロフィンの異常につながった。

遺伝子診断の実施

症例1の遺伝子診断は厚生省の筋ジストロフィー研究班で作成された「筋ジス遺伝子検査同意書の1998年度版」（大澤真木子，他，1998）に基づき本人に説明した。検査への同意は得られたが結果のカルテへの記載は望まず、検査結果は本人のみに知らされることを希望した。この時点では出生前診断の話はしていない。そしてその時、①今はまだこの検査が治療に直接役立つことはないが遺伝子研究への協力と②遺伝子に異常があるといわれながら、これまで検査をしていなかったことによる検査への同意があった。しかし身の回りでその結果が話題になることは望まず、そっと自分だけに結果を知らせて欲しいとのことであった。従って遺伝相談の話は行わず、あくまで病気の診断を確定する目的で実施した。自身の検査（**図1**）が周りに注目されすぎることには抵抗があるものと考えられた。

その後この来談者の悩みを知った来談者の父と弟が来院し、弟の承諾すなわち出生前診断まで踏み込んでの同意があり、遺伝子検査を行った。

結 果

患者血液から抽出したDNAサンプルについてマキシム・バイオテック社のヒト筋ジストロフィー欠失検出用マルチプレックスPCRキットを使用した。その結果はエクソン3, 4, 及び6の欠失が認められた。しかし、これらのエクソンで想定される欠失範囲には合計473塩基対で、3では割り切れないフレーム外の欠失となる。これにエクソン2と7または、7と8を加えれば3塩基のフレーム内の欠失となりBecker型の病状に合致する。このことを確認出来るようChamberlainらやBeggsらのマルチプレックス・プライマーにはない隣接

エクソンの検索を行った。マイクロアレイ法を用い、GTMASS Scanner でエクソン7の欠失は確認できた。今後も結果の解釈が出来るまで詳細を検討する。病型との対応にはこの方法が有用と考えられた。こうして遺伝子欠失とその部位が判明したが保因者診断のめどはまだ立っていない。その後、夫と話し合いが出来、夫の同意もあったこと。そして母親が強い希望を持っており、出生前診断が必要なときには実施できることとなった。

考 察

今回の事例では遺伝子検査が患者の診断の為に行われたと言うよりは保因者診断や出生前診断のために求められていたこと。比較的症状のマイルドな病型であり、出生前診断実施の決断に躊躇したこと。家族や夫とのコミュニケーションがうまくとれず来談者が一人で悩み、結論を出そうとしていたことなどにより決断まで長い期間を要した。殊に夫との間に意志の疎通をなしがたい状態が続いたことが来談者の苦悩に繋がっていたと思われる。単に母がそっと遺伝子検査をすれば解決するというものではなく、この家族が、より安定した家庭生活に達するように保健婦によって機会のある毎に声がけなどの配慮がなされた。このように夫婦の同意を得るよう支援することなく患者の遺伝子検査や保因者診断・出生前診断を進めれば倫理上の問題や家庭の不和が生じたであろう。現実の生活の中で適切な遺伝相談を行うには、単に遺伝子検査が出来ると言うことだけでは足りない。その疾患に対しまず第一に患者の生活にまわりの理解と受容が必要であろう(中井博史, 1991)。仕事が得られない状況では職業紹介のコーディネーターがなければ個人の自立性やアイデンティティが保ちがたい。これでは社会への依存者とされ、生きることに消極的になったり、生まれてくることを拒否され、そのことを受け入れてしまう人にならないだろうか。遺伝そのものに対する様々な疑問や考え方について説明し、患者自身にも肩身の狭い思いやあきらめの気持ちをもたらしぬ注意が要る。このような配慮やスタッフがなければ各々の人権は守りがたいと思われる(厚生省, 1996)。また、来談者の要請がすぐにでも患者の遺伝子検査のための採血であり、急な検査への同意の取り付けでは困る。我が国では、法的には定められてはいないが、どんな重さの病気なら出生前診断や選択的流産をするかしないかを決めるのは両親となる来談者と自らの意志を伝える患者すなわち当事者自身である。そして最終的に生むか生まないかを決めるのは母となる女性自身であるとも言えよう。しかし、Becker 型のように経過の軽い場合来談者の意向だけではなく、出生前診断が妥当なのかどうか検討の余地がある(足立克仁, 1999)。我が国ではいまだに「遺伝」と言うことだけで忌み嫌われることもあり、次第に当然のように選択的流産が実施されることはさげたい。また男子の出産や遺伝子診断更に出生前診断を実施せざるを得ない立場に女性を追いつめていくことにもならないだろうか。実際、遺伝子検査がいつの場合にも福音とは言い切れない。今は静かにケース毎、慎重に対応することであろう(斉藤有紀子, 1998)。

まとめ

遺伝相談の現場に保健婦など医療における共同作業者の重要性を示した。実際に遺伝子検査を受ける方にはそうせざるを得ない立場があって、決していつも自発的なものとは言えないこと。治らないとはいえ、軽症で同じ患者の中には選択的流産に反対する方もいて、もっと障害者への配慮が求められる。そしてどこかで倫理面での歯止めが必要ではなかろうか。最後に本ケースの経過中には厚生省筋ジストロフィー研究班にて法律家、哲学者、心理研究家、医師、など様々な意見を交わすことが出来た。ここに心からの謝意を述べたい。

文献

- 足立克仁：本院筋ジス病棟における二十世紀の医療の足跡. 医療の広場 39(10)：14-20, 1999.
- Fuhrmann W：診療における統合遺伝相談 浜口秀夫訳, 松永 英校閲「遺伝学と医学 II」：pp. 223-259, 共立出版, 東京, 1980.
- 厚生省：優生保護法の一部を改正する法律等の施行について(依命通知). 1996 (平成8) 年9月25日
- 中井博史：遺伝相談で困った症例. 周産期医学 21：257-262, 1991.
- 大澤真木子他：遺伝子検査説明書/同意書病気の説明書 意志確認書. 厚生省精神・神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー研究班編, 1998.
- 斉藤有紀子：出生前検査とリプロダクティブ・ヘルス/ライツ. ペリネイタルケア 212：304-309, 1998.
- Wertz DC *et al.*: "Guidelines on Ethical Issues in Medical Genetics and the Provision of Genetic Services" (The Draft Guidelines by WHO), 1995.

Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy type 2B
: Muscular dystrophies associated with dysferlin mutation

11

三好型遠位型筋ジストロフィーおよび 肢帯型筋ジストロフィー 2B 型

— *dysferlin* 異常に伴う筋ジストロフィー

青木正志

Masashi Aoki

高橋俊明

Toshiaki Takahashi

東北大学医学部神経内科

ポジショナルクローニングの手法を用いて三好型遠位型筋ジストロフィーおよび一部の肢帯型筋ジストロフィーの原因遺伝子をはじめて明らかにし、*dysferlin* と名づけた。同遺伝子異常に伴う筋ジストロフィーという新たな疾患概念が必要である。

Key Words

dysferlin, *dysferlinopathy*, limb-girdle muscular dystrophy, Miyoshi myopathy, positional cloning

はじめに

三好型遠位型筋ジストロフィーはわが国の三好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¹⁻⁴⁾。発症年齢は12～30歳であることが多く、筋萎縮は下腿後面、特に腓腹筋に優位に認められる。水沢ら、埜中らによって報告されたrimmed vacuole型遠位型ミオパチー (distal myopathy with rimmed vacuoles ; DMRV)^{5,6)}とは異なり、筋病理学的には純粋な筋ジストロフィー像を呈し、血清CK値は著しく上昇する。最近になり、米国ボストンのMassachusetts General HospitalのBrownを中心とするグループにより、ポジショナルクローニングという手法を用いて原因遺伝子が同定され*dysferlin*と名づけられた⁷⁾。

I 連鎖解析による三好型遠位型筋ジストロフィーの遺伝子座の同定

三好型遠位型筋ジストロフィーの遺伝子座の決定を行うにあたり、わが国と北アフリカのチュニジアなどの症例を対象としてマイクロサテライト

のDNA多型を利用した連鎖解析が行われた。近親婚のある家系あるいは複数の同胞のいる家系を利用して、常染色体すべてにわたって約20cM間隔で設定したDNA多型マーカーを用いた連鎖解析を行った。その結果、2番染色体短腕に存在するマーカーD2S291を中心に明らかな連鎖が見出され (最大のロッドスコア $Z_{\max} = 15.3$, $\theta = 0$ を得た)、三好型遠位型筋ジストロフィーの原因遺伝子は2p13に存在することが明らかになった^{8,9)}。

II PACによるコンテイングを用いた遺伝子地図の作製

ポジショナルクローニングは原因がまったくわからない疾患においてもその遺伝子座をせばめていくことによりその原因遺伝子の同定が可能であるが、非常に労力がかかる手法である。連鎖解析によって同定された領域から原因遺伝子の単離を成功させるには、その領域の正確な遺伝子地図を作製することが必須である。われわれボストンのグループはまずその候補領域をカバーするYAC (yeast artificial chromosome, 酵母人工染色体)の同定を開始したが、その過程でYACを用いた遺伝子地図の作製にはいろいろと問題があること

が判明した。そこで遺伝子ベクターの規模としてはかなり小さくはなるが、組換えや欠失の少ない PAC (P1 derived artificial chromosome) によるコンティグ (オーバーラップするクローンの連続) を作製し、候補領域すべてをカバーする正確な地図を作製することにした。2 番染色体特異的あるいは全ゲノムを含む PAC のライブラリーからこの領域に存在すると考えられる総計 864 個の PAC を同定し、その末端の塩基配列を決定することにより、3 Mb の距離にわたる遺伝子地図の作製に成功した¹⁰⁾。この遺伝子地図を利用することにより新たな DNA 多型マーカーを 5 つ同定し、さらに候補領域をせばめることが可能となった。

III *dysferlin* 遺伝子の同定

最終的には、候補領域に存在することが明らかになった 2 つの既知の遺伝子 (TGF- α と β -アデューシン) と 22 個の発現配列タグ (expressed sequence tag ; EST) のうち、骨格筋に強く発現している 5 つの EST を候補遺伝子としてしぼり込んだ⁷⁾。5 つの EST のうち、D2S291 というマーカーの最も近くにある遺伝子の全長を骨格筋から作製した cDNA ライブラリーからクローニングしたところ、約 6.9 kb 長さの cDNA をもち、翻訳領域が 6,243 塩基、2,080 アミノ酸からなることが判明した⁷⁾。筆者らはまずゲノム DNA を用いて患者の遺伝子解析を行うために、エクソン-イントロン構造を決定し、エクソン 55 個からなることを明らかにした¹¹⁾。次に各エクソンごとに設計したプライマーを用いて、この遺伝子の各エクソンを PCR にて増幅し、一本鎖高次構造多型 (single strand conformational polymorphism ; SSCP) 解析にて患者固有の変異を検出し、直接塩基決定法にてその塩基配列を決定した。その結果、三好型遠位型筋ジストロフィー患者のみに (対照者には認められない) 特異的な欠失 (図 1) や点突然変異が認められた。これらの変異の多くは翻訳領域のフレームシフトを伴っていた。したがって、筆者らはこの遺伝子を三好型遠位型筋ジストロフィーの原

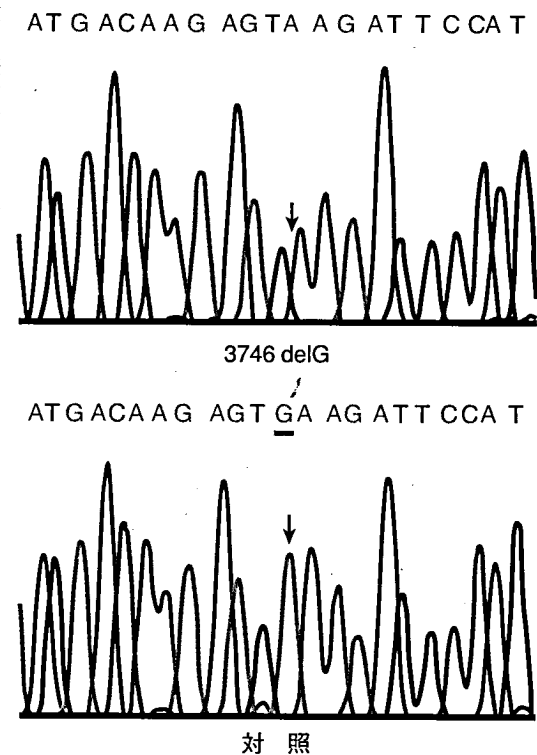


図 1 日本人の三好型遠位型筋ジストロフィー患者にみられた遺伝子異常

下段の健常者に比較して、上段の患者では G (グアニン) の欠失がみられる。

因遺伝子であると決定した。この遺伝子はこれまでに知られている哺乳類の遺伝子にはまったく相同性がない新しい遺伝子で、*C. elegans* (線虫) の *fer-1* 遺伝子のみに相同性がみられたため^{12,13)}、*dystrophy associated fer-1 like protein* の下線部をとって *dysferlin* と名づけた⁷⁾。ごく最近になり、先天性難聴の DFNB9 の原因遺伝子が明らかになり、これも *C. elegans* の *fer-1* 遺伝子に相同性をもつことから *otoferlin* と名づけられた¹⁴⁾。*dysferlin* と *otoferlin* はともに *fer-1* 遺伝子に相同性を持ち、新しい遺伝子ファミリーを形成すると考えられる。

IV 三好型遠位型筋ジストロフィー患者における *dysferlin* 変異

最初に外国例の三好型遠位型筋ジストロフィー患者 12 例を解析したところ、そのうちの多くの

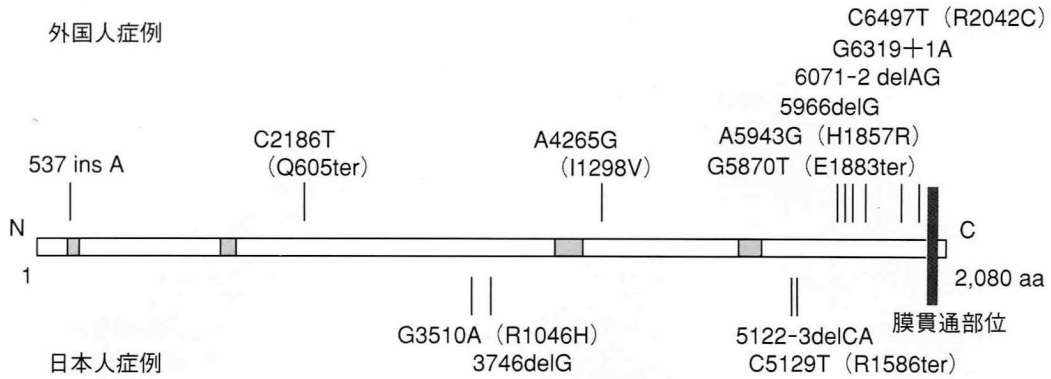


図2 *dysferlin*の構造の模式図とこれまでに明らかになった三好型遠位型筋ジストロフィー症例における遺伝子変異

C末端の膜貫通領域を赤で、4つのC2ドメインの位置を■で示す。垂直線は患者においてみられた変異（上は外国症例、下はわが国の症例）の位置を示す。遺伝子変異は核酸の変化を示し、点突然変異によりコードするアミノ酸の置換を伴うものは後の（ ）内にその変化を示した。

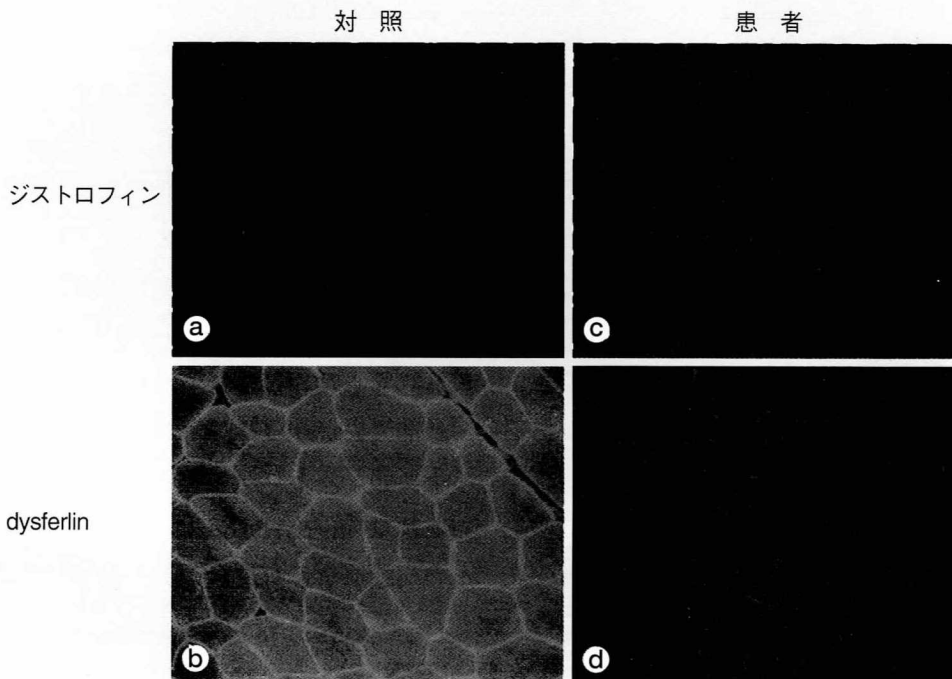


図3 三好型遠位型筋ジストロフィー患者における *dysferlin* の発現の低下

対照例 (a, b) および患者筋 (c, d) における抗 *dystrophin* 抗体 (a, c) および抗 *dysferlin* 抗体 (b, d) を用いた免疫組織化学。対照および患者ではいずれもジストロフィンの発現には変化がみられないが、患者のみに *dysferlin* の発現の著明な低下がみられている (d)。(Matsumura T et al. *Proc Japan Acad* 75, Ser B, 207, 1999²⁸⁾ より)

症例に終止コドンやフレームシフトを伴う欠失がみられた。C末端には膜貫通部位と考えられる領域がみられるが、三好型遠位型筋ジストロフィー患者ではその直前に変異が集積している傾向がみ

られた (図2)⁷⁾。その後、わが国での症例においても遺伝子解析が進められているが、わが国の症例ではむしろ遺伝子の中心部に多くみられている (図2)^{11, 15)}。

V 肢帯型筋ジストロフィー 2B 型

肢帯型筋ジストロフィー (limb-girdle muscular dystrophy ; LGMD) は四肢の近位筋の筋力低下と筋萎縮を主症状とする疾患群を指す (本書1-9 松村の項, p59 を参照). その疾患群のうち, 常染色体優性遺伝のLGMDをLGMD1, 常染色体劣性遺伝のLGMDをLGMD2と分類している^{16, 17)}. 筆者らのグループと同じころに, 常染色体劣性遺伝形式をとる肢帯型筋ジストロフィーのうち, その遺伝子座から2B型と分類されたタイプが, 三好型遠位型筋ジストロフィーと同じ2p13に存在することが明らかになった¹⁸⁾. 実際に三好型遠位型に早期に肢帯型筋萎縮のみられる症例も報告されており¹⁹⁾, この2つの疾患は同一遺伝子の変異の違いによる表現型の違いなのか, それぞれ異なる原因遺伝子が近傍に存在し, 異なった変異を有するのか興味をもたれるところであった. その肢帯型筋ジストロフィー2B型の原因遺伝子も筆者らと同じ時期に欧州のグループにより同定され, 三好型遠位型筋ジストロフィーと同じ遺伝子 *dysferlin* の変異によることが明らかになった²⁰⁾. さらに興味深いことには, 同じ家系内に三好型遠位型の臨床型と肢帯型の臨床型を示す兄弟例があり, その兄弟は皆同じ *dysferlin* 遺伝子変異を共有していた⁷⁾. このことは三好型遠位型と肢帯型のいずれの表現型をとるかは遺伝子異常以外の別の因子により決定されることを示唆している. このことはその後, カナダの大家系でも確認された²¹⁾. また, スペインの家系においては前頸骨筋から筋萎縮がはじまり, 筋病理学的に筋ジストロフィーの像を呈する家系が Diatal myopathy with anterior tibial onset という名称で報告されている²²⁾ が, その家系の患者からも *dysferlin* 遺伝子変異がみつかっている⁷⁾. いくつかの臨床像を呈する疾患群から *dysferlin* の遺伝子異常が発見されたことは *dysferlin* を基軸とした新たな disease entity, いわゆる *dysferlinopathy* を確立する必要性が出てきた.

VI *dysferlin* の機能

ポジショナルクローニングにより新しい筋ジストロフィーの原因遺伝子 *dysferlin* が明らかになったが, その機能はまだまったく不明である. *dysferlin* 遺伝子はCaが結合すると考えられるC2ドメイン²³⁻²⁵⁾を少なくとも4つもつことが明らかになっており (図2), Caにより制御を受けている可能性がある. また, *C. elegans* では *fer-1* 遺伝子の欠損により, 精子形成過程での細胞膜融合の過程が影響を受けると考えられており, 同様の機序が筋における *dysferlin* にもあるかも知れない. これまでに作製した抗体を使った検索によりその局在は筋細胞膜にあることが明らかになった (図3b)²⁶⁻²⁸⁾ が, 興味あることには, 従来から知られている筋細胞膜の構成蛋白であるジストロフィンあるいはジストロフィン関連蛋白との相関は今のところみられていない. *dysferlin* がどのような蛋白質と相互関係をもつのかも, 機能を理解していくうえで重要なことと考えられる. また最近になり, 実験的アレルギー性脳脊髄炎 (experimental allergic encephalomyelitis ; EAE) などに用いられてきたSJLマウスにおいて *dysferlin* 遺伝子の一部欠失がみられ, それに伴い *dysferlin* の発現低下と筋ジストロフィーの所見を呈することが報告された²⁹⁾. *dysferlin* 低下に伴う筋ジストロフィーの病態解析に有用なモデル動物になると考えられる.

■ おわりに

わが国の三好らにより臨床型が確立された疾患の原因遺伝子が同定されたことは, 非常に意義深いことと考える. 同じ *dysferlin* 異常により, 従来異なる疾患単位として分類されていた遠位型あるいは肢帯型のさまざまな臨床型を呈することが明らかになった. そのことは *dysferlin* 異常に伴う筋ジストロフィー群, すなわち *dysferlinopathy* という新たな疾患概念を提唱する必要性を意味している.

文献

- 1) 三好和夫ほか. Distal Myopathy と考えられる2家系4症例. 日本人類遺伝学会誌 **12**, 113 (1967)
- 2) 三好和夫ほか. Distal Myopathy の遺伝・臨床型・自験7家系14症例とわが国文献例についての成績. 臨神経 **14**, 936 (1974)
- 3) 三好和夫ほか. 常染色体劣性末梢型筋ジストロフィー症 Autosomal recessive distal muscular dystrophy —わが国でとくにみられる新しい末梢型筋ジストロフィー症. 日本臨牀 **35**, 3922 (1977)
- 4) Miyoshi K et al. Autosomal recessive distal muscular dystrophy as a new type of progressive muscular dystrophy. *Brain* **109**, 31 (1986)
- 5) 水沢英洋ほか. 筋線維に高度の空胞変性を伴った distal myopathy の一病型. 神経内科 **12**, 40 (1980)
- 6) Nonaka I et al. Familial distal myopathy with rimmed vacuole and lamellar (myeloid) body formation. *J Neurol Sci* **51**, 141 (1981)
- 7) Liu J et al. Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. *Nat Genet* **20**, 31 (1998)
- 8) Bejaoui K et al. Linkage of Miyoshi myopathy (distal autosomal recessive muscular dystrophy) locus to chromosome 2p12-14. *Neurology* **45**, 768 (1995)
- 9) 平林久吾. 三好型遠位型筋ジストロフィー. CLINICAL NEUROSCIENCE **13**, 1284 (1995)
- 10) Liu J et al. Generation of a 3-Mb PAC contig spanning the Miyoshi myopathy/limb-girdle muscular dystrophy (MM/LGMD2B) locus on chromosome 2p13. *Genomics* **49**, 23 (1998)
- 11) Aoki M et al. Genomic organization and novel mutations in the dysferlin gene in Miyoshi myopathy and limb girdle dystrophy type 2B, in submission
- 12) Achanzar WE, Ward S. A nematode gene required for sperm vesicle fusion. *J Cell Sci* **110**, 1073 (1997)
- 13) Ward S et al. Sperm morphogenesis in wild-type and fertilization-defective mutants of *Caenorhabditis elegans*. *J Cell Biol* **91**, 26 (1981)
- 14) Yasunaga S et al. A mutation in OTOF, encoding otoferlin, a FER-1-like protein, causes DFNB9, a nonsyndromic form of deafness. *Nat Genet* **21**, 363 (1999)
- 15) Aoki M et al. Dysferlin gene mutations in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. *Neurology* **52** (Supple), A231 (1999)
- 16) Ozawa E et al. From dystrophinopathy to sarcoglycanopathy: Evolution of a concept of muscular dystrophy. *Muscle Nerve* **21**, 421 (1998)
- 17) 松村喜一郎. 肢帯型筋ジストロフィー. CLINICAL NEUROSCIENCE **17**, 1129 (1999)
- 18) Bashir R et al. A gene for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy maps to chromosome 2p. *Hum Mol Genet* **3**, 455 (1994)
- 19) 三好和夫. 三好遠位型筋ジストロフィー症例の報告例数(1967-1994)ならびに本症に早期にみられる肢帯型筋萎縮. 神経内科 **44**, 61 (1996)
- 20) Bashir R et al. A gene related to *Caenorhabditis elegans* spermatogenesis factor fer-1 is mutated in limb-girdle muscular dystrophy type 2B. *Nat Genet* **20**, 37 (1998)
- 21) Weiler T et al. Identical mutation in patients with limb girdle muscular dystrophy type 2B or Miyoshi myopathy suggests a role for modifier gene (s). *Hum Mol Genet* **8**, 871 (1999)
- 22) Illa I et al. Distal anterior compartment myopathy: A new severe dystrophic phenotype linked to chromosome 2p13. *Neurology* **50** (Supple), A186 (1998)
- 23) Nishizuka Y. The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation. *Nature* **334**, 661 (1988)
- 24) Orita S et al. Doc2: A novel brain protein having two repeated C2-like domains. *Biochem Biophys Res Commun* **206**, 439 (1995)
- 25) Sakaguchi G et al. Molecular cloning of an isoform of Doc2 having two C2-like domains. *Biochem Biophys Res Commun* **217**, 1053 (1995)
- 26) Anderson LV et al. Dysferlin is a plasma membrane protein and is expressed early in human development. *Hum Mol Genet* **8**, 855 (1999)
- 27) Matsuda C et al. Dysferlin is a surface membrane-associated protein that is absent in Miyoshi myopathy. *Neurology* **53**, 1119 (1999)
- 28) Matsumura T et al. Proc Japan Acad 75, Ser B, 207 (1999)
- 29) Bittner RE et al. Dysferlin deletion in SJL mice (SJL-Dysf) defines a natural model for limb girdle muscular dystrophy 2B. *Nat Genet* **23**, 141 (1999)

Myotonic dystrophyにおける 大脳白質病変についての組織学的検討

班 員 今野秀彦

(国立療養所西多賀病院 神経内科)

研究協力者 高橋 俊明 金原禎子 吉岡 勝

斉藤 博 (同上 神経内科)

高瀬貞夫 (広南病院 神経内科)

はじめに：

Myotonic dystrophy(MyD)の経過中に意欲の減退、痴呆或いは性格変化などのMDに特徴的ともいえる精神神経症状が出現する。大脳の組織学的変化として見られる神経原線維変化や好酸性封入体などがこの臨床症状との関連で考えられてきた。一方、脳のMRIにて大脳側頭葉や前頭葉の白質にT2WIでhigh intensity areaとして描出される異常所見の出現が知られている。しかし、いまだ組織学的には明らかにはされていないことから、今回、MyD2例の大脳半球白質について組織学的及び定量的に検討したので報告する。

対象と方法：

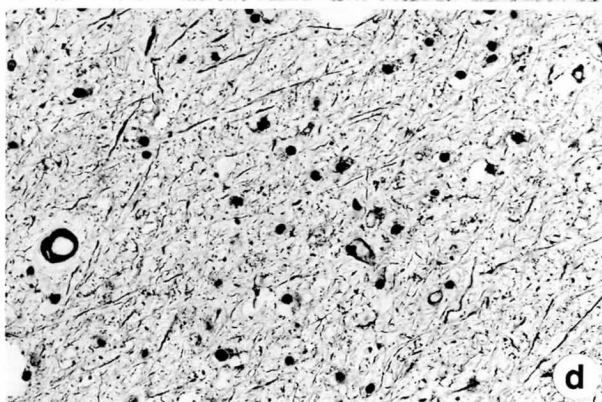
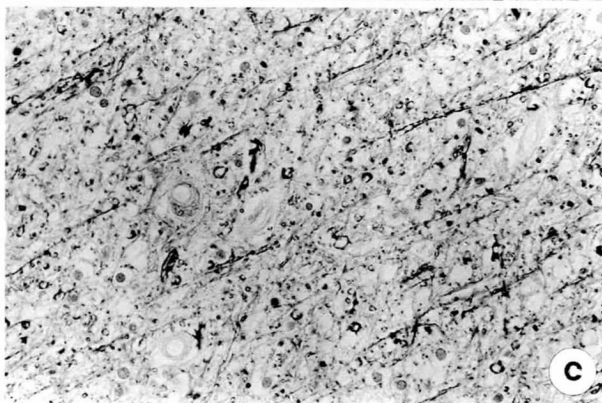
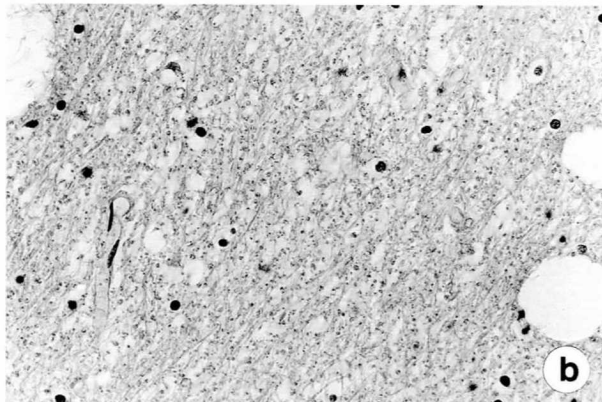
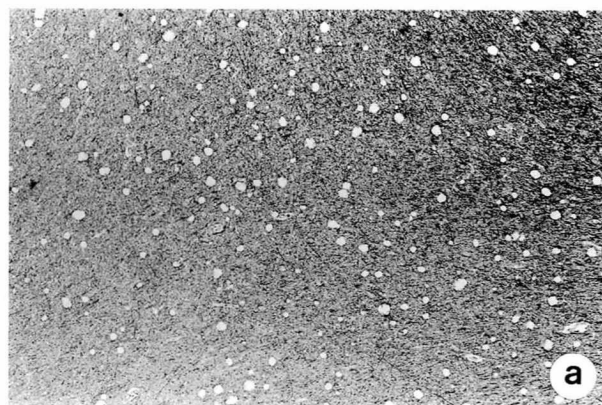
MyD 2 症例の臨床経過：

症例1：死亡時43才、男性。父親に類症(+)。中学卒業頃、両手の脱力を自覚し把握性ミオトニアを伴い発症。22-3才頃禿頭、30才時両側の視力低下等出現、34才時には糖尿病を指摘された。42才時起立不能で臥床状態が多くなった。呼吸障害に肺炎を併発し死亡。全経過約30年。

症例2：死亡時62才、男性、家族歴なし。32-3才頃、禿頭が始まり更に性欲の減退を伴い、45才時に白内障の手術を受けた。48才時には両上肢の脱力と把握性ミオトニアが明らかとなり、50才時に嚥下困難、55才時に全身の筋力低下が目立ち、61才には臥床状態となり全面介助の生活となった。肺炎を併発し死亡。全経過約29年。経過中、糖尿病は指摘されていない。

方 法：

上記MyD2症例の剖検脳から厚さ5ミクロンのパラフィン切片を作成し、H.E., K.B., Bodian, Holzer等の一般染色、GFAP抗体を用いた免疫染色を施行し、光学顕微鏡下に観察した。いずれの2症例とも、扁桃体を通る冠状断面で側頭葉と前頭葉白質部のK.B.染色標本で境界不鮮明な淡染部が見られたことから、これを脳MRIで示されたT2WI high intensity area (高信号領域)に相当する部位として、一般染色標本で観察するとともに以下のような方法で定量的に検討した。対照症例



図：MyD例(case1)の前頭葉白質に見られた境界不鮮明な淡明巣。U-fiberが比較的残存する(a: K.B.染色)。神経線維は密に配列しているが(b), 染色される髄鞘は乏しく(c)、小径軸索のみが染色される(d)。単核細胞の密度の低下が明らかである(b)。(淡染部の強拡大 b: H.E.染色、c: K.B.染色、d: Bodian染色)。

として、大脳白質の同じ部位に同様の淡染領域の見られた2症例(ALS例:69才、女性。転位性脳腫瘍例:69才、男性)を用いた。

K.B.染色標本で淡明化を示した領域を淡染部とし、これに近接しほぼ正常に染色される領域を正染部として比較した。H.E.染色標本でそれぞれに相当する領域から接眼マイクロメーターを用い1の領域、5カ所を選択しその中に含まれる円形核の数をカウントし、その平均値をもって比較検討を行った。側頭葉と前頭葉のそれぞれについて検討した。同領域のGFAP免疫染色標本で、明らかな陽性細胞の見られなかったことから、この単核細胞の大部分をオリゴデンドログリアと考えた。

<表1>

	前頭葉		側頭葉	
	正染部	淡染部	正染部	淡染部
case1(MyD)	406.4	237.2	505.2	329.6
43y.o. M		(58.3%)		(65.2%)
case2(MyD)	411.2	263.0	394.2	280.6
61y.o. M		(64.0%)		(72.6%)
case3(ALS)	448.2	421.8	505.8	433.6
69y.o. M		(94.1%)		(85.7%)
case4(B.T.)	398.2	375.4	507.6	354.8
69y.o. M		(94.3%)		(69.9%)

結果:

前頭葉と側頭葉の染色性が維持されている領域、すなわち正染部では、対象症例の4例とも、400～500/個の核がカウントされ、比較的一定した値を示した。これに対し、淡染部についてみると、MyD 2例での前頭葉では、それぞれ正染部の58.3%、64.0%、側頭葉では65.2%、72.6%と明らかに減少していた。また、脳腫瘍例での側頭葉淡染部でも、69.9%と減少していたが、ALS例の淡染部では明らかな差は見られなかった。

それぞれの組織像についてみてみると、MyD例の淡染部では正染部に比較して核成分が乏しく、濃染し小型化している核が目立った。その背景を示す神経線維の密度には、著変はなかったが、K.B.染色で染色される線維はわずかであった。同部位でのBodian染色陽性の軸索はいずれも細いもののみであったが、正染部との違いはなく染色性は保持されていると判断された。ALS例の大脳半球白質の淡染部は、髄鞘染色での染色性の低下はみられたが、軸索は比較的よく染色されており、線維密度の低下は明らかではなかった。

転移性脳腫瘍周囲の大脳白質にみられた淡染部は、前頭葉ではK.B.染色の染色性の低下はあきからであったが、Bodian染色での軸索染色は比較的保たれていた。

一方 側頭葉での線維密度は疎となり線維間の間隙が目立ち、細胞密度の低下、核の小型化も観察された。

その他の所見:大脳皮質では、症例2のsubiculumに神経原線維変化が僅かにみられた以外、特に今回の検索対象領域とした淡染部に近接する大脳皮質でも、神経細胞の脱落や層構造の乱れ、グリオーシスなどは確認されなかった。皮質下直下のU-fiberは比較的よく残存しており、基底核、脳幹、小脳、脊髄にも明らかな変化は観察されなかった。

また、MyD例の淡染部でのGFAP免疫染色では、陽性細胞の増多は明らかではなく、従ってカウントされた単核細胞の大部分はオリゴデンドログリアであろうと考えた。

考察:

MyDの大脳白質病変は、脳の画像診断によって初めて指摘され、本疾患の精神神経症状との関連で注目されるようになった。その組織像についての記載の多くは、髄鞘の脱落とされてきているが、一方でこれをアーチファクトの可能性もあるとする報告もあり、またいずれの報告にも髄鞘を形成する細胞であるオリゴデンドログリア(ODG)についての記載のないことから、今回、髄鞘染色標本でMyDに類似する大脳白質の淡染化を示す症例との比較を行うことにより、MyDの白質病変についての特徴を確認すると同時にODGの変化について定量的に検討を行った。

転移性脳腫瘍の周辺部白質では、神経線維の染色性は保持されているものの組織間隙の開大により線維密度が減少し結果として淡明化を来たしたものと考えられた。この場合、従ってODGの細胞密度も減少したものと推測されるが、脳浮腫の持続によってしばしばアストログリアの増多を伴ってくることから、GFAP陽性細胞が乏しいとの結果であってもカウントされた核の中にはODG以外の核、即ちアストログリアやマクローヅ等の単核細胞も含まる可能性もあり、実測値よりもODGの数は更に減少しているものと思われた。これに対し、ALS例に見られた大脳白質の淡染部では、細胞密度の低下もなく、また線維密度にも変化が見られず、染色された髄鞘は乏しいものの軸索の染色性は維持されていたことからすると、標本作成過程に生じたアーチファクトにより髄鞘の染色性が低下したものと考えられた。

これらの所見に対し、MyDに見られた大脳白質の淡明化病巣は、線維密度の低下はないように見えるが、染色された髄鞘の個々の染色性は淡く、軸索染色では大径軸索が乏しいことから、神経線維の脱落がありこれに残存する髄鞘の染色性の低下が加わった変化と考えられた。更に、ODGの減少を伴っていることもMyDの白質病変の特徴として指摘できる。髄鞘の染色性の

低下やODGの減少が、仮にODGの代謝障害が存在しその結果として生じた可能性も考えられるが、しかし脳画像で見られる白質の変化は、大脳全体におよぶものではなく、特に側頭葉の前方部に限局したものとしてとらえられることから、このような考え方は否定的であろう。皮質下直下のU-fiberを残すことからprimaryには、軸索変性即ち大脳皮質の神経細胞の変化が存在するものと考えるのが妥当と思われる。即ち、大脳皮質の神経細胞の脱落があってその結果として軸索変性が生じ髄鞘の脱落や染色性の低下、ひいてはODGの減少を来したものと考えられた。しかし、MyDの大脳皮質についての病理学的変化として、しばしば神経原線維変化の出現などが報告されているものの、大脳皮質での細胞構築異常は記載されていない。今後、定量的な方法などによって更に検討されるべき問題と思われる。

Reference:

A.Di Costanzo, E.Di Salle, L. Sanntoro, V. Bonavita G. Tedeschi: T2 relaxometry of brain in myotonic dystrophy. *Neuroradiol.* 43: 198-204: 2001

Abe K, Fujimura H, Toyooka K, Yorifuji S, Nishikawa Y, Hazama T, Yanagihara T. : Involvement of the central nervous system in myotonic dystrophy. *J. Neurol Sci.* 112:179-185, 1994

Ogata A, Terae S, Fujita M, Tashiro K. : Anterior temporal white matter lesions in myotonic dystrophy with intellectual impairment: an MRI and neuropathological study. *Neuroradiol.* 40:411-415, 1998

筋ジストロフィーの遺伝相談及び病態に基づく
治療法の開発に関する研究
Duchenne型筋ジストロフィーを伴う
脊柱変形に対する後方矯正固定術

医長 中田好則

国立療養所千葉東病院整形外科

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)を伴う脊柱変形に対して早期の手術治療が提唱されつつあるものの、術中術後の合併症も高率であるとの報告も散見され、我が国においては未だ一般化されていないのが現状である。筆者らは1997年7月から2001年9月までにDMDを伴う脊柱変形に対し後方矯正固定術を10症例行ってきたので、それらにつき、検討、考察を行いたい。

対象と方法

1997年7月から2001年9月までにDMDを伴う脊柱変形に対し後方矯正固定術を行った10症例を対象とした。手術方法は脊椎後方矯正固定術であり、固定する範囲はカーブを含み、上位は胸椎とし、下位は骨盤までの固定をすすめる文献もあるが、骨盤は脆弱かつ小さいこと、出血量、および手術時間の短縮のため、また骨盤傾斜とADL障害の程度とは一致しないなどの考えから、筆者らは第5腰椎(L5)までの固定とした。初期症例の2例は上位胸椎までの固定を行っているが、症例3から以後の症例は頸椎を含めた上位胸椎の可撓性の温存のため、中位胸椎までの固定として固定範囲を短縮している。また、症例6までは手術時間の考慮からワイヤーとフックのみの脊椎への設置としたが、以後は矯正と固定性に優れた椎弓根スクリューを腰椎に用いている。なお、全症例で術前自己血貯血を行い、1000~1200mlの貯血にて手術にのぞんでいる。それらの症例について、脊柱変形の矯正、手術時間、出血量、手術前後、経過時での呼吸能の変化、生活上での変化を検討、考察した。

結果

側彎は平均で術前79°(50°~114°)が術後31°(8°~38°)に、後彎は術前73°(44°~75°)が術後33°(21°~38°)に矯正され、良好な矯正が認められた。

呼吸能の変化を%VCで経過観察した。最も長い経過観察が可能であった症例は4年4ヵ月であった。短中期経過であるが、全例侵襲の大きな手術を行うことによる術直後の呼吸能の低下を認めなかったが、経過の長い2例をみると、呼吸能の低下は続き、現在、症例1、2は、それぞれ22.3%、20.2%と低下をみている

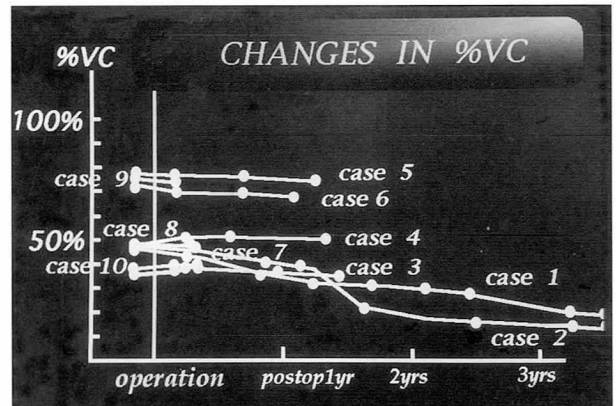


Table-1: 術前及び術後の%VC(予測肺活量)の変化

症例	手術時間	術中出血量
症例 1	8時間42分	2184ml
症例 2	7時間22分	900ml
症例 3	5時間36分	800ml
症例 4	7時間7分	630ml
症例 5	9時間7分	1350ml
症例 6	6時間26分	1020ml
症例 7	8時間30分	850ml
症例 8	8時間28分	1480ml
症例 9	6時間20分	1500ml
症例 10	7時間16分	2459ml
平均	7時間29分	1317ml

Table-2: 症例ごとの手術時間および出血量

(Table-1)。その他の症例でも呼吸能は不変もしくは漸減の傾向であった。手術時間は、通常の側彎症手術と比べ、変性し、硬化した軟部を展開したり、ワイヤーを多数設置するために、平均7時間29分(5時間36分~9時間7分)であり、やや長い傾向であった。出血量は症例1、症例10を除けば、特に多くはなく、平均1317ml(630~2459ml)で、輸血は全て自己血と術中自己血回収装置(セルセーバー)による回収血と術後セルセーバー回収血で対処し、同種血輸血は全例回避可能であった(Table-2)。

つぎに、術前、術後の症状を検討した。術前は10例とも座位バランスが悪く、体幹支持に側方マットを当て、さらに両上肢で支えていた。また5例に座位での強い腰痛を認めた。しかし、座位バランス不良は全例術後改善し、強い腰痛も術後早期に消失した。

その他、術後に認められた良い結果として、座位で背もたれが不要になった、家族による車椅子への移動が容易になった、座位バランス不良による下肢鈍痛が良くなった、後側彎による腹部膀胱圧迫による頻尿が改善された、食べ物が飲み込みやすくなった、咯痰がだしやすくなった、呼吸がしやすくなった、授業で習字ができるようになった、写真にうつるのが楽しみになった、ゲームボーイがしやすくなった、後側彎がどんどん進行してしまうのではないかとという将来の不安が少

しでも解消された、などであり、ADLの改善によるQuality of Lifeの向上、また心理的にも良い影響を与えていた(Table-3)。術後に認められた問題点は、急激な腰椎部の矯正によると考えられる座位での強い腰痛4例、頸部の筋力低下のため、頭部を支えられない6例、感染徴候を認めない原因不明の発熱4例が認められたが、経過観察のみで全例軽快し、とくに頸部の筋力低下は、術後早期に座位をとることにより予防できることが判明した。また原因不明の発熱の1例は尿中ミオグロビン陽性であり、特に、臨床的問題はなかったが、悪性高熱症も疑われた。その他の問題点として、後彎の改善と脊柱の可撓性の低下により摂食、書字が困難となったが、固定範囲の短縮や机の高さの調節で対処した。また、手術直後は体幹バランスが良くとも経時的に悪化が認められる症例もあったが、側方マットや座位保持装置で対処した。

手術後に認められたその他の改善点	
●	座位で背もたれが不要になった。
●	家族による車椅子への移動が容易となった。
●	座位バランス不良による下肢鈍痛が改善した。
●	後側彎による腹部膀胱圧迫が改善され頻尿が改善された。
●	食べ物を飲み込みやすくなった
●	喀痰が出しやすくなった
●	呼吸がしやすくなった
●	授業で習字ができるようになった
●	写真に写るのが楽しみになった
●	ゲームボーイがしやすくなった
●	脊柱後側彎がどんどん進行してしまうのではないかと将来への不安が少しでも解消され本人、家族ともに心理的に負担が軽減された

Table-3: 手術後に認められた良い結果。

症例供覧

症例1

3才6ヵ月にてDMD指摘され、9才より車椅子移動となり、13才にて、脊柱変形指摘され、14才2ヵ月にて変形高度となり当科紹介入院となった。術前%VC44.2%、その他、心機能等の問題は認めなかった。レントゲンでは、術前64°の側彎と61°の後彎を認めた。後方矯正固定術をおこない、側彎35°後彎29°の矯正を獲得した。骨盤傾斜も19°から14°へ改善した(Fig-1)。術後2年2ヵ月にて側彎35°であったが、骨盤傾斜は19°と増悪した。術後4年4ヵ月の現在、側彎35°、骨盤傾斜は23°となり、骨盤傾斜は増悪しているものの体幹バランスも良好である(Fig-2)。本症例のごとく、たとえ骨盤傾斜は増悪しても体幹バランスは保たれているものが多く、諸家の強調する骨盤までの固定による骨盤傾斜の改善は必ずしも必須ではないことが示唆された。

症例3

1才6ヵ月にてDMD指摘され、6才より車椅子移動と

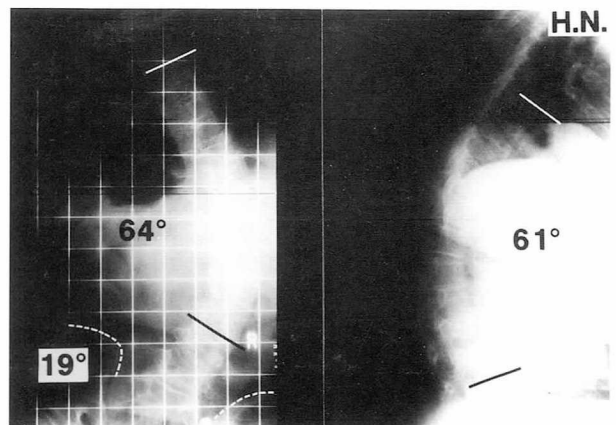


Figure-1-A: 症例1の術前レントゲン。

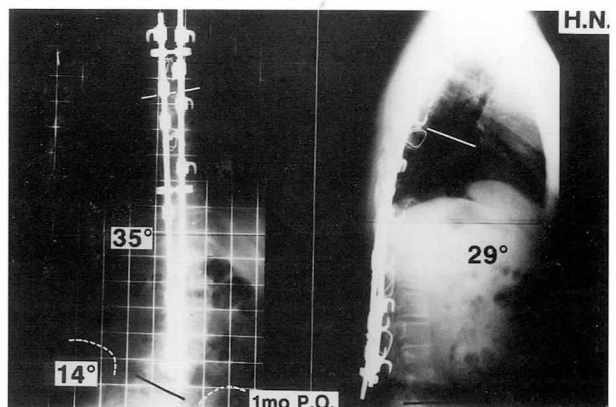


Figure-1-B: 症例1の術後1ヵ月のレントゲン。

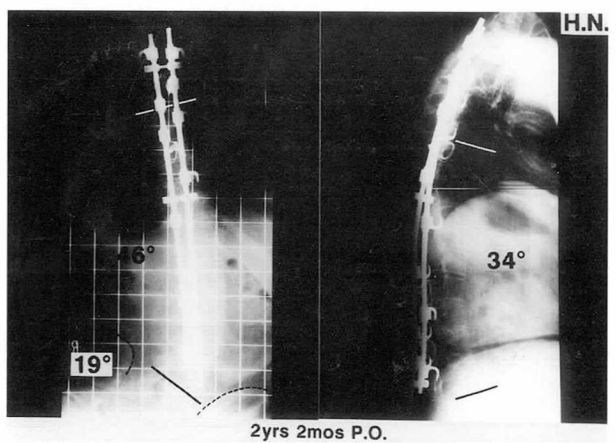


Figure-1-C: 症例1の術後2年2ヵ月のレントゲン。



Figure-2: 症例1の術後4年4ヵ月における状態

なり、10才にて、脊柱変形指摘され、12才8ヵ月にて変形高度となり当科紹介入院となった。術前%VC38.6%その他心機能等の問題は認めなかった。レントゲンでは、術前52°の側彎と54°の後彎を認めた。後方矯正固定術をおこない、側彎8°後彎21°の矯正を獲得した(Fig-3)。術後1ヵ月で側彎9°で、体幹バランスも良好であり、3ヵ月で側彎10°ながらも、非固定脊椎のカーブの進行により、体幹バランスの悪化を認めた(Fig-4)。本症例のように、術後体幹バランスが悪化傾向にある症例は今後注意深い観察が必要であり、体幹バランスの維持には、座位保持装置の使用を計画している(Fig-5)。

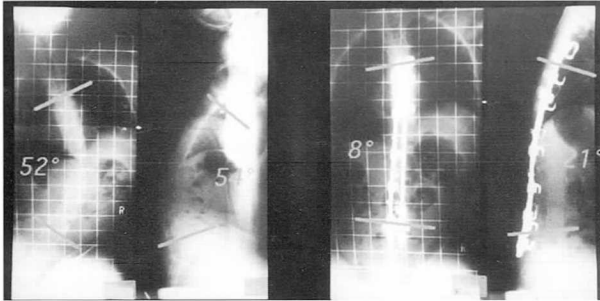


Figure-3: 症例3の術前および術後レントゲン。

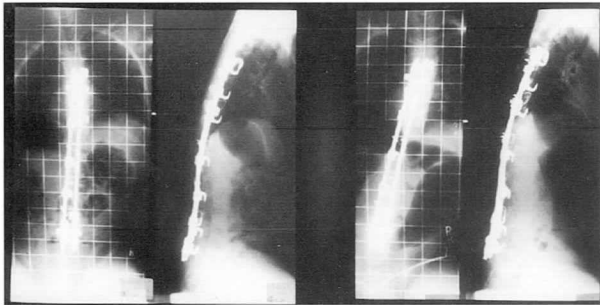


Figure-4: 症例3の術後経過。



Figure-5: 症例3に対する座位保持装置。

症例10

4才にてDMD指摘され、8才より車椅子移動となり、10才にて、脊柱変形指摘され、11才4ヵ月にて変形高度となり当科紹介入院となった。術前、%VC40.0%、頰脈を認めた。X-Pでは、術前114°の側彎、75°の後彎、骨盤傾斜角50°であり、著しい脊柱変形を認めた(Fig-6)。腰椎には椎弓根スクリューを用い、後方矯正固定術を

施行し、側彎35°、後彎33°、骨盤傾斜角21°の矯正を獲得した(Fig-7)。手術前とくらべ、車椅子座位の状態は良好であり、両上肢の使用が可能となった。特に、術前の後彎変形は著しかったが、術後の側面の姿勢改善は著明で、座位バランスの著しい改善を認めた(Fig-8)。

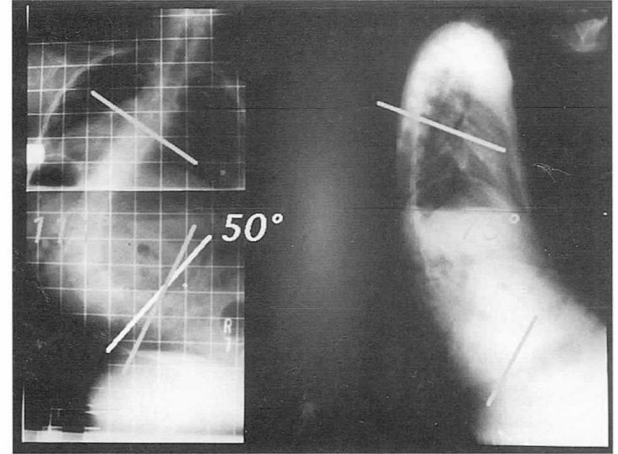


Figure-6: 症例10の術前レントゲン。

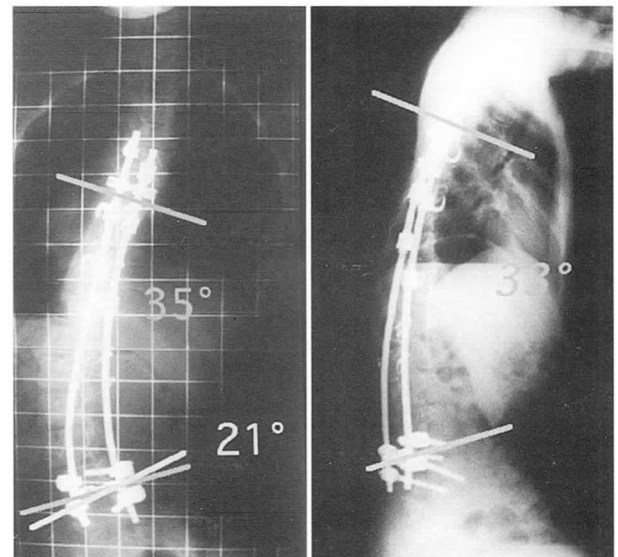
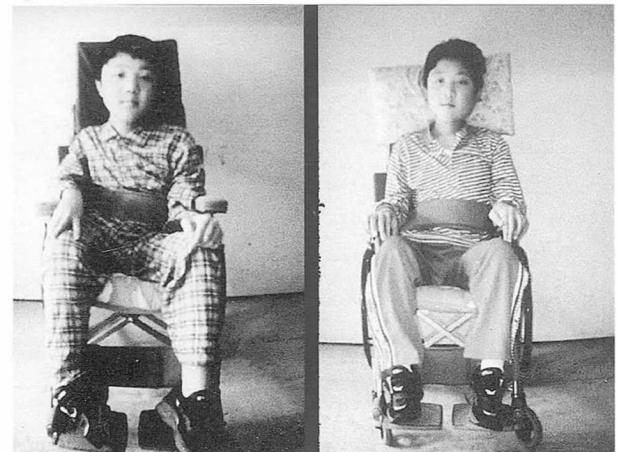
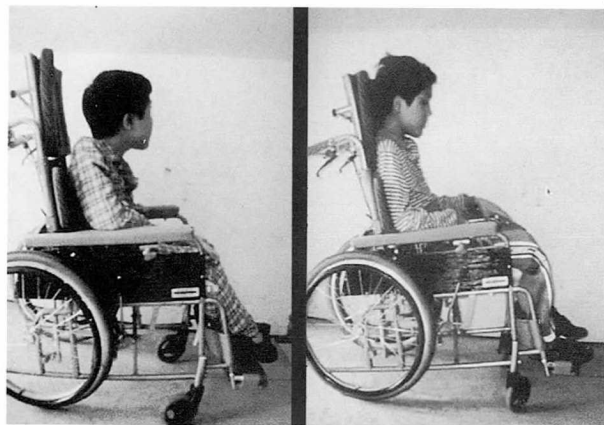


Figure-7: 症例10の術後レントゲン。

考察





術前 術後

Figure-8 : 症例10の術前および術後の座位の状態。

近年のDMD患者に対する多角的治療の恩恵により、その予後も改善されつつある。しかしながら本邦においては未だその手術的治療の知見については皆無に等しいのが現状である。DMDを伴う脊柱変形に対する手術の目的は座位保持能の向上により、上肢を使った体幹支持が不要となる結果として、functional quadriplegiaの改善、2) 易介護性、3) 呼吸能の改善、4) 延命効果、などが挙げられているが、後二者については議論のあるところである³⁾。手術法については、特に固定範囲について、骨盤または仙骨までの固定を薦める報告が多く、成績も安定している^{2, 5, 10, 12)}。また、L5までの固定の適応として、1) 側彎が40°以下^{6, 8)}、2) 骨盤傾斜が10°~20°以下^{6, 8)}、2) 牽引や他動的側屈にて両腸骨稜とL5のなす角度が15°以下¹⁾、4) vertical plumb lineが仙腸関節の内側にあること¹⁾、5) 仙椎が側彎に含まれない¹⁾、6) 頂椎がL1以上⁴⁾、などがあげられているが、手術手技、手術時間、出血量、L5-S偽関節の問題や、インストゥルメントの折損トラブル¹¹⁾などの懸念からも、筆者らは一貫してL5までの固定としてきた。実際、骨盤は小さく脆弱である手術中の所見からも、骨盤へのインストゥルメント設置は困難である場合が多いと判断され、事実上L5までの固定が妥当と考えられた。また、L5までの固定によって、骨盤傾斜が残存しても、座位保持は維持もしくは改善され、腰痛も問題とならなかった。すなわち、術後レントゲンでの骨盤傾斜の程度とADL障害との関連は諸家の報告と同様に認められなかった^{6, 10)}。

呼吸能と延命効果については、筆者らも当初、呼吸能の改善をも期待し症例を重ねてきたが実際には、%VCの改善は認めず、不変もしくは斬減の傾向を認めた。しかし、今回、呼吸能は予測肺活量のみで評価されており、この結果で呼吸能の低下のすべてを評価すべきではないと考えた。とくにDMDの呼吸能は呼吸筋力その他のパラメーターも重要であり、今後の呼吸能の評価には再考の余地があると考えられた。しかしながら、

進行性の脊柱変形に伴う胸郭の狭小化による、肺活量の低下の阻止には効果があるのではないかと推察をしている。また、筆者らの経験した症例は平背もしくは後彎変形であったが、とくに後彎変形の術後の改善は著しく気管の変形等による閉塞性の障害の改善には短期的にみても将来にわたっても良好に働くものと推察された。そこで、この手術的治療の最大の利点は、座位バランスの改善を中心としたADLの改善によるQuality of Lifeの向上、変形の進行が阻止されるという将来への希望といった心理的な側面であると考えられ、事実、固定脊柱は今後進行の危険性はほぼなくなり、その説明を聞いたその患者とその家族の心理的負担の軽減は今後の人生に大きな影響をも及ぼすと思われた。しかしながら、非固定脊椎については、今後も変形の進行の可能性を否定しきれず長期にわたる経過観察が必要である。一方、DMDに伴う脊柱変形は心不全や呼吸不全をすでに合併していることが多く、術中出血量も多く、悪性高熱症や血栓症などの合併症、また、インストゥルメントの折損トラブルが多いことも知られ¹¹⁾、リスクが高い。そのため、手術にあたっては十分なインフォームドコンセントが不可欠であり、そのうえでの慎重な手術適応の決定が重要である。

まとめ

DMDに伴う脊柱変形10症例に対して後方矯正固定術を行い、以下の知見を得た。

1. 手術時間、出血量、腸骨の形態、術後のADLの改善の観点から、下位固定椎は第5腰椎で良いと考えられた。
2. 手術時間、出血量に問題となる症例はなかった。
3. 腰椎の固定には矯正と固定性の面からも椎弓根スクリューの使用が有用である。
4. 座位バランスの改善が全例得られ、両上肢機能が向上した。
5. 期待された呼吸能の改善は術後に認めなかったが、脊柱変形の矯正による、呼吸能の低下の進行阻止や胸郭体積の維持などの将来的な効果が得られていると推察された。
6. 術前より腰痛が認められた例は術後早期に改善し、術直後より腰痛が認められた例も経過中に改善した。
7. 術後原因不明の発熱を4例に認めたが、全例自然経過で改善した。しかし1例は尿中ミオグロビン陽性であり、臨床的問題は認めなかったが、悪性高熱症も疑われた。
8. 術後頸部の筋力低下を認めた例が存在したが、自然軽快し、術後早期の自力座位訓練が予防に有効であった。
9. 本治療法の利点は日常生活に関わる事柄で多岐にわ

たっていたが、最大の意義はADLの改善による Quality of Lifeの向上である。

10. 本治療法は通常手術に比べリスクが遙かに高いと考えられ、手術にあたっては十分なインフォームドコンセントが不可欠である。

文 献

- 1) Broom,M.J.,et al. : Spinal fusion augmented by Luque-rod segmental instrumentation for neuromuscular scoliosis. J Bone Joint Surg.,71-A:32-44,1989.
- 2) Duport G.,et al. : Spinal deformities and wheelchair seating in Duchenne muscular dystrophy;Twenty years of research and clinical experience.Seminars in Neurology.15:29-57,1995.
- 3) Galasko C.S.B.,et al. : Spinal stabilization in muscular dystrophy. J.Bone Joint Surg.74-B:210-214,1992.
- 4) Hedden D.M.,et al. : Pelvic obliquity after fusion of the spine to L5 in Duchenne muscular dystrophy. Thirty third Annual Meeting.Scoliosis Research Society Meeting.1998.
- 5) Marchesi D.,et al. : Modification of the original Luque technique in the treatment of Duchenne's neuromuscular scoliosis. J.Pediatr.Orthop.743-749,1997.
- 6) McCarthy,R.E.,et al. : The treatment of flaccid neuromuscular scoliosis.The Textbook of Spinal Surgery.2nd Ed.Lippincott-Raven,Philadelphia,881-902,1997.
- 7) 松村 剛、他：デュシェンヌ型ジストロフィーにおける脊椎変形矯正手術の呼吸機能とQOLに及ぼす影響の検討. 臨床神経学、37：87-92、1997.
- 8) Mubarak,S.J.,et al. : Spinal fusion in Duchenne muscular dystrophy-fixation and fusion to sacropelvis. J.Pediatr.Orthop.,13:752-757,1993.
- 9) 大竹 進、他：Duchenne型筋ジストロフィーの脊柱変形について-高度進行群の検討-。脊柱変形、10：118-121、1995.
- 10) 尾鷲和也、他：Duchenne型筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対する手術治療.整形災害外科、41：885-891、1998.
- 11) Ramirez N.,et al. : Complications after posterior spinal fusion in Duchenne's muscular dystrophy. J.Pediatr.Orthop.,17:109-114,1997. 12)Shook J.E.,et al.:Paralytic Scoliosis.The Textbook of Spinal Surgery.2 nd Ed. Lippincott-Raven,Philadelphia,839-880,1997.

厚生労働省 精神神経疾患研究委託費

筋ジストロフィーの遺伝相談及び病態に
基づく治療法の開発に関する研究
(筋ジストロフィー研究石原班)

Duchenne型筋ジストロフィーを伴う脊柱変形
に対する後方矯正固定術

国立療養所千葉東病院整形外科 医長 中田好則

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) を伴う脊柱変形に対して早期の手術治療が提唱されつつあるものの、術中術後の合併症も高率であるとの報告も散見され、我が国においては未だ一般化されていないのが現状である。筆者らは1997年7月から2001年9月までにDMDを伴う脊柱変形に対し後方矯正固定術を10症例行ってきたので、それらにつき、検討、考察を行いたい。

対象と方法

1997年7月から2001年9月までにDMDを伴う脊柱変形に対し後方矯正固定術を行った10症例を対象とした。手術方法は脊椎後方矯正固定術であり、固定する範囲はカーブを含み、上位は胸椎とし、下位は骨盤までの固定をすすめる文献もあるが、骨盤は脆弱かつ小さいこと、出血量、および手術時間の短縮のため、また骨盤傾斜とADL障害の程度とは一致しないなどの考えから、筆者らは第5腰椎(L5)までの固定とした。初期症例の2例は上位胸椎までの固定を行っているが、症例3から以後の症例は頸椎を含めた上位胸椎の可撓性の温存のため、中位胸椎までの固定として固定範囲を短縮している。また、症例6までは手術時間の考慮からワイヤーとフックのみの脊椎への設置としたが、以後は矯正と固定性に優れる椎弓根スクリューを腰椎に用いている。なお、全症例で術前自己血貯血を行い、1000~1200mlの貯血にて手術にのぞんでいる。それらの症例について、脊柱変形の矯正、手術時間、出血量、手術前後、経過時での呼吸能の変化、生活上での変化を検討、考察した。

結果

側彎は平均で術前79° (50° ~114°) が術後31° (8° ~38°) に、後彎は術前73° (44° ~75°) が術後33° (21° ~38°) に矯正され、良好な矯正が認められた。

呼吸能の変化を%VCで経過観察した。最も長い経過観察が可能であった症例は4年4ヵ月であった。短中期経過であるが、全例侵襲の大きな手術を行うことによる術直後の呼吸能の低下を認めなかったが、経過の長い2例をみると、呼吸能の低下は続き、現在、症例

1、2は、それぞれ22.3%、20.2%と低下をみている (Table-1)。その他の症例でも呼吸能は不変もしくは斬減の傾向であった。手術時間は、通常の側彎症手術と比べ、変性し、硬化した軟部を展開したり、ワイヤーを多数設置するために、平均7時間29分 (5時間36分～9時間7分) であり、やや長い傾向であった。出血量は症例1、症例10を除けば、特に多くはなく、平均1317ml (630～2459ml) で、輸血は全て自己血と術中自己血回収装置 (セルセーバー) による回収血と術後セルセーバー回収血で対処し、同種血輸血は全例回避可能であった (Table-2)。

つぎに、術前、術後の症状を検討した。術前は10例とも座位バランスが悪く、体幹支持に側方マットを当て、さらに両上肢で支えていた。また5例に座位での強い腰痛を認めた。しかし、座位バランス不良は全例術後改善し、強い腰痛も術後早期に消失した。その他、術後に認められた良い結果として、座位で背もたれが不要になった、家族による車椅子への移動が容易になった、座位バランス不良による下肢鈍痛が良くなった、後側彎による腹部膀胱圧迫による頻尿が改善された、食べ物が飲み込みやすくなった、喀痰がだしやすくなった、呼吸がしやすくなった、授業で習字ができるようになった、写真にうつるのが楽しみになった、ゲームボーイがしやすくなった、後側彎がどんどん進行してしまうのではないかとという将来の不安が少しでも解消された、などであり、ADLの改善による Quality of Lifeの向上、また心理的にも良い影響を与えていた (Table-3)。術後に認められた問題点は、急激な腰椎部の矯正によると考えられる座位での強い腰痛4例、頸部の筋力低下のため、頭部を支えられない6例、感染徴候を認めない原因不明の発熱4例が認められたが、経過観察のみで全例軽快し、とくに頸部の筋力低下は、術後早期に座位をとることにより予防できることが判明した。また原因不明の発熱の1例は尿中ミオグロビン陽性であり、特に、臨床的問題はなかったが、悪性高熱症も疑われた。その他の問題点として、後彎の改善と脊柱の可撓性の低下により摂食、書字が困難となったが、固定範囲の短縮や机の高さの調節で対処した。また、手術直後は体幹バランスが良くとも経時的に悪化が認められる症例もあったが、側方マットや座位保持装置で対処した。

症例供覧

症例1

3才6ヵ月にてDMD指摘され、9才より車椅子移動となり、13才にて、脊柱変形指摘され、14才2ヵ月にて変形高度となり当科紹介入院となった。術前%VC44.2%、その他、心機能等の問題は認めなかった。レントゲンでは、術前64°の側彎と61°の後彎を認めた。後方矯正固定術をおこない、側彎35°後彎29°の矯正を獲得した。骨盤傾斜も19°から14°へ改善した(Fig-1)。術後2年2ヵ月にて側彎35°であったが、骨盤傾斜は19°と増悪した。術後4年4ヵ月の現在、側彎35°、骨盤傾斜は23°となり、骨盤傾斜は増悪しているものの体幹バランスも良好である(Fig-2)。本症例のごとく、たとえ骨盤傾斜は増悪しても体幹バランスは保たれているものが多く、諸家の強調する骨盤までの固定による骨盤傾斜の改善は必ずしも必須ではないことが示唆された。

症例3

1才6ヵ月にてDMD指摘され、6才より車椅子移動となり、10才にて、脊柱変形指摘され、12才8ヵ月にて変形高度となり当科紹介入院となった。術前%VC38.6% その他心機能等の問題は認めなかった。レントゲンでは、術前52°の側彎と54°の後彎を認めた。後方矯正固定術をおこない、側彎8°後彎21°の矯正を獲得した(Fig-3)。術後1ヵ月で側彎9°で、体幹バランスも良好であり、3ヵ月で側彎10°ながらも、非固定脊椎のカーブの進行により、体幹バランスの悪化を認めた(Fig-4)。本症例のように、術後体幹バランスが悪化傾向にある症例は今後注意深い観察が必要であり、体幹バランスの維持には、座位保持装置の使用を計画している(Fig-5)。

症例10

4才にてDMD指摘され、8才より車椅子移動となり、10才にて、脊柱変形指摘され、11才4ヵ月にて変形高度となり当科紹介入院となった。術前、%VC40.0%、頻脈を認めた。X-Pでは、術前114°の側彎、75°の後彎、骨盤傾斜角50°であり、著しい脊柱変形を認めた(Fig-6)。腰椎には椎弓根スクリュウを用い、後方矯正固定術を施行し、

側彎 35° 、後彎 33° 、骨盤傾斜角 21° の矯正を獲得した(Fig-7)。手術前とくらべ、車椅子座位の状態は良好であり、両上肢の使用が可能となった。特に、術後の後彎変形は著しかったが、術後の側面の姿勢改善は著明で、座位バランスの著しい改善を認めた(Fig-8)。

考察

近年のDMD患者に対する多角的治療の恩恵により、その予後も改善されつつある。しかしながら本邦においては未だその手術的治療の知見については皆無に等しいのが現状である。DMDを伴う脊柱変形に対する手術の目的は座位保持能の向上により、上肢を使った体幹支持が不要となる結果として、functional quadriplegiaの改善、2) 易介護性、3) 呼吸能の改善、4) 延命効果、などが挙げられているが、後二者については議論のあるところである³⁾。手術法については、特に固定範囲について、骨盤または仙骨までの固定を薦める報告が多く、成績も安定している^{2, 5, 10, 12)}。また、L5までの固定の適応として、1) 側彎が 40° 以下^{6, 8)}、2) 骨盤傾斜が 10° ～ 20° 以下^{6, 8)}、3) 牽引や他動的側屈にて両腸骨稜とL5のなす角度が 15° 以下¹⁾、4) vertical plumb lineが仙腸関節の内側に¹⁾あること、5) 仙椎が側彎に含まれない¹⁾、6) 頂椎がL1以上⁴⁾、などがあげられているが、手術手技、手術時間、出血量、L5-S偽¹¹⁾関節の問題や、インストゥルメントの折損トラブル¹¹⁾などの懸念からも、筆者らは一貫してL5までの固定としてきた。実際、骨盤は小さく脆弱である手術中の所見からも、骨盤へのインストゥルメント設置は困難である場合が多いと判断され、事実上L5までの固定が妥当と考えられた。また、L5までの固定によって、骨盤傾斜が残存しても、座位保持は維持もしくは改善され、腰痛も問題とならなかった。すなわち、術後レントゲンでの骨盤傾斜の程度とADL障害との関連は諸家の報告と同様に認められなかった^{6, 10)}。

呼吸能と延命効果については、筆者らも当初、呼吸能の改善をも期待し症例を重ねてきたが実際には、%VCの改善は認めず、不変もしくは斬滅の傾向を認めた。しかし、今回、呼吸能は予測肺活量

のみで評価されており、この結果で呼吸能の低下のすべてを評価すべきではないと考えた。とくにDMDの呼吸能は呼吸筋力その他のパラメーターも重要であり、今後の呼吸能の評価には再考の余地があると考えられた。しかしながら、進行性の脊柱変形に伴う胸郭の狭小化による、肺活量の低下の阻止には効果があるのではないかと推察をしている。また、筆者らの経験した症例は平背もしくは後彎変形であったが、とくに後彎変形の術後の改善は著しく気管の変形等による閉塞性の障害の改善には短期的にみても将来にわたっても良好に働くものと推察された。そこで、この手術的治療の最大の利点は、座位バランスの改善を中心としたADLの改善によるQuality of Lifeの向上、変形の進行が阻止されるという将来への希望といった心理的な側面であると考えられ、事実、固定脊柱は今後進行の危険性はほぼなくなり、その説明を聞いたその患者とその家族の心理的負担の軽減は今後の人生に大きな影響をも及ぼすと思われた。しかしながら、非固定脊椎については、今後も変形の進行の可能性を否定しきれず長期にわたる経過観察が必要である。一方、DMDを伴う脊柱変形は心不全や呼吸不全をすでに合併していることが多く、術中出血量も多く、悪性高熱症や血栓症などの合併症、また、インストゥルメントの折損トラブルが多いことも知られ¹¹⁾、リスクが高い。そのため、手術にあたっては十分なインフォームドコンセントが不可欠であり、そのうえでの慎重な手術適応の決定が重要である。

まとめ

DMDに伴う脊柱変形10症例に対して後方矯正固定術を行い、以下の知見を得た。

- 1.手術時間、出血量、腸骨の形態、術後のADLの改善の観点から、下位固定椎は第5腰椎で良いと考えられた。
- 2.手術時間、出血量に問題となる症例はなかった。
- 3.腰椎の固定には矯正と固定性の面からも椎弓根スクリューの使用が有用である。
- 4.座位バランスの改善が全例得られ、両上肢機能が向上した。
- 5.期待された呼吸能の改善は術後に認めなかったが、脊柱変形の矯正による、呼吸能の低下の進行阻止や胸郭体積の維持などの将来的な効果が得られていると推察された。

- 6.術前より腰痛が認められた例は術後早期に改善し、術直後より腰痛が認められた例も経過中に改善した。
- 7.術後原因不明の発熱を4例に認めたが、全例自然経過で改善した。しかし1例は尿中ミオグロビン陽性であり、臨床的問題は認めなかったが、悪性高熱症も疑われた。
- 8.術後頸部の筋力低下を認めた例が存在したが、自然軽快し、術後早期の自力座位訓練が予防に有効であった。
- 9.本治療法の利点は日常生活に関わる事柄で多岐にわたっていたが、最大の意義はADLの改善によるQuality of Lifeの向上である。
- 10.本治療法は通常手術に比べリスクが遙かに高いと考えられ、手術にあたっては十分なインフォームドコンセントが不可欠である。

文献

- 1)Broom,M.J.,et al.:Spinal fusion augmented by Luque-rod segmental instrumentation for neuromuscular scoliosis. J Bone Joint Surg.,71-A:32-44,1989.
- 2)Duport G.,et al.:Spinal deformities and wheelchair seating in Duchenne muscular dystrophy;Twenty years of research and clinical experience.Seminars in Neurology.15:29-57,1995.
- 3)Galasko C.S.B.,et al.:Spinal stabilization in muscular dystrophy. J.Bone Joint Surg.74-B:210-214,1992.
- 4)Hedden D.M.,et al.:Pelvic obliquity after fusion of the spine to L5 in Duchenne muscular dystrophy. Thirty third Annual Meeting.Scoliosis Research Society Meeting.1998.
- 5)Marchesi D.,et al.:Modification of the originalLuque technique in the treatment of Duchenne's neuromuscular scoliosis. J.Pediatr.Orthop.743-749,1997.
- 6)McCarthy,R.E.,et al.:The treatment of flaccid neuromuscular scoliosis.The Textbook of Spinal Surgery.2nd Ed.Lippincott-Raven,Philadelphia,881-902,1997.
- 7)植村 剛、他：デュシェンヌ型ジストロフィーにおける脊椎変形矯正手術の呼吸機能と QOL に及ぼす影響の検討。臨床神経学、37：87-92、1997.
- 8)Mubarak,S.J.,et al.:Spinal fusion in Duchenne muscular dystrophy-fixation and fusion to sacropelvis. J.Pediatr.Orthop.,13:752-757,1993.
- 9)大竹 進、他：Duchenne 型筋ジストロフィーの脊柱変形について-高度進行群の検討-。脊柱変形、10：118-121、1995.
- 10)尾鷲和也、他：Duchenne 型筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対する手術治療.整形災害外科、41：885-891、1998.
- 11)Ramirez N.,et al.:Complications after posterior spinal fusion in Duchenne's muscular dystrophy. J.Pediatr.Orthop.,17:109-114,1997. 12)Shook J.E.,et al.:Paralytic Scoliosis.The Textbook of Spinal Surgery.2 nd Ed. Lippincott-Raven,Philadelphia, 839-880,1997.

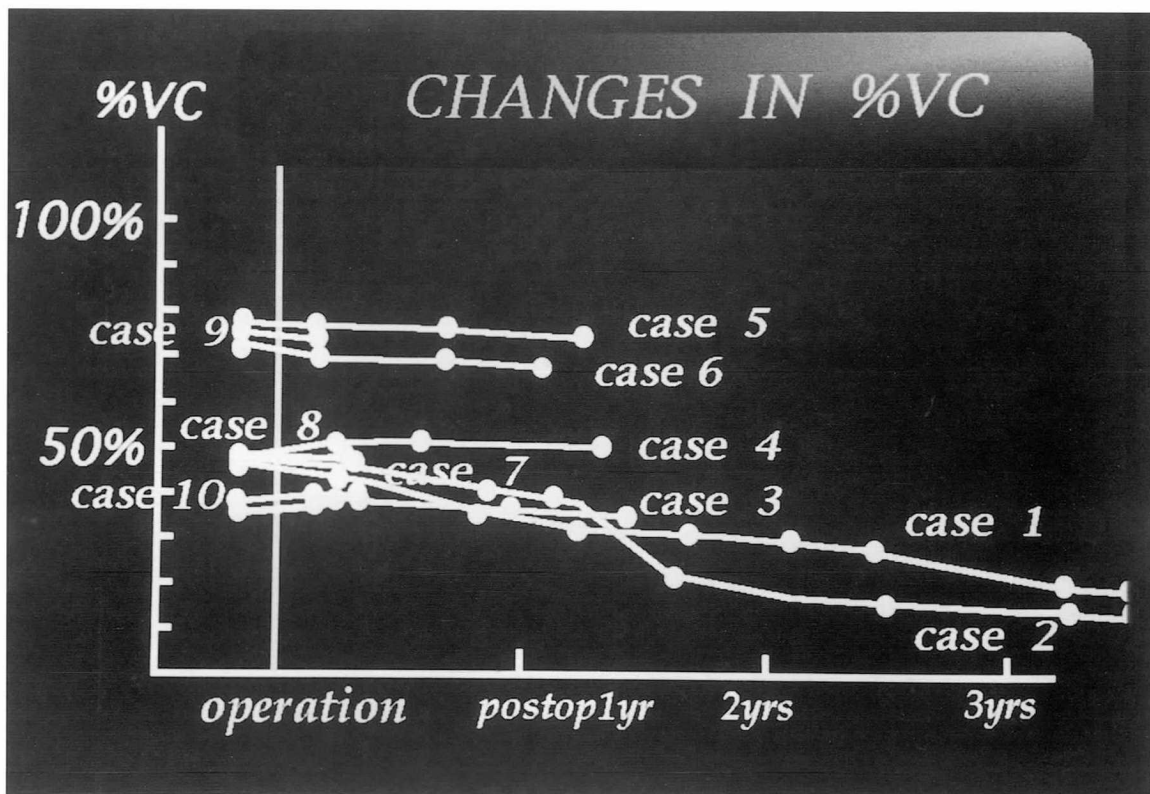


Table-1: 術前及び術後の%VC(予測肺活量)の変化。

	手術時間	術中出血量
症例 1	8時間 42分	2184ml
症例 2	7時間 22分	900ml
症例 3	5時間 36分	800ml
症例 4	7時間 7分	630ml
症例 5	9時間 7分	1350ml
症例 6	6時間 26分	1020ml
症例 7	8時間 30分	850ml
症例 8	8時間 28分	1480ml
症例 9	6時間 20分	1500ml
症例 10	7時間 16分	2459ml
平均	7時間 29分	1317ml

Table-2: 症例ごとの手術時間および出血量。

手術後に認められたその他の改善点

- 座位で背もたれが不要になった。
- 家族による車椅子への移動が容易となった。
- 座位バランス不良による下肢鈍痛が改善した。
- 後側彎による腹部膀胱圧迫が改善され頻尿が改善された。
- 食べ物を飲み込みやすくなった
- 喀痰が出しやすくなった
- 呼吸がしやすくなった
- 授業で習字ができるようになった
- 写真に写るのが楽しみになった
- ゲームボーイがしやすくなった
- 脊柱後側彎がどんどん進行してしまうのではないかという将来への不安が少しでも解消され本人、家族ともに心理的に負担が軽減された

Table-3: 手術後に認められた良い結果。

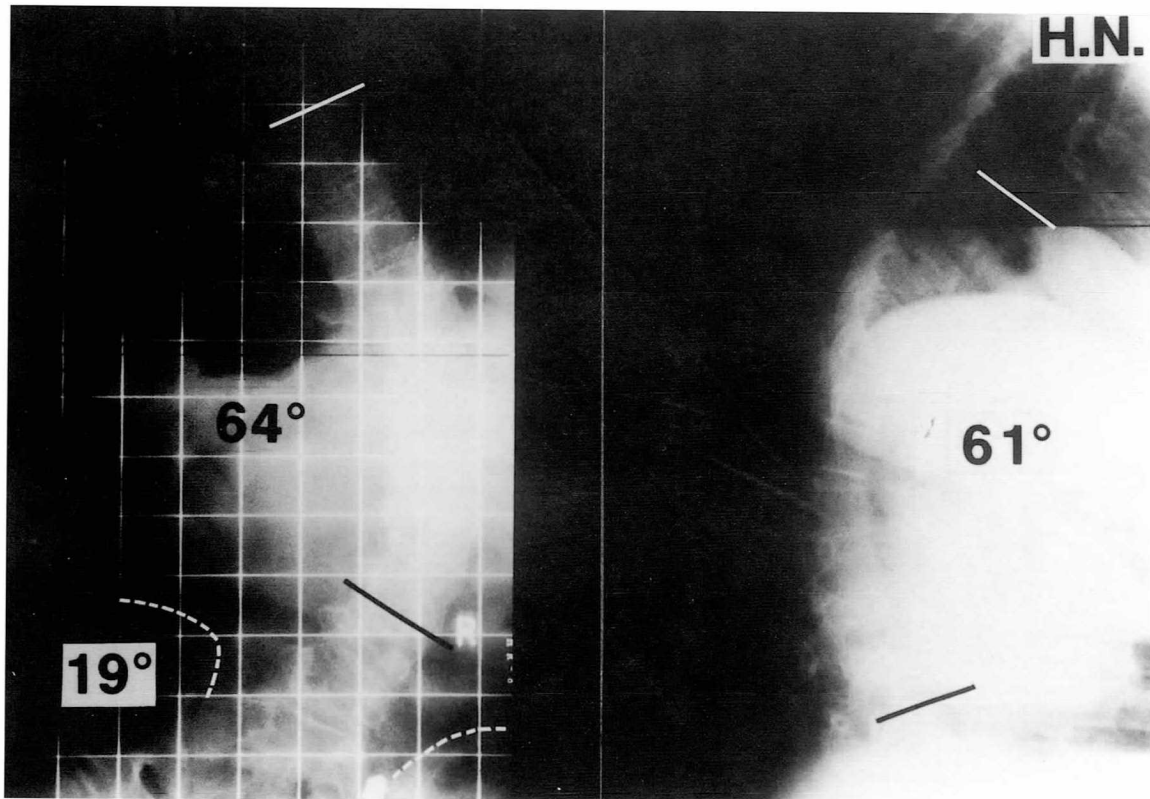


Figure-1-A: 症例 1 の術前レントゲン。

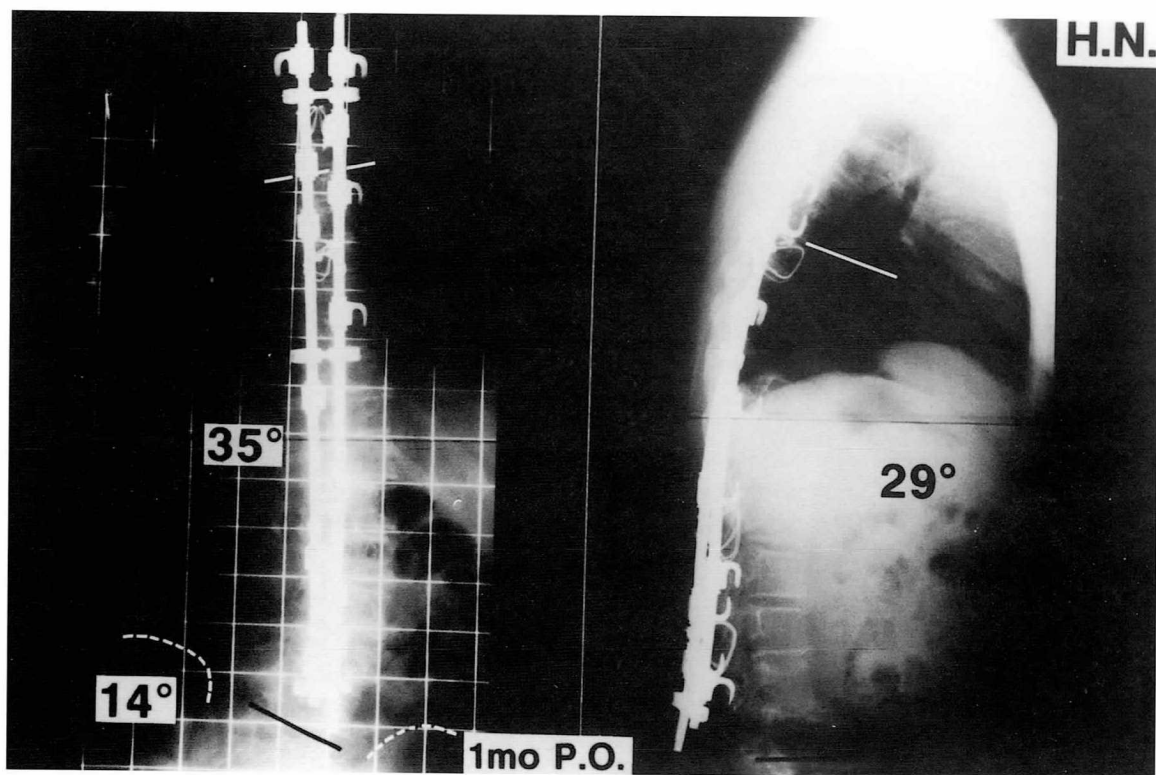


Figure-1-B: 症例 1 の術後1ヵ月のレントゲン。

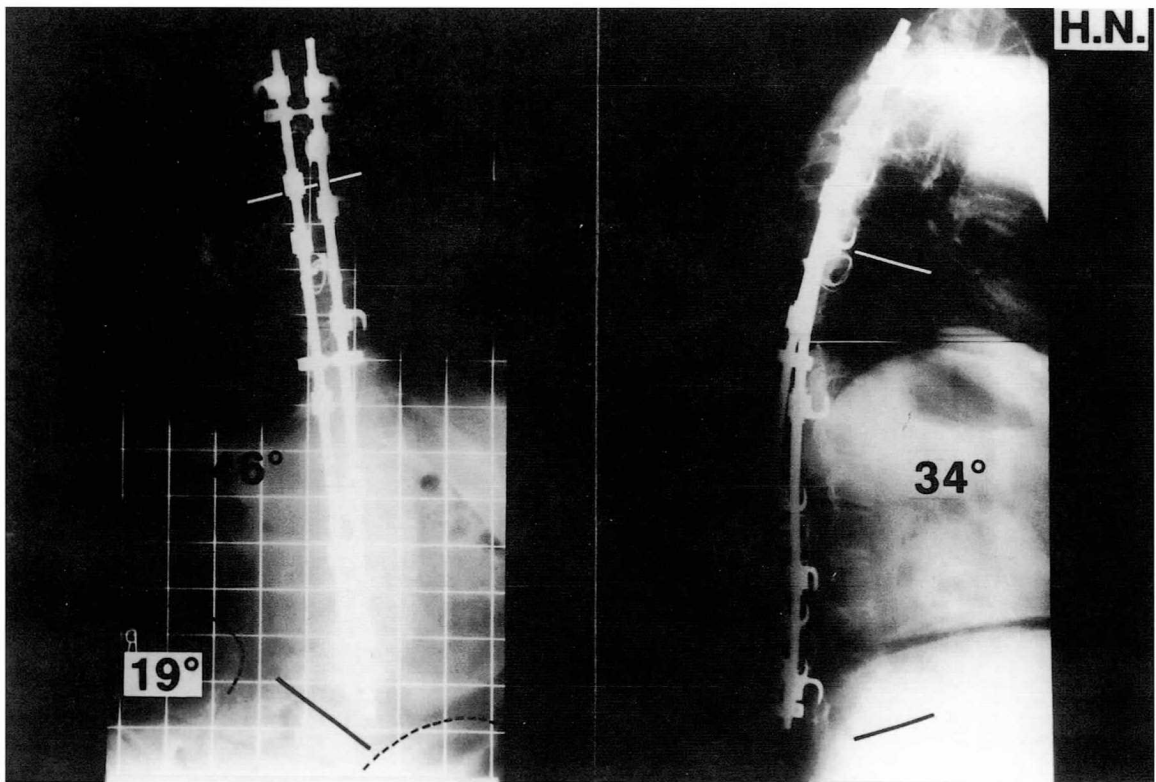


Figure-1-C: 症例1の術後2年2ヵ月のレントゲン。

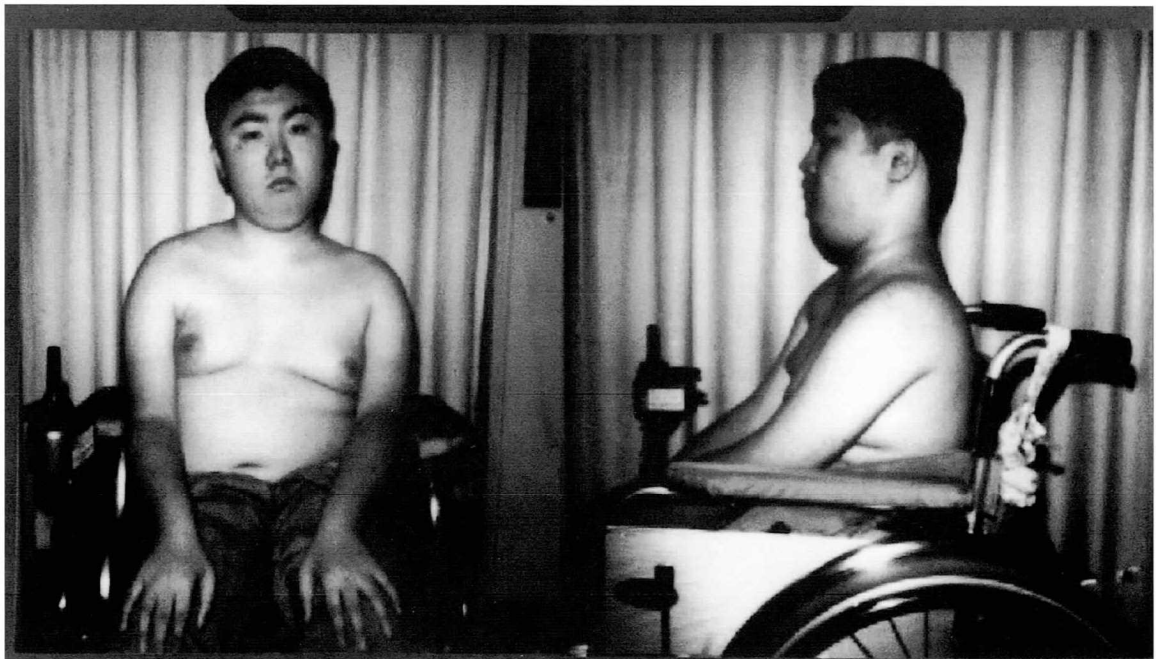


Figure-2: 症例1の術後4年4ヵ月における状態。

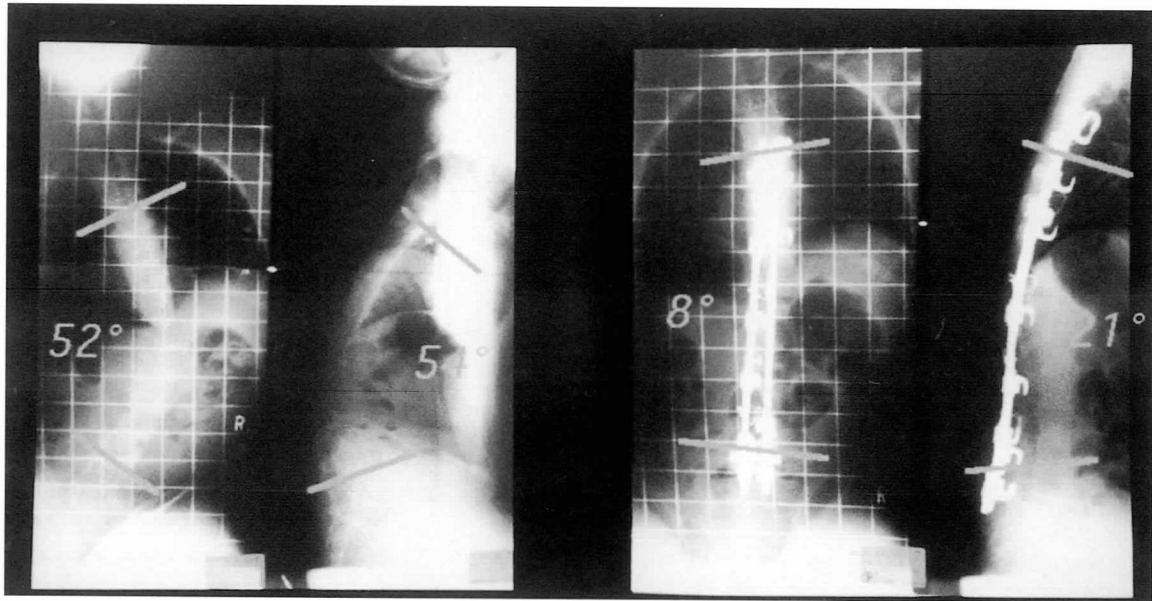


Figure-3: 症例 3 の術前および術後レントゲン。

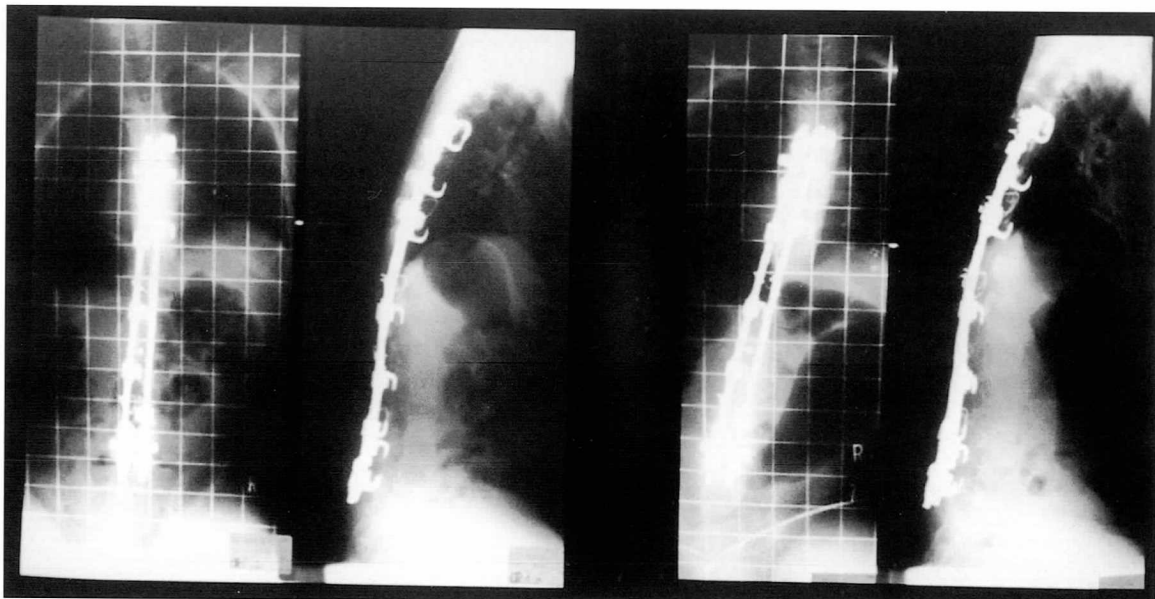


Figure-4: 症例 3 の術後経過。



Figure-5: 症例3に対する座位保持装置。

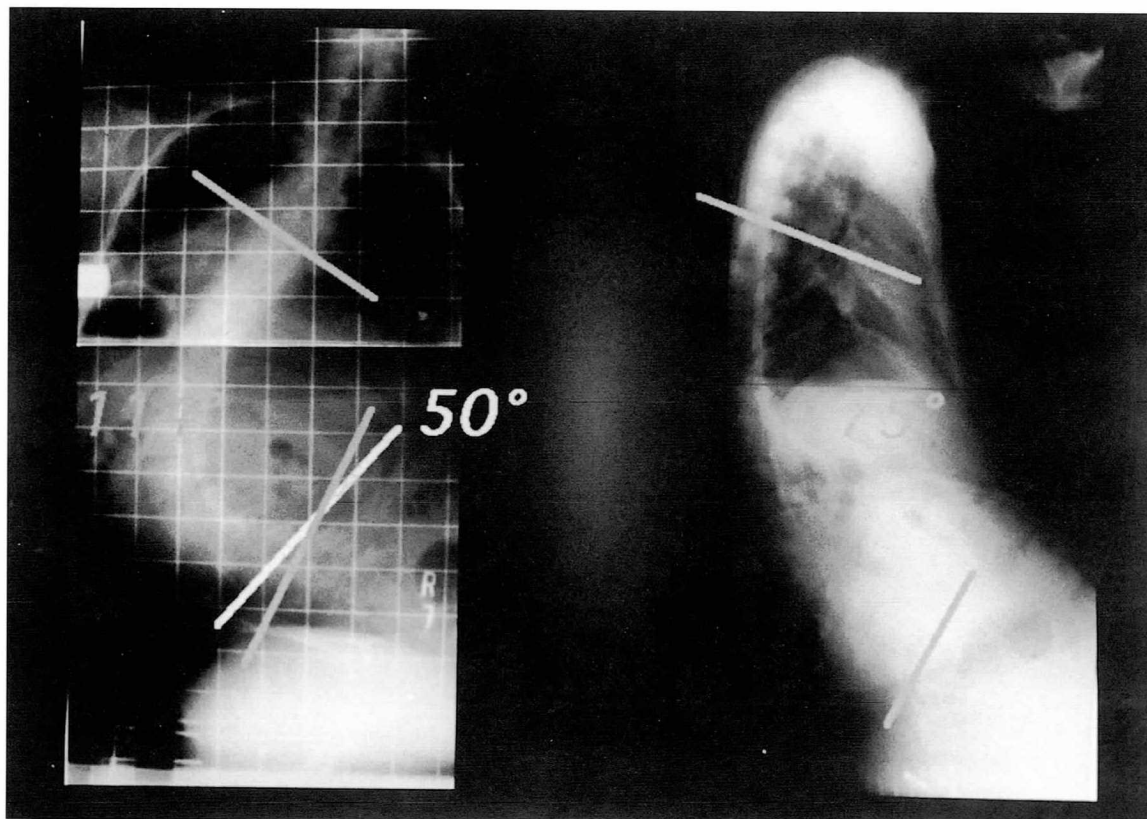


Figure-6: 症例10の術前レントゲン。

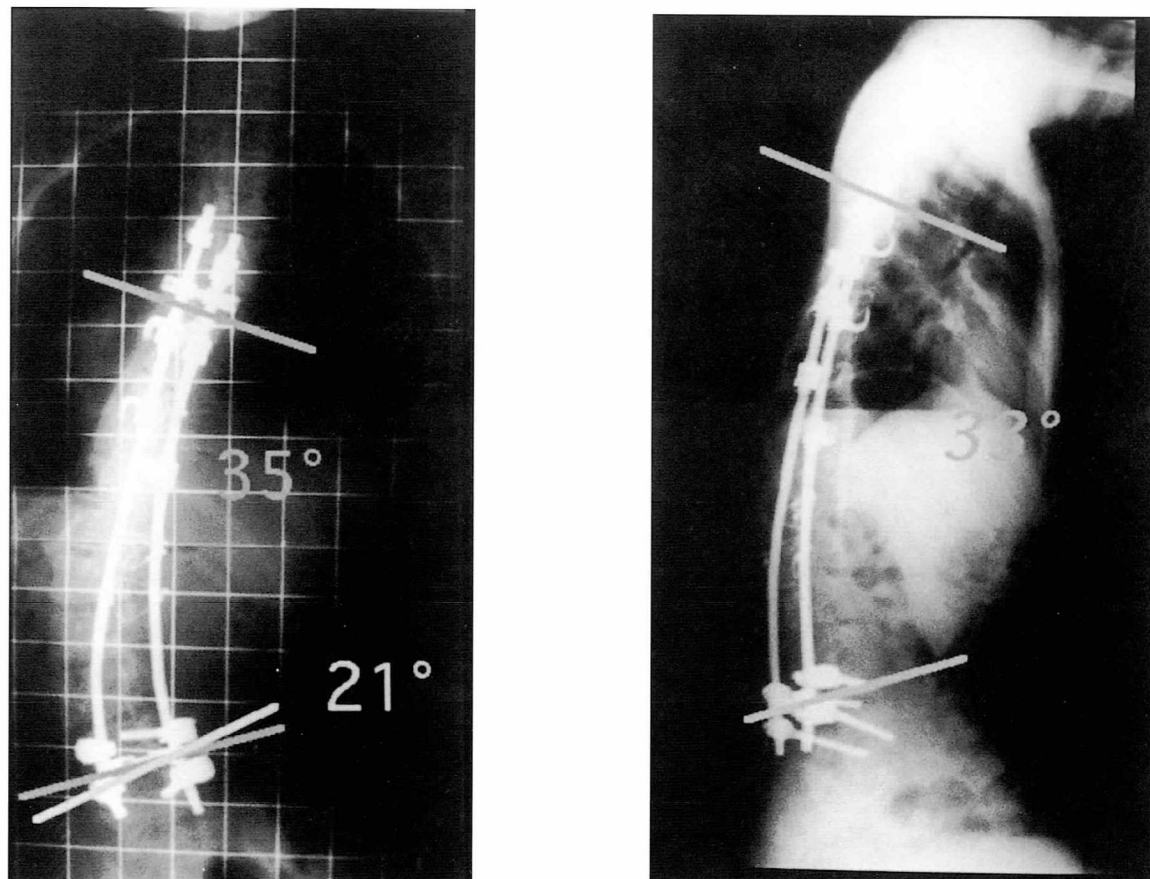
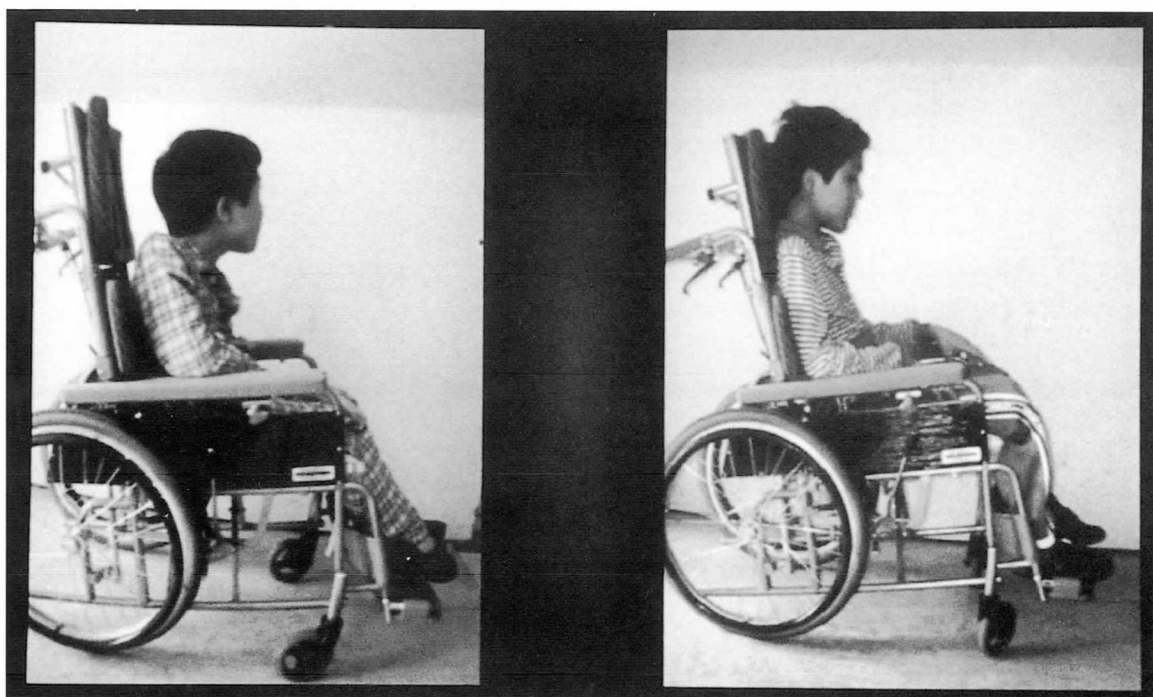


Figure-7: 症例10の術後レントゲン。



術前

術後

Figure-8: 症例 10 の術前および術後の座位の状態。

免疫染色を用いたdysferlin異常疾患の検索と臨床像の対応

清水潤、宮崎泰、藁谷正明、増田直樹、本吉慶史
国立療養所下志津病院臨床研究部

背景

近年のdysferlin遺伝子の同定および生検筋における免疫染色レベルの検討より、dysferlin発現異常による筋疾患には、三好型遠位型筋ジストロフィー(MM)、常染色体劣性肢体型筋ジストロフィー2B型(LGMD2B)、MMとLGMD2Bの両方の臨床型を示す同一家系例1)、下腿前面の筋障害の強い例2) など、さまざまな臨床像を示すものが存在することが明らかになってきた。また、2次的にdysferlinの発現が低下する筋疾患の報告もあり3)、dysferlin発現がどのような筋疾患の臨床像に関係するか明らかにしていく必要がある。

目的

本検討では、過去に診断目的で行われ保存されている生検筋バンクを対象とし、抗dysferlin抗体を用いた免疫染色でdysferlin発現異常症例のスクリーニングをおこない、発現異常が認められた症例を抽出し、その臨床像を検討することでdysferlinopathyの臨床像の多様性を明らかにすることを目的にした。

方法

1) dysferlin発現異常症例の同定

スクリーニングをおこなう検討対象としては、当院および関連施設における1985年から2001年の17年間の筋生検症例ファイルのなかから、臨床的にMMと診断した症例、慢性に四肢筋力低下を示し臨床と筋病理像より確定診断がつかなかった症例、慢性筋炎症例を対象としてスクリーニングをおこなった。臨床像および筋病理所見から他疾患と確認できた症例は検討から除き、そのうちBMD(9例)、DMD(1例)、FSH(3例)、MD(1例)、多発筋炎(2例)、Neuropathy(2例)を染色性に関する疾患コントロールとして用いた。スクリーニングの方法としては、抗dysferlin抗体(Ham1/7B6, Novocastra)を用いた免疫染色を用いた。筋組織の染色性が疾患コントロールと比較して低下している症例を検討対象とした。

2) dysferlin発現異常症例の臨床像の検討

抽出された症例に関して病歴や神経所見に関して臨床チャートを用いて情報を得た。一部の症例に関して

は診察をおこなった。また、筋の障害度や筋の障害分布の把握のために各症例の骨格筋CTを検討した。

結果

1) dysferlin発現異常症例の同定

スクリーニングをおこなう対象は生検ファイルの中で17年間に81例が存在した。その臨床診断のうちわけは、三好型遠位型筋ジストロフィー(MM)10例、非rimmed vacuole型遠位型ミオパチー5例、肢帯型筋ジストロフィー(LG)35例、確定診断がつかなかった原因不明ミオパチー 21例、慢性筋炎 2例、特発性高CK血症、81例であった。この81例に免疫染色をおこなった結果、染色性異常症例は18例を抽出できた(表1)。染色性異常症例の臨床診断はMM10例、LG7例、慢性筋炎1例、特発性高CK血症1例であった。染色性低下症例では、組織内の全ての筋線維で全く染色性を認めないものから(染色性陰性)、薄い染色性を細胞質内に認める線維が散見されるもの(染色性不均一弱)などと、染色性にはさまざまなものを認めた(図1)。また、MMの1例(症例18)では染色性は低下していると判断されたが組織内のすべての筋線維の細胞膜に一致して薄い染色性を認め、他の抗dysferlin免疫染色低下症例の染色性と異なった(図1)。染色性が陰性症例、不均一弱症例はMM群にも(LG+筋炎)群にも存在した。一方、疾患コントロール群では、すべての筋線維細胞膜に一致した強い染色性を認めた。

表1 dysferlin発現異常症例の臨床像

数字は筋力(MMT)を示す

症例番号	発症年齢	診断	dysferlin免疫染色	CK (IU/L)	股関節		膝関節		足関節	
					Gm	IP	Q	Hm	TA	GC
1	20	MM	(-)	6145	5	5	5	5	5	4+
2	40	MM	(-)	3530	4	5	5	5	4+	3+
3	45	MM	不均一弱	1427	5	5	5	5	5	5
4	47	MM	(-)	1234	3	4	4	4	5	3
5	35	MM	(-)	5070	3+	3-	3-	3+	5	4-
6	47	MM	(-)	2714						TA>GC
7	37	MM	(-)	8075	5-	5-	5-	5-	5+	4+
8	32	MM	不均一弱	2082	5	5	5	5	5	4
9	39	LG	不均一弱	3003	4-	3+	3-	4-	5-	3-
10	27	LG	(-)	7050	3+	4	3-	3+	4+	3+
11	24	LG	(-)	7758	3	3	3	4-	5	5
12	49	LG	(-)	4300	2+	3-	4-	2	4+	5
13	28	筋炎	不均一弱	4460	4+	5-	4+	5	5-	3
14	35	LG	不均一弱	1507	2+	3+	2+	3	5-	4
15	43	LG	(-)	3439	5	5	3-	5-	5-	4+
16	22	LG	(-)	11105						
17	19	高CK血症	(-)	5834	5	5	5	5	5	5
18	48	MM	(+)	4497	5	5	5	5	5	3
19		MM	(-)							

MM: 三好型遠位型筋ジストロフィー、LG: 肢帯型筋ジストロフィー

2) dysferlin発現異常症例の臨床像

表1に臨床診断ごとのdysferlin発現異常症例の臨床像を示す。弱い細胞膜に染色性を認めた臨床診断MM症例(症例18)、臨床情報の得られなかった症例(症例19)は解析から除いた。また、特発性高CK血症の例(症例17)は別にして比較した。

発症年齢は MM群28.6歳(19~35歳)、(LG+筋炎)群24.8歳(14~33歳)と(LG+筋炎)群で若年であった。家族歴としては、同胞に認めるものがMM群3例、(LG+

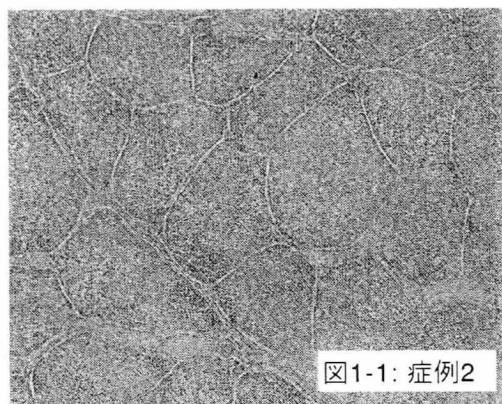


図1-1: 症例2

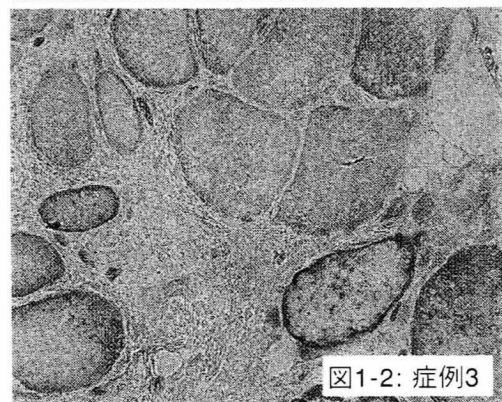


図1-2: 症例3

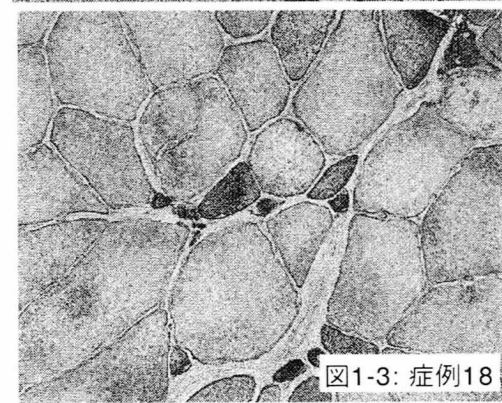


図1-3: 症例18

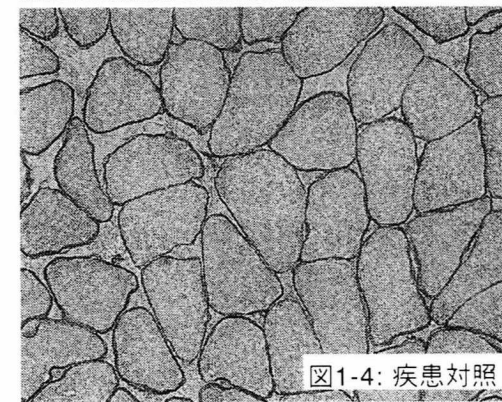


図1-4: 疾患対照

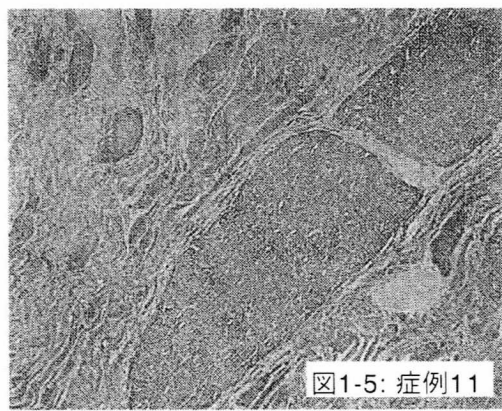


図1-5: 症例11

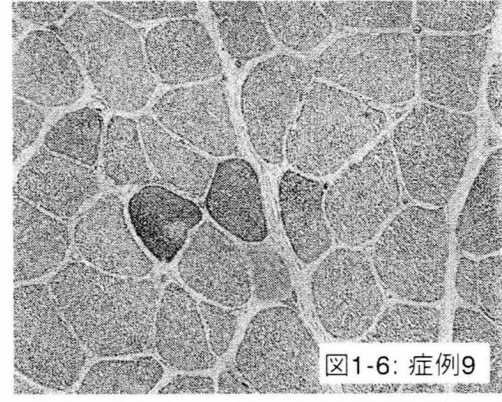


図1-6: 症例9

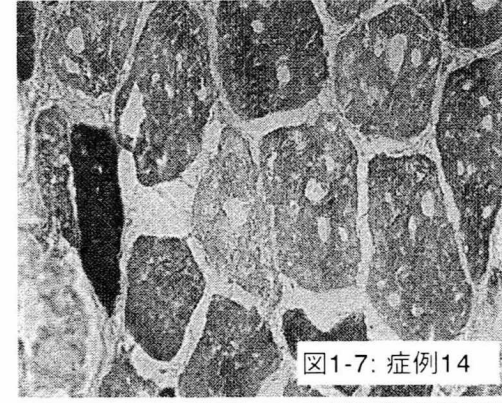


図1-7: 症例14

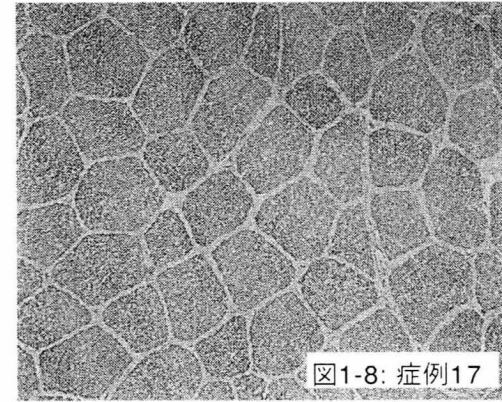


図1-8: 症例17

図1 抗dysferlin抗体による生検筋の免疫染色 DAB発色 (×40倍)

図1-1、図1-2、図1-3：三好型遠位型筋ジストロフィー、症例2は染色性はまったく認めなかった。症例3は染色性陽性線維を散在性に認めたが筋細胞膜の染色性の鮮明さを欠き細胞質の淡い染色性を認めるものが多かった。症例18においては、淡いがすべての筋線維において筋細胞膜に一致した染色性を認め、細胞質に染色性を認めるものも散見された。

図1-4：皮膚筋炎症例 すべての筋線維細胞膜に一致した強い染色性を認める。

図1-5、図1-6、図1-7：肢帯型筋ジストロフィー、症例11は染色性をまったく認めなかった。症例9は、散在性に細胞膜と細胞質に淡い染色性を認める線維が散見された。症例14は、筋細胞膜に一Cした染色性はなく、細胞質がさまざまな程度に染色される筋線維が散見された。

図1-8：特発性高CK血症、症例17では筋線維上にはまったく染色性を認めなかった。

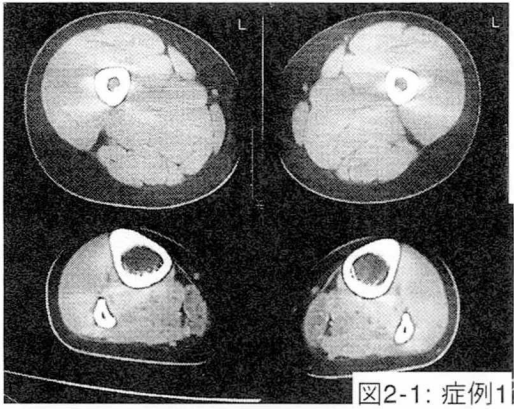


図2-1: 症例1

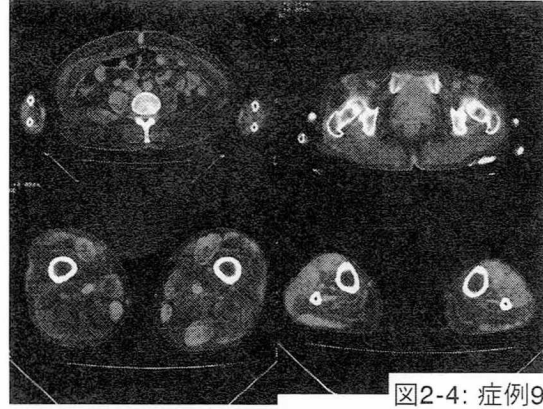


図2-4: 症例9

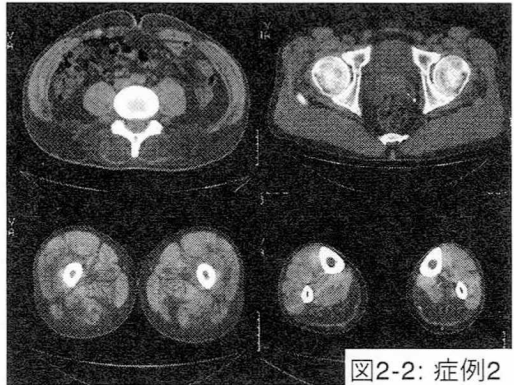


図2-2: 症例2

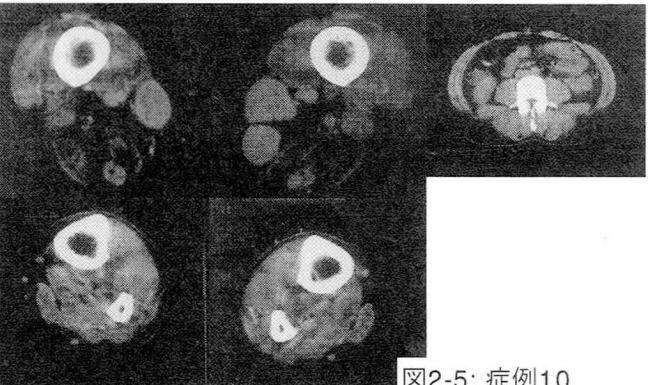


図2-5: 症例10

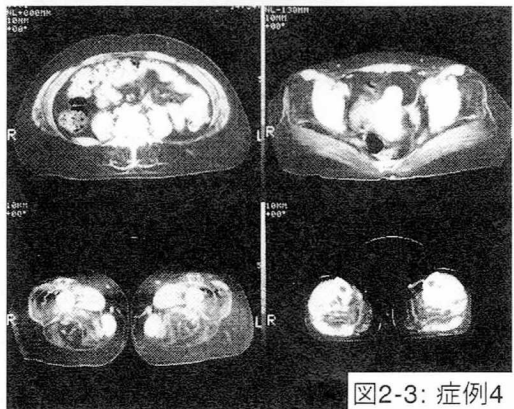


図2-3: 症例4

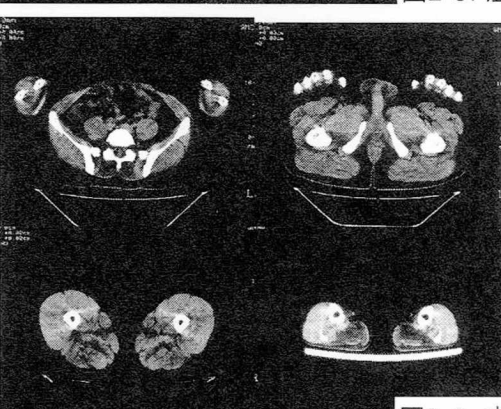


図2-6: 症例13

図2 dystrophin 発現低下症例の骨格筋CT

図2-1、図2-2、図2-3：

臨床診断は三好型遠位型筋ジストロフィー

図2-4、図2-5：

臨床診断は肢帯型筋ジストロフィー

図2-6：臨床診断は慢性筋炎

図2-7：特発性高CK血症症例

19才男性例。CT画像上は明らかな筋の異常所見は認めない。

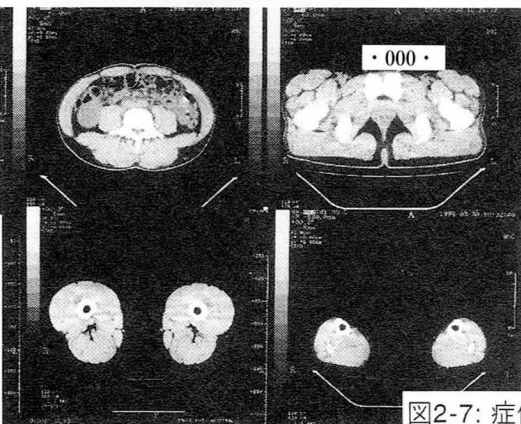


図2-7: 症例19

筋炎)群2例、MM群で祖母に認めるもの1例、(LG+筋炎)群で叔母と叔父に認めるもの1例が存在し、MM群4例、(LG+筋炎)群5例では家族歴は確認できていなかった。CK値はMM群 3785 IU/l(1234~8075)、(LG+筋炎)群 5328 IU/l(1507~11105)と(LG+筋炎)群で高値であった。筋力は当時の臨床チャートから調べたMMTの5段階で評価したものをを用いて比較検討した。(LG+筋炎)群では遠位に比して近位の障害がめだつが、MM群でもの近位部の障害がかなり目立つもの(症例4、症例5)が見られた。一方、(LG+筋炎)群では症例12を除いてMM群と同様に下腿背屈より底屈の障害が強い傾向が特徴であった。

表2 骨格筋CTを用いた各筋の残存度の症例ごとの比較

症例番号	診断	年齢	腰部		頸部		大腿										下腿					
			伸	屈	伸	屈	内	外	中	縫	薄	半	半	二	前	伸	屈	伸	屈	ヒラ	ヒラ	
			背	直	大	中	内	外	中	縫	薄	半	半	二	指	伸	屈	伸	屈	ヒラ	ヒラ	
1	MM	20					5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2	MM	40	3	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	1	3	1	5	5	5	5
3	MM	45	5	2	5	5	5	5	5	5	4	4	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5
4	MM	47	1	3	3	5	2	2	1	1	1	4	5	1	1	1	1	5	4	3	3	2
5	MM	35	3	3	4	5	2	3	2	2	2	3	4	2	2	2	2	3	4	2	1	1
6	MM	47	4	2	4	5	3	3	2	2	2	3	3	4	1	1	4	1	5	5	4	1
7	MM	37	2	3	3	5	4	5	2	2	2	3	3	4	2	2	4	2	5	5	5	1
9	LG	39	1	2	2	2	3	3	2	2	1	1	1	3	1	1	2	2	4	4	3	2
10	LG	27	5	4	4	5			3	2	3	2	5	5	1	3	1	5	5	3	3	3
11	LG	24							4	4	3	4	4	4	4	1	2	1	4	4	2	1
12	LG	49	1	4	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	4	3	3	3
13	筋炎	28	1	2	3	5	4	4	4	5	4	4	4	3	3	4	4	5	5	5	2	2
14	LG	35	1	2	3	5	2	2	1	3	1	1	1	4	1	1	1	1	3	3	3	2
17	高CK血症	19	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

残存筋の割合>90%:5点、90~75%:4点、75~50%:3点、50~25%:2点、25%>:1点
表では、筋残存度が2点以下(残存度が50%以下)の筋に関して背景塗りで示す。

表2に骨格筋CTでの筋の残存度を示す。各筋の残存度は、CTでの筋の断面での残存筋の割合でもって半定量的に1点から5点で評価した。すなわち残存筋の割合で、>90%:5点、90~75%:4点、75~50%:3点、50~25%:2点、25%>:1点とした。表では、筋残存度が2点以下(残存度が50%以下)の筋に関して背景塗りで示した。MM群でも(LG+筋炎)群でも傍脊柱筋、大腿屈筋群、下腿底屈筋群が障害され易く、大腰筋、薄筋、下腿背屈筋群が残りやすいなど、両群で類似の傾向があることがわかった。なお、特発性高CK血症症例はごく軽度の頸部前屈筋の筋力低下を示すのみで、明らかな四肢筋の筋力低下はなく、筋CTでも異常を認めなかった。

考 察

本研究でのスクリーニングで抽出された抗dysferlin抗体での染色性低下症例の免疫染色性には、陰性、不均一弱、弱陽性(症例18)などのように、さまざまな染色性がみられた。2次的にdysferlinの染色性が低下する場合の報告もなされており3)、本検討でみられた染色性の多様性が、他のdysferlinが相互作用する蛋白に異常に伴う2次的な異常である場合も含まれている可能性がある。今後、免疫染色性とdysferlin遺伝子異常と

の対応を検討することが必要であろう。また、さらにスクリーニングをすすめる多数例で臨床像と生検筋での染色性を検討することも必要と考えた。

当科17年間の経験症例の中で81例のスクリーニングから19例(23%)のdysferlin発現異常症例を抽出できた。新たにdysferlin発現異常症例であるとわかった症例はLG7例(35例の中で7例、20%)、慢性筋炎1例、特発性高CK血症1例であった。LG症例の中でかなりの割合でdysferlin発現異常症例が含まれることが確認された。一方、免疫染色での検討ができず臨床的特徴のみから診断していた時代で臨床診断MM型の10例中9例が、今回の検討で、生検筋の染色性が陰性または不均一弱であったことは、本疾患においては中心となる臨床像が均一な疾患であることが改めて確認されたものと解釈した。また、臨床診断MM型で弱い染色性が陽性と判断された症例(症例18)に関しては、臨床像はMM型の特徴を持っており、おそらくdysferlin発現異常症例であろうと考えられるが、確認のためには、遺伝子レベルでの検討が必要であろう。

ところで、生検筋の免疫染色性の結果からは、染色性消失症例と不均一低下症例は、MM群(染色性消失7例、低下2例、陽性であるが弱い発現1例)と(LG+筋炎)群(染色性消失5例、低下3例)の両方に含まれていた。

MM群と(LG+筋炎)群の比較では、発症年齢は(LG+筋炎)群の方がやや若年ではあるが大部分が20歳前後~30歳半ばに発症しており、CK値は(LG+筋炎)群の方がやや高値であるがいずれもかなりの高値を示すこと、筋力は(LG+筋炎)群では遠位に比して近位の障害がめだつがMM群と同様に下腿背屈より底屈の障害が強い傾向があること、筋CTでの評価では(LG+筋炎)群で障害が全体に強いが個々の筋の障害分布の傾向は両群で類似していることが明らかになった。以上の点は、MM群と(LG+筋炎)群は生検筋での染色性に多様性はあるが類似した臨床的特徴をもち、筋におけるdysferlinの発現低下自体が比較的均一な臨床像の形成に関与する可能性が推定された。

また、本検討で、特発性高CK血症の1例(症例19)がdysferlinの発現異常症例(染色性消失)であることが明らかになった。本例では筋力でも筋画像でも明らかな異常は乏しく、本例が発症が遅いMM型またはLG型と考えるべきか、または発症機序が異なる疾患、すなわちdysferlinの欠損プラスαが発症に関与した疾患と考えるべきかは遺伝子レベルでの検討をすべきと同時に経過を追っていく必要がある。また、本例の存在より特発性高CK血症でもdysferlinopathyである可能性を考慮する必要があることがわかった。

今後、多数例での検索をおこなうことでdysferlin発現異常症例の臨床像の特徴をさらに明らかにしていく必要がある。また、dysferlin染色性と遺伝子異常と

の対応も明らかにしていく必要がある。さらに、筋の障害の重症度を左右する因子に関して検討していく必要がある。dysferlinの骨格筋での役割を解明し、dysferlinの発現異常から筋の崩壊にいたるまでの過程を明らかにしていくことが、病態機序の解明およびさらには本疾患の治療のために重要な点であると考えた。

参考文献

- 1) Liu J, Aoki M, Illa I, Wu C, Fardeau M, Angelini C, Serrano C, Urtizberea JA, Hentati F, Hamida MB, Bohlega S, Culper EJ, Amato AA, Bossie K, Oeltjen J, Bejaoui K, McKenna-Yasek D, Hosler BA, Schurr E, Arahata K, de Jong PJ, Brown RH Jr. : Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. *Nat Genet* 1998 Sep;20(1):31-6
- 2) Illa I, Serrano-Munuera C, Gallardo E, Lasa A, Rojas-Garcia R, Palmer J, Gallano P, Baiget M, Matsuda C, Brown RH. : Distal anterior compartment myopathy: a dysferlin mutation causing a new muscular dystrophy phenotype. *Ann Neurol* 2001 Jan;49(1):130-4
- 3) Matsuda C, Hayashi YK, Ogawa M, Aoki M, Murayama K, Nishino I, Nonaka I, Arahata K, Jr RH Jr. : The sarcolemmal proteins dysferlin and caveolin-3 interact in skeletal muscle. *Hum Mol Genet* 2001 Aug 15;10(17):1761-6

小児期発症筋ジストロフィーの遺伝子検査をめぐる問題状況の把握と論点の整理

白井泰子	(精神保健研究所 NCNP)
土屋貴志	(大阪市立大学大学院文学研究科)
丸山英二	(神戸大学大学院法学研究科)
斎藤有紀子	(北里大学医学部)
佐藤恵子	(国立がんセンター中央病院)
玉井真理子	(信州大学医療技術短期大学部)
掛江直子	(精神保健研究所 NCNP)
中井博史	(国立療養所八戸病院)
大澤真木子	(東京女子医科大学小児科)

1. はじめに

筋ジストロフィーは臨床的にも遺伝子的にも異質な疾患群の総称である。なかでもデュシェンヌ型筋ジストロフィーは、患者数の多さにおいて他の筋ジストロフィーを圧倒的に凌いでいる。1980年代後半にKunkelグループ、Wortonグループの画期的な研究によりデュシェンヌ(DMD)/ベッカー型(BMD)筋ジストロフィーの責任遺伝子および遺伝子産物であるジストロフィンが発見されて以来、DMD/BMDの診断を遺伝子レベルで行うことが可能になった。またこうした研究の波及効果により、DMD/BMDだけでなく関連する筋ジストロフィーについても次々に遺伝子・分子レベルで病因が解明され、より正確な診断が可能になりつつある¹⁾。

疾病に対する有効な治療法や予防法がある場合の遺伝子検査は、検査結果に基づいて確定診断を下して治療を行ったり発症防止のための予防措置を講じたりすることができるという意味で、被検者(患者)自身にとっての利益性は明らかである。他方、有効な治療法・予防法のない疾患の場合には、被検者本人にとっての医療上の利益は認められない。しかしこのような場合であっても、疾患発症の可能性をあらかじめ知っておくためや、家族・血縁者の保因者診断・出生前診断を行うために患者の遺伝情報が必要となること、あるいは研究上の関心から、患者に対する遺伝子検査が実施される場合も少なくない。被検者本人にとって医療上の直接的利益が認められない場合であっても、被検者が成人の場合は、インフォームド・コンセントおよび遺伝カウンセリングが尽くされていれば、本人の自由意思による同意に基づいて遺伝子検査を行うことに倫理的・法的問題はない。しかし、遺伝子検査の性格上、子どもに対して、親の代諾の下で、本人にとっての利益性がはっきりしない検査を行うことには深刻な倫理的・法的問題が伴う²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾。

小児期発症筋ジストロフィーの患者の中には、筋生検等の所見による診断のみで免疫組織化学や遺伝子レベルでの病型確認がされていない者も少なくない。このような患者に対する遺伝子検査は、病型確認をおこなって患者本人の治療に役立てるということもさりながら、患者の母親や姉妹等の女性血縁者の保因者診断・出生前診断にとって不可欠な遺伝情報の入手のためという理由で実施されることが多い、しかしこれまでは、小児期発症筋ジストロフィーのジストロフィン遺伝子検査をめぐる倫理的、法的、審理・社会的問題および遺伝子検査の実施に対するインフォームド・コンセント手続きのあるべき姿について論じられたことはほとんどなかった³⁾⁵⁾。

本稿では、小児期発症筋ジストロフィーのジストロフィン遺伝子検査をめぐる問題状況の把握と論点の整理を行うために検査目的別の論点指摘用フローチャートを作成し、検査目的の違いによって生じる法的・倫理的問題の相違について考察する。また、保因者診断を実施する場合のインフォームド・コンセント手続きのあるべき姿の検討も併せて行う。

2. 小児期発症筋ジストロフィーの遺伝子検査をめぐる問題状況の把握

(1)小児期発症筋ジストロフィーの遺伝子検査

小児期発症筋ジストロフィーの遺伝子検査の目的は、(1)筋疾患が疑われる小児の確定診断を目的とする場合(タイプI)、(2)患者の母・姉妹等の女性血縁者の保因者診断・出生前診断を目的とする場合(タイプII)の2つに大別される。タイプIの目的で行うジストロフィン遺伝子検査の場合、ほとんどの被検者が未成年であることから、同意能力の水準ならびに親の代諾による実施の可否についての検討を行うことが必要となる³⁾⁴⁾。また、遺伝子検査を実施する場合の適正なインフォームド・コンセント手続き(IC手続き)とそれに必要な文書(遺伝子検査説明書/同意書、病気の説明書、結果説明書/意思確認書)を用意することも忘れてはならない課題である⁵⁾⁶⁾。

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は乳幼児期における運動機能の発達の遅れという形で親が気づく場合が多い。DMDの1/3は突然変異によって発症すると考えられているが、残る2/3はX染色体連鎖性劣性の遺伝形式をとる。従ってDMDの患者は男性のみで、女性の場合は責任遺伝子に変異があっても本人が病気を発症することはない。しかし保因者の女性が子どもを産んだ場合、男児であれば1/2の確率でDMDを発症する可能性があり、女児であれば1/2の確率で保因者となる可能性がある。このように、タイプIIの目的で行われる遺伝子検査の場合、患者は、自分の母や姉妹等の女性血縁者の保因者診断や出生前診断のために彼の遺

伝情報が必要だという理由で、遺伝子検査を受けることを要請されることになる。それ故、保因者診断の目的で行う遺伝子検査のIC手続きでは、保因者診断を希望する女性(クライアント)の同意に加えてクライアントの兄弟である患者本人の同意が不可欠であり、両者に対するIC手続きは整合的であればならない。

(2) 遺伝子検査に対するインフォームド・コンセント

すでに筆者等は、タイプIのように筋疾患を疑われる子どもに対して病型確認のための遺伝子検査を行う場合についての当事者の同意能力とこれに即した同意要件について一応の基準を示している³⁾⁴⁾：

- ・6歳相当未満相当：親権者が同意していること
- ・6歳以上11歳未満相当：親権者が同意し、本人が拒否していないこと
- ・11歳以上16歳未満相当：親権者が同意し、本人が了承していること
- ・16歳以上相当：本人が同意していること

このように、筆者等が遺伝子検査についての同意能力を16歳以上に相当する者に認めることにしたのは、

(1)臓器移植法の運用指針が、死体臓器移植のための臓器提供の意思表示をなしうる者を15歳以上としていること、(2)東京都立病院倫理委員会が、宗教上の理由による輸血拒否について、高校生以上の者に関しては、本人の意思を尊重するとしていること、(3)日本赤十字社が、16歳未満の者からは献血を受けないとしていること、(4)文部科学省、厚生労働省、経済産業省のヒトゲノム・遺伝子解析研究指針が、遺伝子解析研究のための試料提供について、16歳以上の未成年者に関しては、代諾者(親)とともに本人からもインフォームド・コンセントを得ることを求めていること、などを総合的に勘案したことに基づいている。

一方、タイプIIのように患者の母や姉妹等(以下、「クライアント」と略記)の保因者診断のために行われる遺伝子検査では、患者の遺伝子変異を特定することがクライアントに対する検査実施の前提となる。従って、インフォームド・コンセントについても、患者の遺伝子検査とクライアントの遺伝子検査の双方について検討する必要がある。保因者診断におけるクライアントの遺伝子検査については、上述の本人の病型確認を目的とした検査に関する基準において、16歳未満に相当する者には完全な同意能力を認めていないこと、および、女性の婚姻適齢が、「男は、満18歳に、女は、満16歳にならなければ、婚姻をすることができない」と定める民法731条の規定によって16歳とされていることから、クライアントが16歳以上に相当する同意能力をもっていなければ保因者診断は実施しないこととした。患者の遺伝子検査については、原則として、16歳相当以上の理解・判断力をもつ患者本人が遺伝子検査に同

意していることをその実施の条件とし、例外的に、特段の事情がある場合にのみ、11歳以上で16歳未満相当の患者について、親の同意と本人の了承で検査の実施を認めることとした。その背後にある考えは、上述の「16歳未満に相当する者には完全な同意能力は認められないこと」と、「同意能力を欠く者については、本人の利益にならない医療行為の実施は認められない」ということである。

以上のような問題認識の下に、当該状況における問題点指摘用フローチャートを作成し、検査目的別にみた法的、倫理的問題点の洗い出しを行うこととした。

3. 検査目的別の論点指摘用フローチャート

図1に小児期発症筋ジストロフィーの遺伝子検査に関する検査目的別の論点指摘用フローチャートを示した。チャートの中では、遺伝子検査に関する質問項目を菱形、回答項目を長方形、結論を楕円形、議論を残している結論を雲形ないし八角形、の枠で、それぞれ示している。また「検査できない」という結論については、楕円形に×をつけている。

このフローチャートに関する全般的な注意点は2つある。一番目の注意点は、「このフローチャートは検査に関して考慮すべき点を論理的な順序に従って整理したものであり、必ずしも実際の手順(取るべき手続きの流れ)を示したものではない」ということである(たとえば、保因者診断の実際の手順と用いる文書については文献⁷参照)。

二番目の注意点は、「今回作成し配布した説明・同意文書一式は、このチャートに示された内容すべてをカバーする趣旨のものではない」ということである。筋ジストロフィー遺伝相談プロジェクトでは1998年に、患者本人の病型確認を目的としておむね6歳未満(相当の同意能力)の患者に遺伝子検査を行う場合の説明・同意文書一式⁹⁾を作成した(フローチャートでは「タイプI 患者本人の病型確認」→「患者の同意能力は？」→「6歳未満相当【状況A】」以下の部分に該当)。今回作成した説明・同意文書一式は、患者の母や姉妹が保因者診断することを目的とし、患者本人が遺伝子検査を受けたことがなく、患者が生存中である場合(チャートのほぼ中央付近、「患者本人が生存中か？」→「生存中」以下の部分)に用いるものであり、これら以外の場合についての説明文書・同意文書は未だ作成されていない。

次に、フローチャートの要点を3点説明する：

(1) 遺伝子検査の目的を、患者本人の病型確認のみを目的とするもの(タイプI, 右側)と、患者の母ないし姉妹の保因者診断・出生前診断を目的とするもの(タイプII, 左側)に大きく分けた。保因者診断や出生前診断を行うためには、患者の遺伝情報が必要である。つまり、検査を求めて来るクライアント(患者の母や姉妹)が、

自分自身の検査(保因者診断)や胎内の胎児の検査(出生前診断)に同意するだけでなく、患者本人が、患者自身に行われる遺伝子検査に対して同意を与えていなければならないと考えた。フローチャートが「患者本人が遺伝子検査を受けたことがあるか？」以降(大きな2段目以降)に展開しているのはそのためである。

(2)保因者診断や出生前診断は、クライアント(つまり患者の母や姉妹)が16歳未満の場合は、原則として実施しないこととした。その理由は、16歳相当未満の者には完全な同意能力が認められないと考えるからである。この原則はまた、女性の婚姻適齢が16歳とされていること(民法731条)にも合致している⁸⁾。

(3)全般として、検査を実施したり、過去に行われた検査の結果を利用するにあたっては、本人の病型確認を目的とする遺伝子検査(タイプI)に関して示した、同意能力の程度に応じた基準を準用した。

保因者診断・出生前診断を目的とする遺伝子検査に関して、今後検討すべき課題として残った点を3つ挙げておく。第一に、患者本人が以前に遺伝子検査を受けていて検査結果はあるが、患者がすでに亡くなっており、検査結果の利用について患者本人の同意を得ることはできないけれど、患者が生前に拒否の意思表示もしてはいなかった、という場合に、患者の遺族の同意だけで検査結果を利用してよいかどうか、という問題である。フローチャートの中では、雲形の枠に「検査結果利用可？」とある箇所である。

第二に、患者、ないし血縁関係のある他の患者はすでに亡くなっているが、へその緒など、患者の組織が保存されていて、それを検査することを患者が生前に拒否してはいなかった、という場合のことである。この場合も患者本人の同意を得ることはもはやできないが、かといって遺族の同意だけで検査を実施してよいかどうか、という問題がある。フローチャートでは、雲形の枠に「検査実施？」とある箇所である。以上の2つの点については、保因者診断ないし出生前診断を希望しているクライアントが同時に患者の遺族でもある場合が多いと予測されるが、その場合、患者の利益を第一に考慮すべき遺族としての決定が、クライアントとしての利害と、必ずしも一致するとは限らない、という問題を取り上げたものである。

第三に、患者が生存中で、まだ遺伝子検査を受けていないが、16歳未満ないしそれ相当の同意能力である場合、原則として検査せずとしてしまってよいかどうか、という点である。フローチャートでは、八角形の枠に「原則として検査せず？」とある箇所である。筆者等は、こうした場合の遺伝子検査は実施しないことを原則とすべきであると考えている。ただし、16歳以上の患者であっても同意能力が16歳未満相当の場合は親権者の同意と本人の了承を得ること、また、11歳以上

で16歳未満相当の場合は「特段の事情があるとき」にのみ「親の同意と本人の了承を得ること」を条件に、それぞれ例外的に検査の実施を認めている⁹⁾。

「保因者診断意思決定支援プログラム」では、患者の同意能力が11歳未満相当の場合は保因者診断のための遺伝子検査は行わないとした。しかし現実には、国内でも国外でも、保因者診断や出生前診断を目的とする患者の遺伝子検査が、親の同意によってなされている。それが認められる理由として、(1)本人に対する不利益・危険が小さく、(2)クライアントをはじめ他の家族の必要性が高く、(3)他に方法がないことや、(4)家族の自律的決定は尊重されるべきこと、を挙げる者もある⁹⁾。これまで筆者等のグループでは、このような根拠で、保因者診断目的の、同意能力を欠く患者の遺伝子検査が正当化しきれぬものかについての議論を尽くしておらず、検討の余地を残している。

4. おわりに

以上に述べたよう検討の過程を経て、保因者診断を希望するクライアントならびにクライアントの兄弟である患者の自由で自発的な意思決定を尊重するかたちでタイプIIの遺伝子検査を行うために、「小児期発症筋ジストロフィーの保因者診断意思決定支援プログラム」⁷⁾を策定し、IC手続きにおいて必要となる関連文書一式を作成した。本プログラムの基本原則は以下の通りである：

a)遺伝子検査についての同意能力は、16歳以上に相当する者に認める。

b)保因者診断は、クライアントならびに患者の同意に基づいて行う(クライアントと患者の双方に、病名・遺伝検査の目的等を説明し、同意を得ること)。

c)保因者診断の実施基準と同意取得手続き：クライアントならびに患者双方に16歳以上相当の同意能力があること。同意は本人から得ること。

d)医療者はこれらの基本方針をクライアントを含む家族に説明し、了解を得ること。なお、“患者に説明できない”、“患者の同意が得られない”等の場合は、家族内で話し合いを行い、自主的に解決してもらうこと。

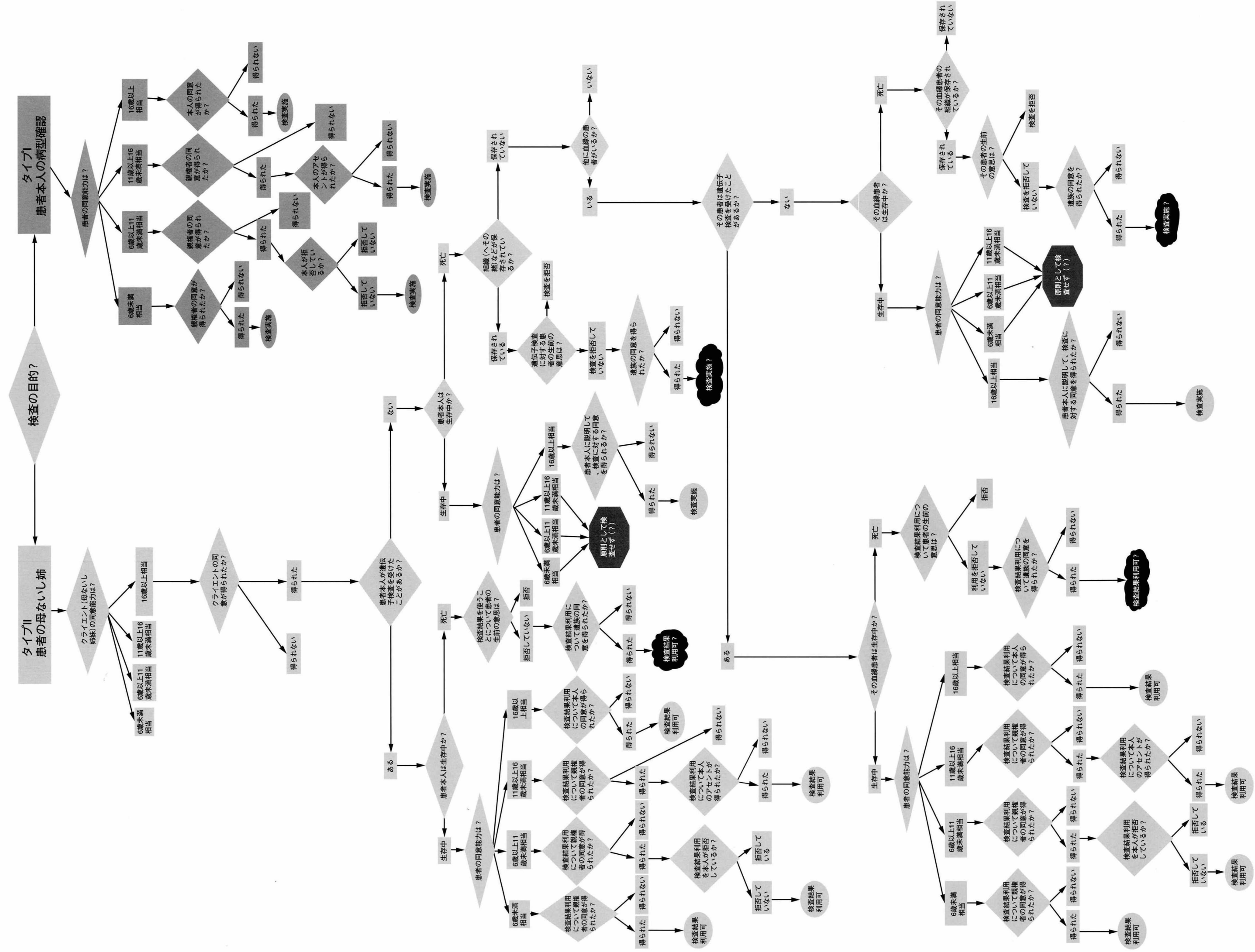
e)医療者の役割は、クライアントや患者の意思を尊重し自己決定を支援するコーディネーターであること。

なお、本プログラムのIC手続き関連文書一式の構成は、以下の通りである：

- ・ 医師用マニュアル
- ・ 最初の来談者に対する説明文書
- ・ 保因者診断対象者に対する説明文書/同意書
- ・ 患者本人に対する説明文書/患者本人の同意書
- ・ 保因者診断対象者に対する結果説明文書/意思確認書
- ・ 患者本人に対する結果説明文書/意思確認書

文 献

- 1) 杉田秀夫：筋ジストロフィー研究の今後の問題点。
筋ジストロフィー研究連絡協議会(編集/発行)：筋ジストロフィーはここまでわかった PART 2. 医学書院, 1999, pp3-6.
- 2) 白井泰子：遺伝子検査－子どもの場合(1)：遺伝子検査の目的とこれに由来する倫理問題. 日本医事法学会(編)：年報医事法学 15: 8-14, 2000(日本評論社).
- 3) 白井泰子, 丸山英二, 土屋貴志, 斎藤有紀子, 玉井真理子, 佐藤恵子, 掛江直子, 中井博史, 大澤真木子：筋ジストロフィーの遺伝子診断及び遺伝相談法に関する法的, 倫理的, 心理・社会的諸問題の検討. 平成11年度厚生省精神・神経疾患委託費による研究報告集(2年度班・初年度班), 1999, pp.183.
- 4) 丸山英二：遺伝子検査－子どもの場合(2)：子どもFに対する遺伝子検査の法律的問題. 日本医事法学会(編)：年報医事法学 15:15-22, 2000(日本評論社).
- 5) 斎藤有紀子：遺伝子検査－子どもの場合(3)：日本で策定された遺伝子検査に関するガイドラインおよびコンセント・フォームの紹介・検討を通して. 日本医事法学会(編)：年報医事法学 15:23-35, 2000(日本評論社).
- 6) 大澤真木子, 白井泰子, 丸山英二, 土屋貴志, 斎藤有紀子, 玉井真理子, 佐藤恵子, 貝谷久宣：筋肉の病気が疑われるお子さんに対する遺伝子検査について(「担当医のみなさまへ」, 「検査のための説明文書/同意書」, 「検査結果の説明/病気の説明書」, 「検査結果の取り扱いに関する意思確認書」). 厚生省精神・神経疾患研究委託費筋ジストロフィー石原班遺伝相談プロジェクト' 98. 1998.
- 7) 大澤真木子, 白井泰子, 丸山英二, 土屋貴志, 斎藤有紀子, 玉井真理子, 佐藤恵子, 掛江直子, 中井博史：「筋ジスの保因者診断意思決定支援プログラム」書式B-0「筋ジスの保因者診断意思決定支援プログラムを利用される担当医師のみなさまへ」(医師用マニュアル). 平成13年度厚生労働省精神・神経疾患研究委託費筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究(筋ジストロフィー研究石原班)遺伝相談プロジェクト. 2001.
- 8) 丸山英二：小児期発症の筋ジストロフィーの遺伝子検査をめぐる諸問題(3)：保因者診断とインフォームド・コンセント. 平成11-13年度厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究班(班長：石原傳幸)研究報告書(in press).



小児期発症筋ジストロフィー患者の 遺伝子検査における留意事項： 姉妹の保因者診断のために遺伝子検査・ 情報提供をおこなう患者の インフォームド・コンセント、人権、倫理

白井泰子	(精神保健研究所 NCNP)
斎藤有紀子	(北里大学医学部)
土屋貴志	(大阪市立大学大学院文学研究科)
丸山英二	(神戸大学大学院法学研究科)
佐藤恵子	(国立がんセンター中央病院)
玉井真理子	(信州大学医療技術短期大学部)
掛江直子	(精神保健研究所 NCNP)
中井博史	(国立療養所八戸病院)
大澤真木子	(東京女子医科大学小児科)

I. はじめに

小児期発症筋ジストロフィー患者に遺伝子検査のための採血を申し入れるにあたり、その目的が、もっぱら姉妹や母の保因者検査・出生前検査の情報提供のためである場合に、患者からどのようなインフォームド・コンセントを得ることが必要となるか。

われわれのグループでは、3年間に渡り議論を重ね、このたび「保因者診断意思決定プログラム」として、インフォームド・コンセントのための文書群(セット)を作成した。これは、次の6つの文書から構成されている。

- ①医師用マニュアル
- ②最初の来談者に対する説明文書
- ③保因者診断対象者に対する説明文書/同意書
- ④患者本人に対する説明文書/患者本人の同意書
- ⑤保因者診断対象者に対する結果説明文書/意思確認書
- ⑥患者本人に対する結果説明文書/意思確認書

本稿では、患者用の説明文書にあたる④と⑥について概説し、患者の人権を尊重した検査法のあり方について概説し、今後のあり方についての提言とする。

II. 同意のない検査の実状

これまで筋ジストロフィーの臨床現場では、患者に遺伝子検査を行なう場合、患者本人に同意能力がある場合でも、本人に検査の内容・目的が説明されることなく、あるいは、患者本人の同意を得ることなく、行われることも少なくなかった。その理由として、

①筋ジストロフィーが小児期発症のため、診療の対象となる患者に同意能力のない場合も多く、同意能力をもつ患者もその流れの中で対応されてきた可能性が

あること、

②決定的な治療法が確立しておらず、進行性であること、遺伝子疾患であること、予後がシビアなこと、など、医療者に病名・病態の告知をためらわせる病気の特徴が複数存在することから、そもそもの病名・病態を告げられていない患者が多く、そのため必然的に医療者が検査の説明をしない(できない)場合が多いこと、

③検査の目的が、患者本人の診療から離れ、もっぱら他の血縁者の診断・意思決定のためである場合も少なくなく、目的を告げることがかえって患者の心情を傷つけると考えられてきたこと、

④他疾患に比べ、臨床診断としての遺伝子検査が比較的早い時期に導入されたため、昨今のような文書による説明・同意のプロセスが必ずしも必要な手続きと考えられてこなかったこと、

などが考えられる。

III. 問題の所在

しかし一方で、患者に病名を秘匿し、患者の病態を説明しないまま、目的を告げずに検査を行ない、患者以外の人だけが患者の医療情報を把握し、患者情報を他者の目的のためにのみ利用・活用する、という状況は、患者からインフォームド・コンセントの機会を奪い、患者にとっては、一般の人には認められている検査を拒否する機会や、遺伝相談にアクセスする機会を保障されないという新しい人権侵害の可能性を生じさせている。

扱われる情報が遺伝子に関わるものであることを思うと、本来、より厳格なインフォームド・コンセント、個人情報保護、遺伝カウンセリングの実施などが患者に保障されるべきであるが、患者が事実を秘匿され、情報から阻害されているために、関係の情報にアクセスすることも難しい。

このように、小児期発症筋ジストロフィーの遺伝子検査については、周囲の人が、患者・家族を取りまくさまざまな条件と、当事者の心理を「慮って」行動すること、あるいは、行動してきたこと、および、これまでの標準的な医慣習が、一方で、患者の人権・人格を大きく損なう(損なってきた)という、ジレンマを含むことができる。

IV. 議論の経緯

遺伝相談プロジェクト・白井グループでは、患者本人への病名告知の是非をはじめ、在宅・施設などさまざまな環境に置かれている患者に対し、遺伝子検査の内容や目的を告げること・告げないこと、それぞれのメリット・デメリット、患者に直接の利益とならない検査の是非、すなわち、もっぱら、姉妹や母の保因者検査・出生前検査の情報提供のために行なう検査の正当性な

ど、ジレンマを多く含む課題について3年間議論を重ねてきた。

倫理・人権の視点と、臨床現場の実情とが、ともに筋道を通しながら共通の基盤を見いだすことは容易なことではなく、話し合いは、進んでは立ち止まり、何度も振り出しにもどっては主張の吟味を重ねあうという、ねばり強い継続作業を必要とした。

その結果、白井グループでは、「同意能力のある患者に対しては、遺伝子検査の内容・目的を告げ、本人納得の上で遺伝子検査を行なうことが、患者の人格を最も尊重することになる」「患者に黙って遺伝子検査を実施することを、少なくともこれからの医療の現場で正当化することは難しい」という結論にいたり、3年間の成果として、「同意能力のある16歳以上の患者に対する遺伝子検査の説明文書・意思確認書」の試案を作成した。

V. 患者用文書の配慮事項

この試案は、プロジェクトの課題にそって、「姉妹の保因者診断に伴う患者の遺伝子診断」に焦点を絞っている。「必ずしも病名告知を受けていない患者に過剰な心理的負担を与えない文面」「16歳の患者が読んで理解できる内容」「医療関係者が口頭で説明しにくい問題について、文章化されることで患者の理解をうながし、医療者の心理的負担も軽減する」などの点について留意されている。

以下に、文書の項目に沿って、簡単に説明する。

VI. 患者本人に対する説明文書/患者本人の同意書

a) 文書のタイトルと、遺伝子検査の説明

たとえば、患者用文書では、最初から「筋ジストロフィの遺伝子検査」という表現は用いられていない。「ジストロフィン遺伝子の遺伝子検査」という表現で検査の説明を始め、ジストロフィン遺伝子の機能、ジストロフィン遺伝子が関係している病気の種類... と説明を重ねていくことで、最終的にデュシェンヌ、ベッカー、二つの種類の筋ジストロフィの検査が行えることが理解できるようになっている。

b) 遺伝子検査の方法の説明

遺伝子検査が通常採血と同様の方法であること、それに代わる検査として筋生検があること、筋生検では、病気の診断はできるが、検査の結果をご家族のための遺伝子検査を行なうことが難しくなることなどを説明している。

c) 遺伝子検査の目的について

ここは、このプログラムの特徴が大きく現われている部分である。患者が何のために、だれのために遺伝子検査を求められているのか、保因者検査を希望して

いる人の名前・立場を患者に伝えて、患者に検査に協力してもらおうという考え方に立っている。

この考え方を、思春期の患者にとっては酷だと思われる人もあるかもしれない。しかしながら、「ちょっと検査しましょうね」などの言い方で、姉妹の保因者検査あるいは出生前検査のための採血を患者がなされていくことは、結果的に医療者と家族に対する患者の信頼を損ない、患者の人権を侵害し、患者を疎外することにつながってくる。

自分の病気を受け入れながら、「お姉さんが僕のことを大切に思ってくれているのはよくわかる。お姉さんには、自分の子どもをどうするか、自分のこととして考えてほしい」と、姉妹の自己決定をサポートするために採血に応じている患者の例も聞く。患者は採血の当事者であると同時に、大切な家族の一員でもある。まずは、関係当事者が患者と対話し、患者の意思、姉妹の意思、親の意思を相互に確認しあうていねいなプロセスを踏むことが、患者にもっとも誠実な対応だろう。

本プログラムは、そのようなプロセスが踏まれることを前提にして、遺伝子検査を求める姉妹の名前を患者に明かすことを想定している。家族全体をプログラムの対象としているのも、正にそのような理由からである。

d) 遺伝形式の説明

検査の目的の項目では、自分がなぜ病気になったのか、患者が病気の遺伝形式を理解できるよう、分かりやすい家系図のモデルを用いて、伝えることを試みている。ここでは、自分が病気になった経緯がわかるだけでなく、自分から次の世代ではどのようになっていくのかも理解できるように、図が作成されている。すなわち、自分が子どもをもつ場合には、男の子でも女の子でも筋ジストロフィは発症しないこと、女の子は全員保因者になること、が図示されている。生殖年齢を迎える患者も増えている今、患者のリプロダクションについても情報を伝えていくことが重要と考えたからである。

f) 遺伝子検査の限界、結果のしらせかた

ここは、かつて作成した「小児期発症筋ジストロフィの初診時における診断のための遺伝子検査のインフォームド・コンセント文書」で採用した方針を、そのまま踏襲している。詳細は、文末の参考文献を参照いただきたい¹⁾²⁾³⁾。

g) 守秘義務と、検査のリスク

遺伝子検査の結果は、本人(と、本人が希望する人)にのみ知らされ、秘密が守られることは当然であるこ

とが記されている。臨床診断ですでに病名の診断がついている場合、遺伝子検査で病型が確認された患者が抱えるリスク・衝撃は、はじめて遺伝子疾患の診断がつくときや、発症前診断、保因者診断、易罹患性診断のときとは異なっているという考え方もある。したがって、ここでは、病型に対する守秘義務は、既に診断がついている患者の病気に対するこれまでの守秘義務の中に含まれると考え、遺伝子検査の結果を取り立てて守秘の対象と記すことはしていない。

むしろ、検査をとおして、初めて自分の病気を知り、人間関係の変容に向き合う可能性のある患者に対して、「リスク」を説明する項目で、いつでも相談にのる体制があることが強調されている。

h) 検体の保存、検査費用、残りの血液の活用法、拒否の機会の保障、問い合わせ先

ここについても、かつて作成した「小児期発症筋ジストロフィーの初診時における診断のための遺伝子検査のインフォームド・コンセント文書」で採用した方針を、そのまま踏襲している。詳細は、文末の参考文献を参照いただきたい¹⁾²⁾³⁾。

Ⅶ. 患者本人に対する結果説明文書/意思確認書

意思確認書は、患者が検査を終えてから、落ち着いた気持ちで、自分の検査結果を今後どのように活用したいか、活用したくないのかについて、医療関係者とゆっくり相談できるよう、工夫されたものである。基本的に、この文書も、かつて作成した「小児期発症筋ジストロフィーの初診時における診断のための遺伝子検査のインフォームド・コンセント文書」で採用した方針を、そのまま踏襲している¹⁾²⁾³⁾。

Ⅷ. むすびにかえて

一連の文書をとおして、患者は自分と病気と向き合い、自分の検査が家族や社会にとって、どのような意味を持つのかを知る。

病名を告げ、病気の子後を告げ、遺伝子検査の目的を告げることは、患者・家族・医療者にとって、これまでも、そしてこれからも、少なからぬストレスであることは確かだろう。「患者には目的を告げないで」「その場で、傷つく人・ストレスのかかる当事者の数を極力少なくして」「しかし家族が情報を得るための検査を行ないたい」という「現場のニーズ」は、今後も常に残り続けると思われる。

しかし、筋ジストロフィーの医療を、より患者中心のものにするために、この困難な問題から目を背けたり、問題と向き合う機会を先送りすることなく、検査の説明の機会を患者-家族-医療者が情報を共有する契機とし、それぞれがお互いの生命・身体・人権の間

題を大切に考える... その手がかりのひとつとして、本文書が活用されることを願っている。

文 献

- 1) 白井泰子：遺伝子検査-子どもの場合(1)：遺伝子検査の目的とこれに由来する倫理問題。日本医事法学会(編)：年報医事法学 15: 8-14, 2000(日本評論社)。
- 2) 丸山英二：遺伝子検査-子どもの場合(2)：子どもに対する遺伝子検査の法律的問題。日本医事法学会(編)：年報医事法学 15:15-22, 2000(日本評論社)。
- 3) 斎藤有紀子：遺伝子検査-子どもの場合(3)：日本で策定された遺伝子検査に関するガイドラインおよびコンセント・フォームの紹介・検討を通して。日本医事法学会(編)：年報医事法学 15:23-35, 2000(日本評論社)。

Privacy is Dead: Commentary on Hans-Martin Sass

- Frank (Yeruham) Leavitt, Ph.D.
Chairman, The Centre for International Bioethics
Faculty of Health Sciences
Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva, Israel
Fax: + 972-8-6477633
Email: yeruham@bgumail.bgu.ac.il

Hans-Martin's paper is excellent and informative in itself, but I have some questions about its relevance to the really serious matters. I have always been amazed at the fact that bioethicists make such a big issue about privacy while nobody seems to care very much about the much more important issue of interventional research which is carried out on non-consenting subjects.

Before addressing the issue of privacy, I want to illustrate what I mean by interventional research on non-consenting patients. A few years ago the *BMJ* published a study in which thirty-four, 3-month old infants were exposed to 15% oxygen, in order to check a hypothesis that there might be a connexion between the low oxygen environment in aircraft and Sudden Infant Death Syndrome. (Parkins KJ et al. *BMJ* 1998; 316: 887-894.) Obviously the subjects themselves could not consent. And I do not understand what gives parents the right to give permission for a medical intervention on their baby when there is no clear and serious health benefit to this specific baby. The latest (October, 2000) version of the World Medical Association Declaration of Helsinki sidesteps the issue by allowing consent to be given to the: "legally authorized representative in accordance with applicable law" when "the research is necessary to promote the health of the population represented" (while the phrase "population represented" is left undefined.) This is a serious matter because any medical intervention, no matter how minor, is potentially dangerous to the patient. Yet while interventional research continues unimpeded on babies, mental patients and mentally compromised geriatric patients -- and so often with no clear medical benefit to the subjects experimented upon -- bioethicists are putting major efforts into the relatively unimportant matter of privacy.

Not only is privacy less important than health, it is probably a dead issue anyway because electronic communication is putting it out of date. This is because so many of our secrets are now on computers -- whether it be in the form of computerized medical records, email, employment histories, the history of websites we have accessed, or whatever -- and

nothing seems immune to the hackers. If they can get into the computers of defense ministries, they should have no problem with hospitals.

But what would be wrong with a world in which privacy no longer existed? Some people would have a harder time getting health insurance, but in normal countries health insurance is government supported and universal anyway. Drug companies would make money out of our genetic data without sharing the profit with us; but is money all that important, when we think of how much humanity will benefit when epidemiological and environmental data are correlated with genomes? Our spouses will find out about our girlfriends or boyfriends, but mightn't that teach us to be more honest with our spouses? Some of us will have a harder time getting certain kinds of jobs; but maybe it will be best for us to face up to facts about what employment we are suited for and what not. There used to be a saying: *let it all hang out*. If that were our motto, maybe the world would be a better place. When privacy is the norm, it is embarrassing to have one's secrets revealed. But when everyone else is exposed too, one can accept one's own exposure more calmly. I think the death of privacy is near, and I am ready to say good riddance. This might be the dawn of a new era of openness, honesty and mutual understanding.

Ethical debate over Preimplantation Genetic Diagnosis in Japan

- Yasuko Shirai
National Institute of Mental Health, NCNP
1-7-3 Kohnodai, Ichikawa, Chiba 272-0827, Japan
Email: shirai@ncnp-k.go.jp

1. Introduction

Dramatic advances in medical genetics and reproductive medicine have occurred in the last two decades. Especially with respect to human procreation, the technological combination of in vitro fertilization (IVF) and human genome research opened the door to genetic testing and selection of non-affected human embryos. A procedure derived from a combination of IVF and prenatal diagnosis techniques is known as pre-implantation genetic diagnosis (PGD). PGD requires removal of eggs from a woman's ovaries and fertilizing them outside of her womb. When fertilized eggs have divided into four to eight cells, one or two cells can be removed for testing for genetic disorders. After the testing, non-affected embryos are selected for transfer. Having PGD, a couple may avoid a decision whether or not to terminate a pregnancy in the event of an unfavorable test result. But judging from another point of view, a very nature of PGD selecting of embryos for transfer may raise ethical dilemma.

2. The Present Status of Pre-implantation Genetic Diagnosis in Japan

In July 1993, gynecologists' group from Kagoshima University Medical School started to prepare providing PGD for a couple whom already had a boy with Duchenne muscular dystrophy (DMD). They submitted a petition to the Ethics Committee of Kagoshima University Medical School. At the beginning of reviewing process of the petition, the Ethics committee appeared to be heading towards approving it. However, they abstained from decision until December 1995 due to movements by some disabled persons' groups and women's liberation groups against this petition. During this period, the Ethics Committee of Kagoshima University Medical School asked for a formal judgment on an implementation of

PGD from the Ethics Committee of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology (hereinafter referred to as the Committee). In September 1995, the Committee sent the request back to Kagoshima without any judgment, suggesting that the Ethics Committee of Kagoshima University Medical School will make the final judgment. On 10th February 1997, however, the Committee decided to approve the clinical research of PGD for certain genetic disorders such as DMD and fragile-X syndrome. The Committee submitted their decision to the Board of Directors of JSOBYG on 22nd February 1997. However, the Board of Directors abstained from deciding, due to the movements by some patients' association, disabled persons' groups and women's liberation groups against their decision.

Later on 27th June 1998, the Board of Directors of JSOBYG approved the clinical research of PGD and issued "A Guidelines on Pre-implantation Genetic Diagnosis" (see Appendix 1). It was five years later when the Ethics Committee of Kagoshima University Medical School asked them for their judgment concerning the implementation of PGD. As shown, they announced strict conditions on implementation of PGD and reviewing procedure of a petition. According to the Guidelines, PGD can be offered within the scope of prenatal diagnosis. PGD can be permitted only for a couple who may elevate a chance of having a child with severe genetic disorders, and the implementation of PDG is judged by case-by-case basis. In May 1999, the Kagoshima University gynecologists' group resubmitted the petition of implementation of PGD for the couple with DMD child to the Committee. The Committee rejected it once again because of a method of genetic test for the implementation of PGD. The Kagoshima University gynecologists' group intended not to use DNA testing of DMD but a sex selection of embryos for transfer. At this point of time, another gynecologist of an infertility clinic in Fukuoka City submitted another petition to the Committee. In this case a target of PGD was an infertile couple undergoing IVF treatments and experienced repeated miscarriages. The Committee rejected this proposal, for they judged this case did not confirm to the indications of the PGD guideline. Until now, the Committee accepted no petition for implementation of PGD.

3. Ethical Dilemma on PGD in Japanese Society

According to the aforementioned two denied cases, the Committee raised specific ethical questions concerning PGD; in particular the aim of PGD, the method for genetic testing, criteria of selection for transferring embryos after PGD. At the beginning of developing a technique of PGD, it seemed to become a new alternative for prenatal diagnoses. An advantage of PGD was considered to avoid the abortion issue based on fetal abnormalities. The Committee indicated that PGD could be provided for normal fertile couples who have increased possibility of having a child with severe genetic disorders, especially caused by single gene mutation. The prenatal diagnosis can lead to being confronted with the abortion issue. On the contrary, implementation of PGD has to be faced a selection of genetically healthy fertilized eggs. Some critics asserted that on what ground selective birth of non-affected baby using PGD might be appreciated ethically acceptable, comparing to the selective abortion following ordinary prenatal diagnosis such as amniocentesis. Some said that the moral status of fertilized eggs and human embryos may be endangered by such an idea. The second case from Fukuoka infertility clinic indicated that the Committee did not approve of using PGD in the context of artificial reproduction.

Some gynecologists practicing infertility treatments insist that PGD for pre-implantation genetic screening in this context may have two aims (1). In the first place, it enables the couple to be informed about any chromosomal abnormalities in the

embryos available for transferring healthy ones. Another aim is improving the success rate of IVF and reducing the number of multiple pregnancies. It envisages a field of application to the couples who qualify for IVF or ICSI treatments because of fertility problems. The use of PGD may be widened in scale to include the routine testing for couples with an infertility problem. Other critics raised two questions concerning the selection of embryos through PGD in the process of infertility treatment: one question is whether it is acceptable to decide not to transfer embryos carrying recessive genetic disorder. Another question is whether it is justified when would-be parents wish to use PGD for sex selection of the future child for non-medical reasons. They warned that the expansion of implementation of PGD used in conjunction with IVF might accelerate the danger of a slippery slope toward the selection of embryos by eugenic reasons. In addition to the above-mentioned situation, there is a grave attitudinal gap between so-called experts and ordinary people concerning PGD. As indicated in Appendix 2, ordinary people, especially women, had more cautious attitudes toward PGD than the experts had (2-3). There is no consensus of opinion concerning PGD in Japanese society.

4. Opinion Survey on Prenatal Diagnosis

4.1. Methods

Two opinion surveys were conducted to compare attitudes between the so-called experts and ordinary people with some particular interest in medical genetics, concerning prenatal diagnoses. A survey of experts was carried out in July 1994 (Shirai 1997) with the cooperation of the Japanese Society of Human Genetics (whose total current membership is 1,321) and the Japanese Society of Inherited Metabolic Disease (whose total current membership is 615). Through a random sampling method, 600 members from the first group and 100 members from the second group were selected as respondents. Seven hundred questionnaires were distributed by mail, and a total of 358 responses were received (a response rate of 51%).

A survey of concerned lay persons was carried out from October through November 1996, with the cooperation of the Sentensei Shishi-syogaiji Fubo-no-kai (the Parents' Association of Children with Malformations in Extremities), two groups of parents with children of Down syndrome, and Kyoto Iryo Hiroba (a medical consumers' self-help group in Kyoto). 330 couples from the three parents groups and 150 members from Kyoto Iryo Hiroba composed the group of laypersons. 810 questionnaires were distributed by mail, and a total of 350 responses were received (a response rate of 43.2%). The main issues of the two opinion surveys were PGD, amniocentesis, abortion and some other relevant topics.

4.2. Sample Characteristics

Table 1 lists the characteristics of the respondents of the two groups. Among the expert group, the age of the respondents ranged from 23 to 87 years old; the average age was 43.2 years old (SD=11.7). More than 80% of the respondents were male medical doctors. The valid answers of a total of 356 respondents were used in the following analysis. Among the group of parents and lay persons, the age of the respondents ranged from 19 to 72 years old, and the average age was 40.5 years old (SD=9.8). About 39% of the total respondents were male, and residual 61% were female respondents. Nearly 60% of the female respondents in this group were housewives, and more than half of the male respondents were businessmen.

4.3. Attitude toward Pre-implantation Genetic Diagnoses

Figure 1 presents the respondents' attitudes toward PGD. Among the expert group, more than 60% of the total respondents were in favor of PGD. About 18% were opposed, and 19% abstained. There was no significant attitudinal

Table 1: Sample characteristics

	Expert Group 1994	Concerned Lay persons 1996	
Gender			
Male	292 (81.6%)	135 (38.6%)	
Female	65 (18.2%)	215 (61.4%)	
Age			
Under 35	116 (32.4%)	111 (31.7%)	
36 – 49	144 (40.0%)	171 (48.9%)	
50 – 59	55 (15.4%)	49 (14.0%)	
60+	41 (11.4%)	17 (4.9%)	
Uncertain	2 (0.6%)	2 (0.6%)	
Specialty		Occupation	
Medicine	302 (84.4%)	Business	81 (23%)
Natural Science	49 (13.7%)	Self-employed	16 (5%)
Uncertain	7 (2.0%)	Civil Service	28 (9%)
		House wife	128 (37%)
		Other	97 (28%)

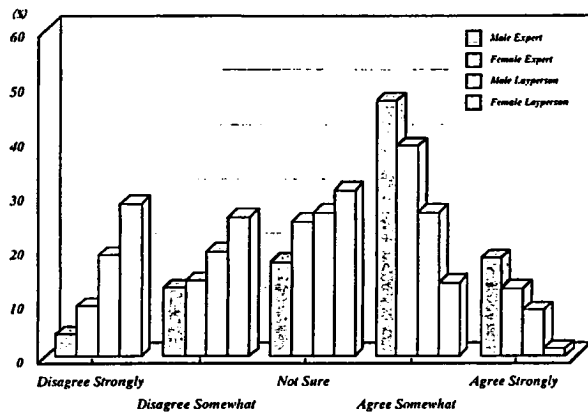


Fig.1 Attitude toward Pre-implantation Genetic Diagnosis

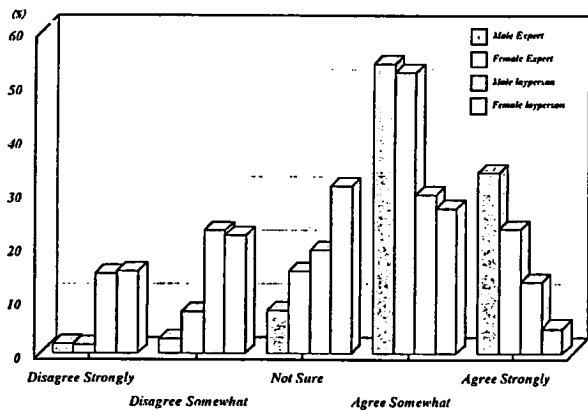


Fig.2 Attitude toward Amniocentesis

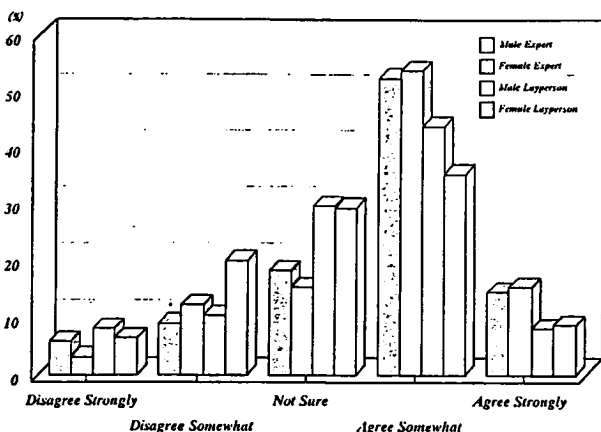


Fig.3 Attitude toward Women's Right to Have an Abortion

difference between the male and female experts. Among the group of laypersons, 35% of the male respondents agreed with PGD. 38% were opposed, and 27% abstained. Whereas among the female laypersons, only 15% were in favor of PGD, 54% were opposed, and 31% abstained. There was a significant attitudinal difference between the male and female laypersons in this case ($p < 0.001$ by chi-square test). It was also revealed a large opinion discrepancy between the expert group and the group of lay persons ($p < 0.001$ by chi-square test).

4.4. Attitude toward Amniocentesis

Figure 2 indicates the respondents' attitudes toward amniocentesis test. Among the expert group, more than 85% of the total respondents agreed with amniocentesis test. Only 5% were opposed, and 9% abstained. There was no significant attitudinal difference between the male and female experts. Among the group of laypersons, 43% of male respondents favored amniocentesis test. 38% were opposed, and 19% abstained. Among the female laypersons, 32% were in favor, 37% were opposed, and 32% abstained, indicating a significant attitudinal difference between the male and female laypersons ($p < 0.02$ by chi-square test). A large opinion discrepancy between the expert group and the concerned lay group was revealed ($p < 0.001$ by chi-square test).

4.5. Attitude toward Women's Right to have an Abortion within the First Three Months of Pregnancy

Among the expert group, 67% of the total respondents agreed with women's right to have an abortion. 15% were opposed, and 18% abstained. Among the group of laypersons, 52% of the male respondents favored women's right to have an abortion. 18% were opposed, and 30% abstained. Among the female laypersons, 44% approved, 26% were opposed, and 30% abstained. There was no significant attitudinal difference between the male and female respondents in each group, however, a significant opinion discrepancy was indicated between the expert group and the group of laypersons ($p < 0.001$ by chi-square test).

5. Discussion and Conclusion

Based on the results of the present survey, the following points are suggested:

(1) There were significant attitudinal differences between the experts and the laypersons concerning PGD, amniocentesis and women's right to have an abortion.

(2) Among the group of layperson, female respondents held different attitudes with male respondents toward PGD and amniocentesis.

(3) The attitudinal differences between experts and laypersons were a result of the opinion discrepancy between male experts and female laypersons.

Since 1991, Macer et al. have conducted public opinion surveys concerning applications of biotechnology into agriculture and medicine. The issue of preimplantation diagnosis was taken up in their surveys in 1997 and 2000 (6, 7). A significant changes in public knowledge of preimplantation diagnosis (PD) occurred in 2000 where 58.4% answered to hear about PD compared to 35.8% in 1997. At the same, a decrease of the affirmative responses of public occurred in 2000 where only 37.7% agreed to encourage PD compared to 59.4% in 1997. Comparing these results to a result of Shirai's survey in 1996 (2), the respondents of the former two surveys had more favorable attitudes toward PD than the latter respondents had. As a whole, it is noteworthy that people showed more cautious attitudes toward PD after they got some information concerning the matter.

These findings suggest that a wider open forum is indispensable to consider a fruitful future of prenatal diagnosis including PGD. When forums and/or working group on this matter are organized, it is also necessary to give consideration to the attitudinal differences caused by the factors of gender and expertness.

In Japan, genetic disorders are always a serious family problem. In the traditional Japanese way of thinking, genetic disorders were regarded as a shameful occurrence to be hidden from society. The traditional religious teaching in our society contributed to an idea that genetic disorders were the result of misconduct in a previous generation of the family (5). Although such ideas have rapidly diminished in its impact, there is still implicit discrimination and prejudice against those who have genetic disorders and/or those who have a family history related to it. A person and his/her family with genetic problems are almost always faced with not only medical problems but also psychosocial and ethical dilemmas.

Another cause of ethical dilemma was embedded in the abortion law. In Japan, the Eugenic Protection Law of 1948 authorized the abortion for eugenic reasons until 1996. In September 1996, however, the Law was amended, and finally revised into a new law, the Mother's Body Protection Law. Words and phrases regarding eugenics were completely deleted from the new law. The Law authorized only two types of abortion. One was an abortion for so-called "economic" reasons and the other was a termination of pregnancy as a result of rape. Based on the new law, selective abortion following prenatal diagnosis cannot be strictly justified, and is performed under "economic reasons".

Reconsidering the guidelines on PGD, the author would like to present some critical points on assessing ethical and social implications of PGD after the suggestions of the Committee on Assessing Genetic Risks in USA (4). First, PGD may strengthen the notion of "selective birth" based on genetic predisposition of embryos. Second, it will open another door to gene manipulation of germ-line cells. Third, it may accelerate a tendency to fix a stigma upon a person due to his/her genetic predisposition. These three issues should be examined and discussed openly and in depth. It is indispensable to discuss whether PGD should be allowed as an extraordinary test for couples who have elevated chances of having a child with serious genetic disorders or a standard test for all the diagnosable genetic disorders and routinely provide for couples with an infertility problem from the ethical point of view. Open public discussion considered in the light of culture, religion, and jurisprudence is also essential.

6. References

1. Health Council of the Netherlands: *Committee on in vitro fertilization: IVF-related research*. 1998.
2. Shirai, Y: Health professionals' attitudes toward preimplantation diagnosis in Japan. *EJAIB* 7(1997); 49-52.
3. Shirai, Y & Saito Y: Ethical and psychosocial implications of preimplantation genetic diagnoses. In Ishihara, T. (ed.): *A final report on genetic counseling and epidemiology of muscular dystrophy*. Saitama, Japan, 1999. pp.162-164 (Japanese).
4. Andrews LB, Fullarton JE, Holtzman NA & Motulsky G (eds.): *Assessing Genetic Risks: Implications for health and social policy*. National Academy Press, Washington, D.C., 1994.
5. Ohkura, K. & Kimura, R.: Ethics and medical genetics in Japan. In Wertz, D.C. & Fletcher, J.C (Eds.): *Ethics and Human Genetics: A cross-cultural perspectives*. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York, 1989. pp. 294-316.
6. Macer, D.R.J., H. Bezar, N. Harman, H. Kamada, and N. Macer "Attitudes to Biotechnology in Japan and New Zealand in 1997, with International Comparisons", *EJAIB* 7 (1997), 137-151.
7. Chen Ng, M.A., Takeda, C., Watanabe, T. & Macer, D. 2000. "Attitudes of the Public and Scientists to Biotechnology in Japan at the start of 2000", *EJAIB* 106.4: 106-13.

Appendix 1: Guidelines on preimplantation genetic diagnosis issued by the Japan Society of Obstetrics & Gynecology (October 1998)

Recommendation To Members of the Society

Kazuo Sato,

President of the Japan Society of Obstetrics & Gynecology

The Ethics Committee set up within the Board of Councilors to advise on ethical issues in treatment and research conducted its deliberations regarding the limits of clinical applications of human in vitro fertilization-embryo transfer and pre-implantation genetic diagnosis. In its discussion the Committee paid careful attention to the various opinions of the communities concerned. As a result, the Committee made its recommendation to the Board. The Board approved these proposals (at the second meeting on June 27, 1998), and here gives notice of its approval to Society members in the form of a Recommendation.

These guidelines have also been approved by the Japan Society of Fertility and Sterility, the Japanese Urological Association, the Japan Society of Andrology, the Japan Society of Teratology, the Japan Society of Human Genetics, and the Japan Society of Mass Screening.

The Guidelines on "the Limits of the Clinical Use of Human In Vitro Fertilization-Embryo Transfer"

Approval has been granted for the application of human in vitro fertilization-embryo transfer in clinical use other than infertility treatment. However, the limits of its application are to be discussed and determined on a case-by-case basis when a petition for approval of clinical use is made to the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. The petition procedure including the forms is to be provided separately.

Comment on the Guideline on "the Limit of the Clinical Use of Human In Vitro Fertilization-Embryo Transfer"

Human in vitro fertilization-embryo transfer ("IVF-ET") has already been applied and implemented in infertility treatment according to the Recommendation of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology (hereafter referred to as "this Society") of October 1983. But knowledge of reproductive physiology, which is the basis of IVF-ET, has increased strikingly since then and it has brought about a remarkable advance in the technology dealing with human ova and fertilized eggs. With such progress in reproductive medical technology, IVF-ET, which has been regarded only as an infertility therapy, is facing a possibility of its new clinical use and this is likely to expand hereafter.

In such a situation, this Society, with deliberate consideration and discussion based on the outcome of clinical as well as basic research both at home and abroad, has come to the conclusion that the application of IVF-ET needs to be expanded; and that our technology has advanced to the satisfactory level.

However, lest the application of IVF-ET be expanded without adequate control, in case of its implementation, it should be performed within proper limits, and at facilities provided with sufficient technology and experience in reproductive medicine. Therefore, facilities and permissible cases of application are to be assessed and determined on an individual basis by the Society.

The Guidelines on "Preimplantation Genetic Diagnosis"

1) Approval has been granted for the application of the technology of human in vitro fertilization-embryo transfer in the pre-implantation genetic diagnosis of fertilized eggs (embryo) (hereafter referred to as this Procedure).

2) In case of application of the Procedure, the following conditions are to be observed.

(1) This Procedure is a medical performance requiring a high level of technology and is to be conducted as clinical research.

(2) It is required that this Procedure be conducted by a physician with a high level of knowledge and skill in reproductive medicine. At the same time he/she should have sufficient knowledge of genetic diseases and extensive experience in prenatal diagnosis.

(3) The hospitals or clinics where this Procedure is implemented should have experience of delivery by means of in vitro fertilization-embryo transfer and also have an acknowledged record of achievements in the use of the technique of gene diagnosis.

(4) This Procedure should only be used for serious genetic diseases. Whether or not it is appropriate to apply this Procedure to a particular disease is to be judged by the Japan Society of Obstetrics and Gynecology (hereafter referred to as this Society) on a case-by-case basis, when a petition is made. This Procedure must not be used except for the purpose of the diagnosis of serious genetic diseases.

(5) Prior to any implementation of this Procedure, the Society must be petitioned according to the prescribed formalities in order to obtain its authorization. Furthermore practitioners are obliged to report on the situation and results of implementation yearly at regular intervals. Before any petition can be made to the Society, authorization must first be granted by the ethics committee of the hospital or clinic concerned where a member of this Society staffs.

(6) Implementation of this Procedure is to be permitted only in the case of couples who are in agreement and have expressed a strong desire that this Procedure be carried out. Before implementation, the couple in question should be offered an explanation in writing of how this Procedure will be performed, the likely results, risks, and differences with respect to current prenatal diagnosis; their autonomy in the decision-making process should be respected; and after that their informed consent is to be given in a written document and be stored in registry. The privacy of the couple and their newborn should be strictly protected.

【資料論文】

Ethical and Psychosocial Dilemmas of Gene Diagnosis *

Yasuko Shirai ¹⁾

Abstract

The rapid advances of the Human Genome Project have brought remarkable knowledge about genetic factors in diseases. Despite the scientific progress, however, our knowledge of effective treatment of genetic disorders always lags behind the ability to detect diseases or increased susceptibility to disease. This has resulted in a number of ethical, legal and social problems concerning gene diagnosis and genetic testing.

This paper discusses the implications and impact of gene diagnosis from a bio-ethical point of view. The nature of genetic information of individuals and the conflict between the principles of privacy and confidentiality were identified as crucial sources of ethical and psychosocial dilemmas of gene diagnosis and genetic testing. The tentative provisions for overcoming these difficulties in genetic medicine are also presented as follows:

- (1) Promotion of the procedure of informed consent in medical practice.
- (2) Respect for individual autonomy and integrity.
- (3) Provision of genetic counseling and other psychosocial support for the person concerned and his/her family.
- (4) Genetic education not only for the general public but also for health professionals.

精神保健研究 47: 109-114, 2001

Key words : gene diagnosis, ethical dilemma, Bioethics.

I. Introduction

The last few years have seen remarkable advances of the Human Genome Project, the aim of

which is the mapping and sequencing of the entire human genome. Despite of this scientific progress, our knowledge of effective treatment of genetic disorders always lags behind the ability to detect disease or increased susceptibility to disease. In addition to the lack of coordination with diagnosis and treatment, the nature of genetic information of individuals raises a number of ethical, legal and social issues. It is necessary to consider the implications and impacts of the mapping and sequencing of human genes related to disease before wide-scale genetic diagnosis, testing, and screening come into practice.

遺伝子診断に内在する倫理的, 心理・社会的ディレンマ
* This paper was presented at " The 10th International Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar" held in Hiroshima, October 29, 2000.

¹⁾ National Institute of Mental Health, NCNP, 1-7-3, Kohnodai, Ichikawa, Chiba 272-0827

白井 泰子

国立精神・神経センター精神保健研究所社会精神保健部
(〒272-0827 千葉県市川市国府台1-7-3)

II. Definition of Genetic Testing

In 1997, the Task Force on Genetic Testing developed the definition of genetic testing in their final report entitled "Promoting Safe and Effective Genetic Testing in the United States"⁵⁾. They defined genetic testing as the analysis of human DNA, RNA, chromosomes, proteins and certain metabolites in order to detect heritable disease-related genotypes, mutations, phenotypes or karyotypes for clinical purposes. As indicated in Table 1, such purposes include predicting risk of disease, identifying carriers, establishing prenatal and clinical diagnosis or prognosis. Prenatal, newborn and carrier screening, as well as testing in high risk families are included. Tests for metabolites are covered only when they are undertaken with high probability that an excess or deficiency of the metabolites would indicate the presence of heritable mutation in single genes. They concluded that the ethical, legal and social issues of genetic medicine were due to the following special nature of genetic information of individuals:

- (1) Genetic information is not the sole property of individuals, but is shared among family members and blood relatives.
- (2) It is valid and remains almost unchanged throughout one's lifetime.
- (3) One can be biologically identified by one's own genetic information.

In 1995, the American Society of Human Genetics and the American College of Medical Genetics published a joint report entitled "Points to consider: Ethical, legal, and psychosocial implications of genetic testing in children and adolescents"²⁾. The points to consider that they raised are common to these regarding gene diagnosis and

genetic testing for adults.

III. Points to Consider in Genetic Testing

The joint report of the American Society of Human Genetics and the American College of Medical Genetics²⁾ concluded that careful assessment of the possible benefits and harms associated with the tests should be performed from medical, psychosocial, and reproductive points of view as indicated in Table 2.

(1) Medical issues: As potential benefits of genetic testing from a medical viewpoint, they listed "avoiding unnecessary surveillance and increased surveillance" and "clarification of diagnosis and refinement of prognosis." At the same time, they warned that genetic testing might produce ineffective or harmful interventions.

(2) Psychosocial issues: Genetic testing raises a broad range of psychosocial issues for those considering testing and for those offering to perform such tests: What does test result mean for me, for my children, and for my family? What does the future hold for health, longevity, and quality of life? What does this information mean for future employability, insurability, personal stigma, and social discrimination? Many people who take genetic testing receive "good news" and reassurance with their test results. They may learn definitively, or with a high probability, that neither they nor their children have a specific genetic disorder. Many other people also learn that they and their children do not carry the gene for that disease. However, even favorable news and reassurance may affect people's perception of themselves and families, leading to what is called "survivor's guilt" and a sense of rejection from affected family members⁹⁾. Other people who take these tests may be identified as having a genetic disorder or genetic susceptibility in their fetus, their children, or themselves. Such test results may have negative psychosocial effects for them: they raise fundamental questions of medical vulnerability, as well as personal and social image and identity. Individuals

Table 1 Purposes of Genetic Testing

- | | |
|---|------------------------|
| ◆ | Differential Diagnosis |
| ◆ | Prenatal Diagnosis |
| ◆ | Carrier Identification |
| ◆ | Presymptomatic Test |
| ◆ | Predispositional Test |

Table 2 Potential Benefits and Harms of Genetic Testing

Category	Benefits	Harms
Medical Issues	<ul style="list-style-type: none"> • Early and effective preventive or therapeutic interventions • Increased surveillance • Refinement of prognosis • Clarification of diagnosis 	<ul style="list-style-type: none"> • Ineffective or harmful preventive or therapeutic interventions
Psychosocial Issues	<ul style="list-style-type: none"> • Reduction of uncertainty • Reduction of anxiety • Opportunity for psychological adjustment • Ability to make realistic plans for education, employment, insurance, and personal relationships • Alerting other family members to genetic risk 	<ul style="list-style-type: none"> • Alteration of self image • Distortion of parents' perception of child • Increased anxiety and guilt • Altered expectations by self or others for education, employment, and personal relationships • Identifying other family members with late-onset diseases • Discrimination in employment and in obtaining insurance • Detection of misattributed paternity or adoption
Reproductive Issues	<ul style="list-style-type: none"> • Avoiding birth of child with genetic disease • Preparing for birth of child with genetic disease • Informed family-planning decisions by parents 	<ul style="list-style-type: none"> • Coerced decision

— Am. J. Hum. Genet. 57:1235, 1995 —

may perceive that they are “flawed”, “imperfect”, “defective” or “abnormal”, or may have concerns that others will perceive them or their offspring in these terms⁹⁾. Genetic information has both potential benefits and harms. Therefore, medical practitioners may be obliged to avoid the possibility of harm, rather than to provide unclear benefits when faced with uncertainty.

(3) Reproductive issues: Reproductive issues are closely linked with a major source of concern regarding genetic testing. Genetic information often influences the reproductive choice of individ-

uals at risk of transmitting a genetic disorder. Individuals and couples who want to avoid having a child with a certain genetic disorder have several options, including prenatal diagnoses, termination of pregnancy, artificial insemination by donor, in vitro fertilization with preimplantation diagnosis, and adoption. It is essential to restrain individuals and couples from a forced decision caused by so-called technological imperative. Potential benefits and harms of genetic testing concerning reproductive issues are presented in Table 2.

Table 3 Mature Minors Rule in Medicine

A minor's consent should be regarded in accordance with the age and capacity for discernment of the child concerned :
• Older than 16 yrs : IC by the child without his /her parents' refusal
• 16 yrs ~11 yrs : Assent by the child with parents' consent
• 11 yrs ~ 6 yrs : IC by the parents without the child's refusal
• 5 yrs and below : Substituted judgment by the parents

Table 4 Basic Elements of Information Provided by Health Professionals in Advance of Testing

-
- Information on the specific test being performed
 - Implications of a positive and negative result
 - Possibility that the test will not be informative
 - Options for risk estimation without genetic testing
 - Risk of passing a mutation to children
 - Technical accuracy of the test
 - Fees involved in testing and counseling
 - Risk of psychological distress
 - Risk of insurance or employer discrimination
 - Confidentiality issues
 - Options and limitations of medical surveillance and screening following testing
-

— J. Clinical Oncology 14:1732, 1996 —

IV. Informed Consent

1. Definition of Informed Consent

During the last two decades, virtually all medical and research codes of ethics have held that no-one may in principle be forced to undergo an intervention without first giving their consent. The principle of informed consent requires that medical intervention may only be carried out after the person concerned has given their free and informed consent to it. Individuals should therefore be able to freely give or withdraw their consent to any intervention. The most recent discussions of informed consent can be traced historically to two sources: the standards or medical practice driven by American case law, and the standards for research based on both the Nuremberg Code and the Declaration of Helsinki.

2. The Elements of Informed Consent

As described by Beachamp and Childress⁴⁾, the concept of informed consent is composed of the following four elements: 1) disclosure of information, 2) comprehension of information, 3) voluntary consent, and 4) competence to consent. Each of these four components should be considered as a necessary condition of valid informed consent.

3. Mature Minors Rule in Medicine

Some individuals may not be able to give full and valid consent to an intervention because of either their age (minors) or mental incapacity. Therefore, it is necessary to specify the conditions and the means of protection under which intervention may be carried out in such cases. In modern western culture, the "mature minors rule" is accepted in the field of medicine. The mature minors rule

Table 5 Ethical and Psychosocial Dilemmas due to the Special Nature of Genetic Information

-
- ◆ A serious gap between diagnosis and treatment
 - ◆ Information disclosure to relatives without the individual's consent
 - Conflict with the right to self-determination
 - Conflict with the right to privacy
 - Breach of confidentiality
 - ◆ Disclosure of individual information to institutional third parties
 - Infringement of the right to privacy
 - Stigmatization by genetic predisposition
 - Social discrimination
-

implies that a minor's consent should be regarded in accordance with the age and capacity for discernment of the child concerned. Thus, in certain situations that take account of the seriousness of intervention as well as the minor's age and ability to understand the consequences of the procedure, his or her opinion should increasingly carry more weight in the final decision. Briefly, the consent of a minor should be necessary, or at least sufficient for some interventions. Such ideas are consistent with Article 12 of the United Nations Convention on the Rights of the Child in 1989. Table 3 indicates provisional criteria of minors' competency based on presumed coordination with their age and capacity for understanding⁷⁾.

V. Basic Elements of Information Provided by Health Professionals in Advance of Testing

In theory, informed consent is accepted as an essential component of the doctor-patient relationship, but in general medical practice doctors frequently fail to communicate elements essential for informed decision-making by patients. In 1996, the American Society of Clinical Oncology issued a statement entitled "Genetic Testing for Cancer Susceptibility"¹⁾. In this statement, they emphasized a continued need for informed consent, and outlined basic elements of information that would be provided by physicians in advance of testing. As shown in Table 4, they listed eleven components for fair explanation of the proposed testing, including "information on the specific test being performed", "implications of a positive and negative result", "technical accuracy of the test", "risk of psychological distress", and "confidentiality issues." In addition to these components, it is indispensable to provide instruction that the patient may refuse the test at any time. Written documentation of consent is also required in addition to oral agreement.

VI. Ethical and Psychosocial Dilemmas evoked by the Special Nature of Genetic Information

Despite remarkable progress in genomic research, much remains unknown about the risks and benefits of genetic testing and effective interventions for genetic disorders. Due to the special nature of genetic information of individuals, genetic testing raises a number of ethical, legal, and psychosocial issues as indicated in Table 5. In most cases, such issues arise due to the conflict between genetic medical practice and ethical principles of autonomy, privacy and confidentiality: for example, disclosure of individual genetic information is one of the most common ethical problems appearing in genetic medicine. For the sake of respect for the patient's right to privacy, utmost effort should be taken to maintain confidentiality. However, the results of genetic testing and diagnosis in the individual may also indicate genetic risk in his/her children and relatives. Under these conditions, the physician may encourage the individual either to inform of the genetic risk to the relatives or to ask the relatives to seek genetic counseling. Whether it is permissible for the physician to disclose this information without consent of the person concerned if the individual refuses raise a quite serious ethical dilemma. In accordance with the recommendations of the "President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research" in 1983⁸⁾, the Committee on Assessing Genetic Risks⁹⁾ stated that the physician might disclose genetic risks without the individual's consent only when the following four conditions are met:

- (1) Attempts to elicit voluntary disclosure fail.
- (2) There is a high probability of irreversible harm that the disclosure will prevent.
- (3) There is no other reasonable way to avoid the harm.
- (4) The degree of infringement of the principle must be kept to a minimum necessary to avoid harm.

VII. Conclusions

In conclusion, we would like to suggest tentative provisions for overcoming difficulties in genetic medicine. The points vital for good practice in genetic medicine would be as follows:

- (1) Promotion of the procedure of informed consent in medical practice.
- (2) Respect for individual autonomy and integrity.
- (3) Provision of genetic counseling and other psychosocial support for the person concerned and his/her family.
- (4) Genetic education not only for the general public but also for health professionals.

We place a great deal of emphasis on the importance of genetic education. Genetic literacy is not only essential to exercise free and informed decision-making concerning personal and family health care but is also indispensable to avoid genetic reductionism and a "new eugenics."

References

- 1) American Society of Clinical Oncology: Statement of the American Society of Clinical Oncology: Genetic testing for cancer susceptibility. *J. Clinical Oncology*, 14: 1730-1736, 1996.
- 2) American Society of Human Genetics and American College of Medical Genetics: ASHG/ACMG Report: Points to consider: Ethical, legal, and psychosocial implications of genetic testing in children and adolescents. *Am. J. Hum. Genet.* 57: 1233-1241, 1995.
- 3) Andrews, LB, Fullarton, JE, Holtzman, NA, and Motulsky, AG (eds.): *Assessing genetic risks: Implications for health and social policy.* National Academy Press, Washington, D.C., 1994.
- 4) Beauchamp, TL & Childress, JF: *Principles of Biomedical Ethics.* Oxford Press, New York & Oxford, 1979.
- 5) Holtzman, NA & Watson, MS (eds.): *Promoting safe and effective genetic testing in the United States: Final report of the Task Force on Genetic Testing.* NIH-DOE (National Institute of Health-Department of Energy) Working Group on Ethical, Legal, and Social Implications on Human Genome Research, Washington, D.C., 1997.
- 6) Kessler, S: Psychosocial aspects of genetic counseling: analysis of a transcript. *Am. J. Med. Genet.* 8: 137-153, 1981.
- 7) Maruyama, E: Legal problems of genetic testing of children. *J. Medical Law* 15:15-22, 2000. (Japanese)
- 8) President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research: *Final report on studies of the ethical and legal and biomedical and behavioral research.* Washington, D.C., 1983.
- 9) Wexler, N: The Tiresias complex: Huntington's disease as a paradigm of testing for late-onset disorders. *FASEB Journal* 6: 2820-2825, 1992.

呼吸筋力低下患者でのproportional assist ventilation(PAV)を用いた胸郭elastance評価

分担研究者 大矢 寧

(国立精神・神経センター武蔵病院神経内科)

共同研究者 川井 充

(国立精神・神経センター武蔵病院神経内科)

要 旨

肺活量が低下した筋疾患患者でproportional assist ventilationを用いて、呼吸のelastance (コンプライアンスの逆数)を求める試みを報告する。Elastanceは筋短縮を生じやすいDuchenne型筋ジストロフィーでは、筋短縮が比較的的生じにくい酸性マルターゼ欠損症や筋強直性ジストロフィー(MyD)よりも高い傾向があった。坐位から臥位で肺活量が著明に低下する患者ではelastanceは上昇する傾向を認めた。本法によるelastanceは臨床的印象にも合致する有用な指標と考えた。

はじめに

筋萎縮に伴う呼吸機能低下についてproportional assist ventilation (PAV)1-2)を用いて胸郭コンプライアンスを評価し、病態解明に役立てる。

方 法

Proportional assist ventilation (PAV)は患者の吸気努力を吸気流速と吸気量を測定しながらサポート圧を制御する換気方式である。作った気道内陽圧による吸気流速の上昇に対してさらに陽圧を上げて行く制御方式であるために、患者固有のelastance, resistanceを越えた設定にした場合には吸気が終了せず、圧・流量が高すぎる状態が生じる(run-away現象)。この現象を利用して、BiPAP Vision (Respironics社製、フジ・アールシー)のPAV modeを用いて、assist 100%の設定で内圧上限20-25cmH₂Oに達しやすくなるVolume assist (VA; elastance), Flow assist (FA; resistance)を計測する。VA(cmH₂O/L)は正常者で通常15以下で、拘束性肺疾患では25程度(以上)とされ、BiPAP Visionでは最高58まで設定可能である。FA(cmH₂O/L/sec)は正常者で通常4程度、閉塞性肺疾患では12程度(以上)とされている。

対 象

人工呼吸器療法を行っている、肺活量(VC)1.0L以下の患者11名(9名は従圧式、2名は従量式)で、内訳は、

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD) 4名
(3名は側弯著明で、そのうちの1名は精神発達遅滞あり、気管切開、息溜め不可能)。
acid maltase deficiency(AMD; 糖原病Ⅱ型) 3名
(1名は気管切開・従量式)、
先天性ミオパチー(CM)(息溜め困難) 1名
筋強直性ジストロフィー(MyD) 3名
(息溜め困難、1名は従量式)。
また他に
VC 1.0L以下のNIPPV未施行MyD患者 2名
でも行った。
可能な限り再検し、経過を観察した。

結 果

座位または仰臥位でのVA(cmH₂O/L)はDMDでは22~38、AMDでは11~20程度、CMでは約23、MyDでは5~22、1名だけが38~58以上であった。

FA(cmH₂O/L/sec)は12以下で、多くの患者で4-5で、閉塞性障害は認めなかった。

肺活量が0.5L前後のMyD患者でのVAは、2名で6~22であったが、例外的な1名はVAが38~58以上で、58でも圧上昇が17cm H₂O程度で、不快感も訴えず、計測範囲を越えていた。このVAが著しく高い症例では、胸腰椎は骨棘形成が著明で後彎したまま可動性がなく、腹部は内臓脂肪が多く、胸郭の可動性は高度に制限されていた。また板状無気肺が両側下肺野にあったが、動脈血ガスでA-aDO₂開大はなかった。

座位で0.6LのVCが、臥位で0.3Lに低下するAMD患者1名では、VAが座位で13、臥位で17と変化した。この患者はその後、坐位のVAは上昇傾向で、1年後には臥位では補助呼吸の必要度が高まり、臥位での十分な計測は困難になった。またCMの1名でも坐位から臥位でVCは低下したが、VAは増加した。

坐位・臥位ともVC約0.2LのAMD患者1名は、坐位であっても前傾であるか、後方に寄りかかるかでVAが異なるなど、微妙な体位での変化が大きかった。

考 察

一呼吸ごとに変動する揺らぎがあるため、計測はおおよその数値に留まるが、通常の呼吸機能では評価できにくいコンプライアンスが評価できると考えた。

ここで得られた数値は呼吸のelastanceは、肺のelastanceと胸郭のelastanceとの総和で、DMDなどでの過去の文献例^{3,9)}と同等であった。過去の報告でもVCが1.0L以下に低下した症例は少数で、様々な低下の程度の、様々な神経筋疾患患者の数値を平均して、正常者よりもelastanceが高かったと報告されている⁹⁾。

過去の報告では、肺活量の低下とともに生じ得るmicroatelectasisが原因と想定されたが⁹⁾、今回の測定で

は、同程度の肺活量でも、elastanceの値は患者の個々の病態に応じて様々であった。肺病変はMyDの1例での板状無気肺以外には認められていず、主に胸郭のelastanceを反映していると考えた。

肺活量が低下した状態が一般に拘束性換気障害と呼ばれているが、間質性肺炎などの肺疾患とは異なり、神経筋疾患での肺活量低下は、呼吸筋力低下によると考えられる。しかし筋力低下のみでelastanceが正常か、elastanceが上昇しているのかは、陽圧換気でどの程度まで圧を上げる必要があるかに直結し、気胸を生じる危険性の程度にも関わる、臨床的に重要な指標である。

DMDとAMDでは、DMDの方が胸郭のelastanceは高い(complianceが低い)傾向であった。これはDMDでは筋短縮が生じやすく、AMDでは一般に生じにくいことと矛盾していず、臨床的な印象とも合致している。CMの1名も小胸筋などに筋短縮が生じていて、elastance高値と合っていた。筋力低下の程度以上に、筋短縮の程度は重要であると考えた。

MyDは一般にelastanceは低く、MyDでは進行しないと筋短縮は比較的生じにくいことに合致していた。しかし一部には胸椎可動性消失と腹部内臓脂肪増加に伴い、著明に高い患者がいることが示された。胸郭のelastanceは筋短縮の他に、脊椎などの骨病変や腹部の状態も関わっている。

最大強制吸気量(MIC)の測定には息溜めができる必要があるが、PAVによるelastance評価法では息溜めが出来ない患者でも行えた。今回の対象患者には息溜めできる患者が多くなかったため、最大強制吸気量との関係は今後の課題である。

また筋萎縮が強い患者では呼吸状態が体位によっても異なることが少なくないが、本評価法は体位変換に伴う変化を評価することもでき、elastanceの変化を伴っていた。体位による肺活量の変化はかなりの程度elastanceの変化で説明できるのではないかと考えた。

従圧式人工呼吸器に慣れている患者では容易に行えるが、患者の協力が必要である。圧・流量が高すぎて苦しい状態を一時的にもたらすために、呼吸筋力が甚だしく低下した状態では、様々な条件で反復して十分に検査を行うことは難しい場合があるのが制約である。

PAVで求めたVAは臨床的印象とも合う新しい有用な指標であり、今後の呼吸理学療法の効果判定などの経過観察にも役立つと考えた。

文 献

- 1) Younes M: Proportional assist ventilation, a new approach to ventilatory support. Theory. Am Rev Respir Dis 145: 114-120, 1992
- 2) Younes M: Proportional assist ventilation. Results of an initial clinical trial. Am Rev Respir Dis 145: 121-

129, 1992

- 3) Gibson GJ, Pride NB, Davis JN, Loh LC: Pulmonary mechanics in patients with respiratory muscle weakness. Am Rev Respir Dis 115: 389-395, 1977
- 4) Troyer AD, Borenstein S, Cordier R: Analysis of lung volume restriction in patients with respiratory muscle weakness. Thorax 35:603-610, 1980
- 5) Baydur A: Respiratory muscle strength and control of ventilation in patients with neuromuscular disease. Chest 91: 330-338, 1991
- 6) 大矢 寧、森田浩之、小川雅文、埜中征哉、辻野精一、川井 充：顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー類似の筋罹患分布を示した成人型酸性マルターゼ欠損症の1例. 臨床神経41:390-396, 2001

図1. 疾患ごとのVAの違い (座位)

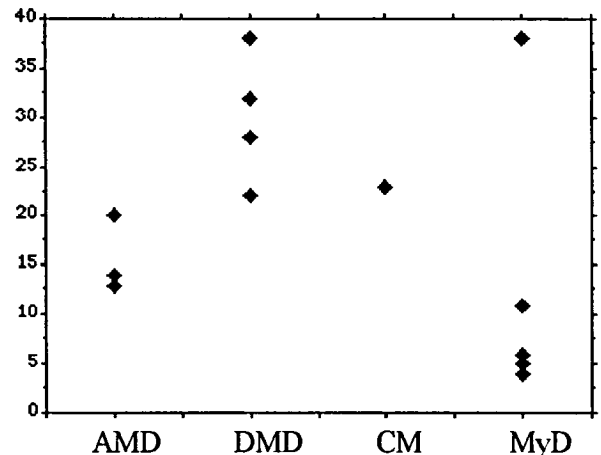
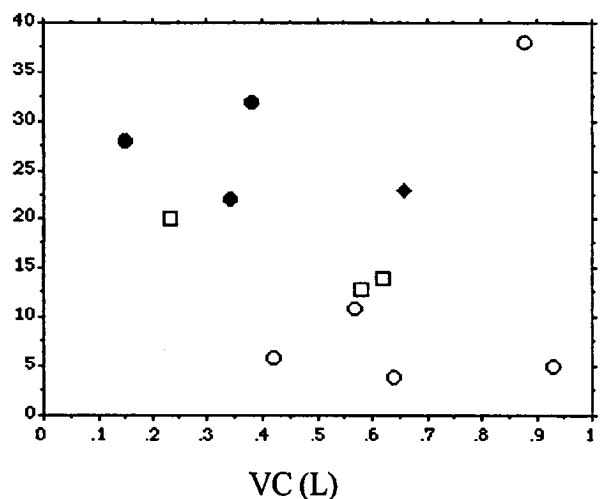


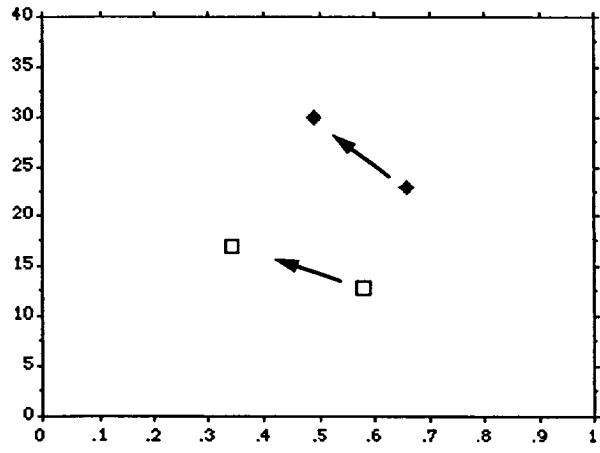
図2. 肺活量(VC)とVA (座位での計測)

VA



● DMD, □ AMD, ◆ CM, ○ MyD

図3. 座位から臥位へのVC、VAの変化



ミトコンドリア異常をともなった先天性 ネマリンミオパチーの1成人例

大矢 寧¹⁾ 瀬川 昌巳¹⁾ 小川 雅文¹⁾
後藤 雄一²⁾³⁾ 埜中 征哉²⁾ 川井 充¹⁾²⁾

要旨：ミトコンドリア異常をともなった先天性ネマリンミオパチーの42歳男性例を報告した。緩徐に筋力が低下しているが、杖歩行が可能であった。筋CTで腰部傍脊柱筋や腰方形筋は残存し、大腿（とくに後面）とヒラメ筋に萎縮と低吸収が強く、非典型的であった。筋生検で約10%の筋線維にネマリン小体、タイプ1線維萎縮やタイプ2B線維欠損の典型的なネマリンミオパチーの所見をみた。さらに赤色ぼろ線維が散見され、チトクロームc酸化酵素部分欠損、電顕で巨大ミトコンドリアがみられた。サザンブロットでミトコンドリアDNA多重欠失をみとめた。ミトコンドリア異常はネマリンミオパチーに直接関連した異常か、長期の病的過程による二次的な現象かは不明であった。

(臨床神経, 40: 452—458, 2000)

Key words: 先天性ネマリンミオパチー, チトクロームc酸化酵素部分欠損, 巨大ミトコンドリア, ミトコンドリアDNA多重欠失, 骨格筋CT

はじめに

ミトコンドリアミオパチーの診断に際して筋生検は、赤色ぼろ線維 (ragged-red fiber) やチトクロームc酸化酵素 (cytochrome c oxidase; CCO) 部分欠損などのミトコンドリア形態異常とミトコンドリアDNA変異を証明でき、重要な意義を持つ。ミトコンドリアミオパチーの診断は主に臨床像と筋生検組織所見を根拠に出発した。しかしその後、ミトコンドリアDNA変異の発見により、変異を診断根拠にでき、疾患分類も整理できることが徐々に判明してきた。上記のようなミトコンドリア異常の筋組織所見があってもミトコンドリアDNA多重欠失があるばあいがあり、ミトコンドリアDNA変異をひきおこす核DNA変異にもとづくと考えられるものが多いこともわかってきた¹⁾。

ミトコンドリアミオパチーの筋線維内には構造異常がしばしばみられる。cytoplasmic bodyは高頻度に見られるが、ネマリン小体を見ることは少ない。ネマリン小体とミトコンドリア異常の両方をみとめた症例報告には、これまでに先天性ネマリンミオパチーと考えられる症例²⁾³⁾と必ずしも先天性とは記載されていない症例⁴⁾⁵⁾がある。われわれは、先天性ミオパチーの臨床的特徴を示し、筋生検でもネマリンミオパチーに合致するが、筋組織にミトコンドリア異常もみとめた症例を経験し、ミトコンドリアミオパチー合併の可能性につ

いて検討した。

症 例

患者：42歳、男性。

主訴：歩行困難。

現病歴：処女歩行は1歳数カ月で正常であった。しかし幼少時、走るのが遅く、よく転んだ。小中学生時、運動は苦手で、体育の成績は常に5段階評価で1であった。腕立伏せもできなかった。16歳時、バイク事故で左下腿骨折後、ボディビルをおこなって筋力は多少ついて、腕立伏せも30回できるようになった。22歳頃から階段を昇るのに手すりが必要になった。その後は筋力トレーニングをすればするだけ筋力は低下した。大学卒業後は家業の手伝いをしてきた。

30歳、某病院にて診察や筋電図などから、筋ジストロフィーの類縁疾患と診断された。34歳、マニュアル車の運転で足の操作が困難になり、また物につかまって起立するようになった。40歳、オートマチック車でも運転は困難になり、階段昇降もまったくできなくなった。41歳頃より、眼輪筋力低下のために洗面や洗髪時に石鹸が目にしみるようになった。嚥下困難のため食事もおこなうようになった。42歳、感冒に罹患し寝込んだ後より、とくに下肢筋力が更に低下し、外出歩行が困難になり、当科を受診した。電動車椅子の導入が望ましいと考え、車種を検討した。複視はなかった。日常

¹⁾ 国立精神・神経センター武蔵病院神経内科〔〒187-8551 小平市小川東町4-1-1〕

²⁾ 国立精神・神経センター神経研究所微細構造研究部〔〒187-8502 小平市小川東町4-1-1〕

³⁾ 同 神経研究所疾病研究第二部〔〒187-8502 小平市小川東町4-1-1〕

(受付日2000年1月5日)

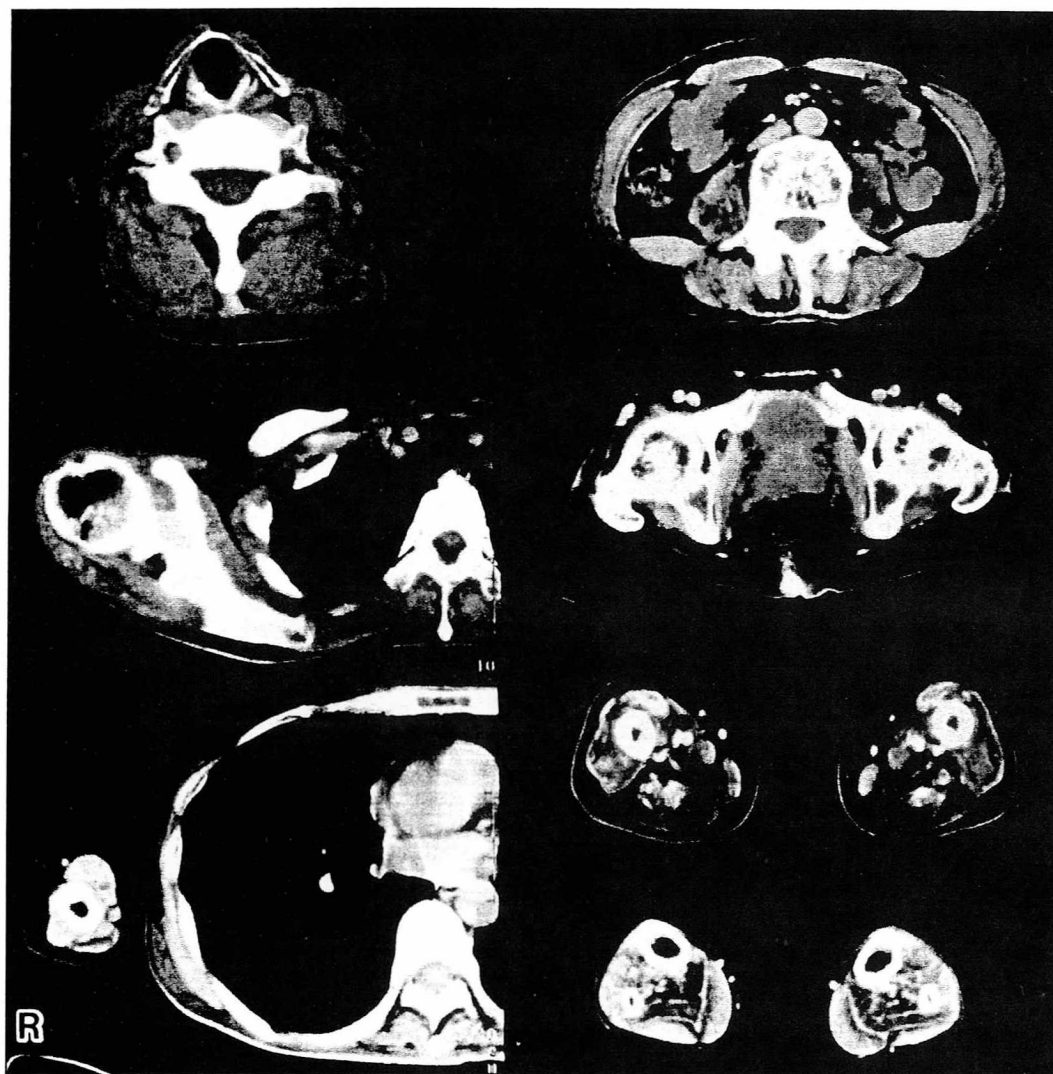


図1 骨格筋CT所見（頸部，肩峰，上腕中央，第3腰椎，骨盤，大腿中央，下腿中央の断面）
 上半身では筋量が少なく，腰部では腸腰筋は中等度に脂肪浸潤があるが，腰方形筋は良く，腰部傍脊柱筋や腹筋は比較的良く保たれている．殿部のスライス標準レベルよりも低位となったが，大殿筋は高度に脂肪に置換されている．大腿では高度に脂肪に置換されていて，大腿直筋や薄筋は相対的に残存している．下腿ではヒラメ筋に脂肪浸潤が高度にみられる．（上肢はスペースの都合上，一側を示す．）

生活上肢の不自由の自覚は少なかった。

家族歴：3歳下の妹も細面で起立困難があり，他院を受診し筋ジストロフィー類似の疾患と診断された，父母は健在で，血族婚なく，他の家族には神経筋疾患はなかった。

既往歴：他に特記事項はなかった。

現症：身長166cm，体重38kg．胸は平板で，腹式呼吸．知能は正常であった．眼瞼下垂なく，眼球運動は正常であった．顔は細面で，dysmorphic，咬筋の量は少なく，高く狭い高口蓋（high-arched and narrow palate）があった．睫毛徴候は陽性で，口輪筋も軽度に弱いが，口笛は吹けた．軟口蓋は拳上するが，鼻声で咽頭反射は低下し，舌の左右交互運動は遅かった．乾燥した固形物で嚥下困難をみとめた．全身に左右差なく筋萎縮があり，頸部前屈は徒手筋力テスト（MIT）

で2と低下，肩甲骨固定不良で，翼状肩甲があった．上腕・前腕筋力はMMT4で，握力は5～8kgであった．下肢筋力は近位MMT2，座位や臥位の診察では遠位3～4，Gowers徴候陽性で，肘と膝をロックして物につかまって起立し，立位で腰椎前弯は僅かであった．爪先立ち・踵立ち・片足立ちはできなかった（下腿三頭筋MMT2）．平地ならば杖一本をもちい，広基性で，股関節伸展位で両膝をロックし側方へ下肢を振り，ゆっくりと動揺性に歩行できた．四肢深部反射は減弱していたが，筋収縮はみとめられた．ミオトニアやBeever徴候なく，脊柱側弯なく，関節可動域制限はめだたなかった．感覚障害や起立性血圧低下，排尿障害はなかった．

検査所見：血算・凝固・血糖・血清・血液生化学・甲状腺機能・一般尿検査は，血清クレアチンキナーゼ78IU/L，ア

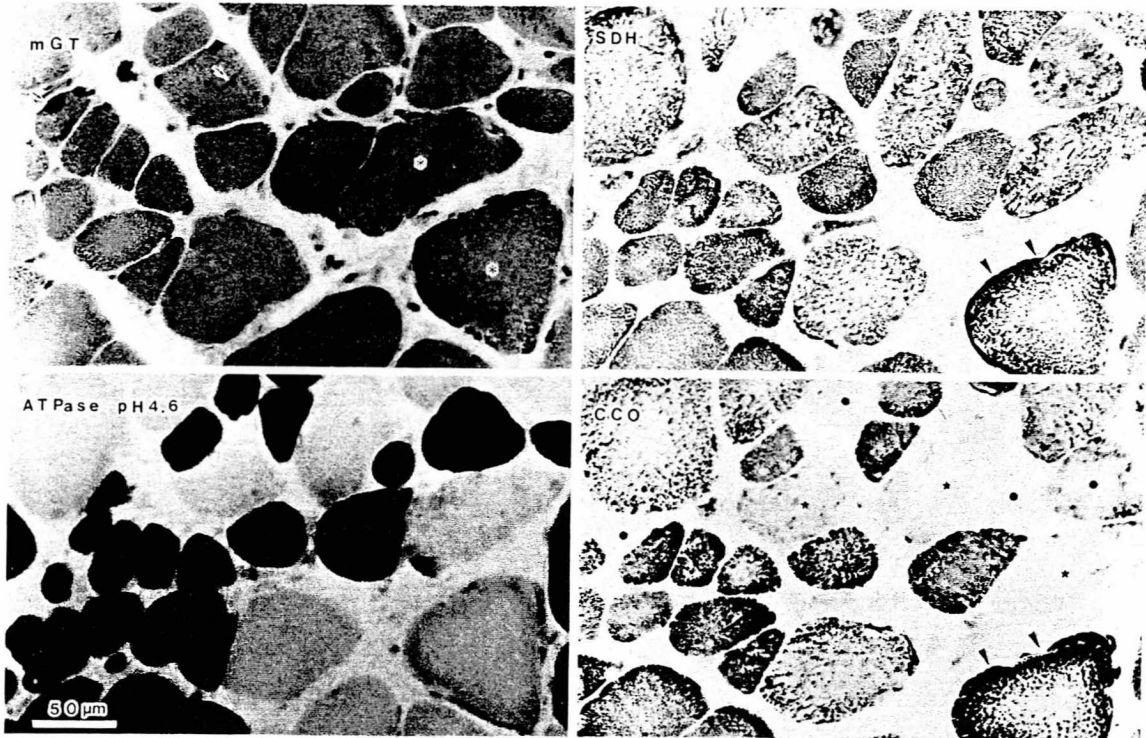


図2 上腕二頭筋生検組織化学所見

Gomori trichrome 変法 (mGT) で赤色ぼろ線維 (*) とネマリン小体 (矢印) をみとめる。ATPase 染色 pH4.6ではタイプ1線維萎縮, タイプ2B線維欠損をみとめ, タイプ2C線維はみられない。CCO 染色でも SDH 染色でも, 粗大顆粒を示す傾向がみられる。CCO 染色では SDH 染色と比較し, CCO 部分欠損線維はタイプ1線維萎縮のためタイプ2A線維にめだつたが, タイプ1線維にも (黒丸●) タイプ2A線維にも (星印★) みられる。SDH/CCO ともに高活性のタイプ2線維の赤色ぼろ線維も僅かにみとめられる (矢じり◀), ネマリン小体 (矢印) はタイプ1線維の他にタイプ2A線維にもみられるが, CCO 活性は欠損している線維が少なくない。

ルドラーゼ4.1, クレアチニン0.4mg/dLをふくめて, すべて正常範囲であった。心電図はII, III, aV_F, V₁誘導でR高電位以外は正常範囲で, 胸部X線写真に異常所見をみとめなかった。心エコーでは収縮能低下はみとめられなかった。呼吸機能では肺活量2.61L (予測値の68.5%), ピークフロー4.96L/sであった。血液ガス, 血中の乳酸・ピルビン酸は, 歩行などの運動負荷後にしらべたが, 正常範囲であった。髄液の乳酸・ピルビン酸測定はおこなえなかった。

骨格筋CTでは, 筋の断面積はびまん性に少なく, 上腕三頭筋, 腸腰筋, ヒラメ筋, 大腿直筋が軽度, 内側・外側・中間広筋は中等度に, 菱形筋や大殿筋・小殿筋, 大腿屈筋は高度に低吸収になっていた。大腿部に僅かに選択性がみられた。腰方形筋や腰部傍脊柱筋は比較的良く保たれ, 必ずしも近位優位の侵され方ではなかった (図1)。左右差はほとんどなかった。上腕二頭筋・背側骨間筋・前脛骨筋の針筋電図では, 随意収縮時に多相性電位や振幅の短い低電位の運動単位が多く, 早期動員がみとめられた。安静時に脱神経電位はみとめられなかった。頭部CT・脳MRIでは軽度の脳溝拡大のみで, 聴性脳幹反応や上肢体性感覚誘発電位は正常範囲であった。

上腕二頭筋生検では, 脂肪組織は増加し, 一部の筋束は脂

肪組織の中に島状に存在した。筋線維間の結合組織は軽度増加し, 筋線維は円形化し, 径の大小不同をみとめた。約10%の筋線維にネマリン小体があり, タイプ1線維萎縮, タイプ1線維優位 (約60%), タイプ2B線維欠損をみとめた。10μm切片でネマリン小体を有する筋線維は, 筋束により6~30%で局所的に多くみられ, タイプ1とタイプ2Aの比は約2:3であった。また赤色ぼろ線維(RRF)が約2%あり, 約10%の線維にCCO部分欠損がみとめられた。典型的な赤色ぼろ線維はほとんどタイプ2A線維にみられ, ほとんどがCCO欠損線維であったが, 僅かにCCO高活性の線維もあった。CCO欠損線維ではタイプ1とタイプ2Aの比率は約2:3であった。コハク酸脱水素酵素 (SDH) 染色では, SDH濃染の赤色ぼろ線維が多数みられ, 巨大なformazan顆粒を主に周辺部に局在させる線維が約30%にみられた。CCO染色でも粗大な陽性顆粒がみられた。ネマリン小体を有する筋線維の約25%はCCO活性が欠損ないし相対的に低下していた (図2)。酸フォスファターゼ活性は小径線維の一部に軽度が高かった。電顕的にはネマリン小体が確認され, 一部の筋線維の筋鞘膜下に縦断面で全サルコメアを占める巨大ミトコンドリアが整列していた (図3)。ミトコンドリアの格子状封入体は検索しえた範囲内ではみだせなかった。

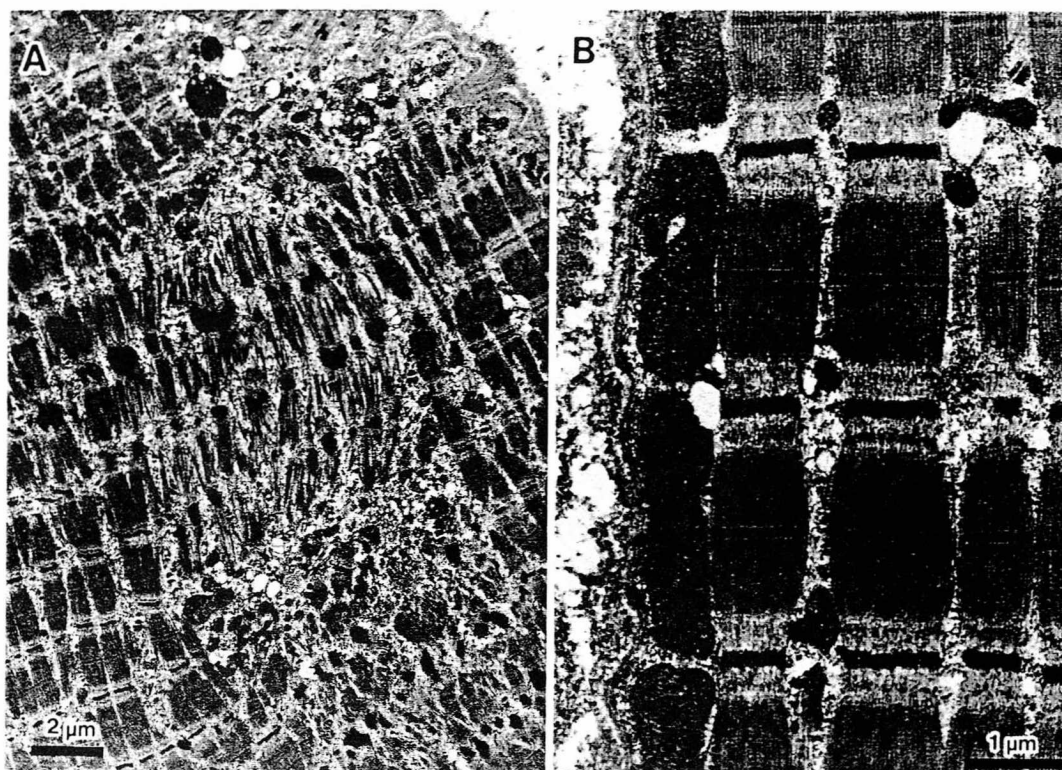


図3 筋生検電顕所見

(A) 典型的なネマリン小体をもとめる。(B) 全サルコメアを占める巨大なミトコンドリアが規則的に配列している。ミトコンドリア内に封入体はみられない。

筋組織から抽出したミトコンドリア DNA には、主要疾患にみられる点変異はなく、polymerase chain reaction (PCR) 法⁷⁾でも、制限酵素 *PvuII* で直線化し電気泳動してナイロン膜にプロットするサザンプロット (Southern blot)⁸⁾でも多重欠失をみとめた (図4)。

考 察

小児期からの筋力低下や顔面筋罹患、高口蓋などの先天性ミオパチーの臨床的特徴と、筋生検所見とを合わせ、ネマリンミオパチー (良性先天型) と診断した。妹は本例に近い症状があり、家族性と考えられるが、遺伝形式は不明である。小児期には非進行性の筋力低下があったが、成人前には訓練で筋力増進をみた点は興味深い。成人後は明らかに緩徐進行性に筋力は低下している。急速進行例に亢進するといわれている筋線維の酸フォスファターゼ活性⁹⁾は生検筋であり高くなかったことは、本例の緩徐進行性を反映している。

筋 CT での罹患筋分布は大腿部に萎縮・脂肪化が強く、腰部の傍脊柱筋などは比較的に残存していた。本例の下肢 CT 所見は大腿部では、おおよそ川井らの Duchenne 型 CT 所見分類¹⁰⁾ A3~A4 に相当する。Duchenne 型筋ジストロフィーや筋強直性ジストロフィーの歩行不能例の所見にあたる。一般に CT 低吸収は脂肪組織浸潤を示し、進行性の反映と考えられる¹¹⁾。先天性ミオパチーでは、筋ジストロフィーとは異

なり、筋 CT 所見の割に運動機能が良い傾向がある。結合組織増生が少ない分だけ筋容積が少なくても筋力が保たれることと関係が深いと考えられる。また本例がまだ平地歩行可能であることには、腰部の近位筋がかなり残存していることも寄与していると考えられる。

非先天型の成人発症ネマリンミオパチーでは腰部傍脊柱筋の脂肪化が報告され¹²⁾、本例の所見とはことなる。先天性ネマリンミオパチー12例 (うち成人例5例:21~25歳) では、下腿筋が大腿より侵される傾向があり、歩行可能例では大腿四頭筋、ヒラメ筋、後脛骨筋の CT 値が保たれ、下腿前面筋群と腓腹筋が侵されやすく、車椅子レベルでも内側・外側広筋、薄筋、後脛骨筋の CT 値は保たれていたという¹³⁾。50歳代に平地歩行が困難になり60歳代で外出不能になった先天性ネマリンミオパチー症例の CT は、大腿所見は本例より軽い。下腿、とくにヒラメ筋に低吸収がめだち、腰部傍脊柱筋の萎縮は僅かであった¹⁴⁾。先天性ネマリンミオパチーでも症例により差がある。ミトコンドリア形態異常を合併したばあいは、下腿筋力低下から自覚した35歳例²⁾や Charcot-Marie-Tooth 病がうたがわれた小児例⁶⁾があるが、筋 CT 所見の記載は乏しい。

筋生検でミトコンドリアの形態異常、DNA 多重欠失がみとめられたが、外眼筋麻痺もなく、ミトコンドリア脳筋症の臨床像はみられなかった。かつて PCR で多重欠失が報告された筋強直性ジストロフィーではそれらは意義がないものと

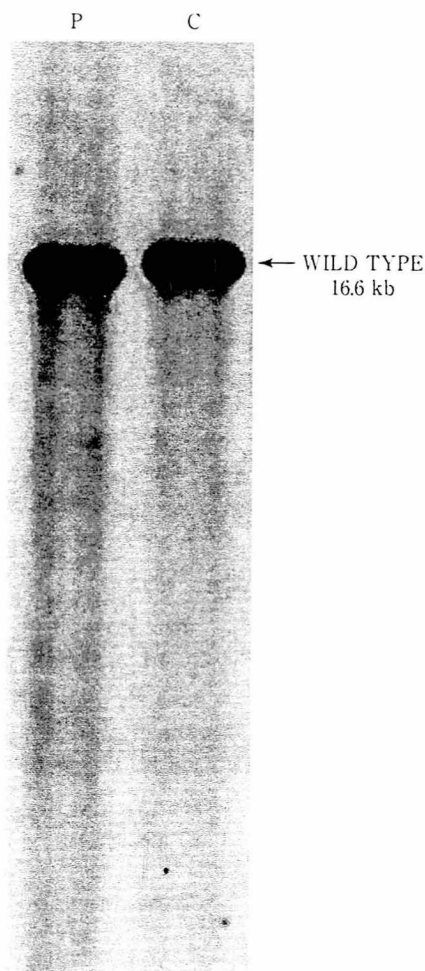


図4 ミトコンドリア DNA のサザンプロット結果
本例 (P) では正常コントロール (C) に比較し16.6kb の正常バンドの下方に多数のバンドがみられ、多重欠失が確認できる。

された^{15,16)}。封入体筋炎^{17,18)}でも多重欠失は報告されているが、ほとんど PCR でしか検出できない程度であり、この程度の欠失量が病因として意義がありえるかどうか定かではない。しかし本例ではミトコンドリア DNA 多重欠失は PCR のみならず、サザンプロットでも証明され、二次的現象であると単純には結論できなかった。

赤色ほろ線維や CCO 部分欠損などのミトコンドリア異常はふつうタイプ1線維に多いとされるが、本例ではタイプ1線維萎縮とタイプ2B線維欠損もあり、タイプ2A線維にめだった。ネマリンミオパチーでは CCO 部分欠損が時にみとめられるが、典型的な赤色ほろ線維は少ない¹⁹⁾。ネマリン小体とミトコンドリア形態異常が共存した報告には、小径線維の一部が赤色ほろ線維様であった例²⁾や、タイプ2線維のみでも典型的な赤色ほろ線維があった例⁶⁾がある。

CCO 部分欠損線維が多数みられるミトコンドリア病には慢性進行性外眼筋麻痺、赤色ほろ線維をともなうミオクロスフェンカン症候群 (MERRF)、卒中様発作をともなうミ

トコンドリア脳筋症 (MELAS) がある。その電顕所見はミトコンドリアの増加と増大、クリステの増殖、ミトコンドリア内の封入体であり、ミトコンドリア異常をともなうネマリンミオパチーの報告例でも類似の封入体が記載されている³¹⁻³³⁾。megaconial ともいわれた巨大ミトコンドリアが長軸方向に規則的に配列している所見は、特殊な先天性筋ジストロフィー²⁰⁾やセレン欠乏例での記載²¹⁾がある。

本例では RRF だけでなく、巨大ミトコンドリア、CCO 部分欠損、ミトコンドリア DNA 多重欠失があり、ネマリンと CCO 部分欠損の共存は少なくなく、ミトコンドリア異常はネマリンミオパチーと一元的に関連している可能性、ネマリンと RRF をみとめる先天性ミオパチーという概念が成立する可能性もある。ネマリンミオパチーではネブリン遺伝子変異^{22,23)}、アクチン遺伝子変異²⁴⁾、 α トロポミオシン変異²⁵⁾などが報告され、原因は多様である。分子生物学的解析が進めばネマリンミオパチーの本態へのミトコンドリア異常の関与が明らかになるであろう。

本症例研究の一部は厚生省精神・神経疾患研究委託費 (11指-1) によっておこなわれた。

文 献

- 1) Servidei S, Zeviani M, Manfredi G, et al: Dominantly inherited mitochondrial myopathy with multiple deletions of mitochondrial DNA: clinical, morphologic, and biochemical studies. *Neurology* 41: 1053-1059, 1991
- 2) Fukunaga H, Osame M, Igata A: A case of nemaline myopathy with ophthalmoplegia and mitochondrial abnormalities. *J Neurol Sci* 46: 169-177, 1980
- 3) 田中 司, 吉本雅昭, 白井清夫ら: 異常ミトコンドリアを伴った nemaline myopathy の1例. *脳と発達* 16: 476-480, 1984
- 4) Kornfeld M: Mixed nemaline-mitochondrial "myopathy". *Acta Neuropathol* 51: 185-189, 1980
- 5) 北川泰久, 石原伝幸, 古賀靖敏ら: ネマリン小体を伴い cytochrome c oxidase の部分欠損を認めたミトコンドリアミオパチーの1例. *臨床神経* 28: 388-395, 1988
- 6) Pourmand R, Azzarelli B: Adult-onset of nemaline myopathy, associated with cores and abnormal mitochondria. *Muscle Nerve* 17: 1218-1220, 1994
- 7) Goto Y, Nishino I, Horai S, et al: Detection of DNA fragments encompassing the deletion junction of mitochondrial genome. *Biochem Biophys Res Commun* 222: 215-219, 1996
- 8) Nishizuka S, Tamura G, Goto Y, et al: Tissue-specific involvement of multiple mitochondrial DNA deletions in familial mitochondrial myopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 247: 24-27, 1998
- 9) Nonaka I, Ishiura S, Arahata K, et al: Progression in nemaline myopathy. *Acta Neuropathol* 78: 484-491, 1989
- 10) 川井 充, 国本雅也, 本吉慶史ら: Duchenne 型筋ジス

- トロフィー症の骨格筋CT所見とこれにもとづく病期分類. 臨床神経 25:578-590. 1985
- 11) 清水 潤, 松村喜一郎, 野口博史: 骨格筋の高度の脂肪化をきたした先天性重症型ネマリンミオパチーの長期生存例. 臨床神経 30:1123-1127. 1990
 - 12) 丸山哲弘, 羽生憲直, 丸山恵子ら: 成人発症型ネマリンミオパチー2症例の臨床的, 筋病理学的検討. 臨床神経 30:738-744. 1990
 - 13) Wallgren-Pettersson C, Kivisaari L, Jääskeläinen J, et al: Ultrasonography, CT, and MRI of muscles in congenital nemaline myopathy. *Pediatr Neurol* 6: 20-28. 1990
 - 14) 荒井啓行, 岡本幸市, 金井裕子ら: 高齢で証明されたネマリンミオパチーの1例. 臨床神経 27:1423-1429. 1987
 - 15) Thyagarajan D, Byrne E, Noer S, et al: Significance of mitochondrial DNA deletions in myotonic dystrophy. *Acta Neurol Scand* 87: 32-36. 1993
 - 16) Vita G, Toscano A, Prella A, et al: Muscle mitochondria investigation in myotonic dystrophy. *Eur Neurol* 33: 423-427. 1993
 - 17) Oldfors A, Moslemi AR, Fyhr IM, et al: Mitochondrial DNA deletions in muscle fibers in inclusion body myositis. *J Neuropathol Exp Neurol* 54: 581-587. 1995
 - 18) Santorelli FM, Sciacco M, Tanji K, et al: Multiple mitochondrial DNA deletions in sporadic inclusion body myositis: a study of 56 patients. *Ann Neurol* 39: 789-795. 1996
 - 19) Yamamoto M, Koga Y, Ohtaki E, et al: Focal cytochrome c oxidase deficiency in various neuromuscular diseases. *J Neurol Sci* 91: 207-213. 1989
 - 20) Nishino I, Kobayashi O, Goto Y, et al: A new congenital muscular dystrophy with mitochondrial structural abnormalities. *Muscle Nerve* 21: 40-47. 1998
 - 21) Osaki Y, Nishino I, Murakami N, et al: Mitochondrial abnormalities in selenium-deficient myopathy. *Muscle Nerve* 21: 637-639. 1998
 - 22) Pelin K, Hilpela P, Donner K, et al: Mutations in the nebulin gene associated with autosomal recessive nemaline myopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 2305-2310. 1999
 - 23) Imoto C, Kimura S, Kawai M, et al: Nebulin is normally expressed in nemaline myopathy. *Acta Neuropathol (Berl)* 97: 433-436. 1999
 - 24) Nowak KJ, Wattanasirichaigoon D, Goebel III, et al: Mutations in the skeletal muscle alpha-actin gene in patients with actin myopathy and nemaline myopathy. *Nat Genet* 23: 208-212. 1999
 - 25) Laing NG, Wilton SD, Akkari PA, et al: A mutation in the alpha tropomyosin gene TPM 3 associated with autosomal dominant nemaline myopathy. *Nat Genet* 9: 75-79. 1995 (Published erratum appeared in *Nat Genet* 10: 249. 1995)

Abstract

Congenital nemaline myopathy with mitochondrial abnormalities. An adult case report

Yasushi Oya, M.D.¹, Masami Segawa, M.D.¹, Masafumi Ogawa, M.D.¹, Yu-ichi Goto, M.D.^{2,3},
Ikuya Nonaka, M.D.² and Mitsuru Kawai, M.D.^{1,2}.

Department of Neurology, National Center Hospital for Mental, Nervous, and Muscular Disorders¹,
and Departments of Ultrastructural Research² and Mental Retardation & Birth Defect Research³,
National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP).

We report a 42-year-old male suffering from congenital nemaline myopathy accompanied with mitochondrial abnormalities in his muscle biopsy. He had a dysmorphic face with a high-arched and narrow palate and slowly progressive generalized muscle weakness. He was still able to walk with a cane. CT showed symmetrical muscle atrophy and low densities in the thigh muscles, especially in the posterior compartment, and in the soleus muscles. Preferential posterior thigh involvement was unusual in congenital nemaline myopathy. The lumbar quadratus and paravertebral muscles were relatively well preserved; these muscles were reported to be severely involved in adult-onset nemaline myopathy patients. Muscle biopsy findings were consistent with nemaline myopathy; nemaline rods in approximately 10% of fibers, type 1 fiber atrophy, and type 2B fiber deficiency. In addition, ragged-red fibers were scattered and focal cytochrome c oxidase (CCO) deficiency was present. Formazan granules were large on succinate dehydrogenase stain. Many fibers with nemaline rods showed focal CCO deficiency. On electron microscopy, large (megaconial) mitochondria were lined regularly between Z lines. PCR and Southern blot analysis of muscle mitochondrial DNA revealed multiple deletions. It remains to be clarified whether mitochondrial abnormalities are primarily related to nemaline myopathy or secondarily induced phenomenon after a long-standing disease process.

(Clin Neurol, 40: 452—458, 2000)

Key words : congenital nemaline myopathy, focal cytochrome c oxidase deficiency, megaconial mitochondria,
mitochondrial DNA multiple deletions, muscle CT

筋強直性ジストロフィーの眼瞼下垂に対する 二重まぶた用メイクアップの有用性

大矢 寧 吉田ヒデ子* 竹嶋 光代* 當山 潤
重藤 寛史 小川 雅文 川井 充

要旨：眼瞼下垂は筋強直性ジストロフィー (MyD) の眼合併症の一つであり、高度になるばあいがある。MyD 患者 2 例で眼瞼下垂に対し二重まぶた用化粧品をもちいた。高度の眼瞼下垂のため前方視が困難で、頸部後屈の必要があった59歳男性で視野が改善した。中等度の眼瞼下垂を呈した54歳男性でも有用であった。適切に使用すれば瞬きもでき、角膜びらんや皮疹も生じなかった。二重まぶた用化粧品の使用は簡便で可逆的であり、睡眠中の兎眼の危険もなく、眼瞼挙筋や前頭筋の機能が残存していなくとも有効である。MyD 患者での複視をとまわらない眼瞼下垂では、眼瞼下垂の治療に眼瞼挙手術よりも利点がありうる。

(臨床神経, 40: 483—486, 2000)

Key words: 筋強直性ジストロフィー, 眼瞼下垂, 二重瞼 (ふたえまぶた) 用化粧品, 兎眼

はじめに

ほとんどの筋強直性ジストロフィー (MyD) 患者では眼瞼下垂がみられ、高度の眼瞼下垂では日常生活に大きな支障を来すばあいがある¹⁾。眼瞼下垂に眼瞼挙手術もあるが²⁾、侵襲的、非可逆的で、麻酔中の合併症や兎眼の危険もあり、症状の進行にともない有効性は減る。われわれは、眼瞼下垂を呈した MyD 患者 2 例に、化粧品である二重まぶた用メイクアップによる眼瞼挙を試み、効果や副作用を検討した。

対 象

症例 1：電動車椅子使用している59歳男性で、高度の眼瞼下垂を呈した。48歳時にある大学病院で白内障の手術を受けた時、すでに眼瞼下垂は著明であったが、閉眼不全になる危険などが考慮され眼瞼挙手術はなされなかった。51歳頃は手で上眼瞼を持ち上げて見ていたが、その後、上肢筋力も低下し、しだいに挙上できなくなった。眼瞼下垂のため、頸部を後屈させ眼球下転にて下方の視野が確保されていた。

症例 2：屋内では手動車椅子でも脚で移動できる54歳男性で、中等度の眼瞼下垂を呈した。48歳頃から階段が昇れなくなったが、その後50歳頃から瞼が重くなって、前方が見えにくく、テレビを見るときに支障があるようになった。目がかすむと訴えるが、上眼瞼の他動による挙上でこの訴えは消失した。下方視になる食事や読書には不自由は少なかった。

両例とも歩行不能で、車椅子への移乗などに介助・監視を要した。眼球は正位で、複視はなかった。前額のしわ寄せはできなかった。胸鎖乳突筋や側頭筋はいちじるしく萎縮し、頸部前屈も後屈も MMT 2 で、構音・嚥下障害もみられた。手指はほとんど屈曲できないが、ミオトニア現象はみられた。針筋電図でも myotonic discharge が記録された。努力性肺活量は症例 1 で 1.80L (予測値の 54%)、症例 2 で 1.69L (47%) と低下していた。患者の同意のもとで解析された白血球 DMPK の CTG リピート数は EcoR I と Bgl I によるサザンロットで症例 1 は約 600 回、症例 2 は約 1400 回と延長しているヘテロ接合体であった (正常は 30 回以内)。

方 法

使用した二重まぶた用化粧品 (商品名：オペラアイプチ N, Eye Putti[®]) は、天然ゴムラテックスにエデト酸塩 (変質防止剤) やパラベン paraben (防腐剤) が添加されている市販の化粧品である。患者の同意をえて使用し、前後の視野、日常生活上の変化を検討した。副作用の有無をみるため角膜および眼瞼を観察した。またテープによる眼瞼挙上と効果を比較した。使用に際して、眼瞼皮膚の脂分の拭き取り、眼瞼への塗布、プッシャーによる押さえつけによる挙上が必要で、中止に際して、水に濡れた綿で押さえて拭き取る必要があるが、対象患者では上肢筋力低下もあり、いずれも看護者がおこなう必要があった。

国立精神・神経センター武蔵病院神経内科〔〒187-8551 小平市小川東町 4-1-1〕

*看護部

(受付日 2000 年 2 月 9 日)



図1 症例1 (左), 症例2 (右)の眼瞼下垂(下段)と二重まぶた用メイクアップ使用中の状態(上段). 下段:眼瞼下垂のため一重まぶたになっていて, 頸部の後屈がみられた. 上段:二重まぶた用メイクアップ使用中は頸部後屈なく, 前方から瞳孔も見えるようになった. 眼裂は症例1では1 mm 以下から約4.5mm, 症例2では約3 mm から約5 mm になっている.

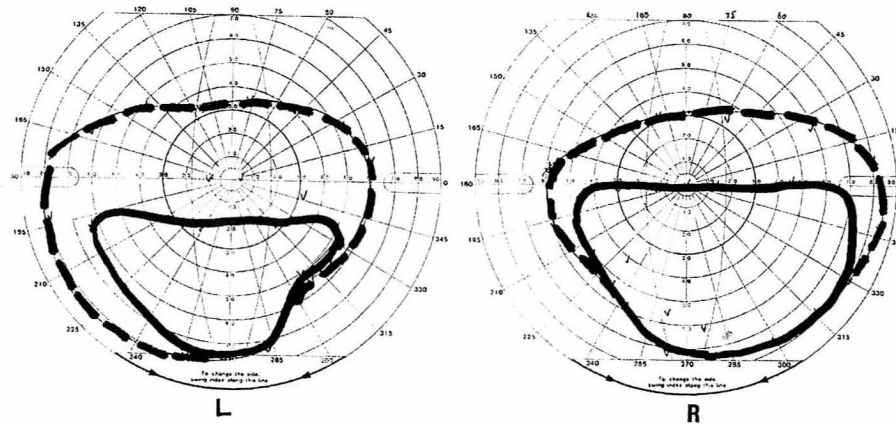


図2 症例1の使用前(実線)と使用中(破線)の視野の比較. ゴールドマン視野計で, 明度4で64mm²の指標を使用した. 内側の実線が使用前で, 下方の視野がかなり確保されていたが, 使用中には外側の破線まで, 水平面から上方にも広がった. 通常は上方の視野検査は眼瞼を挙上しておこなうが, ここでは眼瞼下垂の程度をみるために二重瞼用化粧品の有無のみでおこなった.

結果

2例で十分な眼瞼挙上が可能で, 前方から瞳孔が見えるようにできた(図1). とくに症例1では自動静的視野計とゴールドマン動的視野計で視野は水平やや上方まで見えるようにでき(図2), 前方視に頸部後屈の必要がなくなったため, 作業療法にも集中できるようになり, 電動車椅子の運転中に障害物をよける能力も向上した. 「まるで世界が変わったようだ」「これがないと生活できない」との感想がきかれ, ほとんど毎日, 半年以上にわたり継続使用している. 症例2では外出時のみ使用している. 両例ともに適切に使用すれば閉眼や瞬きは可能であった. 症例1で長期使用しても眼科的に

角膜や眼瞼に異常を生じなかったが, 眼裂が大きいと遠方への外出で終日使用して軽度の眼痛が生じたことがあり, 通常は眼裂約4 mmの挙上に留めた. テープによる挙上にくらべ, 違和感がなく長時間使用できた.

考察

MyDで眼瞼下垂が自覚症状として問題になる頻度は高くないが, ほとんどの患者にみられる¹⁾. 今回報告例では著明であり, 高度の眼瞼下垂では一重まぶたになっていた. 文献的にもテレビを見る際にマッチ棒で開眼を保持していたという54歳男性のMyD患者の記載があり¹⁾, 高度の眼瞼下垂はまれであるが, MyDで生じる.

眼瞼挙上術は眼咽頭型筋ジストロフィーでの報告では全身麻酔下におこなわれた²⁾。MyDでは換気障害などにより全身麻酔は合併症の危険がある¹⁾。局所麻酔であっても術前に鎮静剤がふつう投与される。眼瞼挙上術は、眼瞼挙筋を短縮する眼瞼挙筋短縮術や上眼瞼を前頭筋に連結する前頭筋吊り上げ術が単独ないし組合せでおこなわれるが、その必要条件は、前者はある程度の眼瞼挙筋機能の残存、後者は前頭筋の残存である³⁾。MyDでは疾患の進行にともない両筋の機能は低下するため、手術療法には限界があり、時間経過で効果は減弱しうる。とくにMyDでは閉眼も開眼も筋力低下を来し、さらに瞬目も少なく⁶⁾、しばしば睡眠中も開眼し、兎眼の危険が生じる。眼瞼挙上術は過度の挙上では兎眼の危険があり、再手術が必要なばあいがあり²⁾、手術療法は眼瞼下垂と兎眼との兼ね合いが難しい。逆に筋疾患での兎眼に対する手術療法の報告もあるが、この手術では眼瞼下垂は増悪する⁷⁾。

手術にくらべ、二重まぶた用メイクアップによる挙上は、不要時にすぐに取り外すことができ、睡眠中の兎眼が生ずる危険はない。実際、適切に使用すれば、副作用もなかった。さらに今回の2例のように眼瞼挙筋・前頭筋の機能が残存していないばあいにも効果がある。

適応は眼瞼挙上術と同様で、複視の自覚症状がなく、眼瞼下垂が強いばあいであり、MyDや眼咽頭型筋ジストロフィーがある。MyDには外眼筋罹患はあり、斜視を呈する患者は少なくなく、外眼筋に萎縮がみとめられるが、複視を訴える患者はまれである¹⁾。慢性進行性外眼筋麻痺や重症筋無力症などで複視のあるばあいには利き目側の挙上を試みるのは有用であろうが、両眼使用は有用でない。IV型（フィンランド型）家族性アミロイドーシスの眼瞼下垂様の眼瞼部皮膚弛緩⁸⁾でも有用な可能性がある。ただし眼瞼部に浮腫があるばあいには十分な挙上が容易ではないことがある。なお眼咽頭型筋ジストロフィーなどでは眼瞼挙上用に特製の眼鏡を使用する方法も知られているが、今回は比較検討しなかった。

MyDの眼瞼下垂に二重まぶた用メイクアップは有効で、患者のQOLの向上に役立った。

謝辞：視野検査をおこなっていただいた国立東京災害医療センター眼科中野直樹先生に深謝します。

本研究は厚生省平成11年度「筋ジストロフィーの患者のケアシステムに関する総合的研究」(筋ジス研究福永班)の補助によるものである。

文 献

- 1) Harper PS: Myotonic dystrophy. 2nd edition. WB Saunders Co., London, 1989, p384
- 2) Rodrigue D, Molgat YM: Surgical correction of blepharoptosis in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 7 (Suppl 1): S82-84, 1997
- 3) Molgat YM, Rodrigue D: Correction of blepharoptosis in oculopharyngeal muscular dystrophy: review of 91 cases. *Can J Ophthalmol* 28: 11-14, 1993
- 4) Mathieu J, Allard P, Gobeil G, et al: Anesthetic and surgical complications in 219 cases of myotonic dystrophy. *Neurology* 49: 1646-1650, 1997
- 5) Newell FW: *Ophthalmology. Principles and concepts*. 6th edition, CV Mosby Co, St. Louis, USA, 1986, p609
- 6) 中山貴博, 岡野真道, 斎藤祐子ら: 筋強直性ジストロフィー患者の瞬目は少ない. *臨床神経* 38: 945-947, 1998
- 7) Sansone V, Boynton J, Palenski C: Use of gold weights to correct lagophthalmos in neuromuscular disease. *Neurology* 48: 1500-1503, 1997
- 8) 砂田芳秀, 清水輝夫, 萬年 徹ら: 家族性アミロイドポリニューロパチー IV 型 (フィンランド型) 本邦第一家系の報告. *臨床神経* 32: 826-833, 1992

有痛性一側性女性化乳房を呈した筋強直性ジストロフィーの1例

大矢 寧 重藤 寛史 小川 雅文 川井 充

要旨：筋強直性ジストロフィー (MyD) の54歳男性患者が一側性有痛性女性化乳房を呈した。糖尿病の悪化が先行し、前値より黄体化ホルモン (LH) はやや上昇、卵胞刺激ホルモン (FSH) は低下して、性腺機能低下が変動した。筋萎縮が著明で tamoxifen 10mg/日の内服で疼痛は軽快し、乳腺も縮小した。有痛性女性化乳房は MyD の内分泌障害の一つと考えた。

(臨床神経, 40:1047-1049, 2000)

Key words: 筋強直性ジストロフィー, 女性化乳房, 性腺機能低下症, タモキシフェン

はじめに

筋強直性ジストロフィー (MyD) は骨格筋以外に内分泌系もふくめた多系統を障害し、男性患者では精巣機能低下も知られている。有痛性女性化乳房を呈した MyD の症例を経験し、MyD の性腺機能低下状態の変動による一合併症と考え、報告する。

症 例

患者：54歳、男性。

主訴：急に発症し、持続した左乳腺部痛。

家族歴：二児の父。MyD の二児以外に筋疾患患者なし。

既往歴：特記事項なし。

現病歴：40歳、腰痛で某大学を紹介受診し、把握ミオトニアなどを指摘され、筋電図検査などから MyD と糖尿病を診断された。その後、走れなくなった。44歳、経口血糖降下剤を処方されたが、通院を自己中止した。45歳頃に鼻にかかる声になり、48歳、階段が昇れなくなり、他院を受診した。糖尿病の悪化もみとめ、食事制限と血糖降下剤が再処方された。49歳より嘔まずに丸呑みで、食事中に窒息しかけることが多くなり、51歳より移動に車椅子を使用した。2年前に療養入院、正確な食事療法により低血糖をおこし、血糖降下剤を中止した。当時、血清 LH 4.4 IU/L 正常 (1.8-5.2) だが、FSH は 11 IU/L (2.9-8.2) と高かった。その後、空腹時血糖 80 台、HbA_{1c} 6.0% 台だったが、食事は不変でも 3 カ月前から空腹時血糖 102-111、HbA_{1c} 7.0%、尿糖 11g/日と悪化し、2 カ月前に血糖降下剤 glibenclamide 1.25mg を再開した。他の薬物使用はなかった。早朝尿検査でしばしば精子混入をみとめた。ある日の入浴時に左乳腺部腫瘤を自覚し、更に服がこすれると痛みを生じるようになった。

現症：左乳腺組織は 1 cm 大に触れ、圧痛と皮膚軽度発赤があったが、皮膚のたるみや乳汁分泌はなかった。右乳腺はほとんど触れず、圧痛もなかった。精巣に腫瘤なく、萎縮はごく僅かだった。前額にしわ寄せできず、眼瞼下垂があり、瞳孔・眼球運動は正常で、胸鎖乳突筋や側頭筋・咬筋はいちじるしく萎縮し、口唇音は不明確で、舌運動不良と嚥下障害があった。頸部前屈・後屈 MMT 2、肘屈曲と股関節屈曲・内転・外転は MMT 4、膝屈曲 MMT 3、他は MMT 2、手指はほとんど屈曲不能だが、母指球に叩打ミオトニアをみとめた。大腿屈筋短縮による両膝伸展制限が著明で、車椅子に座り歩いた。四肢腱反射は消失、感覚障害はなかった。

検査：血液検査異常は血清 creatine kinase 50 IU/L, creatinine 0.4mg/dL 低値で、甲状腺機能正常、HbA_{1c} は 6.4% に改善していた。75g 経口糖負荷試験でインスリン分泌は少く (insulinogenic index 1.14)、3 時間後も血糖は上昇した (244 mg/dL)。心電図は心房粗動で、努力性肺活量は 1.69L (47%) と低かった。筋 CT で腸腰筋は保たれ、肩甲挙筋・肩甲下筋・腰方形筋・右上腕三頭筋は残存したが、他筋の萎縮は著明だった。CT で上部食道拡張と胆石、腹腔内脂肪増加、膝萎縮がみられ、副腎に著変なく、頭部 CT は頭蓋骨肥厚、脳室・脳溝の軽度拡大をみとめた。脳 MRI で T₂強調画像島回・側頭極の皮質下白質高信号をみとめ、下垂体に異常なかった。WAIS-R は VIQ 94, PIQ 90、高音域の聴力低下、軽度の水晶体混濁をみとめた。承諾をえて検査した白血球 DMPK 遺伝子 CTG 反復長は、約 1,400 回に延長したヘテロ接合体だった。CT で左乳腺が腫大し、右乳腺も僅かに腫脹していた (図)。尿中 hCG (妊娠反応) 陰性、早朝採血で血清 LH 5.3, FSH 9.3 (IU/L), 総テストステロン (T) 497ng/dL (正常: 250-1,100), free T 13.9pg/mL (14-40), estradiol (E₂) 42.4 pg/mL (20-59), DHEA-S 748ng/mL (620-2820), hCG < 0.4 IU/L, prolactin 2.2ng/mL, 尿中 17-KS 5.5mg/日 (4.6-18.0) は正常範囲だった。

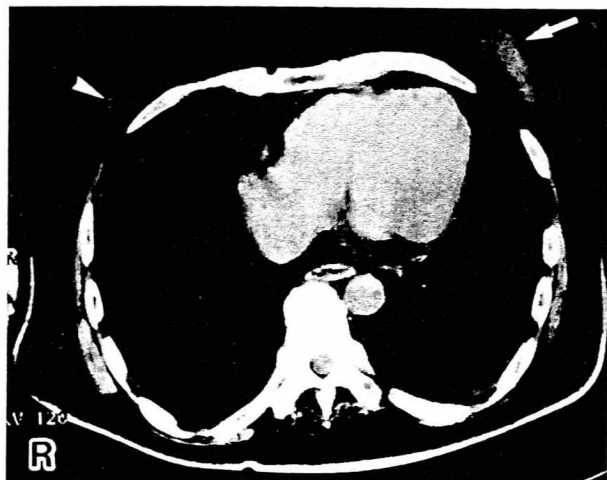


図 胸部CTでの女性化乳房。左乳腺組織は腫大し(白矢印)、右乳腺組織の軽度腫大も描出された(白矢じり)。

経過：皮膚の軽度発赤は約1週間で消退した。マンモグラフィも悪性所見はなく、女性化乳房と診断した。薬剤性の可能性もうたがって glibenclamide を減量・中止したが、疼痛・腫脹は不変で、発症1カ月後も左乳腺部は触れても痛い。ため、estrogen 受容体競合阻害薬 tamoxifen 10mg/日を処方した。内服約3週間まで疼痛は持続したが4週間で疼痛は軽減・消失し、tamoxifen を中止した。左乳腺腫脹は持続し、発症3カ月後のCTもほぼ不変だった。発症4カ月後に縮小し、発症5カ月後に触知できなくなり、発症約1年後も症状再発はない。治療して発症2カ月後にLH, FSH, E₂, free Tはやや上昇したが、発症5カ月後にE₂ 36.1, free T 12.8, 8カ月後にE₂ 30.2, free T 8.1, LH 3.7, FSH 9.3, DHEA-S 746, 11カ月後にE₂ 39.4, free T 10.8, LH 4.0, FSH 10, DHEA-S 1080と変動した。この間HbA_{1c}は7.5%程度だった。

考 察

MyDの標準的なモノグラフ¹⁾に女性化乳房の記載はなく、文献検索でも土屋らの学会発表²⁾が唯一の報告と思われるが、病態は多少ことなる。女性化乳房を来す病態³⁾の低栄養状態からの回復、肝硬変や甲状腺機能亢進症、spironolactone やH₂ blocker等の薬物、高prolactin血症は本例になかった。経口糖尿病薬の報告はなく、投与中に発赤などが軽減し、投与中止1カ月⁴⁾で改善せず、glibenclamideが原因とはみなせなかった。女性患者に乳癌は少ないが、男性乳癌は否定され、生理的女性化乳房と診断した。2年前FSHは高く、すでに精巣機能は低下傾向だったが、女性化乳房発症時にFSHもLHもやや高値であった。LHは上昇傾向で、性腺機能の変動が発症に結び付いた可能性がある。発症後は治療の修飾もありうるが、やがて2年前の値に近づいた。糖尿病悪化の先行との直接の関連は不明である。両側性慢性女性化乳房の1例⁵⁾は男性ホルモン値が検出感度以下で本例とことなるが、

合わせて女性化乳房はMyDの一症状として生じえると考えた。生理的女性化乳房も薬剤性も一側に強いことは少ないが⁶⁾、本例も局所的要因もなく一側性の機序は不明である。

生理的女性化乳房は頻度の高い思春期には有痛性のことが多いが、更年期では有痛性で治療を要するばあいはまれである⁷⁾。女性化乳房に日本で保険適応があるのは筋注薬epitiostanolだったが、tamoxifen投与⁸⁾は少量短期でも有痛性女性化乳房に有効だった。筋注では血清CK上昇が多く、筋組織を局所的に障害しえる⁹⁾。健常者でも筋注の反復では筋拘縮を生じえるが¹⁰⁾、筋疾患では反復しなくとも残存筋線維に障害が生じる可能性がある。本例のように筋萎縮・脂肪置換が進んだばあいは筋注自体が困難で、経口薬が望ましい。テストステロン分泌低下は筋萎縮の進行に結びつきえるが、テストステロンはMyDの筋量を増やしても筋力を増強しないとされ¹¹⁾、女性化乳房に有効性はなく¹²⁾、投与しなかった。またDHEA-S投与¹³⁾は連日静注が必要であり、女性化乳房への有効性は不明である。

謝辞：国立東京災害医療センター外科渡辺佳香先生に深謝致します。

本症例研究の一部は厚生省精神・神経疾患研究委託費(11指一1)によっておこなわれた。

文 献

- 1) Harper PS: Myotonic dystrophy. 2nd edition, WB Saunders Co., London, 1989, p384
- 2) 土屋一郎, 古澤英明, 西岡昌紀ら: 著明な gynecomastia を伴った筋強直性ジストロフィーの1例(会). 臨床神経 40: 200, 2000
- 3) Braunstein GD: Gynecomastia. N Engl J Med 328: 490—495, 1993.
- 4) Niewoehner CB, et al: Gynecomastia in a hospitalized male population. Am J Med 77: 633—638, 1984
- 5) O'Hanlon DM, Kent P, Kerin MJ, et al: Unilateral breast masses in men over 40: a diagnostic dilemma. Am J Surg 170: 24—26, 1995
- 6) Parker LN, Gray DR, Lai MK, et al: Treatment of gynecomastia with tamoxifen: a double-blind crossover study. Metabolism 35: 705—708, 1986
- 7) McDermott MT, Hofeldt FD, Kidd GS: Tamoxifen therapy for painful idiopathic gynecomastia. South Med J 83: 1283—1285, 1990
- 8) Greenblatt DJ, Koch-Weser J: Intramuscular injection of drugs. N Engl J Med 295: 542—546, 1976
- 9) Griggs RC, Pandya S, Florence JM, et al: Randomized controlled trial of testosterone in myotonic dystrophy. Neurology 39: 219—222, 1989
- 10) Sugino M, Ohsawa N, Ito T, et al: A pilot study of dehydroepiandrosterone sulfate in myotonic dystrophy. Neurology 51: 586—589, 1998

Abstract

Painful unilateral gynecomastia in a patient with myotonic dystrophy

Yasushi Oya, M.D., Hiroshi Shigeto, M.D., Masafumi Ogawa, M.D. and Mitsuru Kawai, M.D.

Department of Neurology, National Center Hospital for Mental, Nervous and
Muscular Disorders, National Center of Neurology and Psychiatry

A 54-year-old patient with myotonic dystrophy presented unilateral painful gynecomastia, which occurred 3 months after aggravation of diabetes mellitus. Serum luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) levels were slightly high. LH was elevated than 2 years before. Breast pain and gynecomastia disappeared by daily administration of 10mg tamoxifen. He could not have intramuscular injection therapy because of marked muscle atrophy. Painful gynecomastia may be one of the endocrine complications in myotonic dystrophy.

(Clin Neurol, 40 : 1047—1049, 2000)

Key words : Myotonic dystrophy, gynecomastia, hypogonadism, tamoxifen

Abstract

Beneficial effect of eyelid make-up (natural rubber latex) to induce a new fold in the treatment of blepharoptosis in myotonic dystrophy

Yasushi Oya, M.D., Hideko Yoshida, R.N., Mitsuyo Takeshima, R.N., Jun Toyama, M.D.,
Hiroshi Shigeto, M.D., Masafumi Ogawa, M.D. and Mitsuru Kawai, M.D.
Department of Neurology, National Center Hospital for Mental, Nervous, and Muscular Disorders,
National Center of Neurology and Psychiatry

Blepharoptosis is one of the troublesome ocular complications of myotonic dystrophy. To correct drooping eyelids for two men with myotonic dystrophy, we used Eye Putti[®], a cosmetic made of natural rubber latex, which induces a new fold in the upper eyelid. The cosmetic rubber latex dramatically improved the sight of a 59-year-old patient who previously had a great difficulty in looking forward and had to bend his head backward to see an object because of severe blepharoptosis. The other patient aged 54 with moderate ptosis also had satisfactory improvement. Appropriate use did not prevent eye blinking and induce corneal erosion or skin rash. The cosmetic rubber latex was effective to patients who had no residual function of the levator palpebrae and frontal muscles. This daily treatment is simple and safe, therefore may have an advantage over surgical correction of blepharoptosis for patients not only with myotonic dystrophy, but with other neuromuscular disorders including oculopharyngeal muscular dystrophy.

(Clin Neurol, 40: 483—486, 2000)

Key words: Myotonic dystrophy, blepharoptosis, eyelid make-up to bring a fold, lagophthalmos

顔面・肩甲・上腕に強い筋罹患を示し、致死的な心筋障害を ともなった皮膚筋炎・強皮症の合併例

大矢 寧 當山 潤 小川 雅文 埜中 征哉 川井 充

要旨：顔面・肩甲・上腕の罹患がめだつた皮膚筋炎・強皮症の23歳男性が全経過約1年で心筋障害で死亡した。上肢挙上困難で初発し翼状肩甲があつたが、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーと異なり、三角筋・肩甲挙筋もいちじるしく萎縮し、顔面罹患は皮膚萎縮が主体で、Raynaud 症状と心電図低電位があつた。1年前の三角筋生検では軽度の壊死再生で、炎症細胞浸潤はなかつたが、筋内鞘に肉厚の毛細血管がめだつた。本例は血液炎症所見や抗核抗体が陰性でも、強皮症・皮膚筋炎合併があり、拡張型心筋病変が進行しうることを示した。

(臨床神経, 41: 289-295, 2001)

Key words: 皮膚筋炎, 強皮症, 顔面肩甲上腕症候群, 心不全

はじめに

強皮症ではまれに心筋障害による心不全をきたしうるが¹¹⁾, 筋炎と強皮症は合併することがあり¹⁰⁾, 心筋・骨格筋ともにいちじるしく障害されることがある¹⁰⁾⁻¹²⁾。初期に顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) がうたがわれ、間質性肺炎や肺高血圧をとまわず心筋障害により死亡した皮膚筋炎・強皮症の合併症例を経験したので報告する。

症 例

症例：23歳，男性，大学院学生。

主訴：両上腕，肩甲周囲，両大腿，腹部の筋力低下。

既往歴：4歳時，左眼 Coats 病で光凝固を受け，複視があつた。18歳，左自然気胸，21歳，右自然気胸，他院でそれぞれ内視鏡的縫縮術を受けた。

家族歴：特記事項はなかつた。

現病歴：5年前（18歳）に血清 creatine kinase (CK) は59 IU/L と正常だった。1年半前（21歳），冬に手指が白くなつたり紫色になることがあつた。1年3カ月前，気胸で他院再入院時に CK 2,839 IU/L の高値と逆流性食道炎がみられた。日常生活で不自由はなかつたが，左上肢は90度まで挙上しかできなくなつていた。1年前（22歳），同病院神経内科に精査入院し，顔面下半・両側三角筋・上腕に筋萎縮・筋力低下がみとめられ，血清 CK 3,608，アルドラーゼ23.1 (IU/L)，自己抗体陰性で，心電図は肢誘導低電位と poor R progression がみられた (Fig. 2A)。FSHD がうたがわれて左三角筋が生検された。某大学某内科の組織学的検索では，筋原性変

化で cytoplasmic body が1箇所あつたため cytoplasmic body myopathy がうたがわれた。FSHD うたがいで治療法がないと説明され，他病院の神経内科・消化器内科に紹介された。3カ月毎の検査で血清 CK は6,398, 5,430, 7,264 と高値で，顔面の症状の進行がみられた。9カ月前（22歳4カ月）には口笛が吹けず，口をすすぐときに口から水がこぼれるようになった。仰臥位で首を挙げられず，背もたれがないと首を支えるのがつらく，食事中にむせ，水分なしではつかえるようになった。半年前から，あぐらをかくと後ろに倒れ，腰が安定せず走れなくなった。パ行やマ行がいい難くなった。左眼が自然に外転するようになり，複視が強まった。3カ月前に某病院筋疾患外来を受診し FSHD をうたがわれ，遺伝子検査が当センターに依頼された。自転車にまたがるのに足が挙がらなくなり，咳・痰が多くなった。2カ月前，肩や手指の皮膚が光沢あり硬くなつてきたため某皮膚科を受診し，強皮症がうたがわれた。床から手で支えないと起立できず，むせ込みが強くなった。1カ月前から食べられず，某院で点滴を受けていたが，1週間前から尿が少なく足がむくみ出し，臥位で息苦しくなり，フロセミドを処方された。FSHD 遺伝子に異常のないことが判明して，症状悪化のため当科へ紹介入院した。経過を通じ筋痛，発熱，関節痛，眼球異物感・口渇，胸痛はなかつた。

現症：身長170cm，体重50kg，脈拍120/min，血圧100/60 Torr，体温37℃，意識清明，知能正常，労作時息切れあり，頸静脈は怒張し，軽度の漏斗胸で，両下肺野に湿性ラ音，心音で III 音を聴取した。肝脾腫ないが下腿浮腫があつた。皮膚石灰化はないが，全身皮膚に光沢あり，口圍の皮膚萎縮，開口制限，舌小帯短縮あり，手指・足趾関節伸側に発赤，右母指腹に潰瘍をみとめた (Fig. 1)。指趾 Raynaud 現象あり，

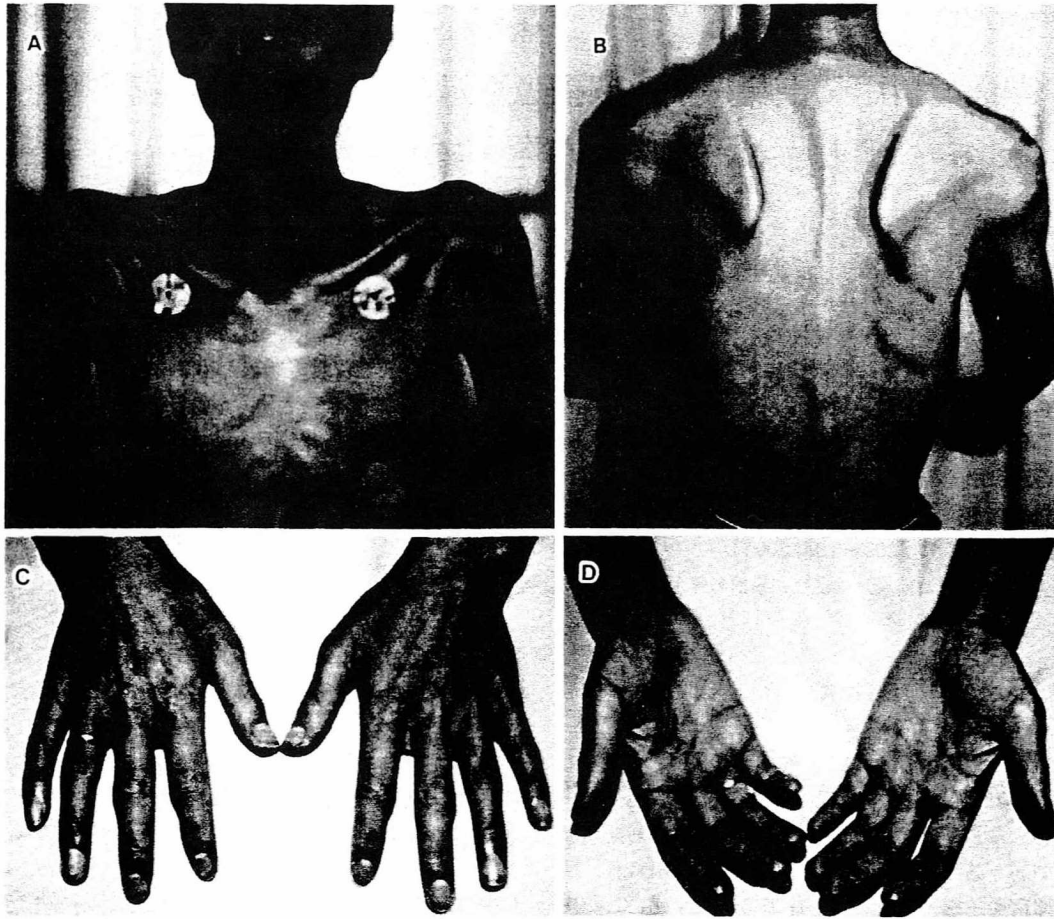


Fig. 1 A, B: The characteristic facial features of systemic sclerosis, showing pursed lips and pinched nose. Muscles are atrophic and skin is shiny, tight and taut throughout the body. Scapular winging without webs is also noted.
C, D: Hands showing sclerodactyly, early flexion contractures, small ulceration on fingertips, erythematous changes over the knuckles, and hemorrhagic changes of nailfold.

右第2・3指が変色しやすかった。瞳孔正常、右眼内転制限、睫毛徴候、口輪筋力低下があった。軟口蓋挙上良好で、咽頭反射正常、舌も挺舌制限以外は正常だが、固形物の嚥下は軽度に困難だった。筋萎縮は全身性だが、上半身、とくに上肢帯に著明で翼状肩甲があった。筋力はほぼ左右差なく、5段階評価MMTで頸部前・後屈は2、上肢近位2、遠位4、下肢近位3-、遠位4~5で、片足立ち・爪先立ちはできた。両肩関節に軽度拘縮あり、手指伸展制限が軽度にみられた。筋圧痛やBeavor徴候はなかった。四肢深部反射は両上肢優位に減弱していて、小脳症状・感覚障害・排尿障害・起立性低血圧はなかった。眼科的に左眼網脈絡膜萎縮と両側眼圧上昇をみとめた。

検査：血液検査でCK 7761 (MB 11%, MM 81%, band 8%), aldolase 88.9 (正常1.7~5.7), AST 241, ALT 179, LDH 1,141 (IU/L), 総bilirubin 1.7 (間接型1.1), 尿酸10.1 (mg/dl) と高値, choline esterase は99 IU/L 低値だった。血算は正常、血沈1 mm hr, 凝固検査でfibrinogen 191mg/dL と低下, FDP 67mg/mL (正常<12) と高値だが、PT frag-

ment 1 + 2 は0.67 nM で正常だった。血清CRP 0.48, IgG 1,890, IgA 261, IgM 141 (mg/dL), 血清補体価CH₅₀ 32.4U/mL (正常30~40) は正常で、リウマトイド因子、抗核抗体40倍、抗RNP、抗SS-A、抗SS-B、抗Scl-70、抗Jo-1、抗セントロメア抗体、抗acetylcholine受容体抗体は陰性だった。検尿は正常、尿中creatinine 0.40g/日は低値だった。血中atrial natriuretic peptide 640 (正常≤40), brain natriuretic peptide 1,730 (正常≤20), noradrenaline 699 (正常100~450) (pg/ml) は高値だった。動脈血ガスpH 7.45, PaCO₂ 31.0, PaO₂ 88.1 Torr, HCO₃⁻ 21.5, BE -0.6mEq/L, SaO₂ 97%, 呼吸機能は肺活量1.88L (44%), ピークフロー4.45L/s と低下、睡眠中SpO₂は90%までのdipをみとめた。心電図 (Fig. 2B) で著明な低電位と1度房室ブロックをみとめ、Holter心電図で多源性心室性期外収縮と僅かに連発をみとめた。胸部X線写真 (Fig. 2C) でCTR 62%の心拡大、少量胸水あり、胸部CT (Fig. 2D) で心嚢液・胸水貯留と上部食道拡張があり、肺線維症はなく、間質性肺炎の指標の血清KL-6も416U/mL (正常<500) と正常だった。心エコーで左室壁は5~9

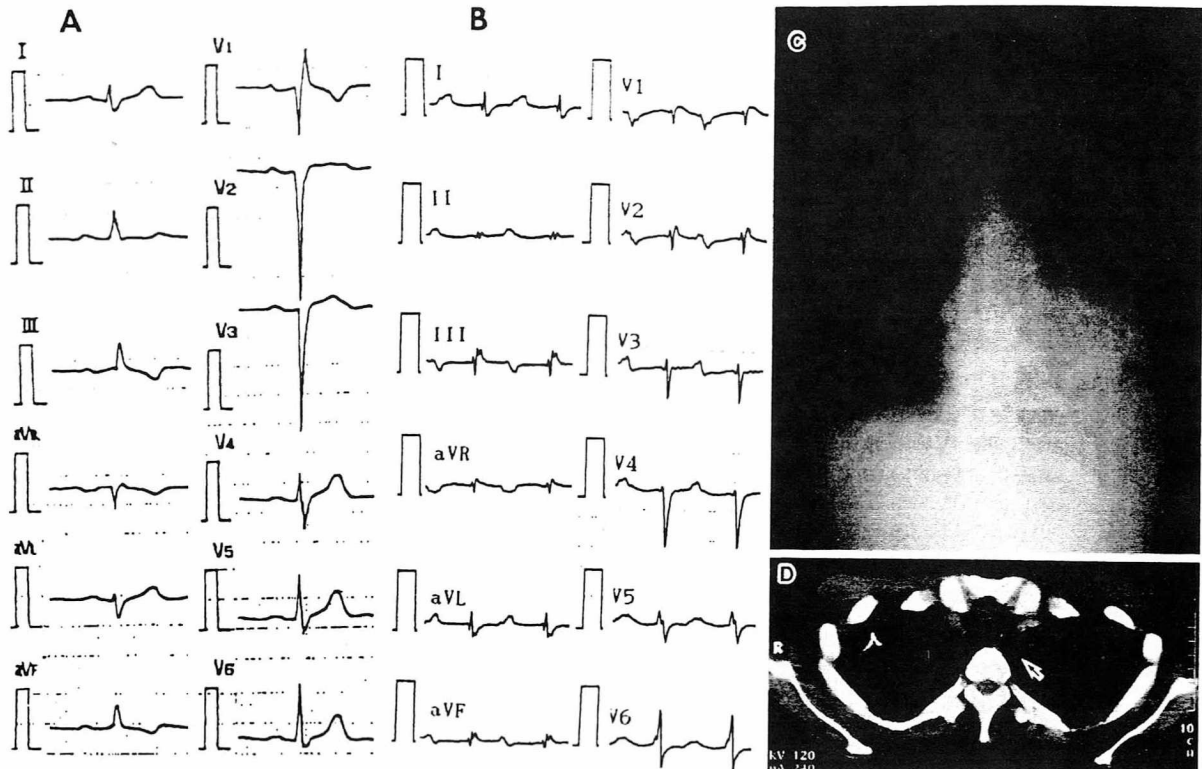


Fig. 2 Electrocardiogram (ECG), chest x-ray, and chest CT.

- A: ECG recorded at the age of 22 years shows prolonged PQ and low voltage of QRS (<1mV) in the limb leads and poor R progression in the chest leads (no R, especially in V2-3).
- B: ECG on admission at age 23 shows tachycardia, first degree atrioventricular block, and markedly low voltage.
- C: Chest x-ray showing cardiomegaly, bilateral dull costophrenic angle, and plate-like atelectasis of the left lower lobe.
- D: Chest CT showing esophageal dilatation (arrow) and pleural effusion especially on the right. There are pleural adhesions and small calcified lesions due to surgery for pneumothorax.

mmと薄く、左室駆出率は15%だった。腹部エコーで腹水を少量みとめた。筋CTで胸鎖乳突筋・僧帽筋、肩甲周囲・上腕と腸腰筋は脂肪浸潤なく著明に萎縮し、腎筋・下肢は比較的保たれていた。大腿MRI T₂強調画像でhamstringに高信号が散在していた。頭部CT・MRIは眼筋にも異常をみとめなかった。針筋電図は安静時fibrillationと陽性鋭波が上腕二頭筋にもっとも豊富で、他筋にもみとめたが、三角筋に少なかった。随意収縮時に多相性電位が上腕二頭筋で豊富に、胸鎖乳突筋・三角筋・大腿直筋でもみられた。口輪筋は運動単位数減少をみとめた。末梢神経伝導検査は正常だった。

1年前の他院での三角筋生検組織所見（凍結組織の提供を受け当センターで切片を作成した）(Fig. 3)：間質増加なく、筋線維は多角形だが、大小不同が軽度であり、再生線維が散在し、壊死線維も少数みられた。筋周鞘の一部の血管周囲に僅かに単核球があり、筋内鞘に正常成人ではみられない壁が肥厚した毛細血管もめだった。再生線維以外では筋原線維間網は保たれていて、ragged-red fiber様の再生線維はあってもcytochrome c oxidase (CCO) 活性は異常なかった。筋線

維タイプはモザイクで、タイプ2C線維が増加し、タイプ1、2A、2B、2Cのどのタイプにも大小不同がみられた。筋内神経束の有髄線維は保たれていた。

当院での上腕二頭筋生検 (Fig. 4)：筋周鞘・筋内鞘ともに結合組織が増加し、筋内鞘に血管を中心に著明な単核球浸潤巣が散在したが、組織球は僅かだった。筋線維には円形化と大小不同が著明で、一部にはperifascicular atrophyがみられた。壊死線維・再生線維は多数あり、タイプ2線維萎縮が著明であった。多数の小径線維はNADH-TR染色で高活性で、タイプ2C線維が大部分で、alkaline phosphatase高活性線維も多かった。CCO染色もSDH染色も全般に染色性が低下していた。また筋内神経束の有髄線維は保たれていた。

上腕の皮膚生検：炎症性細胞浸潤はなかったが、真皮の膠原線維が著明に増加していた。

経過：心不全に、フロセミド、スピロラクトン、カプトリルを投与。体重は44kgに減少、呼吸苦・浮腫は軽度に改善した。再生検で確診後に、ステロイド投与(PSL 60mg/日)内服を開始した。全身状態は軽度改善し、安静で4.967 IU/L

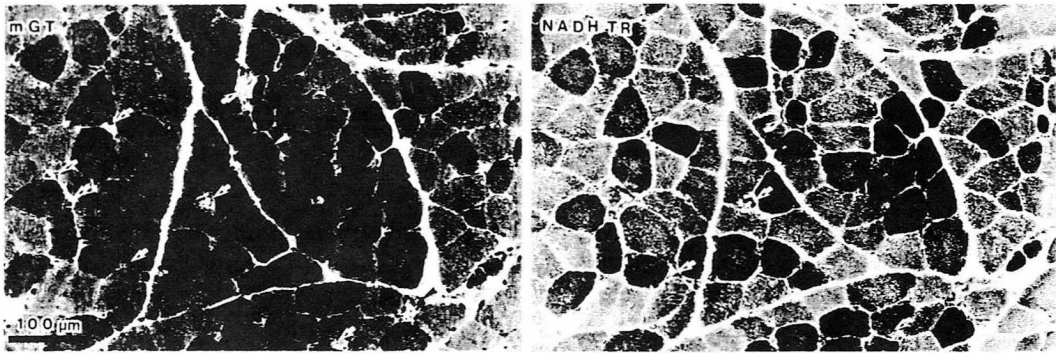


Fig. 3 The first muscle biopsy (deltoid muscle) at the age of 22. (Bar = 100µm)
 Modified Gomori trichrome stain (mGT) : Myopathic changes with mild fiber size variation, a few necrotic fibers (black arrow heads), a regenerating fiber (large arrow), a ragged red fiber-like regenerating fiber (white arrow head) are noted. Scattered prominent endomysial capillaries with swollen endothelial cells (small arrows) suggesting inflammatory myopathy.
 NADH-TR : Intermyofibrillar networks are well preserved except in some regenerating fibers.

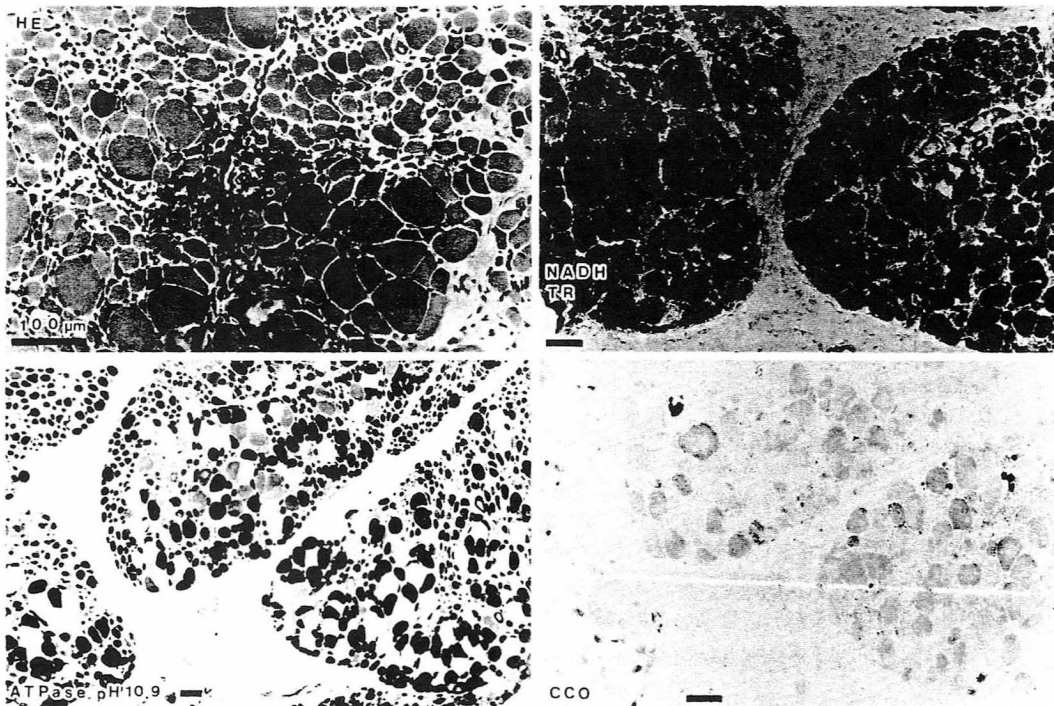


Fig. 4 The second biopsy of the biceps brachii muscle at the age of 23 years. (Bar = 100µm)
 Hematoxyline-eosin (HE) : Marked inflammatory reaction with interstitial fibrosis, endomysial inflammatory cell infiltration, and perifascicular atrophy are noted.
 NADH-TR and ATPase (pH 10.9) : Perifascicular atrophy consists of atrophic fibers, many of which are darkly stained on NADH-TR and are type 2C fibers.
 Cytochrome c oxidase (CCO) : CCO activity is diffusely decreased.

になった血清CK値はPSL1週間で1,887に下がり、凝固検査も正常化した。しかし数週間で手指潰瘍が拡大、Gottron徴候も強まり、複視も変動あるが悪化し、安静状態だが血清CKも3,000近くまで一時再上昇した。心不全症状のコントロールは困難で、短い心室性頻拍も時にみとめられた。郷里へ帰る希望が強く、当院入院2カ月後の転院途中に、体位変

換直後に強直性全身痙攣を来し、心音聴取せず、蘇生を試みるも心室細動・心室頻拍のままで死亡した。剖検はえられなかった。

考 察

本例では血液検査で炎症所見や抗 Scl-70抗体などの自己抗体はみとめなかったが、顔面などの皮膚萎縮と Gottron 徴候という、強皮症と皮膚筋炎の皮膚所見がみられ、著明な食道拡張があった。初回の三角筋生検で炎症細胞浸潤はほとんどなかったが、肉厚の内皮細胞で大径の¹³毛細血管が筋内鞘にめだち、非特異的ながらも炎症性病態をうたがうべき所見と考えた。再度の生検では血管炎と per fascicular atrophy など、FSHD とはことなる強い炎症所見が確認できた。なお強皮症・筋炎の合併には核小体抗原 PM-Scl に対する抗体が陽性のばあい¹⁰⁾や抗 RNP 抗体陽性の混合性結合組織病があるが、本例は抗核抗体陰性でことなっていた。

本例が FSHD と紛らわしかったのは、弧発例だが、症状が顔面や肩甲にめだち、FSHD でめだつ漏斗胸も軽度であり、FSHD に合併しえる Coats 病¹⁵⁾の既往もある点だった。FSHD の特徴は①肩甲挙筋と三角筋が残存する翼状肩甲で両上肢を挙上できず、②眼輪筋・口輪筋力低下は潜行性で、眼球突出様に見え、口囲に横方向のしわがあり、下口唇が下がり厚く見え、③診察や筋 CT で明瞭な左右差を示す筋があることだが^{13)~17)}、本例にはこのような FSHD の特徴はなかった。FSH 型筋炎とされた11歳女児例¹⁸⁾¹⁹⁾はいちじるしい CK 高値だったが、FSHD の特徴が明確で、他の報告²⁰⁾と同様に FSHD であったと考えられる¹⁶⁾。FSHD の筋組織は、小径線維が散在する神経原性様変化をみたり、炎症所見が著明だったり、多様である。FSHD でも炎症所見が強いばあいはステロイド治療がある程度有効とされている。

本例の翼状肩甲は、三角筋は上腕二頭筋に比較し脱神経電位は少ないものの萎縮はいちじるしく、両側肩甲挙筋もいちじるしく萎縮し、顔貌は口囲皮膚萎縮がめだち、罹患筋分布に左右差はなかった。分布が本例のような筋炎はまれで、類似の報告例は、顔面・上肢にめだつ経過3年の50歳の慢性関節リウマチ合併例²¹⁾があり、本例のように三角筋はいちじるしく障害されていた。本例は複視が増強し、外眼筋罹患もともなった点は皮膚筋炎としても非典型的だった。

本例の心電図異常は心筋減少を示し、左室前壁から変化が生じたことがうたがわれる。FSHD では胸郭変形にともなう圧迫による心電図異常は多いが²²⁾、僧帽弁逸脱、不整脈²³⁾、呼吸不全にともなう右心不全をきたしても、拡張型心筋症の報告はない。筋炎にともなう心筋病変は無症候性が多く²⁴⁾、心室壁肥厚をともなう急性心不全²⁵⁾の他に、皮膚筋炎で不整脈、心膜炎や狭心痛の報告²⁶⁾はあるが、びまん性進行性拡張型心筋病変は強皮症¹¹⁾¹²⁾のみである。強皮症の心筋障害は自己免疫機序があるが²⁷⁾、Raynaud 現象の関与も想定され^{28)~30)}、寒冷ストレスは避けるべきである。強皮症の心筋・骨格筋炎合併は女性例が多いが、Follansbee ら³⁾の25例中3例は本例と同様の若年男性(17~22歳、1例心不全、2例突然死)であり、注意したい。

本例では筋炎による筋力低下で運動負荷がかからなかった

ので心不全は顕在化しにくかったと考えられる。しかしながら強皮症や皮膚筋炎の皮膚症状がめだたず、血液炎症所見もともなわずに、びまん性心筋病変は進行した。一般に強皮症の心筋障害は発見が遅れやすく²⁾、死亡例が多い^{1)~6)}。本例の直接死因は心室頻拍がうたがわれるが、心機能高度低下例では抗不整脈剤の使用も制限され、その予防は困難なことが多い。本例のような不幸な事態が生じないように、FSHD の臨床的特徴が周知されるとともに、強皮症でのびまん性心筋病変に対して早期診断・早期治療がなされることが望まれる。

謝辞：本例の当院入院前の所見を教えていただいた他病院の諸先生方に深謝します。遺伝子診断は患者・御家族の承諾のもと、当センター神経研究所疾病研究第一部の後藤加奈子先生と荒畑喜一先生によっておこなわれました。本症例研究の一部は厚生省精神・神経疾患研究委託費11指-1による。

文 献

- 1) Bulkley BH, Ridolfi RL, Salyer WR, et al: Myocardial lesions of progressive systemic sclerosis. A cause of cardiac dysfunction. *Circulation* 53: 483-490, 1976
- 2) Yamaoki K, Yazaki Y, Matsunaga H, et al: An extensive primary myocardial fibrosis in progressive systemic sclerosis—a case report with autopsy findings. *Jpn Circ J* 46: 1159-1165, 1982
- 3) Clemson BS, Miller WR, Luck JC, et al: Acute myocarditis in fulminant systemic sclerosis. *Chest* 101: 872-874, 1992
- 4) Lawrence ME, Robinson JC, Terry EE: Progressive systemic sclerosis causing rapidly progressive myocardial disease and death. *South Med J* 85: 770-772, 1992
- 5) Deswal A, Follansbee WP: Cardiac involvement in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 22: 841-860, 1996
- 6) Takahashi N, Seko Y, Azuma M, et al: Evidence of cell-mediated cardiac myocyte injury involved in the heart failure of a patient with progressive systemic sclerosis. *Jpn Circ J* 63: 68-72, 1999
- 7) Liangos O, Neure L, Kühl U, et al: Grand rounds in rheumatology. The possible role of myocardial biopsy in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 39: 674-679, 2000
- 8) Olsen NJ, King LE Jr, Park JH: Muscle abnormalities in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 22: 783-796, 1996
- 9) Jablonska S, Blaszczyk M: Scleromyositis: a scleroderma/polymyositis overlap syndrome. *Clin Rheumatol* 17: 465-467, 1998
- 10) West SG, Killian PJ, Lawless OJ: Association of myositis and myocarditis in progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 24: 662-668, 1981
- 11) Currence S, Turcotte J, Mathon G: Severe myositis and myocarditis in progressive systemic sclerosis. *J Rheuma-*

- tol 12: 997—999, 1985
- 12) Follansbee WP, Zerbe TR, Medsger TA Jr: Cardiac and skeletal muscle disease in systemic sclerosis (scleroderma): a high risk association. *Am Heart J* 125: 194—203, 1993
 - 13) 谷田部可奈, 近藤裕美, 竹内 恵ら: 炎症性筋疾患の血管病変の検討. *臨床神経* 39: 294, 1999 (会)
 - 14) Marguerie C, Bunn CC, Copier J, et al: The clinical and immunogenetic features of patients with autoantibodies to the nucleolar antigen PM-Scl. *Medicine (Baltimore)* 71: 327—336, 1992
 - 15) Taylor DA, Carroll JE, Smith ME, et al: Facioscapulohumeral dystrophy associated with hearing loss and Coats syndrome. *Ann Neurol* 12: 395—398, 1982
 - 16) Munsat TL: Facioscapulohumeral disease and the scapulo-peroneal syndrome. *In Myology, Basic and Clinical*, 2nd edition, edited by Engel AG and Franzini-Armstrong C. McGraw-Hill, Inc., New York, 1994, Chapt. 44, pp1220—1232
 - 17) Kissel JT: Facioscapulohumeral dystrophy. *Semin Neurol* 19: 35—43, 1999
 - 18) Rothstein TL, Carlson CB: Restricted myositis with myoedema simulating facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology* 20: 386—387, 1970 (abstract)
 - 19) Rothstein TL, Carlson CB, Sumi SM: Polymyositis with facioscapulohumeral distribution. *Arch Neurol* 25: 313—319, 1971
 - 20) Munsat TL, Piper D, Cancilla P, et al: Inflammatory myopathy with facioscapulohumeral distribution. *Neurology* 22: 335—347, 1972
 - 21) Walton JN, Adams RD: Polymyositis. E&S Livingstone Ltd, Edinburgh & London, 1958, Case 15 (pp45, pp125, pp 210—212)
 - 22) 中山貴博, 小宮 正, 趙 永愛ら: 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの心機能異常—心電図, 心拍同期心臓MRIによる考察—. *臨床神経* 39: 610—614, 1999
 - 23) 川井 充, 重藤寛史, 大矢 寧ら: 洞停止所見を認めた顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの一例. 平成8—10年度厚生省精神・神経疾患研究委託費, 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班研究報告書 P165—167
 - 24) Taylor AJ, Wortham DC, Burge JR, et al: The heart in polymyositis: a prospective evaluation of 26 patients. *Clin Cardiol* 16: 802—808, 1993
 - 25) 久留 聡, 犬飼 晃, 祖父江元ら: 高度な心筋障害および心伝導障害を伴った多発性筋炎の1例. *臨床神経* 39: 356—359, 1999
 - 26) Riemekasten G, Opitz C, Audring H, et al: Beware of the heart: the multiple picture of cardiac involvement in myositis. *Rheumatology (Oxford)* 38: 1153—1157, 1999
 - 27) Alexander EL, Firestein GS, Weiss JL, et al: Reversible cold-induced abnormalities in myocardial perfusion and function in systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 105: 661—668, 1986
 - 28) Ellis WW, Baer AN, Robertson RM, et al: Left ventricular dysfunction induced by cold exposure in patients with systemic sclerosis. *Am J Med* 80: 385—392, 1986
 - 29) Gustafsson R, Mannting F, Kazzam E, et al: Cold-induced reversible myocardial ischaemia in systemic sclerosis. *Lancet* 2(8661): 475—479, 1989
 - 30) Ho M, Belch JJ: Raynaud's phenomenon: state of the art 1998. *Scand J Rheumatol* 27: 319—322, 1998

Abstract

A patient with dermatomyositis and systemic sclerosis with preferential facioscapulohumeral muscle involvement and fatal cardiomyopathy

Yasushi Oya, M.D., Jun Toyama, M.D., Masafumi Ogawa, M.D.,
Ikuya Nonaka, M.D. and Mitsuru Kawai, M.D.

Department of Neurology, National Center Hospital for Mental, Nervous and Muscular Disorders,
National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)

We report a 23-year-old man suffering from an overlap syndrome of systemic scleroderma and dermatomyositis who died from severe dilated cardiomyopathy. Because his weakness involved predominantly muscles in the facio-scapulo-humeral regions, he was initially thought to have facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD) at other hospitals. However, he had also Raynaud phenomenon and low voltages on electrocardiogram. His apparent facial weakness was mainly due to atrophic skin changes. Unlike FSHD, the deltoid and levator scapulae muscles were also atrophic. Deltoid muscle biopsy performed one year earlier at another hospital showed mild myopathic changes without inflammation, but there were scattered thick-walled endomysial capillaries, suggesting inflammatory myopathy. Biceps brachii muscle biopsy in our hospital showed marked inflammation with perifascicular atrophy. In this patient, the cardiac muscle involvement progressed together with the skeletal muscle inflammation before scleroderma became apparent.

(Clinica Neurol, 41 : 289—295, 2001)

Key words : Dermatomyositis, scleroderma, facioscapulohumeral syndrome, heart failure

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー類似の筋罹患分布を示した 成人型酸性マルターゼ欠損症の1例

大矢 寧¹ 森田 浩之¹ 小川 雅文¹
埜中 征哉¹ 辻野 精一² 川井 充¹

要旨：顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) と分布が類似した成人型酸性マルターゼ欠損症の61歳女性を報告する。顔面筋罹患はなかったが、肩甲挙筋や三角筋が保たれる翼状肩甲と Beevor 徴候があり、左右差もあった。腰部傍脊柱筋は脂肪置換され、大腿にいちじるしい選択性がみられ、遠位筋は残存していた。しかし四肢に筋短縮はほとんどなかった。血清 creatine kinase (CK) は正常だった。筋生検では空胞は少く、封入体がめだち、線維化はなかった。線維化をともないにくい代謝性ミオパチーであり、筋短縮が生じにくいと考えた。

(臨床神経, 41:390-396, 2001)

Key words：成人型酸性マルターゼ欠損症 (糖原病 II 型)、翼状肩甲、骨格筋 CT、筋短縮、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー

はじめに

酸性マルターゼ (acid maltase (AM); acid α -glucosidase) はライソゾーム酵素で、その欠損症 (糖原病 II 型; AMD) は常染色体劣性遺伝形式の代謝性ミオパチーで、肢帯型筋ジストロフィーの臨床像をとり、形態的に筋線維の lysosome 内に glycogen 蓄積がみられる¹⁾。酵素補充療法の可能性もあるが²⁾、治療方法の開発を進めるにも正確な診断と患者数の把握が必要である。高 CK 血症は診断的に重要で、高 CK 血症があれば白血球 AM 酵素活性測定をまずおこなうという診断フローチャートが USA で提唱された³⁾。罹患筋分布が顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) と類似し、血清 CK 正常の成人型 AMD の症例を報告する。FSHD には顔面筋罹患がほとんどない例や CK 値が正常の例もあるが⁴⁾、三角筋とともに残存する肩甲挙筋が肩甲骨を引き上げ web が作られる翼状肩甲が特徴的で、他の筋ジストロフィーで生じる翼状肩甲とはことなる⁵⁾。本例は FSHD 同様の翼状肩甲を示した。

症 例

患者：61歳、女性、主婦、右きき。
主訴：下肢筋力低下、腰痛。
家族歴：両親いとこ婚、同胞3人。他に神経筋疾患なし。
既往歴：幼児期にジフテリア。

現病歴：幼少時から走るの遅く、中学生時50m走で遅れがめだち、マラソンは苦手、鉄棒で逆上がりができず、縄跳びで二重跳びができなかったが、20歳代は山登りやバレーボールをしていた。30歳頃より右の肩こりが強まり、右腕を挙げ難くなった。35歳頃、バレーボールでサーブやトスが困難になり、しだいに布団干しや縄跳びが難しくなった。階段を昇るのに手すりを使っていた。45歳頃、階段を降りるのも手すりを要し、しだいに昇降できなくなり、平地歩行も杖を使った。また高い棚に食器を置かないようになり、洗濯物干しに棒を使った。50歳時、家事中に突然下肢脱力できずれたことがあり、某病院に入院し、筋電図・右大腿直筋生検で肢帯型筋ジストロフィーとされた。4カ月の理学療法で杖をもちい歩道橋を登れるようになった。右腕が挙がらず左腕で代用した。53歳、ふたたび階段昇降不能、外出困難になった。55歳時、自力で立ち上がれず、屋内は四つ這い、屋外は車椅子で移動した。右上腕は更に挙がらなくなった。61歳時、腰痛が強まりコルセットを使用した。立位保持も難しく、ずり這いになり、トイレ・入浴や更衣に介助が必要になり、再評価のため当科入院した。理学療法で平行棒内歩行が可能になり、自宅改造と歯科治療をおこなった。

現症：意識清明、知能正常、右きき、身長156cm、体重48.6kg、血圧113/62Torr、脈拍102、呼吸整、胸腹部聴診は異常なく、肝脾腫なく、齲歯が多かった。両側胸鎖乳突筋・僧帽筋は著明に萎縮、MMITは5段階評価で頸部前屈3-、肩甲骨挙上は右2、左4だった。眼瞼・眼球運動・瞳孔・咬筋・顔面筋・舌も正常で、高口蓋なく、咽頭反射は正常、構音

¹ 国立精神・神経センター武蔵病院神経内科〔〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1〕

² 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第五部

(受付日：2000年11月22日)

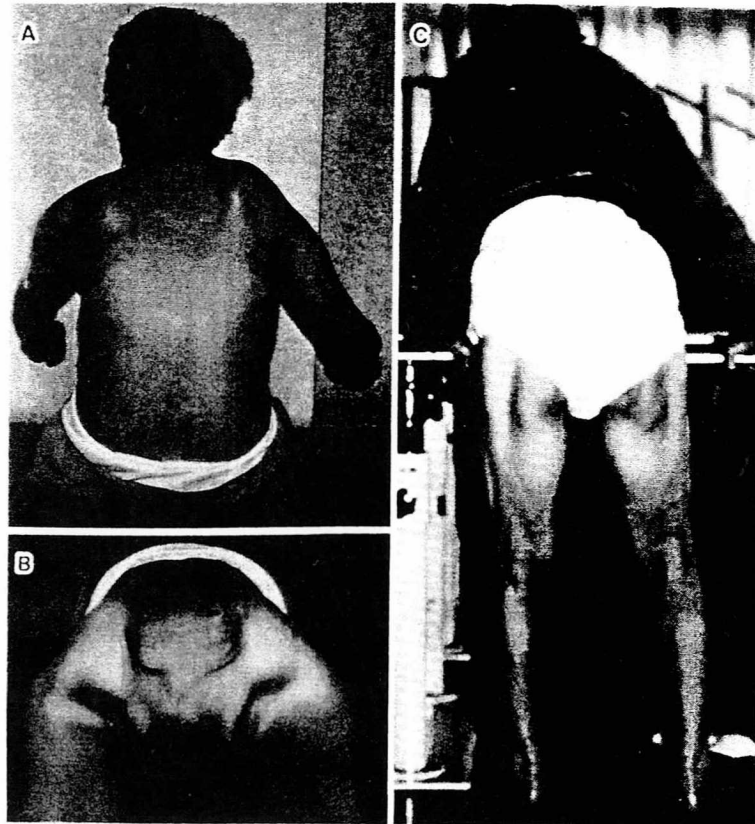


Fig. 1 A: Asymmetrical scapular winging predominantly on the right.
 B: Prominent atrophy of the trapezius and rhomboid muscles, sparing the levator scapulae muscles.
 C: Marked atrophy of the gluteal muscles and hamstrings.

・嚥下障害もなかった。頸部後屈筋力は保たれていた。背部の筋萎縮は著明で、右優位の翼状肩甲で、右肩甲骨上端が上方に突出していた (Fig. 1)。両側肩甲拳筋・三角筋は残存していたが、肩甲骨下端も固定不良で右上肢を挙上できなかった。肩関節側方外転は MMT 右 2、左 3 -、両側肘屈曲 3 +、肘伸展 4、回内・回外・手関節背屈・掌屈 4 +、握力は右 19kg、左 17kg あった。腹直筋は上部が残存傾向で Beavor 徴候陽性だった。両側股関節屈曲・伸展 2、外旋 1、内旋は右 4 -、左 4、内転・外転 2 + ~ 3 - だった。膝関節伸展は右 2 +、左 3、膝屈曲は下腿筋も使っているが腹臥位で両側 4 - 程度、足背屈・底屈は両側ほぼ良好だった。軽微な下腿三頭筋短縮を除き、両側大腿四頭筋・上肢・上肢帯もふくめ筋短縮はなかった。ずり這い移動可能で、平行棒内で立位保持できた。深部腱反射は右上肢でやや低下、左は正常。両側大腿四頭筋で消失。両側下腿三頭筋で正常で、Babinski 徴候は両側陰性だった。不随意運動・小脳症状・感覚異常・発汗障害・膀胱直腸障害はなかった。脊柱側弯などの骨格変形はなかった。

検査：血算・血液生化学・血清学的検査・血糖・尿検・髄液検査は正常範囲で、白血球空胞は明らかでなく、血清 CK 69 IU/L、aldolase 4.0 IU/L も正常で、血清 myoglobin は 670 ng/ml (正常：<60) と僅かに高かった。尿中 creatinine は 0.37

g/日と少く、0.72g/日の creatine 尿をみとめた。部分的阻血下前腕運動負荷試験に異常なかった。呼吸機能は肺活量 2.01 L (予測値の 82.4%) だったが、ピークフローは 3.25 L/s とやや低かった。胸部 X 線写真は心拡大なく、心電図・心エコー・腹部エコーも正常範囲で、Holter 心電図も低頻度の上室性期外収縮のみだった。

筋 CT (Fig. 2) で胸鎖乳突筋は軽度萎縮、肩甲拳筋は残存し、肩甲帯は萎縮し、傍脊柱筋は腰部優位に脂肪組織置換あり、腸腰筋が著明に萎縮し、大腿で大腿直筋・薄筋・縫工筋は残存していたが、他は脂肪組織置換をみとめた。前腕・下腿は保たれていた。大腿筋 MRI で脂肪置換以外の信号異常はなかった。脳 MRI に異常なく、脊椎 X 線写真は腰椎右側に骨棘形成。MRI で軽度の L2/3、3/4、4/5 椎間板ヘルニアをみとめた。右上下肢の針筋電図で、安静時、上腕二頭筋に少量の complex repetitive discharge と fibrillation をみとめたが、他の前腕・大腿四頭筋・前脛骨筋は silent であった。随意収縮で早期動員傾向で、多相性電位がめだった。右上下肢の末梢神経伝導検査は、短母指外転筋の遠位潜時軽度延長と脛骨神経 MCV 38m/s、指一手首で正中神経 SCV 35 m/s 以外は、M 波振幅をふくめ正常範囲だった。

左上腕二頭筋生検組織 (Fig. 3、4) は、間質増生はほとんどなく筋線維断面は多角形をほぼ保っていたが、大小不同が

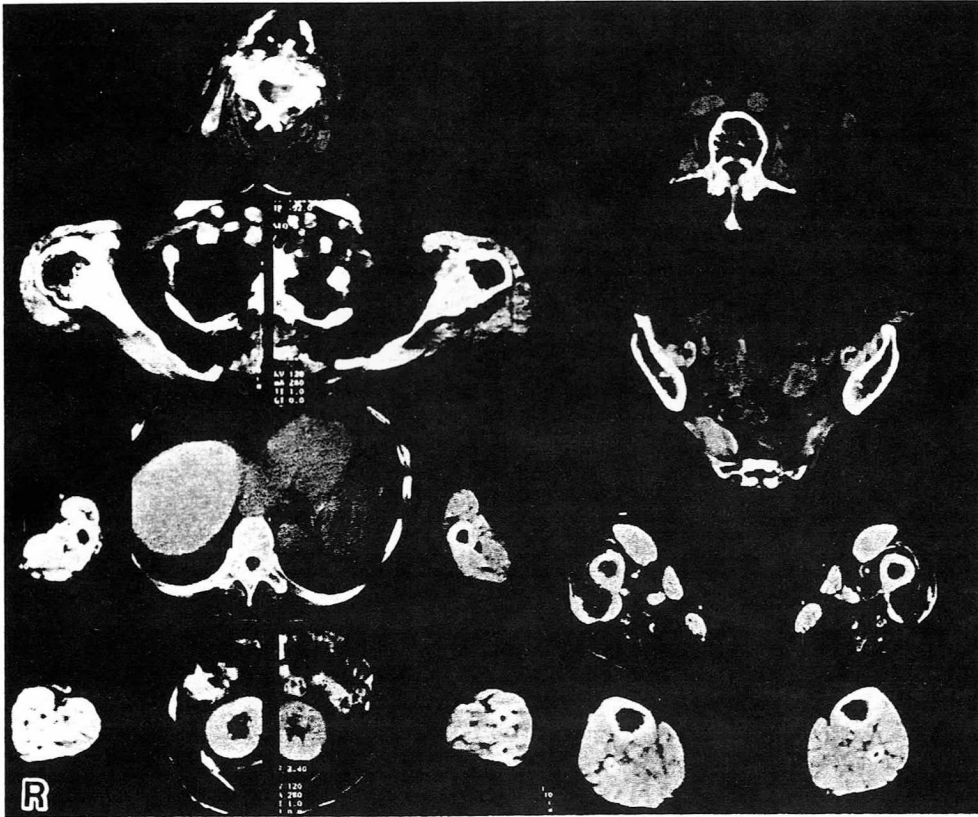


Fig. 2 Muscle CT scan. Neck level: prominent atrophy of the sternocleidomastoid and trapezius muscles, sparing the levator scapulae. Shoulder level: preservation of the deltoid. Arm level: the biceps brachii more atrophic than the triceps. Trunk: marked adipose tissue replacement of the paravertebral muscles, the quadratus lumborum, and the gluteus medius and minimus muscles. Marked atrophy of the iliopsoas and gluteus maximus. Thigh level: Relatively preserved rectus femoris, gracilis, and sartorius muscles, as usually seen in Duchenne muscular dystrophy. Forearm and lower leg muscles are well preserved.

みられた。内在核の他、中央に僅かな rimmed vacuole と、主に好酸性で Gomori trichrome 変法で黒く濃染される長円形の封入体を有する筋線維が、タイプ 1, 2A, 2B のいずれにも多数みられた。この封入体は acid phosphatase 高活性で、他に高活性の小顆粒が筋線維内に多く、高活性の空胞も多かった。筋鞘膜下におよぶ空胞や好塩基性の無構造部分をもった筋線維が少数散在し、NADH-TR 高活性だが、主にタイプ 2 だった。タイプ 2B 線維萎縮とタイプ 1 線維に軽度大小不同があった。凍結切片に PAS 陽性顆粒はめだたず、パラフィン切片と epon 包埋切片で封入体はほとんど PAS 陰性だが、その周囲に PAS 陽性物質蓄積がみられた。空胞は nonspecific esterase (NSE) 染色陰性だが、免疫組織染色で一部の膜内側面に dystrophin (Dys 1, 2, 3; Novocastra), α -sarcoglycan, β -dystroglycan, merosin が陽性だった。電顕で封入体に dense bodies と膜にかこまれたグリコゲン顆粒 (glycogenosome) がみられた。NSE 濃染小角化線維なく、epon 包埋切片でも筋内神経は異常なかった。タイプ 2C 線維を少数みとめたが、壊死線維はなかった。僅かに単核球浸潤を筋周鞘の一部にみとめた。oil red O や menadione-

linked α -glycerophosphate dehydrogenase 染色は異常なかった。

酸性 maltase 活性は筋組織で 0.9 nmol/mg/min (正常: 7.3 ± 2.2)、皮膚線維芽細胞で 0.45 nmol/mg/hr (control: 19.33 ; 正常: $16.8 \sim 73.3$) と欠損していた。筋組織の中性 maltase 活性は 10.1 nmol/mg/min (正常 18.1 ± 5.1) と僅かに低下していた。日本人で既知の 4 遺伝子変異 (exon 11 の Ser 529 Val, exon 13 の Arg 600 Cys, exon 14 の Asp 645 Glu と Arg 672 Gln)⁸⁾ は白血球 DNA の PCR 法でみとめられなかった。

経過: 翌年に会話で息継ぎが多くなり、肺活量は 1.50 (62%) $\sim 1.28\text{L}$ (53%) に低下した。

考 察

本例にみとめた翼状肩甲、三角筋・肩甲挙筋の残存、Beevor 徴候、腰部傍脊柱筋脂肪置換、罹筋筋分布の左右差は、FSHD でもっともよくみられ、左右差のある翼状肩甲を呈する FSMD は珍しくない。本例は顔面筋罹患がないことを除き FSMD に類似した臨床像を呈した。AMD 患者に顔面

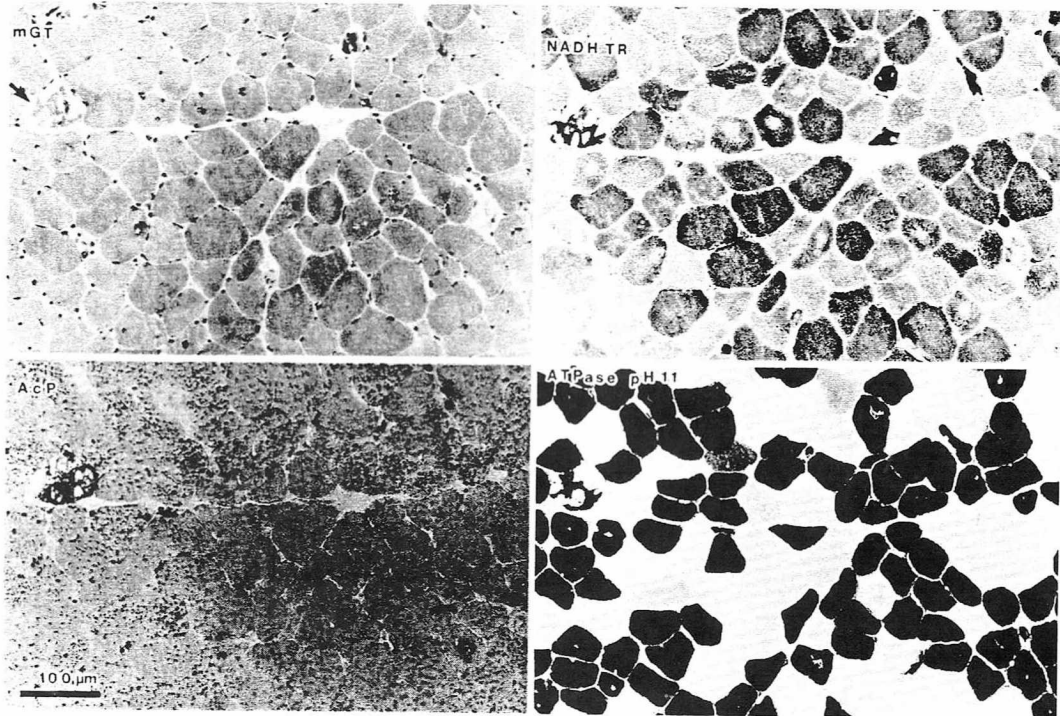


Fig. 3 Histopathology (biceps brachii muscle; frozen serial sections).

Modified Gomori trichrome (mGT): Myopathic changes with moderate variation in fiber size and without necrotic or regenerating fibers. There is no interstitial fibrosis. Many darkly stained inclusions in the muscle fibers in addition to small number of vacuolated fibers (arrow).

NADH-TR: Intermyoibrillar networks are well preserved. Fibers with small vacuoles are stained dark, although most of them are type 2 (2A on pH 4.6 ATPase stain).

Acid phosphatase (AcP): Activity is high in most fibers, especially in vacuolated fibers and fibers with inclusions.

ATPase (pH 11.0): Type 2 fiber atrophy and mild size variation in type 1 fibers. There are some type 2C fibers. Inclusions are found in type 1, 2A, and 2B.

筋罹患⁹⁾はまれである。翼状肩甲¹⁰⁾、腰部傍脊柱筋罹患¹¹⁾の他、FSHD に特異性が高い Beevor 徴候¹²⁾も AMD でも記載はあるが¹³⁾、これまで本例ほど揃っている症例はない。AMD の大腿 CT は症例によりことなるが、大腿二頭筋・内転筋の低吸収¹⁴⁾、二頭筋筋頭を除く hamstring の脂肪置換¹⁵⁾の報告がある。本例の大腿筋選択性は Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) などの筋ジストロフィーによく類似した¹⁶⁾。

しかし、本例では訓練せずに長期間経過したにもかかわらず、筋短縮がなく関節可動域が保たれていたのは、FSHD をふくめた通常の筋ジストロフィーとはことなっていた。当院で経験した AMD 5 例¹⁷⁾では、躯幹・四肢近位筋 MMT 1 以下になった症例で股関節内旋や足関節背屈の制限が軽度が生じたのみで、筋短縮は生じにくく、呼吸筋不全を呈していても胸郭の可動域は保たれていて、非侵襲的陽圧換気 (NIPPV) の導入と継続は困難でなかった¹⁷⁾。DMD、Becker 型、肢帯型は歩行可能な時期でも軽度の筋短縮が生じていることが多く、FSHD では筋短縮が比較的しじがたいが、ずり這い移動が困難になってきた時期には筋短縮・関節可動域制限が股関節周囲などには生じうる。従来の AMD の報告には筋短縮の

記載はほとんどなく、48歳下肢筋力低下で発症し、軽度側彎や凹足・漏斗胸があった61歳剖検例も¹⁸⁾骨格変形はあっても筋短縮の記載はない。小児期からアキレス腱短縮があった29歳女性例があるが、祖父にもアキレス腱短縮・筋痛があり²⁰⁾、他の遺伝性因子の合併も否定できない。

本例の翼状肩甲は利き腕優位だったので、FSHD²¹⁾や DMD と同様に AMD でも過度の運動で悪化する可能性があるが²²⁾、過去の入院でも今回の入院でも運動療法で改善した。吸気筋訓練で呼吸機能が改善した AMD の47歳例もある²³⁾。AMD でも高度障害筋では結合組織が増加するが¹⁴⁾、通常の筋ジストロフィーに比し線維化は少ない。筋組織の壊死再生・線維化と筋短縮が乏しいため、AMD では適切な訓練で筋力が改善する可能性がある。

本例は AMD を示唆する一般検査所見はなかった。遠位筋が残存しているため、運動量も少なくなかったが、血清 CK、aldolase 値は正常だった。AMD は成人型も血清 CK 高値例がほとんどで、本例のような正常例はまれだが²⁴⁾、血清 CK 正常でも AMD は否定できない。生検組織にはタイプ 2C 線維の少数散在の他には、壊死・再生はみられなかった。AMD

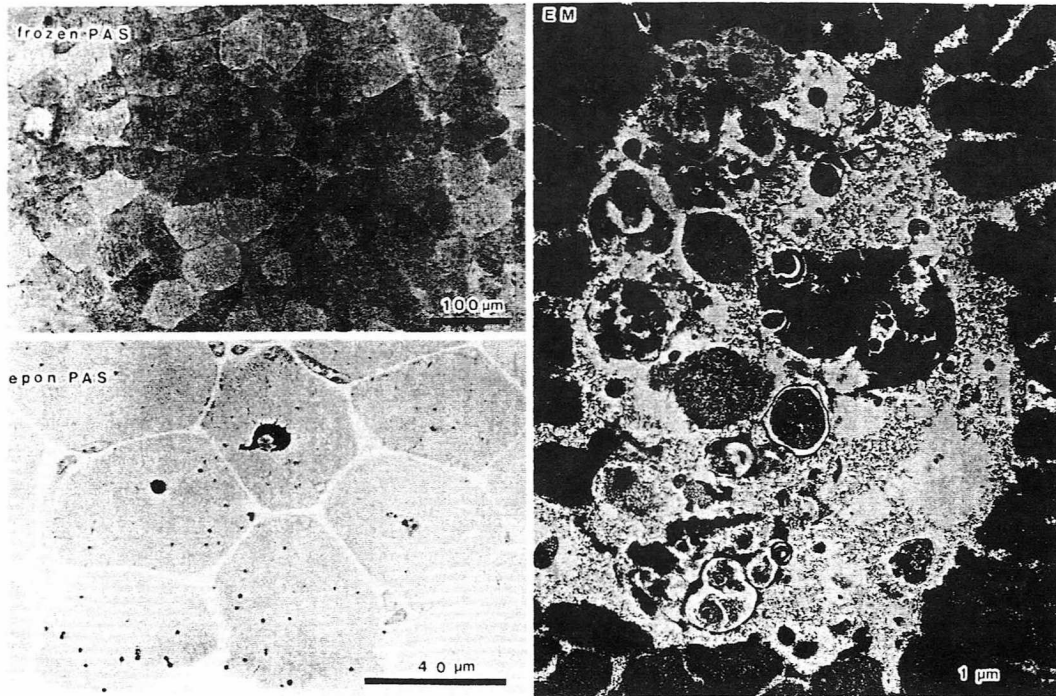


Fig. 4 Histopathology (glycogen storage and inclusions)

Frozen PAS: Periodic acid Schiff stain of frozen sections shows only small positive granules; glycogen in a large vacuole seems to be washed out. (A serial section to the sections of Figure 3)

Epon PAS: PAS stain of epon-embedded sections clearly demonstrates positivity around and in the inclusions, as well as many positive granules in muscle fibers.

Electron microscope (EM): The centrally placed inclusion consists of dense bodies, myelin-like bodies and glycogen storage within double or single membranes.

は針筋電図で myotonic discharge をみることが特徴的で¹⁾、その頻度は6割とされているが²⁾、本例で検査した上下肢筋にはみとめられなかった。Myotonic discharge はとくに傍脊柱筋にみられるとされるが³⁾、本例では脂肪置換が高度だったので検査しなかった。また AMD では呼吸筋が障害されやすいが^{17) 22) 23)}、本例は60歳代でも肺活量は保たれていた。ピークフローがやや低かったが、その後、肺活量が低下し、呼吸機能は経過観察が重要である。

AMD の筋組織所見は部位差がありうるが²⁴⁾、本例は PAS 陽性空胞が乏しいため、以前に診断にいたらなかった可能性がある。AMD では空胞が強調されるが、生検で空胞がめだたない症例もあり^{25) 26)}、本例のように封入体がめだつばあいは空胞の検索と超微形態から鑑別する必要がある。dystrophin などの膜蛋白の免疫染色で空胞の陽性所見は、rimmed vacuole と同様に自己貪食空胞の一特性と考えられ、免疫染色は自己貪食空胞の発見に有用である。封入体は、rimmed vacuole を時にともない、dense bodies 主体の lysosome 内の変性分解産物で、AMD で生じるが^{24) 30)}、過去の報告³⁰⁾と違い還元小体様ではなかった。封入体がめだった症例^{29) 30)}は呼吸不全をきたし、血清 CK も高値で、本例のような臨床的特徴はなかった。

AMD では FSHD などの筋ジストロフィーと類似した罹患

筋分布がみられることがあり、AMD と筋ジストロフィーとの間で筋選択性を生じる機序には何らかの共通性がうたがわれる。しかし AMD では壊死・再生と線維化が乏しいことを反映して、筋萎縮と脂肪置換に比較し筋短縮が生じにくいことは、成人の筋ジストロフィーの鑑別診断に参考になると考えた。

謝辞：筋組織の生化学的測定をおこなっていただいた浜松市発達医療総合センター小児神経科の福田冬季子、伊藤政孝、杉江秀夫の先生方に深謝致します。なお本症例研究の一部は厚生省精神・神経疾患研究委託費(11指-1)によっておこなわれた。

文 献

- 1) Engel AG, Hirschhorn R: Acid maltase deficiency. *In* Myology. Basic and Clinical. 2nd edition, edited by Engel AG and Franzini-Armstrong C. McGraw-Hill, Inc., New York, 1994. Chapt. 58, pp1533-1553
- 2) Kikuchi T, Yang HW, Pennybacker M, et al: Clinical and metabolic correction of Pompe disease by enzyme therapy in acid maltase-deficient quail. *J Clin Invest* 101: 827-833, 1998
- 3) Bijvoet AGA, Kroos MA, Pieper FR, et al: Recombinant human acid alpha-glucosidase: high level production in

- mouse milk, biochemical characteristics, correction of enzyme deficiency in GSDII KO mice. *Hum Mol Genet* 7: 1815-1821, 1998
- 4) Ausems MGEM, Lochman P, van Diggelen OP, et al: A diagnostic protocol for adult-onset glycogen storage disease type II. *Neurology* 52: 851-853, 1999
- 5) Felice KJ, North WA, Moore SA, et al: FSHI dystrophy 4 q35 deletion in patients presenting with facial-sparing scapular myopathy. *Neurology* 51: 1927-1931, 2000
- 6) van der Kooij AJ, Visser MC, Rosenberg N, et al: Extension of the clinical range of facioscapulohumeral dystrophy: report of six cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 69: 114-116, 2000
- 7) Munsat TL: Facioscapulohumeral disease and the scapulo-peroneal syndrome. In *Myology, Basic and Clinical*, 2nd edition, edited by Engel AG and Franzini-Armstrong C. McGraw-Hill, Inc., New York, 1994. Chapt. 41. pp1220-1232
- 8) Tsujino S, Huiie M, Kanazawa N, et al: Frequent mutations in Japanese patients with acid maltase deficiency. *Neuromuscul Disord* 10: 599-603, 2000
- 9) Felice KJ, Alessi AG, Grunnet ML: Clinical variability in adult-onset acid maltase deficiency: report of affected sibs and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 74: 131-135, 1995
- 10) Barohn RJ, McVey AL, DiMauro S: Adult acid maltase deficiency. *Muscle Nerve* 16: 672-676, 1993
- 11) Cinnamon J, Slonim AE, Black KS, et al: Evaluation of the lumbar spine in patients with glycogen storage disease: CT demonstration of patterns of paraspinal muscle atrophy. *AJNR Am J Neuroradiol* 12: 1099-1103, 1991
- 12) Awerbuch GI, Nigro MA, Wishnow R: Beevor's sign and facioscapulohumeral dystrophy. *Arch Neurol* 47: 1208-1209, 1990
- 13) 山崎峰雄, 新谷盟子, 清水潤ら: Acid maltase deficiency (juvenile type) の1例—免疫組織化学および生化学的検討—. *臨床神経* 32: 1266-1271, 1992
- 14) Herson D, Larde D, Ferry M, et al: Apport diagnostique du scanner X en pathologie musculaire. *Rev Neurol (Paris)* 141: 482-489, 1985
- 15) de Jager AEJ, van der Vliet TM, van der Ree TC, et al: Muscle computed tomography in adult-onset acid maltase deficiency. *Muscle Nerve* 21: 398-400, 1998
- 16) 川井 充, 岡本雅也, 本吉慶史ら: Duchenne 型筋ジストロフィー症の骨格筋 CT 所見とこれにもとづく病期分類. *臨床神経* 25: 578-590, 1985
- 17) 下條由紀, 小川雅文, 大矢 寧ら: 糖原病 II 型成人型患者の呼吸機能. 第10回日本神経学会, I-O-15, 2000, 5, 23, 松本, 抄録集 p101
- 18) Swash M, Schwartz MS. Apps MCP: Adult onset acid maltase deficiency. Distribution and progression of clinical and pathological abnormality in a family. *J Neurol Sci* 68: 61-74, 1985
- 19) van der Walt JD, Swash M, Leake J, et al: The pattern of involvement of adult-onset acid maltase deficiency at autopsy. *Muscle Nerve* 10: 272-281, 1987
- 20) Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Case 36-1986. *New Engl J Med* 315: 694-701, 1986
- 21) Brouwer OF, Padberg GW, van der Ploeg RJO, et al: The influence of handedness on the distribution of muscular weakness of the arm in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Brain* 115: 1587-1598, 1992
- 22) Trend PSJ, Wiles CM, Spencer GT, et al: Acid maltase deficiency in adults. Diagnosis and management in five cases. *Brain* 108: 845-860, 1985
- 23) Martin RJ, Sufit RL, Ringel SP, et al: Respiratory improvement by muscle training in adult-onset acid maltase deficiency. *Muscle Nerve* 6: 201-203, 1983
- 24) Keunen RWM, Lambregts PCLA, op de Coul AAW, et al: Respiratory failure as initial symptom of acid maltase deficiency. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 47: 549-552, 1984
- 25) Fernández R, Fernández JM, Cervera C, et al: Adult glycogenosis II with paracrystalline mitochondrial inclusions and Hirano bodies in skeletal muscle. *Neuromuscul Disord* 9: 136-143, 1999
- 26) Arai Y, Osawa M, Shishikura K, et al: Computed tomography and magnetic resonance imaging of affected muscle in childhood acid alpha-glucosidase deficiency: a case report. *Brain Dev* 15: 147-152, 1993
- 27) de Barsey T, Ferrière G, Fernandez-Alvarez E: Uncommon case of type II glycogenosis. *Acta Neuropathol (Berl)* 47: 245-247, 1979
- 28) Suarez J, Cohen M, Kaminski HJ: Congenital neuromuscular diseases presenting in adulthood. *Semin Neurol* 16: 47-54, 1996
- 29) Karpati G, Carpenter S, Eisen A, et al: The adult form of acid maltase (alpha-1, 4-glucosidase) deficiency. *Ann Neurol* 1: 276-280, 1977
- 30) Jay V, Christodoulou J, Mercer-Connolly A, et al: "Reducing body"-like inclusions in skeletal muscle in childhood-onset acid maltase deficiency. *Acta Neuropathol (Berl)* 85: 111-115, 1992

Abstract

Adult form of acid maltase deficiency presenting with pattern of muscle weakness resembling facioscapulohumeral dystrophy

Yasushi Oya, M.D.¹, Hiroyuki Morita, M.D.¹, Masafumi Ogawa, M.D.¹, Ikuya Nonaka, M.D.¹, Seiichi Tsujino, M.D.² and Mitsuru Kawai, M.D.¹

¹Department of Neurology, National Center Hospital for Mental, Nervous and Muscular Disorders, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), and

²Department of Inherited Metabolic Diseases, National Institute of Neuroscience, NCNP

We report a 61-year-old female patient with adult form of acid maltase deficiency showing many clinical similarities to facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). She developed difficulty in raising her right arm in her thirties followed by leg weakness. She had the typical features of FSHD, including bilateral scapular winging sparing the levator scapulae and deltoid muscles, and Beever's sign. Muscle involvement was asymmetrical. Facial muscles were not affected, while the neck flexor was weak. No muscle shortening or joint contracture was observed. On muscle CT, the lumbar paravertebral, gluteal and thigh muscles were replaced by adipose tissue, while the rectus femoris, gracilis, and sartorius muscles were spared. Serum creatine kinase level was not elevated. Muscle biopsy showed some vacuoles and many granular inclusions with high acid phosphatase activity. Acid maltase activity was very low in both muscle and cultured skin fibroblasts. Absence of shortening of affected muscles appears to be the characteristic finding suggesting metabolic myopathies with minimal fibrosis, rather than FSHD.

(Clinica Neurol, 41 : 390—396, 2001)

Key words : adult onset-acid maltase deficiency (glycogen storage disease type 2), scapular winging, skeletal muscle CT, muscle shortening, facioscapulohumeral type muscular dystrophy

Bupivacaine Hydrochloride Induces Muscle Fiber Necrosis and Hydroxyl Radical Formation-Dimethyl Sulphoxide Reduces Hydroxyl Radical Formation-

Nobuo Wakata M.D., Hideki Sugimoto M.D.,
Hiroaki Iguchi M.D., Atushi Nomoto M.D.,
Masao Kinoshita M.D.

Fourth Department of Internal Medicine,
Toho University School of Medicine,
2-17-6 Oohashi, Meguro-ku, Tokyo 153-8515, Japan.

Corresponding to Nobuo Wakata M.D.

Running head: Acute muscle necrosis and free radical formation.

Abstract

We induced acute skeletal muscle necrosis in rats using bupivacaine hydrochloride and found that both 2,5- and 2,3-dihydroxybenzoic acid significantly increased in skeletal muscle. A single administration of dimethyl sulphoxide, a free radical scavenger, significantly lowered concentrations of 2,5- and 2,3- dihydroxybenzoic acid. These results suggest that dimethyl sulphoxide is an effective hydroxyl radical scavenger and may be useful in the treatment of myopathy.

Key words: bupivacaine hydrochloride, hydroxyl radical, dimethyl sulphoxide.

Introduction

A number of studies of free radicals in skeletal muscle were performed in the 1980s (1,2), however, after the discovery of dystrophine (3,4), the number sharply declined. Even after the discovery of dystrophine an effective treatment for muscular dystrophy has yet to be found. In 1998, Rando et al (5). reported that oxidative damage might be the primary pathogenetic process responsible for muscular dystrophy. We were encouraged by this report to study free radical formation in the necrotic muscle, and modified our methods for studying hydroxyl radical formation in the brain (6) to investigate therapeutic drugs for conditions involving muscle necrosis, such as myopathy. The local anesthetic bupivacaine hydrochloride (BPVC) causes preferential damage to muscle fibers resulting in massive myonecrosis followed by a rapid repair process (7,8,9,10), conditions quite similar to those observed in Duchenne muscular dystrophy. We examined whether dimethyl sulphoxide (DMSO) could reduce BPVC-induced hydroxyl radical formation by measuring

dihydroxybenzoic acid (DHBA) with the salicylate-trapping method.

Materials and methods

We used 40 male Wistar strain rats (about 300g) , which were divided into 2 groups. We injected 1 ml of 0.5 % BPVC or saline into both the proximal and distal ends of the gastrocnemius tendon under ether anesthesia. After BPVC or saline treatment, the rats were sacrificed after either 2 hours, 7 hours, 2 days and 4 days. Thirty minutes before BPVC or saline treatment the rats were injected with 200 μ l of DMSO (0.73 g/kg) or saline intraperitoneally 10 rats in each group. Fifteen minutes before sacrifice the rats were given 300 mg/kg sodium salicylate intraperitoneally. The samples were taken from the center of the gastrocnemius and stored in a deep freezer at -80°C until analysis.

Experimental procedure

Samples weighting approximately 100 mg were homogenized in 0.7 ml of 0.2 M perchloride acid (containing 100 μ M EDTA and 100 μ M sodium metabisulfate) using a glass homogenizer and centrifuged at 20000 g for 20 min. at 4 °C in a microcentrifuge. Tissue sample supernatants were analyzed by high-performance liquid chromatography using an electrochemical detector (ESA-model 5500). The mobile phase consisted of 50 mM sodium acetate, 50 mM sodium citrate, 10 % methanol and 15 % acetonitrile (v/v). The pH of the mobile phase was adjusted with phosphoric acid to 2.5 after the addition of organic modifiers. The mobile phase was passed through the system at a rate of 0.8 ml/min. These procedures represent a modification of the method of McCabe et al (11).

Statistical methods

Means and SD were calculated using standard statistical procedure. Statistical analyses were performed using two-way Anova.

Results

1. Does BPVC-induced muscle necrosis increase hydroxyl radical formation?

2,5-DHBA levels in the BPVC treated group were significantly increased than in the saline treated group at all time points. 2,3-DHBA levels in the BPVC treated group were significantly higher than in the saline treated group at 7 hours and 2 days after treatment (Table).

2. Does DMSO reduce hydroxyl radical increases in skeletal muscle?

2,5-DHBA in the BPVC treated group was significantly lower in the DMSO injection group, compared with the saline injection group at 2 hours, 7 hours and 2 days after treatment. 2,3-DHBA in the BPVC treated group was

significantly lower in the DMSO injection group, compared with the saline injected group at all time points. 2,5-DHBA in the saline treated group was significantly lower in the DMSO injection group, compared with the saline injection group at 2 and 7 hours. 2,3-DHBA in the saline treated group was significantly lower in the DMSO injection group, compared with the saline injection group at 2 and 7 hours (Table).

Discussion

We have seen free radical formation due to ischemia-reperfusion in skeletal muscle (12), but we have never observed hydroxyl radical formation due to necrosed condition at skeletal muscle.

To model muscle necrosis, we injected BPVC into the rat gastrocnemius. BPVC is toxic to muscle fiber but not to peripheral nerves or blood vessels. Pathological studies revealed that BPVC-induced muscle fiber necrosis occurs within one hour after injection, with a peak at approximately within 2 days (9,10). Therefore, we measured hydroxyl radical 2 hours, 7 hours, 2 days and 4 days after treatment. Both 2,5- and 2,3-DHBA peaked at 7 hours, remaining at a high level through the 4th day. There is still a great debate as to which DHBA isomer better reflects hydroxyl radical levels. Some authors have suggested that the 2,3-DHBA is a more accurate representation of hydroxyl radical levels as the 2,5-DHBA can be formed *in vivo* by the action of cytochrome P450 (13,14). Whereas, others disagree and have suggested that 2,3-DHBA is indeed an accurate reflection of *in vivo* hydroxyl radical levels (15,16). However, present results are consonant with pathological findings showing that muscle fiber necrosis is most prominent within 2-3 days. Furthermore, saline treatment also increases hydroxyl radical formation due to muscle fiber damage. We did not, however, examine histological changes in saline-treated muscles.

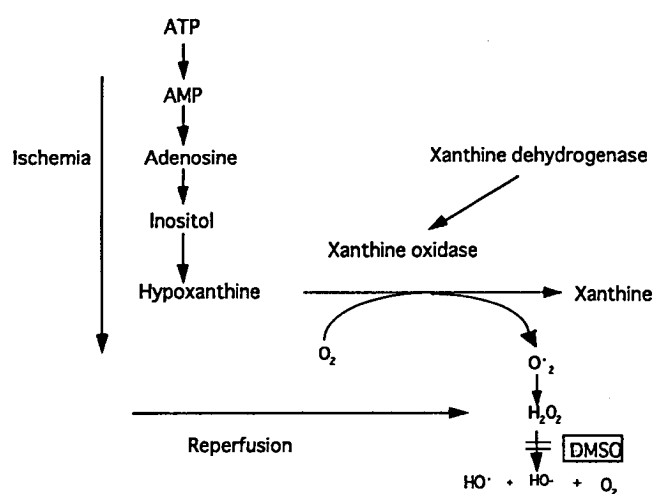


Fig. 1. Mechanism of oxygen free radical formation during reperfusion, and proposed site of DMSO (Modified from Concannon et al. (24) and Zavitsanos et al. (26))

DMSO is a dipolar aprotic solvent and an effective scavenger of hydroxyl radicals. DMSO has been studied in an animal model of xenobiotic-induced hepatotoxicity and has been shown to protect the liver if administered prior to, or within a few hours of, a toxin (17,18,19). However, Lind et al (20). reported that DMSO can have a protective effect when given much later, in animal models of organohalogen intoxication causing a delayed onset of liver injury. In this study, we injected DMSO 30 min. before BPVC treatment. However, if it had been given even earlier, or continuously, it may have led to greater 2,5- and 2,3-DHBA reductions. Reports of DMSO and the neuro-muscular system, have been published in ischemia-reperfusion in cerebrum (21), peripheral nerves (22) and skeletal muscle (23,24,25,26,27). However, they did not measure free radical directory, except the reports of Concannon et al (24). and Stoyanovsky et al

Table. Hydroxyl radical levels in each group (DHBA/Salicylate).

	BPVC-DMSO (-)	BPVC-DMSO (+)	saline-DMSO (-)	saline-DMSO (+)
2,5-DHBA				
2 hrs	1.566 ± 0.283##	0.710 ± 0.069***	1.230 ± 0.259	0.669 ± 0.093***
7 hrs	5.439 ± 1.218##	1.798 ± 0.222***	4.094 ± 0.869	1.842 ± 0.431***
2 days	4.319 ± 0.903###	3.320 ± 0.408**	2.666 ± 0.547	2.746 ± 0.425
4 days	4.308 ± 0.978 #	4.817 ± 1.454	3.294 ± 0.790	3.932 ± 0.716
2,3-DHBA				
2 hrs	0.165 ± 0.064	0.043 ± 0.018***	0.142 ± 0.038	0.070 ± 0.037***
7 hrs	0.398 ± 0.064#	0.097 ± 0.022***	0.342 ± 0.043	0.080 ± 0.013***
2 days	0.293 ± 0.089#	0.153 ± 0.016***	0.233 ± 0.072	0.210 ± 0.092
4 days	0.292 ± 0.047	0.206 ± 0.025***	0.318 ± 0.132	0.219 ± 0.071

2,5- and 2,3-DHBA in the skeletal muscle of BPVC-treated rats, with or without DMSO, and saline treated rats, with or without

DMSO. Data are expressed as means ± SD of 10 rats (N).

BPVC : bupivacaine hydrochloride, DMSO : dimethyl sulphoxide.

DMSO (-) : Saline was injected instead of DMSO.

* : Significant difference between DMSO (+) vs. DMSO (-) in either the BPVC- or saline-treated group.

: Significant difference between BPVC vs. saline treatment without DMSO injection.

#: p<0.05, ** or ##: p<0.01, *** or ###: p<0.001

(27). According to Concannon et al (24). oxygen free radicals from during ischemia because of a breakdown in aerobic metabolism, ATP stores can not be regenerated and are broken down into hypoxanthine. However, hypoxanthine cannot be broken down into xanthine until reperfusion, when oxygen is available to accept free electrons (Figure). In necrosis, DMSO may inhibit hydroxyl radical formation by a similar process. In the present study, we developed a muscle necrosis model which we treated with a single dose of DMSO 30 minutes before BPVC treatment. 2,5-DHBA was significantly lower at 2 hours, 7 hours and 2 days after treatment in the BPVC treatment group. 2,3-DHBA was significantly lower at all time points in the same group.

These results suggest that DMSO functions as a hydroxyl radical scavenger. While we do not maintain that BPVC-induced muscle necrosis, an acute experimental model, directly reflects the characteristics of human myopathy, our findings suggest that continuous DMSO administration might reduce muscular degeneration. To determine the therapeutic efficacy of DMSO, further study, particularly long term trials of muscle pathology, is required.

Acknowledgments: This work was supported in part by "The Research grant (11A-1-17) for Nervous and Mental Disorders" from the Japanese Ministry of Health and Welfare.

References

1. Kar, NC, and Person, CM. 1979. Catalase, superoxide dismutase, glutathione reductase and thiobarbituric acid-reactive products in normal and dystrophic human muscle. *Clin. Chimica. Acta* 94:277-280.
2. Burr, I.M., Asayama, K., and Fenichel, G.M. 1987. Superoxide dismutases, glutathione peroxidase, and catalase in neuromuscular disease. *Muscle Nerve* 10:150-154.
3. Klamut, H.J., Gangopadhyay, S.B., and Worton, G.R., and Ray, P.N. 1990. Molecular and functional analysis of the muscle-specific promoter region of the Duchenne muscular dystrophy gene. *Mol. Cell. Biol.* 10:193-205.
4. Boyce, F.M., Beggs, A.H., Feener, C., and Kunkel, L.M. 1991. Dystrophin is transcribed in brain from a distant upstream promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* . 88:1276-1280.
5. Rando, T.A., Crowley, R.S., Carlon, E.J., Epstein, C.J., and Mohapatra, P.K. 1998. Overexpression of copper/zinc superoxide dismutase: a novel cause of murine muscular dystrophy. *Ann. Neurol.* 44:381-386.
6. Wakata, N., Araki, Y., Sugimoto, H., Iguchi, H., and Kinoshita, M. 2000. IDPN-induced monoamine and hydroxyl radical changes in the rat brain. *Neurochem. Res.* 25:401-404.
7. Sokoll, M.D., Sonesson, B., and Thesleff, S. 1968. Denervation changes produced in an innervated skeletal muscle by long-continued treatment with a local anesthetic. *Eur. J. Pharmacol.* 4:179-187.
8. Benoit, P.W., and Belt, W.D. 1970. Destruction and regeneration of skeletal muscle after treatment with a local anesthetic, bupivacaine (Marcaine). *J. Anat.* 107:547-556.
9. Hall-Craggs, E.C.B., and Seyan, H.S. 1975. Histochemical changes in innervated and denervated skeletal muscle fibers following treatment with bupivacaine (Marcaine). *Exp. Neurol.* 46:345-354.
10. Nonaka, I., Takagi, A., Ishiura, S., Nakase, H., and Sugita, H. 1983. Pathophysiology of muscle fiber necrosis induced by bupivacaine hydrochloride (Marcaine). *Acta Neuropathol.* 60:167-174.
11. McCabe, D.R., Maher, T.J., and Acworth, I.N. 1997. Improved method for the estimation of hydroxyl free radical levels in vivo based on liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Chromatogr. B.* 691:23-32.
12. Korthuis, R.J., Granger, D.N., Townsley, M.I., and Taylor, A.E. 1985. The role of oxygen-derived free radicals in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability. *Circ. Res.* 57:599-609.
13. Ingelman-Sundberg, M., Kaur, H., Terelius, Y., Persson, J.O., and Halliwell, B. 1991. Hydroxylation of salicylate by microsomal fractions and cytochrome P-450. Lack of production of 2,3-dihydroxybenzoate unless hydroxyl radical formation is permitted. *Biochem. J.* 276:753-757.
14. Halliwell, B., Kaur, H., and Ingelman-Sundberg, M. 1991. Hydroxylation of salicylate as an assay for hydroxyl radicals: a cautionary note. *Free Rad. Biol. Med.* 10:439-441.
15. Hall, E.D., Andrus, P.K., Althaus, J.S., and von Voigtlander, P.F. 1993. Hydroxyl radical production and lipid peroxidation parallels selective post-ischemic vulnerability in gerbil brain. *J. Neurosci. Res.* 34:107-112.
16. Sloot, W.N., and Gramsbergen, J.B.P. 1995. Detection of salicylate and its hydroxylated adducts 2,3- and 2,5-dihydroxybenzoic acids as possible indices for in vivo hydroxyl radical formation in combination with catechol- and indoleamines and their metabolites in cerebrospinal fluid and brain tissue. *J. Neurosci. Methods* 60:141-149.
17. Mathew, T., Karunanithy, R., Yee, M.H., and Natarajan, P.N. 1980. Hepatotoxicity of dimethylformamide and dimethylsulfoxide at and above the levels used in some aflatoxin studies. *Lab. Invest.* 42:257-262.
18. Sieger, C.P. 1978. Antidotal effects of dimethyl sulfoxide against paracetamol-, bromobenzene- and thioacetamide-

- induced hepatotoxicity. *J. Pharm. Pharmacol.* 30:375-377.
19. Park, Y., Smith, R.D., Combs, A.B., and Kehrer, J.P. 1988. Prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity by dimethyl sulfoxide. *Toxicology* 52:165-175.
 20. Lind, R.C., and Gandolfi, A.J. 1997. Late dimethyl sulfoxide administration protective action against chemically induced injury in both liver and kidney. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 142:201-207.
 21. Hülsmann, S., Greiner, C., Köhling, R., Wölfer, J., Moskopp, D., Riemann, B., Lücke, A., Wassmann, H., and Speckmann, E.J. 1999. Dimethyl sulfoxide increases latency of anoxic terminal negativity in hippocampal slices of guinea pig in vitro. *Neurosci. Lett.* 261:1-4.
 22. Schmelzer, J.D., Zochodne, D.W., and Low, P.A. 1989. Ischemic and reperfusion injury of rat peripheral nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* . 86:1639-1642.
 23. Feller, A.M., Roth, A.C., Russell, R.C., Eagleton, B., Suchy, H., and Debs, N. 1989. Experimental evaluation of oxygen free radical scavengers in the prevention of reperfusion injury to skeletal muscle. *Ann. Plast. Surg.* 22:321-330.
 24. Concannon, M.J., Kester, C.G., Welsh, C.F., and Puckett, C.L. 1992. Patterns of free radical production after tourniquet ischemia: Implications for the hand surgeon. *Plast. Reconstr. Surg.* 89:846-852.
 25. Bushell, A., Klenerman, L., Davies, H., Grierson, I., and Jackson, M. 1996. Ischemia-reperfusion-induced muscle damage: Protective effect of corticosteroids and antioxidants in rabbits. *Acta Orthop. Scand.* 67:393-398.
 26. Zavitsanos, G., Huang, L., Panza, W., Serafin, D., and Klitzman, B. 1996. Limiting impairment of muscle function following ischemia and reperfusion in rabbits. *J. Reconstr. Microsurg.* 12:183-187
 27. Stoyanovsky, D.A., Melnikov, Z., and Cederbaum, A.I. 1999. ESR and HPLC-EC analysis of the interaction of hydroxyl radical with DMSO: Rapid reduction and quantification of POBN and PBN nitroxides. *Anal. Chem.* 71:715-721.

疾患遺伝子診断を対象とする Duchenne型筋ジストロフィーの 着床前遺伝子診断法の開発とその意義

末岡 浩, 土屋慎一, 加藤真吾*, 松田紀子, 佐藤健二,
中林 章, 谷垣礼子, 田島博人, 浅田弘法, 吉村泰典
慶應義塾大学医学部産婦人科学教室
*慶應義塾大学医学部微生物学教室

「緒言」

重篤な疾患遺伝子病保因者の出生前診断に代わる新たな生殖医学的アプローチとして、出生前診断による母体に与える身体的・精神的苦痛を軽減しうる着床前遺伝子診断(PGD)の概念が開発されている^{1, 2)}。

しかし、技術面・倫理面などの多面的な問題を解決することが実施に際して重要な条件となることが指摘され、本邦においては臨床実施に長い経過時間を要している。

低侵襲的なPGDの技術的検討と同時に倫理面、社会面からこのPGDに対する議論が各方面で行われてきたが、実施側としての見解を日本産科婦人科学会ではガイドラインとして平成10年10月に公表した³⁾。この中でPGDは臨床研究として行われること、適応となる疾患は同学会において申請された疾患ごとに審査され、重篤な遺伝性疾患を診断する以外の目的に使用してはならないこと、PGDの実施施設は予め申請と認可を得る必要があり、所属する医療機関の倫理委員会で許可されている必要があることが示されている。さらに、クライアント夫婦の強い希望があり、夫婦間で合意が得られた場合のみに認められるものであり、十分なカウンセリングと理解の上での用意が要求される。

これらの背景の中でDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)を対象とし、性別診断に代わり単一細胞からの疾患遺伝子診断を原則とした系統的診断プロトコル案を作製し、その診断成績を含め、臨床応用の可否につき検討することを目的とした。

「方法」

1) DNA抽出法

単一細胞から安定してDNA抽出を行うための抽出法に関する検討を4種類の方法について行った⁴⁾。

① Water method :

細胞を超純水中に入れることで、低張液中で細胞が破壊され、DNAを露出させる処理を行った。

② Freezing and boiling method :

細胞を60 μ lの超純水に入れ、液体窒素内へ入れて凍

結の後、室温で融解を2回施行した。その後に100°Cで10分間の加熱処理を行った。

③ Two-step lysis method :

50mM dithiothreitol添加の200mMのKOH溶液5 μ l中に細胞を入れて遠心し、65°Cで10分間に加熱処理の後、900mM Tris - HCl(pH 8.3), 300mM KCl, 200mM HCl溶液で中和させて抽出した。

④ Spanning method :

N-Lauroyl sarcosine塩を含むlysis bufferに入れ、反応液を添加した。

2) 顕微授精法および割球・極体生検法

多精子受精および精子の混入が診断ミスの大きな原因となり得るため、体外受精による受精法は全て、卵細胞質内精子注入法を用いることとした。また、検体の採取については卵に対する侵襲を極力軽減するために、極体は、顕微授精用の微小針で、精子注入後、そのままaspiration法にて採取した。割球生検については、Ca²⁺/Mg²⁺ free mediumの下、4~8分割期胚を用い、胚の透明帯に小切開を加え、その後針を卵卵腔に刺入して培養液を注入し、切開孔から割球を圧出するextrusion法にて割球生検を施行した⁵⁾。

3) プライマーの設計およびPCRプロトコール

Dystrophin遺伝子の中で、deletionのhot spotであるexon 8, 44, 45, 50, 51の5つの遺伝子部分について増幅効率の高いプライマーの設計を行った⁶⁾。

PCRは10mM Tris - HCl, 50mM KCl, 2.0mM Mg²⁺, 200 μ M dNTP, 1.25u Taq polymeraseを含む反応液100 μ lで行い、2組のプライマーを用いて30サイクルずつのnested PCRによる増幅を行った。

4) ジストロフィン遺伝子配列分析

増幅された遺伝子は、遺伝子配列分析機(ABI PRISM 310) genetic analyzerを用いてdye terminator法で分析を行い、目的とする増幅産物であるかどうかの確認および微小変異の存在の有無を検討した。

「結果」

1) DNA抽出法による単一細胞からの遺伝子診断効率

Dystrophin exon45を対象とし、非疾患および疾患単一リンパ球を用いた欠失診断精度は、Water methodは49%, Freezing and boiling methodは33%と低い精度を示した。また、Two-step lysis methodは78%と良い成績を示したが、操作手技が煩雑であるため、contamination等の偽陰性率は10%と高値を示した。一方、Spanning methodは診断精度が90%で、しかも偽陰性率も2.5%と良好な成績を示した。

従来Water methodおよびFreezing and boiling

methodによるDNA抽出法は効率が高くはなく、診断精度低下の一因となることが示された。また、Two-step lysis methodは高い診断精度を示したが、手技が煩雑でありcontaminationの可能性が増加した。一方、Spanning methodは操作手技が少なく簡単であることからcontamination等の診断ミスの危険を回避できるのみならず、高い診断精度を示し、PGDのDNA抽出法として有用であることが示された。

2) 割球および第一極体からの遺伝子診断効率

Table 1 にヒト体外受精の余剰胚からインフォームドコンセントの上、顕微操作によって得た割球および第一極体をサンプルとしてジストロフィン遺伝子についての診断効率結果を示す。

割球・極体を対象とした単一細胞からの診断精度も、Spanning methodが最も高い精度を示し、また、リンパ球・第一極体・割球の各細胞間における診断精度には有意な差を認めなかったことからDNA抽出法は統一

してSpanning methodとした。

exon 8, 44, 45, 50, 51の各遺伝子部分についての診断効率は割球からの診断では85~95%であり、正常であるにもかかわらず遺伝子欠失と診断されたことを意味する擬陽性を示した比率は2.5~10%であった。

一方、第一極体からの診断効率は80~95%であり、割球とはほぼ同様の診断効率を示した。このうち擬陽性は5~10%であった。すなわち、割球、第一極体ともに単一細胞における遺伝子診断率は同等であることを示した。

3) DMD患者のリンパ球に関する診断効率

実際に欠失を有するDMD患者からの遺伝子診断効率を確認した。Table 2 にDMD患者および健康男性由来の単一リンパ球から遺伝子診断を行った診断効率結果を示した。正常細胞におけるPCR増幅診断効率は85~95%であり、100%には及ばなかったが、安定した高い診断効率を示した。この内容は擬陽性率が5%以下でバ

Table 1. 割球および極体からの遺伝子診断効率

(1) 割球からの遺伝子診断効率 (%) :			
	擬陽性	不明	効率
exon 8	7.5 (3/40)	7.5 (3/40)	85 (34/40)
exon 44	2.5 (1/40)	2.5 (1/40)	95 (38/40)
exon 45	10 (4/40)	5 (2/40)	85 (34/40)
exon 51	7.5 (3/40)	2.5 (1/40)	90 (36/40)
(2) 第一極体からの遺伝子診断効率 (%) :			
	擬陽性	不明	効率
exon 8	10 (2/20)	5 (1/20)	85 (17/20)
exon 44	5 (1/20)	0 (0/20)	95 (19/20)
exon 45	10 (2/20)	10 (2/20)	80 (16/20)
exon 51	5 (1/20)	5 (1/20)	90 (18/20)

Table 2. DMD患者および正常リンパ球からの遺伝子診断効率 (%)

(1) 正常細胞 :			
	擬陽性	不明	効率
exon 8	5 (2/40)	5 (2/40)	90 (36/40)
exon 44	0 (0/40)	5 (2/40)	95 (38/40)
exon 45	5 (2/40)	10 (4/40)	85 (34/40)
exon 51	5 (2/40)	5 (2/40)	90 (36/40)
(2) DMD患者細胞 :			
	擬陽性	不明	効率
exon 8	0 (0/40)	7.5 (3/40)	90 (37/40)
exon 44	5 (2/40)	5 (2/40)	90 (36/40)
exon 45	0 (0/40)	10 (4/40)	90 (36/40)
exon 51	5 (2/40)	5 (2/40)	90 (36/40)

ンドの検出が不安定であったなどの判定不明率が5~10%であった。一方、患者細胞からの診断では、バンドが検出されないはずの遺伝子にバンドが検出された擬陽性率が0~5%、判定不明率が5~10%であり、90%の細胞で診断が可能であるとの結果を得た。

2)3)の結果より、割球診断のみでは92.5%の胚を移植可能と診断するが、内2.5%の偽陰性を含んでいることとなり、胚移植可能と診断した胚における正診率は97%となる。そこで、極体診断を併用することにより、移植可能と診断する胚は77.75%と低下するが、0.15%の偽陰性を含むのみとなり、胚移植可能と診断した胚における正診率は99.8%となり、診断ミスの頻度を低下させる事が可能となった。

〔考 察〕

PGDの診断情報は疾患遺伝子本体の診断を対象とした。PGDは臨床研究として位置づけられており、研究実施施設における研究目的に従って異なるプロトコルで構成されることは突然の帰結である。しかし、技術面、倫理面、社会面などから十分に検討されたものであるべきである。X連鎖性遺伝性疾患を対象とする性別診断によるPGDでは確実な診断精度が得られることは有利な点である⁷⁻⁹⁾。しかし、実質的に1/2は正常胚を含む男児胚は棄却され、胚移植に供される女兒胚の1/2は保因胚である。本来のPGDの意味は疾患遺伝子の有無を診断することであり、その代用法として性別診断が位置づけられるとすれば、研究目標としては疾患遺伝子の診断を目的とすべきである。現状では全ての遺伝子病型に対して対応は可能ではないが、ジストロフィン遺伝子についてdeletion病型については高い診断精度が得られ、その他の病型についても診断が可能となりつつあることから、PGDプロトコルとしては疾患遺伝子本体の診断を原則とすべきであるとの結論に到達した。

従来からの割球を診断する方法に対し、極体を補助診断に加えることを本診断ストラテジーに加えた¹⁰⁾。極体は割球と相反する遺伝的情報を有しており、極体診断は割球診断に比べて、胚に対する侵襲がより小さく、受精卵のみならず未受精卵をも対象とするため、早期診断が可能となり得る。複数の割球を採取するより、極体を診断の対象として代用することで侵襲を軽減することが可能となる。本来なら棄却される極体を用いることによって診断ミスを軽減させる安全性の高いプロトコルを作製した結果、診断精度は向上した。この際に問題となるのは極体が割球に比較して、小さく採取する際のミスを含め、同等の診断効率を得ることが可能であるかである。実験結果に示すように割球、リンパ球に比較して極体における遺伝子診断効率が低下を示すことはなかったことから、本法の併用が有効

であることを示すに至った。その結果、1回の割球診断のみでは86.5%の胚を移植可能と診断するが、その中には1.5%の偽陰性を含んでいる。よって、胚移植可能と診断した胚の中には1.5%の異常胚が含まれており、胚移植可能と診断した胚における正診率は98.3%となる。そこで、極体診断と割球診断を併用することにより、移植可能と診断する胚は72.28%と低下するが、0.03%の偽陰性を含むのみとなり、胚移植可能と診断した胚における正診率は99.9%となり、誤診断の頻度を低下させる事が可能となった。

遺伝子情報の高い診断精度を得るためにはPCRによる診断効率を追求し、確実に高い精度を得る必要がある。この際生じる診断ミスの原因としては、(1)増幅の不成功、(2)精子のDNAの混入、(3)サンプリングの失敗、(4)サンプルに生じていた異数体発生などが指摘できる。(1)ではDNAニックの断裂やプライマー同士の反応などの発生が原因である可能性があり、また、マグネシウム濃度の調整が重要な鍵を握る。また、PCRのプライマーに関しては、着床前遺伝子診断用に増幅効率の良いプライマーを設計することが必要となり、また、その増幅に際しての条件を再調整する必要がある。(2)では通常の体外受精よりもICSIによる受精の方が混入を防ぐことができる。(3)に対しては技術の習熟による安定化と微量のゲノムDNAを抽出する新たな方法の開発も必要となる。(4)に対しては良好胚を選択すべきである^{11, 12)}。

細胞条件を除外した際にPCRによる遺伝子増幅診断効率がほぼ全てに可能となれば配列分析は可能となり、診断できる遺伝子病型をさらに拡張できることが示唆される。

〔文 献〕

- 1) Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, et al : Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990 ; 244: 768-770
- 2) Handyside AH, Lesko JG, Tarin JJ, et al : Birth of a normal girl after in vitro fertilisation and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1992 ; 327: 905-909
- 3) 会告「着床前診断」に関する見解. 日本産科婦人科学会雑誌 1998 ; 50(10): 22
- 4) Hashiba T, Sueoka K, Kuroshima M, et al : A simplified method for lysis of single cells in PCR-based preimplantation genetic diagnosis. *Jpn. J. Fertil. Steril.*, 1999 ; 44(3) : 41(253)-44(256)
- 5) 末岡 浩, 橋場剛士, 浅田弘法, ほか : 配偶子, 受精卵の遺伝子診断. 日本受精着床学会誌 1996 ; 13 : 20-26

- 6) 土屋慎一, 末岡 浩, 松田紀子, ほか: 着床前診断におけるジストロフィン遺伝子のプライマー設計と至適条件の検討. 日本不妊学会雑誌 1997; 42(3):222(408)
- 7) Griffin DK, Wilton LJ, Handyside AH, et al.: Dual fluorescent in situ hybridisation for simultaneous detection of X and Y chromosome-specific probes for the sexing of human preimplantation embryonic nuclei. Hum. Genet. 1992; 89: 18-22
- 8) Griffin DK, Wilton LJ, Handyside AH, et al.: Pregnancies following the diagnosis of sex in preimplantation embryos by fluorescent in situ hybridisation. Br. Med. J. 1993; 306: 1382-1383
- 9) Hashiba T, Sueoka K, Asada H, et al.: An accurate and rapid multiplex polymerase-chain-reaction assay for gender determination in single cell: For the development of preimplantation diagnosis. Fert. Steril. 1995; S65
- 10) Munne S, Dailey T, Sultan KM, et al.: The use of first polar bodies for preimplantation diagnosis of aneuploidy. Hum Reprod 1995; 10: 1014-1020
- 11) Delhanty JDA, Griffin DK, Handyside AH, et al.: Detection of aneuploidy and chromosomal mosaicism in human embryos during preimplantation sex determination by fluorescent in situ hybridisation, (FISH). Human Molecular Genetics, 1993; 2(8): 1183-1185
- 12) Coonen E, Harper JC, Ramaekers FCS, et al.: Presence of chromosomal mosaicism in abnormal preimplantation embryos detected by fluorescence in situ hybridisation. Hum. Genet., 1994; 94: 609-615

Ⅲ. 出生前診断と医の倫理

着床前診断の臨床応用

末岡 浩*

1. 背景と意義

妊娠によって正常な子孫の出生をもたらすことは、いつの時代にも両親や人間社会に存在してきた願いである。また、その期待以前に自然社会で生物が生存してゆくために生物学的にも重要な意味を有してきた。現代の医療のなかで妊娠中に胎児の正常性を診断することを目的に行われる種々の出生前診断は、妊娠 15～18 週で施行される羊水穿刺 (amniocentesis) や妊娠 9～11 週で行われる絨毛採取 (chorionic villi sampling : CVS) がその代表とされる技術である。

しかし、出生前診断に対する最大の議論は伝えられた胎児の異常についての情報が、結果的には、その多くに人工妊娠中絶をもたらすことになるという事実を集約される。中絶に関しては、倫理的、社会的、法的見地からの議論が古くからなされてきたことは周知の事実であるが、当事者にとって身体的・精神的視点から望ましい手段でないことは明らかである。

分子生物学・遺伝学の急速な進歩は、ヒトゲノム解析の大プロジェクトを生み、疾患にかかわる病因遺伝子が次々に発見されつつある。西暦 2000 年初頭にはヒトのすべての遺伝子が解読されようとしている。それと同時に、1970 年代後半から急速な発展を遂げてきた生殖医学は、1980

年代に体外受精技術の確立と普及によってさらに加速され、胚操作に関わる発生学的研究や、配偶子や胚の顕微操作が日常に行われるようになった。これによってもたらされた生殖技術の発展の延長線上に、生殖によって後世にも引き継がれる疾患を予測しようとする技術の背景が形成された。そして、解明された病因遺伝子を少ない細胞から正確に、しかも効率良く診断することのできる遺伝子増幅技術や遺伝子プローブ診断技術などが開発され、着床前遺伝子診断 (preimplantation genetic diagnosis : PGD) の概念が確立された。この技術は初期胚の一部の細胞から遺伝子情報を診断することで目的とする疾患の伝播を予測することから、妊娠が成立してから疾患の存在を知る出生前診断の後に生じてくる人工妊娠中絶を回避できることになる。

近年、これに対する多面的な議論が活発になされてきたことは事実であり、またこの議論の背景には国状、人種、宗教などさまざまな影響を及ぼす要素が存在し、単純な結論を求めることは困難である。そして、医学の進歩とともにその議論も刻一刻変化していることも事実である。

2. 遺伝子診断の対象疾患と世界の動向

我が国における診断の対象は、日本産科婦人科学会による会告によれば、臨床経過が重篤な遺伝性疾患に限られるとされているが、現状では遺伝子診断が技術的に可能である疾患およびその遺伝

*慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

子病型は限られている。

一般的に遺伝子および染色体情報を胚または配偶子から診断をすることができるが、具体的に用いることのできる遺伝子診断の手法は、PCR法とFISH法がその主役となる。単一細胞からの微量DNAを材料として確実な診断をする必要から、前述した性別診断によって少なくとも疾患の発現を回避できるX連鎖性遺伝性疾患が、当初最も実現性の高い対象と考えられた。しかし、診断技術の向上は著しく、そのために単一疾患遺伝子の診断も可能となりつつある。現時点でも表1に示す疾患が診断可能である。ただし、遺伝子疾患の発生頻度は民族間で異なり、また、倫理面での認識や法的解釈も各民族、国家などで異なるため、実際に容認される疾患も国別に異なることが予想される。

着床前遺伝子診断の研究は、1980年代中頃に

英国において開始された。実際の臨床研究は1990年Handysideらがヒト受精卵に対し、Y染色体上の遺伝子について、PCR法を用いて性別診断を行ったことに始まる¹⁾。

1990年に着床前遺伝子診断に関する国際ワーキンググループ (International Working Party on Preimplantation Genetics) が設立され、国際間の情報交換が報告されているが、現在までに登録された28施設で実施された遺伝性疾患は最も多く実施された嚢胞性線維症以外に、X連鎖性遺伝性疾患からは血友病、Lesh-Nyhan症候群、Duchenne型筋ジストロフィー²⁾、3塩基反復伸張型遺伝病からは脆弱X症候群、筋緊張型ジストロフィー、その他の単一遺伝子疾患のなかからはMarfan症候群³⁾、Rh不適合、鎌状赤血球症、Tay-Sachs病⁴⁾、遺伝性癌⁵⁾などが報告されている。

表1 着床前遺伝子診断可能な疾患

① X連鎖性遺伝性疾患

Duchenne型筋ジストロフィー Duchenne muscular dystrophy
 血友病 A Hemophilia A
 Lesch-Nyhan症候群
 脆弱X症候群 Fragile X syndrome
 X連鎖性精神遅滞 X-linked mental retardation
 Wiskott Aldrich症候群
 副腎脳白質ジストロフィー Adrenoleukodystrophy
 低 γ グロブリン血症 Hypogammaglobulinemia
 X連鎖性痙性対麻痺 X-linked spastic paraplegia
 知覚運動ニューロン疾患II型 Sensory motor neuron disease, type II
 メチルサラセミア α methyl thalassemia

② 単一遺伝子疾患

嚢胞性線維症 Cystic fibrosis (Δ F508 alleleのみ)
 Lesch-Nyhan症候群 (HPRTのmutationの一部のみ)
 Duchenne型筋ジストロフィー Duchenne muscular dystrophy (deletionの症例のみ)
 Tay-Sachs症候群
 血友病 A Hemophilia A
 α_1 -アンチトリプシン欠乏症 α -1-antitrypsin deficiency
 色素性網膜炎 Retinitis pigmentosa
 脆弱X症候群 Fragile X syndrome
 Marfan症候群
 β -グロビン欠損症 β -globin defect
 腺腫性結腸ポリポシス adenomatous polyposis coli

1997年5月の報告では、ヨーロッパ16施設(スペイン, イタリア, イギリス, スウェーデン, オランダ, ギリシャ, フィンランド), アメリカ合衆国10施設, オーストラリア3施設, イスラエル3施設, コロンビア, ブラジル, 韓国各1施設の加盟があり, 総計35施設においてこれまでに377症例に対して569周期の着床前診断が行われ, 454周期の胚移植が行われている。このうち妊娠は116例であり, すでに72回の分娩で96人の新生児が生まれている。内訳の疾患は嚢胞性線維症が圧倒的に多いが, 今後施行症例数のみならず, 対象疾患の幅の拡大やその対応などをめぐり, 大きな変革期に入ることが予想される。

3. 日本における着床前遺伝子診断の 対応とガイドライン

我が国における着床前遺伝子診断は現在なお実施されていない。実施に先立ち, 医学的観点での議論のみならず, 倫理面や法律面などの多面的な

意見の交換が必要と判断され, 議論がなされてきた。

とくに, 実際に着床前遺伝子診断の実施者となる産婦人科医の団体として, 日本産科婦人科学会では倫理委員会のなかで2年にわたる審議を行った結果として, 平成10年5月にガイドライン案をまとめ, 会議に公表した意見を公開に問いかけた。この間, さまざまな意見を交換する場として, 公開シンポジウムが開催され, これらを通じて種々の意見を代表する団体に所属する人々との意見の交換が行われた。

そのうえで, 最終的な公式見解として平成11年10月に「着床前診断に関する見解」(表2)を会告に示した。着床前遺伝子診断は臨床研究として位置付けられており, 会告のなかではとくに, 適応となる疾患として重篤な遺伝性疾患を診断する以外の目的に本法を使用してはならないこと, クライアントの強い希望があり, 夫婦間での合意が必要であることを謳っている。

この裏にはクライアントが保因する疾患遺伝子

表2 「着床前診断」に関する見解

- 1) 受精卵(胚)の着床前診断(以下本法)に対し, ヒトの体外受精・胚移植技術の適用を認め, 遵守すべき条件を2)に定める。
- 2) 本法を実施する場合は, 以下に示す条件を遵守する。
 - (1) 本法は極めて高度な技術を要する医療行為であり, 臨床研究として行われる。
 - (2) 本法の実施者は, 生殖医学に関する高度の知識・技術を習得した医師であり, かつ遺伝性疾患に対して深い知識と出生前診断の豊かな経験を有していることを必要とする。
 - (3) 本法を実施する医療機関は, すでに体外受精・胚移植による分娩例を有し, かつ出生前診断に関して実績を有することを必要とする。また, 遺伝子診断の技術に関する業績を有することを要する。
 - (4) 本法は重篤な遺伝性疾患に限り適用される。適応となる疾患は日本産科婦人科学会(以下本会)において申請された疾患ごとに審査される。なお, 重篤な遺伝性疾患を診断する以外の目的に本法を使用してはならない。
 - (5) 本法の実施にあたっては, 所定の様式に従って本会に申請し, 許可を得なければならない。また, 実施状況とその結果について毎年定期的に報告する義務を負う。なお, 申請にあたっては, 会員が所属する医療機関の倫理委員会にて許可されていることを前提とする。
 - (6) 本法の実施は, 強い希望がありかつ夫婦間で合意が得られた場合に限り認めるものとする。本法の実施にあたっては, 実施者は実施前に当該夫婦に対して, 本法の概略, 予想される成績, 安全性, 従来の出生前診断との異同等を文書にて説明の上, 患者の自己決定権を尊重し, 文書にて同意(インフォームドコンセント)を得, これを保管する。また, 被実施者夫婦およびその出生児のプライバシーを厳重に守ることとする。

「会告」日本産科婦人科学会雑誌 50 (10):22, 1998 より引用

について深く理解し、技術面のみならず、疾患を取り巻く社会的状況や心理的側面に至るまで、幅広い配慮が必要であることを示唆する、根底にある意図を理解しなくてはならない。

また、実施にあたっての内容の骨子として、1) 基本となる生殖技術として体外受精の技術的安定の得られている施設で行うこと、2) 対象となる疾患は審査のうえで認可された重篤な遺伝性疾患に限られること、3) 十分な説明を行い、クライアント夫婦の同意を得ることが盛り込まれている。

4. 着床前診断の倫理的問題点

着床前遺伝子診断は、臨床的技術が未だ確立されていない臨床研究の位置付けのなかで、その不確実性や社会やクライアント個人に及ぼすさまざまな影響を配慮して実施されなければならない。とくに研究といえども、クライアントに対してはその利益のみならず、不利益を被る部分について十分な理解を得る必要がある。技術的な不確実性については、他国に劣らないか、または、優れている進展状況と考えられるが、遺伝子診断が可能な疾患や遺伝子病型には、なお制限がある。例えば、筋ジストロフィーを対象と考えた場合を例に挙げると、X連鎖性遺伝性疾患である Duchenne 型筋ジストロフィーのなかで約 60% を占める deletion 型については 98% の遺伝子病型に診断が可能であるが、point mutation 型や duplication 型は単一細胞からではなお診断不能の状況にある。これに対してジストロフィン遺伝子自体の診断ではなく、性別診断で代用するとはほぼ性別は確実に診断ができるため、当初から性別診断のみを実施、または診断の確実性を高めるとの意図から性別診断を併用することが行われてきた。しかし、その結果として移植胚として選択されるのは女兒胚である可能性が高く、男性が生まれないにもかかわらず、その棄却される男児胚の 1/2 は疾患遺伝子をもたない胚である。

また、同じジストロフィン遺伝子変異の病型で、より軽症とされる Becker 型筋ジストロフィーのなかにも、臨床像の重症程度には大きな開きがあるとされている。これらの問題点は技術的進歩により、次第に解決の方向へ進むことが予測できるが、現状での実施については各方面の問題点となりうることである。

その他のクライアントに及ぼす影響については、本法を受けることで、排卵誘発剤による副作用や体外受精における侵襲、胚操作に関わる安全性、さらに家族関係に及ぼす影響や種々の心理的問題などを挙げるができるが、十分な医学的処置とカウンセリングを行うことで問題の解決は可能である部分が多い。

クライアントに対して直接関わる影響のみならず、社会に及ぼす影響についての議論は少なくなない。諸方面からの多面的な意見として優生思想的な考え方につながる方法は回避すべきであること、障害をもつ者に対する社会の認識と対応の持続的な改善が先決であることなどが繰り返し議論されている。長期的には障害を有する人々がともに働き、共存できる社会の建設が重要な目標であることはすべての人々の共通した認識である。その過程のなかで、個々の疾患や医学的管理を含め、社会の対応は異なることもまた事実であることから、特定した病態への医療行為として研究を進めてゆくことが、疾患を抱える者やその家族にとって重要な一歩であるとの現実的な意見もある。倫理的な局面からのコンセンサスは、なお議論の延長線上にあると考えられる。

医療サイドの解釈が、必ずしもクライアントとなる疾患家系の人々の理解を反映するとは限らないことから、客観的な評価を行うために特定の遺伝性疾患について、心理テスト、アンケートおよびインタビューによる調査を行ってきた。その結果、遺伝子病の家系であることによってストレスを有していることが示され、それによって家族関係に変化を及ぼしていることが明らかとなった。本法の実施についての調査では保因者家系のとく

に生殖年齢にある女性のクライアントは関心が深く、多数派は出生前診断より着床前診断を希望する意見であった。ここでも調査対象となる夫婦間や患者と家族の間での意見に差のあるケースなどで意見は多様であり、臨床研究の参加はクライアントの自己決定に委ねられることにはなるが、そのために正確な説明とカウンセリングが不可欠であることが示唆される。

また、医療サイドのなかにも関わる立場によって意見は多様である。出生前診断や着床前診断に直接に関わる医療従事者に対してアンケート調査を行うと、出生前診断によってもたらされる人工妊娠中絶を実施する者として、産婦人科医師および助産婦の大部分は強い心理的ストレスを有し、実施者となることを望んでいないことが明らかとなった⁹⁾。しかし、このことはクライアントや本法に関心のある各方面の専門家でも認識していた人々は皆無に等しく、様々な議論のなかでこの点に配慮の及ぶことは全くなかったことが示された。人工妊娠中絶について母体保護法では胎児各項を認めてはおらず、厳格な中絶理由を追及すれば実施者側のストレスはさらに増大する可能性のあることの新たな認識をもたざるをえないといえる。

5. 着床前診断臨床研究に関する カウンセリング(説明と同意)

着床前遺伝子診断の技術的検討が進み、より確実で安全な方法が確立されつつある^{7~9)}。しかし、この臨床実施には、対象となるクライアントに対し、社会的・倫理的な配慮と説明・同意を含めた深い理解が必要である¹⁰⁾。その対象者の抱える医学的、社会的背景は、疾患や個人の状況によって個々異なることが予測されるが、この日進月歩の技術的背景をもとに、倫理面、社会面からこの着床前遺伝子診断に対する議論が各方面で行われ、そのなかで、実施者となる医師側の団体として日本産科婦人科学会では、会員に対するガイ

ドラインを公表していることは前に述べた。このなかで謳われているように、クライアントに対する説明や同意などについては、とくに十分な配慮が必要である。しかし、この方法についての具体的な指示はなされていない。実施施設が、その研究プロトコルに従って、また対象となる疾患やクライアントに応じて作製する必要がある。極めてデリケートな部分が心理面のみならず法律面、社会面にも存在することから、医学、法学、社会学などをはじめとする多面的な有識者の客観性のある意見を反映させて、「着床前診断臨床研究に関する説明と同意書」を作製する必要がある。多様な意見のなかでクライアントの不利益が強いられることも望ましいことではないことはいうまでもない。社会に配慮して実施者となる施設が、実際の疾患を支える団体の人々や疾患の専門医を含め、多分野の関係者の意見を参考にまとめる必要がある。

このなかで、着床前遺伝子診断の研究プロトコルおよびインフォームドコンセントの書類を作製するにあたり、多様な意見に配慮することと、そのなかで対立する必要性と技術的制限については明瞭にクライアントに知らせること、確実性が低いか、ないしは、疾患遺伝子自体を調べることのできない遺伝子型は研究プロトコルから削除することなどが明示されるべきである。

研究の対象となることを希望するかどうかはクライアントの自己決定に委ねるべきことであるが、そのために必要な説明やカウンセリングの環境を作ることも必要である。これは臨床研究であるが、体外受精などの治療部分も存在するため、費用負担のうち、有償の患者負担分、実施施設側の研究費負担分の別を明らかにすることもクライアントに対しては必要な情報と考えられる。

着床前遺伝子診断は、切望される医療技術の一法である。しかし、この実施に対して社会的認識を高めるために、実施者、対象となる疾患の患者間およびその家族などの患者を支える側の継続的な努力が必要であり、そのなかで育成される技術

であるべきである。

我々は、着床前診断臨床研究についての説明書・同意書(案)を、これらの点をふまえたうえで作製し、修正を加えてきたものを一部公表しているが、説明書の大きな項目として、(A) 着床前診断臨床研究プロトコル、(B) 臨床研究の同意書について、以下の細目で説明が構成されている。

(A) 着床前診断臨床研究プロトコル

- 1) 目的と意義
- 2) 対象
- 3) 方法
- 4) 予測される効果・危険性および診断の限界
- 5) 臨床研究への参加について
- 6) 同意した後の中止について
- 7) プライバシーの保護について
- 8) 着床前診断、出生前診断に関する相談について^{注1)}
- 9) 外来日についてのお問い合わせ
- 10) 着床前診断とそれに代わりうる診断法の説明として従来からある出生前診断とその組み合わせによる選択肢^{注2)}
- 11) 着床前診断の実際の方法
- 12) 世界と日本の現状についての説明

^{注1)} 着床前診断と出生前診断の比較：また、着床前診断と出生前診断の比較を表にすることで、クライアントに、その長所や短所を含めた違いを明確に理解させることの一助となる。さらに、この臨床研究にかかる費用について、自己負担、および研究費として処理される費用の別を明確に示すことにした。

^{注2)} 診断の選択肢：診断に同意する場合には、着床前診断には、出生前診断を追加するオプションがあり、出生前診断のみを含め3つの選択肢より必要性和希望に応じて選ぶことができることをクライアントに知らせている。

(B) 着床前診断の臨床研究に関する同意書

作製した書類のなかには、体外受精の同意書や凍結保存・胚移植に関する同意書、顕微授精に関する同意書の他、着床前診断の臨床研究に関する同意書からなっている。ここには各説明内容について、一つ一つ確認するためのチェックやその後に出生前診断としての羊水検査の希望も記載するように作製した。

臨床研究であることから、そのプロトコルは実施施設で決定し、普遍性を有するものではないが、診断情報について現在の我々の臨床研究プロトコル(案)としては、疾患遺伝子本体の診断を原則としている⁹⁾。また、社会的、倫理的側面の検討からX連鎖性遺伝疾患で代用される性別診断や、染色体異常のスクリーニングなど付帯して得られる補助的な情報については研究プロトコルには組み入れていない。プロトコル内には、現在可能となりつつある deletion type の遺伝子異常に加え、point mutation や duplication など他の遺伝子変異に対しても近い将来に取り組んでゆくことを前提としている。

結 語

実施の利益と不利益は常に対立が存在することが予測され、倫理的解釈や認識にはすべてに完全なコンセンサスを得られる結論を求めることは困難であろう。

しかし、これは常にその時代、社会、技術的背景などによって変化してゆくものであり、議論を重ね、理解を深め、より広いコンセンサスを追求し続けてゆくことに本来の意義があると思われる。

文 献

- 1) Handyside AH, et al : Nature 344 : 768, 1990.
- 2) Liu J, et al : Prenatal Diag 15 : 351, 1995.
- 3) Harton GL, et al : Mol Human Reprod 2 :

- 713, 1996.
- 4) Gibbons WE, et al : Fertil Steril 63 : 723, 1995.
 - 5) Wells D, Ao et al : Proc 13 th Ann Meeting of ESHRE PO 146, 1997.
 - 6) 松田紀子, 他 : 日本不妊学会雑誌 43(2) : 119, 1998.
 - 7) Hashiba T, et al : J Assist Reprod Genet. in press, 1999.
 - 8) 末岡 浩, 他 : 診断と治療 85(8) : 1283, 1997.
 - 9) 土屋慎一, 他 : 日本受精着床学会雑誌 17(1) : 印刷中, 1999.
 - 10) Wertz DC, et al (福嶋義光ら, 訳) : 1995.
-

末岡 浩* SUEOKA, Kou

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室助教授

KEY WORDS : 着床前遺伝子診断 (preimplantation genetic diagnosis : PGD)、Polymerase Chain Reaction (PCR)法、Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)法、胚生検、Duchenne型筋ジストロフィー (DMD)

POINT : 妊娠成立後に診断する出生前診断に対して、体外受精初期胚の一部から、割球または極体を生検し、遺伝子を調べる着床前遺伝子診断技術が、臨床研究の位置づけの中で技術的に発展するとともに、社会面からも討議されつつある。

はじめに

正常な生児を得ることは妊娠を望む家族の切実な願いであり、そのために妊娠中の検査として、羊水穿刺 (amniocentesis)や絨毛採取 (chorionic villi sampling : CVS)などの出生前診断が従来より行われてきた。

しかし、これらの妊娠前半期に得られる胎児の異常についての情報が結果的に人工妊娠中絶につながる現実に対して論理的、社会的、法的見地から問題提起がなされてきた。

そこで、着床前遺伝子診断 (preimplantation genetic diagnosis : PGD)の概念が確立され、胚の一部から診断した遺伝子情報をもとに目的とする疾患の伝播の可能性を検索する方法として脚光を浴びることとなった¹⁾。この背景には、近年のめざましい疾患遺伝子の解析によって染色体核型のみならず遺伝子検索も行なえるようになったことに加えて、生殖技術の発展による体外

日本産科婦人科学会のガイドラインとわが国の方向性

着床前遺伝子診断の臨床実施に関して、わが国では医学分野の意見のみならず、社会面、論理面などの多面的な意見交換が行われ、その長短所や社会におよぼす影響などを含め幅広い理解が深められつつある。実施者となる医師側の団体として日本産科婦人科学会は、会員に対するガイドラインを1998年10月に会告の形で発表した (表1)²⁾。この中で本法は臨床研究として位置づけられるものであり、対象疾患は重篤な遺伝性疾患に限られ、実施に際して学会への実施審査を申請のうへで認可された疾患のみが対象となることが記されている。また、クライアントに対する本法に関する説明や同意も慎重かつ文書を用いて行うことが義務づけられている。

診断情報と対象疾患

着床前診断では、診断は遺伝子または染色体の情報について行われることになるが、染色体情報についてはスクリーニング検査として実施することについては否定的な意見が強い。遺伝子情報としては性染色体上の遺伝子を診断する性別診断と、疾患に関わる遺伝子本体を診断する疾患遺伝子診断に大別することができる。

単一の細胞からの微量な遺伝子を安定して診断することには多くの困難な技術的課題を有している。そのために着床前遺伝子診断の概念が作られた当初は、診断の比較的容易な性別診断によって診断できるX連鎖性遺伝性疾患が対象とされた。すなわち、性染色体上のa-サテライトなどの反復配列を有する特異的遺伝子に対してPolymerase Chain Reaction (PCR)法やFluorescence In Situ Hybridization (FISH)法などを用いて診断を行う技術の開発が行われた。その結果、性別診断についてはいずれの方法によっても、サンプリングエラーや胚自体のaneuploidyを除けば、ほぼ確実

表1 日本産科婦人科学会のガイドライン

1. 受精卵 (胚) の着床前診断 (以下本法) に対し、ヒトの体外受精・胚移植技術の適用を認め、遵守すべき条件を2に定める。
2. 本法を実施する場合は、以下の示す条件を遵守する。
 - (1) 本法は極めて高度な技術を要する医療行為であり、臨床研究として行われる。
 - (2) 本法の実施者は、生殖医学に関する高度の知識・技術を習得した医師であり、かつ遺伝性疾患に対して深い知識と出生前診断の豊かな経験を有していることを必要とする。
 - (3) 本法を実施する医療機関は、すでに体外受精・胚移植による分娩例を有し、かつ出生前診断に関して実績を有することを必要とする。また、遺伝子診断の技術に関する業績を有することを要する。
 - (4) 本法は重篤な遺伝性疾患に限り適用される。適応となる疾患は日本産科婦人科学会 (以下本会) において申請された疾患ごとに審査される。なお、重篤な遺伝性疾患を診断する以外の目的に本法を使用してはならない。
 - (5) 本法の実施にあたっては、所定の様式に従って本会に申請し、許可を得なければならない。また、実施状況とその結果について毎年定期的に報告する義務を負う。なお、申請にあたっては、会員が所属する医療機関の倫理委員会にて許可されていることを前提とする。
 - (6) 本法の実施は、強い希望がありかつ夫婦間で合意が得られた場合に限り認めるものとする。本法の実施にあたっては、実施者は実施前に当該夫婦に対して、本法の概略、予想される成績、安定性、従来の出生前診断との異同等を文書にて説明の上、患者の自己決定権を尊重し、文書にて同意 (インフォームドコンセント) を得、これを保管する。また、被実施者夫婦およびその出生児のプライバシーを厳重に守ることとする。

表2 着床前遺伝子診断可能な疾患

①X連鎖性遺伝性疾患	
Duchenne型筋ジストロフィー	Duchenne muscular dystrophy
血友病 A Hemophilia A	
Lesch-Nyhan 症候群	
脆弱X症候群	Fragile X syndrome
X連鎖性精神遅滞	X-linked mental retardation
Wiskott Aldrich 症候群	
副腎脳白質ジストロフィー	Adrenoleukodystrophy
低γグロブリン血症	Hypogammaglobulinemia
X連鎖性痙性対麻痺	X-linked spastic paraplegia
知覚運動ニューロン疾患Ⅱ型	Sensory motor neuron disease, type
メチルサラセミア	α methyl thalassemia
Menkes病	Menkes disease
Lowe症候群	Lowe Syndrome
②単一遺伝子疾患	
●胞性線維症	Cystic fibrosis (ΔF508 alleleのみ)
Lesch-Nyhan 症候群	(HPRTのmutationの一部のみ)
Duchenne型筋ジストロフィー	Duchenne muscular dystrophy
Tay-Sachs 症候群	
血友病 A Hemophilia A	
α1-アンチトリプシン欠乏症	α-1-antitrypsin deficiency
色素性網膜炎	Retinitis pigmentosa
脆弱X症候群	Fragile X syndrome
Marfan 症候群	
β-グロブリン欠損症	β-globin defect
腺腫性結腸ポリポシス	adenomatous polyposis coli
Menkes病	Menkes disease
Lowe症候群	Lowe Syndrome

に診断が可能となった^{3,4)}。

しかし、性別診断による着床前遺伝子診断には多くの問題点を伴っている。X連鎖性遺伝性疾患以外を対象とできないという点のみならず、その場合に現実的には男性胚はすべて棄却されてしまうこと、たとえX連鎖性遺伝性疾患でも女性には軽症ながらも発症する例が少なからず存在すること、また、中には重症型の発症が報告されていること、男性胚であっても1/2は正常胚で、実質的にはこの正常胚が棄却される現実があること、女性胚であっても1/2は保因者であることなどをあげることができる。

このことは性別診断を代用するのではなく、疾患遺伝子本体の診断法が確立されることが本質的には重要であり、診断の確実性を増し、あらゆる遺伝子病型にも対応するための技術開発が急速に進みつつある^{5,6)}。

わが国における着床前遺伝子診断は、前述の日本産科婦人科学会の倫理委員会報告によれば、臨床経過が重篤な遺伝性疾患に限られることになるが、現在、技術的に可能と考えられる疾患を表2に示す。

サンプリングの方法—生検法

遺伝子診断のもとになる細胞の採取は、顕微鏡下のマイクロマニピュレーターによる操作によって行われる。単一細胞を確実に採取し、しかも残された他の胚細胞の成長へ影響をおよぼさない安全性の高い方法が要求される。採取する細胞は極体、または、一部の胚

細胞である。

1. 極体生検

単一細胞からの診断法を確立すると同時にサンプルを有効に利用することは、より確実な診断法の開発の上で大きな意義をもつ、極体は卵子の減数分裂過程で生じた産物であるが、卵子から放出された後に胚発育に影響をおよぼさない、いわば診断用の好適なサンプルである。卵子の遺伝情報を反映することから補助診断としての役割を有する。精子側の情報は得られないが、胚成長の安全性を優先させると、侵襲性の低いよい方法である。第一極体に疾患遺伝子が存在しない場合、二次卵母細胞は疾患遺伝子を有し、逆に第一極体に疾患遺伝子が存在すれば、二次卵母細胞は疾患遺伝子を有さないことになる。

2. 胚生検

通常4~8細胞期の体外受精胚を生検に用いることが多いが、近年で胞胚期から一部の細胞を採取することも行われるようになった。採取割球数は1~2個が一般的であり、採取割球数が増加するにしたがって、胚成長率が低下することが報告されている⁷⁾。高い正診率を得るためには1個より複数の胚細胞を診断することが望ましいが、より侵襲が大きくなるため、制度の高い診断法の開発を優先すべきである。

実際の胚生検の方法は主に、以下の2法が主流である。

①blastomere aspiration法：透明帯をガラス針で切開、またh酸を用いて開孔し、その後に割球を吸引できる大きめのガラス針を用いて採取する。

②extrusion法：まず、透明帯に微小針を刺入して串刺しにし、holding pipetteの側面に押し付けて切開する。次いで透明帯の切開部と異なる部位から再度ガラス針を囲卵腔に刺入し、培養液を注入することで囲卵腔内圧を上昇させ、その圧力で透明帯切開部より割球を圧出する方法である(図1)。

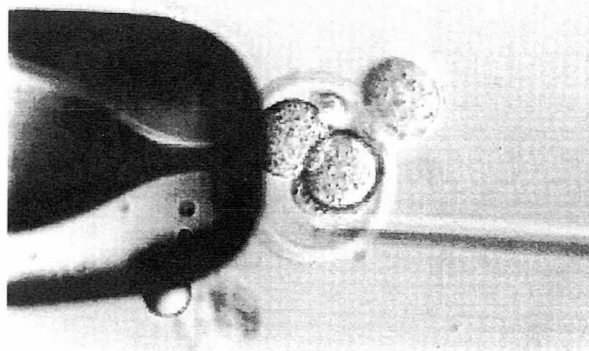


図1 Extrusion法により割球が透明帯の外に圧出されている

診断法

遺伝子増幅を行うPCR法と遺伝子プローブに蛍光色素を発色させて認識させるFISH法が用いられる。各法は、単一細胞を対象としたさらに高精度な技術的發展がなされている。

1. FISH法^{8,9)}

目的とする遺伝子と相補的なDNAプローブを蛍光色素で標識し、変性させて1本鎖の状態にしたDNAに hybridizeさせた後、発色させ、蛍光顕微鏡でシグナルを検出する方法である。

2. PCR法とそのバリエーション

遺伝子診断法の中核となるのがPCR法を用いた遺伝子増幅による方法で、単一細胞からの微量のゲノムDNAを鋳型とするため、診断精度を向上させるためのさまざまな周辺技術が發展してきた。現在の技術的レベルでは遺伝子の欠失を診断対象とすることが可能となりつつある段階ではあるが、さらに、増幅産物を用いた配列分析による変異の診断へ進んでいくことになる。

PCRのバリエーション技術として診断ミス、高倍の増幅を有効に行うために、長さを変えた内外の2組のプライマーを用いて2回に分けて遺伝子増幅を行うnested PCRや、ランダムプライマーを用いてゲノムDNAを無作為に増幅することで、単一細胞より抽出した微量のゲノムDNAを有効に増やしてから実際の診断に用いる primer extension preamplification (PEP)法などが考察されている¹⁰⁾。

また、PCRによる遺伝子検索とFISHによる染色体検索を同時に行う方法として、小ガラス板上に固定した標本のゲノムに対してチューブ内でPCRによる遺伝子増幅を行い、その後に取り出した標本に対してFISHを行うre-cyclingも注目を浴びている。

遺伝子異常のうち、欠失型以外のpoint mutation(点変異)やduplication(重複)などの変異を診断するためには、PCRによる増幅産物の電気泳動のみでは診断が不可能である。そのため増幅産物に対する塩基配列分析を行うことで、診断するPCR-直接シーケンス法も今後の発展性の一つである。表3にDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)の遺伝子病型と診断法を示すがPCR法では60%に満たない欠失型が診断できるのみである。

表3 DMD遺伝子異常とその診断法

Mutation形式	頻度	患者・保因者の遺伝子診断法	着床前診断の遺伝子診断法
1) 欠失	56%	サザンプロット	PCR
		PCR	
2) 重複	14%	サザンプロット	
3) 点変異	30%	SSCP	PCR-SSCP
		ASO	PCR-ASO
		SQ	PCR-SQ

4) その他

SSCP : Single strand conformational polymorphism. ASO : Allelespecific oligonucleotide. SQ : 直接シーケンス法

おわりに

着床前遺伝子診断は、遺伝子の解明によってもたらされてきた革新的技術であるが、遺伝子情報がおよぼす社会や家族関係への影響を考慮しながら確立されなければならない。クライアントへの十分な説明や理解が必要であると同時に、疾患の臨床像や患者や家族の置かれた状況を医師がよく理解することは、技術的發展を追求する以前に重要なことである。

参考文献

- 1) Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, et al. : Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*, 244 ; 768-770, 1990.
- 2) 会告「着床前診断」に関する見解。日本産科婦人科学会雑誌、50(10) ; 22,1998.
- 3) Handyside AH, Lesko JG, Tarin JJ, et al. : Birth of a normal girl after in vitro fertilisation and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.*, 327 : 905-909, 1992.
- 4) T. Hashiba, K. Sueoka, et al. : An accurate and rapid gender determination assay in single cells by capillary polymerase chain reaction method. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 16 (10) : 551-554, 1999.
- 5) Liu J, Lissens W, Van Broeckhoven C, et al. : Normal pregnancy after preimplantation DNA diagnosis of a dystrophin gene deletion. *Prenatal Diag.*, 15 : 351-358, 1995.
- 6) 末岡 浩、吉村泰典(分担執筆) : 「受精卵」。産科治療。出生前診断と胎児治療。先端医療から臨床へ。坂元正一総監修 : 武田佳彦、中野仁雄監修 : 鈴森 薫、千葉喜英編集 : 図説産婦人科VIEW、37 : pp.60-70、メジカルビュー社、1999.
- 7) 末岡 浩、橋場剛士、浅田弘法ほか : 配偶子、受精卵の遺伝子診断。日本受精着床学会誌、13 : 20-26, 19996.
- 8) Griffin DK, Wilton LJ, Handyside AH, et al. : Dual fluorescent in situ hybridisation for simultaneous detection of X and Y chromosome-specific probes for the sexing of human preimplantation embryonic nuclei. *Hum. Genet.*, 89 : 18-22, 1992.
- 9) Griffin DK, Wilton LJ, Handyside AH, et al. : Pregnancies following the diagnosis of sex in preimplantation embryos by fluorescent in situ hybridisation. *Br. Med. j.* 306 : 1382-1383, 1993.
- 10) Zhang L, Cui X, Schmitt K, et al. : Whole genome amplification from a single cell : implications for genetic analysis. *Proc. National Academy SCI USA* : 5847-5851, 1992.

受精卵診断フォーラム

私達、慶応義塾大学医学部産婦人科では、厚生労働省の研究班の方々と一緒に疾患の発生を心配している方々への遺伝相談などに長年関わってまいりました。この中で最近では出生前診断よりも心身に負担が少ないと考えられている受精卵診断法の開発と研究を進めてきました。

私達は、これまで同様に時間をかけて技術的な問題を解決する努力をするとともに、社会的な視点からも様々な人々の御意見をうかがい、話し合いを続けてゆきたいと思っています。今回、私達の開発した診断法の技術やその意味について、御意見や御質問をうかがいたいと思っています。

なお、ここでのご意見・ご質問は、筋ジストロフィー研究班や(社)に本産科婦人科学会等に発表されること、及び論文として投稿されることがあります。

その際、個人が特定されるようなことのないようプライバシーの保護は、(社)日本筋ジストロフィー協会と慶応義塾大学医学部産婦人科教室が責任をもって十分に配慮いたします。

このフォーラムでは受精卵診断について9つの項目について説明しています。本号では6項目を紹介し、残りの3項目については次号で紹介いたします。ご意見やご質問は文書で、faxもしくは郵便にて協会本部、米園宛にお送り下さい。ご質問には必ずお返事を差し上げます。

1. 受精卵診断(前診断)とは

私達の体内で妊娠が成立する過程では、卵子と精子が会って“受精”したのちに、その受精卵が子宮内膜に入り込む“着床”という現象が起こっています。子宮内膜に無事着床した卵が後に胎児となっていくので

す。

受精卵診断とは、この受精と着床の間の限られた時間に受精卵の異常を診断しようといものです。もちろん、受精した卵は卵管や子宮の中に存在するものであり、このままでは診断することはできません。そこで、卵子と受精を最初から体外で行い、受精後に子宮に戻す“体外受精・胚移植”という技術を使うことが必要となってきます(別項【3.体外受精・胚移植の流れと受精卵診断】参照)。

対象となるには、主に重篤な遺伝性疾患の子供を分娩する可能性のある女性(保因者)です。受精卵が体外で4~8細胞に分割した時期にそのうち1つの細胞をとって調べた結果、疾患がないということが確認された卵(胚)のみを子宮に戻します。この結果として、保因者の女性は健康な子供を妊娠することが可能となります。妊娠が成立する前に目的とする病気の有無が分かるという点で、これまでの出生前診断とは異なります。(別項【2.出生前診断との違い】の項参照)

2. 出生前診断との違い

今までは、重篤な遺伝性疾患の保因者が妊娠した場合には、妊娠9~11週の時期の絨毛(胎盤のもと)検査、または妊娠15~18週の時期の羊水穿刺によって、胎児由来の細胞を採取して調べていました。しかし、こういった検査でお腹の中の胎児にその疾患があると診断された場合には、それを承知で出産するか、中絶するかの厳しい選択を強いられていました。その結果として、たび重なる中絶を経験してきた人もいます。

中絶、特に妊娠20週前後になってからの中絶は経験から受けるストレスははかり知れません。また、私たちが産婦人科医師、助産婦を対象に行ったアンケート調査の結果、患者さんやその家族はもとより、中絶を施行する側の医療関係者もが、多大なストレスを感じていることがわかりました。

このような中絶を防ぐ方法として考えられたのが受精卵診断です。診断の時期が妊娠成立より前になります。

表1

受精卵診断		出生前診断	
		絨毛検査	羊水検査
実施時期	受精卵(4~8細胞期)	妊娠9~11週	妊娠15~18週
判定方法	疾患遺伝子の有無	疾患遺伝子の有無(欠損型、点変異型、重複型) 染色体核型分析	
判定に要する時間	2日~3日	3~4週間	
精 度	疾患遺伝子診断が可能の場合約70~80%	羊水検査よりやや劣る	疾患遺伝子診断が可能の場合ほぼ100%
長 所	妊娠成立前に診断できる	診断精度が高い	
短 所	体外受精が必要 診断精度が低い	母体細胞の混入による診断ミス	妊娠週数が高い
安 全 性	確率されていない	流産率2~3%	流産率0.1~0.3%
費 用	約50万円	採取料:5万円 培養料:2万円 染色体核型分析:5万5千円	採取料:1万5千円 培養料:2万円 染色体核型分析:5万5千円

すから、診断の結果を確認した後に妊娠へのステップへ進むことができます。

詳しくは表1の表を参照して下さい。

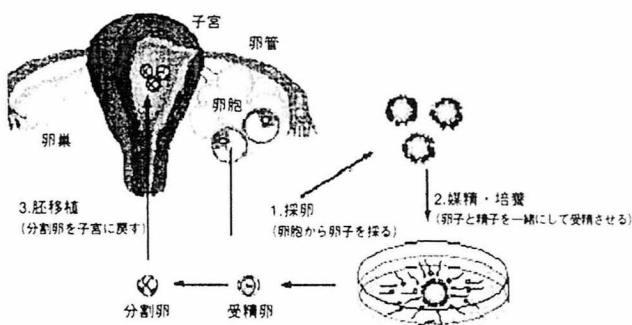
3. 体外受精・胚移植の流れと受精卵診断

受精卵診断には体外受精・胚移植の技術が必要になります。体外受精はもともと生殖補助技術として、不妊症の治療のために開発されました。体外受精・胚移植の過程を簡単に図にしましたので、参考にして下さい。

体外受精・胚移植の技術は現在では不妊症に対する治療法として多くの施設で行われています。現在、日本の出産の1%はこの体外受精によるものです。しかし、現在のところ、体外受精1回毎の妊娠率は20%ほどで、全てが妊娠につながるわけではありません。また、合併症や副作用がないわけではなく、時に起こり得るものとして、“卵巣過剰刺激症候群”という状態があります。体外から採卵(卵をとること)をするために、あらかじめ排卵誘発剤を用いて卵巣を刺激することが多いのですが、この際に卵が多く発育してくると、一時的ですが卵巣が大きくなり、お腹や、ひどい場合には胸にも水がたまってしまうことを言います。また、受精卵を子宮に戻したからといって100%が妊娠するわけではありませんから、妊娠率を上げるために受精卵を子宮に複数戻す場合があります。この結果、双子や三つ子などの多胎妊娠に結びつく可能性も、自然の妊娠より高い頻度で生じてきます。

また、受精卵診断を行う場合には、卵子と多数の精子を混ぜて受精をさせると、受精卵の診断の際に余分

■体外受精・胚移植の流れ



■顕微授精



●(A)精子をピペットで吸う

●(B)卵の細胞質に入れる

な精子が混ざって、診断を誤る原因となる可能性があります。そのため、受精の際には一つの卵に対して一匹の精子を用いて顕微鏡下に人工的に授精を行う必要があります。これを“顕微授精”といいます。

4. 受精卵診断の歴史と世界各国の現状

受精卵診断は体外受精技術の急速な発達とともに、1980年代中頃にイギリスにおいて始められました。最初は、技術的に比較的確実な性別の診断を試み、性別によって発症してくる疾患を対象としていました。Duchenne型筋ジストロフィーもそのひとつです。

しかし、次第に診断技術が向上し、病気の遺伝子が存在するか否かを診断することも可能になってきました。

1997年5月現在の報告では、すでに欧米諸国の35施設において377症例に対して受精卵診断が行われており、96人の子供が生まれています。

5. 日本産科婦人科学会の見解と我が国の現状

日本においてはまだ、受精卵診断の臨床実施は行われていません。診断精度や安全性の問題ばかりでなく、社会的・倫理的な面からも解決すべき問題の対応に慎重に取り組んできました。

1998年に日本産科婦人科学会という医師側の団体より、『重篤な遺伝性疾患に限り受精卵診断を臨床研究として認める』という見解が示されました。我が国においてはこの対象疾患として、筋ジストロフィー(Duchenne型)も挙げられています。学会に対する申請を行い、審査の結果認可されれば、我が国でも受精卵診断がおこなわれるという段階までできています。

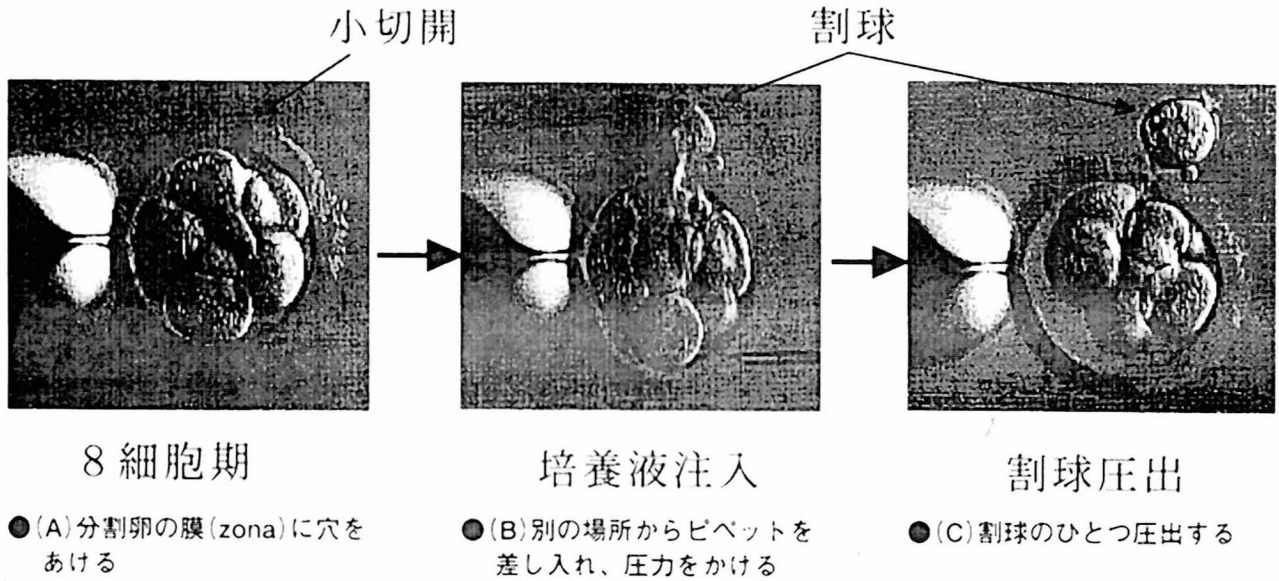
これまでに申請されたのは、いずれも他の施設からのものですが、Duchenne型筋ジストロフィー保因者の女性に対して行う性別診断と、染色体の構造異常をもつ何度も流産をしている女性に対する染色体診断の2つです。審査の結果、主に前者は疾患の原因となる遺伝子本体を診断すべきなので、性別診断では不十分であるとの理由で、後者は生活する上で困難を生じない染色体の核型異常までも否定することになるという理由で、認可されませんでした。

6. 私たちのとりくみ

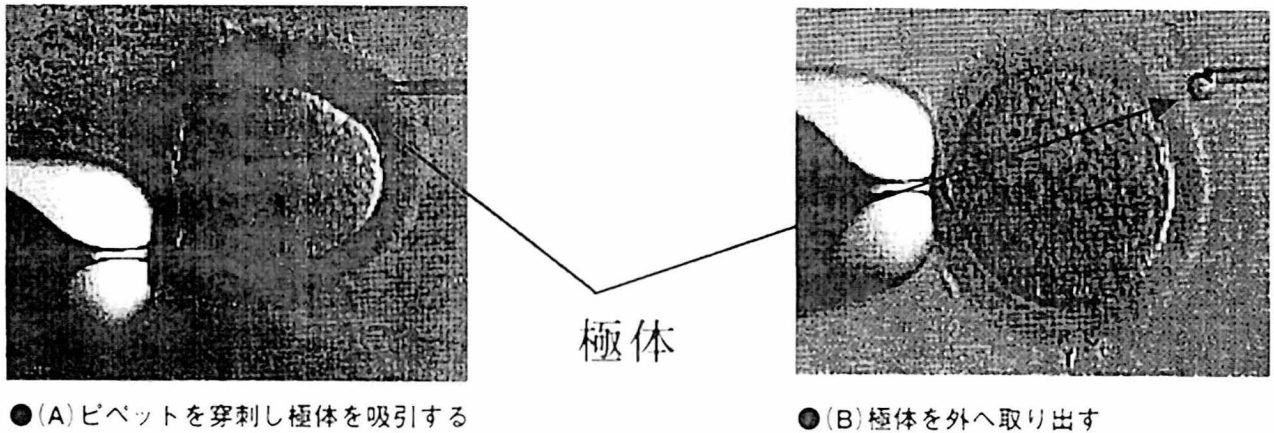
慶応義塾大学でも、病気や遺伝に悩みを訴えてこられる方々と接し、受精卵診断を希望される方の強い熱意を知りました。しかしその一方で、社会に及ぼす影響についても学ぶことができました。そして社会の十分な理解があれば、実施に向けて努力するつもりで時間をかけて準備をしてまいりました。

そのひとつとして、様々な方面の意見を取り入れるために、医学分野ばかりでなく、法学、心理学、社会

■図1 胚生検



■図2 極体生検



学などの各分野の人々が集まり7年間にわたる話し合いを続けてきました。また、実際の診断に関する技術や、診断精度の向上のための研究を進めています。

7. 対象となる疾患

受精卵診断の対象となる疾患として我が国においては、Duchenne型筋ジストロフィーもその1つに考えられています。この病気の患者や保因者の遺伝子の異常のタイプにはいくつかあることが分かっています。

しかし、技術的な面から、現在受精卵診断が可能と考えられているのは、遺伝子の一部が欠損するという異常である。“欠失型”のみに限られてきました。

私たちは性別診断による代用ではなく、疾患の遺伝子を診断することを原則として研究を続けてきました。現在は欠失型はかなり確実に診断できるようになりました。Duchenne型筋ジストロフィーのその他の遺伝子タイプや、他の疾患について、現在診断技術の開発に向けて取り組んでいます。

8. 遺伝子診断の方法と診断精度

受精卵診断は、授精後に4～8細胞に分割した卵(胚)から、ひとつの細胞を取り出して(胚生検：下記の図1を参照して下さい)行うのですが、たったひとつの細胞に含まれる遺伝子(DNA)の量はとても少なく、そのままでは診断できません。そこで通常、必要な部分だけを増幅して診断に十分な量に増やしてから診断するという手技(PCR法)を用います。しかし、この手技を用いても100%近い診断精度をあげるのは難しく、約70%と報告されています。

その結果開発されたのが極体診断です。極体とは、卵が分裂する際に放出されるもので、その後必要になるものではないのですが、受精した胚と相反する情報を持っています。このことを利用して、極体を取り出し(図2)、これに対してもPCRによる診断を補助的に行えば、診断精度はさらにあがります。私たちの研究では、受精卵からの診断(割球診断)と極体診断を併用す

れば、23%の卵は診断が明確でないために使えないこととなりますが、診断できた卵の正診率(診断を間違えないという確率)を99.9%にまであげられるようになりました。

9. 安全性

受精卵診断をするには、体外受精を受けることが必要です。体外受精・胚移植に伴う危険性は別項(【3.体外受精・胚移植の流れと受精卵診断】)を参照して下さい。

また、分割した受精卵から、1~2個の細胞を採取する(胚生検)ことによる影響が当然心配になります。これには技術の安定が必須です。

これまでの世界の報告では、胚生検後の妊娠率、流産率は通常の体外受精に比べて差はないとされています。また、受精卵診断を行ったために子供に障害が生じたという報告はありません。

10. 皆様のご意見を

はじめまして

投稿者：末岡 浩

投稿日：2001/06/18(Mon)17:36 No.5

はじめまして。慶應義塾大学病院の末岡です。産婦人科の医師をしています。筋ジストロフィーの遺伝相談ア遺伝子診断の研究をしています。着床前診断フォーラムで皆様のご意見やご質問など、皆様とお話が出来れば嬉しいと思います。宜しくお願いします。

■研究班ワークショップ開催

8月24日に「筋ジストロフィー患者のケアシステムに関する総合的研究」(福永班)のワークショップ開催された。三菱総合研究所客員研究員坂清次先生による講演「リスクベースの安全とリスクマネジメント」と、呼吸リハビリテーション・酸素飽和度モニタリングシステムについての発表と活発な討論がなされた。

翌25日には「筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究」(石原班)のワークショップが開催され、ロールプレイを取り入れた遺伝相談の研修と、筋強直性ジストロフィーの延命を考える際に重要な問題について4題の発表があった。

Duchenne型筋ジストロフィー心不全例におけるDenopamineの長期投与効果の検討

班 員 近藤 浩

(国立療養所新潟病院神経内科)

共同研究者 近藤 類、米持洋介、柴崎陽子

(国立療養所新潟病院神経内科)

要 旨

心不全の治療薬として、ジギタリス剤以外の様々な経口強心剤が開発され、臨床使用されてきたが、現在では長期投与の有効性は否定されている。そこで、Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)の心不全例で、経口強心剤であるDenopamineの長期投与を行った例の臨床経過を振り返り、実際の臨床効果がどうであったのかを非投与群と比較検討した。その結果、投与群に比し非投与群では明らかに心臓死が多く、進行性の心機能低下を来した例が多かった。一般にDenopamineの有効性が否定され、長期使用の有害性も指摘されている今、その使用は慎重でなければならないが、DMDという特殊な患者群での長期使用を振り返ってみると、他の治療との組み合わせで、心不全の長期予後を改善しうる場合もありうるものと推測された。

緒 言

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)では、骨格筋のみならず様々な全身的合併症を伴い、日常臨床において大きな問題となっている。特に心不全の管理は患者の予後に直結するため、利尿剤やジギタリス剤のほか、様々な治療の試みがなされている。特に血管拡張剤であるアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤は、心不全の基礎治療薬として認知され、広く使用されている。また、最近ではβブロッカーの予後改善効果が注目され、臨床応用されてきている。一方、従来使用されたジギタリス剤以外の様々な経口強心剤は、大規模臨床試験の結果、長期投与の有効性がないばかりか、むしろ悪影響さえ及ぼすとされ¹⁾、現在では使用されなくなっている。我々は、DMDの心不全例において、経口強心剤であるDenopamineを長期投与した患者群を有しており、Denopamineの臨床効果が実際にはどうであったのかを検証するため、投与群・非投与群の臨床経過を6年間に渡って経過観察した結果を検討したので報告する。

方 法

国立療養所新潟病院に入院中のDMD患者のうち、心機能の低下がみられ治療中の37人を、投与群19人(年齢 21.2 ± 4.8 歳)、非投与群18人(年齢 20.0 ± 5.8 歳)の2群に分け、それぞれの臨床症状、心エコー、胸部X線写真での心胸郭比(CTR)、血漿ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)、24時間心電図等の検査所見を6年間に渡って経過観察した。投与群にはDenopamine 15~30mg/日を、それまで投与していたACE阻害剤、ジギタリス剤、利尿剤などの治療薬に追加して投与し、併用薬の種類・投与量は変更しないものとした。非投与群も心不全に対して使用中の薬剤の種類・投与量は変更しないものとした。病状悪化等により治療の変更が必要になった場合は脱落例とした。

結 果

投与群19人のうち3人は、動悸を訴えたが、減量により投与継続可能であった。

まず、短・中期効果をみるため、投与開始前と投与開始後1ヶ月および6ヶ月後の心機能を比較検討した。(図1、2)個々の症例の検討では改善をみた例もあったが、群としては、心エコーでの左室駆出率(EF)やCTRなど、いずれの項目も有意な変化はなく、投与群・非投与群間の有意差も認めなかった。

その後の6年間の経過観察では、投与群では5人の死亡があり、死因が心不全の悪化である心臓死は1人、

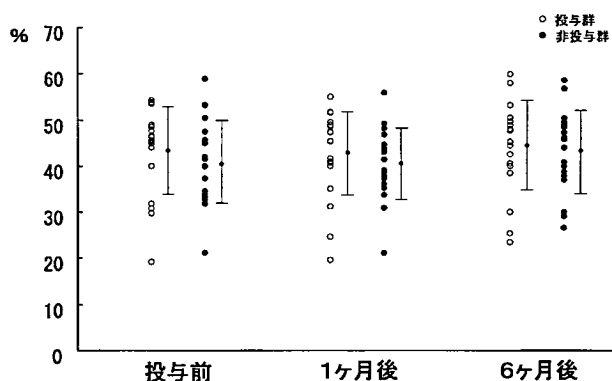


図1. 左室駆出率の推移
投与群、非投与群間で有意差は見られない。

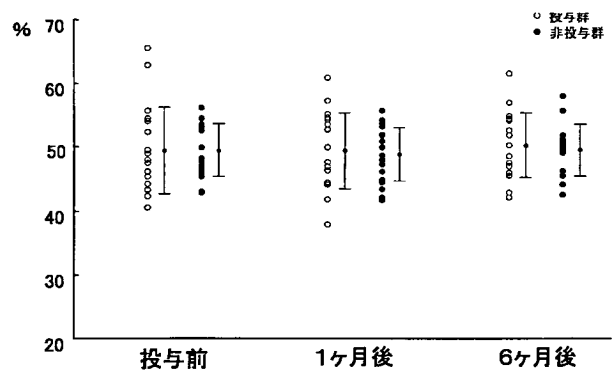


図2. 心胸郭比の推移
投与群、非投与群間で有意差は見られない。
突然死が

投与群	非投与群
1. 32歳:肺炎	1. 32歳:心不全
2. 21歳:外泊中急死	2. 26歳:心不全
3. 33歳:呼吸不全	3. 28歳:心不全
4. 25歳:突然死	4. 21歳:呼吸不全
5. 16歳:心不全	5. 19歳:心不全
	6. 17歳:心不全

表1. 死亡例の死因

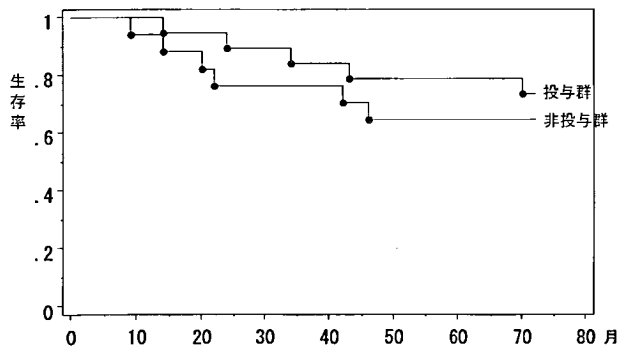


図3. 生存曲線

投与群での生存率が良い傾向が見られる。

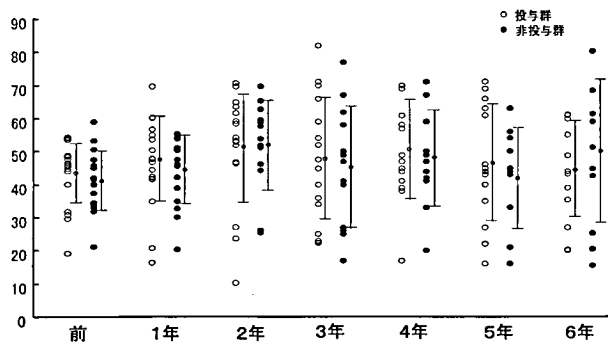


図4. 左室駆出率の推移

投与群、非投与群間で有意差は見られない。

	投与群	非投与群
検討症例	19	18
死亡例	5	6
脱落例	0	1
6年間観察できた症例	14 (73.6%)	11 (61.1%)
明らかな悪化なし	10 (57.5%)	5 (27.7%)

表2. 転帰のまとめ

2人、呼吸不全が2人であった。非投与群では6人の死亡があり、心臓死が5人、呼吸不全が1人であった。(表1)参考までに、カプラン・マイヤーの生存曲線を見ると、投与群の生存率が良い傾向が見受けられた。(図3)

また、非投与群のうち1人は途中からDenopamineの投与を開始し、その後良好な経過をたどった。

脱落することなく6年間経過観察可能であった例は、投与群は19人中14人(73.6%)、非投与群は18人中11人(61.1%)であった。これらの経過観察可能例の年次毎の検査所見の比較では、2群間の有意差は認めなかった。(図4)しかし、6年間の推移をみると、心不全の明らかな悪化がなかった例は、投与群は19人中10人(57.5%)、非投与群は18人中5人(27.7%)と、投与群での予後が明らかに良いことが示唆された。(表2)

考察

Denopamine は経口投与可能な強心剤としてわが国で開発され、 β_1 受容体に作用して心収縮力を増強するが、既存のカテコラミンと比較し、血圧・心拍数への影響が少ないなどの特性があるとされる。

筋ジストロフィーにおけるDenopamineの有効性については、山本²⁾が、DMD 3例を含む筋ジストロフィー10例で、投与直後の心電図同期心プール像により急性効果を検討し、心拍出量の増加を認めたと報告した。また亀田³⁾は、DMD 8例で、6~17ヶ月の投与効果を検討し、投与期間中心不全が進行し死亡した例はなく、臨床効果も全例有効であったと報告した。しかし我々の検討では、短・中期的に有用性は確認されなかった。

その後大規模臨床試験の結果から、経口強心剤の長期投与の有効性が否定され、長期投与はすべきでないと一般に考えられるようになった。我々は投与により心不全の悪化がなく安定している例で慎重に投与を継続していたが、実際の長期投与効果がどうであったのかを検証した。その結果、投与群と比較して

非投与群では、明らかに心臓死が多く、進行性の心機能低下を来した例が多かったことから、今回の対象症例を見る限りにおいては、Denopamineには、DMDの心不全の予後を改善する効果もありうることが示唆された。副作用としては、投与初期に動悸を訴え減量した例があったが、不整脈など問題となるものではなく、Denopamineの有害性を示唆する所見はみられなかった。

一般にはDenopamineの有効性が否定され、長期使用の有害性も指摘されている今、その使用は慎重でなければならないが、DMD という特殊な患者群での長期使用を振り返ってみると、他の治療との組み合わせで、心不全の長期予後を改善しうる場合もありうるものと推測された。

結論

DMD心不全例においては、Denopamineの投与により長期予後改善効果を期待しうる例もありうるということが示唆された。

参考文献

- 1) 循環器病の診断と治療に関する合同研究班編：慢性心不全治療ガイドライン. Japanese Circulation Journal 64:1023-1079, 2000
- 2) 山本秀平：筋ジストロフィー症患者における新強心薬denopamineの薬効評価. 医療 40:830-834, 1986
- 3) 亀田桂司 他：Duchenne型筋ジストロフィー心不全例におけるDenopamine(カルゲート)の長期投与経験. 小児科診療 56:1635-1639, 1993

Duchenne型筋ジストロフィー死亡例の臨床的検討

班 員 近藤 浩

(国立療養所新潟病院神経内科)

共同研究者 近藤 類、米持洋介、

牧野邦比古、石川 厚

(国立療養所新潟病院神経内科)

要 旨

過去10年間で死亡したDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)25例の臨床的、病理学的特徴につき検討した。人工呼吸管理により、従来死因の多くを占めた呼吸不全死は少なく、心不全の進行による死亡例が多数を占めた。特に、若年進行性の心不全の管理が大きな問題であった。また、脱水に伴い脳梗塞を来した例や無症候性脳梗塞例があり、凝固系の異常、脱水等には注意を要するものと思われた。剖検所見としては、知能障害の有無とは無関係に、脳回異常や異所性神経細胞など中枢神経系の発達異常を示唆する所見があり、脳機能との関連は不明だが、DMDの中枢神経障害を検討する上で注目された。

緒 言

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)は、骨格筋のみならず、様々な全身の問題を有し、その管理は日常臨床で、最も重要な課題となっている。今回我々は、DMDの臨床管理における問題点を明らかにするため、過去10年間に於けるDMD死亡例の臨床的・病理学的特徴につき検討したので報告する。

方 法

1991年8月～2001年7月の10年間に、国立療養所新潟病院筋ジストロフィー病棟に入院中に死亡したDMD患者25例を対象とし、臨床経過、死亡原因、病理所見等につき検討した。

結 果

死亡年齢は、12～37歳、平均 22.9 ± 7.2 歳であった。直接死因は、心不全悪化15例(60%)、食物・痰による窒息4例(16%)、肺炎による呼吸不全悪化4例(16%)、突然死2例(8%)であった。特に20歳未満で進行性に心機能が低下し死亡した例が8例(32%)あった。(図1)

心不全治療を行った例は21例(84%)あり、心不全治療開始年齢は12～30歳、平均17.1歳、死亡年齢は13～37歳、平均22.6歳であった。心不全治療開始から死亡

死亡年齢：12～37歳、平均 22.9 ± 7.2 歳

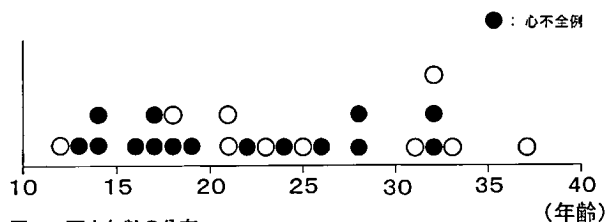


図1. 死亡年齢の分布

死亡年齢：13～37歳 (平均 22.6 ± 6.8 歳)	死因：心不全悪化 14例
死亡までの期間：0.3～15年 (平均 5.5 ± 4.8 年)	窒息 3
	肺炎 2
	突然死 2

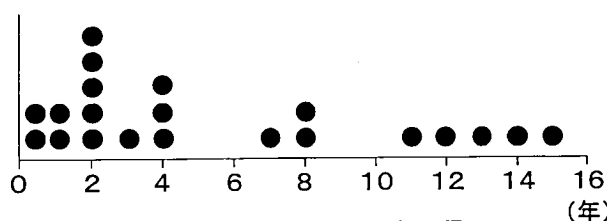


図2. 心不全治療開始から死亡までの期間とその死因

死亡年齢：17～32歳 (平均 25.5 ± 5.5 歳)	死因：心不全悪化 9例
死亡までの期間：1～11年 (平均 5.5 ± 3.9 年)	肺炎 2例

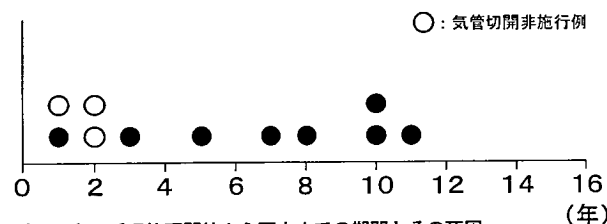


図3. 人工呼吸管理開始から死亡までの期間とその死因

死亡年齢：24～32歳 (平均 28.0 ± 3.9 歳)	死因：心不全悪化 7例
死亡までの期間：1～10年 (平均 5.6 ± 3.5 年)	肺炎 1例

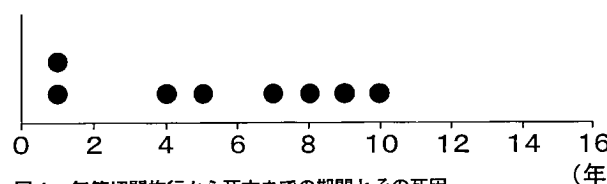


図4. 気管切開施行から死亡までの期間とその死因

までの期間は、0.3～15年、平均5.5年であり、心不全顕性化後1年以内に死亡した例も2例あった。死因は心不全の悪化が14例(67%)、窒息3例(14%)、肺炎2例(10%)、突然死2例(10%)であった。(図2)

人工呼吸管理を行った例は11例(44%)あり、人工呼吸管理開始年齢は16～25歳、平均20.0歳、死亡年齢は17～32歳、平均25.5歳であった。人工呼吸管理開始から死亡までの期間は1～11年、平均5.5年であった。その死因は、心不全の悪化が9例(82%)、肺炎2例

(18%)であった。(図3)

人工呼吸管理例の中で、気管切開を施行した例は8例(32%)あり、気管切開施行年齢は18~28歳、平均22.4歳、死亡年齢は24~32歳、平均28.0歳であった。気管切開施行から死亡までの期間は1~10年、平均5.6年であった。気管切開を行った8例の死因は、心不全悪化7例、肺炎1例であった。(図4)

全症例の中で特異な合併症として、経過中に脱水とともに脳梗塞を来した例が1例あった。

剖検例は8例あり、その死亡年齢は18~32歳、平均23.3歳であった。骨格筋の変性以外の所見として、心筋の変性・線維化が共通に見られ、肝の脂肪変性が6例、大動脈の狭小・菲薄化が3例あった。肺梗塞の所見はなかった。(表1)

中枢神経系の病変としては、臨床的には気付かれなかった脳梗塞が1例あった。脳回異常が7例、異所性神経細胞が7例でみられた。また、外眼筋封入体が2例で見られた。脳重は1115~1700g、平均1405gであった。(表2)

年齢	心筋変性	心重量	肝脂肪変性	大動脈菲薄	肺梗塞
1. 18	○	465g	○	○	なし
2. 23	○	445	○	○	なし
3. 18	○	150			なし
4. 32	○	250	○	○	なし
5. 24	○	250			なし
6. 18	○	420	○		なし
7. 28	○	240	○		なし
8. 25	○	240	○		なし

表1. 骨格筋以外の剖検所見

年齢	脳重	脳回異常	異所性神経細胞	その他
1. 18	1700	○	○	外眼筋封入体、脳梗塞
2. 23	1470	○	○	外眼筋封入体
3. 18	1350	○	○	
4. 32	1350		○	
5. 24	1270	○	○	
6. 18	1115	○	○	脳梗塞
7. 28	1465	○	○	
8. 25	1520	○		
平均	1405g			

表2. 中枢神経系の病理所見

考 察

人工呼吸管理により呼吸不全死は少なくなったが、心不全の進行による死亡が多い。特に若年時から心不全をきたす例は予後不良であり、感染等を契機として進行性に心機能は低下し、肺うっ血、胸水貯留、肝うっ血・黄疸、腹水等を伴いながら死に至る例が多かった。中には治療に反応なく、心不全症状出現後3ヶ月余で死に至った例もあった。突然死の2例も心不全を有し、剖検での心筋障害が強いため、不整脈など心臓との関連が推測された。

筋ジス研究福永班のデータベース¹⁾では、1999年10月から2000年9月末の1年間の全国国立療養所でのDMD死亡者は36例あり、死亡年齢は14~42歳、平均26.7歳で、死因は、心不全が50%、呼吸不全が33%などであった。(図5)そのうち気管切開を行った14例では、死因として心不全が6例で最も多かった。

死亡患者数：36人
死亡年齢：14~42歳
(平均26.7±6.9歳)

死因：心不全 18例
呼吸不全・呼吸器感染 12例
突然死 2例
気管動脈瘤 2例
劇症肝炎 1例
腹膜炎・敗血症 1例

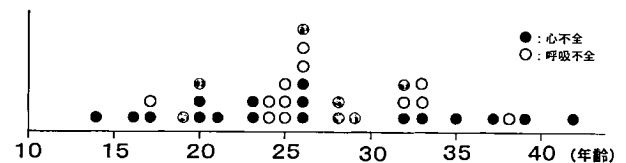


図5. 全国国立療養所におけるDMD死亡者(1999年10月1日~2000年9月30日)

DMDの全身管理法の進歩により、死亡年齢は時代とともに延長しており²⁾、従来は20歳までは生存できないと考えられていたが、最近では30歳以上の症例も珍しくはない。その要因としては、主体は人工呼吸管理法の進歩によるものと考えられるが、その他、心不全管理、感染症治療、栄養管理の進歩なども考えられる。このような医療の質の変化に伴って、死因も変化しているものと思われる。従来は死因として呼吸不全、心不全がほぼ同数であったが³⁾、呼吸管理により呼吸不全死は減少し、心不全管理がDMDの予後決定に重要となっている。剖検例ではいずれも心筋の線維化、脂肪化が特徴的であり、心肥大を呈した例もあるが、心室壁が菲薄化し、拡張型心筋症を呈した例が多かった。DMDでは心筋の病理学的変化は普遍的に存在し、心筋障害に由来する心不全は今後も避けられない問題である。アンジオテンシン変換酵素阻害剤等による早期治療により予後改善がみられている。しかし、呼吸機能がまだ保たれている10代前半の若年時から心不全が急激に進み、一旦進行するといかなる治療も奏効しない例もある。心不全管理をどの時期からどのように行うべきかなど、今後の課題は山積されている。

また、DMDの死因として肺梗塞が注目され、凝固異常の存在が推測されている。今回の剖検例では肺梗塞の所見はみられなかったが、脳梗塞が2例でみられた。1例は、脱水に伴い脳梗塞をきたし、失語症などの症状を呈し、CTでも病巣が確認された。剖検では、脳血管に動脈硬化性病変はなく、塞栓や脱水に伴う血液粘度の上昇、凝固亢進などが要因として推測された。もう1例は無症候性脳梗塞であり、臨床経過の中では発症に気付かれなかった。病理所見では、新旧の多発性小梗塞巣が認められた。この例は無症候性に梗塞を繰り返してきたものと思われ、ほかにもこのような症例

は潜在している可能性があり、凝固系の異常、脱水等には注意を要するものと考えられる。

剖検所見としては、中枢神経系の異常が注目される。DMDでは知的機能障害の存在が知られ、平均IQはおよそ80～90の間にあり、IQ75未満の出現頻度は、約30%程度であると考えられている。また、事象関連電位による電気生理学的検討でも、P300の異常などが報告されている⁴⁾。さらに、同一個人の経時的検討で、知的障害の有無に関わらず、P300の異常が進行することが報告されている⁵⁾。今回の病理学的検討でも、知能障害の有無とは無関係に、脳回異常など中枢神経系の発達異常を示唆する所見が共通に認められた。この病理学的変化と脳機能が実際にどのように関連するのかは不明であるが、DMDの中中枢神経障害を検討する上で注目される所見と思われる。

結 論

DMDの予後決定因子として心不全の管理が重要であり、治療法の検討が今後の課題である。剖検例では筋以外の所見として中枢神経系の形態異常があり、中枢神経障害を検討する上で重要な所見と思われる。

参考文献

- 1) 福永秀敏ら：筋ジス病棟データベース。筋ジストロフィー患者のケアシステムに関する総合的研究班，2001
- 2) 石原傳幸：X染色体性筋ジストロフィー。杉田秀夫他編 新筋肉病学。南江堂，1995，p.502-516
- 3) 向山昌邦ら：本邦剖検例の概況。祖父江逸郎他編 筋ジストロフィー症の臨床。医歯薬出版，1985，p.49-55
- 4) 近藤 浩ら：Duchenne型筋ジストロフィーにおける事象関連電位(P300)の検討。神経内科 47:278-284, 1997
- 5) 近藤 浩ら：Duchenne型筋ジストロフィーにおける事象関連電位の経時的变化。厚生省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究班 平成8-10年度研究報告書，1999，p.206-208

筋強直性ジストロフィー患者の呼吸障害に対するセロトニンタイプ1Aレセプターアゴニストの有用性について

本家 一也
狩野 操
土井 建朗

小児科
神経内科
神経内科
国立療養所医王病院
石川県金沢市岩出町二の73

Key words : 筋強直性ジストロフィー、呼吸障害、無呼吸、セロトニンタイプ1Aレセプターアゴニスト

要 旨

筋強直性ジストロフィーでは比較的運動機能や肺活量の良好な患者においても、特に睡眠時、著明な低酸素血症を認めることがあり、この障害は主に中枢性と考えられている。重症の場合は人工呼吸管理が行われる場合もあるが、適応できない患者も多い。最近、セロトニンタイプ1Aレセプターアゴニストが中枢性無呼吸に有効との報告があり、本薬剤を呼吸障害を認める患者3名に6ヶ月間投与し、その有用性を検討した。その結果、夜間の呼吸状態は投与期間が長くなるに従い、改善した。一方、日中の呼吸状態には変化は認められず、本薬剤の効果は呼吸促進によるものではなく呼吸抑制の防止によるものと考えられた。副作用は特に認められなかった。

はじめに

筋強直性ジストロフィー(以下MYD)では、比較的運動機能や肺活量の良好な患者においても、日中の動脈血ガス分析で低酸素、高炭酸ガス血症を認め、夜間、さらに呼吸状態が悪化する患者をしばしば認める。この呼吸障害の主な原因は中枢性と考えられており¹⁾、特に夜間、繰り返し発生する高度の低酸素血症は中枢性無呼吸によるとされている²⁾。MYDの病状の進行にこの低酸素血症がどの程度影響するのかわからないが、動脈血酸素飽和度が組織障害が発生するとされる80%以下³⁾になることも多く、病態へ悪影響を及ぼしていることは十分に考えられる。

現在、この呼吸障害への対策として、夜間中心にNIPPVやCPAPが試みられているが⁴⁾、適応できない患者が多く、また、適応できたとしてもQOLの点からの問題もある。

薬物治療でコントロールできれば、これらの問題は少なくなるが、特に筋ジストロフィー患者の場合、呼吸促進剤の使用は呼吸筋疲労を発生させ、呼吸筋障害

を悪化させることから禁忌と考えられる。しかし、中枢性無呼吸の防止を目的とする薬物治療の場合は問題はないと思われる。

本研究では、中枢性無呼吸に有効との報告⁵⁾があるセロトニンタイプ1A(5HT1A)レセプターアゴニストをMYD患者に投与し、呼吸障害に対する有用性を検討した。

1 対象と方法

当院入院中のMYD患者の中で、病状が安定しており、夜間、低酸素血症を認める患者に本研究について十分説明し、同意の得られた3名(表1)を対象患者とした。抗不安薬として市販されているセロトニンタイプ1Aレセプターアゴニスト(セディール)を30mg/日、分3で朝、昼、20時に、約6ヶ月間投与し、日中の動脈血ガス分析値(AGA)、努力肺活量(FVC)および夜間の動脈血酸素飽和度(SpO₂)の変化を検討した。また、副作用についても調査した。

Case	Age	Sex	CTG-Repeat	Stage	FVC (ml)	pO ₂ (mmHg)	pCO ₂ (mmHg)	SpO ₂ 90%> (min.)
1	46	M	2300-2700	3	2240	77.0	49.8	70
2	47	F	1900-2500	6	1350	61.6	48.3	131
3	52	F	1600-2000	6	920	68.4	50.7	196

M : 男性, F : 女性
Stage : 運動機能障害度
FVC : 努力肺活量
pO₂, pCO₂ : 日中の動脈血ガス分析値
SpO₂ 90%> : 夜間におけるSpO₂ 90%以下の時間

表1 対象患者のプロフィール

2 結 果

症例1では、夜間のSpO₂ 90%以下の時間は、投与前24分から70分だったが、投与後37分から3分に減少した。なお、投与期間が長くなるに従い、減少する傾向を認め、投与3ヶ月後以降での時間は20分から3分だった。一方、95%以上の時間は、投与前40分から148分だったが、投与後91分から442分に増加した。症例2においても、夜間のSpO₂ 90%以下の時間は、投与前25分から131分だったが、投与後47分から5分に減少した。また、投与期間が長くなるに従い、減少する傾向をやはり認め、投与3ヶ月後以降での時間は16分から5分だった。一方、95%以上の時間は、投与前10分から173分だったが、投与後35分から460分となり、投与3ヶ月以降では168分から460分と増加した。

症例3では、夜間のSpO₂ 90%以下の時間は、投与前10分から196分とばらつきが大きかったが、投与後90分から1分となった。なお、投与4ヶ月後以降での時間は3分から1分だった。一方、95%以上の時間は、投与前0分から3分とほとんど認められなかったが、投与後は0分から76分となり、特に投与3ヶ月以降で増加した(図1)。

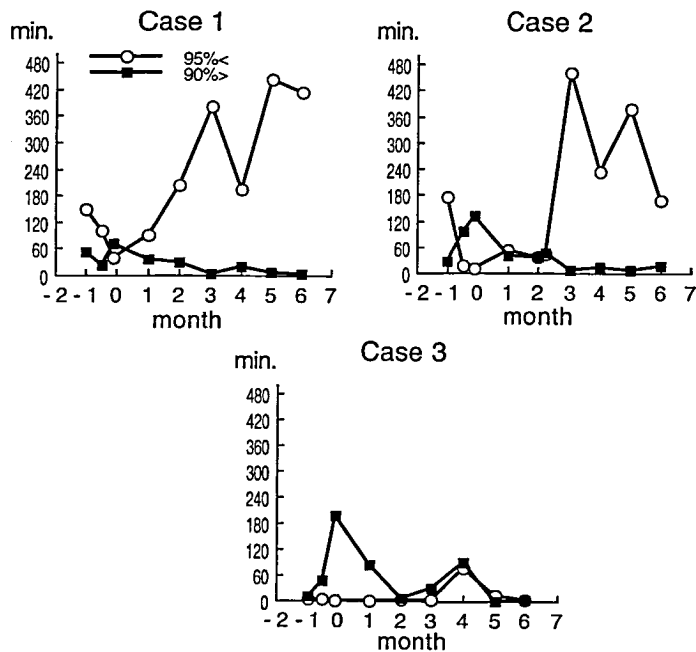


図1 夜間における SpO_2 95% 以上の時間と90% 以下の時間の推移

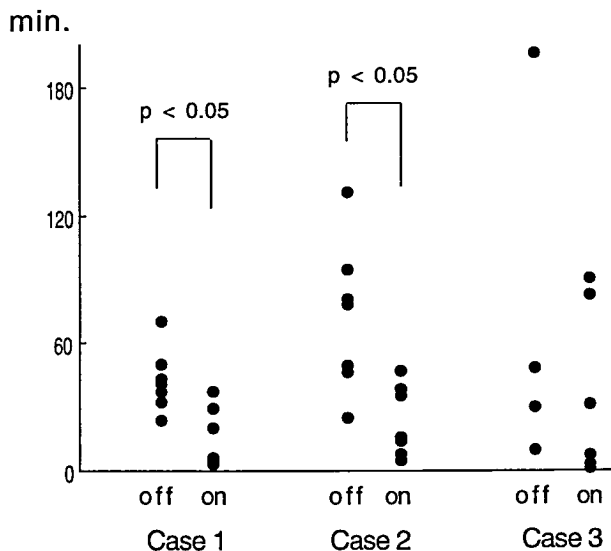


図2 セディール投与による夜間 SpO_2 90% 以下の時間の変化

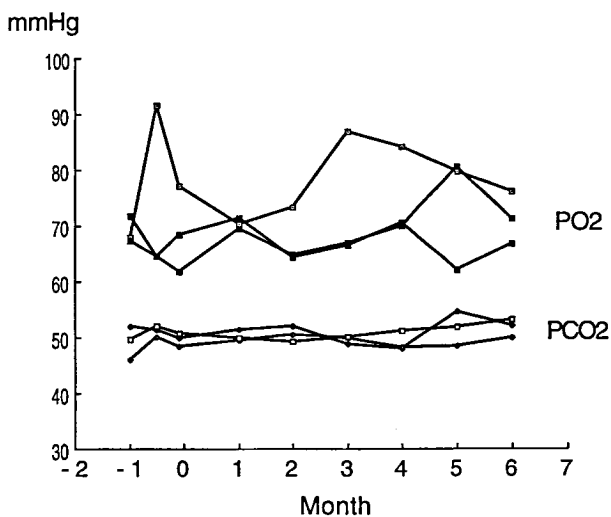


図3 3症例における日中の動脈酸素分圧、炭酸ガス分圧の推移

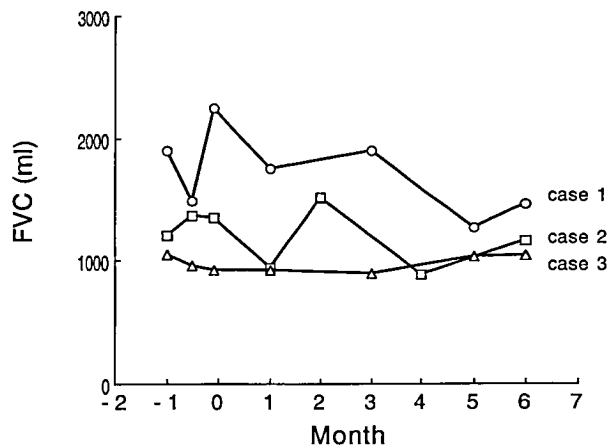


図4 3症例におけるFVCの推移

夜間における SpO_2 90% 以下の時間についてまとめると、投与前に比較し投与中、症例1、2では有意 ($p < 0.05$) に減少した。また、症例3においても減少傾向を認めた(図2)。なお、統計計算にはMann Whitney U 検定を使用した。

日中のAGAについては、 pO_2 値では変動が大きい、3例とも投与により上昇することはなかった。また、 pCO_2 についても、特に低下は認められなかった(図3)。FVCの推移については、3例とも変動が大きく検査自体の再現性に問題があるが、投与後、とくに上昇することはなかった(図4)。

3 考察

MYDは全身性の疾患であり、その病態はいわゆる筋ジストロフィーとは、かなり異なっている。呼吸障害についても、中枢性の要素が大きく、必ずしも運動機能障害や肺活量低下の程度とは一致しない^{1),2)}。Duchenne型筋ジストロフィーでは、運動機能障害の進行に伴い肺活量が低下し、FVCが800mlぐらいになると、日中のAGAで炭酸ガスが50mmHgを越えるようになり、また、夜間においても SpO_2 が90%以下となる時間が多くなる⁶⁾。そして、この時点から夜間中心のNIPPVによる人工呼吸管理に入っていくことが多い。

一方、MYDでは、FVCがそれほど低下していない患者においても、日中のAGAで低酸素血症、高炭酸ガス血症を認めたり、夜間に著明な低酸素血症を認めることがある。これらの呼吸障害は呼吸筋の筋力低下によるものではなく、中枢性の無呼吸を含む換気障害が原因と考えられる^{1),2)}。

MYD患者では高頻度に中枢神経障害を伴うことが知られており、脳幹網様体病変が傾眠や無呼吸に関係しているとの意見も多い^{8),9),10),11)}。無呼吸は著明な吸気の延長による呼吸リズムの障害であり、脳幹下部と橋の呼吸ネットワークの障害により発生すると考えられている¹²⁾。麻酔による動物実験ではグルタミン酸の関係したシナプス伝達の低下が無呼吸に関係することが推定

されており¹³⁾、この無呼吸はセロトニンタイプ1Aレセプターアゴニスト投与により消失すると報告¹⁴⁾されている。また、橋と延髄のアストロサイトーマの術後の小児患者にみられた無呼吸に対して同薬剤が著効を示したとの報告⁹⁾もあり、今回の研究の前に、MYD患者3名にセロトニンタイプ1Aレセプターアゴニストを15mg/日、分3で2週間投与、次に常用量である30mg/日に増量し、さらに2週間投与を続け、夜間の呼吸状態に対する影響を検討した。その結果、30mg/日投与中に呼吸状態がやや改善した。

そこで、今回、30mg/日で長期投与を行い、その有用性を検討した。対象患者3名と少数での検討ではあるが、夜間の呼吸状態はいずれにおいても投与期間が長くなるにしたがい改善し、投与3ヶ月前後以後で著明に改善した。この呼吸状態の改善は本薬剤投与により睡眠による無呼吸や呼吸抑制が軽減したことによると考えられるが、短期投与では、その効果は現れにくいと思われ、少なくとも3ヶ月以上投与し、その症例に対する効果を判定する必要がある。一方、3例いずれにおいても日中のAGAで改善は認められず、本薬剤には呼吸促進作用はないと考えられる。比較的長期の本研究においても、FVCに特に変化はなく、また呼吸状態の悪化も認められず、疲労による呼吸筋障害悪化の心配はないと思われる。

長期投与による副作用は特に認められず、MYD患者の中枢性呼吸障害に対して本薬剤は有用であり、夜間、呼吸状態の悪い患者では、負担が大きく、適応も困難な人工呼吸管理を行う前に、まず本薬剤による治療を試みるべきと考える。

今後、さらに投与を続行し、呼吸状態の変化を観察するとともに、ADLなど病状の推移についても観察を行っていく予定である。

結 論

MYD患者に認められる中枢性呼吸障害に対してセロトニンタイプ1Aレセプターアゴニストは、有用である。

なお、本研究は厚生省精神・神経疾患研究委託費(11指一1)によって行われた。

文 献

- 1) Carroll JE, et al. : Ventilatory response in myotonic dystrophy. *Neurology* 1977 ; 27 : 1125.
- 2) 米山榮,ら. : Myotonic dystrophyにおける中枢神経障害の臨床的検討—呼吸障害との関連性について. *臨床神経* 1992 ; 32 : 583.
- 3) Mithoefer JC, Holford FD, Keighley JF : The effect of oxygen administration on mixed venous oxygenation in chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 1974 ; 66 : 122-132.
- 4) 大竹進,ら. : 筋・神経疾患の呼吸管理. *MB Orthop* 1996 ; 9 : 113.
- 5) Wilken B, Lalley P, et al. : Treatment of apneustic respiratory disturbance with a serotonin-receptor agonist. *J Pediatr* 1997 ; 130 : 89-94.
- 6) 本家一也. : 呼吸管理の実際. *小児内科* 1991 ; 23 : 116-120.
- 7) Harper PS. : Peripheral and central nervous involvement in myotonic dystrophy, (in *Myotonic dystrophy*, 2nd ed), Saunders London 1989
- 8) Ono S et al. : Neuronal loss in the medullary reticular formation in myotonic dystrophy. A clinicopathological study. *Neurology* 1996 ; 46 : 228.
- 9) 高橋桂一,ら. : 筋緊張性ジストロフィーにおける延髄網様体の神経病理学的研究 平成7年度筋ジストロフィーの臨床・疫学及び遺伝相談に関する研究 研究報告書. 1996 : 353-356.
- 10) 橋本和季,ら. : 筋強直性ジストロフィーにおける脳幹神経核の検討 平成9年度筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態の把握と対策に関する研究 研究報告書. 1998 : 109.
- 11) Ono S et al. : Loss of serotonin-containing neurons in the raphe of patients with myotonic dystrophy : A quantitative immunohistochemical study and relation to hypersomnia. *Neurology* 1998 ; 50 : 535.
- 12) Plum F, Alvord EC. : Apneustic breathing in man. *Arch Neurol* 1964 ; 10 : 101-102.
- 13) Feldman JL, Windhorst U, Anders K, Richter DW. : Synaptic interaction between medullary respiratory neurones during apneusis induced by NMDA-receptor blockade in cat. *J Physiol* 1991 ; 450 : 303-323.
- 14) Lalley PM. : The excitability and rhythm of medullary respiratory neurons are altered by the serotonin receptor agonist 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine. *Brain Res* 1994 ; 648 : 87-98.

Duchenne型筋ジストロフィー患者における 単語記憶負荷時Functional MRI

樋口嘉久、光吉 出、森村達夫、白坂幸義
国立療養所宇多野病院

要 旨

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)患者にはしばしば知的障害が合併し、特に言語性IQの低下が指摘される。右利きDMD患者4名において単語記憶負荷時Functional MRIを施行し、言語記憶に関する優位側を検討した。4名とも左海馬が活性化し、4名中2名では左側Wernicke野が活性化した。このことから右利きDMD患者において言語、記憶における優位側は左側であると考えられた。Dystrophinは脳に発現し分化にも関与しているが、言語に関する優位側決定には影響しないと考えられた。今後検査方法の工夫とともに他の活性化部位の検討が必要である。

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィーにはしばしば精神発達遅滞を合併する。幼児期には言語発達遅滞を呈したり、自閉的傾向がみられたりする⁽¹⁾⁽²⁾。また精神発達遅滞のない患者において言語性IQが低い傾向が報告されている⁽³⁾。Dystrophinは脳にも発現しており脳機能にも関与していると考えられるが言語および記憶能力の低下の原因となる器質的変化はまだ未解明である⁽⁴⁾。今回われわれは単語記憶負荷時Functional MRIを用いてDuchenne型筋ジストロフィー患者における言語記憶に関する優位側の検討を試みた。

方 法

対象：4名のDuchenne型筋ジストロフィー患者に同意を得て施行した(表1)。年齢は17~18才で右利きである。発達指数は新版K式による。症例2は左中心野を焦点とする部分発作があったが、2年以上コントロールされている。2例については免疫組織学的にDystrophin欠失を認めるがDystrophinの欠失部位は特定されていない。

撮像方法：撮影は1.5T MRIによるGradient Echo法で行った。TR/TE/FA 400/60/40、Matrix 256x256、5mmスライス条件にて撮像した。撮像面はまず両側傍矢状断面より両側Sylvius溝を含む平面を設定した。次にこの面を平行移動させて側頭極を通過する面との間に4平面を設定した。この中の撮影面には海馬、Wernicke野が含まれる。

負荷方法：Taskは三宅式単語記憶力テストを用いた。互に関連する意味を有する2つの単語(有関連語)を2語1組として10組、互いに意味が関連しない2つの単語(無関連語)10組、計40単語を聴取させ記憶させることを負荷とした。30秒間の静止安静(無負荷対照)と30秒間の聴取・記憶(有関連語2回、無関連語2回)を繰り返して撮像した。無負荷時信号と負荷時平均信号強度の差分画像をT1画像に重ね検討した。また検査直後の記憶語組数を計数した。

関心領域における神経活動の活性化が生じると局所脳血流量増加を生じさせるため、本法では活性化部位は相対的なdeoxy-Hb減少によるT2*信号強度の増加として表される(BOLD法)⁽⁵⁾。正常(右利き)対照群で今回と同様の負荷を行うと左海馬および左Wernicke領野に信号増加が得られる。

表1

症例	年齢	利き手	発達指数 (DQ)			Dystrophin欠失	
			Total	言語社会	認知適応		生活年齢
1	17	R	92	99	86	12:1	3-6
2	18	R	65	67	63	15:6	n. s.
3	18	R	64	64	64	15:0	47-52
4	18	R	77	71	82	15:7	n. s.

生活年齢は 年:月

表2

症例	記憶語数	海馬活性化側	Wernicke野活性化側
1	8 (3)	L	L
2	11 (5)	L	?
3	5 (4)	L	L
4	2 (0)	L	?

記憶語数 ()内は有関連語の一方を示唆されて回答した語数

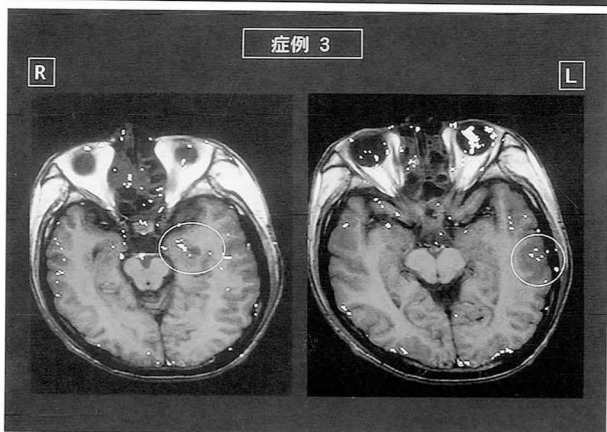
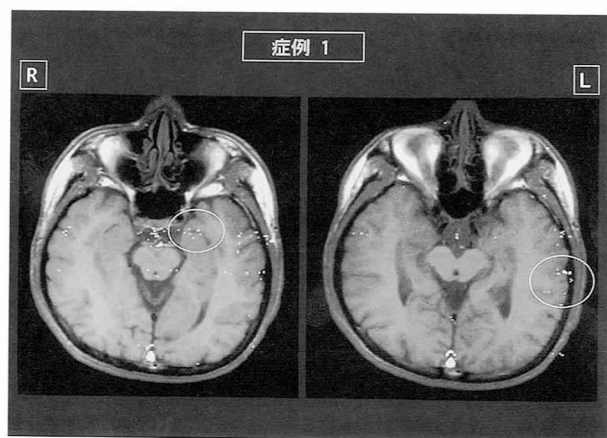
結 果

今回の対象4人は全員が左側海馬に活性化が見られ(図)、うち2例では左側Wernicke野にも活性化が見られた。記憶語数は8~11語であった。(表2)

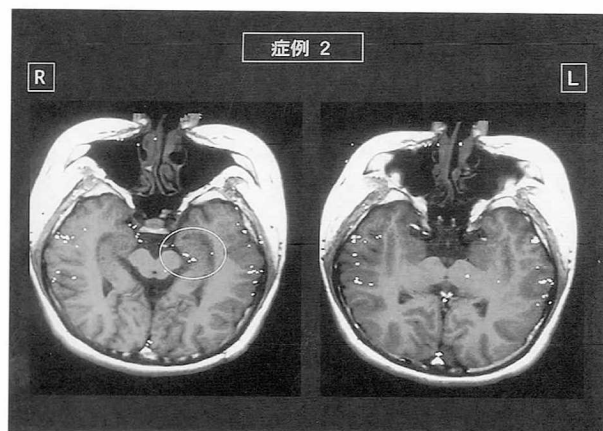
考 察

今回の検討では右利きDMD患者の言語記憶に関する優位側は左側と考えられた。DMDにおける言語性発達障害や言語性IQの低さは優位中枢の側性変化という比較的大きな構造変化によるものではないと思われる。ヒトの言語中枢優位側は会話音に対する誘発電位に左右差がみられることから出生時にはある程度決定されていると考えられている⁽⁶⁾。そしてWernicke野やBroca野においては1才から2才頃にdendriteの延長やsynapseの増加がみられて言語発達の基盤形成が行われる⁽⁷⁾。早期に優位側が障害された場合非優位側の障害に比べて言語発達に影響しやすいとされるが、4-5才頃までに障害を受けた場合反対側に動く可塑性も維持されている⁽⁸⁾。

Dystrophinは脳に発現しており、その機能不全から



症例1, 3 左：左側海馬に活性化を認める（円内）。
右：左側Wernicke野に活性化を認める（円内）。



症例2, 4 左：左側海馬に活性化を認める（円内）。
右：Wernicke野の活性化は明確でない。

DMDにおいては知的障害や精神症状が生じると考えられている⁽⁴⁾。しかしそのメカニズムは今なお明らかではない。それはDystrophinの神経系における発現、局在そして役割が多様であるからと考えられる。

現在考えられているdystrophinの役割は以下が考えられている。1) migrationなど脳形成に関与する 2) ニューロン内のCa制御因子として細胞内信号伝達に関与する 3) 神経伝達物質のレセプターを細胞膜表面上に機械的に安定させる因子として機能する⁽⁴⁾。

DMD患者において前頭葉側頭葉を中心に皮質の形成異常やdendriteの発達異常が認められるが⁽⁹⁾、これはmigrationの障害による皮質形成異常あるいは信号伝達障害によるdendrite成長異常と考えられる。この形成異常が広範囲に生じた場合、言語記憶中枢の優位側変化も生じうるが、同時に重度の知的障害も合併する⁽¹⁰⁾。この場合DMDに特異的な変化ではなく広範な皮質形成異常における症状と考えて検討しなければならない。またこうした形成異常は全てのDMD患者に生じるわけではない。DMDにおける言語機能の障害は微細構造形成における障害か細胞内やシナプスにおける信号伝達におけるDystrophinの機能障害に起因すると思われる。今回の検討における問題点としては検査方法の改善があげられる。撮像中の器械音の影響排除、被験者のDQからみて10-12才程度に合わせた単語負荷を検討中であ

る。撮像法も差分画像に統計処理を加える必要がある。DMDにおける脳機能画像の検討としてはBresolinらがPositron Emission Tomography (PET)を用いて小脳のhypometabolismを報告している⁽¹¹⁾。またRaeらはMagnetic Resonance Spectroscopy (MRS)により小脳におけるCholine含有物の増加を認めている⁽¹²⁾。小脳Purkinje細胞にはP-promoter由来のDystrophinが発現しており⁽¹³⁾ これらの結果との関連が注目される。今後の課題として他の負荷時活性化領域、特に小脳を活性化する負荷方法を検討したい。

参考文献

- (1) 熊谷俊幸ら：Duchenne型およびBecker型筋ジストロフィーの中核症状、脳と発達、2001；33：480-486.
- (2) Billard C et al. : Intellect and behaviour in Duchenne muscular dystrophy. Neuromuscul Disord. 1992;2:371-8.
- (3) Leibowitz D et al. : Intellect and behaviour in Duchenne muscular dystrophy. Dev Med Child Neurol. 1981；23:577-590
- (4) Mehler MF. : Brain dystrophin, neurogenetics and mental retardation. Brain Research Reviews. 2000；32：277_307.

- (5) Sanders J et al. : In Orisson WW et al. (eds) : Functional Brain Imaging, Chapter 7, St.Louis, 1995, Mosby.
- (6) Molfese DL et al. : The ontogeny of brain lateralization for speech and nonspeech stimuli. *Brain Lang.* 1975;2:356-368.
- (7) Herschkowitz N et al. : Neurobiological bases of behavioral development in the 2nd year. *Neuropediatrics.* 1999;30:221-230.
- (8) Duchowny M et al. : Language cortex representation: effects of developmental versus acquired pathology. *Ann Neurol.* 1996;40:31-8.
- (9) Jagadha V et al. : Brain morphology in Duchenne muscular dystrophy: a Golgi study. *Pediatr Neurol.* 1988 ; 4: 87_92.
- (10) Wibawa T et al. : Complete skipping of exon 66 due to novel mutations of the dystrophin was identified in two Japanese families of Duchenne muscular dystrophy severemental retardation. *Brain Dev.* 2000;22:107-12.
- (11) Bresolin N et al. : Cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular Disord.* 1994;4: 359_369.
- (12) Rae C et al. : Brain biochemistry in Duchenne muscular dystrophy: a 1H magnetic resonance and neuropsychological study. *J Neurol Sci.* 1998;160 : 148_157.
- (13) Sadoulet-Puccio HM et al. : Dystrophin and its isoforms. *Brain Pathol.* 1996;6 : 25_35.

《ミオパチー》 筋強直性ジストロフィー

山縣英久 野村拓夫
三木哲郎*

はじめに●

筋強直性ジストロフィー (dystrophia myotonica, myotonic dystrophy, myotonia atrophica, Steinert disease: 以下 DM) は、成人においてもっとも頻度の高い筋ジストロフィーであり、筋肉、心臓、眼など全身の臓器を侵す常染色体優性遺伝病である¹⁻³⁾。トリプレットリピート病の一種であり、患者では遺伝子 DNA の CTG リピートが高度に伸長しており、遺伝子診断が容易に行える遺伝病の一つといえる⁴⁾。誌面に限りがあり、本稿では DM に関連する最近の知見について概説する。

診 断●

DM の診断は、経験ある専門医であれば容易である。特徴的な顔貌すなわち若年性禿頭と側頭筋や咬筋の萎縮、高口蓋による斧様顔貌 (hatchet face)、白内障、特徴的な構音障害 (不明瞭な発音にもかかわらず早口)、特有な障害筋の分布 (胸鎖乳突筋、前腕と下腿の筋萎縮)、把握性および叩打性ミオトニー、家族歴があれば、本症が疑われる。多臓器合併症の一覧を Table 1 に示す。心不全、呼吸不全、ケアなど臨床的側面の詳細は成書⁵⁾を参照されたい。

1992 年、本症の遺伝子異常は第 19 染色体長腕にある DM タンパクキナーゼ (DMPK) 遺伝子の 3' 非翻訳領域の (CTG) リピートの伸長であることが判明し、発症年齢・重症度とリピート数がだいたい相関し、表現促進現象 (親より子のほうが発

Table 1. DM の多臓器合併症

神経系	脳病変 (神経原線維変化, 脳萎縮, 痴呆, 性格変化, 過眠症, 先天性筋強直性ジストロフィーでは高度の知能障害)
眼	白内障, 網膜変性症, 眼圧低下, 眼瞼下垂, 眼球運動障害, 衝動性眼球運動が少ない, 瞬目が少ない
耳	感音性難聴
皮膚	若年禿頭/頭髪脱毛, 石灰化上皮腫
消化器	齲歯, 咀嚼障害, 嚥下障害, 食道拡張, 胃拡張, イレウス, 巨大結腸症, 便秘, まれに下痢, 胆石
呼吸器	肺泡低換気, 呼吸調節障害, 嚥下性肺炎
循環器	心伝導障害 (房室ブロック, 心房細動), 心筋病変, 動脈硬化症
内分泌代謝	耐糖能異常 (インスリン過反応)/糖尿病, 高脂血症, 男性不妊 (精巣萎縮), 高頻度の流産, 月経異常, 早期閉経
免疫系	低 γ -グロブリン血症
骨格系	頭蓋骨肥厚, 後縦靭帯骨化症, 関節脱臼 (顎関節など), 副鼻腔巨大化
腫瘍	種々の悪性/良性腫瘍を発生, 女性は子宮筋腫がきわめて多い

(文献 1) より引用)

症年齢が早まる) がリピート数レベルで説明可能となった⁵⁾。DM の遺伝子検査 [文献 4) 参照] は保険適用外だが、検査会社 [東洋紡ジーンアナリシス (TGA), シオノギバイオメディカルラボラトリーズ (シオノギ; TGA と提携), エスアールエル (SRL), ビー・エム・エル (BML), 三菱化学ビーシーエル (MBC)] が有料で検査している。

病 態●

まだ完全には分子レベルの病態は解明されていないが、現在までの知見をまとめると Fig. 1 のようになる。異常 CTG リピートをもつ DMPK 遺伝子を中心に末端側に DMWD 遺伝子、動原体側に

* H. Yamagata (衛生学), T. Nomura, T. Miki (教授) (老年医学): 愛媛大学。

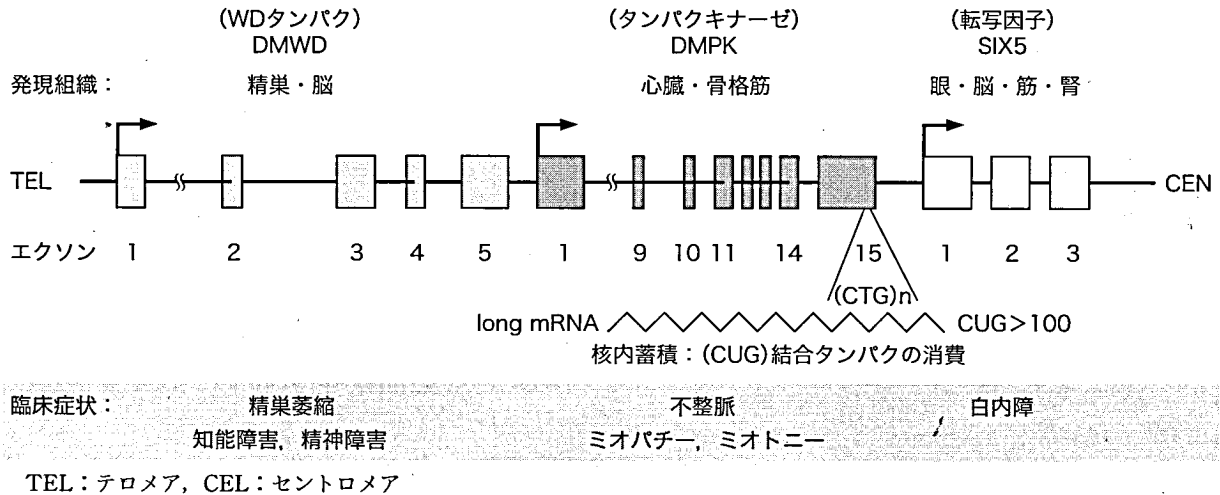


Fig. 1. DM1のメカニズム—Multigene syndrome?

SIX 5 遺伝子が隣接し、リピート数が異常に増えるとこれらのタンパクの発現が低下し、おのおのの臨床症状が出る^{2,6-8}。また異常に長い DMPK-mRNA は核内に蓄積し、(CUG)リピートに結合する正常タンパクを消費してしまう²。RNA レベルでは gain of function (機能獲得型) パターン、DNA レベルでは loss of function (機能喪失型) パターンを呈す。3'非翻訳領域に遺伝子異常がある疾患は DM が最初であったが、その後、福山型筋ジストロフィー、遺伝性脊髄小脳失調症 8 型 (SCA 8)⁹などが報告され、異常 mRNA の蓄積や安定性、分化、細胞内局在化の異常として注目される。また SCA 8 は、DM と同じく CTG リピートが長くなるトリプレットリピート病である。

ミオトニー●

大部分のミオトニーは、電位依存性イオンチャネル(Clチャネル、Na⁺およびCa²⁺チャネル)異常が多いが、DM の場合は電位依存性 Na⁺チャネル異常が主因と考えられている^{2,10}。なお、最近 DMPK によりリン酸化される基質が A キナーゼや C キナーゼによりリン酸化され、Cl 電流を誘導する phospholemman (PLM) であるという報告がある¹⁰。また別の遺伝性ミオトニーを起こす Schwartz-Jampel 症候群 (軟骨形成異常性ミオト

ニー)の原因遺伝子が、基底膜の主要プロテオグリカンである perlecan (HSPG 2) であることが報告された¹¹。そのミオトニーのメカニズムとして、1) tenascin-R などの細胞外マトリックスタンパクとの相互作用により perlecan がイオンチャネル発現や機能を調節している、2) ACh エステラーゼは神経筋接合部の神経信号の停止シグナルであり、シナプスクラスターに必要な基底膜構成成分である perlecan の異常蓄積により ACh の崩壊が減り、筋の再収縮、ミオトニーが生じる、などの仮説がある。

DM 1, DM 2 ●

DM によく似た疾患が報告され、最近、名称が DM 1 (従来の DM)、DM 2 と決められた¹²。歴史的には 1994 年、Thornton らが CTG リピート伸長のない優性遺伝性の DM 様疾患を報告し¹³、それを翌年 Ricker らが proximal myotonic myopathy (PROMM) (遠位筋が侵される DM と比し、筋萎縮のない近位筋優位の筋力低下があるため)と命名した¹⁴のに続いて、1996 年に Meola らが異常なミオトニーとミオパチー顔貌を伴う PROMM の変異型を PROMM syndrome と命名¹⁵、一方 Udd らは 1997 年、筋力低下を伴う PROMM 様家系を proximal myotonic dystro-

Table 2. DM 1 と DM 2 の臨床症状の対比

症 状	DM 1	DM 2
発症年齢	0 歳～成人	8～50 歳
表現促進	+	±(軽度)
筋力低下		
顔面筋	+	±
眼瞼下垂	+	±
近位筋	+	±
遠位筋	+	±
胸鎖乳突筋	+	不定
ふくらはぎの肥大	-	+
白内障	+	+
頭髮脱毛	+	+
不整脈	+	+
性腺機能低下	+	不定
高血糖	+	不定
過睡眠	+	不定
発汗過多	不定	+
筋電図ミオトニー	+	+
染色体座位	19 q 13.3	3 q 21

phy(PDM)と命名した¹⁶⁾。さらにミネソタ大学のグループがDM様疾患をDM 2と命名し^{17,18)}、1999年、RanumらがDM 2座位を3q 21に決定した¹⁷⁾。

その後、PROMM, PDMも3q 21に座位があると報告され、PROMM, PDM, DM 2と表現型は少しずつ違うが遺伝子座位は同じであるため(一部のPROMMはDMにもDM 2にも連鎖しないようであるが)、DMやPROMM/PDM/DM 2をmyotonic dystrophiesとし、座位が決まっている順にDM 1, DM 2...と命名していくことになり、言葉の混乱は一応の決着をみた¹²⁾。Table 2にDM 1とDM 2を対比して示す²⁾。本邦でのDM 2の報告はまだない。

治 療●

DMの根本的治療はなく、ミオトニー(phenytoinなど)や心不全(ACEI, 利尿薬)の治療、重症不整脈に対するペースメーカー装着、白内障の手術、リハビリなどが主なものであるが、ここではDHEA-Sとwarfarinについて述べる。

デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)およびその代謝産物である硫酸デヒドロエピアンドロステロン(DHEA-S)はもっとも多い血中ステロイド産物であり、DMでは両方低下している。興味深いことに、DHEAスルホトランスフェラーゼ遺伝子がDMPK遺伝子と同じ19q 13.3座位に存在する。単純に不足している物質を補うという観点に立ち、数年前、本邦の多施設においてDHEA-S 200 mg/day(カネボウ)を8週間連日静脈注射したところ、有意なミオトニー、筋力の改善がみられ、中には不整脈も改善した例まで出て、投与を中止して半年以上経過しても良好な状態を保持したデータがある¹⁹⁾が、現在は製剤は入手できない。効くメカニズムは不明であるが、IGF-1(insulin-like growth factor 1), CPT-1(carnitine palmitoyl-transferase 1)の誘導が想定されている。欧米にてDHEA-Sの経口薬が開発され、今後期待されている。

また最近、DMを含めた筋ジストロフィー患者にwarfarinを経口投与して肺梗塞や脳梗塞を防ぐ、多施設共同研究が全国の国立療養所を中心に始まり、その成果が期待される。

おわりに●

最近の研究の進歩には目覚ましいものがあり、ようやくヒトに近いDMのモデルマウスも作製され²⁰⁾、この分野の基礎的、臨床的発展をおおいに期待したい。

文 献●

- 1) 筋強直性ジストロフィーの治療とケア, 川井 充編, 医学書院, 東京, 61~226頁, 2000
- 2) Myotonic dystrophy: Molecules & Signs. <<http://www.neuro.wustl.edu/neuromuscular/musdist/pe-eom.html#dmdismech>> [Accessed 29 January 2001]
- 3) 尾方克久: 筋緊張(強直)性ジストロフィー. Clinical Neurosci 17: 1215, 1999
- 4) 山縣英久ほか: 筋緊張性ジストロフィー. 臨床DNA診断法, 古庄敏行, 井村裕夫編, 金原出版, 東京, 633~636頁, 1995
- 5) 山縣英久ほか: 筋強直性ジストロフィーの本当の原因

- 遺伝子は何か. 神経進歩 **41** : 458, 1997
- 6) Klesert TR et al : Mice deficient in Six 5 develop cataracts—implications for myotonic dystrophy—. *Nat Genet* **25** : 105, 2000
 - 7) Sarkar PS et al : Heterozygous loss of Six 5 in mice is sufficient to cause ocular cataracts. *Nat Genet* **25** : 110, 2000
 - 8) Alwazzan M et al : Myotonic dystrophy is associated with a reduced level of RNA from the DMWD allele adjacent to the expanded repeat. *Hum Mol Genet* **8** : 1491, 1999
 - 9) Koob et al : An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA 8). *Nat Genet* **21** : 379, 1999
 - 10) Mounsey JP et al : Phospholemman is a substrate for myotonic dystrophy protein kinase. *J Biol Chem* **275** : 23362, 2000
 - 11) Nicole S et al : Perlecan, the major proteoglycan of basement membranes, is altered in patients with Schwartz-Jampel syndrome (chondrodystrophic myotonia). *Nat Genet* **26** : 480, 2000
 - 12) The international myotonic dystrophy consortium : New nomenclature and DNA testing guidelines for myotonic dystrophy type 1 (DM 1). *Neurology* **54** : 1218, 2000
 - 13) Thornton CA et al : Myotonic dystrophy with no trinucleotide repeat expansion. *Ann Neurol* **35** : 269, 1994
 - 14) Ricker K et al : Proximal myotonic myopathy—clinical features of a multisystem disorder similar to myotonic dystrophy—. *Arch Neurol* **52** : 25, 1995
 - 15) Meola G et al : A family with an unusual myotonic and myopathic phenotype and no CTG expansion (proximal myotonic myopathy syndrome)—a challenge for future molecular studies—. *Neuromuscul Disord* **6** : 143, 1996
 - 16) Udd B et al : Proximal myotonic dystrophy—a family with autosomal dominant muscular dystrophy, cataracts, hearing loss and hypogonadism : heterogeneity of proximal myotonic syndromes? *Neuromuscul Disord* **7** : 217, 1997
 - 17) Ranum LP et al : Genetic mapping of a second myotonic dystrophy locus. *Nat Genet* **19** : 196, 1998
 - 18) Day JW et al : Clinical and genetic characteristics of a five-generation family with a novel form of myotonic dystrophy (DM 2). *Neuromuscul Disord* **9** : 19, 1999
 - 19) Sugino M et al : A pilot study of dehydroepiandrosterone sulfate in myotonic dystrophy. *Neurology* **51** : 586, 1998
 - 20) Mankodi A et al : Myotonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat. *Science* **289** : 1769, 2000

《ミオパチー》 筋強直性ジストロフィー

山縣英久 野村拓夫
三木哲郎*

はじめに●

筋強直性ジストロフィー(dystrophia myotonica, myotonic dystrophy, myotonia atrophica, Steinert disease:以下DM)は,成人においてももっとも頻度の高い筋ジストロフィーであり,筋肉,心臓,眼など全身の臓器を侵す常染色体優性遺伝病である¹⁻³⁾.トリプレットリピート病の一種であり,患者では遺伝子DNAのCTGリピートが高度に伸長しており,遺伝子診断が容易に行える遺伝病の一つといえる⁴⁾.誌面に限りがあり,本稿ではDMに関連する最近の知見について概説する.

診 断●

DMの診断は,経験ある専門医であれば容易である.特徴的な顔貌すなわち若年性禿頭と側頭筋や咬筋の萎縮,高口蓋による斧様顔貌(hatchet face),白内障,特徴的な構音障害(不明瞭な発音にもかかわらず早口),特有な障害筋の分布(胸鎖乳突筋,前腕と下腿の筋萎縮),把握性および叩打性ミオトニー,家族歴があれば,本症が疑われる.多臓器合併症の一覧をTable 1に示す.心不全,呼吸不全,ケアなど臨床的側面の詳細は成書⁵⁾を参照されたい.

1992年,本症の遺伝子異常は第19染色体長腕にあるDMタンパクキナーゼ(DMPK)遺伝子の3'非翻訳領域の(CTG)リピートの伸長であることが判明し,発症年齢・重症度とリピート数がだいたい相関し,表現促進現象(親より子のほうが発

* H. Yamagata(衛生学), T. Nomura, T. Miki(教授)(老年医学):愛媛大学.

Table 1. DMの多臓器合併症

神経系	脳病変(神経原線維変化,脳萎縮,痴呆,性格変化,過眠症,先天性筋強直性ジストロフィーでは高度の知能障害)
眼	白内障,網膜変性症,眼圧低下,眼瞼下垂,眼球運動障害,衝動性眼球運動が少ない,瞬目が少ない
耳	感音性難聴
皮膚	若年禿頭/頭髪脱毛,石灰化上皮腫
消化器	齲歯,咀嚼障害,嚥下障害,食道拡張,胃拡張,イレウス,巨大結腸症,便秘,まれに下痢,胆石
呼吸器	肺胞低換気,呼吸調節障害,嚥下性肺炎
循環器	心伝導障害(房室ブロック,心房細動),心筋病変,動脈硬化症
内分泌代謝	耐糖能異常(インスリン過反応)/糖尿病,高脂血症,男性不妊(精巣萎縮),高頻度の流産,月経異常,早期閉経
免疫系	低γ-グロブリン血症
骨格系	頭蓋骨肥厚,後縦靭帯骨化症,関節脱臼(顎関節など),副鼻腔巨大化
腫瘍	種々の悪性/良性腫瘍を発生,女性は子宮筋腫がきわめて多い

[文献1)より引用]

症年齢が早まる)がリピート数レベルで説明可能となった⁵⁾.DMの遺伝子検査[文献4)参照]は保険適用外だが,検査会社[東洋紡ジーンアナリシス(TGA),シオノギバイオメディカルラボラトリーズ(シオノギ;TGAと提携),エスアールエル(SRL),ビー・エム・エル(BML),三菱化学ピーシーエル(MBC)]が有料で検査している.

病 態●

まだ完全には分子レベルの病態は解明されていないが,現在までの知見をまとめるとFig.1のようになる.異常CTGリピートをもつDMPK遺伝子を中心に末端側にDMWD遺伝子,動原体側に

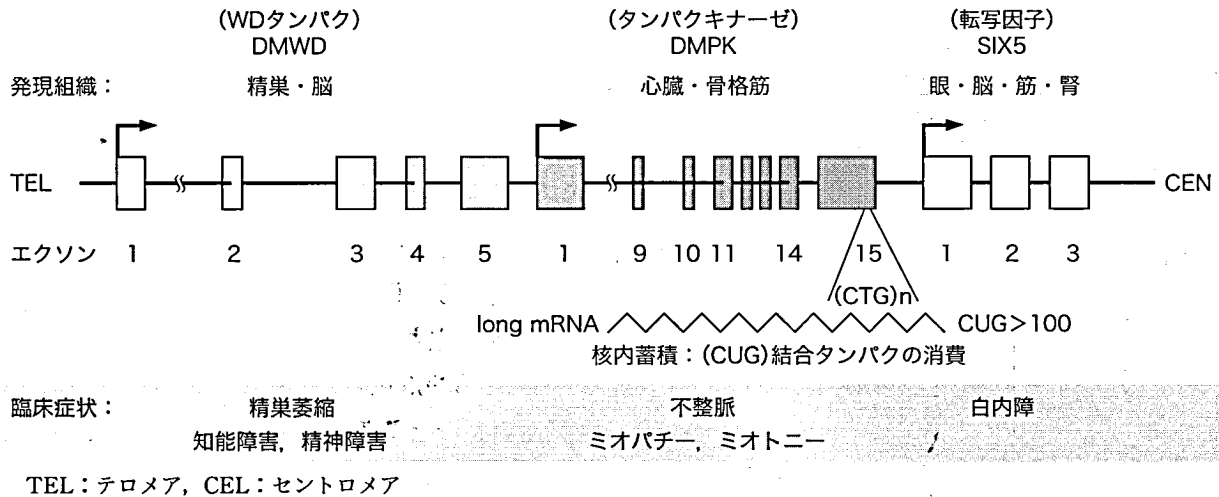


Fig. 1. DM1のメカニズム—Multigene syndrome?

SIX5 遺伝子が隣接し、リピート数が異常に増えるとこれらのタンパクの発現が低下し、おのおの臨床症状が出る^{2,6-8}。また異常に長い DMPK-mRNA は核内に蓄積し、(CUG)リピートに結合する正常タンパクを消費してしまう²。RNA レベルでは gain of function (機能獲得型) パターン、DNA レベルでは loss of function (機能喪失型) パターンを呈す。3'非翻訳領域に遺伝子異常がある疾患は DM が最初であったが、その後、福山型筋ジストロフィー、遺伝性脊髄小脳失調症 8 型 (SCA 8)⁹などが報告され、異常 mRNA の蓄積や安定性、分化、細胞内局在化の異常として注目される。また SCA 8 は、DM と同じく CTG リピートが長くなるトリプレットリピート病である。

ミオトニー●

大部分のミオトニーは、電位依存性イオンチャネル(Clチャネル, Na⁺およびCa²⁺チャネル)異常が多いが、DM の場合は電位依存性 Na⁺チャネル異常が主因と考えられている^{2,10}。なお、最近 DMPK によりリン酸化される基質が A キナーゼや C キナーゼによりリン酸化され、Cl 電流を誘導する phospholemman (PLM) であるという報告がある¹⁰。また別の遺伝性ミオトニーを起こす Schwartz-Jampel 症候群(軟骨形成異常性ミオト

ニー)の原因遺伝子が、基底膜の主要プロテオグリカンである perlecan (HSPG 2) であることが報告された¹¹。そのミオトニーのメカニズムとして、1) tenascin-R などの細胞外マトリックスタンパクとの相互作用により perlecan がイオンチャネル発現や機能を調節している、2) ACh エステラーゼは神経筋接合部の神経信号の停止シグナルであり、シナプスクラスターに必要な基底膜構成成分である perlecan の異常蓄積により ACh の崩壊が減り、筋の再収縮、ミオトニーが生じる、などの仮説がある。

DM 1, DM 2 ●

DM によく似た疾患が報告され、最近、名称が DM 1 (従来の DM), DM 2 と決められた¹²。歴史的には 1994 年、Thornton らが CTG リピート伸長のない優性遺伝性の DM 様疾患を報告し¹³、それを翌年 Ricker らが proximal myotonic myopathy (PROMM) (遠位筋が侵される DM と比し、筋萎縮のない近位筋優位の筋力低下があるため)と命名した¹⁴のに続いて、1996 年に Meola らが異常なミオトニーとミオパチー顔貌を伴う PROMM の変異型を PROMM syndrome と命名¹⁵、一方 Udd らは 1997 年、筋力低下を伴う PROMM 様家系を proximal myotonic dystro-

Table 2. DM 1 と DM 2 の臨床症状の対比

症 状	DM 1	DM 2
発症年齢	0 歳～成人	8～50 歳
表現促進	+	±(軽度)
筋力低下		
顔面筋	+	±
眼瞼下垂	+	±
近位筋	+	±
遠位筋	+	±
胸鎖乳突筋	+	不定
ふくらはぎの肥大	-	+
白内障	+	+
頭髮脱毛	+	+
不整脈	+	+
性腺機能低下	+	不定
高血糖	+	不定
過睡眠	+	不定
発汗過多	不定	+
筋電図ミオトニー	+	+
染色体座位	19 q 13.3	3 q 21

phy(PDM)と命名した¹⁶⁾。さらにミネソタ大学のグループがDM様疾患をDM 2と命名し^{17,18)}、1999年、RanumらがDM 2座位を3q 21に決定した¹⁷⁾。

その後、PROMM, PDMも3q 21に座位があると報告され、PROMM, PDM, DM 2と表現型は少しずつ違うが遺伝子座位は同じであるため(一部のPROMMはDMにもDM 2にも連鎖しないようであるが)、DMやPROMM/PDM/DM 2をmyotonic dystrophiesとし、座位が決まっている順にDM 1, DM 2...と命名していくことになり、言葉の混乱は一応の決着をみた¹²⁾。Table 2にDM 1とDM 2を対比して示す²⁾。本邦でのDM 2の報告はまだない。

治 療●

DMの根本的治療法はなく、ミオトニー(phenytoinなど)や心不全(ACEI, 利尿薬)の治療、重症不整脈に対するペースメーカー装着、白内障の手術、リハビリなどが主なものであるが、ここではDHEA-Sとwarfarinについて述べる。

デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)およびその代謝産物である硫酸デヒドロエピアンドロステロン(DHEA-S)はもっとも多い血中ステロイド産物であり、DMでは両方低下している。興味深いことに、DHEAスルホトランスフェラーゼ遺伝子がDMPK遺伝子と同じ19q 13.3座位に存在する。単純に不足している物質を補うという観点に立ち、数年前、本邦の多施設においてDHEA-S 200 mg/day(カネボウ)を8週間連日静脈注射したところ、有意なミオトニー、筋力の改善がみられ、中には不整脈も改善した例まで出て、投与を中止して半年以上経過しても良好な状態を保持したデータがある¹⁹⁾が、現在は製剤は入手できない。効くメカニズムは不明であるが、IGF-1(insulin-like growth factor 1)、CPT-1(carnitine palmitoyl-transferase 1)の誘導が想定されている。欧米にてDHEA-Sの経口薬が開発され、今後期待されている。

また最近、DMを含めた筋ジストロフィー患者にwarfarinを経口投与して肺梗塞や脳梗塞を防ぐ、多施設共同研究が全国の国立療養所を中心に始まり、その成果が期待される。

おわりに●

最近の研究の進歩には目覚ましいものがあり、ようやくヒトに近いDMのモデルマウスも作製され²⁰⁾、この分野の基礎的、臨床的發展をおおいに期待したい。

文 献●

- 1) 筋強直性ジストロフィーの治療とケア, 川井 充編, 医学書院, 東京, 61~226頁, 2000
- 2) Myotonic dystrophy: Molecules & Signs. <<http://www.neuro.wustl.edu/neuromuscular/musdist/pe-eom.html#dmdismech>> [Accessed 29 January 2001]
- 3) 尾方克久: 筋緊張(強直)性ジストロフィー. *Clinical Neurosci* 17: 1215, 1999
- 4) 山縣英久ほか: 筋緊張性ジストロフィー. 臨床DNA診断法, 古庄敏行, 井村裕夫編, 金原出版, 東京, 633~636頁, 1995
- 5) 山縣英久ほか: 筋強直性ジストロフィーの本当の原因

- 遺伝子は何か. 神経進歩 **41** : 458, 1997
- 6) Klesert TR et al : Mice deficient in Six 5 develop cataracts—implications for myotonic dystrophy—. *Nat Genet* **25** : 105, 2000
 - 7) Sarkar PS et al : Heterozygous loss of Six 5 in mice is sufficient to cause ocular cataracts. *Nat Genet* **25** : 110, 2000
 - 8) Alwazzan M et al : Myotonic dystrophy is associated with a reduced level of RNA from the DMWD allele adjacent to the expanded repeat. *Hum Mol Genet* **8** : 1491, 1999
 - 9) Koob et al : An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA 8). *Nat Genet* **21** : 379, 1999
 - 10) Mounsey JP et al : Phospholemman is a substrate for myotonic dystrophy protein kinase. *J Biol Chem* **275** : 23362, 2000
 - 11) Nicole S et al : Perlecan, the major proteoglycan of basement membranes, is altered in patients with Schwartz-Jampel syndrome (chondrodystrophic myotonia). *Nat Genet* **26** : 480, 2000
 - 12) The international myotonic dystrophy consortium : New nomenclature and DNA testing guidelines for myotonic dystrophy type 1 (DM 1). *Neurology* **54** : 1218, 2000
 - 13) Thornton CA et al : Myotonic dystrophy with no trinucleotide repeat expansion. *Ann Neurol* **35** : 269, 1994
 - 14) Ricker K et al : Proximal myotonic myopathy—clinical features of a multisystem disorder similar to myotonic dystrophy—. *Arch Neurol* **52** : 25, 1995
 - 15) Meola G et al : A family with an unusual myotonic and myopathic phenotype and no CTG expansion (proximal myotonic myopathy syndrome)—a challenge for future molecular studies—. *Neuromuscul Disord* **6** : 143, 1996
 - 16) Udd B et al : Proximal myotonic dystrophy—a family with autosomal dominant muscular dystrophy, cataracts, hearing loss and hypogonadism : heterogeneity of proximal myotonic syndromes? *Neuromuscul Disord* **7** : 217, 1997
 - 17) Ranum LP et al : Genetic mapping of a second myotonic dystrophy locus. *Nat Genet* **19** : 196, 1998
 - 18) Day JW et al : Clinical and genetic characteristics of a five-generation family with a novel form of myotonic dystrophy (DM 2). *Neuromuscul Disord* **9** : 19, 1999
 - 19) Sugino M et al : A pilot study of dehydroepiandrosterone sulfate in myotonic dystrophy. *Neurology* **51** : 586, 1998
 - 20) Mankodi A et al : Myotonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat. *Science* **289** : 1769, 2000

筋ジス研究石原班 full paper 報告書
 ホモ接合性筋強直性ジストロフィー 3 例の
 臨床的比較

班 員 三木哲郎

愛媛大学医学部老年医学

共同研究者 山縣英久

愛媛大学医学部衛生学

田口敬子、野村拓夫

愛媛大学医学部老年医学

[要 旨]

筋強直性ジストロフィー 2 家系 3 例において、ホモ接合体を見出し、臨床症状を比較した。A家系は31歳の兄と30歳の妹の症例、B家系は51歳男性の症例である。31歳の症例はリピート数が79と400、30歳の症例は79と670、51歳の症例は70と1400であった。3例の長い方のリピート数は発症年齢、知能低下と相関していた。リピート伸長がともに大きい症例報告がないのは、重症ホモ接合体致死説を示唆している。

[はじめに]

筋強直性ジストロフィー(DM)によく似た疾患が報告され、最近、名称がDM 1 (従来のDM)、DM 2 と決められた。DM 1 の臨床型と遺伝子型の関係は、(CTG)リピート数によってほぼ相関がある事が知られている。DM 1 のホモ接合体の症例は非常に稀であり、これまで極めて重症か致死性的とされてきたが、最近の報告によると大部分の症例は軽症である事がわかっている。しかし、ホモ接合体の方がヘテロ接合体よりも重症なのかどうか、症例報告が少ないため詳細は不明である。(表 1)

今回われわれは 2 家系 3 例にホモ接合性DM 1 を見出し、臨床症状を比較した。

表 1

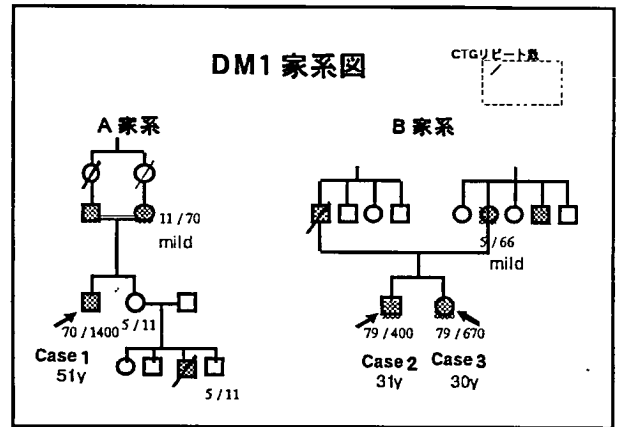
背景	
1.	筋強直性ジストロフィー(DM) — DM1 (19q)、DM2 (3q)
2.	DM1 の臨床型-遺伝子型の関係
	(CTG)リピート数 臨床病型

	37以下 正常
	38-50 前変異 (無症状)
	50-150 軽症
	100-1000 典型的
	2000以上 先天型
3.	非常にまれなホモ接合体はヘテロ接合体より重症なのか同じなのか

[対象および方法]

A家系は31歳の兄と30歳の妹の症例、B家系は51歳男性の症例である(図 1)。末梢血リンパ球から高分子量DNAを抽出し、サザンハイブリダイゼーション法およびPCR法にて遺伝子解析したところ、両アレルともリピート数が伸長していた。詳しく検討した結果、31歳の症例はリピート数が79と400、30歳の症例は79と670、51歳の症例は70と1400であった。いずれも一方のアレルは100以下、他方は100以上であり、3例とも短いアレルが母由来(母親は白内障のみの軽症例でリピート数は100以下)、長いアレルが父由来と類推された。B家系の例は両親がいとこ婚であった。発症年齢、臨床経過、現在の症状と検査所見について調べ、既報告と比較した。30歳の症例は検査入院して詳細に調べた。

図 1



[結 果]

A家系の比較では妹の方が発症年齢、筋力低下、歩行障害、不整脈、など障害が高度であり、重症度は長いアレルのリピート数と相関していた。B家系51歳男性症例は低身長、前頭部脱毛、ミオトニー、筋力低下など成人型症状を呈していたが、発症年齢は思春期と考えられ、小学生時代に知能低下を指摘されるも高校に進学し、仕事にも就いていた。症状と検査により1) ミオトニーの程度(臨床症状または筋電図) 2)筋力低下の程度 3)白内障 4)心病変(不整脈、心筋シンチ) 5)前頭部脱毛6) 過睡眠7) 骨の肥厚8) 脳MRIによる白質病変 9)胆石 10)脂肪肝、の10項目で3症例を比較すると、A家系の妹は10項目すべて合併していたが、兄の方は6項目しか該当しなかった。B家系の症例では脳、肝、胆嚢に関しては検査できていないが、調べた6項目すべて該当していた。3例の長い方のリピート数は発症年齢、知能低下と相関していた。(表 2)

[考 察]

DM 1 ホモ接合体症例の報告は世界的にも10例に満

たず、スペイン人と日本人がほとんどである(表3)。既報告では村田らの70と930リピートの症例では高度の知能低下が特徴的とされたが、今回の症例では3例中、2例は知能低下を認めなかった。既報告の知能低下を示した症例は長い方のリピート数が700、930、1000と相当長いものであった。DM1の形質が真の優性遺伝であり、遺伝子効果が強すぎてホモもヘテロも同じ表現型になってしまうとの説をZlotogoraは唱えているが、リピート伸長がともに大きい症例がないのは、重症ホモ接合体致死説を示唆している。1994年にRoederらが報告したアメリカ人の近親相姦の症例(父と娘の間にできた子供)は330と1000リピートとともに相当伸長した例であり、生下時floppy infantであり、DM1以外の感音性難聴、手足の爪の欠損など劣性遺伝子をホモにもった影響が考えられるが、21歳でも生存しており、必ずしもホモ接合体が致死とは限らないようである。現在DM1の発症メカニズムはDMPK遺伝子および隣接したDMWD遺伝子とSIX5遺伝子の機能低下、mRNAレベルの(CUG)結合蛋白の消費など多遺伝子症候群として説明されているが、リピート数が両方も相当伸長したホモ接合体症例のさらなる解析が、これらの謎を解く鍵となると期待される。

表2

臨床症状の比較						
年齢/性	近親相姦	リピート数	発病年齢	知能低下	症状/検査	
Case1 51 男	+	1400/70	6	+	1 2 3 4 5 6	
Case2 31 男(兄)	-	400/79	17	-	1 2 3 4 5 6	
Case3 30 女(妹)	-	670/79	13	-	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	

1. Myotonia - (clinical or EMG) 2. Muscle weakness - (facial, jaw, neck, limbs)
3. Cataracts 4. Heart - (arrhythmia, Scintigram) 5. Frontal balding 6. Hypersomnia
7. Hyperostosis 8. Brain MRI - white matter lesion 9. Gall stone 10. Fatty liver

表3

DM1 ホモ接合体の報告						
年齢/性	(CTG)リピート数	症状	知能低下	人種	文献	
(1) 20 女(姉)	90/85	無	-	スペイン人	HMG 1993	
(2) 18 女(妹)	90/75	無	-	スペイン人	HMG 1993	
(3) 38 男	930/70	若	+	日本人	臨床神経 1994	
(4) 21 男	700/330	先, 爪(-)	+	アメリカ人	AJHG 1994	
(5) 54 女	1000/60	典	不明	スペイン人	JMedG1996	
(6) 55 女	120/51	白	-	スペイン人	JMedG1996	
(7) 84 男	64/38	白	-	スペイン人	JMedG1996	
(8) 31 男(兄)	400/79	典	-	日本人	※	
(9) 30 女(妹)	670/79	典	-	日本人	※	
(10) 51 男	1400/70	若	+	日本人	※	

無: 無症状 白: 白内障 典: 典型的DM 先: 先天型DM 若: 若年型DM
※ 自験例

[結論]

ホモ接合体症例では、長いアレルのリピート数と症状が相関する。

[参考文献]

- 1) Johnson WG : Two expanded repeats in the same patient -An effect on phenotype? Arch Neurol 57: 1110-1112, 2000.
- 2) Cobo A, Martinez JM, et al. : Molecular diagnosis of homozygous myotonic dystrophy in two asymptomatic sisters. Hum Mol Genet 2: 711-715, 1993.
- 3) Roeder E, Jain K, et al. : Homozygous myotonic dystrophy. Am J Hum Genet 55 (Suppl): A7, 23, 1994.
- 4) Martorell L, Illa I, et al. : Homozygous myotonic dystrophy: clinical and molecular studies of three unrelated cases. J Med Genet 33: 783-785, 1996.
- 5) 村田顕也、松村隆介ら: 筋強直性ジストロフィーホモ接合体の1例. 臨床神経 37: 497-499, 1997.
- 6) Roberts R, Timchenko NA, 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 Nat Acad Sci 94: 13221-13226, 1997.
- 7) Zlotogora J : Dominance and homozygosity. Am J Med Genet 68: 412-416, 1997.

筋ジストロフィーの血栓準備状態に関する 全国調査

安東範明¹⁾、平田幸蔵¹⁾、福田清貴²⁾、石原傳幸³⁾、
川井 充⁴⁾、上野 聡⁵⁾

¹⁾ 国立療養所西奈良病院神経内科

²⁾ 国立療養所原病院小児科

³⁾ 国立療養所箱根病院神経内科

⁴⁾ 国立精神神経センター武蔵病院神経内科

⁵⁾ 奈良県立医科大学神経内科

要 旨

筋ジストロフィー患者において、肺梗塞などの血栓塞栓症が注目され、筋ジストロフィー患者では疾患特異的に凝固亢進状態であることが報告されている。我々は、全国レベルの凝固線溶系の調査をおこなった。Duchenne型およびBecker型筋ジストロフィーではTAT、PICともに増加し、PICが優位だった。それに対してPT、aPTTは延長していた。PICと年齢、RBC、Hb、Htは正の相関があり、下肢機能障害度が重度の症例で高かった。また、TATとPICは陽圧人工呼吸を施行中の症例で有意に高値をとった。血栓準備状態のメカニズムとして、不動性や陽圧人工呼吸による静脈還流の低下があり、下肢の静脈など末梢での凝固線溶系が亢進する。これに慢性呼吸不全や脱水傾向などからの多血症による血液粘稠性の増加が影響しているものと考えられた。

Key Words: Duchenne型筋ジストロフィー、Becker型筋ジストロフィー、凝固亢進状態、血栓塞栓症、静脈還流、脱水

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィーをはじめとする筋ジストロフィーは、近年の呼吸管理や心不全治療の進歩により平均寿命が30歳位まで延長した¹⁾。呼吸不全と心不全による死亡が減少するとともに、第3の死因として肺梗塞^{1)~3)}、脳梗塞⁴⁾⁵⁾など血栓塞栓症での死亡が近年注目されている。筋ジストロフィー患者は一般に血栓準備状態であることが明らかになっており³⁾、長期臥床や心不全、不整脈が危険因子となることが推定されている¹⁾。

今回我々は、全国レベルで、筋ジストロフィーの凝固線溶系亢進状態の実体を明らかにする目的で調査を行った。

対象と方法

対象は全国筋ジストロフィー担当27国立療養所等に入院中のDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)およびBecker型筋ジストロフィー(BMD)の男性患者。各施設にて採血上の注意事項に留意した上で採血を行い、血液を同一検査機関(SRL)に集め、以下の凝固線溶系マーカーを求めた。①プロトロンビン値(PT)、②活性化部分トロンボプラスチン値(aPTT)、③トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体(TAT)、④プロトロンビンフラグメントF1+2(PTF1+2)、⑤プラスミン-α2プラスミンインヒビター複合体(PIC)、⑥D-dimer。

同時に、調査票記入方式にて生年月日、身長、体重などの患者プロフィール、血栓塞栓症の既往歴、下肢機能障害度、人工呼吸の有無と種類、採血前2ヶ月以内の胸部X線写真での心胸郭比(CTR)、心エコー検査での心駆出率(EF)、末梢血所見、BNP、ANPについて調査した。

結 果

17施設からDMD164例(24.2±5.8歳)、BMD26例(44.8±10.7歳)の結果が得られた。DMDの下肢機能障害度は全例ステージⅥ以上で、ステージⅥが8例、ステージⅦが50例、ステージⅧが106例だった。人工呼吸は使用無しが59例、NIPPVが67例、TIPPVが38例だった。BMDの下肢機能障害度はステージⅥが8例、ステージⅦが2例、ステージⅧが4例、ステージⅧが12例だった。人工呼吸は使用無しが15例、NIPPVが4例、TIPPVが7例だった。

DMDの凝固線溶系マーカーの結果で、PTの異常値出現率(以下、異常率)は33.5%、aPTTの異常率は68.3%と、aPTTの異常率が大きかった。この2つとも、全ての異常値は短縮しているのではなく、むしろ延長していた。TATの異常率は36.0%、PICの異常率は53.7%で、線溶系優位に亢進していた。PTF1+2の異常数は84例で、異常率は51.2%だった。内訳は正常範囲以上が15例、正常範囲以下が69例と、低下している症例が多かった。D-dimerの異常率は16.5%だった(表1)。

- ・採血用シリンジ プラスチック製を使用しないでください。
- ・駆血帯 緩く行い、3分以上は使用しないでください。
- ・採血管 シリンジ採血では20ml以上は避けてください。(採血に時間がかかり、組織因子が混入する場合があります。)
- ・血管損傷 採血時、一度で血液がシリンジ内に入らない場合は、腕を変えて採血してください。(組織因子による局所での凝固活性化が生じます。)
- ・抗凝固剤 シリンジ採血の場合、採血した血液は1分以内にクエン酸ナトリウム入り採血管に、指定量を入れてください。
抗凝固剤：血液=1：9
- ・転倒混和 採血後、速やかに採血管を3~5回ゆっくり転倒混和してください。遠心条件は200G×15分間が理想です。
- ・その他 真空採血をする場合は、1本目はブレイン管を用い、2本目に凝固検査用の採血を行ってください。

図1 凝固線溶系検査の採血の注意点

表1 DMDの凝固線溶系マーカーの結果

	単位	正常値	例数	平均値(SD)	異常数(%)
PT	秒	10~13	164	12.8 (1.60)	55 (33.5)
aPTT	秒	25~40	164	45.8 (13.91)	112 (68.3)
TAT	ng/ml	3.0以下	164	10.1 (18.05)	59 (36.0)
PTF1+2	nmol/l	0.4~1.4	164	0.80 (1.37)	84 (51.2)
PIC	μg/ml	0.8以下	164	1.13 (1.11)	88 (53.7)
D-dimer	μg/ml	0.5以下	164	— (—)	27 (16.5)

表2 BMDの凝固線溶系マーカーの結果

	単位	正常値	例数	平均値(SD)	異常数(%)
PT	秒	10~13	26	12.5 (1.68)	7 (26.9)
aPTT	秒	25~40	26	41.6 (6.32)	13 (50.0)
TAT	ng/ml	3.0以下	26	6.26 (12.64)	6 (23.1)
PTF1+2	nmol/l	0.4~1.4	26	0.56 (0.29)	5 (19.2)
PIC	μg/ml	0.8以下	26	1.22 (1.06)	17 (65.4)
D-dimer	μg/ml	0.5以下	26	— (—)	6 (23.1)

表3 脳梗塞の既往のあるBMD

	年齢	下肢機能	人工呼吸	CTR	PT	aPTT	TAT	PTF1+2	PIC	D-dimer
No.1	36	Ⅷ	TIPPV	48.5	12.4	38.2	2.8	0.46	1.3	0.83
No.2	43	Ⅶ	無し	49.4	10.6	33.3	1.3	0.52	1.1	0.5>

表4 TAT、PICと各調査項目の相関 (Spearmanの順位相関)

	TAT (n=164)	PIC (n=164)	Age (n=164)	CTR (n=158)	EF (n=49)	BNP (n=154)	RBC (n=163)	Hb (n=163)	Ht (n=163)
TAT	—	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
PIC	**	—	**	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	*

	TAT (n=26)	PIC (n=26)	Age (n=26)	CTR (n=26)	EF (n=9)	BNP (n=26)	RBC (n=26)	Hb (n=26)	Ht (n=26)
TAT	—	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
PIC	n.s.	—	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

BMDの凝固線溶系マーカーの結果も同様の傾向だった。PTとaPTTの異常は全て延長だった。PTF1+2の異常は高値1例、低値4例だった(表2)。

DMDとBMDで、TAT、PIC両者の異常を示した者は、それぞれ40例(22.4%)と5例(19.2%)だった。DMDでCTR55%以上の症例は31例(19.6%、n=158)、EF40%以下の症例は24例(49.0%、n=49)、CTR55%以上もしくはEF40%以下の症例は49例だった。BMDでCTR55%以上の症例は4例(15.4%、n=26)、EF40%以下の症例は6例(66.7%、n=9)、CTR55%以上もしくはEF40%以下の症例は9例だった。

昨年度の班会議にて提唱したワーファリン臨床試験の対象である「心機能障害が示唆され、凝固線溶系検査

表5 TAT、PICと下肢機能stage

	TAT (ng/ml) mean (SD)	PIC (μg/ml) mean (SD)
Stage VI, VII (n=58)	8.31 (16.06)	1.08 (1.57)
Stage VIII (n=106)	11.11 (19.05)	1.15 (0.76)
Mann-Whitney U-test	n.s.	p < 0.05

表6 TAT、PICと人工呼吸

	TAT (ng/ml) mean (SD)	PIC (μg/ml) mean (SD)
NIPPV, TIPPV (n=105)	10.93 (18.98)	1.19 (0.76)
人工呼吸無し (n=59)	8.69 (16.33)	1.02 (1.56)
Mann-Whitney U-test	p < 0.05	p < 0.001

で異常が認められた患者」すなわち、「CTR55%以上もしくはEF40%以下で、TAT、PIC両者の異常を示した者」は、DMDで11例、BMDでは1例だった。

血栓塞栓症の既往については、DMDでは既往のある者はなく、BMDで2例に脳梗塞の既往があった。そのうちの1例はPICとD-dimer、もう1例はPICが高値だった(表3)。

TAT、PICと各調査項目の相関について、各データは正規分布していなかったためSpearman検定をおこなった。DMDで、TATとPICの間に有意な正の相関があった。また、PICと年齢(age)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン値(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)の間に有意な正の相関を認めた(表4)。

DMDで、下肢機能障害度ステージⅧの症例は、ステージⅥとⅦに比べPICが有意に高値だった(表5)。また、NIPPVとTIPPVの陽圧人工呼吸を受けている症例は、人工呼吸無しに比べ、TAT、PICともに有意に高値を示した(表6)。

考察

結果をまとめると、以下ようになる。①TATとPICは増加、PICの増加が優位。②PTとaPTTはむしろ延長。③TATとPICに正の相関。④PICと年齢、RBC、Hb、Htに正の相関。⑤下肢機能ステージⅧはⅥ、Ⅶに比べPICが有意に大。⑥NIPPVとTIPPVを施行中の群は、人工呼吸無しに比べTATとPICが有意に大。⑦TAT、PICとCTR、EFに相関無し。これより、凝固線溶系の最終段階である、フィブリノーゲンからフィブリンが生成され、さらにそれが線溶する過程は明らか

に亢進していることがわかった。そして、凝固外因系と内因系については、何らかのフィードバックにより抑制されている可能性が示唆された。ただし、凝固外因系、内因系とも凝固因子は肝機能障害によっても影響を受ける。筋ジストロフィーにおいては潜在する右心不全により肝臓の機能が低下し、凝固因子の生成が低下している可能性は否定できない。これについてはヘパラスチンテストなどにより確認する必要がある。DMDにおいて、脊柱の手術の後に出血が止まりにくいとの報告もあり⁶⁾、凝固亢進と矛盾する報告であったが、これは凝固外因系と内因系がむしろ抑制されていることと関係があるのかもしれない。

そして、DMD、BMDの血栓準備状態のメカニズムについては以下のように考えられた。すなわち、不動態や陽圧人工呼吸による静脈還流の低下があり、下肢の静脈など末梢での凝固線溶系が亢進する。これに慢性呼吸不全や脱水傾向などからの多血症による血液粘稠性の増加が影響している。

従って、予防策としては、長時間の車椅子に際しては、下肢を他動的に動かすなど静脈還流を補助することや、脱水の予防が効果的だと考えられた。薬物療法としてのワーファリン⁷⁻¹⁰⁾については、凝固外因系は、多くの症例でむしろ延長していることより、その適応について慎重に考慮する必要がある。また、当初考えられた、臨床試験の適応になる対象は、試験の成立が困難なほど少数例であることがわかった。最近、脳梗塞を対象にアスピリンとワーファリンを比較した報告¹¹⁾によると、その予防効果はほぼ同等とのことなので、より安全で投与しやすいアスピリンの使用を優先することも考えられる。

不動態や脱水が原因とすると、近年話題となっているエコノミークラス症候群¹²⁾との類似が考えられる。しかし前に述べた凝固外因系と内因系がむしろ抑制されている点やユートロフィンのアップレギュレーションが凝固系に影響を及ぼしていることを示唆する報告など、単純にエコノミークラス症候群と考えるのは性急である。DMDやBMDに特有な血管平滑筋、血管内皮などの変化との関連について、今後の検討が望まれる。

文 献

- 1) 中山貴博、齋藤祐子、内山 剛、谷田部可奈、川井 充：Duchenne型筋ジストロフィーにおける肺血栓症の成因について—血清CK、LDH値の推移からの考察—。臨床神経40：55～58，2000
- 2) Riggs T：Cardiomyopathy and pulmonary emboli in terminal Duchenne's muscular dystrophy. Am Heart J 119: 690～693, 1990
- 3) 齋藤祐子、小宮 正、川井 充：Duchenne型筋ジ

ストロフィーの凝固線溶系亢進状態。臨床神経37：374～378，1997

- 4) Hanajima R, Kawai M：Incidence of cerebral infarction in Duchenne muscular dystrophy. Muscle Nerve 19: 928, 1996
- 5) Higuchi I, Nijima T, Uchida Y, Inose M, Nakagawa M, Arimura K, Osame M：Multiple episodes of thrombosis in a patient with Becker muscular dystrophy with marked expression of utrophin on the muscle cell membrane. Acta Neuropathol 98: 313～316, 1999
- 6) Noordeen M HH, Haddad F S, Muntoni F, Gobbi P, Hollyer J S, Bentley G：Blood Loss in Duchenne muscular dystrophy: vascular smooth muscle dysfunction? J Pediatr Orthop Part B 8: 212～215, 1999
- 7) Petersen P, Boysen G, Godtfredsen J, Andersen E D, Andersen B：Placebo-controlled trial of warfarin and aspirin for prevention of thromboembolic complications in chronic atrial fibrillation. Lancet 345(8631):175～179, 1989
- 8) Connelly S J, Laupacis A, Gent M, Roberts R S, Cairns J A, Joyner C：Canadian atrial fibrillation anticoagulation (CAFA) study. JACC 18: 349～355, 1991
- 9) Yamaguchi T：Optimal intensity of Warfarin Therapy for secondary prevention of stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation a multicenter, prospective, randomized trial. Stroke 31: 817～821, 2000
- 10) Foo Leong L, Andrew D B, Gregory Y H：Effects of fixed low-dose warfarin, Aspirin-warfarin on thrombogenesis in chronic atrial fibrillation. Stroke 31: 828～833, 2000
- 11) Boggs W：Aspirin and warfarin equivalent for prevention of recurrent ischemic stroke. N Engl J Med 345: 1444～1451, 2001

One of three examined purine-rich sequences selected from dystrophin exons exhibits splicing enhancer activity

T. ITO¹, Y. TAKESHIMA, H. NAKAMURA¹, M. MATSUO²

¹Division of Molecular Medicine,

²Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine, Kobe, Japan

Introduction of exon skipping by disrupting splicing enhancers with antisense oligonucleotides has been proposed as treatment of Duchenne muscular dystrophy. To apply this strategy for the treatment of frequent deletion mutations of the dystrophin gene, purine-rich sequences of three exons (exons 43, 46, and 53) from the deletion hot spot were examined for their splicing enhancer activity by using a *Drosophila* doublesex pre-mRNA. The most powerful activating effect on upstream intron splicing was seen with a sequence from exon 43. Sequences from exons 46 and 53 showed relatively low activity. Strong splicing enhancer sequences may, in the future, be used to allow antisense oligonucleotides to induce exon skipping.

Key words dystrophin gene, exon and splicing enhancer sequence.

Introduction

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a rapid progressive disease which usually results in death at around the age of 20 years, while Becker muscular dystrophy (BMD) is a clinically less severe form of the disease which often has only slight debilitating effects. DMD and BMD are allelic diseases caused by mutations of the dystrophin gene and deletion mutations have been identified in two thirds of DMD/BMD cases. The clinical progression of DMD or BMD patients can be predicted from whether or not the deletion maintains or disrupts the translational reading frame of the mRNA (1). Reading frame displacement to correct the effects of frameshift deletions of DMD is one of the proposed treatments (2). Exon skipping induced by the disruption of splicing enhancer is one way to correct the translational reading frame.

Splicing is the process to remove introns from pre-mRNAs. Correct splice sites are recognized

by small nuclear ribonucleoprotein particles with the support of splicing enhancer sequences. Purine-rich sequences in exons have been suggested to function as splicing enhancers (3). We have shown that the 31-mer purine-rich sequence from exon 19 exhibits a high capacity to promote upstream intron splicing in the mini-dystrophin gene product (4). Covering the sequence with an antisense oligonucleotide complementary to this sequence blocked proper splicing and induced exon 19 skipping in cultured lymphoblastoid cells (5). Remarkably, transfection of the antisense oligonucleotide to cultured muscle cells established from DMD with a deletion of exon 20 induced exon 19 skipping and led to the creation of an in-frame dystrophin mRNA resulting in the production of an internally deleted dystrophin (6). These results pave a novel way to treat DMD but this strategy can only be applied to treat those cases with limited deletion mutations of the dystrophin gene (2).

To extend this strategy to other DMD cases, it is necessary to elucidate the splicing enhancer sequence. Here, we analysed the splicing enhancer activity of purine-rich sequences from three exons in the central region of the dystrophin gene by using the *Drosophila* doublesex pre-mRNA as a template and found that one of the three purine-rich sequences exhibit splicing enhancer activity.

Methods

Among the exons located in the central region of the dystrophin gene which is one of the deletion hot spots, three exons (exons 43, 46, and 53) were found to have long purine-rich sequences and three candidate sequences for splicing enhancer (SES 43, 46, and 53) were selected. Splicing enhancer activity

Address for correspondence: Masafumi Matsuo, MD, PhD, Division of Molecular Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1 Kusunokicho, Chuo, Kobe 650-0017, Japan. Fax: +81-78-382-5719. E-mail: matsuo@kobe-u.ac.jp

was examined by using an *in vitro* splicing reaction. Candidate sequences were inserted into the linker sequence of the chimeric *Drosophila melanogaster* doublesex (dsx) gene (Fig. 1a) and its radiolabelled transcripts were subjected for splicing by incubating with HeLa cell nuclear extracts as previously, described (7). Pre-mRNA containing the 31 mer splicing enhancer sequence from exon 19 of the dystrophin gene (5'-AACTGCAAGATGCCAGCAGATCAGCTCAGGC-3') (4) was used as positive control and the plasmid, without any test sequences, was used as a negative control.

Results and discussion

Although the disruption of the splicing enhancer sequence with antisense oligonucleotides has been proposed as a way to correct the translational reading frame of DMD (2), a comprehensive study has not yet been carried out on exon splicing enhancer sequences in dystrophin exons.

Since purine-rich sequences have been claimed to act as splicing enhancers (3) and since we have identified purine-rich splicing enhancer sequences in two exons (exons 19 and 27) of the dystrophin gene (4, 7), we tested the splicing enhancer activity from three exons (exon 43, 46, and 53) with the most purine-rich sequence.

Of the three candidate sequences, the largest amount of splicing product corresponding to spliced mRNA was obtained when SES43 was inserted (Fig. 1b) (70.6% of the control). In contrast, only low amounts of splicing products were obtained with SES 46 and SES 53 (Fig. 1b) (23.6 and 31.4% of the control, respectively). Regardless of our expectation that SES 53 was the strongest splicing enhancer based on its purine content, SES 53 showed low splicing enhancer activity. Our results indicate that purine-rich sequences, within dystrophin exons, do not necessarily have significant splicing enhancer activity.

It is held that purine-rich splicing enhancers activate the splicing of the upstream intron by promoting the use of a weak 3' splice site. Shapiro's splicing probability scores for the 3' splice sites of upstream introns of the examined exons (introns 42, 45, and 52) were 81.4, 85.6, and 90.0, respectively (8). Since intron 42 has the weakest 3' splice site, our result showing SES43 with significant splicing enhancer activity matches the above consideration.

As SES 43 had high splicing enhancer activity, this sequence was nominated as the sequence

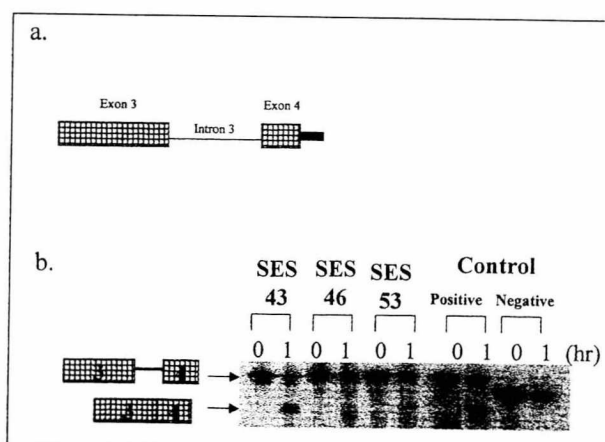


Fig. 1. Analysis of splicing enhancer. a. Schematic presentation of *Drosophila melanogaster* doublesex (dsx) chimeric plasmid. Chimeric plasmid consists of entire third exon (168 nt) (checkered box), third intron (114 nt) (thin line), and 30 nt of 5' portion of fourth exon of dsx gene (checkered box), and linker sequence derived from pSP78 vector (8 nt) (bold line). b. Splicing reaction products. SES 43 (5'-AGCAAGAAGACAGCAGCATTGCAAAG-3'), 46 (5'-GGAAAAGAGCAGCAACTAAAAGAAAAGC-3'), and 53 (5'-GGAAGCTAAGGAAGAAGCTGAGCAGG-3') were examined for their splicing enhancer activity by inserting them in the linker sequence of chimeric gene (Fig. 1a). Each *in vitro* splicing product was gel-electrophoresed and spliced mRNA was visualized as lower band. Structures of RNA-products are shown schematically on left side.

where antisense oligonucleotides induce exon 43 skipping by conversing. In future studies, the ability of antisense oligonucleotides complementary to SES 43 should be examined for their ability to induce exon 43 skipping. If this oligonucleotide is successful in inducing exon 43 skipping *in vivo*, DMD cases having deletions of exon(s) 44, 44 to 46, 44-47, 44-48, 44-49, and 44 to 51 can be transformed to a milder phenotype.

Acknowledgements

Supported by grants from Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan and National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP) of the Ministry of Health and Welfare of Japan.

References

1. Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, et al. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics* 1988;2:90-5.

2. Matsuo M. Duchenne/Becker muscular dystrophy: from molecular diagnosis to gene therapy. *Brain Dev* 1996;18:167-72.
3. Watakabe A, Tanaka K, Shimura Y. The role of exon sequences in splice site selection. *Genes Dev* 1993;7:407-18.
4. Takeshima Y, Nishio H, Sakamoto H, et al. Modulation of in vitro splicing of the upstream intron by modifying an intra-exon sequence which is deleted from the dystrophin gene in dystrophin Kobe. *J Clin Invest* 1995;95:515-20.
5. Pramono ZA, Takeshima Y, Alimsardjono H, et al. Induction of exon skipping of the dystrophin transcript in lymphoblastoid cells by transfecting an antisense oligodeoxynucleotide complementary to an exon recognition sequence. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;226:445-9.
6. Matsuo M, Takeshima Y, Pramono ZAD, et al. Manipulation of splicing restored dystrophin production in myocytes from a Duchenne muscular dystrophy patient. *Am J Hum Genet* 2000;67:427.
7. Shiga N, Takeshima Y, Sakamoto H, et al. Disruption of the splicing enhancer sequence within exon 27 of the dystrophin gene by a nonsense mutation induces partial skipping of the exon and is responsible for Becker muscular dystrophy. *J Clin Invest* 1997;100:2204-10.
8. Shapiro MB, Senapathy P. RNA splice junctions of different classes of eukaryotes: sequence statistics and functional implications in gene expression. *Nucleic Acids Res* 1987;15:7155-74.

Communication

Oligonucleotides against a splicing enhancer sequence led to dystrophin production in muscle cells from a Duchenne muscular dystrophy patient

Yasuhiro Takeshima^a, Hiroko Wada^a, Mariko Yagi^b, Yukitoshi Ishikawa^c, Yuka Ishikawa^c, Ryoji Minami^c, Hajime Nakamura^a, Masafumi Matsuo^{b,*}

^aDepartment of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1 Kusunokicho, Chuoku, Kobe 650 0017, Japan

^bDivision of Molecular Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1 Kusunokicho, Chuoku, Kobe 650 0017, Japan

^cDepartment of Pediatrics, National Yakumo Hospital, 128 Miyazonocho, Yakumocho, Hokkaido 049 3198, Japan

Received 9 August 2001; accepted 29 August 2001

Keywords: Duchenne muscular dystrophy; Gene therapy; Oligonucleotide; Splicing enhancer; Exon; Skipping

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a rapid, progressive disease that usually results in death at around the age of 20, while Becker muscular dystrophy (BMD) is a clinically less severe form of the disease that often has only slight debilitating effects. Deletion mutations in the dystrophin gene have been identified in two thirds of DMD/BMD cases and the clinical progression of DMD or BMD patients can be predicted from whether the deletion disrupts or maintains the translational reading frame of the mRNA [1]. In spite of the progress of molecular understanding of DMD, any effective treatment has not yet been established.

Frame-shift mutations in DMD patients result in the complete absence of dystrophin from their skeletal muscle, whereas muscle tissue from BMD patients contains internally deleted dystrophin translated from the in-frame mRNA. Treatment of DMD could be achieved by changing an out-of-frame mutation into an in-frame mutation by modifying the dystrophin mRNA [2]. Recently, oligonucleotides complementary to the splicing consensus sequence were reported to induce exon skipping, thereby resulting in the synthesis of internally deleted dystrophin in *mdx* mice [3,4]. In these studies splicing consensus sequences at the exon/intron borders were targeted to induce exon skipping.

Splicing enhancer sequences have been claimed to regulate splicing. In fact, disruption of the splicing enhancer sequence of exon 19 of the dystrophin gene by a complementary antisense oligonucleotide has been shown to result

in complete skipping of exon 19 in normal lymphoblastoid cells [5,6]. Here, we show that transfection of the oligonucleotide against a splicing enhancer sequence of exon 19 successfully induced exon skipping and led to the production of internally deleted dystrophin in muscle cells from DMD with a deletion of exon 20.

A Japanese boy who was clinically diagnosed as DMD was identified to have a deletion of exon 20 of the dystrophin gene. Since exon 20 consists of 242 nt, deletion of exon 20 results in the disruption of the translation reading frame, thus creating a stop codon at the first codon within exon 21.

A primary muscle cell culture was established from his muscle biopsy sample after obtaining the informed consent. Dystrophin-positive fibers could not be identified in this biopsy sample. Myogenic cell clones were isolated as described previously [7] and myotube differentiation was promoted by reducing the serum concentration of the culture medium. On the fourth day of differentiation, cells were transfected with the 31-mer-phosphorothioate oligonucleotide (5'-GCCTGAGCTGATCTGCTGGCATCTTGCACTT-3') covering a splicing enhancer sequence of exon 19 as described before [6]. Culture was allowed to continue for 0, 3, 7 and 10 days, and mRNA analysis and dystrophin staining were done.

Introduction of the oligonucleotide into the nuclei of cultured cells was shown from the third day after the transfection and afterward by using fluorescence-labeled oligonucleotide (data not shown). RNA was isolated from cells and dystrophin mRNA spreading from exons 18 to 21 was amplified by using reverse transcription (RT)-polymerase chain reaction (PCR) as described before [6]. Before transfection, RT-PCR amplification revealed a single product

* Corresponding author. Division of Genetics, International Center for Medical Research, Kobe University School of Medicine, 7-5-1 Kusunokicho, Chuo, Kobe, 650 0017, Japan. Tel.: +81-78-382-5700; fax: +81-78-382-5719.

E-mail address: matsuo@kobe-u.ac.jp (M. Matsuo).

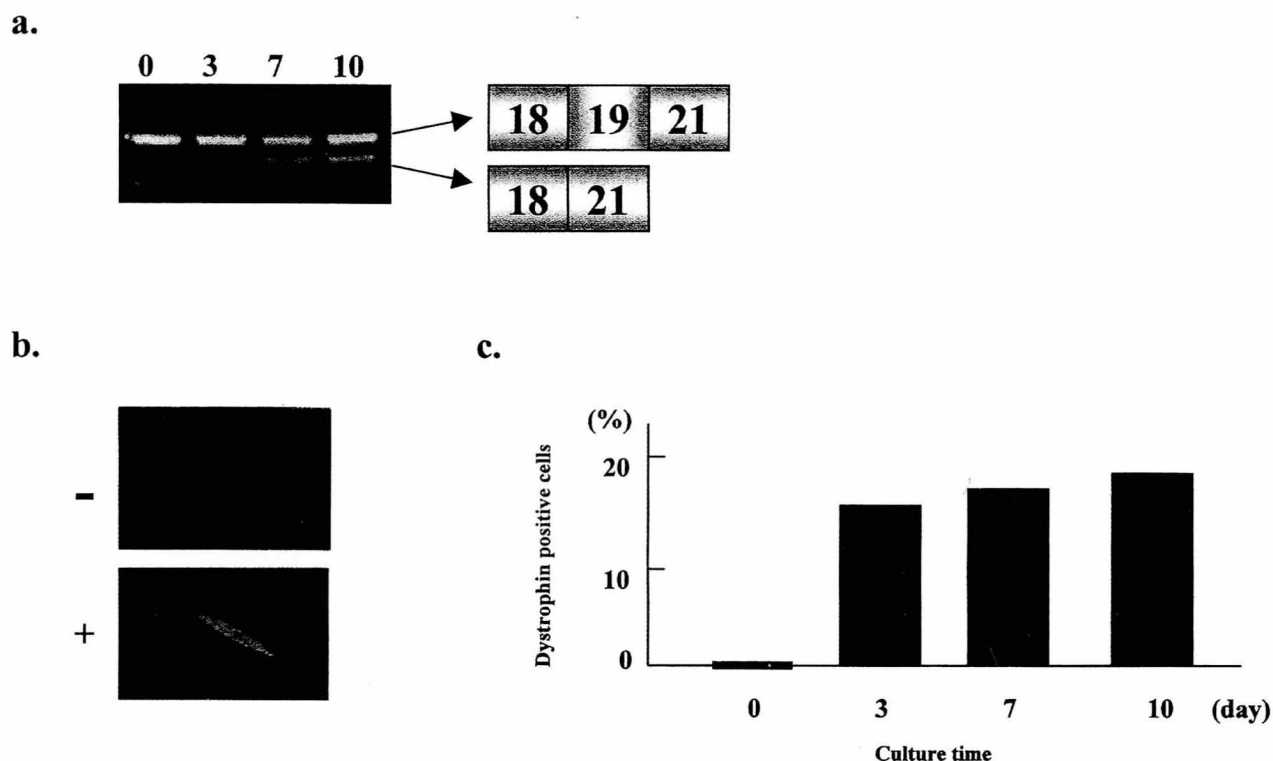


Fig. 1. Effect of transfection of the oligonucleotide into myocytes. (a) Dystrophin mRNA. The region from exon 18 to exon 21 of the dystrophin mRNA was amplified from cDNA obtained after 0, 3, 7, and 10 days of culture following transfection. Only one amplified product corresponding to the exon 20 deletion-type cDNA was amplified before transfection (0). A second product lacking exon 19 started to be produced in extracts of cells after 3 days of incubation (3) and was still obtained with cell extracts after 7 and 10 days of incubation (7 and 10, respectively). The exon composition of the amplified product is represented schematically on the right and numbers at the top represent the incubation time (days). (b) Dystrophin expressed in muscle cells. Green corresponds to dystrophin reacting with the antibody recognizing the C-terminal region of dystrophin. On the third day after transfection, the cells are not fluorescent without transfection (–), while dystrophin was stained in cells with transfection. (c) Quantification of dystrophin-positive myocytes. The data are expressed as percentage of dystrophin-positive cells per desmin-positive cells.

(Fig. 1a). Remarkably, an additional, smaller band was visualized on the third day after the transfection. Nucleotide sequence analysis of this new product showed that the 3' end of exon 18 was directly joined to the 5' end of exon 21, so that the sequence of not only exon 20 but also that of exon 19 disappeared completely (data not shown). The extra band was still visualized even 10 days after the transfection (Fig. 1a).

Since the simultaneous disappearance of the consecutive exons 19 (88 nt) and 20 (242 nt) from the dystrophin mRNA restored the translational reading frame and removed a premature stop codon from the mRNA, it was expected that the modified dystrophin mRNA would encode internally deleted dystrophin. In order to analyze this possibility, muscle cells were stained for dystrophin by using monoclonal antibodies against the C-terminal region of dystrophin (Novocastra Laboratories, UK). On the third day after transfection, some of the cells (15.8%) showed diffuse staining of dystrophin (Fig. 1b,c). The percentage of dystrophin-positive cells was 16.6 and 18.6% on the 7th and 10th day after the transfection, respectively (Fig. 1c). Dystrophin was not detected in non-transfected muscle cells (Fig. 1b). These results clearly show that the oligonucleotide against a spli-

cing enhancer successfully modulated the dystrophin mRNA to produce internally deleted dystrophin. Dystrophin-positive fibers, called 'revertants', are sometimes identified in skeletal muscle cells of DMD patients [8], although dystrophin is considered to be completely absent from DMD skeletal muscle cells. In our case, the following findings rule out the possibility that the dystrophin-positive cells were natural products of 'revertant' cells: (1) dystrophin-positive muscle cells were observed only after transfection with the antisense oligonucleotide (Fig. 1); (2) the percentage of dystrophin-positive fibers was as high as 18.6% (Fig. 1). This contrasts with revertant cells, which are usually observed in only a few percent of all muscle fibers [9,10]; (3) the production of in-frame dystrophin mRNA was confirmed at the mRNA level (Fig. 1).

Dystrophin lacking 110 amino acids in the rod domain was expected to be produced from the patients' modified mRNA. It is known that a large portion of the rod domain of dystrophin can be removed without significantly affecting the patient's muscle function. The largest in-frame deletion of the dystrophin gene previously reported in a BMD patient encompasses exons 13–48, which corresponds to 66% of the rod domain [11]. The internally deleted dystrophin

produced in our case is expected to be almost normal with respect to function.

Our result is the first to show that oligonucleotide against a splicing enhancer sequence successfully induce exon skipping in DMD muscle cells and lead to production of internally deleted dystrophin. This result paves a novel way to treat DMD patients by administering an oligonucleotide against a splicing enhancer. Recently, it was reported that polypurine sequence within exon 46 of the human dystrophin gene can be targeted to induce exon skipping in DMD with a deletion of exon 45, resulting in production of internally deleted dystrophin [12]. Therefore, these strategies would be employed in clinical use in the future.

Acknowledgements

We thank Professor Uta Francke for advice and for critically reading the manuscript, and Miss N. Kageyama for her help in preparing the manuscript. This work was supported by grants from the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan and the National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP) of the Ministry of Health and Welfare of Japan.

References

- [1] Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, Moser H, Kunkel LM. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics* 1988;2:90–95.
- [2] Matsuo M. Duchenne/Becker muscular dystrophy: from molecular diagnosis to gene therapy. *Brain Dev* 1996;18:167–172.
- [3] Wilton SD, Lloyd F, Carville K, Fletcher S, Honeyman K, Agrawal S, et al. Specific removal of the nonsense mutation from the mdx dystrophin mRNA using antisense oligonucleotides. *Neuromusc Disord* 1999;9:330–338.
- [4] Mann CJ, Honeyman K, Cheng AJ, Ly T, Lloyd F, Fletcher S, et al. Antisense-induced exon skipping and synthesis of dystrophin in the mdx mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:42–47.
- [5] Takeshima Y, Nishio H, Sakamoto H, Nakamura H, Matsuo M. Modulation of in vitro splicing of the upstream intron by modifying an intra-exon sequence which is deleted from the dystrophin gene in dystrophin Kobe. *J Clin Invest* 1995;95:515–520.
- [6] Pramono ZA, Takeshima Y, Alimsardjono H, Ishii A, Takeda S, Matsuo M. Induction of exon skipping of the dystrophin transcript in lymphoblastoid cells by transfecting an antisense oligodeoxynucleotide complementary to an exon recognition sequence. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;226:445–449.
- [7] Blau HM, Webster C. Isolation and characterization of human muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:5623–5627.
- [8] Thanh LT, thi Man N, Helliwell TR, Morris GE. Characterization of revertant muscle fibers in Duchenne muscular dystrophy, using exon-specific monoclonal antibodies against dystrophin. *Am J Hum Genet* 1995;56:725–731.
- [9] Fanin M, Danieli GA, Cadaldini M, Miorin M, Vitiello L, Angelini C. Dystrophin-positive fibers in Duchenne dystrophy: origin and correlation to clinical course. *Muscle Nerve* 1995;18:1115–1120.
- [10] Winnard AV, Mendell JR, Prior TW, Florence J, Burghes IHM. Frameshift deletions of exons 3–7 and revertant fibers in Duchenne muscular dystrophy: mechanisms of dystrophin production. *Am J Hum Genet* 1995;56:158–166.
- [11] Passos-Bueno MR, Vainzof M, Marie SK, Zatz M. Half the dystrophin gene is apparently enough for a mild clinical course: confirmation of its potential use for gene therapy. *Hum Mol Genet* 1994;3:919–922.
- [12] van Deutekom JC, Bremmer-Bout M, Janson AA, Ginjaar IB, Baas F, den Dunnen JT, et al. Antisense-induced exon skipping restores dystrophin expression in DMD patient derived muscle cells. *Hum Mol Genet* 2001;10:1547–1554.

Duchenne型筋ジストロフィー児の知能

竹島泰弘^{1, 3)}、小椋たみ子⁴⁾、松嶋隆二⁴⁾、
足立佳代^{1, 2)}、中村肇^{1, 3)}、松尾雅文^{2, 3)}

神戸大学大学院医学系研究科小児科学¹⁾、
遺伝病統御学²⁾、
遺伝子診療部³⁾、
神戸大学文学部・心理学⁴⁾

【緒言】

Duchenne型/Becker型筋ジストロフィー(DMD/BMD)の全身病態を考える上における重大な合併症のひとつとして精神遅滞があり、DMDの30-40%の症例にみられるが、ジストロフィン遺伝子異常によって精神遅滞が引き起こされる機構は明らかではない。従来より中枢神経系で発現している脳型ジストロフィンと精神遅滞の間には関連がみられないと報告されている。一方、ジストロフィン遺伝子の3'側に遺伝子異常を有する症例に精神遅滞の合併が多いことを示唆する報告がみられ¹⁻³⁾、ジストロフィンの中枢神経系に発現しているアイソフォームの精神遅滞への関与などが考えられるが、現在のところ一元的に全てを説明することはできない。我々も精神遅滞を呈するDMD症例における遺伝子異常を報告してきている^{4, 5)}。

近年、ジストロフィンアイソフォームのひとつであるDp140と精神遅滞の関連を示唆する結果が報告されている⁶⁻⁸⁾。

今回、DMD症例の知能評価を行い、DMDにおける知能分布と知能の特徴及び遺伝子異常との関係、特にDp140の発現との関係について検討を行った。

【症例および方法】

当院遺伝子診療部において知能評価を施行した40名を対象とした。WISC-R実施群19名(年齢7歳~15歳10ヶ月、平均10.39歳)、WPPSI実施群9名(年齢4歳7ヶ月~6歳6ヶ月、平均5.54歳)、新版K式発達検査実施群12名(年齢1歳5ヶ月~4歳10ヶ月、平均3.10歳)であった。ジストロフィン遺伝子異常を同定している症例に関しては、遺伝子異常がジストロフィンアイソフォームのひとつであるDp140の発現に影響を及ぼす群と及ぼさない群にわけ、さらに検討を行なった。

【結果】

①知能指数分布

WISC-Rの全検査IQの平均は85.0(SD15.54)、WPPSI

の全検査IQ平均は71.77(SD17.97)、新版K式発達検査の全領域DQ平均は65.0(SD19.3)であった。新版K式発達検査実施群のDQが低かった。すべての検査をこみにしてIQ(新版K式はDQ)90-109を平均、110以上を平均以上、89以下を平均以下の3群にわけると、平均以下70%、平均30%、平均以上は0で、IQ69以下の精神遅滞は40%であった(図1)。

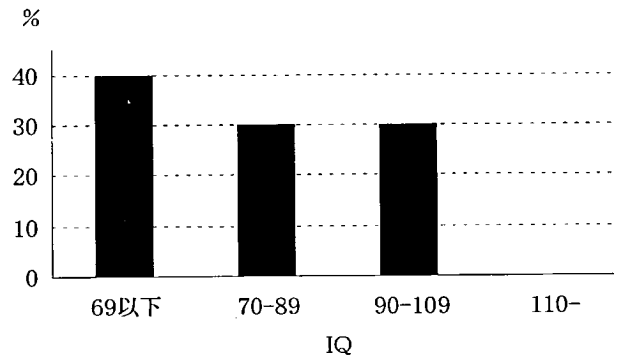


図1: IQの分布。今回検討したDMD40例のIQ(新版K式はDQ)の分布を示す。

②遺伝子異常と知能

今回検討した40例において34例では遺伝子変異が同定されており、欠失23例、重複4例、点変異7例(いずれもナンセンス変異)であった。図2に示すようにDp140のプロモーターがイントロン44に存在するため、遺伝子欠失/重複がエクソン44より上流にとどまっている、あるいはエクソン44より上流にナンセンス変異を有する症例をDp140(+群)とし、遺伝子欠失/重複がエクソン45より下流におよんでいる、あるいは遺伝子異常がエクソン45より下流にナンセンス変異を有する症例をDp140(-群)として比較検討した。

Dp140(+群(16例)の全検査IQの平均は81.0(SD18.5)で、Dp140(-群(18例)の全検査IQの平均は71.3(SD17.7)であり、Dp140(-群)でIQが低い傾向がみられた(表1)。さらに今回検討した症例における全検査IQの平均値(IQ75)の上下で分類したところ、全検査IQと言語性IQではDp140(+群)に比べDp140(-群)においてIQが75以下である症例の割合が有意に高かった(表2)。

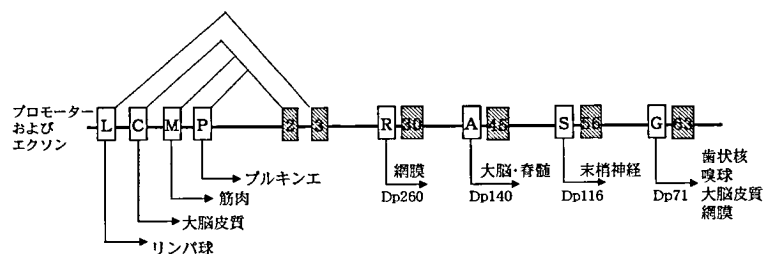


図2: ジストロフィン遺伝子におけるプロモーター。白四角(L, C, M, P, R, A, S, G)はジストロフィン遺伝子におけるプロモーターおよび第1エクソンを、斜線四角は共通のエクソンおよびそのエクソン番号を示す。矢印はそのプロモーターからの転写物を、矢印先端には主として発現している組織を示す。Dp260、Dp140、Dp116、Dp71は発現する蛋白のサイズに由来するアイソフォームの名前を示した。

	Dp140 (+) 遺伝子異常がエクソン44 より上流にとどまる	Dp140 (-) 遺伝子異常がエクソン45 より下流におよぶ
全検査IQ	81.0 ± 18.5	71.3 ± 17.7
言語性IQ	77.9 ± 18.0	69.1 ± 18.9
動作性IQ	87.5 ± 18.0	78.3 ± 17.9

表1：Dp140(+/-)各群におけるIQ。各群における全検査IQ、言語性IQ、動作性IQの平均および標準偏差

全検査IQ	Dp140 (+)	Dp140 (-)
IQ75以下	5例 (31.3%)	12例 (66.7%)
IQ76以上	11例 (68.8%)	6例 (33.3%)

言語性IQ	Dp140 (+)	Dp140 (-)
IQ75以下	6例 (37.5%)	13例 (72.2%)
IQ76以上	10例 (62.5%)	5例 (27.8%)

動作性IQ	Dp140 (+)	Dp140 (-)
IQ75以下	4例 (25.0%)	8例 (44.4%)
IQ76以上	12例 (75.0%)	10例 (55.6%)

表2：Dp140(+/-)各群におけるIQ75以上および以下の分布。各群における全検査IQ（上段）、言語性IQ（中段）および動作性IQ（下段）のIQ75以上および以下の症例数（カッコ内は各群における%）を示す。全検査IQでは $\chi^2=4.250$ ($p<.05$)、言語性IQでは $\chi^2=4.142$ ($p<.05$)、動作性IQでは $\chi^2=1.402$ (n.s.)である。

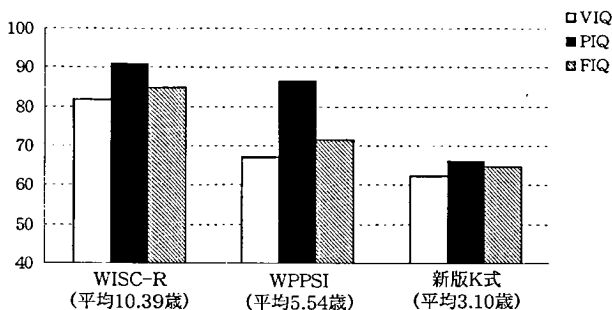


図3：各検査群における言語性IQ (VIQ)、動作性IQ (PIQ) および全検査IQ (FIQ)。各IQの平均を示す。カッコ内には各検査群の平均年齢を示す。

③動作性知能(PIQ)と言語性知能(VIQ)

図3に各検査施行群におけるPIQ、VIQおよび全検査IQ(FIQ)を示す。WISC-R、WPPSI実施群でPIQとVIQを比較するとPIQが有意に高かった。PIQがVIQに比べ15点以上高い子どもは53.6%であり、VIQ優位は7.1%であった。新版K式実施の乳幼児は認知・適応と言語・社会DQで有意な差はなかった。下位検査について、WISC-Rでは、評価点は類似、理解が低く(6点台)、迷路が一番高かった(12点台)。WPPSIでは、理解、単語が低く(2点台)、迷路が一番高かった(9点台)。今回検討

したDMD児では、言語概念化能力と言語表出能力の低下が特徴的であった。WISC-Rで、動作性IQは車椅子を使用していない群で使用群より数値は高かったが有意な差はなかった。

【考察】

今回の検討によってDp140(-)であることがIQが低いことと有意に関連していることが明らかとなった。Dp140は中枢神経系において発現しており⁹、脳におけるジストロフィンの機能と関係している可能性がある。また、DMD児の知能が健常集団よりも低い側に偏った分布であること、動作性IQが言語性IQに比べ優位であることは従来の報告と一致していた¹⁰。

今回、DMD児における精神遅滞のひとつの要因がDp140(-)にある可能性が示唆されたが、Dp140(+)でも精神遅滞を呈する症例があり、精神遅滞を規定する要因に関してさらに今後の研究が必要である。

【参考文献】

1. Lenk U, Hanke R, Thiele H, Speer A : Point mutation at the carboxy terminus of the human dystrophin gene: implications for an association with mental retardation with DMD patients. Hum. Mol. Genet., 11: 1877-1881, 1993.
2. Bushby KMD, Appleton R, Anderson LVB, Welch JL, Kelly P, Gardner-Medwin D : Deletion status and intellectual impairment in Duchenne muscular dystrophy. Dev. Med. Child Neurol. 37: 260-269, 1995.
3. Kekou K, Mavrou A, Florentin L, Youroukos S, Zafiriou DI, Skouteli HN, Metaxotou C : Screening for minor changes in the distal part of the human dystrophin gene in Greek DMD/BMD patients. Eur. J. Hum. Genet. 7: 179-187, 1999.
4. Chen D-H, Takeshima Y, Ishikawa Y, Ishikawa Y, Minami R, Matsuo M : A novel deletion of the dystrophin S-promptpr region cosegregation with mental retardation. Neurology 52: 638-640, 1999.
5. Wibawa T, Takeshima Y, Mitsuyoshi I, Wada H, Surono A, Nakamura H, Matsuo M : Complete skipping of exon 66 due to novel mutations of the dystrophin gene was identified in two Japanese families of Duchenne muscular dystrophy with severe mental retardation. Brain Dev. 22: 107-112, 2000.
6. Bardoni A, Sironi M, Felisari G, Comi GP, Bresolin N : Absence of brain Dp140 isoform and cognitive impairment in Becker muscular dystrophy. Lancet 353: 897-899, 1999.

7. Bardoni A, Felisari G, Sironi M, Comi G, Lai M, Robotti M, Bresolin N : Loss of Dp140 regulatory sequences is associated with cognitive impairment in dystrophinopathies. *Neuromusc. Disord.* 10: 194-199, 2000.
8. Felisari G, Boneschi FM, Bardoni A, Sironi M, Comi GP, Robotti M, Turconi AC, Lai M, Corrao G, Bresolin N : Loss of Dp140 dystrophin isoform and intellectual impairment in Duchenne dystrophy. *Neurology* 55: 559-564, 2000.
9. Lidov HGW, Seling S, Kunkel LM : Dp140: a novel 140 kDa CNS transcript from the dystrophin locus. *Hum. Mol. Genet.* 4: 329-335, 1995.
10. 河野慶三 知的行動障害 筋ジストロフィー症の臨床 (祖父江、西谷編) 医歯薬出版、東京 180-189、1985.

先天性筋ジストロフィー(CMD)の1亜型： 福山型CMDの表現型を持つが、 遺伝的に異なる亜型について

吉岡 三恵子

神戸市総合療育センター

神戸市立中央市民病院 小児科

佐々木 博, 馬場 清

倉敷中央病院 小児科

戸田 達史

大阪大学大学院医学系研究科未来医療開発専攻・
ポストゲノム疾患解析学講座ゲノム機能分野

1. 緒言

先天性筋ジストロフィー(CMD)は生後間もなく筋緊張と筋力の低下を来し、筋生検ではジストロフィーの所見を認める疾患である¹⁾。これまでCMDにはいくつかの型が同定されており、中でも古典型では一般に知能障害が見られない。この型には染色体6q2に遺伝子座位を持ち、筋基底膜のメロシンを欠損する疾患も含まれる²⁾。これまでの検討でメロシン欠損型CMDは欧米人に多く見られるが、我が国では稀であり、我が国のCMDの大部分は福山型(FCMD)で占められている事が明らかになっている。FCMDは常染色体劣性遺伝を示し、高度の脳や眼の奇形を伴うものである³⁾。脳と眼の奇形を伴うCMDとしては、FCMDの他に少なくとも2つの疾患がよく知られている。即ち、フィンランドに多く見られるmuscle-eye-brain disease(MEB)⁴⁾とその他の欧米諸国からの報告が主体であるWalker-Warburg syndrome(WWS)⁵⁾である。

近年、FCMDの遺伝子は染色体9q31に位置する事が明らかにされ、更にこの遺伝子が461のアミノ酸からなる蛋白フクチンをコードする事がわかってきた⁶⁾。FCMD遺伝子を持った大部分の染色体は一人の祖先に由来しており、その変異はフクチン遺伝子の3'非翻訳領域に3 kbのレトロトランスポゾンの挿入を認めるものである。後になって祖先由来でない9種の変異が見出されたが^{7,8)}、両方のアレルに祖先由来でない変異を持つFCMD患者はこれまで見いだされておらず、恐らくこのような症例は胎児期に死亡するのではないかと考えられている。この事はFCMD患者が何故日本以外の国に少ないかを説明している。

FCMDの診断を遺伝学的にする事が可能になって以来、我々はFCMDと類似の臨床症状を示すが、FCMDの遺伝子変異をもたないCMDを経験するようになった⁹⁾。この中には遺伝学的診断が行われるまでは、FCMDと診断されていた症例も含まれる。これら2家系3症

例はFCMDとは異なる型のCMDに属すると考えられるので、これらの詳細を報告する。

2. 症例報告

2.1. 家系1 (症例1及び2)

両親に血族結婚はみられず、両親の血清クレアチン・カイネース(CK)値はいずれも正常範囲内。症例1の出生前に2回の流産があった。症例1は男児で、在胎42週、胎児仮死のため帝王切開で出生。生下時体重は3,300g、アプガースコアは1分後9点であった。生下時より高度の筋緊張低下を示し、血清CK値の上昇(1,025 IU/L, 正常範囲は130 IU/L以下)、筋電図での筋原性変化、頭部CTで大脳白質低吸収域が認められ、他院でFCMDの診断を受けていた。生後、肺炎を繰り返し、1歳11カ月で死亡。

症例2は女児で、在胎39週、生下時体重3,088gで帝王切開で出生、仮死はなかった。3カ月検診で、頸定が見られず、筋緊張低下は強く、血清CK値も5,350IU/Lと上昇。生後10カ月の頭部CTでは兄と同様、大脳白質に瀰漫性の低吸収域が見られていた。1歳7カ月時に精査を受け、全身の筋緊張低下、顔面筋罹患、股・膝・足関節の関節拘縮、腓腹筋の仮性肥大を認めた。この時、頸定は見られず、寝返りもできなかったが、笑い・追視・単語数語は見られていた。MRIで脳室拡大、厚脳回、白質病変を示したが(図1)、眼科所見には異常なく、けいれんもなかった。又、運動神経伝導速度は正常範囲内で、脳波異常も認められなかった。精神運動発達は以後も不良で、頸定3歳6カ月、座位4歳10カ月であったが、8歳で座位保持は不可能となった。言語については6歳5カ月から2語文が可能となった。後に夜間の呼吸不全が出現し、9歳から夜間に人工換気を受けるようになった。

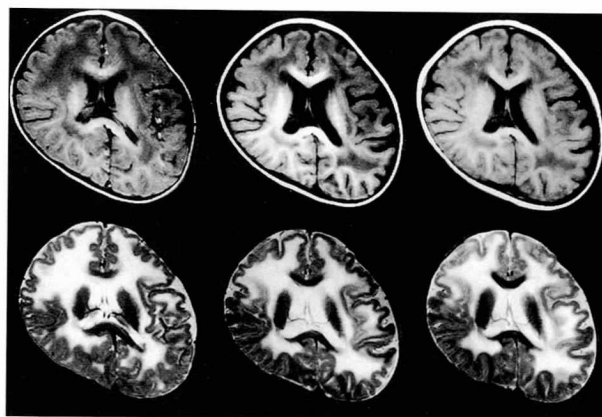


図1. 症例2の頭部MRI. 上段はT1強調画像で、下段はT2強調画像。左の2つは生後19カ月時の画像で、髄鞘化は内包、脳梁及び後頭葉に認められる。大脳白質はT1強調画像では対称的な低信号域、T2強調画像では高信号域を示し、この年齢としては髄鞘化遅延を示す。又、厚い脳回と浅い脳溝が前頭部や頭頂部に認められる。髄鞘化は年齢と共に進行するが、白質の異常信号は3歳1カ月時(真ん中の2つの画像)及び4歳7カ月時(右の2つの画像)においてもやはり認められている。

2.2. 家系2 (症例3)

2歳の男子。両親に血族結婚はみられない。母親にはこれまでに流産や死産などはない。在胎40週、生下時体重3,232gで第1子として出生、仮死はなかった。乳幼児期の発達は、頸定4ヶ月、ねがえり9ヶ月、お座り12ヶ月と遅れ、1歳を過ぎてても有意語はなく、1歳3ヶ月時に発達の遅れを主訴として精査を受けた。この時、筋緊張低下や腓腹筋の仮性肥大は認められたが、関節拘縮はなく、腱反射は保たれていた。血清CK値は2,776 IU/Lと上昇していたが、ジストロフィン遺伝子に欠失は認められなかった。MRIでは両側対称性の大脳白質病変があり、FCMDを疑われた(図2)。筋生検では、筋線維の大小不同、再生線維と変性線維の存在、著明な結合織の増生を認めたが、ジストロフィン染色やメロシン染色は陽性であった(図3)。筋生検後に高熱を出し、約3分間の全身強直間代性けいれんを来したが、血清CKの著明な上昇は認めなかった。以後は発熱時にもけいれんはなく、脳波の異常も認められていない。その後の経過では、1歳7カ月で四つ這いが出来、単語も出現。2歳2ヶ月でつかまり立ちも可能となっているが、膝・股関節に軽度の屈曲拘縮が出現してきた。MRIで認められた白質異常は年齢が進むにつれ、むしろ軽減してきていたが(図2)、血清CK値は以後も高値を続け、1,835-9,567 IU/Lで推移していた。

3. 検査と結果

症例2、3及びその両親の血液よりDNAを抽出し、CAリピート多形性マーカーD9S2105-D9S2170-D9S2171-D9S2107でアレタイプした。これらのマーカーでFCMDの祖先のハプロタイプは、それぞれ138-192-147-183であり、このハプロタイプを持つ染色体は3kbの挿入を示す事が明らかにされている⁹⁾。

患者はいずれも創始者のハプロタイプを持っていなかった。その後、患者の全coding領域及びexon-intron junctionについて塩基配列を決定したが、現在の所mutationは見つかっていない。

更に症例2のリンパ球から抽出したRNAを用いてRT-PCRを行い、フクチンRNAの発現量を調べた所、正常例と同様であった(図4)。

4. 考察

今回我々が報告した2家系3症例は、乳児期早期からの全身の筋緊張低下や筋力低下、精神運動発達遅延、顔面筋罹患、関節拘縮など、FCMDの臨床的特徴を示している。又、MRIでは皮質形成異常や白質異常などFCMDと同様の所見が認められているが、フクチン遺伝子には3kbの挿入も点変異も見出されなかった。更に、1症例のリンパ球から得たRNAでフクチンRNAの発現量を調べた所、正常の発現を認めていた。これらの点

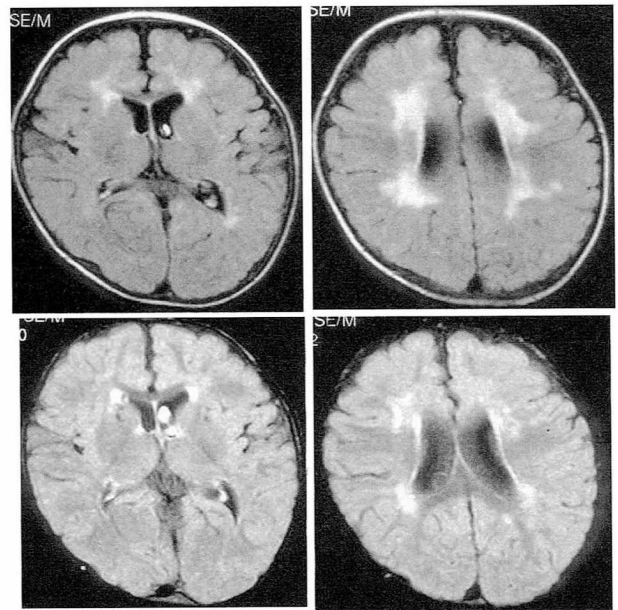


図2. 症例3の頭部MRI (T2強調画像)。1歳2ヶ月時(上段)には大脳白質は瀰漫性の高信号域として認められるが、2歳2ヶ月時(下段)では高信号域はかなり縮小している。

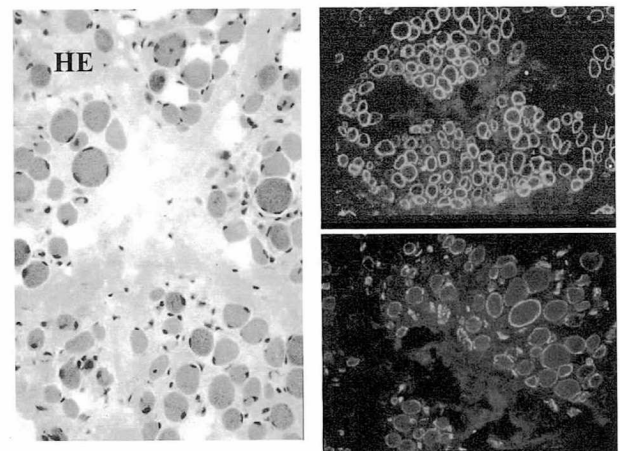


図3. 症例3の筋生検所見。左：ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、右上：ジストロフィン免疫染色、右下：メロシン免疫染色。HE染色では筋線維の大小不同、再生を伴った筋線維の変性及び結合織の増生を認める。一方、ジストロフィンやメロシン免疫染色では正常の染色性を示している。

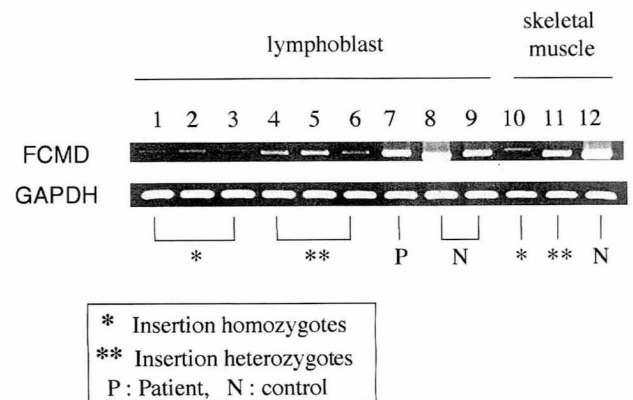


図4. RNA発現分析。RT-PCR法によって症例2のリンパ球から抽出したRNAでフクチンRNAの発現量を調べた所、正常例と変わらなかった。

から我々の3症例は遺伝学的にはFCMDと異なるCMDと考えられる。一方、筋組織ではジストロフィーの所見は認められるが、ジストロフィンやメロシン免疫染色は正常であり、早期発症のジストロフィン異常症やメロシン欠損症は否定される。又、メロシンの染色性はFCMDやMEBでは低下すると言われており^{10,11)}、今回の症例でメロシン免疫染色が正常である事はFCMDやMEBの可能性も否定される。症例2では神経伝導速度が正常であり、この点からもメロシン欠損症は否定的である¹²⁾。更に、眼科的異常の見られない事はWWSやMEBを考えにくくする。

最近、臨床的にFCMDと診断される症例の遺伝子解析が進み、ほとんど全ての患者から創始者変異である3kb挿入が検出されている。しかも、75%の患者ではこの3kb挿入変異が両方の染色体にホモの状態で見出されており、残りの25%の患者では3kb挿入とその他の変異の複合ヘテロの状態で見つかっている⁷⁾。一方、これまでに両方のアレルに創始者変異(3kb挿入)以外の変異を持ったFCMD患者は見出されておらず、恐らくこうした患者は胎児期に死亡するのであろうと考えられている。しかし、最近になって今回の報告例のように、臨床的にはFCMDとして矛盾しないが、フクチン遺伝子の変異を持たない症例も稀ながら報告されるようになってきた。我が国では我々が報告した上記の3症例の他に、三浦らの報告例¹⁴⁾がある。又、台湾¹⁵⁾やオーストラリア^{16, 17)}からも同様の症例が報告されている。このような症例が我が国のみならず、アジアやオセアニアにも存在し、人種も様々であることから、FCMDとは異なるCMDの一亜型と考えられ、今後 症例の蓄積と遺伝学的解析が期待される。

参考文献

- [1] Voit T. : Congenital muscular dystrophies: 1997 update. *Brain Dev* 1998;20:65-74.
- [2] Tome FMS, Evangelista T, Leclerc : A, et al. Congenital muscular dystrophy with merosin deficiency. *C R Acad Sci Paris, Life Sci* 1994;317:351-357.
- [3] Fukuyama Y, Osawa M, Suzuki H. : Congenital progressive muscular dystrophy of the Fukuyama-type—Clinical, genetic and pathological considerations. *Brain Dev* 1981;3:1-29.
- [4] Santavuori P, Somer H, Sainio K, et al. : Muscle-Eye-Brain disease (MEB). *Brain Dev* 1989;11:147-153.
- [5] Dobyns WB, Pagon RA, Armstrong D, et al. : Diagnostic criteria for Walker-Warburg syndrome. *Am J Med Genet* 1989;32:195-210.
- [6] Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, et al. : An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 1998; 394:388-392.
- [7] Kondo-Iida E, Kobayashi K, Watanabe M, et al. : Novel mutations and genotype-phenotype relationships in 107 families with Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD). *Hum Mol Genet* 1999;8:2303-2309.
- [8] Kobayashi K, Sasaki J, Kondo-Iida E et al. : Structural organization, complete genomic sequences and mutational analyses of Fukuyama-type congenital muscular dystrophy gene, fukutin. *FEBS Lett* 2001;489:192-196.
- [9] Yoshioka M, Kuroki S, Sasaki H, et al. : A variant of congenital muscular dystrophy. *Brain Dev* 2002; 24: 24-29.
- [10] Hayashi YK, Engvall E, Arikawa-Hirasawa E, et al. : Abnormal localization of laminin subunits in muscular dystrophies. *J Neurol Sci* 1993;119:53-64.
- [11] Haltia M, Leivo I, Somer H, et al. : Muscle-Eye-Brain Disease: Neuropathological study. *Ann Neurol* 1997; 41: 173-180.
- [12] Shorer Z, Philpot J, Muntoni F, et al. : Demyelinating peripheral neuropathy in merosin-deficient congenital muscular dystrophy. *J Child Neurol* 1995;10:472-475.
- [13] 三浦清邦、熊谷俊幸、松本昭子他. : 福山型先天性筋ジストロフィーに類似した先天性筋ジストロフィーの1例。脳と発達32: S269, 2000
- [14] Jong YJ, Kobayashi K, Toda T, et al. : Genetic heterogeneity in three Chinese children with Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Neuromusc Disord* 2000;10:108-112.
- [15] Stern LM, Albertyn L, Manson JI. : Fukuyama congenital muscular dystrophy in two Australian female siblings. *Dev Med Child Neurol* 1990;32:808-819.
- [16] 福山幸夫. : 福山型先天性筋ジストロフィー症—新疾患単位の認識と今後の課題。日本小児神経学会教育委員会・編 小児神経学の進歩 第30集、東京：診断と治療社、2001; 89-107.

Original article

A variant of congenital muscular dystrophy

Mieko Yoshioka^{a,b,*}, Shigekazu Kuroki^b, Hiroshi Sasaki^c, Kiyoshi Baba^c, Tatsushi Toda^d

^aSection of Pediatric Neurology, Kobe City Pediatric and General Rehabilitation Center for the Challenged, 2-3-50 Maruyama-cho, Nagata-ku, Kobe 653-0875, Japan

^bDepartment of Pediatrics, Kobe General Hospital, Kobe, Japan

^cDepartment of Pediatrics, Kurashiki Central Hospital, Kurashiki, Japan

^dDivision of Functional Genomics, Department of Post-Genomics and Diseases, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

Received 22 May 2001; received in revised form 29 August 2001; accepted 29 August 2001

Abstract

We analyzed three Japanese patients (two boys and a girl) from two families with congenital muscular dystrophy (CMD) and brain involvement. One of the two families had two affected siblings of different sexes. Parental consanguinity was not documented in either family. All patients showed generalized hypotonia and weakness from infancy, delayed psychomotor development, facial muscle involvement, and joint contractures. Serum creatine kinase levels were markedly elevated. The histological change seen on muscle biopsy was characteristic of a dystrophic process, although dystrophin and merosin staining were normal. On MR imaging, cortical dysplasia and cerebral white matter abnormalities were observed. Although these clinical, myopathological and neuroradiological findings were typical of Fukuyama-type CMD (FCMD), full mutational analysis of the fukutin gene revealed neither a 3 kb insertion (Japanese founder mutation) nor point mutations. RT-PCR analysis of RNA isolated from lymphoblasts of a patient revealed normal expression of the FCMD transcript. As classification of CMD should be based on genetic background, our present cases with typical clinical, myopathological and neuroradiological findings of FCMD without mutation of the fukutin gene may represent a new variant (or variants) of CMD that is different from FCMD. © 2002 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Congenital muscular dystrophy; Central nervous system involvement; Fukuyama-type congenital muscular dystrophy; Fukutin gene; Variant of congenital muscular dystrophy

1. Introduction

Congenital muscular dystrophies (CMD) are characterized by hypotonia and muscle weakness from early infancy and dystrophic changes in skeletal muscle pathology [1]. The classical form of CMD is an autosomal recessive disorder characterized by the above symptoms, but with no mental retardation. A deficiency in merosin in the basement membrane was shown to cause the classical CMD linked to chromosome 6q2 [2]. Merosin-deficient CMD is prevalent in white populations, while in Japan, most CMD patients have Fukuyama-type CMD (FCMD). FCMD is an autosomal recessive disorder characterized by severe CMD associated with brain and eye malformations [3]. At least two further forms of CMD with brain and eye involvement are nosologically well defined: muscle-eye-brain disease (MEB) in Finland [4] and Walker–Warburg syndrome (WWS) prevalent in other white populations [5].

Recently, the gene responsible for FCMD was identified

on chromosome 9q31, which encodes a novel 461 amino acid protein termed fukutin [6]. Most FCMD-bearing chromosomes (87%) derive from a single ancestral founder, whose mutation consisted of a 3-kb retrotransposal insertion in the 3′ non-coding region of the fukutin gene. Nine non-founder mutations were later identified [7,8]. However, there have been no FCMD patients with non-founder (point) mutations on both alleles of the gene, which could be embryonic-lethal. This could explain why few FCMD cases are reported in non-Japanese populations.

Here, we report three Japanese patients from two families with the FCMD-phenotype, in whom full mutational analysis, including all exons and flanking introns in the fukutin gene were not clarified abnormalities. The possibility that these patients suffer from a different type of CMD from FCMD is discussed.

2. Case reports

2.1. Family 1 (cases 1 and 2)

Both parents were healthy and non-consanguineous.

* Corresponding author. Tel.: +1-81-78-646-5291; fax: +1-81-78-646-5289.

E-mail address: mieko@mte.biglobe.ne.jp (M. Yoshioka).

Their serum creatine kinase (CK) levels were within normal limits. There had been two miscarriages before the birth of case 1. Case 1 was a male infant who died of pneumonia at 23 months of age. He was born at 42 weeks' gestation by cesarean section due to fetal distress. His birth weight was 3300 g and Apgar score after 1 min was 9. Based on severe hypotonia since birth, elevated serum CK levels (1025 IU/L, normal range <130 IU/L), myopathic EMG findings and a low density area in the cerebral white matter on CT (Fig. 1), he was diagnosed as having FCMD. Psychomotor development remained poor during subsequent months. He had neither shown head control, nor said any meaningful words until his death at the age of 23 months.

Case 2 was a female infant born uneventfully after 39 weeks' gestation and her birth weight was 3088 g. At the age of 3 months, she was first referred to our clinic due to severe hypotonia. On physical examination, she showed general muscle weakness and deep tendon reflexes were hypoactive. Her serum CK level was markedly elevated (5350 IU/L). Brain CT at age 10 months revealed similar findings to her brother (Fig. 1). A tentative diagnosis of FCMD was given. At age 19 months, she was admitted to our hospital for further examinations. She showed facial muscle involvement, contractures of the ankle, knee and hip joints, and calf muscle pseudohypertrophy. Serum CK (2874 IU/L) and aldolase (23.7 mU/ml, normal range 1.2–7.6 mU/ml) were still high and EMG was myopathic. Motor nerve conduction velocities and EEG were normal. Ophthalmologically, she showed no abnormalities. She did not exhibit afebrile or febrile convulsions. MRI showed diffuse periventricular hyperintensity on T2-weighted images, and thick and bumpy cortices with shallow sulci corresponding

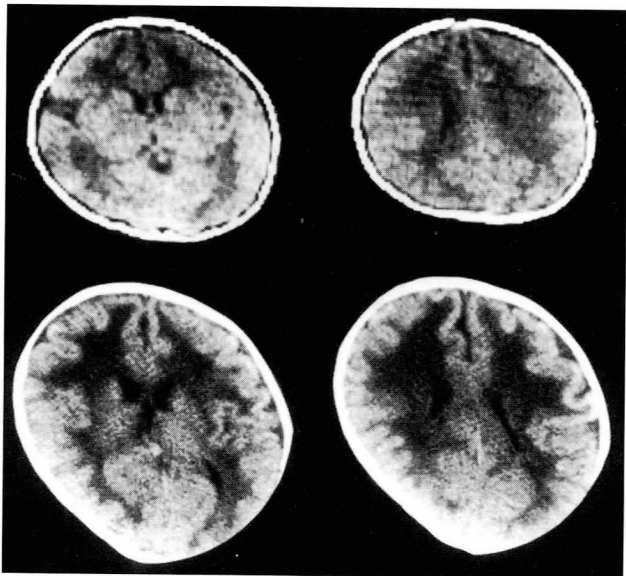


Fig. 1. CT scans of cases 1 and 2. The upper line shows scans of case 1 at the age of 6 months and the lower line shows those of case 2 at the age of 10 months. Note the marked hypodensities in the cerebral white matter in both cases.

to polymicrogyria over the frontal and parietal lobes (Fig. 2). These findings did not change during follow-up. Disorganized cerebellar folia and clusters of intraparenchymal cysts in the cerebellum were also found (Fig. 3).

Psychomotor development remained poor during subsequent years. She obtained head control after 3 years 6 months and learned to sit unsupported at 4 years 10 months, while the ability to sit alone was lost at the age of 8 years. She spoke her first word at 18 months, and spoke two-word sentences at 6 years 5 months. Later, nocturnal hypoventilation became evident, and she received respiratory support at night from 9 years of age.

2.2. Family 2 (case 3)

A 15-month-old boy was first referred to our clinic due to floppiness and developmental delay. He was born uneventfully at 40 weeks' gestation and his birth weight was 3232 g. Both parents were healthy and non-consanguineous, and had no family history of neuromuscular disease. There had been neither miscarriage nor stillbirth before his birth. He was the first-born child.

On physical examination, he showed hypotonia and calf muscle pseudohypertrophy. Deep tendon reflexes were preserved and joint contractures were not found. Delayed psychomotor development was evident: he obtained head control at 4 months, rolled over at 9 months and learned to sit unsupported at 12 months. Serum CK was 2776 IU/L, while dystrophin gene deletions were not detected. A muscle biopsy revealed variation in fiber size, areas of muscle fiber necrosis with regeneration, and increased endomysial and perimysial connective tissues compatible with dystrophic changes (Fig. 4). Dystrophin and merosin immunostainings were normal (Fig. 5). He developed a generalized tonic-clonic seizure with fever just after the muscle biopsy, while serum CK was not so elevated compared to the previous levels. An EEG showed no paroxysmal discharges. No febrile or afebrile convulsions has been observed since then. Brain MRI showed diffuse periventricular hyperintensity on T2-weighted images (Fig. 6), which decreased later during follow-up.

Psychomotor development remained poor during subsequent years. He crept at 19 months and stood with support at 26 months of age. Joint contractures developed in the hips and knees and deep tendon reflexes disappeared. He spoke his first word at 19 months. At age 2 years 3 months the face was apparently myopathic.

3. Investigations and results

Genomic DNA was extracted from the white blood cells of cases 2 and 3 and their parents. Haplotype analysis using polymorphic microsatellite markers flanking the FCMD gene was done. Our results did not reveal the founder haplotype (138-192-147-183 in D9S2105-D9S2170-D9S2171-D9S2107) [7] in any of them. In addition, we could not

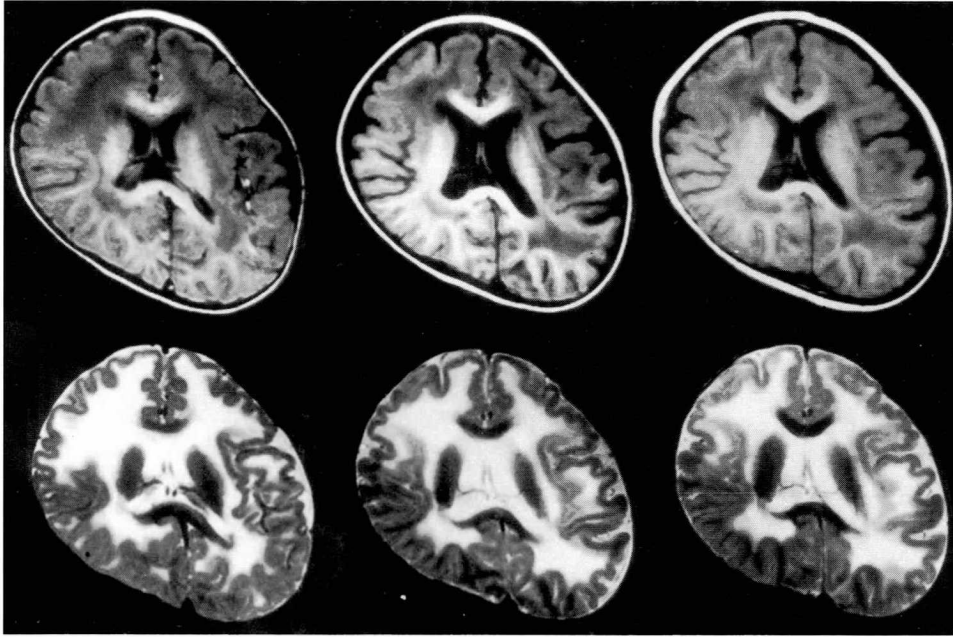


Fig. 2. Axial T1-weighted (the upper line) and T2-weighted (the lower line) sequences of case 2. On the left two images at age 19 months, myelination is present in the internal capsule, corpus callosum, and occipital region. The cerebral white matter shows symmetric low intensity on T1-weighted and high intensity on T2-weighted sequences. This is an immature pattern of myelination for this age. Thick and bumpy cortices with shallow sulci are seen over the frontal and parietal lobes. Although myelination progresses with age, abnormal intensities in the white matter did not change during follow-up at 3 years 1 month of age (middle two images) and at 4 years 7 months of age (right two images).

detect any abnormal 3-kb insertion bands (Japanese founder mutation). We also performed full mutational analysis on cases 2 and 3, including all exons and flanking introns in the fukutin gene. There was neither abnormal band shift by single-stranded conformation polymorphism analysis nor mutations by sequencing.

RT-PCR analysis of RNA isolated from the lymphoblasts of case 2 was performed. The level of amplified product was

normal compared to those from FCMD patients who carry the insertion homozygously or heterozygously [7].

4. Discussion

Our present cases had characteristic clinical findings of typical FCMD, including generalized hypotonia and weak-

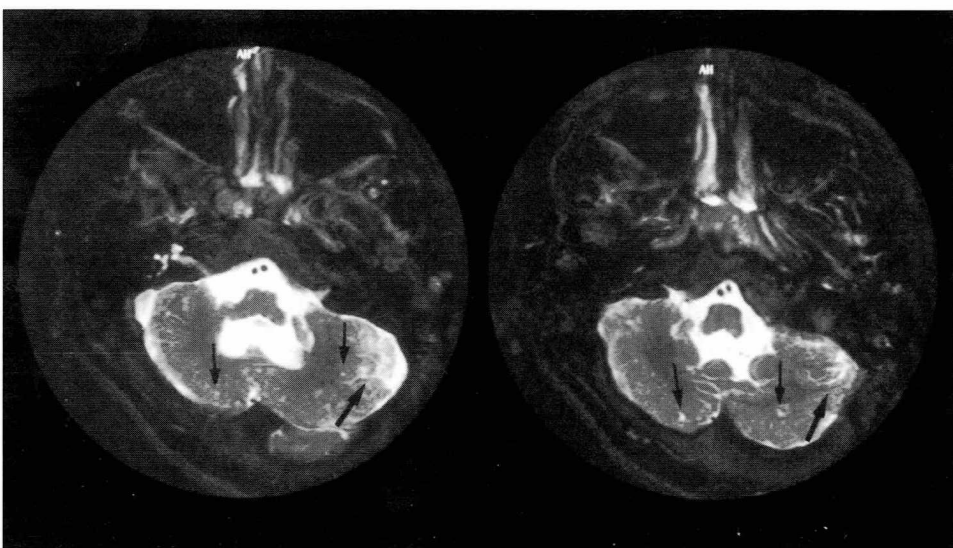


Fig. 3. Axial T2-weighted images of the midportion of the cerebellum of case 2 at 10 years 3 months. The left portion of the cerebellum reveals disorganized folia (thick arrow). There are some round cystic lesions (thin arrows).

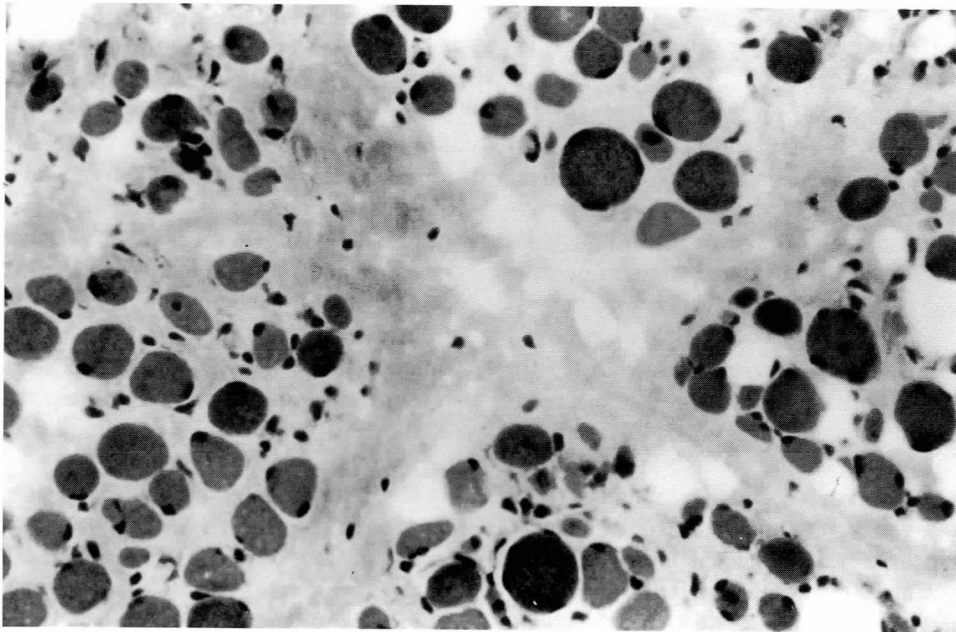


Fig. 4. Muscle biopsy of case 3. A variation in muscle fiber diameter, areas of muscle fiber necrosis with regeneration, and increased endomysial and perimysial connective tissues are seen. HE X100.

ness from infancy, delayed psychomotor development, facial muscle involvement, and joint contractures [3,9]. On MR imaging, cortical dysplasia and cerebral white matter abnormalities were identical to those seen in FCMD [10], although the abnormal intensities in the white matter did not change during follow-up in case 2. Full mutational analysis of the fukutin gene, however,

revealed neither a 3 kb insertion nor point mutations. RT-PCR analysis of RNA isolated from the lymphoblasts of patient 2 revealed normal expression of the FCMD transcript. On muscle histology, early-onset dystrophinopathy and merosin-deficient CMD could be excluded, because dystrophin and merosin were positive in a muscle specimen from case 3. In addition, normal staining for merosin made

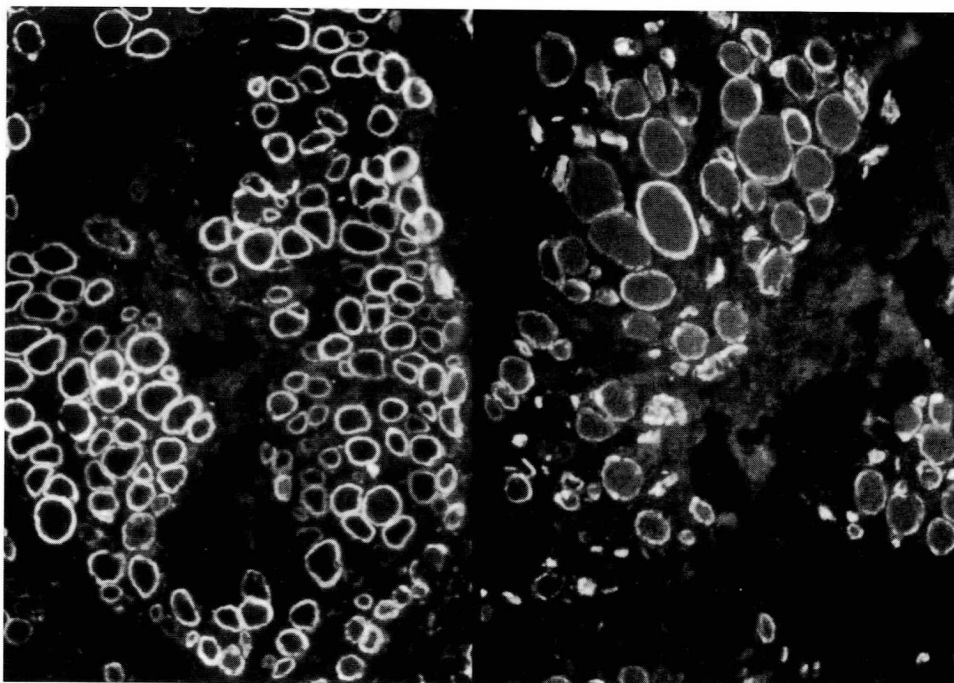


Fig. 5. Frozen sections of biopsied muscle tissue from case 3, immunoreacted for dystrophin (on the left) and merosin (on the right). Note the normal immunostaining patterns for both.

FCMD and MEB unlikely, because weak staining for merosin was reported in FCMD [11] and MEB [12]. The normal nerve conduction velocities in case 2 made merosin-deficient CMD unlikely [13]. No eye involvement was noticed unlike WWS or MEB [4,5]. Family 1 had two affected siblings of different sexes, suggesting autosomal recessive inheritance.

A systematic analysis of the FCMD gene in 107 unrelated Japanese CMD patients revealed that the 3 kb insertion was found to be present on 85.6% of disease chromosomes examined [7]. In addition, there were eighty probands (75%) homozygous for the 3 kb insertion, while 25 (23%) were heterozygous, and only two lacked the 3 kb insertion on either allele. However, there were no FCMD patients with non-founder (point) mutations on both alleles of the gene, which could be embryonic-lethal. This could explain why few FCMD cases are reported in non-Japanese populations. One of two probands without the 3 kb insertion in this report [7] was case 2, and another was reported by Miura et al. [14]. Thus, until now, four Japanese patients including our three cases have shown almost the same clinical findings to those with typical FCMD, yet full mutational analysis of the fukutin gene revealed neither a 3 kb insertion nor a point mutation. From these observations, three possibilities are considered: (i) mutations in the promotor region or introns of the FCMD gene; (ii) genetic heterogeneity (second locus?) in FCMD; or (iii) a different type of CMD from FCMD. RT-PCR analysis revealed normal expression of the FCMD transcript in patient 2 supports (ii) or (iii).

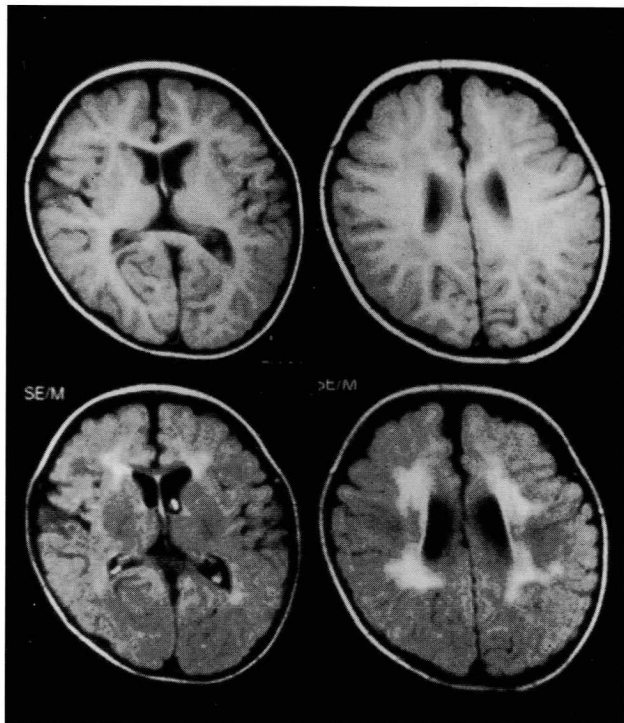


Fig. 6. MR imaging of case 3 at 15 months of age. Symmetric low intensity on T1-weighted (the upper line) and high intensity on T2-weighted (the lower line) sequences in the cerebral white matter.

Although FCMD seems to be very rare in ethnic groups other than the Japanese population, an increasing number of cases, all resembling or sharing features with FCMD, have been reported from countries other than Japan [15–19]. Among them, genetic studies were done only in cases reported from Taiwan [15]. Three Chinese patients were afflicted with the typical clinical, myopathological and neuroradiological findings of FCMD with neither a 3 kb insertion nor a point mutation on the fukutin gene. While genetic studies have not been done in other cases reported from western countries [16–19], they may be genetically different from FCMD, because there were no FCMD patients with non-founder (point) mutations on both alleles of the gene and the 3-kb insertion allele is unique to the Japanese.

Three forms of CMD with brain and eye involvement have been described: FCMD, WWS and MEB. However, it is sometimes difficult to differentiate these three forms on clinical grounds alone [9,20]. The neuropathological difference between them also reflects variation within the same disease [21]. Why do the phenotypes of these diseases resemble each other or overlap? These features may result from disturbances in basement-membrane components that are common to the muscle, eye, and brain, since several investigators have observed aberrations in extracellular matrix proteins in these diseases [11,12,22]. Nowadays, classification of CMD should be based on the genetic background. The FCMD gene is located on 9q31, and the gene underlying MEB has recently been mapped to chromosome 1p32-34 [23], while the chromosomal location of the WWS gene is still unknown; WWS is likely to be a heterogeneous disorder. This indicates that these conditions are separate disease entities from a genetic point of view.

From these findings, our present cases with clinical phenotypes similar to, but genetically different from FCMD may be a new variant (or variants) of CMD that is different from FCMD, WWS or MEB.

Acknowledgements

We thank the family members who participated in this study; This study was partially supported by a research grant for Nervous and Mental Disorders (11A-1-26) from the Ministry of Health and Welfare, Japan.

References

- [1] Voit T. Congenital muscular dystrophies: 1997 update. *Brain Dev* 1998;20:65–74.
- [2] Tome FM, Evangelista T, Leclerc A, Sunada Y, Manole E, Estournet B, et al. Congenital muscular dystrophy with merosin deficiency. *C R Acad Sci Paris* 1994;317:351–357.
- [3] Fukuyama Y, Osawa M, Suzuki H. Congenital progressive muscular dystrophy of the Fukuyama type – clinical, genetic and pathological considerations. *Brain Dev* 1981;3:1–29.

- [4] Santavuori P, Somer H, Sainio K, Rapola J, Kruus S, Kikitin T, et al. Muscle-Eye-Brain disease (MEB). *Brain Dev* 1989;11:147–153.
- [5] Dobyns WB, Pagon RA, Armstrong D, Curry CT, Greenberg F, Grix A, et al. Diagnostic criteria for Walker–Warburg syndrome. *Am J Med Genet* 1989;32:195–210.
- [6] Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, Matsumura K, Kondo-Iida E, Nomura Y, et al. An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 1998;394:388–392.
- [7] Kondo-Iida E, Kobayashi K, Watanabe M, Sasaki J, Kumagai T, Koide H, et al. Novel mutations and genotype-phenotype relationships in 107 families with Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD). *Hum Mol Genet* 1999;8:2303–2309.
- [8] Kobayashi K, Sasaki J, Kondo-Iida E, Fukuda Y, Kinoshita M, Sunada Y, et al. Structural organization, complete genomic sequences and mutational analyses of Fukuyama-type congenital muscular dystrophy gene, *fukutin*. *FEBS Lett* 2001;489:192–196.
- [9] Yoshioka M, Kuroki S. Clinical spectrum and genetic studies of Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Am J Med Genet* 1994;53:245–250.
- [10] Aida N, Tamagawa K, Takada K, Yagishita A, Kobayashi N, Chikumaru K, et al. Brain MR in Fukuyama Congenital Muscular Dystrophy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17:605–613.
- [11] Hayashi YK, Engvall E, Arikawa-Hirasawa E, Goto K, Koga R, Nonaka I, et al. Abnormal localization of laminin subunits in muscular dystrophies. *J Neurol Sci* 1993;119:53–64.
- [12] Haltia M, Leivo I, Somer H, Pihko H, Paetau A, Kivela T, et al. Muscle-eye-brain disease: a neuropathological study. *Ann Neurol* 1997;41:173–180.
- [13] Shorer Z, Philpot J, Muntoni F, Sewry C, Dubowitz V. Demyelinating peripheral neuropathy in merosin-deficient congenital muscular dystrophy. *J Child Neurol* 1995;10:472–475.
- [14] Miura K, Kumagai T, Matsumoto A, Miyazaki S, Kondo E, Toda T. A male case of congenital muscular dystrophy similar to Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *No To Hattatsu (Tokyo)* 2000;32:S269.
- [15] Jong YJ, Kobayashi K, Toda T, Kondo E, Huang SC, Shen YZ, et al. Genetic heterogeneity in three Chinese children with Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Neuromusc Disord* 2000;10:108–112.
- [16] Krijgsman JB, Barth PG, Stam FC, Slooff JL, Jasper HH. Congenital muscular dystrophy and cerebral dysgenesis in a Dutch family. *Neuropadiatrie* 1980;11:108–120.
- [17] Vles JS, de Krom MC, Visser R, Howeler CJ. Two Dutch siblings with congenital muscular dystrophy (Fukuyama type). *Clin Neurol Neurosurg* 1983;85:175–180.
- [18] Peters AC, Bots GT, Roos RA, van Gelderen HH. Fukuyama type congenital muscular dystrophy—two Dutch siblings. *Brain Dev* 1984;6:406–416.
- [19] Stern LM, Albertyn L, Manson JI. Fukuyama congenital muscular dystrophy in two Australian female siblings. *Dev Med Child Neurol* 1990;32:808–813.
- [20] Yoshioka M, Toda T, Kuroki S, Hamano K. Broader clinical spectrum of Fukuyama-type congenital muscular dystrophy manifested by haplotype analysis. *J Child Neurol* 1999;14:711–715.
- [21] Takada K. Fukuyama-type congenital muscular dystrophy and the Walker–Warburg syndrome. Commentary to Kimura’s paper (p. 182–191). *Brain Dev* 1993;15:244–245.
- [22] Wewer UM, Durkin ME, Zhang X, Laursen H, Nielsen NH, Towfighi J, et al. Laminin $\beta 2$ chain and adhalin deficiency in the skeletal muscle of Walker–Warburg syndrome (cerebro-ocular dysplasia-muscular dystrophy). *Neurology* 1995;45:2099–2101.
- [23] Cormand B, Avela K, Pihko H, Santavuori P, Talim B, Topaloglu H, et al. Assignment of the muscle-eye-brain disease gene to 1p32-p34 by linkage analysis and homozygosity mapping. *Am J Hum Genet* 1999;64:126–135.

デュシャンヌ型筋ジストロフィーの脳皮質の局所脳血流量

分担研究者 多田和雄*
 共同研究者 中西 孝** 河本邦彦* 三谷真紀*
 木村健一* 二村直伸* 舟川 格*
 高橋桂一*

国立療養所兵庫中央病院 *神経内科
 **児童指導員

緒言

デュシャンヌ型筋ジストロフィー(DMD)に知能低下を合併することが多いことは古くから多くの報告があり、高橋らは遺伝子異常との関連について報告している(1)。これまでの報告ではDMDには脳の器質的異常がみられないとされていたが、自験例で著明な知能低下のある症例の脳皮質に器質的異常があった(2)。このことよりDMDに脳皮質の局所脳血流量の低下がみられる可能性があると考え、SPECTで脳血流量を測定し、IQと対比させて検討した。

方法

18才から25才までの9名のDMD患者を対象とした。GE横河製のスターカム4000とXR/Yを使用し、600MBqの^{99m}Tc-ECDを静脈内投与して5分後から撮像し、脳血流シンチグラムを得た。局所脳血流量は、関心領域を前頭葉皮質で44領域、側頭葉皮質で24領域、頭頂葉皮質で12領域、後頭葉皮質で16領域、小脳で4領域設定し、それぞれの平均値を求め、小脳との比率を計算し、小脳比として評価した。正常コントロールとして、Matsudaらのデータ(3)のなかから18才から25才の男性のデータのみ9例を用いた。IQはWISC-RおよびWAIS-Rにて言語性評価(VIQ)、動作性評価(PIQ)、全検査評価(FIQ)を測定した。

結果

9名のDMD患者の脳血流量の小脳比は、前頭葉皮質で 0.764 ± 0.039 、側頭葉皮質で 0.799 ± 0.028 、頭頂葉皮質で 0.810 ± 0.049 、後頭葉皮質で 1.041 ± 0.043 であり、前頭葉皮質、側頭葉皮質、頭頂葉皮質で局所脳血流量が低下していた。正常コントロールでは前頭葉皮質で 0.913 ± 0.088 、側頭葉皮質で 0.840 ± 0.081 、頭頂葉皮質で 0.863 ± 0.089 、後頭葉皮質で 0.951 ± 0.166 であった(図1)。DMDでは正常コントロールと比較して前頭葉皮質の局所脳血流量が有意に低下しており($P < 0.003$)、後頭葉皮質でやや増加していた($P < 0.05$)(non-paired student t-test)。

前頭葉皮質の局所脳血流量をIQと対比させて検討した。PIQおよびFIQとはあまり関連がなかったが、VIQが低い方が局所脳血流量が少ない傾向があった(図2)。しかし $r=0.586$ ($P=0.0976$)で統計学的には有意差がでなかった(回帰分析一単回帰)。

考察および結論

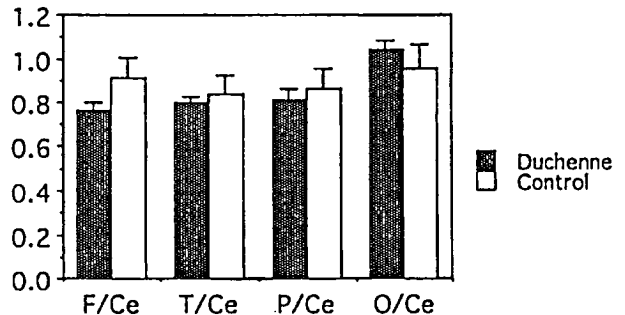


図1 局所脳血流量の小脳比

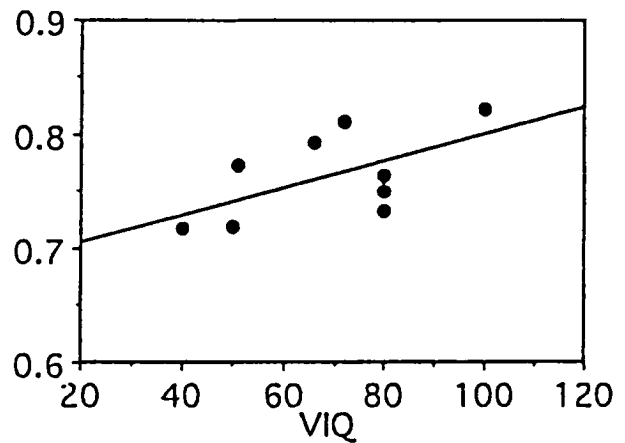


図2 前頭葉皮質の局所脳血流量と

DMDの知能障害には特徴があり、生来発語のないほどの知能低下を示す症例から全く知能障害を示さない症例まで幅広く分布している。またVIQがPIQを下回ることが多いとされている。CTやMRIなどの画像診断では脳皮質の萎縮がしばしば認められることが報告されている。最近Itohらは脳皮質(prefrontal cortex)に過誤腫に似た多発性小結節を認めた症例を報告した(2)。今回の我々の研究でも前頭葉皮質の局所脳血流量が有意に低下しており、また症例数が少なく統計学上の有意差はでなかったが前頭葉皮質の局所脳血流量の低下とVIQの関連性を考えると、DMDの知能障害の原因を考えるうえで興味深いと考えられた。

参考文献

- (1) 高橋桂一：デュシャンヌ型筋ジストロフィーの知能指数と遺伝子異常。厚生省精神神経疾患研究報告集(平成十一年度)；P201
- (2) Itoh K et al. : Multifocal glial nodules in a case of

Duchenne muscular dystrophy with severe mental retardation. Neuropathology 1999; 19, 322-327

- (3) Matsuda H et al. : Noninvasive measurements of regional cerebral blood flow using technetium-99m hexamethylpropylene amin oxime. Eur J Nucl Med, 1993;20:391-401

筋ジストロフィーの心不全における 血中アデノシンの検討

下山 良二 (国立療養所松江病院 神経内科)
河原 仁志 (国立療養所松江病院 小児科)
矢野 修一 (国立療養所松江病院 内科)

緒言

筋ジストロフィー患者の心不全は、運動能と心臓予備能の相対的な関係、呼吸不全の関与などにより複雑な病態をしめす。そのため筋ジストロフィー心不全治療においては病態を多様な視点で判断することが重要と思われる。

アデノシンはATPの分解産物であり、虚血、低酸素下にて心筋から大量に放出され、また運動、 β 受容体刺激、心拍数増加などにより心筋の酸素需要が増大するときも産生が増加する。作用としては、冠血流増加作用、 β アドレナリン受容体遮断作用、レニン-アンギオテンシン系抑制作用などを有すると報告されており、アデノシンは心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド(ANP・BNP)とならんで慢性心不全に対する代償的な改善因子として作用しているものと予想されている。今回我々は、筋ジストロフィー患者の血中アデノシンを検討し、心不全診療における意義を検討した。

対象および方法

平成11年度から12年度にわたり検討した症例は、Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)が26例(2~36歳)で、5例は二回以上の測定を行った。Becker型筋ジストロフィー(BMD)が11例(13~54歳)で、4例は二回以上の測定を行った。筋強直性ジストロフィー(MyD)が13例(11~61歳)で、9例は二回以上の測定を行った。

血中アデノシン濃度を測定し、心エコーによる左室駆出率(LVEF)、ANP、BNPその他の臨床データとの関連を検討した。

血漿中アデノシン濃度の基準値については、18-56歳の99人の健常人の検討から求められたもので12.0~49.9pmol/mlとの報告がある¹⁾。

結果

①LVEFとアデノシンの関係：

DMD群においてアデノシンはLVEFとの間で有意な負の相関を認めた($r=-0.458$, $p<0.02$)(図1)。しかしBMD群及びMyD群ではLVEFとの有意な相関は認められなかった。

②ANP、BNPとアデノシンの関係：

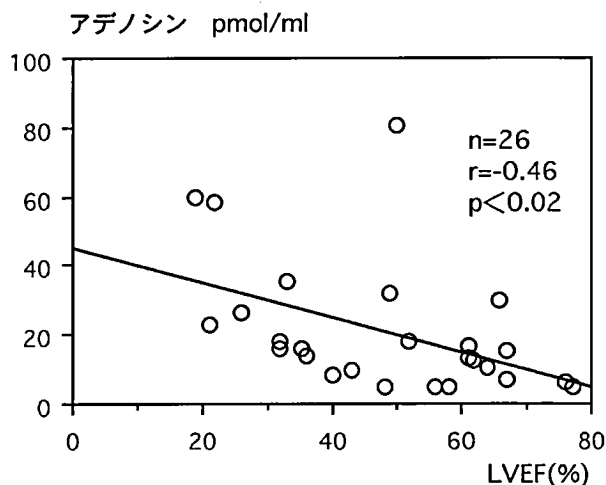


図1 DMD群でのアデノシンとLVEFとの関連

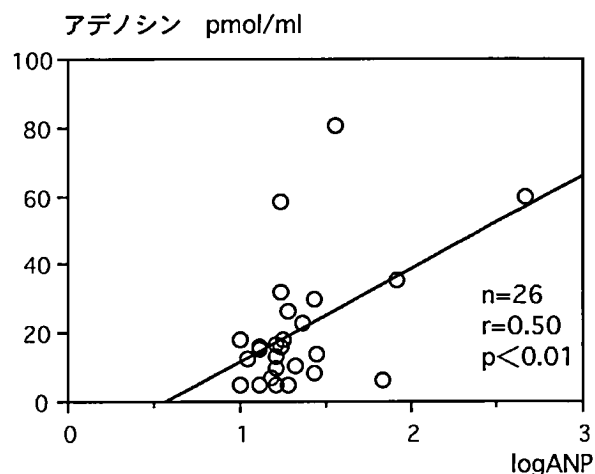


図2 DMD群でのアデノシンとlogANPとの関連

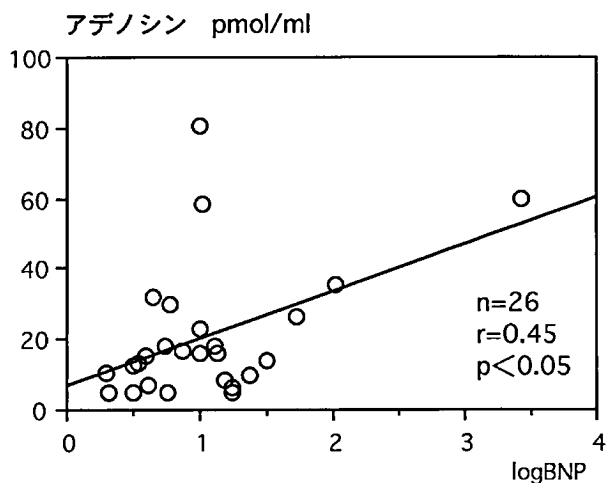


図3 DMD群でのアデノシンとlogBNPとの関連

DMD群において、それぞれ常用対数で変換したANP、BNP両者に対し有意な正の相関を示した(ANP: $r=0.502$, $p<0.01$ BNP: $r=0.450$, $p<0.05$)(図2・図3)。BMD群及びMyD群ではANP、BNPとの有意な相関は認められなかった。

③その他臨床データとの関連：

ホルター心電図から得られた平均心拍数・VPC数、夜間の酸素飽和度、何らかの呼吸管理の有無、について検討したがDMD、BMD、MyDいずれの群も有意な関連は見いだせなかった。

④経時的变化：

LVEFが31%に低下しACE阻害剤、利尿剤が投与されている14歳のDMD症例では肺炎による入院時にANP 80pg/ml、BNP 146pg/ml、アデノシンは18.7pmol/mlであった。肺炎の治療の終了後ANP、BNPの上昇がみられたためジキタリスの投与が行われた。しかしその後も、ANP 290pg/ml、BNP 320pg/mlと上昇しアデノシンも59.5pmol/mlまで上昇し β ブロッカーの投与がなされた。

LVEFが17%に低下した54歳BMD症例は食欲不振を訴え胸水も合併しておりANP 290pg/ml、BNP 525pg/mlと高値を示しアデノシンは50.3pmol/mlであったが、利尿剤の追加投与により症状の軽減をみとめ、ANP 99pg/ml、BNP 340pg/mlと減少しアデノシンも15.5pmol/mlと減少した。MyDでは心房粗動・除脈を合併する症例や気切人工呼吸を受け肺うっ血を来している症例でANP・BNPとアデノシンがともに増減する傾向がみられた。

考 察

今回の検討ではアデノシンがDMDのLVEFおよび常用対数で変換したANP、BNPの値と相関することが示され、アデノシン濃度の測定がDMDの心不全の指標として有用であることが示唆された。

Funayaら、が末梢血中アデノシンレベルが、虚血性・非虚血性慢性心不全症例のいずれにおいてもそのNYHA心機能分類の重症度に応じて増加していると報告した。そして心筋虚血がアデノシンの放出因子とされるなかで非虚血性慢性心不全症例においても末梢血中アデノシンレベルが上昇する原因について、拡張型心筋症のような非虚血性心不全の病態も冠微少血管の攣縮、心筋の伸展から生じる冠動脈の圧迫、酸素の拡散距離の増大による潜在的な虚血・低酸素が原因として関与するとされていることから説明している2)。今回検討したDMDの心筋にも同様の虚血・低酸素の変化が起こって血中アデノシンが上昇したと考えられた。アデノシンが心保護作用を有すると考えられることから、Kitakazeら、は虚血性・非虚血性慢性心不全症例にジピリダモールをジピリダモールもしくはジラゼップを投与し内因性アデノシンを上昇させたところNYHA心機能分類が改善したと報告している3)。アデノシンレベルまたはアデノシン作用を増強させる薬剤が心不全治療薬となる可能性のあることが示唆され、筋ジストロフィーの心不全治療への応用も検討される

べきかもしれない。

アデノシンが心不全症状の変動を正しく反映し、心不全の治療効果判定や予後の推定に有用であるかどうかを明らかにするには、さらに臨床経過とアデノシンの関連を検討していく必要があるものと思われる。

結 語

アデノシンはDMD群においてLVEFと有意な負の相関を示し、常用対数で変換したANP、BNPの値と有意な正の相関を示した。血中アデノシン濃度の測定がDMDの心不全の指標として有用であることが示唆された。

参考文献

- 1) 久保野勝男ら、：Radioimmunoassayを用いた健康人における血中アデノシン濃度の測定に関する検討
臨床化学 1991;20:72-77
- 2) Funaya H, et al. : Plasma adenosine levels increase in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1997 ; 95 : 1363-1365
- 3) Kitakaze M, et al. : Elevation of plasma adenosine levels may attenuate the severity of chronic heart failure. *Cardiovasc Drugs and Ther* 1998 ;12 : 307-309

Duchenne型筋ジストロフィー剖検登録例の統計学的解析

Autopsy analyses of Duchenne muscular dystrophy

和田 美智子*, 香川 典子**, 佐野 壽昭*

*徳島大学医学部第一病理

**徳島大学医療技術短期大学部

はじめに

筋ジストロフィー研究班員(厚生省精神・神経研究委託費、筋ジストロフィー研究連絡協議会)が所属する本邦29施設で剖検された筋ジストロフィー症例の登録が1981年から開始された。過去に剖検された症例を含めて各施設で剖検登録票を1例ごとに作製し、本教室でその剖検登録票を管理している。われわれはこれまでにその登録票をもとに死亡年齢、死因、病理所見などを解析し報告してきた¹⁾。1990年代に入り登録例は漸減してきているが、2000年11月末までに総数447例の剖検例が登録されている。そのうち最も多いDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)301例について登録票から死因、主臓器の重量、病理所見などを集計し、全身状態の経時的变化を検討した。

対象と方法

登録された筋ジストロフィーの病型内訳は表1に示すごとく、Duchenne型が301例(67.3%)と最も多い。今回、DMD剖検例301例について死亡年齢、死因、主臓器(心臓、肝臓、脾臓、腎臓、脳)の重量を調査した。

最も古い症例は1960年に1例あり、その症例を含め1960年代の症例が5例と少ないため、死亡年齢、死因については1970年から5年ごとに集計し、さらに死因は1990年から2000年までの11年間をまとめて解析した。

主臓器の重量はAimiら³⁾が報告した年齢、性別にみた正常日本人の臓器重量を参考に正常値より $\pm 20\%$ を偏りとし、1例ずつ各臓器について重量減少、正常重量、重量増加を検討した。腎重量は左右の平均重量とした。年齢別に10~14歳、15~19歳、20~24歳、25歳以上に分け解析した。

心臓は肉眼的に心肥大、心拡張、癍痕の有無について調べ、重量との関連を検討した。肝臓、脾臓、腎臓についても組織所見と重量との関連を調べた。脳重量に関連して記載のある知能指数(IQ)を検討した。

結果

296例のDMDの寿命は10歳から40歳までで、その中央値は19歳、平均は19.7歳であった。DMDの平均寿命

は1970年代前半では17.9歳であったが、1980年以降は5年ごとに延長がみられ、1985年以降に20歳以上となり、1990年代後半には24.9歳まで延長がみられた。さらに1985年以降、30歳以上の症例が12例見られ、40歳まで生存した症例が1例あった(図1、表2)。

死因は266例で明らかであった(図2)。1970年代前半では肺感染症による死亡が25.5%にみられたが、その後減少し、1985年以降、5.0%程度まで減少した。ほかの死因は筋ジストロフィーに起因する心不全、呼吸不全が大半であったが、1990年以降、心不全、呼吸不全が減少し、その他の死因が増え(17.4%)、8例中6例が気管炎や腕頭動脈への穿孔による出血死であった。

285例の心重量(図3)は10~14歳では他の年齢と比較し増加例の占める割合が高く、15~19歳、20~24歳では重量減少例が多く、25歳以上の症例では正常例の割合が高値であった。肉眼所見では年齢に関係なく重量増加例で心拡張が80.9%、心肥大が66.2%にみられ、逆に重量減少例では心拡張(21.8%)や心肥大(14.9%)の割合が低値であった。心筋の癍痕所見は重量に関係なくみられ、各年齢層では若年から順にそれぞれ51.7、55.2、51.3%に癍痕がみられたが、25歳以上では31.0%と癍痕所見が少なかった。組織所見では心筋の変性壊死、線維組織の増生がみられ、筋ジストロフィーに合致するものであった。

279例の肝重量(図3)は各年齢層で減少例が多く、全体では減少87.4%、正常10.8%、増加1.8%であった。組織学的には主にうっ血とそれに伴う脂肪変性がみられた。うっ血所見は重量と関係なくみられ、重量減少例でも33.6%にみられた。

271例の脾重量(図3)は肝と同様に各年齢層で減少例の占める割合が高く、全体では減少63.5%、正常22.5%、増加14.0%であった。組織学的にうっ血の所見がみられ、重量減少例で27.9%、重量増加例で50.0%と重量に関連しうっ血の割合が高値であった。

273例の腎重量(図3)は10~14歳では増加例、15~19歳では正常例、20~24歳では減少例、25歳以上では正常例の割合が高かった。一見、心重量と同様の傾向を示したが、15~19歳では心重量と異なり、正常例の占める割合が高かった。重量に関係なくうっ血の所見が約30%に認められた。

156例の脳重量は149例(95.5%)で正常であった。脳重量減少は6例、増加は2例であった。脳の正常重量のうち脳発育不全が4例、脳回異常が6例、脳梗塞が5例、脳出血が2例、くも膜下出血が1例、硬膜下血腫が1例見られた。脳重量減少例で脳梗塞1例、くも膜下出血1例が認められた。脳重量に関係なくIQの記載のみを集計するとIQが75以上あるいは知能正常と診断されたものが43例、IQが75未満あるいは知能低下とされたものが42例であった。

病型	症例数(例)
Duchenne	301
Female Duchenne	2
Becker	8
Emery-Dreifuss	2
Limb-Girdle	16
Malignant Limb-Girdle	3
Facioscapulohumeral	6
Fukuyama's congenital	39
Ullrich	2
CMD,nos	11
Distal	2
Myotonic	47
Unclassified	8
計	447

CMD; congenital muscular dystrophy

表1 筋ジストロフィー症病型別剖検登録数

年	症例数(例)	剖検時年齢(歳)	平均寿命(歳)
1970~1974	56	12~29	17.9±3.6
1975~1979	75	10~29	17.6±3.1
1980~1984	67	13~29	19.9±3.9
1985~1989	50	13~35	21.0±5.6
1990~1994	28	15~32	23.1±4.4
1995~2000	20	16~40	24.9±6.0

表2 DMD症例の平均寿命

考察

DMDの寿命は成書では20歳前後とされている。今回の解析ではDMDの平均寿命は1985年以降20歳以上となり、その後も確実に寿命の延長がみられ、最近6年間の平均寿命は24歳まで延長している。40歳まで生存した症例もみられ、30歳以上の症例も稀ではないと推測される。1985年以降の寿命の延長は、肺感染症が減少し、さらに直接筋ジストロフィーに起因する心不全、呼吸不全死が減少してきており、抗生物質や呼吸循環管理技術の急速な進歩と的確な補助療法の実践が大きな要因であると考えられる。死因で特徴的であったのは、1990年以降に気管内挿管例において気管潰瘍や腕頭動脈への穿孔による出血死が多くみられた点である⁹⁾。しかし、1995年以降は1例しかみられていない。これは脊椎、胸郭の変形がみられるDMD患者の気管内挿管の際、以前にも増し細心の注意が払われるようになり合併症が回避されてきたことが理由と考えられる。また近年、経鼻間欠的陽圧式人工呼吸器法が普及しており⁵⁾、気管内挿管例の減少や挿管期間の短縮が考えられ、呼吸管理の面からは今後もさらに寿命の延長が期待できる。

以前からDMDでは、早期に心拡大が進行し心不全で亡くなる例と心拡大が少なく呼吸不全で亡くなる例に二大別されるといわれてきた⁶⁾。今回の検討からも10歳から14歳までの若年者で心重量増加例の割合が高く、それらの症例のうち死因が明らかな9例中7例が心不全死であることから(結果は提示せず)、DMDの中に若

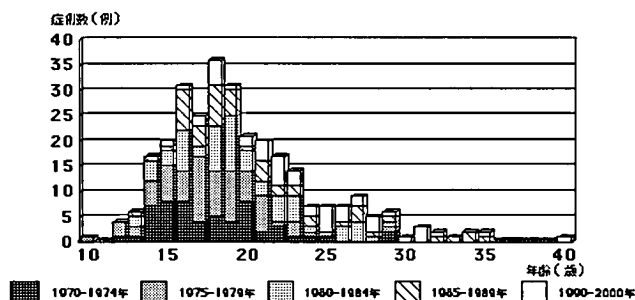


図1 DMD剖検症例の年齢分布

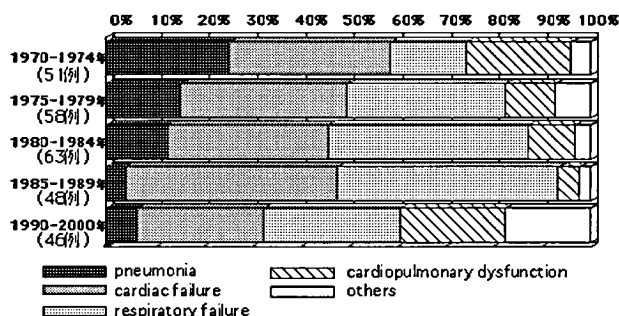


図2 DMD剖検症例の死因の変化

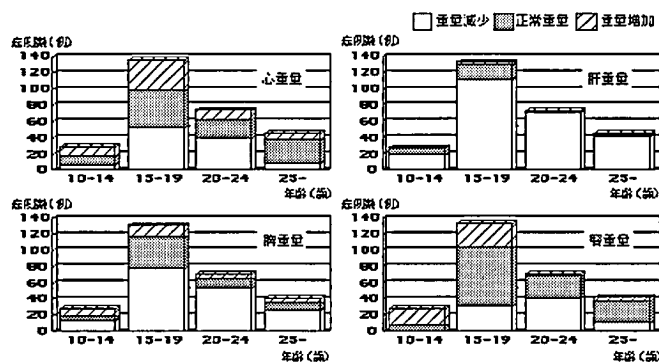


図3 DMD剖検症例の年齢別各臓器の重量

年で心筋の変性が急速に進行し、心拡張から心不全死する例があると考えられた。それ以後24歳位までは重量減少例が多くなり、これらの群は心筋の変性壊死が緩徐に進行していく例であると考えられる。しかしながら25歳を越えて生存した症例では正常重量例が多く、肉眼所見でも他の年齢に比べ心臓の癒痕率が低く、DMDの中には心筋の変性が少なく長期に生存可能な例がさらに別のグループとして区別される可能性もある。

肝臓については各年齢層で重量減少例が多かったが、20歳以上で重量減少例の占める割合が顕著であった。肝臓の重量減少の一つにはDMDにおいて身体の成長の遅れや栄養状態の不良が影響しているのではないかと考えられる。また病理組織学的にはうっ血の所見と肝小葉中心性に肝細胞の脂肪変性、萎縮がみられることから、肝臓において長期にうっ血と低酸素状態が続いていることが示唆され、長期生存者でより肝重量減少が認められる原因と考えられた。脾臓については重量減少例が多かったが、肝臓ほどその割合は高くなかった。病理組織学的にはうっ血所見が主体であり、肝臓に比

べ臓器組織変化が少なく、重量変化が少なかったと考えられた。

腎臓に関しては、われわれはDMDで腎表面に細顆粒状の変化があり、組織学的には糸球体の硬化像が年齢の割に多く見られることを明らかにしている⁸⁾。この原因として筋ジストロフィーにおける筋の変性萎縮が進行性に進むと同時に食事や水分摂取量が減少し、また臥床が長期になると、腎血流量の減少を起し徐々に腎に退縮性的変化が起こるのではないかと考えられる。若年死亡者ではうっ血の所見が主に現れて重量増加例が多く、その後24歳位までは年齢が高くなるにつれ減少例が多くみられたことから腎の退縮性変化が重量減少に影響していると考えられた。25歳以上を過ぎて生存した例では腎重量が正常な例が多く、心臓と同様にこれらの症例は筋組織の変性が少ない症例で全身状態が良好な期間が長く、腎組織の変化も少ないと考えられた。

脳については脳形成不全や脳回異常、脳萎縮例が認められたが、中枢神経系の器質的異常は明らかではなかった。他にはわれわれが以前より報告⁹⁾してきたように、動脈硬化性の血管病変は明らかではないが、若年者でありながら脳梗塞例が認められた。心筋の変性から心拡張や心肥大がおこると心収縮力が低下し、それに伴う血流の停滞により心臓内に血栓が生じ、それによる心原性の脳血栓塞栓症が起こると考えられる。DMDの知能は全体にIQが低いほうに偏り、知能の低下が進行性に起こることはないといわれている¹⁰⁾。しかし、CTやMRIなどで大脳皮質の萎縮が高頻度に認められるという報告¹¹⁾もある。今回、IQの検討から知能低下例と知能正常例がほぼ同数であり、DMDでは知能低下例が多いことは明らかと思われるが、その原因として身体の成長や発育の遅延のほかには何かDMDに特徴的な原因が存在するかどうかは今後の研究が待たれる。

今回の検討から、長期生存例では肝臓を除く主要臓器の重量変化が少なかったことより、DMDの寿命の延長のためには成長や発育が遅れることのないよう指導し、栄養状態をより良好に保つことが重要であると考えられた。また、主臓器にうっ血所見や長期うっ血に起因する変化がみられたことから、うっ血性心不全をはじめとし、できるだけ早期から臓器のうっ血や浮腫を診断し、治療を開始していくことが寿命の延長につながるのではないかと考えられた。

文 献

- 1) Moriuchi, T., Fujii, Y., Kagawa, N., et al. : Autopsy study on the weight of the heart, liver, kidney and brain in Duchenne muscular dystrophy. Tokushima J. exp. Med., 38: 5-13, 1991.
- 2) Moriuchi, T., Kagawa, N., Hizawa, K., et al. :

Autopsy analyses of the muscular dystrophies.

Tokushima J. exp. Med., 40: 83-93, 1993.

- 3) Aimi, S., Yasoshima, S., Sugai, M., et al. : Studies on the weight and size of internal organs of the normal Japanese. Acta Pathol. Jpn., 2: 173-200 1952.
- 4) 檜澤一夫, 香川典子, 篠原 勲, ほか: 筋ジストロフィー症気管挿管例の気管潰瘍について. 厚生省精神・神経疾患研究・筋ジストロフィーの臨床・疫学及び遺伝相談に関する研究. 平成5年度研究報告書, 1994, pp.227-230
- 5) 石川悠加, 石川幸辰, 南 良二: Duchenne型筋ジストロフィーの夜間呼吸不全に対する鼻マスク間欠性陽圧人工呼吸の効果についての検討. 臨床神経, 33: 856-861, 1993.
- 6) 花田徹野: Duchenne型進行性筋ジストロフィー症の病理学的研究. とくに心肺病変の意義について. Kitasato Med., 14: 2448-26, 1984.
- 7) 足立克仁, 川井尚臣, 松家 豊, ほか: Duchenne型筋ジストロフィー患者における心肥大に関する研究. 臨床所見ならびに剖検所見による検討. 神経内科, 39: 616-622, 1993.
- 8) 香川典子, 遠藤秀子, 佐野壽昭: デュシェンヌ型筋ジストロフィー剖検例における腎臓の病理組織学的検討 (会). 日本病理学会会誌, 89: 350, 2000.
- 9) 和田美智子, 香川典子, 佐野壽昭, ほか: Duchenne型筋ジストロフィー剖検例における梗塞病変の病理組織学的検討. 神経内科, 50: 168-176, 1999.
- 10) Emery, A.E.H. : Involvement of tissues other than skeletal muscle. Duchenne muscular dystrophy. Oxford Univ Press, Oxford 92-106, 1987.
- 11) al-Qudah, A.A., Kobayashi, J., Chuang, S., et al. : Etiology of intellectual impairment in Duchenne muscular dystrophy. Pediatr. Neurol., 6: 57-59, 1990.

筋強直性ジストロフィーの中枢運動伝導時間とCTGリピート数の相関

菅 理恵
 大石文芽 高瀬敬一郎
 荒畑 創 荒川健次
 酒井徹雄 藤井直樹

国立療養所筑後病院 神経内科

要 旨

筋強直性ジストロフィーのCTGリピート数と上肢中枢運動伝導時間の相関を5例にて検討したが統計学的に有意な相関はなかった。例数を増やしての検討が必要である。

はじめに

筋強直性ジストロフィーのCTGリピート数と臨床重症度は関連していると報告されている。^{1) 2)} また、筋強直性ジストロフィーの中枢運動伝導時間は健常成人と比較すると延長していると報告されている。³⁾ しかし、筋強直性ジストロフィーのCTGリピート数と中枢運動伝導時間の相関についての報告はない。そこで今回これらの相関について検討した。

対象 方法

対象：当科入院中の筋強直性ジストロフィー5名(男性1例 女性4例)年齢(47-58歳 平均52.8)身長(141-160cm 平均151.8cm)。

方法：磁気刺激；刺激装置はMAGSTIM200。刺激コイルは中間直径90mm円形コイルを用いた。記録は右短母指外転筋にて行った。大脳皮質刺激は円形コイルの中央をCzの位置にコイルに反時計回りの電流が流れる向きにおいて刺激した。頸部神経根刺激ではC7にコイルのエッジをおいて刺激した。刺激閾値は安静時刺激にて有意な誘発電位が得られた強度とし刺激強度は閾値+10%とした。

：CTGリピート数；白血球にて計測した。

いずれの検査もインフォームドコンセントを得ておこなった。

結 果

全例、大脳皮質刺激、頸部刺激で誘発された。

(図1)

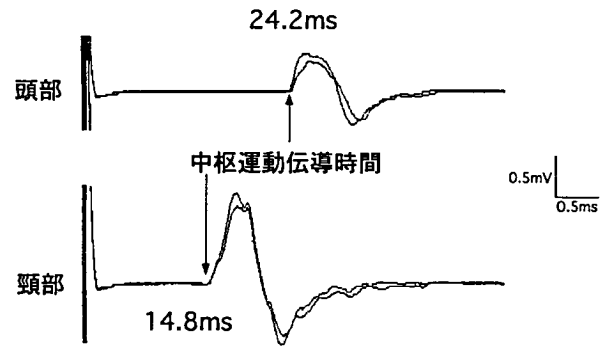


図1 代表的な誘発電位波形

大脳皮質刺激では閾値(60-75% 平均65%) 潜時(19.3-25.3 ms 平均22.38)頸部刺激では閾値(55-65% 平均59%) 潜時(11.9-17.6ms平均13.68)であった。中枢運動伝導時間は7.7-10ms平均8.7msであった。CTGリピート数は(1850-2350 平均2000)であった。(表1)

表1 検査結果一覧

	性	年齢	身長(cm)	リピート数	大脳(ms)	頸部(ms)	CMCT(ms)
M.M	F	53	141	2100	19.3	11.9	7.4
K.S	F	52	153	2350	21.0	12.0	9.0
C.Y	F	54	147	1850	24.2	14.8	9.4
I.Y	F	47	158	1750	22.1	12.1	10.0
K.S	M	58	160	1950	25.3	17.6	7.7

CMCT(central motor conduction time) 中枢運動伝導時間

中枢運動伝導時間とCTGリピート数の有意な相関はなかった。(図2)

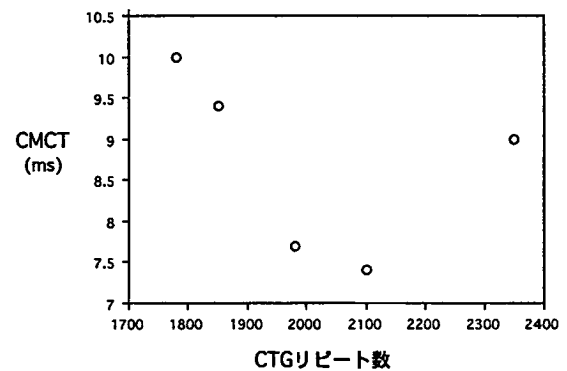


図2 中枢運動伝導時間(CMCT)とCTGリピート数

考 察

身長の影響を比較的受けない上肢の中枢運動伝導時間を計測した⁴⁾。身長と年齢の中枢運動伝導時間への影響は存在するので、年齢と身長を一致させた正常コントロールの検査を行い中枢運動伝導時間延長の有無の検討と対象が、5例と少ないので例数を増やしての

検討が必要と考えられる。

結 論

今回、検査した5例では上肢中枢運動伝導時間とCTGリピート数の有意な相関は認めなかった。今後、例数を増やしての検討が必要である。

参考文献

- 1) Tsilfidis C et al. : Correlation between CTG trinucleotide repeat length and frequency of severe congenital myotonic dystrophy. *Nat Genet* 1: 192-195, 1992
- 2) Harley HG et al. : Expansion of an unstable DNA region and phenotypic variation in myotonic dystrophy *Nature* 355: 545-6, 1992
- 3) Oliveri M et al. : Magnetic stimulation study in patients with myotonic dystrophy. *J Neurol Sci* 105: 297-301, 1997 *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*
- 4) Tobimatsu S et al. : Effects of sex, height and age on motor evoked potentials with magnetic stimulation. *J Neurol* 245 : 256-261, 1998

十二指腸潰瘍穿孔を生じた Duchenne型筋ジストロフィーの1例

後藤勝政、幸重啓子、島崎里恵、渡邊泰樹*、
菊地暢之**

(国立療養所西別府病院 神経内科、
*内科、**新別府病院 外科)

はじめに

筋ジストロフィー患者では呼吸器系や循環器系の症状以外にもさまざまな合併症が認められる¹⁾。消化器系の合併症としては、上腸間膜動脈症候群²⁻⁴⁾が原因とされる急性胃拡張がよく知られているが、そのほか口内炎、胃部不快や腹部不快、便秘、下痢、腹部膨満などがある¹⁾。今回われわれは十二指腸潰瘍穿孔による高度の腹痛を生じたDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)の1例を経験した。筋ジストロフィーにおける腹痛の鑑別のひとつとして重要であると思われるので報告する。

症例

患者は19歳、男性、DMD。昭和56年1月19日生まれ。平成2年8月から当院の筋ジストロフィー病棟に入院している。平成3年5月から手動車椅子を使用し、平成10年3月から電動車椅子を使用している。心不全あるいは呼吸不全の症状はなく、血液ガスも正常であった。平成11年9月27日に急性胃拡張を起こし、1週間程点滴をうけたことがあった。しかしその後は腹痛などの訴えはなく、元気に生活していた。

平成12年4月9日(日曜)の昼頃、突然右下腹部の疼痛を訴えるようになった。痛みが激しかったため、鎮痛剤(ペンタゾシン)の注射投与を行なったが、数時間しか効果を認めなかった。

現症

平成12年4月9日の夕方の現症を示す。体温は38.3℃、血圧107/64 mmHg。脈拍112/分。苦悶様顔貌で顔面は蒼白であった。右下腹部に強い圧痛と自発痛を認め、上腹部にも圧痛を認めたが、筋性防御はなかった。嘔気・嘔吐もみられなかった。脊柱の側彎はなく、軽度の前彎が認められた。

検査成績

検尿は蛋白(±)、糖(-)、潜血(-)、ケトン体(2±)であった。末梢血は白血球が9300/mm³と軽度上昇し、

ヘモグロビン 11.3 g/dlと軽度の貧血を認めたが、CRP 0.12mg/dlと正常で、血液生化学検査でも特に異常を認めなかった。

経過

翌日の検査では白血球 17100/mm³、CRP 18.33 mg/dlと著明に上昇し、腹痛も改善がみられなかったため、急性虫垂炎を最も疑い、近くのS病院の外科へ緊急入院となった。転院時は急性虫垂炎として緊急手術を行う予定であったが、腹部CTにて腹水の貯留とfree airが認められた(図1)。そして上部消化管内視鏡検査が行なわれ、十二指腸に穿孔所見を認めたため十二指腸潰瘍穿孔性腹膜炎と診断された(図2)。

緊急手術が行われた。手術は潰瘍穿孔部閉鎖、大網充填術、胃空腸吻合術を施行された。十二指腸の癒着があり、潰瘍穿孔部の閉鎖が難しかったため胃空腸吻合術も行なわれた。術後経過は良好で、平成12年4月28日当院に再入院し、療養を再開した。全身状態はほぼ以前の状態に回復し、元気に過ごしている。平成12年6月12日の上部消化管内視鏡検査では十二指腸潰瘍穿孔

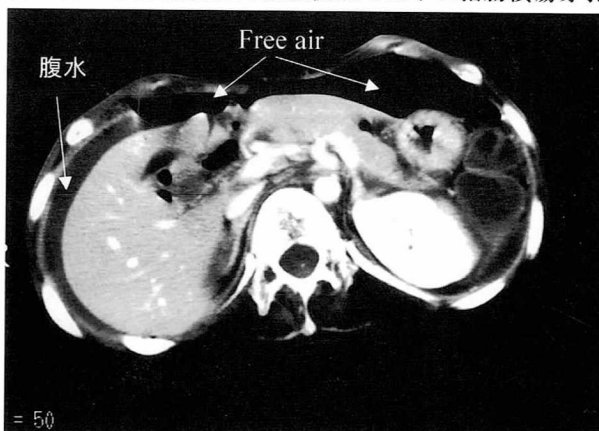


図1 腹部CT造影写真。腹水の貯留とfree airが認められる。

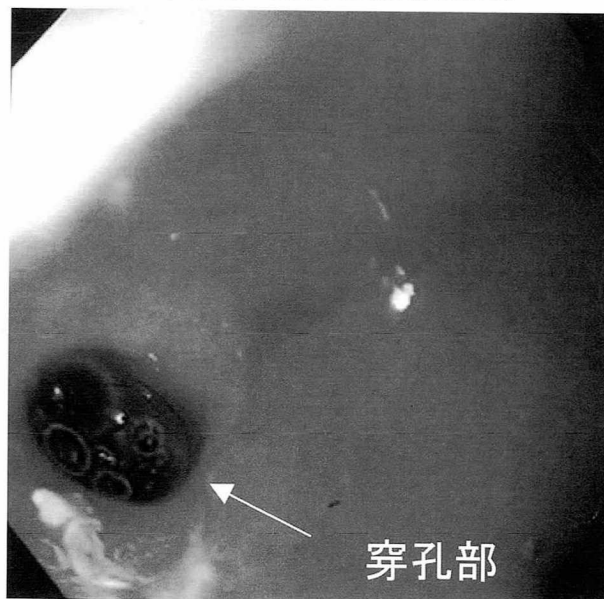


図2 上部消化管内視鏡所見。
十二指腸の穿孔を認める。

のあった箇所に軽度の癍痕を認めるのみであった。

考 察

筋ジストロフィー患者では様々な消化器系の合併症が認められる。便秘や下痢、鼓腸などはよくみられるが、上腸間膜動脈症候群²⁴⁾とされる急性胃拡張もしばしば生じることが知られている。そのほか腹痛の原因として、尿路結石、膀胱炎、尿路感染症、腎梗塞などが挙げられる。また今回、本例の原因あるいは鑑別として重要であった急性虫垂炎⁹⁾、胃・十二指腸潰瘍およびその穿孔といった急性腹症も忘れてはならない病態である。ただし、筋ジストロフィー患者では筋萎縮が著明なため、腹膜刺激症状が弱く、注意が必要である。

結 論

十二指腸潰瘍穿孔による高度の腹痛をきたしたDM Dの1例を報告した。筋ジストロフィーでは様々な原因による腹痛が生じる。中には急性胃拡張など重篤なものがあり注意が必要であるが、十二指腸潰瘍穿孔による腹膜炎も鑑別診断にあげる必要があり、外科との連携が大切である。

文 献

- 1) 姜 進：種々の合併症と対策。筋ジストロフィー在宅療養の手引き 改訂版厚生省精神・神経研究委託費筋ジストロフィーの療養と看護に関する臨床的、社会学的研究 在宅療養・看護分科会編 p118-126,1996.
- 2) 桑原武夫、吉野 英、西沢正豊：上腸間膜動脈症候群および無気肺を呈した筋ジストロフィー。神経内科, 28:540-542,1988.
- 3) 吉野 英、桑原武夫、山崎元義、ほか：Duchenne型筋ジストロフィーの合併症。—上腸間膜動脈症候群を合併した3例について—。神経内科, 32:373-378,1990.
- 4) 中川国利、桃野 哲、佐々木陽平、ほか：開腹術を施行した進行性筋ジストロフィーの2例。外科, 53:993-995,1991.

DMDにおける心機能とQT dispersion(QTd)との関係に関する研究

分担研究者 後藤勝政
 共同研究者 天田浩司, 安部隆子, 島崎理恵
 佐藤紀美子

国立療養所西別府病院

緒言

1980年代からQT間隔と不整脈、生命予後との関連が、遺伝性および後天性QT延長症候群、虚血性心疾患、健常者などで多数検討、報告されてきた。しかし、心室の再分極の異常をただ一つの誘導で評価することには限界が感じられた。1985年、Mirvisは急性心筋梗塞患者でのQT間隔の空間的ばらつきについて報告した¹⁾。以後、QT dispersion(QTd)は心電図12誘導間の最大QT間隔と最小QT間隔の差で定義されるようになり、心臓局所の再分極の不均一性を表し、不整脈基質を反映するものと考えられるようになった。その後もQTdは不整脈との関連が報告されており、突然死を予測する因子としても有用と考えられるようになってきた²⁾。しかし、QTdと心機能の関連について検討した報告は少ない。

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)では病態の進行に伴う心筋障害により拡張型心筋症様病態を呈し、心不全を生じる。そこで、今回、DMDにおけるQTdと心機能との関連について検討を行った。

方法

対象：当院に入院中のDMD患者23名。

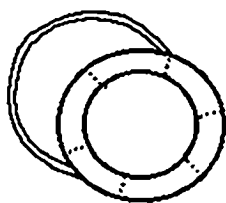
検査項目

12誘導心電図；50mm/sペーパー速度で記録し、その最大QT間隔と最小QT間隔の差(QTd)を計測した。

心エコー；①Mモード長軸 Pombo法にてEjection Fraction(EF)を計測した。②短軸 乳頭筋レベルにて左室を6等分し、壁運動を0～5までの点数で評価し、wall motion indexを算出した(図1)。

採血；BNP, ANP, CKを測定した。胸部X線；

図1



- 0:hyperkinetic
- 1:normal
- 2:hypokinetic
- 2.5: severe hypokinetic
- 3:akinetic
- 4:dyskinetic
- 5:aneurysmal

CTRを計測した。24時間ホルター心電図；総VPC数を計測し、Lown分類に分類した。筋ジストロフィーの機能的障害度を1～8のstageに分類した。

結果

1) 機能的障害度分類で、stage 6は1名、stage 7は12名、stage 8は10名であった。stage 7とstage 8では年齢($p < 0.05$)、CK値($p < 0.01$) EF($p < 0.01$) total wall motion index($p < 0.05$)において有意な差が認められた(表1)。

2) VPC数が1日100個未満の群と100個以上の群とに分けて検討すると、100個以上の群では100個未満の群に比し、有意にEFは低下し($P < 0.0001$)有意にQTdは増大した($p < 0.001$)。(図2)。

3) VPCをLown gradeに分類し、EFとQTdとの関連について検討を行った。Lown grade0に比し、EFはLown4A($p < 0.05$)、Lown4B($p < 0.01$)が有意に低下し、QTdはLown4B($p < 0.05$)が有意に増大していた(表2)。

4) ①ANPとEFとの関係 ②ANPとQTdとの関係をグラフにプロットした。①ANPの上昇に伴いEFは低下し($y = -0.082x + 45.4, r = -0.458, p < 0.05$)、②ANPの上昇に伴いQTdは増大した($y = 0.264x + 53.2, r = 0.651, p < 0.001$)。(図3)。

5) ①BNPとEFとの関係②BNPとQTdとの関係をグラフにプロットした。①BNPの上昇に伴いEFは低下し($y = -0.061x + 44.6, r = -0.049, p < 0.05$)、②BNPの上昇に伴いQTdは増大した($y = -0.182x + 56.6, r = 0.612, p < 0.01$)。(図4)。

6) EFとQTdとの関係をグラフにプロットした。EFとQTdとのあいだには有意な負の相関が認められた($y = -1.82x + 141, r = -0.76, p < 0.001$)。(図5)。

表1 機能的障害度分類に基づいた各種データの比較

	Age	CK (mg/dl)	HANP (pg/ml)	BNP (pg/ml)
stage 6 (n=1)	23	915	10	3.1
stage 7 (n=12)	17.0±4.0	1573±716	23.6±26	13.8±15.0
stage 8 (n=10)	20.8±3.2	579±449	72±103	88.0±143.1
total (n=23)	18.9±4.0	1112±766	44.4±73.2	45.6±99.7

	EF (%)	QTd (ms)	CTR (%)	TWMI
stage 6 (n=1)	51.7	85	49.2	7
stage 7 (n=12)	48.6±9.9	49.2±18.7	48.3±3.4	10.3±3.4
stage 8 (n=10)	32.7±9.6	82.0±32.3	51.0±7.8	13.5±0.8
total (n=23)	41.8±12.4	65.0±29.7	49.5±5.7	11.5±3.1

EF: Ejection Fraction, QTd: QT dispersion, TWMI: Total Wall Motion Index
 Value expressed mean±S.D. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

表2. Lown gradeとEF, QT dispersion (QTd)

Lown grade	EF(%)	QTd(ms)
0 (n=2)	58.6 ± 10	30.0
I (n=3)	54.2 ± 8.7	41.7 ± 16
III (n=4)	41.2 ± 8.9	68.7 ± 21
VIa (n=7)	36.6 ± 8.6 *	72.9 ± 26.3
VIb (n=3)	24.6 ± 2.9 **	110.0 ± 26.5 *

*p<0.05, **p<0.01 vs Lown grade 0

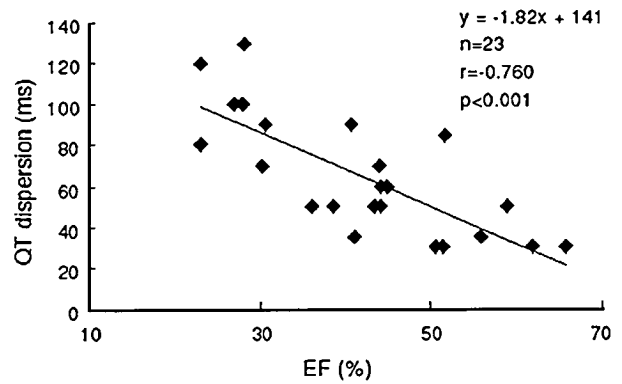


図5. EFとQT dispersion (QTd)の関係

考察

QTdと不整脈、突然死との関連について報告は多く、またDMDにおけるQTdと不整脈との関連についての報告も認められる³⁻⁴⁾。しかし、QTdと心不全との関連についてはいまだ一致した見解はない。今回の検討においてQTdは従来の報告通り不整脈との関連が認められた。さらにANP、BNP、EF等の心不全の指標との間にも相関が得られた。このことはDMDが進行性の(心)筋変性疾患であり、その結果として進行性に心機能の低下、心負荷の増加が起きているものと考えられる。すなわち、QTdの増大が心筋の変性の程度を表現しており、これが不整脈発生の基盤となり、さらには心機能低下の程度を表現しているものと推測される。

今後の課題として各DMD患者において、経時的にQTdおよび、その他の指標の変化を観察することが必要と考えられた。

結論

DMD患者においてQT dispersionは心機能の指標であるEF, ANP, BNPと有意な相関を示した。以上より、DMDにおいてQTdは心機能低下の指標として有用であることが示唆された。

参考文献

- 1) Mirvis DM : Spatial variation of the QT intervals in normal persons and patients with acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol. 5:625-631,1985.
- 2) Barr CS, Naas A, et al. : QT dispersion and sudden unexpected death in chronic heart failure. Lancet. 334:327-329,1994.
- 3) Buja G, Miorelli M, et al. : Comparison of QT dispersion in hypertrophic cardiomyopathy between patients with and without ventricular arrhythmias and sudden death. Am J Cardiol. 72:973-976,1993.
- 4) Ishikawa Y, Bach JR, et al. : Cardioprotection for Duchenne's muscular dystrophy. Am Heart J. 137:895-902,1999

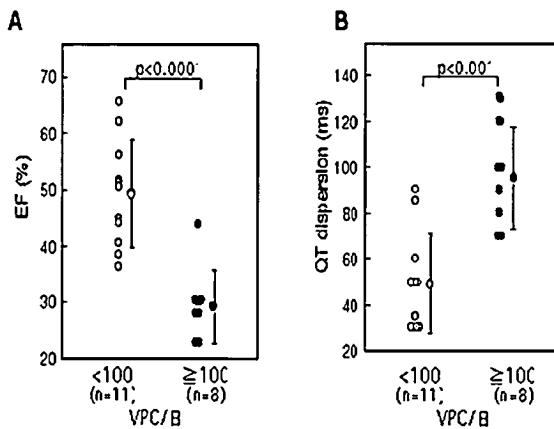


図2. A, VPCとEFの関係, B, VPCとQT dispersion (QTd) との関係

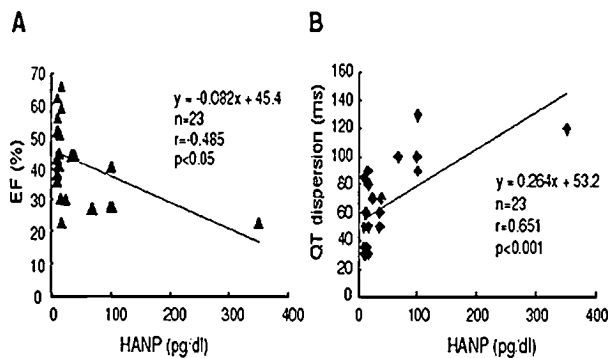


図3 A, HANPとEFの関係, B, HANPとQT dispersion (QTd)の関係

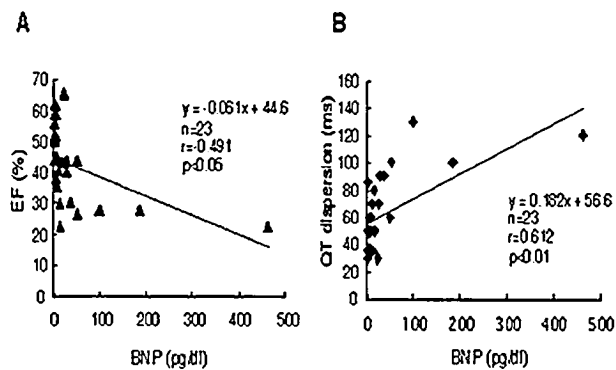


図4 A, BNPとEF の関係, B, BNPとQT dispersion (QTd)の関係

筋ジストロフィー患者における尿路結石

後藤勝政、島崎里恵、
佐藤紀美子、森 照明*

(国立療養所西別府病院 神経内科、
*脳神経外科)

はじめに

呼吸不全のため人工呼吸器使用が必要で、長期間臥床状態であるDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)患者において大きな尿路結石の存在が確認された。そこで筋ジストロフィーおよび類縁疾患の患者において尿路結石を生じやすいどのような病態があるのかを検討した。

症 例

まず、今回の研究のきっかけとなった症例を呈示する。症例は25歳のDMD患者である。9歳で歩行不能となり、平成1年10月から坐位保持不能となった。心不全による全身状態の悪化をきっかけに平成3年8月から体外式陰圧式人工呼吸器(CR)を使用するようになり、平成4年1月からはCRをほぼ終日使用するようになった。平成6年1月、CRから鼻マスクによる陽圧式人工呼吸(NIPPV)に変更したが、24時間連続して人工呼吸器を使用しており、一日中ベッドに臥床した状態である。以前よりときどき、腹痛、血尿が認められ、腹部レントゲンにて腎結石の存在を認めていたが、次第に大きくなり、両側の腎盂、腎杯をしめるようになった(図1)。



図1 腹部CT単純写真。両側に大きな腎結石が認められる。

対象および方法

DMD患者25名とその他の神経筋疾患で入院中の患者14名(筋強直性ジストロフィー3名、肢帯型筋ジストロフィー3名、筋萎縮性側索硬化症2名、脊髄小脳変性症2名、遠位型ミオパチー1名、神経原性筋萎縮症1名、多発性筋炎1名、糖原病1名)、平均年齢 28 ± 14 歳(すべて

男性)を対象とした。血液中のカルシウム(Ca)、リン(P)、マグネシウム(Mg)、尿酸(UA)、副甲状腺ホルモン(intact-PTH)、1,25-(OH)2ビタミンD、オステオカルシン、I型コラーゲンC末端テロペプチド(ICTP)、I型プロコラーゲンC末端プロペプチド(PICP)、および、尿量、尿中のカルシウム、リン、マグネシウム、尿酸、尿PH、尿中シュウ酸、尿中クエン酸、尿中デオキシピリジノリンを測定し検討した。また、31名の患者で腹部CTを撮影し、腎結石の有無を調べた。患者をほぼ一日臥床状態にあるもの(臥床群)、車椅子や電動車椅子で動き回っているもの(車椅子群)の2群に分けて検討した。統計学的検討にはt検定を用いた。

結 果

腹部CTにて検討した31名中3名(DMD2名、多発性筋炎1名)に腎結石が認められた。この3名はいずれも臥床群であった。年齢は臥床群で 28.6 ± 12.2 歳、車椅子群で 27.4 ± 15.7 歳で有意差はなかった。血清カルシウム、血清リンは臥床群、車椅子群間で差を認めず、値もほとんど正常範囲内であった。血清マグネシウムは多くは正常範囲内であったが、少数例で高値を示した。血清マグネシウムは臥床群が車椅子群より、有意に高い値であった。尿酸は正常値より高値の例が40%程度みられたが2群間で有意差はなかった(表1、図2)。

骨代謝の指標のうち、カルシウム代謝のマーカであるintact-PTH、1,25-(OH)2ビタミンD、主に骨形成を表すPICP、オステオカルシン、骨吸収を表すICTP、尿中デオキシピリジノリンにわけて検討した。Intact-PTHと1,25-(OH)2ビタミンDはほとんどの患者が正常範囲内であったが、腎結石の著明な症例で高値を示した(図3)。骨形成マーカであるPICP、オステオカルシン、骨吸収マーカであるICTP、尿中デオキシピリジノリンは、ともに若年で高く、年齢が上がるとともに低下を示した(図4、図5)。臥床群と車椅子群間で差は認めなかった(表1、表2)。骨吸収マーカは、特に成人の臥床群の患者において高値を示す傾向がみられた(図5)。

次に尿の結果を示す(表2)。一日の尿中カルシウム、リンの量は正常よりも低下している症例が多くみられた(図6)。マグネシウムはほとんどの患者で正常範囲内であったが、症例呈示した患者で非常に高いのが特徴的であった。臥床群において一日尿酸排泄量が低下している患者が半数近く認められた(図6)。リン、マグネシウム、尿酸は臥床群と車椅子群で有意差を認め、リン、尿酸は車椅子群で高く、マグネシウムは臥床群で高値であった。尿PHは高値の例が少数認められ、尿量は正常範囲以下の症例が約4分の1あった。尿中シュウ酸は多くが正常であったが、尿中クエン酸は低下した症例が多くあった(図7)。

表1 血清の指標の結果

	臥床群	車椅子群	p値	正常値
症例数	17	22		
血清カルシウム	9.0±0.4	8.9±0.3	0.61	7.8-10.2mg/dl
血清リン	3.7±0.4	3.9±0.8	0.33	2.4-4.4mg/dl
血清マグネシウム*	2.5±0.2	2.3±0.2	0.01	1.8-2.6mg/dl
血清尿酸	5.5±1.3	6.0±1.6	0.32	2.9-6.5mg/dl
intact-PTH	33.9±13.7	30.2±8.6	0.30	10-65pg/ml
1,25-(OH)2 ビタミンD	42.8±12.0	45.8±9.7	0.39	20-60pg/ml
オステオカルシン	7.8±4.0	9.3±5.4	0.34	2.5-13ng/ml
ICTP	7.2±3.7	9.1±6.6	0.27	<4.5ng/ml
PICP	122±46	154±75	0.12	<160ng/ml

*臥床群と車椅子群で有意差あり

表2 尿の指標の結果

	臥床群	車椅子群	p値	正常値
症例数	17	22		
尿量	1137±492	987±347	0.27	800-1600ml/day
尿PH	7.1±1.3	7.0±1.1	0.67	5.0-8.0
尿中カルシウム	88±57	81±67	0.74	100-250mg/day
尿中リン*	0.28±0.13	0.42±0.14	0.002	0.5-2.0g/day
尿中マグネシウム*	0.07±0.09	0.02±0.02	0.01	0.02-0.13g/day
尿中尿酸*	0.28±0.10	0.40±0.09	<0.001	0.3-1.0g/day
尿中クエン酸	228.6±325.7	119.3±145.5	0.16	118-1000mg/day
尿中シュウ酸	24.7±22.1	22.2±7.8	0.63	10.3-41.5mg/day
尿中デオキシピリジノリン	61.8±28.8	60.0±42.9	0.88	2.1-5.4nmol/mmol Cr

*臥床群と車椅子群で有意差あり

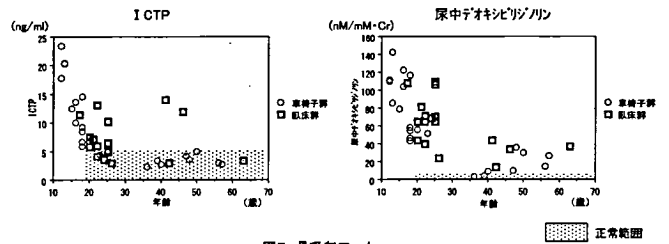


図5 骨吸収マーカー

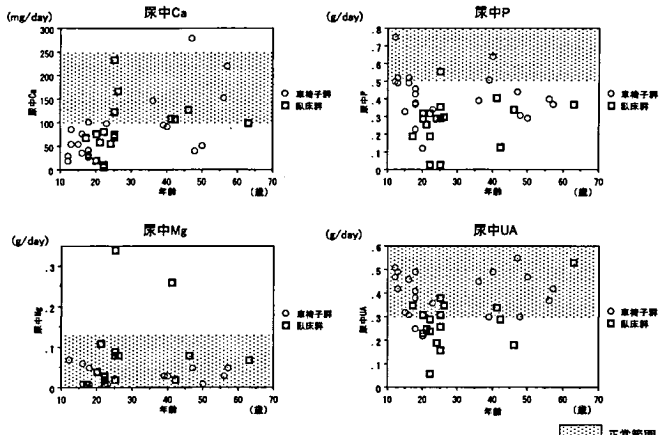


図6 尿の指標(1)

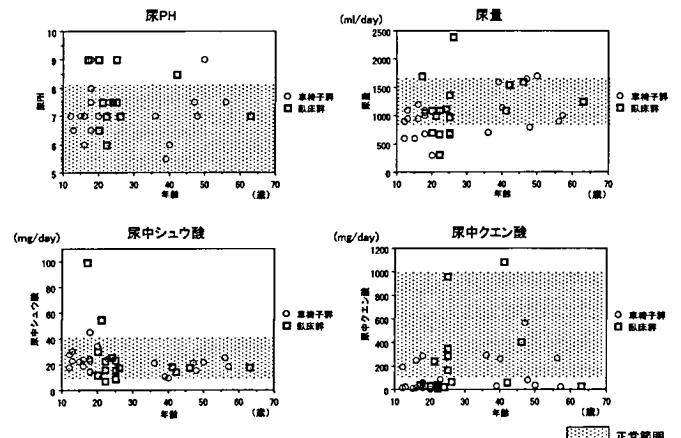


図7 尿の指標(2)

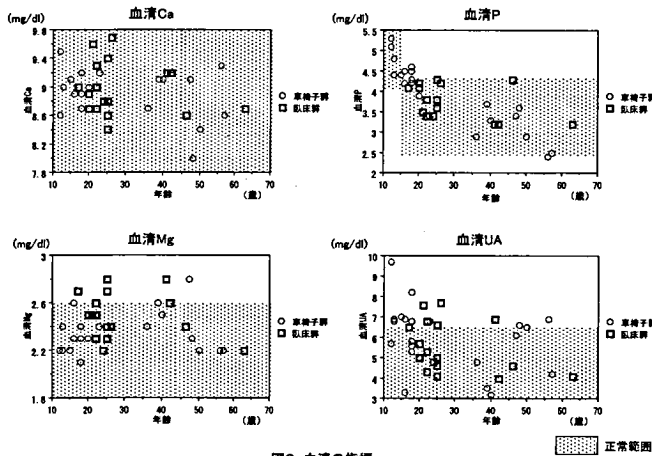


図2 血清の指標

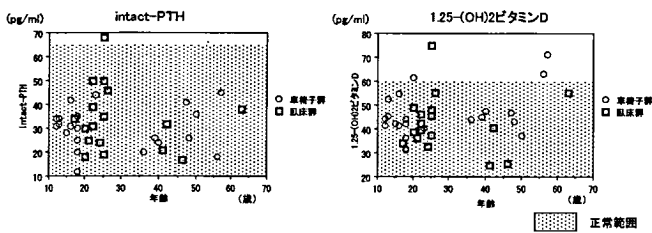


図3 Ca代謝マーカー

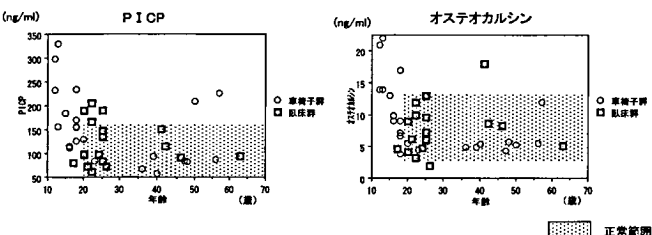


図4 骨形成マーカー

考察

尿路結石は一般人口の約20人に一人が生涯の間一度は罹患する危険のあるポピュラーな病気であるが、発症のピークは40歳台である¹⁾。尿路結石の成分ではシュウ酸カルシウムやヒドロキシアパタイトなどのカルシ

ウム結石が80%と最も多く、ついでリン酸マグネシウムアンモニウム、カーボネートアパタイトなどの感染結石が10%、尿酸および尿酸塩結石は5%、シスチン結石が1%といわれている¹⁾。

一般的な結石形成の要因としては尿流停滞、尿濃縮などがあげられ、臥床、運動不足なども関係し、尿濃縮は水分摂取不足、下痢などで生じるが、尿量が少ないと尿流の停滞にもつながる²⁾。今回の検討で筋ジストロフィー患者では尿量が少ない傾向が認められ、臥床状態や運動の制限されている患者がほとんどで、尿路結石の起こりやすい状態であることが示された。臥床群と車椅子群の比較では血清マグネシウム、尿中リン、尿中マグネシウム、尿中尿酸で有意差が認められたが、投与されているマグネシウム含有制酸剤、ループ利尿剤などの影響が大きいのではないかと思われる。もっとも頻度の高いカルシウム結石の主な成因として高カ

ルシウム尿症、高シュウ酸尿症などがあげられるが、その原因のひとつとして長期臥床や骨粗鬆症などによる骨からのカルシウム遊出によるものが知られている¹⁾。シュウ酸カルシウム結石患者の尿中シュウ酸排泄量については増量を認めないとする報告もあるが、有意に増量しているとする報告が多い²⁾。Cowleyら³⁾は反復性尿路カルシウム結石患者の腸管ではクエン酸、アスコルビン酸などのhydroxycarboxylic acidsの吸収障害のあることを指摘した。この吸収障害の結果、腸管内カルシウムはクエン酸と強く結合し、その結果遊離のシュウ酸の吸収が高まり、また吸収されなかったアスコルビン酸からのシュウ酸生成も高まり、シュウ酸の尿中排泄が増加すると説明されている。また反復する尿路カルシウム結石患者の尿中にはクエン酸排泄の減少がみられるとの報告が多くみられ、クエン酸は尿路中でもカルシウムと結合して難溶性のシュウ酸カルシウムの生成を防いでいるものと考えられている⁴⁾。われわれの検討でも尿中クエン酸は低下している症例が多かった。

今回の検討では尿中のカルシウムはむしろ低下している例が多く、尿中シュウ酸値も一部の症例を除いては正常範囲内であったが、患者の中には骨粗鬆症の治療目的で活性型ビタミンD薬あるいはカルシウム製剤を投与されているものもあり、高カルシウム血症をきたしやすい状態にあると考えられる。また、骨吸収マーカーである ICTPと尿中デオキシピリジノリンが高値の例が多く認められた。尿中デオキシピリジノリンは筋ジストロフィー患者における廃用性骨萎縮を鋭敏に反映するマーカーとして有用であるという報告がなされている⁵⁾。

筋ジストロフィーの患者における尿路結石の成因として、長期臥床による尿流停滞や尿濃縮などの影響、また、臥床による骨からのカルシウム遊出、およびビタミンD剤などの薬剤による影響が大きいものと考えられた。

結 論

筋ジストロフィー患者は尿路結石をきたしやすいさまざまな状況下にあると考えられる。

文 献

- 1) 吉田 修、竹内秀雄：尿路結石症。最新内科学大系 57, 尿細管・間質・尿路疾患。中山書店。p247-261, 1995.
- 2) 周山逸人、一色 玄：シュウ酸。広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査(上巻), 日本臨牀47巻・1989年増刊号, p489-492, 1989
- 3) Cowley DM, McWhinney BC, Brown JM, et al.: Chemical factors important to calcium

nephrolithiasis: evidence for impaired hydroxycarboxylic acid absorption causing hyperoxaluria. Clin Chem 33:243-247,1987.

- 4) 一色 玄、周山逸人：クエン酸。広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査(上巻), 日本臨牀47巻・1989年増刊号, p479-481, 1989.
- 5) 末原雅人、斉藤峰輝、斉藤明子、ほか：進行性筋ジストロフィーの廃用性骨萎縮に伴う易骨折性に対する予防的治療法の検討(第二報)。厚生省精神・神経疾患研究報告集(平成9年度)。p167, 1998.

VIII. 中毒性ミオパチー(薬物, 毒素によるミオパチー)

筋膜炎, 筋周囲炎, 細小血管炎*

後藤勝政¹
熊本俊秀²

1. 概念・定義

筋膜とは筋線維の周りを取り囲んでいる膜であるが, その筋膜に炎症(炎症細胞の浸潤)を起こしたものが筋膜炎である。筋周囲炎とは, 炎症反応が, 筋線維やendomysiumにはほとんどみられず, perimysiumあるいはepimysiumに強く現れるものを指す。細小血管とは動静脈の区別のつかない小さな血管を指す。細小血管に血管炎を来すものとしては, 皮膚血管炎(過敏性血管炎), ANCA関連血管炎(Wegener肉芽腫症, アレルギー性肉芽腫性血管炎, 顕微鏡的多発血管炎), Schönlein-Henoch紫斑病などがある。これらのうち皮膚血管炎(過敏性血管炎)はサルファ剤など様々な薬剤で起こることが知られているが, 一般に病変は皮膚に限局し, ミオパチーを起こすことはないので, 本稿では除外する。

2. 分類

薬物あるいは毒素によるミオパチーで筋膜炎, 筋周囲炎, 細小血管炎を来すものとしては, 1989年米国で発生したL-トリプトファン摂取による好酸球増加筋痛症候群と1981年スペインで発生したtoxic oil syndromeがよく知られている¹⁾。

a. L-トリプトファン摂取による好酸球増加筋痛症候群

1989年の後半に主として米国で, 好酸球増

加筋痛症候群(eosinophilia-myalgia syndrome: EMS)と呼ばれる末梢血の好酸球増加, 筋肉痛, 筋力低下の症状をもつ患者が多数発生した^{2,3)}。

米国Center for Disease Control and Prevention (CDC)は直ちに疫学調査を行い, その結果L-トリプトファンを含有するいわゆる健康食品の摂取とEMSとの強い関連が示された⁴⁾。

L-トリプトファンは必須アミノ酸の一種であり, セロトニンの前駆物質である。米国では以前より不眠, うつ状態, 月経前症状の治療薬として市販されていた。近年, 健康補助食品としても販売されるようになり, 特に米国ではそれを常用する人が急激に増加していた。アメリカ食品医薬品局(Food and Drug Administration: FDA)は1989年11月にL-トリプトファン含有量100mg以上の栄養補助剤を国内市場から回収させた。更に1990年3月, 回収の対象を, 治療用の特別食や乳児用の栄養剤などを除く, すべてのトリプトファン製品に広げた。その結果, 新たに発症する患者はほとんど報告されなくなった。

1989年, 米国CDCの発表した定義によるとEMSは, ①1,000/mm³以上の好酸球数, ②日常生活に耐えられない程度の筋肉痛, ③感染症, 癌など他の疾患ではないこと, の3項目を満たすものとされている⁵⁾。EMSは女性に多く, 圧倒的に非ヒスパニック系白人に多い。年齢は30代後半から50代前半までが半数以上を占めている⁶⁾。これはトリプトファンを日常摂って

Key words : 筋膜炎, 筋周囲炎, 細小血管炎, 好酸球増加筋痛症候群, toxic oil syndrome *Fasciitis, perimyositis, microangiopathy ¹Katsumasa GOTO: 国立療養所西別府病院神経内科 Division of Neurology, Nishibeppu National Hospital ²Toshihide KUMAMOTO: 大分医科大学医学部第3内科 Third Department of Internal Medicine, Oita Medical University

いた人数が女性に偏って多かったことによるのではないかと考えられる。EMS発症に至る摂取量は、極端に低い1例(1日摂取量, 0.028g)を除き, 1日摂取量は0.15-17gであり, 平均は2.6gであった。通常, 数週間で発症しているが, 1日量約1gで1-2週間の摂取でも起こっている⁵⁾。

1) 病 因^{5,7)}

EMSは, 疫学的な調査から, L-トリプトファンが発症に深く関係していることが推定されたが, L-トリプトファン製品は1974年からアメリカでは既に発売されているにもかかわらず, 患者は1989年後半から発生していることより, L-トリプトファンそのものよりも, その製品による可能性が推定されていた。CDCの疫学調査により, 患者が摂取していた食品(または商品)の原料のL-トリプトファンは, 日本の昭和電工が1989年の1月から5月に製造したL-トリプトファンであることが判明した。昭和電工ではL-トリプトファンを*Bacillus amylo-liquefaciens* 菌の発酵により製造していたが, 1988年12月より菌株をstrain Vに変更し, また, L-トリプトファンの純化のための活性炭を半分に減量していた。

この製造法によって作られたL-トリプトファン製剤には従来の製品にはみられなかったpeak Eと呼ばれる分画が高速液体クロマトグラフィーによる分析で検出された⁸⁾。このpeak EはL-トリプトファン2分子が結合した1,1'-ethylidenebis tryptophan (EBT)であることが判明した⁹⁾。このpeak Eの分画をもつL-トリプトファンをLewis ratに投与すると, 筋膜炎, 筋周囲炎が誘発されたが, 他社のL-トリプトファンでは全く誘発されなかった¹⁰⁾。しかし, 末梢血の好酸球増加は認められなかったことなどから, EBT以外の不純物3-phenylamino alanine (PAA)も原因物質とされている。

これらの不純物がEMSを起こすメカニズムは様々な角度から検討されているが, 完全には解明されていない。原因となったトリプトファン特有の不純物によるアミノ酸代謝の攪乱, サーカディアンリズムの破綻, 自己免疫抗体の産

生, 各種サイトカイン類の関与による好酸球遊走能の亢進が起こり, 血管内皮細胞, 線維芽細胞が刺激されることなどが推定されている⁵⁾。

2) 病態(症候論と検査成績)⁵⁻⁷⁾

発症は亜急性で, 末梢血の好酸球増加を伴い, 倦怠感と筋肉痛がいつとはなしに起こり, 数週間にわたって進行する。患者は女性に多く, 男女比は約1:5である。皮膚, 皮下脂肪, 筋膜, 筋肉, 神経が最も障害され, 筋膜炎, 筋炎, 末梢神経障害を生じる。主な症状は, 倦怠感, 軽度の発熱, 一過性の丘疹状の紅斑, 筋肉痛, 圧痛, こむら返り, 筋力低下, 関節痛, 四肢の感覚異常, 皮膚の硬化であり, その結果として関節拘縮を生じることがあるが, 下肢により強くみられる。その他, 呼吸困難, 肺炎, 肝腫大, 不整脈などもみられる。更に記憶力低下や集中力の低下など認知機能障害を来すことがある。多くはL-トリプトファン中止により症状は改善するが, ときには中止後も進行することがある。重症例では末梢神経および筋障害による呼吸筋麻痺, 肺炎, 心筋炎や不整脈などで死亡する。

検査所見は急性期には, 末梢血の好酸球増加, 白血球増加, 骨髄における好酸球前駆細胞の過形成が認められる。血清アルドラーゼは上昇するが, 血清のCK値は正常か, あるいは軽度上昇にとどまる。そのほかトランスアミナーゼ高値, 赤沈亢進, IgE値上昇などがみられる。胸部単純X線写真で肺浸潤や胸水が約15%にみられる。

皮膚, 筋膜, 骨格筋, 末梢神経の生検では, 結合組織における炎症性的変化と小血管炎が認められる。血管周囲に結節状に炎症細胞の浸潤がみられるが, それらは形質細胞, リンパ球, 組織球, 肥満細胞からなり, 好酸球はごくわずかか, ほとんど存在しない。発症早期や未治療例では好酸球浸潤がみられる。血管内皮細胞の腫大が著しく, そのため血管内腔は狭小化, あるいは閉塞する。大きな血管よりも小静脈, 小動脈, 毛細血管で病変が顕著である。炎症所見は真皮から皮下の結合織, 筋膜, epimysium, perimysium にかけて不連続性に広がっている。

病気の中期から慢性期には皮下脂肪と筋膜の隔壁だけでなく、真皮のすべてのレベルで膠原線維束の肥厚がみられる。筋肉組織では筋内膜炎や中心核の増加は軽度で、筋線維の壊死はまれである。脱神経性筋萎縮や再生線維の散在がみられる。末梢神経組織では神経外膜と血管周囲の著明な単核細胞の細胞浸潤が認められ、一部の有髄線維で軸索変性および脱髄がみられる。

3) 診断と鑑別診断

EMSの診断はL-トリプトファンの常用があり、末梢血の好酸球増加がみられ、紅斑、強皮症、浮腫などの皮膚症状があり、生検で筋膜、筋周囲の結合組織、細小血管に炎症性病変が認められ、ほかの原因が否定されたときに確定する。Toxic oil syndromeでは呼吸器症状が初発となり、骨格筋、末梢神経障害は後で生じる。

鑑別診断としては、限局性強皮症、水腫性硬化症、強皮粘液水腫、好酸球性筋膜炎などがあげられる。ただ、病理所見のみではこれらの鑑別は困難である。強皮症はレイノー現象の有無などから鑑別できる。Hypereosinophilic syndromeの一型としての好酸球性筋炎では、血清IgEが増加し、多数の好酸球浸潤と筋線維壊死が認められるが、血管炎や筋膜・強皮症様変化はない。

4) 治療と予後

CDCのまとめによれば、1992年9月時点の米国での発症者は52の州から1,511例で、うち38例が死亡している。実際の発症者はこれより多いといわれている。注目すべきは服用を中止してからの発症もあり、また、発症後中止しても症状の改善は必ずしも認められない例があることである。Campbellらの長期追跡研究¹¹⁾では34人の患者のうち、平均3.6年後に3人が死亡し、2人が回復、7人が好転したが、22人は1年前と比べて筋肉や神経の症状は変わっていない。むしろこむら返りや関節痛の有病率は増加し、細小血管内皮の変化が持続症状として認められた。

プレドニゾンやほかの免疫抑制剤は皮膚症状や好酸球の減少には有効であるが、ほかの症状には効果はあまり認められない。末梢神経障

害が上行性に進行し、呼吸筋障害のために死亡することもある。一般に末梢神経障害は治療に抵抗性である。

b. Toxic oil syndrome

1981年5月と6月にスペインで肺炎が爆発的に流行し、注目を集めた。咳、呼吸困難、胸膜炎、両側性の肺浸潤影が急速に進行した。1年間に違法に販売された食用の油を摂取した約20,000人が発症し、そのうち330人以上が死亡した。男性に比べ、女性が約2:1の割合が多い。多くの例で症状は油を摂取して数日から数週間して発生している。最初の症状で改善したものもあるが、遷延性の経過をとったものも多い。

1) 病 因⁷⁾

Toxic oil syndromeの原因は、違法に販売された食用の菜種油の摂取による。この油は工業用にアニリンで変性されたものであった。原因物質は3-phenylamino-1,2-propanediolと考えられており、これはトリプトファンの不純物の一つであるPAAと構造式が類似している。発症には自己免疫が関係すると考えられ、T細胞の活性化やサイトカインの関与が示唆されている¹²⁾。

2) 病態(症候論と検査成績)^{7,13)}

発症はふつう急性の呼吸症状で始まる。初発症状は咳、呼吸困難、胸膜炎、発熱、頭痛、両側性の肺浸潤である。肺炎の発症後間もなく、末梢血の好酸球増加、丘疹状紅斑を伴ったそう痒症、筋肉痛、嘔気、嘔吐、下痢、腹痛といった消化器症状が出現した。慢性化した場合には、強い筋肉痛、好酸球増加、四肢のしびれ、皮膚の強皮症様硬化などを来した。死亡の原因の多くは呼吸筋の筋力低下と続発性の感染による。

主要な検査所見は、末梢血の白血球増加、好酸球増加、血清アルドラーゼ上昇で、CK値は正常である。中等度の赤沈亢進、軽度の肝機能障害もしばしば認められる。抗核抗体が80%以上で陽性であったという報告もある。

根本的な病理学的変化は主に小血管の内膜に生じる血管炎と結合組織における炎症反応である。骨格筋の障害は3-4週目に最も著明となる。

骨格筋病変は epimysium, perimysium および筋肉内神経鞘にみられる著しい炎症細胞浸潤からなり、静脈と毛細血管壁にも認められる。Endomysium への炎症細胞浸潤はほとんどなく、壊死線維や再生線維はみられない。後期(進行期)には endomysium の線維化を伴った脱神経萎縮が認められる¹⁴⁾。末梢神経でみられる障害も炎症性変化であり、毛細血管へのリンパ球浸潤が主に神経鞘にみられ、これは後に神経鞘の線維化を生じ、有髄神経の軸索変性を引き起こす。

3) 治療と予後

多くの患者で症状、徴候は1年後、軽快しているが、後遺症が残る場合も多い。ステロイドがある程度有効である。Kaufman らによる12年の追跡調査¹⁵⁾では91人の患者のうち、48%に筋のクランプや倦怠感、関節痛、認知障害などが認められている。しかし、高度の骨格筋障害、強皮症様皮膚病変、肺高血圧はみられなかった。

文 献

- 1) Victor M, et al: Myopathies due to drugs, toxins, and nutritional deficiency. In: Myology, 2nd ed (ed by Engel AG, Franzini-Armstrong C), p1697-1725, McGraw-Hill, New York, 1994.
- 2) Hertzman PA, et al: Association of the eosinophilia-myalgia syndrome with the ingestion of tryptophan. N Engl J Med 322: 869-873, 1990.
- 3) Silver RM, et al: Scleroderma, fasciitis, and eosinophilia associated with the ingestion of tryptophan. N Engl J Med 322: 874-881, 1990.
- 4) Swygert LA, et al: Eosinophilia-myalgia syndrome. Results of national surveillance. JAMA 264: 1698-1703, 1990.
- 5) 内山 充: L-トリプトファン摂取によるEMS(好酸球増多筋痛症候群)事例の概要と我が国における研究経過について. 食品衛生学雑誌 40: 335-355, 1999.
- 6) 田中正美: L-トリプトファンによる好酸球増多・筋痛症候群. 神経内科 35: 162-170, 1991.
- 7) Banker BQ: Other inflammatory myopathies. In: Myology, 2nd ed (ed by Engel AG, Franzini-Armstrong C), p1461-1486, McGraw-Hill, New York, 1994.
- 8) Belongia EA, et al: An investigation of the cause of the eosinophilia-myalgia syndrome associated with tryptophan use. N Engl J Med 322: 357-365, 1990.
- 9) Mayeno AN, et al: Characterization of "peak E", a novel amino acid associated with eosinophilia-myalgia syndrome. Science 250: 1707-1708, 1990.
- 10) Crofford LJ, et al: L-tryptophan implicated in human eosinophilia-myalgia syndrome causes fasciitis and perimyositis in the Lewis rat. J Clin Invest 86: 1757-1763, 1990.
- 11) Campbell DS, et al: Eosinophilia-myalgia syndrome: a long-term follow-up study. South Med J 88: 953-958, 1995.
- 12) del Poso V, et al: Cytokine mRNA expression in lung tissue from toxic oil syndrome patients: a TH2 immunological mechanism. Toxicology 118: 61-70, 1997.
- 13) Kilbourne EM, et al: Clinical epidemiology of toxic-oil syndrome: Manifestations of a new illness. N Engl J Med 309: 1408-1414, 1983.
- 14) Ricoy JR, et al: Neuropathological studies on the toxic syndrome related to adulterated rapeseed oil in Spain. Brain 106: 817-835, 1983.
- 15) Kaufman LD, et al: 12-year followup study of epidemic Spanish toxic oil syndrome. J Rheumatol 22: 282-288, 1995.

Duchenne 型筋ジストロフィーの 心機能障害の指標

田村拓久*1、後藤公文*1、松尾秀徳*1、澁谷統壽*1、
谷田部可奈*2、重山俊喜*2、川村 潤*2、
石原傳幸*3

国立療養所川棚病院*1、
国立療養所東埼玉病院*2、
国立療養所箱根病院*3

【はじめに】

近年、Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)では呼吸不全の適切な管理により延命が可能となり、心不全による死亡が増加している。しかし、DMDでは胸郭変形により心胸郭比の測定や心エコー検査が困難なこともあり、心機能判定には注意が必要である。

一般的に心不全の病態把握、重症度や予後の診断に血漿の心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)や脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)が用いられている。筋ジストロフィーでも心機能とナトリウム利尿ペプチドの関係を検討しているが¹⁾³⁾、ナトリウム利尿ペプチドのみによる心機能診断の報告はない。

そこで、DMDの心機能障害を早期に簡便に発見することを目的として従来の心不全の指標とナトリウム利尿ペプチドの関連を検証した。

【対象】

36例の男性DMDで、年齢は21.2±4.4歳。内15例が死亡しており、死亡年齢は19.3±4.0歳、死亡原因は、心不全12例、心肺不全1例、突然死2例であった。

心不全治療の内容は、強心剤使用が15例、利尿剤14例、ACE阻害剤6例であった。一方、心不全治療を行っていなかった症例は、16例であった。また、呼吸不全の合併による人工呼吸器治療は、TIPPV9例、NIPPV5例、体外式陰圧人工呼吸が2例存在した。

【方法】

心エコー法の傍胸骨長軸断層像を用いPombo法による駆出率(EF)、拡張終期径および心筋重量を測定した。さらに、パルスドップラー法により拡張早期僧帽弁尖部で僧帽弁E波からの減速時間(DT)を測定し、カラードップラー法で僧帽弁閉鎖不全の有無を調べた。胸部X線では心胸郭比(CTR)を計測した。ANPとBNPは常用対数で変換し、これらの指標との関係を解析した。

また、心不全症状出現までのCTRの推移を調べ、CTRによりBNPとEFを予測した。

二連続変数間の統計は、Statview (vesion 5)のsimple

regression testを用いた。

【結果】

①心エコーによる左室指標とナトリウム利尿ペプチドの関係

29例が対象で、年齢は21.5±4.5歳。また、18例が何らかの心不全治療を行っており、強心剤13例、利尿剤13例、ACE阻害剤が5例に使用されていた。人工呼吸器は、14例が使用していた。僧帽弁閉鎖不全は10例に認めた。

常用対数で変換したBNP値(log10BNP)とEFは、 $\log_{10}BNP=2.95-0.04 \cdot EF$ ($r=-0.777$, $p<0.0001$)の関係があり、また、log10BNPは左室拡張終期径と $r=0.759$ ($p<0.0001$)、左室心筋量と $r=0.511$ ($p=0.0254$)の相関を認めた(図1)。log10ANPとEFは、 $r=-0.670$ ($p<0.0001$)の関係があった。一方、EFとBNP/ANPは、 $r=-0.547$ ($p=0.0021$)と負の関係を認めた(図2)。log10BNPとBNP/ANP比は $r=0.627$ ($p=0.0003$)と正相関し(図3)、BNPが20pg/ml以上でBNP/ANP比が1以上の症例は全てEF40%未満であった。EF40%未満でBNP正常例が4例存在したが、3例はBNP/ANP比が1以上であり、残る1例はDTが580 msecで僧帽弁閉鎖不全を認めた。また、BNP/ANP比が1未満でBNPが20 pg/ml以上を示した1例は、EF40%以上であったがDTは110 msecであった。

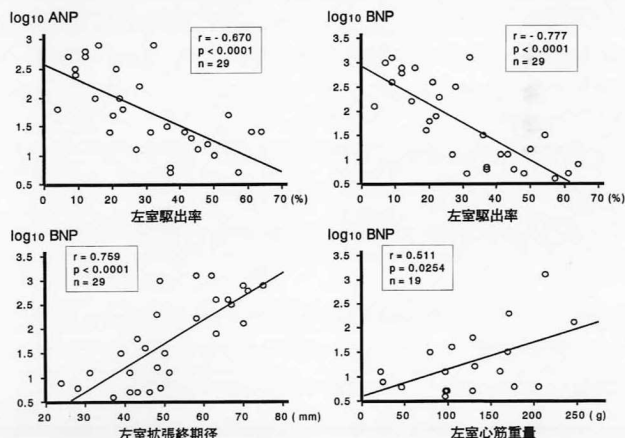


図1 神経体液性因子・左室指標

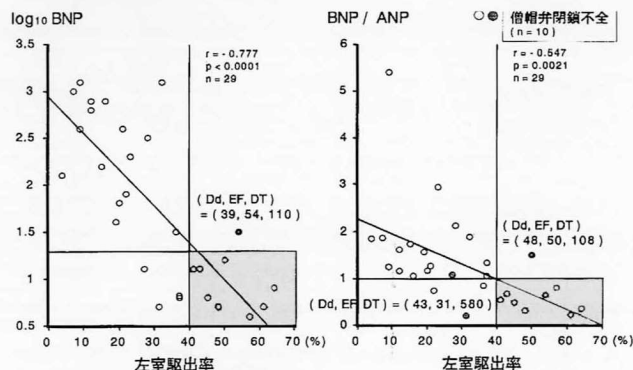


図2 神経体液性因子・左室駆出率

②心不全患者のCTRの推移

心不全症状が出現した17例が対象で、症状出現年齢は19.8±4.5歳。症状の内容は、倦怠感1例、呼吸困難等の胸部症状11例、食欲不振等の腹部症状3例、浮腫2例であった。心不全治療の内容は、強心剤5例、利尿剤3例、ACE阻害剤が2例に使用されていた。

症状出現後0-42日(平均9.7±12.9日)のCTRの平均は、60.8±3.6%(n=15)であった。同様に、症状出現前160.8±25.2日のCTRは57.0±4.2%(n=9)、前267.5±22.8日は54.7±2.6%(n=4)、前359.8±28.8日は51.9±2.8%(n=6)であった(図4)。

③CTRとBNPの関係

22例が対象で、心不全および呼吸不全治療後の状態を含めた52回のCTRと同時期のBNPより、CTR=8.95・log10BNP+38.8(r=0.872, p<0.0001)の関係を認めた(図5)。

④CTR、BNPとEFの関係

前述の関係式より、BNPが20pg/mlの時のCTRは50.5%でEFが42%、心不全症状が出現したCTRが60.8%の時点では、BNPは287pg/ml、EFが13%であった(図6)。

【考察】

ナトリウム利尿ペプチドが心機能を反映することは知られており、特にBNPは左室収縮機能のみならず拡張機能とも関係がある。しかし、BNPは循環動態が安定している患者では正常値を示すこともあり、今回の検討でも4例がEF40%未満であるにもかかわらずBNP値は正常であった。一方、BNP/ANP比は呼吸困難が心疾患由来か呼吸器疾患由来の鑑別⁹⁾や肺高血圧の有無の検索¹⁰⁾に役立つ。そこで、EF低下かつBNP正常例をEF、BNPともに正常例と鑑別するためにBNP値とBNP/ANP比を用いたところ3例の心機能障害を正確に判定できた。残る1例は僧帽弁閉鎖不全を有し聴診にて鑑別可能と考えた。ANPとBNPを用いることでDMDの検査現在の心機能を推測できる。

さらに、如何なる経過で心不全が出現するか心不全症状が出現した症例のCTRを用いて調査した。その結果、心不全出現の12ヶ月前のCTRは51.9%、8.9ヶ月前でも54.7%であり、胸郭変形や体位の要因を考慮しても、心拡大は存在しても軽度と解釈できる。CTRの正常値である50%は、立位PA viewで測定した値であり、立位が不可能な場合は座位または臥位で測定するため、撮影方向はAP viewとなる。この場合のCTRの正常値は、胸郭内の心臓の位置により50%以上となる可能性はある。従って、前記のCTR値はDMDの場合は正常範囲と解釈される場合も考えられる。ところが、その約3ヶ月後である心不全症状出現の5.4ヶ月前には、CTRが57.0%と明らかに心拡大が存在している。日常診療での胸部X線の撮影頻度は、自覚症状に変化が

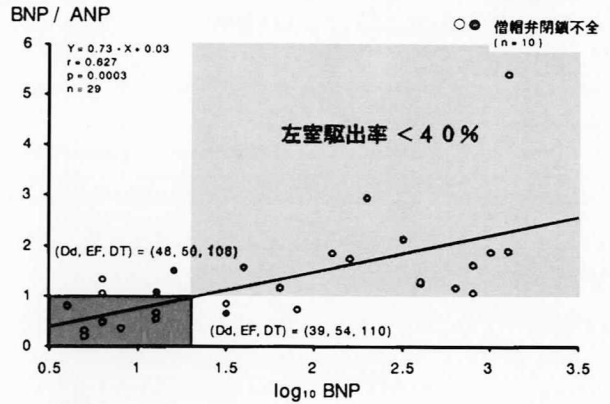


図3 神経体液性因子

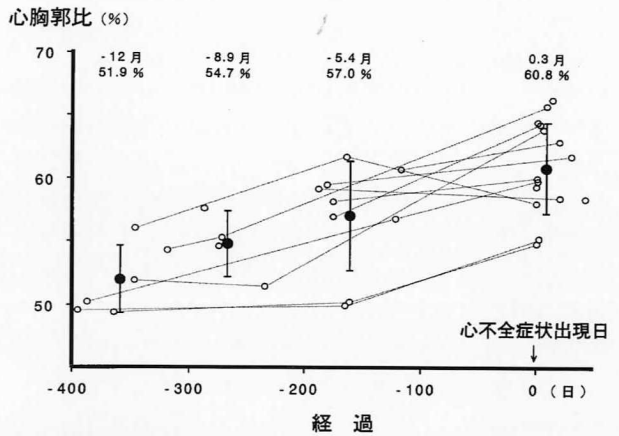


図4 心胸郭比の経過

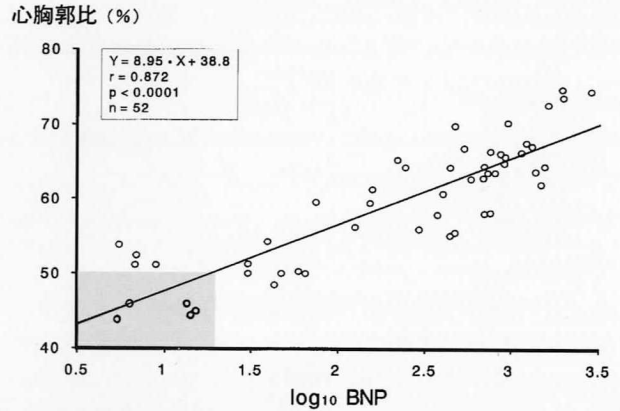


図5 心胸郭比・BNP

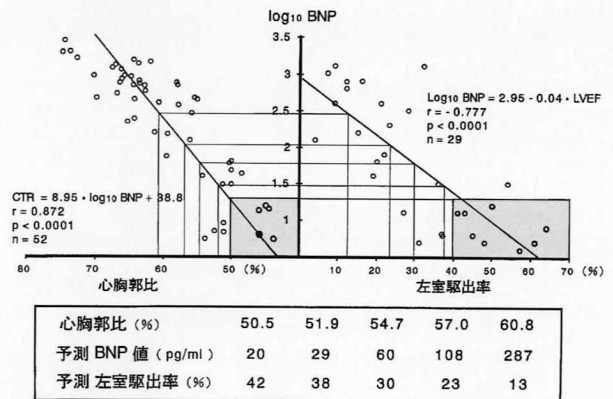


図6 心機能の予測

ない場合6ヶ月毎であることが多い。つまり、自覚症状がない場合には、心不全診断が遅れる可能性がある。

一方、治療の有無にかかわらず、CTRとBNPは正相関し、加えてBNPとEFも正相関したことより、CTRとBNPおよびBNPとEFの関係式を用い、CTRでEFやBNPの値を予測した。その結果、CTRが51.9%の時のEFは38%で心機能の低下が疑われた。また、この時のBNPは29pg/mlと計算され、異常値であることが分かる。また、CTRが50.5%とほぼ正常の場合でも、EFは42%であり、この時のBNPは20pg/mlと正常上限であった。従って、少なくともBNPが異常高値を呈した場合には、早期に心エコーにより心筋運動等を直接かつ詳細に観察する必要がある。

以上の結果より、DMDの場合、胸部X線のみで心機能診断を行うのは心機能障害の診断が遅れる可能性がある。従って、より簡便に心機能診断を行う場合、先ずナトリウム利尿ペプチドを測定することが極めて有用であることが明らかとなった。

今後、CTRや心エコーによる心機能判定が困難な症例でも、ナトリウム利尿ペプチド特にBNPとBNP/ANP比を用いることでDMDの心機能障害をより簡便、早期かつ正確に判定可能であると考ええる。

【文 献】

- 1) 南 良二ら：Duchenne型筋ジストロフィー症におけるヒト心房性ナトリウム利尿ペプチドの血漿濃度について。筋ジストロフィー症の遺伝、臨床、病態および治療開発に関する研究 昭和63年度研究報告書 190-195, 1989.
- 2) 松岡幸彦ら：Duchenne型筋ジストロフィーにおける血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド (brain natriuretic peptide : BNP) により心機能評価。筋ジストロフィーの臨床・疫学及び遺伝相談に関する研究 平成7年度研究報告書 249-251, 1996.
- 3) 柏木節子ら：Duchenne型筋ジストロフィーにおける心機能の血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド濃度による評価。臨床神経 36 : 7-11, 1996.
- 4) Davis M, et al. : Plasma brain natriuretic peptide in assessment of acute dyspnea. Lancet 343 : 440-44, 1994.
- 5) Nagaya N, et al. : Secretion patterns of brain natriuretic peptide and atrial natriuretic peptide in patients with or without pulmonary hypertension complicating atrial septal defect. Am Heart J 136(2) : 297-301, 1998.

筋ジストロフィー患者への クレアチン投与の試み

分担研究者 田村拓久

共同研究者 福留隆泰、渋谷統壽

国立療養所川棚病院

緒言

クレアチンは筋細胞内でエネルギーバッファーとして働いており、①ATPの分解を妨げる②蛋白質合成を促す③蛋白質崩壊を防げる④細胞膜を安定化させる、といった作用が報告されている。このことからスポーツ医学では筋力増強作用、疲労予防作用、筋肉増大作用があることが知られており、筋ジストロフィー患者でも同様の作用が期待される。本研究では入院中の筋ジストロフィー患者にクレアチンを投与して、筋力増強の有無および副作用発現について検討した。

方法

入院中のデュシャンヌ型筋ジストロフィー3名(DMD1: 16歳,機能障害度VII,クレアチニン係数6.7, DMD2: 19歳,機能障害度VIII,クレアチニン係数1.6, DMD3: 23歳,機能障害度VII,クレアチニン係数4.6)と福山型筋ジストロフィー2名(FCMD1: 19歳,機能障害度VIII,クレアチニン係数2.1, FCMD2: 18歳,機能障害度VIII,クレアチニン係数2.0)を対象にクレアチンを投与した。DMDの3症例では呼吸器リハビリを併用した。クレアチンは一日20gを一週間投与し、その後は一日5gに減量して、合計12週間投与した。

投与前後で①身長・体重②FIMスコア③ピンチ力④呼吸機能⑤血液・尿生化学検査の測定を行った。

結果

投与前後での変化を ⇒ で表す。

①身長・体重

DMD1: 41.1kg⇒42.3kg, DMD2: 29.6kg⇒27.7kg, DMD3: 41.7kg⇒41.2kg, FCMD1: 34.9kg⇒33.3kg, FCMD2: 36.6kg⇒36.2kgで、全体の平均値に有意差はなかった。

②FIMスコア

投与前後で変化なし(DMD1: 72点, DMD2: 67点, DMD3: 68点, FCMD1: 55点, FCMD2: 61点)。

③ピンチ力

DMD1: 2.4kg⇒2.2kg, DMD2: 1.1kg⇒1.0kg, DMD3: 1.1kg⇒1.0kg, FCMD1: 0.2kg⇒0.4kg, FCMD2: 1.3kg⇒1.3kgで、全体の平均値に有意差はなかった。

④呼吸機能

DMD1: 35.3%⇒37.3%, DMD2: 22.9%⇒25.4%, DMD3: 21.6%⇒25.1%, FCMD1: 20.7%⇒20.2%, FCMD2: 43.9%⇒41.3%で、全体の平均値に有意差はなかった。しかし、DMDの3症例に限った場合は有意($P<0.05$ by student's t test)に増加していた。

⑤血液・尿生化学検査

投与後のCPK減少は3例(DMD1, DMD2, FCMD2)に認め、LDH減少は2例(DMD2, DMD3)に認めたが、全体の平均値に有意差はなかった。

GOT, GPTおよび γ GTPの増加を1例(DMD1)に認めた(GOT: 51IU/L⇒77, GPT: 122IU/L⇒262, γ GTP: 42IU/L⇒45)。この例ではクレアチン投与を中止したところ、すみやかに肝機能は改善し腹部CT上も脂肪肝などの異常所見を認めなかった。

尿中の24時間クレアチン排泄量は全例で増加(DMD1: 1018.5 mg/day⇒3625.0, DMD2: 290.5 mg/day⇒1428.8, DMD3: 894.3 mg/day⇒1450.0, FCMD1: 494.1 mg/day⇒4786.6, FCMD2: 385.8 mg/day⇒3872.4)していたが、DMD2例とFCMD例で著明であった。

尿中の24時間クレアチニン排泄量はDMD1: 282.2 mg/day⇒268.0, DMD2: 45.5 mg/day⇒248.4, DMD3: 188.5 mg/day⇒136.4, FCMD1: 70.6 mg/day⇒137.9, FCMD2: 72.5 mg/day⇒112.0と変化したが、投与前のクレアチニン係数が小さい例(機能障害度VIII)で増加していた。

考察

Walterらは36例の筋ジストロフィー患者(機能障害度I~IV)にクレアチンを8週間投与して四肢筋力の増強を報告している。また彼らは呼吸機能に変化なしと報告しており、われわれの結果と異なっている。クレアチンの筋力増強作用発現には筋肉トレーニングが必要とされているが、Walterらの症例と比べてわれわれの症例が重症であることから四肢筋力の増強を認めなかったものと考えられる。また、われわれのDMD症例は呼吸器リハビリテーションを併用していたことから、呼吸機能の改善が得られたと考えられる。

過剰のクレアチンは、Cr transporter proteinの発現を抑制して細胞内へのクレアチン取り込みが低下すると報告されている。われわれの症例では、24時間クレアチニン排泄量の増加例では24時間クレアチン排泄量が著増しており、筋細胞内への取り込み低下が疑われる。

結論

重症の筋ジストロフィー症例でも、呼吸器リハビリの併用により呼吸機能が改善する可能性がある。

クレアチニン係数が小さな症例では、5g/日の投与

量が過剰となる可能性がある。
副作用として肝機能障害に注意を要する。

参考文献

1. Walter MC et al. : Creatine monohydrate in muscular dystrophies: A double-blind, placebo-controlled clinical study. *Neurology* 54:1848-1850, 2000
2. Guerrero-Ontiveros ML. et al. : Creatine supplementation in health and disease. Effects of chronic creatine ingestion in vivo: down-regulation of the expression of creatine transporter isoforms in skeletal muscle. *Molecular & Cellular Biochemistry* 184:427-437, 1998

筋強直性ジストロフィーの 脳性ナトリウム利尿ペプチド

分担研究者 田村拓久¹⁾
共同研究者 福留隆康¹⁾ 松尾秀徳¹⁾ 澁谷統壽²⁾
谷田部可奈²⁾ 重山俊喜²⁾ 川村 潤²⁾
石原傳幸³⁾

国立療養所川棚病院¹⁾
国立療養所東埼玉病院²⁾
国立療養所箱根病院³⁾

キーワード

筋強直性ジストロフィー BNP ANP 心機能
心筋障害

【はじめに】

血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)は心機能評価に用いられ、Duchenne型筋ジストロフィーの心機能診断にも応用されている。しかし、筋強直性ジストロフィー(MyD)の血漿ナトリウム利尿ペプチドと心機能の関連を検討した報告は少ない。そこで、MyDを対象にBNPの臨床的意義を検討した。

【対 象】

MyD 25例で、年齢は41.2-67.5歳(53.1±7.4歳)。合併症は、心不全、ペースメーカー植え込み(VVI type)、心房粗動が各々1例、糖尿病が3例存在した。

【方 法】

心エコー法による左心機能指標(拡張終期径(Dd)、心筋重量、Pombo法による駆出率(EF)、E波からの減速時間(DT)、E/A比)、MIBGおよびTL心筋SPECTでの心臓/縦隔比(H/M比)と洗い出し率(WR)、心電図指標(PR間隔、QRS幅)および心胸郭比とナトリウム利尿ペプチドの関係を解析した。

【結 果】

BNPの常用対数値と各指標の関係を示す。

①心エコーによる心機能

Ddや左室心筋重量とBNPの間には関係はなかった(Dd ; n=22, r=0.359, p=n.s, 左室心筋重量 ; n=18, r=-0.204, p=n.s)。また、左室機能を表すEF、DTやE/A比とBNPの間に有意差は認めなかったが(EF ; n=22, r=-0.044, p=n.s, DT ; n=8, r=-0.219, p=n.s, E/A比 ; n=8, r=-0.570, p=n.s)、E/A比が最も小さい2例のBNPは高値を示した(E/A : BNP ; 1.06 : 83.6 pg/ml, 1.07 : 21.8 pg/ml)。

②心筋SPECTの指標

MIBGでは、後期像H/M比とBNPに関係はなかったが(n=14, r=-0.309, p=n.s)、H/M比は全例3以下で、最も低値2例のBNPは147pg/mlと211pg/mlであった。WRとの間にも関係はなかった(n=11, r=-0.192, p=n.s)。また、TLの早期像H/M比やWRの間にも関係はなかったが(H/M比 ; n=14, r=0.153, p=n.s, WR ; n=12, r=-0.229, p=n.s)、2例を除きWRの低下を認めた。

③心電図指標

PR間隔およびQRS幅とBNPの間には、弱い相関を認めた(PR間隔 ; n=18 r=0.548, p=0.0185、QRS幅 ; n=20, r=0.556, p=0.0109)。

④心胸郭比

心胸郭比とも関係はなかった(n= 16, r=0.247, p=n.s)。

⑤血漿心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)

BNPは8例で高値を示したが、左心機能障害を認めた症例は、心不全例の1例のみであった。また、同時にANPも高値であった症例は、心不全例とペースメーカー植え込み例の2例であった。

【考 察】

MIBG心筋SPECT後期像のH/M比が低値の症例やTL心筋SPECTでの洗い出し率が低値の症例が多く、また、刺激伝導障害が高度な症例ほどBNPは高値であったことから、MyDのBNPの上昇には何らかの心筋障害が関与していることが疑われた。しかし、25例中8例のMyDでBNPは高値であったが、左室収縮機能障害を認めた症例は1例のみであり、MyDではBNPの上昇のみで心不全診断は行えない。

一方、非生理的ペースメーカーであるVVI typeのペースメーカー植え込み例では、心機能とは関係なくANP、BNPともに上昇することが言われている1)。BNPに加えANPも高値であった症例は、心不全例とペースメーカー植え込み例のみであり、MyDの心機能障害の指標としては、心房負荷を表すANPがBNPより優れている可能性を示唆した。ただし、今回の検討では、MyDの心機能障害例は1例のみであり、今後症例を増やした解析が必要である。

【ま と め】

- ①MyDのBNP上昇には何らかの心筋障害が関与していることが疑われたが、心機能障害との関連は少ない。
- ②MyDの心不全診断には、ANPがBNPより優れている可能性が示唆された。

【文 献】

- 1) Horie H, et al : Plasma brain natriuretic peptide as a biochemical marker for atrioventricular sequence in patients with pacemakers. Pacing Clin Electrophysiol. 22(2) : 282-290, 1999.

Short-Term Effects of Prednisolone on Neuromuscular Transmission in the Isolated Mdx Mouse Diaphragm

TAKAYASU FUKUDOME, NORITOSHI SHIBUYA, TOSHIRO YOSHIMURA¹ and KATSUMI EGUCHI²

Department of Neurology, Kawatana National Hospital, Nagasaki 859-3615, ¹School of Allied Medical Science, and ²The First Department of Internal Medicine, Nagasaki University, Nagasaki 852-8501

FUKUDOME, T., SHIBUYA, N., YOSHIMURA, T. and EGUCHI, K. *Short-Term Effects of Prednisolone on Neuromuscular Transmission in the Isolated Mdx Mouse Diaphragm.* Tohoku J. Exp. Med., 2000, 192 (3), 211-217 — To determine the mechanism of the beneficial effects of prednisolone on Duchenne muscular dystrophy (DMD), we examined the short-term effects of prednisolone on neuromuscular transmission by using conventional microelectrode methods in the mdx mice. High (56 $\mu\text{mol/liter}$) and low (2.8 $\mu\text{mol/liter}$) concentrations of prednisolone were applied to a bath containing phrenic nerve-diaphragm preparations from mdx mice, and several parameters related to neuromuscular transmission were recorded. The high dose of prednisolone significantly decreased parameter n on quantal release by nerve impulse and decay time-constant of end-plate potentials, which showed adverse effect on neuromuscular transmission. The low dose of prednisolone did not significantly increase quantal content, but could assist the compensatory reaction to maintain the safety margin of neuromuscular transmission in the mdx mice. Our results suggest that the latter effect represents one of the possible mechanisms of the therapeutic effects of prednisolone on DMD. ——— Duchenne muscular dystrophy; prednisolone; mdx mice; microelectrode study; neuromuscular transmission © 2000 Tohoku University Medical Press

Previous studies have shown that prednisolone can improve muscle strength in Duchenne muscular dystrophy (DMD) (Drachman et al. 1974; Brooke et al. 1987; DeSilva et al. 1987; Mendell et al. 1989; Fenichel et al. 1991) probably by increasing dystrophin expression (Hardiman et al. 1993) or by reducing phospholipase A2 activity (Flower 1990), although the primary mechanism remains unknown. The mdx mouse, an animal model of DMD, shows similar ultrastructural abnormalities at the neuromuscular junction to those noted in patients with DMD.

Received June 22, 2000; revision accepted for publication November 20, 2000.

Address for reprints: Katsumi Eguchi, The First Department of Internal Medicine, Nagasaki University, 1-17-1 Sakamoto, Nagasaki city, Nagasaki 852-8501, Japan.
e-mail: eguchi@net.nagasaki-u.ac.jp

Electrophysiological studies have demonstrated a low amplitude of miniature end-plate potential (MEPP) in mdx mice, which is probably due to the ultra-structural changes at the neuromuscular junction as well as the associated increase in the quantal content of the end-plate potential to maintain a safety margin of neuromuscular transmission (Nagel et al. 1990). At concentrations ranging from 4 to 16 $\mu\text{mol/liter}$, prednisolone exhibits a presynaptic effect at the neuromuscular junction and increases MEPP amplitude in the isolated rat diaphragm (von Wilgenburg 1979). Prednisolone may produce its beneficial effect in human DMD and mdx mice by maintaining the safety margin of neuromuscular transmission.

In the present study, we investigated the effects of bath application of low (2.8 $\mu\text{mol/liter}$) and high (56 $\mu\text{mol/liter}$) concentrations of prednisolone on neuromuscular transmission using an isolated mdx mouse diaphragm muscle. To know the short-term effects in the different concentration may be useful for supposing the long-term effects or safety of prednisolone in human DMD.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Animal experiments were conducted under the Guidelines of the Animal Care and Use Committee of Nagasaki University. Six female mdx mice aged 8 to 10 weeks were used in all experiments.

Electrophysiological studies

For conventional intracellular microelectrode recording, a portion of the mouse diaphragm with its motor nerve was dissected carefully and removed. The phrenic nerve-diaphragm muscle preparation was mounted in a chamber perfused continuously with Tyroide solution containing (mM): KCl, 5; Na_3HPO_4 , 1.3; MgCl_2 , 1; NaCl, 135; CaCl_2 , 2; and glucose, 11.1; at pH 7.2. The perfusate was continuously bubbled with 95% O_2 -5% CO_2 gas mixture. For intracellular recording, the preparation was first perfused with prednisolone (Shionogi Inc., Tokyo) at a concentration of 1 mg/liter (2.8 $\mu\text{mol/liter}$) or 20 mg/liter (56 $\mu\text{mol/liter}$) for 45 minutes or longer at the recording temperature and the same agents were also added to the perfusate during recording. *d*-Tubocurarine chloride was used at a concentration sufficient to inhibit muscle contraction. MEPPs, end-plate potentials (EPPs) and resting membrane potentials (RMPs) were recorded while the nerve-muscle preparation was perfused with Tyroide solution at $29.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Recordings were obtained using 13-18 $\text{M}\Omega$ glass microelectrodes and MEZ-8300 amplifier (Nihon Kohden, Tokyo). Signals were digitised at 10 kHz through Digidata 1200B (Axon Instruments, Foster City, CA, USA) interface, stored on a hard disk and analysed by Axoscope 1.1 (Axon Instruments). Analysis of MEPPs and EPPs was restricted to potentials with a rise time < 1.5 milliseconds and to fibres with resting membrane potential of < -60 mV. Potentials were corrected to a standard resting membrane potential of -80 mV

assuming an equilibrium potential of 0 mV (Cull-Candy et al. 1979). MEPPs with more than twice the mean amplitude were rejected as "giant MEPPs."

For EPP recording, the phrenic nerve was stimulated using a suction electrode at 0.5 Hz. The potentials were corrected for non-linear summation (Martin 1966) and the last 64 responses in a train of 114 were saved for later analysis. The quantal content, m was calculated by the variance method (Elmqvist and Quastel 1965). The latter was based on a Poisson distribution of m , but when m is greater than 8, it deviates increasingly from a Poisson distribution, and m values were corrected for a non-Poisson release process by the empiric formula $m_{\text{corr}} = 1.743 m^{0.7328}$ (Cull-Candy et al. 1980). Estimates of the binomial release parameters p , the probability of release, and n , the number of quantal units capable of responding to nerve impulses (del Castillo and Katz 1954), were obtained by plotting the quantal content of each of the first four EPP in a train at 40 Hz against the sum of the quanta released by the preceding stimuli (Elmqvist and Quastel 1965). In some motor end-plates, 40 Hz stimulation was repeated three times at intervals of 60 seconds and results were averaged.

The decay time-constant of the EPP was derived by the fit of exponential functions to the decay phase of the EPP calculated by the computer. For each animal, MEPPs or EPPs were recorded from at least 15 or 10 different end-plates, respectively, before exposure to prednisolone.

Statistical analysis

All data are expressed as mean \pm standard error of the mean (S.E.M.). Differences between groups were examined for statistical significance using the Student's t -test. A p -value < 0.05 denoted the presence of a significant statistical difference.

RESULTS

Effects of prednisolone on miniature end-plate potentials and end-plate potentials

The effect of prednisolone was tested at concentrations of 1 mg/liter and 20 mg/liter. None of these concentrations had a significant effect on the frequency or resting membrane potential. However, prednisolone at 1 mg/liter but not at 20 mg/liter, significantly increased the amplitude of MEPPs ($p < 0.05$, Table 1). At

TABLE 1. *Effect of prednisolone on various parameters of miniature end-plate potentials*

Treatment	Amplitude (mV)	Frequency (min ⁻¹)	RMP (mV)
Control (50)	1.21 \pm 0.08	32 \pm 2.4	-69 \pm 0.5
1 mg/liter prednisolone (48)	1.53 \pm 0.10*	33 \pm 2.4	-69 \pm 0.5
20 mg/liter prednisolone (45)	1.41 \pm 0.08	30 \pm 2.4	-68 \pm 0.5

Values are mean \pm S.E.M.. RMP, resting membrane potential.

* $p < 0.05$. Numbers of end-plates are given in parentheses.

TABLE 2. *Effects of prednisolone on quantal release by nerve impulse*

Treatment	Quantal content (m)	p	n	τ_{EPP}^1 (milliseconds)
Control	34.8 ± 1.5 (39)	0.068 ± 0.0041 (18)	660 ± 49 (18)	2.4 ± 0.11 (39)
1 mg/liter prednisolone	36.8 ± 1.8 (37)	$0.12 \pm 0.013^*$ (21)	$460 \pm 51^*$ (21)	2.4 ± 0.17 (37)
20 mg/liter prednisolone	31.6 ± 1.8 (34)	0.073 ± 0.022 (15)	$450 \pm 140^*$ (15)	$1.7 \pm 0.19^*$ (34)

Values are mean \pm S.E.M..

$^1\tau_{\text{EPP}}$ indicates the decay time-constant of EPP.

* $p < 0.05$. Numbers of end-plates are given in parentheses.

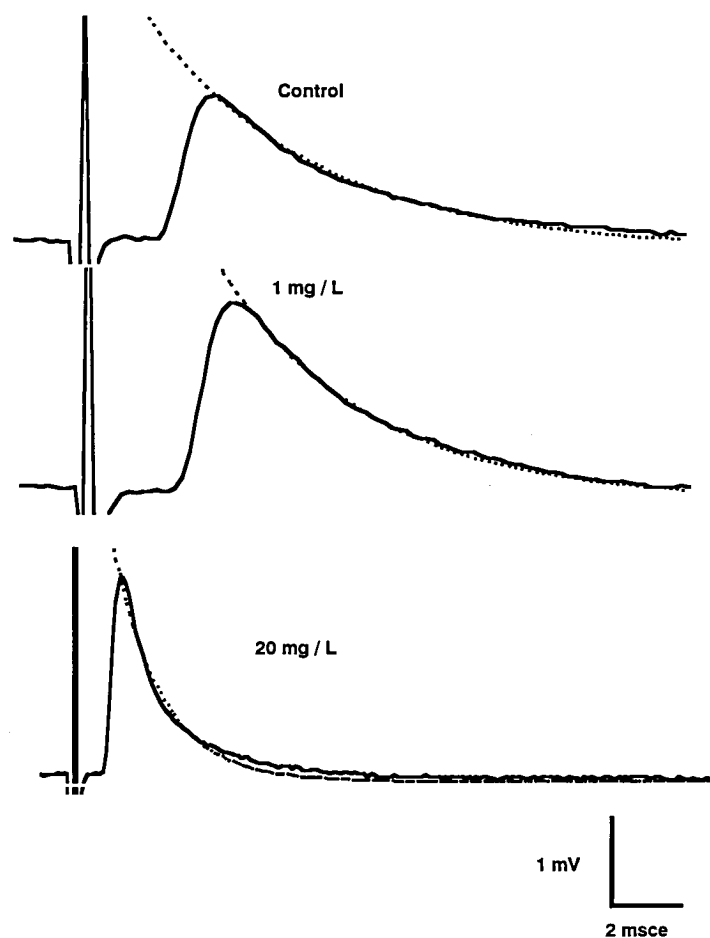


Fig. 1. Effect of prednisolone on EPP. Each panel represents the averaged trace of 64 EPPs and the exponential fitting to the decay phase of EPP. Without prednisolone (control), the decay time-constant of EPP (τ_{EPP}) was 2.4 ± 0.11 milliseconds. During application of 1 and 20 mg/liter prednisolone, the τ_{EPP} was 2.4 ± 0.17 and 1.7 ± 0.19 milliseconds, respectively.

20 mg/liter, prednisolone significantly reduced the decay time-constant of EPP (τ_{EPP}) by 29% ($p < 0.05$, Table 2 and Fig. 1). All observed EPPs decayed mono-exponentially.

Effects of prednisolone on quantal release by nerve impulse

The quantal content of the EPP (m) increased during application of 1 mg/liter prednisolone but decreased during application of 20 mg/liter, although none of these changes were significant. Parameter p increased significantly (by 70%) during application of 1 mg/liter prednisolone, but not at 20 mg/liter. Parameter n diminished by 23–38% and by 10–53% at 1 and 20 mg/liter prednisolone, respectively.

DISCUSSION

The peak serum concentrations of prednisolone after a high-dose intravenous infusion (26 mg/kg) and low-dose oral intake (0.8 mg/kg) ranges between 18–22 mg/liter (Ito et al. 1992) and 0.6–0.7 mg/liter, respectively. Prednisolone concentration used in our study; 20 mg/liter and 1 mg/liter were clinically attainable during therapy.

Our results showed that at 1 mg/liter, prednisolone increased the amplitude of MEPPs, m , and parameter p but decreased parameter n in quantal release by nerve impulse. Although the increment of m was not significant, the amplitude of MEPPs increased significantly and the increment of parameter p (76%) was greater than the decrement of n (30%), indicating that 1 mg/liter prednisolone increases m . On the other hand, 20 mg/liter prednisolone did not affect any parameter of MEPPs, or p but decreased m and n . The decrement of m was not significant, but n was significantly lower than the control. Furthermore, the decay time-constant of EPP diminished significantly at 20 mg/liter prednisolone.

The glucocorticoid hydrocortisone is known to influence acetylcholine receptor channel as a long-term open channel blocker (Bouzat and Barrentes 1996). This action can explain the decrease in decay time-constant of EPP observed in our study during application of prednisolone. The decay time-constant represents the mean duration of opening of the acetylcholine receptor channel. In this regard, a reduction in channel open time compromises the safety margin of neuromuscular transmission. Thus, the effect of 20 mg/liter prednisolone is mediated post-synaptically (blocks acetylcholine receptor) more than pre-synaptically (reduces quantal content), with the resultant adverse effects on neuromuscular transmission.

In comparison with age-matched control mice, the mdx mice show an abnormal, age-dependent decrease in the amplitude of the miniature end-plate potential and a concomitant increase in the quantal content of the end-plate potential (Nagel et al. 1990). Increased quantal content could be a compensatory reaction to offset the fall in MEPP amplitude and thereby maintain the safety margin of

neuromuscular transmission (Nagel et al. 1990). Our results suggest that 1 mg/liter prednisolone does not cause a significant increase in quantal content, but could assist the compensatory reaction to maintain the safety margin of neuromuscular transmission during short-term treatment.

Treatment with prednisolone at 2 mg/kg/day for 8 weeks produce beneficial effects in the mdx mouse by protecting against muscle weakness (Hudecki et al. 1993) and at higher dose (5 mg/kg/day for 8 days), prednisolone protects against muscle damage during exercise in rats (Jacobs et al. 1996). In mdx mice, the safety margin of neuromuscular transmission is not impaired as determined by conventional microelectrode studies (Nagel et al. 1990), but these mice show significant fatigue on variable-speed treadmill exercise (Hudecki et al. 1993).

Our results suggest that short-term treatment with low-dose prednisolone could assist in maintaining neuromuscular transmission and it may protect against neuromuscular transmission failure during exercise. This is one of the possible mechanism to prevent fatigue during exercise. Since it has been postulated that the abnormal dystrophic fibers may be susceptible to damage caused by contraction and stretch (Weller et al. 1990), protecting against fatigue may be beneficial both for mdx and DMD muscle. Further study is needed about the effects of long-term treatment, this mechanism may have a beneficial potential to protect against muscle damage during exercise.

In the mdx mouse, the short-term treatment with high dose prednisolone compromised the neuromuscular transmission. In case of the high-dose intravenous infusion therapy for DMD patients, careful observation might be needed to prevent the fatal neuromuscular insufficiency, such as respiratory failure.

References

- 1) Bouzat, C. & Barrantes, F.J. (1996) Modulation of muscle nicotinic acetylcholine receptors by the glucocorticoid hydrocortisone. *J. Biol. Chem.*, **42**, 15835-15841.
- 2) Brooke, M.H., Fenichel, G.M., Griggs, R.C., Mendel, J.R., Moxley, R.T., Miller, J.P., Kaiser, K.K., Florence, J.M., Pandya, S., Signore, L., King, W., Robison, J., Head, R.A., Province, M.A., Seyfried, W. & Mandel, S. (1987) Clinical investigation of Duchenne muscular dystrophy. *Arch. Neurol.*, **44**, 812-817.
- 3) Cull-Candy, S.G., Miledi, R. & Trautmann, A. (1979) End-plate currents and acetylcholine noise at normal and myasthenic human end-plates. *J. Physiol. (London)*, **287**, 247-265.
- 4) Cull-Candy, S.G., Miledi, R., Trautmann, A. & Uchitel, O. (1980) On the release of transmitter at normal, myasthenia gravis and myasthenia syndrome affected human end-plate. *J. Physiol. (London)*, **299**, 621-638.
- 5) del Castillo, J. & Katz, B. (1954) Quantal components of the end-plate potential. *J. Physiol. (London)*, **124**, 560-573.
- 6) DeSilva, S., Drachman, D.B., Mellitis, D. & Kuncl, R.W. (1987) Prednisone treatment in Duchenne muscular dystrophy: Long-term benefit. *Arch. Neurol.*, **44**, 818-822.
- 7) Drachman, D.B., Yoyka, K.V. & Myer, E. (1974) Prednisone in Duchenne muscular dystrophy. *Lancet*, **2**, 1409-1412.
- 8) Elmqvist, D. & Quastel, D.N.J. (1965) A quantitative study of end-plate potentials

Effects of Prednisolone on Isolated Mdx Mouse Diaphragm

- in isolated human muscle. *J. Physiol. (London)*, **178**, 505-529.
- 9) Fenichel, G.M., Mendell, J.R., Moxley, R.T., Griggs, R.C., Brooke, M.H., Miller, J.P., Pestronk, A., Robinson, J., King, W., Signore, L., Pandya, S., Florence, J., Sejierbecker, J. & Wilson, B. (1991) A comparison of daily and alternate-day prednisone therapy in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Arch. Neurol.*, **48**, 575-579.
 - 10) Flower, R.J. (1990) Lopocortin. In: *Progress in Clinical and Biological Research*, edited by M. Meli, Wiley-Liss, New York, pp. 11-25.
 - 11) Hardiman, O., Sklar, R.M. & Brown, R.H. (1993) Methylprednisolone selectively affects dystrophin expression in human muscle cultures. *Neurology*, **43**, 520-527.
 - 12) Hudecki, M.S., Pollina, C.M., Granchelli, J.A., Daly, M.K., Byrnes, T., Wang, J.C. & Hsiao, J.C. (1993) Strength and endurance in the therapeutic evaluation of prednisolone-treated mdx mice. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **1**, 45-60.
 - 13) Ito, S., Kusunoki, Y., Oka, T., Ito, Y., Okuno, A. & Yoshioka, H. (1992) Pharmacokinetics of high-dose methylprednisolone in children. *Dev. Pharmacol. Ther.*, **19**, 99-105.
 - 14) Jacobs, S.C.J.M., Bootsma, A.L., Willems, P.W.A., Bar, P.R. & Wokke, J.H.J. (1996) Prednisone can protect against exercise-induced muscle damage. *J. Neurol.*, **243**, 410-416.
 - 15) Martin, A.R. (1966) Quantal nature of synaptic transmission. *Physiol. Rev.*, **46**, 51-66.
 - 16) Mendell, J.R., Moxley, R.T., Griggs, R.C., Brooke, M.H., Fenichel, G.M., Miller, J.P., King, W., Signore, L., Pandya, S., Florence, J., Schierbecker, J., Robison, J., Kaiser, K., Mandel, S., Arfken, C. & Gilder, B. (1989) Randomized, double-blind six-month trial of prednisone in Duchenne's muscular dystrophy. *N. Engl. J. Med.*, **320**, 1592-1597.
 - 17) Nagel, A., Lehmann-horn, F. & Engel, A.G. (1990) Neuromuscular transmission in the mdx mouse. *Muscle Nerve*, **13**, 742-749.
 - 18) von Wilgenburg, H. (1979) The effect of prednisolone on neuromuscular transmission in the rat diaphragm. *Eur. J. Pharmacol.*, **55**, 355-361.
 - 19) Weller, B., Karpati, G. & Carpenter, S. (1990) Dystrophin-deficient mdx muscle fibers are preferentially vulnerable to necrosis induced by experimental lengthening contractions. *J. Neurol. Sci.*, **100**, 9-13.
-

胃電図を用いたクエン酸モサプリド投与による進行性筋ジストロフィー患者の胃運動機能改善効果の判定

—胃電図を用いた解析—

大林光念²⁾、今村重洋¹⁾、安東由喜雄³⁾、渡邊聖樹¹⁾、
平原智雄¹⁾、本田省二¹⁾、内野誠²⁾

¹⁾ 国立療養所再春荘病院神経内科、
²⁾ 熊本大学神経内科、
³⁾ 熊本大学臨床検査医学

Corresponding Author: 今村重洋¹⁾(班員)

国立療養所再春荘病院神経内科

〒861-1196 熊本県菊地郡西合志町大字須屋2659

Tel: 096 242 1000

Fax: 096 242 2619

キーワード： 進行性筋ジストロフィー、胃電図、胃運動機能、胃電気活動、クエン酸モサプリド

抄録： 進行性筋ジストロフィー(PMD)患者における胃の運動機能について、ポータブル型胃電図記録計(ニプロ胃電計)を用い簡便かつ非侵襲的に定量評価し、これらの患者に認められる消化器症状の出現機構に迫るとともに、これらの消化器症状に対する治療を考案すべく、PMD患者の胃運動機能に対するクエン酸モサプリドの作用効果についても検討した。

対象は PMD患者15例、および健常者8例。これらの被験者各々について食事の前後30分の胃電図を記録し、食前30分、食事中、食後30分各時点での平均周波数、および3大周波数成分(bradycastria, normal gastria, tachycastria)の出現頻度の変化を調べるとともに、食事開始後平均周波数が最大となるまでの時間を算定し比較検討した。PMD患者15例については、食前30分にクエン酸モサプリド5mgの内服を行った場合についても同様の検討を行った。

PMD患者群においては、食事開始から平均周波数が最大となるまでの平均時間が健常者群の平均に比し有意に遅延していたが、食前30分でのクエン酸モサプリド5mgの内服により、この平均時間は短縮し、健常者の平均に近付いた。PMD患者群における胃電図の各周波数成分の出現頻度については、食前、食事中、食後いずれの時点においても健常者に比し有意差を認めなかったが、クエン酸モサプリド内服時の食事中、および食後30分のtachycastriaの比率は、同剤非内服時に比し増加していた。

以上の結果は、PMD患者における食前、および食事

中の胃電気活動の低下が、本症で認められる胃運動機能異常の一因であることを示唆するものであり、適切なタイミングでのクエン酸モサプリド投与が、これらの患者の胃運動機能改善の一助となりうる事が確認された。

はじめに

進行性筋ジストロフィー(PMD)患者においては、消化管内視鏡検査、造影検査などで形態的異常が認められないにもかかわらず、発症後比較的早期より胃部不快、嘔気・嘔吐、腹部膨満感、食欲低下、下痢、便秘などの消化器症状を認めることが知られている¹⁾²⁾。しかし、これらの症状の詳細な出現機構については依然不明な点も多く、特に、これらの患者における胃運動機能を電気生理学的評価については、これまでほとんど行われていない。

胃の運動機能を電気生理学的に評価する方法の一つとして胃電図(erectrogastrogram: EGG)がある³⁾。胃は、体上部3分の1の大彎側付近にあるペースメーカーの働きにより、空腹時にも1分間に約3回(3cycle/min, 3cpm)の収縮活動を行っており、摂食によりこれに蠕動運動が加わると3cpm以上の活動がみられるようになる⁴⁾。EGGは、これらいずれの場合の胃の活動も、体表から簡便かつ非侵襲的にとらえ、客観的・定量的に評価しうる検査法であり、近年の医療機器の発達に伴う精度の高まりとあいまって、消化器症状を呈する患者に対する胃運動機能の評価法として大きな注目を集めてきている⁵⁾⁶⁾。

今回我々は、PMD患者を対象として、本疾患患者における胃の運動機能について、ポータブル型胃電図記録計(ニプロ胃電計)を用い簡便かつ非侵襲的に定量評価し、これらの患者に認められる消化器症状の出現機構に迫るとともに、これらの消化器症状に対する治療を考案すべく、近年、消化管運動促進剤としてその有効性が大きな注目を集めているセロトニン受容体アゴニスト、クエン酸モサプリド⁷⁾のPMD患者の胃運動機能に対する作用効果についても検討した。

対象および方法

対象は PMD患者15名(Duchenne型7名、Becke 型 8名、平均年齢43.3±14.7歳)、および消化器症状や自律神経障害を認めない健常者8名(平均年齢35.1±16.5歳)。PMD患者15名中8名が胃部不快、嘔気・嘔吐、腹部膨満感、食欲低下、下痢、便秘などの消化器症状を自覚していた。

各々の被験者に、十分なインフォームドコンセントの後、ポータブル型胃電図記録計(ニプロ胃電計)を装着し、胃の電気活動を記録した。食事は全例午前11時30分からの15分間で360kcalのビスケット、および300ml

の水を摂取させるよう統一し、PMD患者15例については、クエン酸モサプリド非内服時と食前30分にクエン酸モサプリド5mgの内服を行った場合の両者について記録した。通常EGGの周波数は、 $< 2.4\text{cpm}$: brady gastria、 $2.4\text{--}3.6\text{cpm}$: normal gastria、 $> 3.6\text{cpm}$: tachygastriaの3大成分に分けられることから⁹⁾¹⁰⁾、PMD患者群と健常者群、およびPMD患者群におけるクエン酸モサプリド内服時について、食前30分、食事中(食事開始後7分)、食後30分各時点での平均周波数、および上記3大周波数成分の出現頻度の変化を調べるとともに、食事開始後平均周波数最大となるまでの時間を算定し比較検討した。

結果

Duchenne型患者、Becker型PMD患者の代表的EGGデータをそれぞれ図1、2に示した。

PMD患者15名中8名(Duchenne型患者7名中5名、Becker型患者8名中3名)において、EGG上健常者に比し有意な食前の平均周波数低下を認めた。PMD患者の罹病期間と平均周波数との間に有意な相関は認めなかったが、食前の平均周波数が低下していた8名は、いずれも検査前に胃部不快、嘔気・嘔吐、腹部膨満感、食欲低下、下痢、便秘などの消化器症状を自覚していた患者であった。

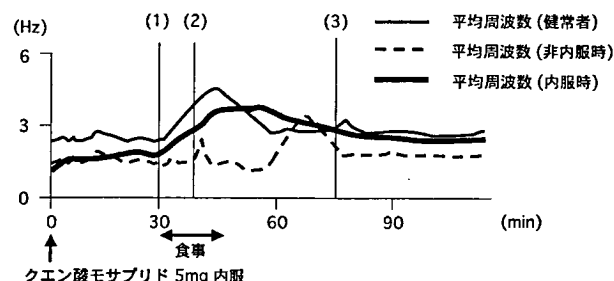


図1 胃電図の周波数解析(13歳男性、Duchenne型PMD)

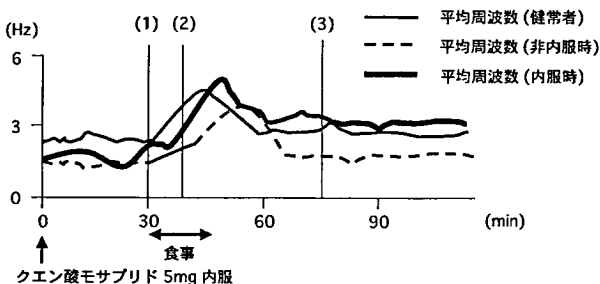


図2 胃電図の周波数解析(40歳男性、Becker型PMD)

食事開始から平均周波数が最大となるまでの時間は、Duchenne型、Becker型患者群とも健常者群の平均に比し有意に遅延していた(健常者： 24.00 ± 8.91 分、Duchenne型患者群： 45.14 ± 15.33 分、Becker型患者群： 36.00 ± 10.66 分、 $p < 0.05$)が、食前30分でのクエン酸モサプリド5mgの内服により、この平均時間は短縮し、健常者の平均に近付いた(Duchenne型患者群： $33.29 \pm$

9.21 分、Becker型患者群： 25.67 ± 11.00 分)。

PMD患者群におけるEGGの3大周波数成分の出現頻度は、食前、食事中、食後いずれの時点においても健常者に比し有意差を認めなかったが、Duchenne型患者群、Becker型患者群ともにクエン酸モサプリド内服時の食事中(食事開始後7分)、および食後30分のtachygastriaの比率がクエン酸モサプリド非内服時に比し増加していた(Duchenne型: 食事中16%→24%、食後30分10%→19%、Becker型: 食事中16%→28%、食後30分4%→24%)。

考察

今回のPMD患者のEGG解析では、健常者に比し有意な食前の平均周波数低下を認めた。また、食事中、食後いずれの時点におけるEGGの3大周波数成分の出現頻度も健常者と有意差を認めず、蠕動運動自体は認められるものの、食事開始から平均周波数が最大、すなわち蠕動運動が最大となるまでの時間が、健常者に比し有意に遅延していた。このことは、これらの患者において胃体上部3分の1付近の大彎側にあるペースメーカーからの電気活動の伝播障害や、ペースメーカー自体の律動性異常が存在することを示唆するものであり、今後さらにPMD患者における消化管の自律神経や平滑筋についての詳細な検討が必要であると考えられる。

従来の報告の中には、EGGが胃の電気活動の全てを表しているとは限らず、消化器症状を呈する患者に対しEGGを測定する意義は少ないのではないかとするものもある¹¹⁾が、そんな中で、胃部不快、嘔気・嘔吐、腹部膨満感、食欲低下、下痢、便秘などの消化器症状を訴えたPMD患者8名全員にEGGの異常を認め、かつ、クエン酸モサプリド投与がこれらの患者の胃運動機能改善の一助となりうることを確認した今回の我々の報告は、消化管機能検査としてのEGGの有用性という観点からも非常に意義深いものであると考えられる。今回のデータをもとに、今後はPMD患者に認められる胃部不快、嘔気・嘔吐、腹部膨満感、食欲低下、下痢、便秘などの自覚症状を少しでも軽減すべく、クエン酸モサプリド以外の各種消化管運動促進剤の効果について検討していくとともに、薬剤投与のタイミングや食事の摂取方法などについてもさらに深く検討していく必要がある。

文献

- 1) Nowak TV, Inasescu V, Anuras S.: Gastrointestinal manifestations of the muscular dystrophies. Gastroenterology 82: 800-810, 1982
- 2) Simpson AJ, Khilnani MT.: Gastrointestinal manifestations of the muscular dystrophies. Am. J. Roentgenol. Radium. Ther. Nucl. Med. 125: 948-955,

1975

- 3) Alvarez WC. : The electrogastrography and what it shows. JAMA 78: 1116-1118, 1922
- 4) Hinder RA, Kelly KA. : Human gastric pacesetter potential. Site of origin, spread and response to gastric transection and proximal gastric vagotomy. Am. J. Surg. 133: 29-33, 1978
- 5) Smout AJ, van der Schee EJ, Grashuis JL. : What is measured in electrogastrography? Dig. Dis. Sci. 25: 179-187, 1980
- 6) Abell TL and Malagelada JR. : Electrogastrography. Dig. Dis. Sci. 33: 982-992, 1980
- 7) Chen JD, Mccallum RW. : Gastric slow wave abnormalities in patients with gastroparesis. Am. J. Gastroenterol. 87: 477-482, 1992
- 8) Yoshida N, Ito T, Karasawa T, Itoh Z. : AS-4370, a new gastrokinetic agent, enhances upper gastrointestinal motor activity in conscious dogs. J. Pharmacol. Exp. Ther. 257: 781, 1991
- 9) Lavanon D, Zhang M, Chen JDN. : Efficiency and Efficacy of the Electrogastrogram. Digestive Disease and Science 43: 1023-1030, 1998
- 10) Liang J, Chen JDZ. : What Can Be Measured from Surface Electrogastrography Computer Simulations. Digestive Disease and Science 41: 1538-1545, 1996
- 11) 梶本徹也 : Electrogastrography (EGG) と胃の筋電図、機械的収縮運動の関係に関する実験的検討. J. Smooth Muscle Res 31: 93-107, 1995

筋ジストロフィー患者におけるグレリンの検討

班 員 隈本健司

(国立療養所宮崎東病院)

共同研究者 大庭健一 塩屋敬一 安部なつみ

(国立療養所宮崎東病院)

中里雅光 椎屋智美

(宮崎医科大学第3内科)

はじめに

新しく発見されたグレリンは胃で産生され、脳と消化管を機能的に連携して生体の栄養状態の調節に関わる。肥満、やせ、BMIといった指標と強い負の相関が認められ、レプチンに拮抗し、食欲に大きな関わりを持つ。栄養の問題は筋ジストロフィーの治療をすすめていく上で重要なテーマの一つである。筋ジス患者の栄養評価を行うためにグレリンを測定する意義について検討を行った。

対象および方法

8例のデュシャンヌ型筋ジス患者と2例のベッカー型患者を対象とした。検査の承諾が得られた後、採血は早朝空腹時に実施した。グレリンの測定は宮崎医科大学第3内科に依頼し、RIA法で行われた。なお空腹時のグレリンのヒト血漿濃度は 148 ± 28 fmol/mlである。

得られたグレリンの結果を体重、身長、BMI、臨床ステージ、BNP、ANP、CK、摂取カロリー、年齢、血糖値、HbA1cとの関連で検討した。栄養摂取量は経管栄養では注入量、高カロリーを併用しているものは輸液カロリー量、経口摂取の場合は残量から計算した。

結 果

表1に測定結果を示す。グレリンとの相関を表2に

表2 グレリンと各因子との相関

因子	相関係数	P
体重	-0.791	0.0045 p<0.05
BMI	-0.771	0.0068 p<0.05
身長	-0.680	0.0282 p<0.05
HbA1c	-0.673	0.0307 p<0.05
臨床ステージ	0.546	0.1051 NS
栄養量	-0.419	0.2377 NS
年齢	-0.186	0.6192 NS
CK	-0.005	0.9903 NS
血糖値	0.175	0.6391 NS
BNP	0.204	0.5838 NS
ANP	0.084	0.8240 NS

示した。グレリンは体重、BMIと有意な負の相関を認めた(図1・図2)。臨床ステージ、BNP、ANP、CK、摂取カロリー、年齢、血糖値との間には有意の相関は認めなかった。

デュシャンヌ型筋ジス患者のうち、ADLが低下し経口摂取が困難で終止ベッド上で生活している症例1、症例4を図1・図2上に①、④で示す。グレリンの上昇が認められた。

介助による経口摂取を行っているデュシャンヌ型筋ジスの症例7を同じく図上に⑦で示す。経口摂取量が減少しやせの状態、グレリンの上昇が認められた。

ベッカー型筋ジスの症例6(図の⑥)は肥満と耐糖異常が認められ、食事指導目的で入院となっていたが、グレリンの値は低下していた。

考 案

ヒトには、作用する物質が知られていない受容体が数多く存在している。これらの受容体に作用する新しい生体内ホルモンいわゆる内因性リガンドの発見は、生体機能や病態の解明に有用な手段の一つになると考えられている。また新薬の開発についても期待が持たれている。

オーファン受容体の一つである成長ホルモン分泌促進因子受容体(GHS-R)に作用する内因性リガンドが、

表1 結果

症例	病型	年齢	ステージ	呼吸状態	グレリン	体重	身長	BMI	BNP	ANP	CK	摂取量	FBS	HbA1c
1	DMD	22	8	NIPPV	237.84	27.7	157.0	11.2	54	73.3	289	1000	77	3.8
2	DMD	19	7		111.39	63.1	162.0	24.0	44	36.3	1265	1321	82	4.4
3	DMD	20	7		152.75	54.1	158.0	21.7	8>	8>	1654	1291	87	4.0
4	DMD	21	8	NIPPV	355.15	27.9	147.5	12.8	30	17.2	1675	900	109	3.6
5	DMD	19	7		52.18	62.3	169.0	21.8	12	11.1	1543	828	88	4.2
6	BMD	35	2		71.12	81.4	164.0	30.3	8>	10.1	1067	1430	100	4.8
7	DMD	20	7	NIPPV	230.26	21.7	154.0	9.1	25	26.2	535	716	73	4.2
8	DMD	25	7	NIPPV	118.10	46.7	151.0	20.5	68	92.7	483	1057	79	4.9
9	DMD	23	8	TIPPV	169.52	28.4	147.0	13.1	9	24.6	710	871	100	3.6
10	BMD	67	7		139.74	42.5	153.0	18.2	10	8.3	242	1522	97	4.5

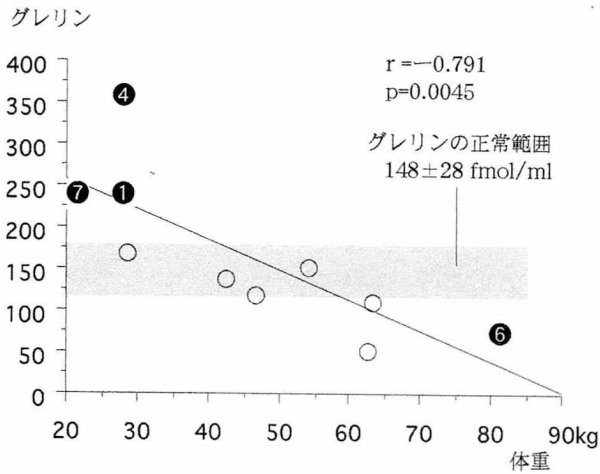


図1 グレリンと体重との相関

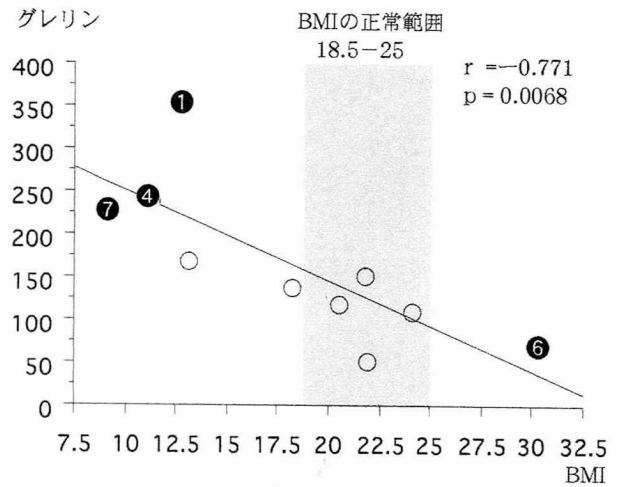


図2 グレリンとBMIとの相関

1999年、Kojima らによって胃から発見されグレリンと名付けられた¹⁾。

グルカゴンを産生する膵臓のA細胞に類似することから、A-like細胞もしくはX細胞と呼ばれる分泌細胞が胃に存在し、長い間分泌される物質が不明であった。最近それがグレリンであることが確認された²⁾。

グレリンは強力な成長ホルモン分泌促進作用を示すとともに、脳と消化管を機能的に連携して生体の栄養調節にかかわる。肥満者では低く、神経性食思不振症のようなやせでは高く、BMIと逆相関を示す。重症心不全でカヘキシアの強い症例も高値を示す。8、12、18時に常食を摂取した場合の日内変動は食前に高値を示し、摂食後に約 2/3 に低下する。また、午前 2-3 時に頂値を示し、これは成長ホルモンの頂値と一致する。空腹により分泌が刺激され、摂食やブドウ糖負荷で抑制される。絶食などの異化亢進状態では産生が亢進する³⁾。

筋ジス患者においても、体重やBMIと有意の負の相関を示した。また、グレリンが上昇している患者はADLが低下した患者が多く、病状の進行とともに栄養学的な問題が生じていることがうかがわれた。

筋ジス患者は病気の進行に伴い筋量が減少し、筋の脂肪変性や除脂肪体重の変化が起こる。こうした筋ジス特有の体組成の変化がグレリンの分泌にどう影響するかは不明であり、今後も継続的な検討を必要とする。

しかし、筋ジス患者の栄養評価に関して客観的な内分泌学的指標を新しく一つ持つことになり、病態評価につながるものが期待される。

結 論

筋ジス患者においてもグレリンの分泌機能は十分に保持され、健常者と同じように体重やBMIと相関を示した。グレリンの持つ幅広い生理作用の解明と臨床応用は今後の研究課題であり、筋ジス患者特有の変動を検討していく必要があるが、筋ジス患者の病態評価に

有用な検査の一つになる可能性を考えた。

文 献

- 1) Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al.: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402: 656-660 1999.
- 2) Date Y, Kojima M, Hosoda H, et al.: Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 141: 4255- 4261 2000.
- 3) 中里雅光.: 成長ホルモン分泌と摂食調節に機能する新しい消化管ホルモン-グレリン-最新医学 56巻, 2607-2611. 2001年.

グレリンを測定いただきました宮崎医科大学第3内科の中里雅光・椎屋智美先生に深謝いたします。

ABSTRACT: We studied the expression of dystrophin in skin biopsy samples from 19 patients with neuromuscular diseases. Immunohistochemical procedures for dystrophin analyses were performed using monoclonal antibodies for three different domains. Arrector pili muscles, which are smooth muscles in the skin, expressed dystrophin in the patients with limb-girdle muscular dystrophy (5), facioscapulohumeral muscular dystrophy (1), and spinal muscular atrophy (3), and in normal controls (2). The C-terminus of dystrophin was slightly expressed in the patients with Duchenne muscular dystrophy, whereas the rod domain and N-terminus were absent. In one patient with Becker muscular dystrophy, the expression of dystrophin was reduced. The mosaic of dystrophin positive and negative smooth muscle fibers was observed in a manifesting carrier of Duchenne muscular dystrophy. Our results suggest that skin biopsy is very useful for the diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy and manifesting carrier of Duchenne muscular dystrophy, and can be performed even at an advanced stage of the disease.

© 2002 John Wiley & Sons, Inc. *Muscle Nerve* 25: 000–000, 2002

DIAGNOSIS OF DYSTROPHINOPATHY BY SKIN BIOPSY

TAKAHITO NIYAMA, MD,¹ ITSURO HIGUCHI, MD,¹ SHUNICHI SAKODA, MD,¹
TSUYOSHI MATSUMURA, MD,² HIDETOSHI FUKUNAGA, MD,³ and
MITSUHIRO OSAME, MD¹

¹ Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8520, Japan

² Toneyama National Hospital, Osaka, Japan

³ Minami Kyushu National Hospital, Kagoshima, Japan

Accepted 21 September 2001

Dystrophin is a large polypeptide of approximately 430kDa and is encoded by a large gene on the X chromosome, at Xp 21. Dystrophin deficiency is the cause of Duchenne muscular dystrophy (DMD), and functional or quantitative dystrophin abnormalities cause Becker muscular dystrophy (BMD). These dystrophinopathies are diagnosed by clinical features, DNA analysis, and immunohistochemical analysis of biopsied skeletal muscles.^{3,4,8,9,18}

Immunohistochemical studies have localized dystrophin to the inner plasma membrane in skeletal, cardiac, and smooth muscles.^{1,5,6,17} Dystrophin has been reported to be defective in the smooth muscle of DMD patients and mdx mice.^{14,15} Arrector pili

muscles comprise the smooth muscles in the skin. To elucidate the usefulness of skin biopsy as well as muscle biopsy for the diagnosis of dystrophinopathy, we examined immunohistochemically the expression of dystrophin on arrector pili muscles in patients with neuromuscular diseases.

MATERIALS AND METHODS

This study was performed with the approval of the institutional review board of Minami Kyushu National Hospital, and consent forms were obtained from patients and parents.

Skin specimens were obtained by open biopsy from 19 patients, consisting of 6 with DMD, 1 with BMD, 1 manifesting carrier of DMD, 5 with limb-girdle muscular dystrophy (L-G), 1 with facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSH), 3 with spinal muscular atrophy (SMA), 1 with suspected polymyositis, and 1 with suspected rhabdomyolysis. The diagnosis was based on clinical, neurophysiological, and pathological criteria, and genetic testing. One patient with DMD underwent genetic testing, but deletion of the dystrophin gene was not detected. Four

Abbreviations: ABC, avidin-biotin complex; BMD, Becker muscular dystrophy; DMD, Duchenne muscular dystrophy; FSH, facioscapulohumeral muscular dystrophy; L-G, limb-girdle muscular dystrophy; SMA, spinal muscular atrophy

Key words: arrector pili muscle; carrier; Duchenne/Becker muscular dystrophy; dystrophin; skin biopsy

Correspondence to: T. Niyama; ntakahito@po2.synapse.ne.jp

© 2002 John Wiley & Sons, Inc.
DOI 10.1002/mus.A0991B

patients with DMD had deletion of the dystrophin gene: the sites of deletion in these patients were exon 50, exon 45, exon 48 and exon 51, and exon 45. One patient with DMD was not tested genetically, but muscle biopsy showed no immunoreaction for dystrophin. One BMD patient underwent genetic testing and muscle biopsy. He had deletion of exon 51 and exon 52, and muscle biopsy showed patchy immunostaining of dystrophin. In the patients with clinically suspected polymyositis and rhabdomyolysis, muscle and skin biopsy specimens showed no abnormalities. The skin biopsy specimens from these two patients were therefore used as normal controls.

The skin biopsy specimens were immediately frozen in isopentane cooled with liquid nitrogen and then sectioned. Frozen sections (10 μ m) were picked up on aminosilane-coated slides. Serial frozen sections were stained with hematoxylin–eosin and subjected to immunohistochemical staining. Immunohistochemical analysis of dystrophin was performed using three different monoclonal antibodies for the C-terminus, rod domain, and N-terminus (Novocastra, Newcastle, United Kingdom), 1:50 dilution. We also used a monoclonal antibody to actin, which is a marker for smooth muscle (American Research Products, Belmont, Massachusetts), 1:50 dilution. Biotinylated anti-mouse IgG was used as the secondary antibody, and the avidin-biotin complex (ABC) method¹⁰ was used for signal detection (ABC kit; Vector Laboratories, Burlingame, California). All immunohistochemical procedures were performed as reported previously.⁷

RESULTS

Skin biopsy specimens showed actin immunoreaction in the arrector pili muscles, the myoepithelial cells of the sweat glands, and vessel walls in all patients and normal controls. Serial skin sections revealed that dystrophin was expressed on arrector pili muscles, myoepithelial cells, and some vessel walls in the patients with L-G and FSH dystrophies and SMA, and in normal controls (Fig. 1). The C-terminus of dystrophin was slightly expressed on the arrector pili muscles in all six patients with DMD, whereas the rod domain and N-terminus were absent. In the patient with BMD, the expression of the C-terminus and N-terminus was slightly reduced, and that of the rod domain was markedly reduced (Fig. 2). The mosaic of dystrophin positive and negative smooth muscle fibers was observed in the manifesting carrier of DMD. (Fig. 3).

DISCUSSION

The diagnosis of DMD/BMD is made when the expression of dystrophin is absent or reduced in a muscle biopsy specimen. Marbini and coworkers reported the possibility of diagnosing DMD/BMD and merosin-negative congenital muscular dystrophy by skin biopsy.^{12,13} They reported that the dystrophin reaction on the arrector pili muscles was absent in patients with DMD, poorly represented in patients with BMD, and normally represented in DMD carriers. However, they did not mention expression of the three different domains of dystrophin in their report. In our study, the C-terminus of dystrophin was slightly expressed on the arrector pili muscles in

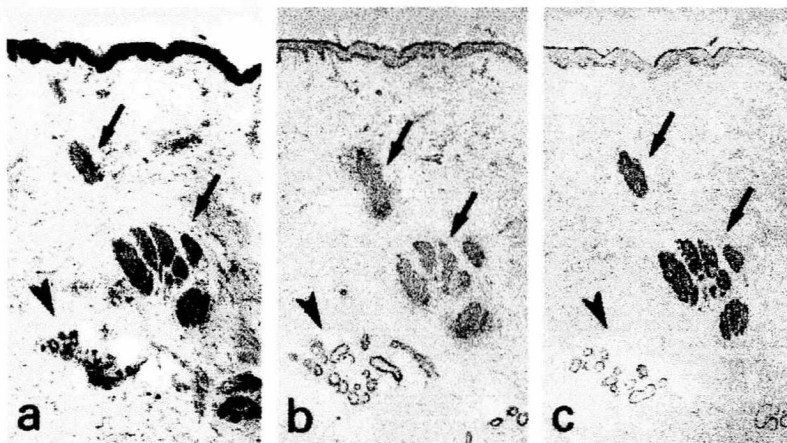


FIGURE 1. Hematoxylin–eosin staining (a), and immunohistochemistry for actin (b) and rod domain of dystrophin (c) in skin biopsy specimens from a patient with limb-girdle muscular dystrophy. Panels (a–c) are serial sections. The arrector pili muscles (arrows) and myoepithelial cells of sweat glands (arrowheads) in skin specimens and immunoreactions of actin and rod domain are observed on these smooth muscles. (Original magnification, $\times 13.2$)

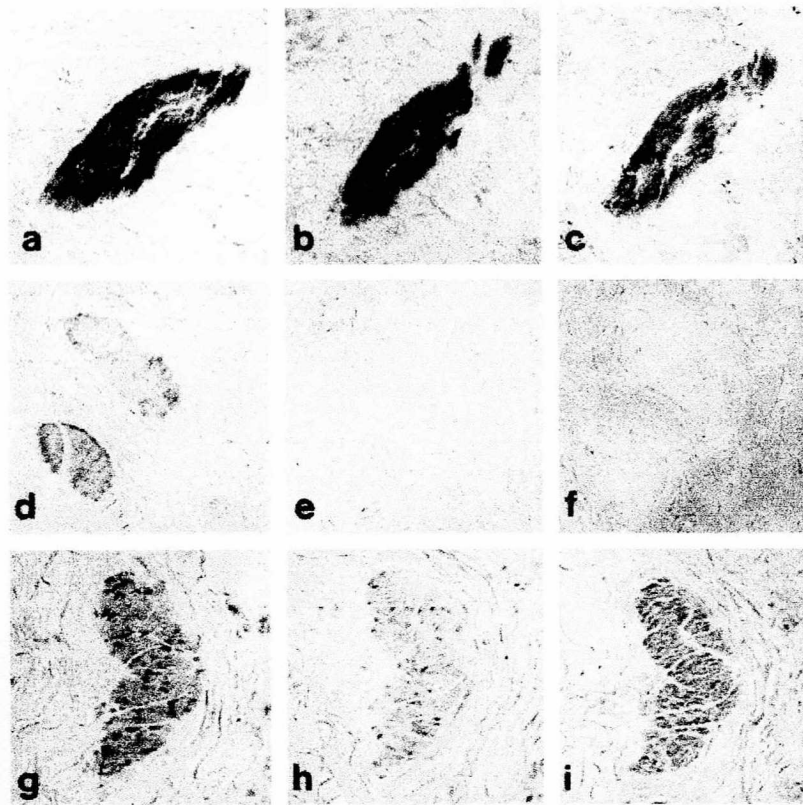


FIGURE 2. Panels (a–c) are serial sections of skin biopsy specimens from normal controls, and show strong dystrophin reactions of three domains on the arrector pili muscle. Panels (d–f) are serial sections of skin biopsy specimens from a patient with Duchenne muscular dystrophy; a faint positive reaction of C-terminus is observed on the arrector pili muscle, whereas reactions of rod domain and N-terminus are absent. Panels (g–i) are serial sections of skin biopsy specimens from the patient with Becker muscular dystrophy; the reactions of the C-terminus and N-terminus are moderate on the arrector pili muscle, whereas the reaction of rod domain is very faint. (Panels a, d, **AO6** g: Immunohistochemistry for C-terminus; b, e, h: immunohistochemistry for rod domain; c, f, i: immunohistochemistry for N-terminus.)

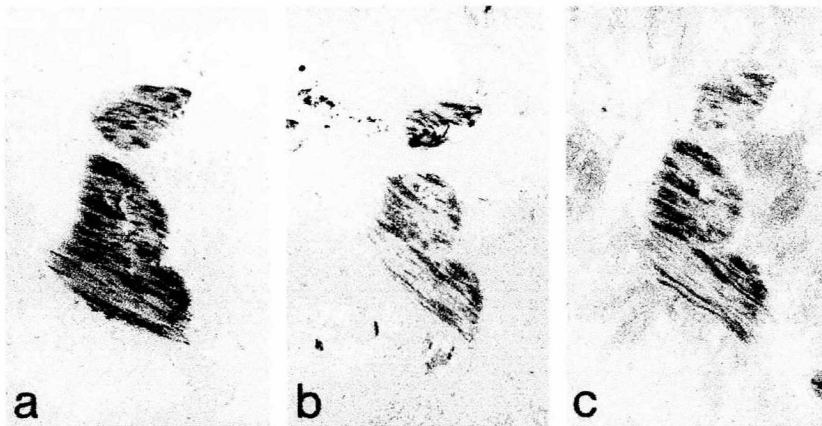


FIGURE 3. Immunohistochemistry for dystrophin on arrector pili muscles in skin biopsy specimens from a manifesting carrier of DMD. Panels (a–c) are serial sections. The arrector pili muscles show mosaic staining patterns with positive and negative. Immunohistochemistry for C-terminus is shown in (a), rod domain in (b), and N-terminus in (c). (Original magnification, $\times 50$.)

the patients with DMD, and the reaction of each of the three domains was different in the patient with BMD. It should be emphasized that an immunohistochemical study with three different domains of dystrophin on arrector pili muscles is necessary for the accurate diagnosis of DMD/BMD by skin biopsy.

The arrector pili muscles showed well-preserved morphology and function in all patients, including patients with DMD who had severe muscle atrophy and muscle weakness. The preservation of the arrector pili muscle of patients with DMD may be due to the presence of the C-terminus of dystrophin. The presence of the C-terminus may be due to the different dystrophin isoforms in skeletal muscle and smooth muscle, or possibly relate to a nonspecific cross-reaction. Skin biopsy can be performed for the diagnosis of DMD/BMD even at an advanced stage of muscular dystrophy.

The manifesting carrier was the mother of a DMD patient in this study. She had proximal muscle weakness and atrophy, and her serum creatine kinase level was elevated. She received both skeletal muscle and skin biopsies. These biopsied specimens showed mosaic expression of dystrophin. In previous studies, the mosaic expression of dystrophin was reported in skeletal muscle and the myocardial muscle of manifesting carriers.^{2,11,16} Our study has demonstrated that the skin biopsy may show mosaic expression of dystrophin in the manifesting carrier of DMD. The skin biopsy procedure is easier than a skeletal and myocardial muscle biopsy. Thus, the skin biopsy may very useful for the diagnosis of DMD/BMD and manifesting carrier of DMD, as also is the muscle biopsy. However, we studied only a single case of BMD and one manifesting carrier in this study. Further study is therefore necessary on skin biopsy specimens from more patients, and it will be important to compare the results of immunohistochemical study with those of genetic testing.

This study was supported by a Research Grant (11A-1) for Nervous and Mental Disorders from the Ministry of Health and Welfare, Japan.

REFERENCES

1. Arahata K, Ishiura S, Ishiguro T, Tsukahara T, Suhara Y, Eguchi C, Ishihara T, Nonaka I, Ozawa E, Sugita H. Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide. *Nature* 1988;333:861-863.
2. Arahata K, Ishihara T, Kamakura K, Tsukahara T, Ishiura S, Baba C, Matsumoto T, Nonaka I, Sugita H. Mosaic expression of dystrophin on symptomatic carriers of Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 1989;320:138-142.
3. Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, Kunkel LM. Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. *Hum Genet* 1990;86:45-48.
4. Bonilla E, Samitt CE, Miranda AF, Hays AP, Salvati G, DiMauro S, Kunkel LM, Hoffman EP, Rowland LP. Duchenne muscular dystrophy: deficiency of dystrophin at the muscle cell surface. *Cell* 1988;54:447-452.
5. Byers TJ, Kunkel LM, Watkins SC. The subcellular distribution of dystrophin in mouse skeletal, cardiac, and smooth muscle. *J Cell Biol* 1991;115:411-421.
6. Cullen MJ, Walsh J, Nicholson LV, Harris JB. Ultrastructural localization of dystrophin in human muscle by using gold immunolabelling. *Proc R Soc Lond [Biol]* 1990;240:197-210.
7. Higuchi I, Fukunaga H, Motokura F, Goto T, Niyama N, Inose M, Izumi K, Ohkubo R, Nakagawa M, Arimura K, Osame M. Characteristic expression of cell adhesion molecules in adhalin deficiency. *J Neurol Sci* 1996;143:79-83. AQ2
8. Hoffman EP, Fischbeck KH, Brown RH, Johnson M, Medori R, Loike JD, Harris JB, Waterston R, Brooke M, Specht L, Kupsky W, Chamberlain J, Caskey CT, Shapiro F, Kunkel LM. Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 1998;318:1363-1368.
9. Hoffman EP, Knudson CM, Campbell KP, Kunkel LM. Subcellular fractionation of dystrophin to the triads of skeletal muscle. *Nature* 1987;330:754-758.
10. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29:577-580. AQ3
11. Kamakura K, Kawai M, Arahata K, Koizumi H, Watanabe K, Sugita H. A manifesting carrier of Duchenne muscular dystrophy with severe myocardial symptoms. *J Neurol* 1990;257:483-485.
12. Marbini A, Bellanova MF, Ferrari A, Lodesani M, Gemignani F. Immunohistochemical study of merosin-negative congenital muscular dystrophy: laminin alpha 2 deficiency in skin biopsy. *Acta Neuropathol (Berl)* 1997;94:103-108.
13. Marbini A, Marcello N, Bellanova MF, Guidetti D, Ferrari A, Gemignani F. Dystrophin expression in skin biopsy. Immunohistochemical localisation of striated muscle type dystrophin. *J Neurol Sci* 1995;129:29-33.
14. Miyatake M, Miike T, Zhao J, Yoshioka K, Uchino M, Usuku G. Possible systemic smooth muscle layer dysfunction due to a deficiency of dystrophin in Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol Sci* 1989;93:11-17.
15. Uchino M, Teramoto H, Naoe H, Yoshioka K, Miike T, Ando M. Localization and characterization of dystrophin in the central nervous system of controls and patients with Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:426-429.
16. Watanabe K, Izumi T, Natsui M, Matsubara N, Miyakita Y, Koyama S, Inomata T, Suzuki M, Shibata A. Dystrophin negative skeletal and myocardial muscle cells in a carrier of Duchenne's muscular dystrophy. *Eur Heart J* 1993;14:989-992.
17. Wessel HB. Dystrophin: a clinical perspective. *Pediatr Neurol* 1990;6:3-12.
18. Zubrzycka Gaarn EE, Bulman DE, Karpati G, Burghes AH, Belfall B, Klamut HJ, Talbot J, Hodges RS, Ray PN, Worton RG. The Duchenne muscular dystrophy gene product is localized in sarcolemma of human skeletal muscle. *Nature* 1988;333:466-469. AQ4

皮膚生検によるジストロフィノパチーの診断

園田至人¹、新山尚仁²、樋口逸郎²、橋口照人³、
松村 剛⁴、前村和俊¹、西郷隆二¹、
福永 知¹、宇都 正²、児玉知子¹、中江めぐみ²、
迫田俊一²、福永秀敏¹、納 光弘²

¹国立療養所南九州病院神経内科,

²鹿児島大学第三内科,

³鹿児島大学臨床検査医学講座,

⁴国立療養所刀根山病院神経内科

【緒言】

ジストロフィンとは分子量約400kDaの巨大な蛋白で、その遺伝子はXp21に存在する。ジストロフィンとは骨格筋、心筋や平滑筋の細胞膜下に存在し^{1,5,6,17}、この異常によりDuchenne型筋ジストロフィー・Becker型筋ジストロフィーが引き起こされる。これら筋ジストロフィーは、臨床症状・遺伝子診断・筋生検による免疫組織化学的検査により診断される^{3,4,8,9,18}。Duchenne型筋ジストロフィーやmdxマウスの平滑筋でもジストロフィンの欠損が報告されている^{14,15}。立毛筋は皮膚の平滑筋組織で、皮膚生検が筋生検と同様にDuchenne型筋ジストロフィー・Becker型筋ジストロフィーの診断に有用かどうかを検討するため、進行性筋ジストロフィー患者の立毛筋におけるジストロフィン発現を免疫組織化学的にまた、ジストロフィン関連蛋白の発現も検討した。

【方法】

Duchenne型筋ジストロフィー6例、Becker型筋ジストロフィー1例、保因者1例、肢帯型筋ジストロフィー5例、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー1例、脊髄性筋萎縮症3例、正常コントロールにウイルス性筋炎、横紋筋融解壊死を疑い筋生検にて所見を認めなかった各1例の上腕または前腕から皮膚を採取した。これら疾患は、臨床症状・病理検査・遺伝子検査などにより診断された。Duchenne型筋ジストロフィー6例のうち1例は遺伝子異常は見られなかったが4例においてexon 50, exon 45, exon 48とexon 51, exon 45の欠失を認めた。1例は遺伝子検査未施行だが骨格筋のジストロフィン染色で完全欠損を認めた。Becker型筋ジストロフィー1例は、遺伝子検査でexon 51とexon 52の欠失と骨格筋のジストロフィン染色で部分欠損を認めた。症候性保因者1例は、近位筋優位の軽度筋力低下と高CK血症を認め、骨格筋のジストロフィン染色でモザイクパターンを示した。

得られた皮膚組織は直後にイソペンタンにて急速凍結し液体窒素内保存。その後クリオスタットで10 μ m連続切片を作製した。作製した各疾患の標本を、H.E.染色と平滑筋のマーカーのアクチン、ジストロフィン(C末, N末, Rod)への抗体ならびにジストロフィン関連蛋白の α -dystroglycan(α -DG), α -sarcoglycan(α -SG), β -sarcoglycan(β -SG), γ -sarcoglycan(γ -SG), δ -sarcoglycan(δ -SG)への抗体を用いABC法で免疫染色を行った^{7,10}。

【結果】

平滑筋のマーカーのアクチンは、全ての疾患の皮膚組織で立毛筋・汗腺の筋上皮細胞・血管壁に発現していた(図1)。

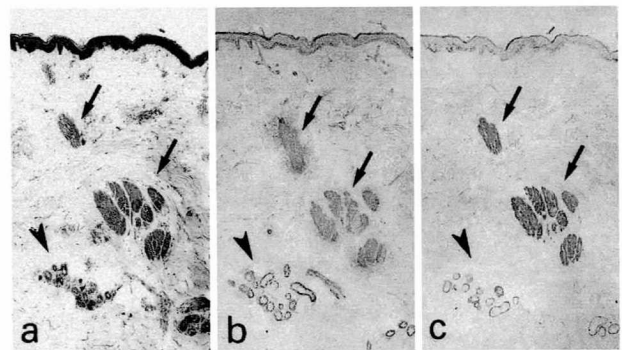


図1 皮膚病理標本(肢帯型筋ジストロフィー x13.2)

a; H.E.染色 b; アクチン染色 c; ジストロフィン染色

皮膚平滑筋組織である立毛筋(矢印)、汗腺の筋上皮細胞(矢頭)は、アクチン・ジストロフィンともに染色される。

立毛筋のジストロフィン染色は、Duchenne型筋ジストロフィーでC末が軽度発現、N末・Rodは染色されなかった。Becker型筋ジストロフィーはC末・N末の発現が低下し、Rodの発現が著しく低下していた(図2)。

症候性保因者では、C末・N末・Rodともにジストロフィン陽性細胞と陰性細胞が混在するモザイクパターンを示した。その他の疾患は、正常コントロールを含めC末・N末・Rod全て陽性であった(図3)。

正常コントロールにおける立毛筋のジストロフィン関連蛋白の免疫染色では、 α -DG・ α -SG・ β -SG・ γ -SG・ δ -SGの全てが発現していた。肢帯型筋ジストロフィー5例と比較したところ、3例において α -SGの発現が低下していた(図4)。

【考察】

筋生検によるジストロフィン染色はジストロフィノパチー診断の一つの方法である。進行性筋ジストロフィーの皮膚組織を用いた免疫染色に関しては、A. Marbini²¹³らは立毛筋のC末・N末・RodはDuchenne型筋ジストロフィーで陰性、Becker型筋ジストロフィーで淡く陽性と報告されている。今回の検討では、

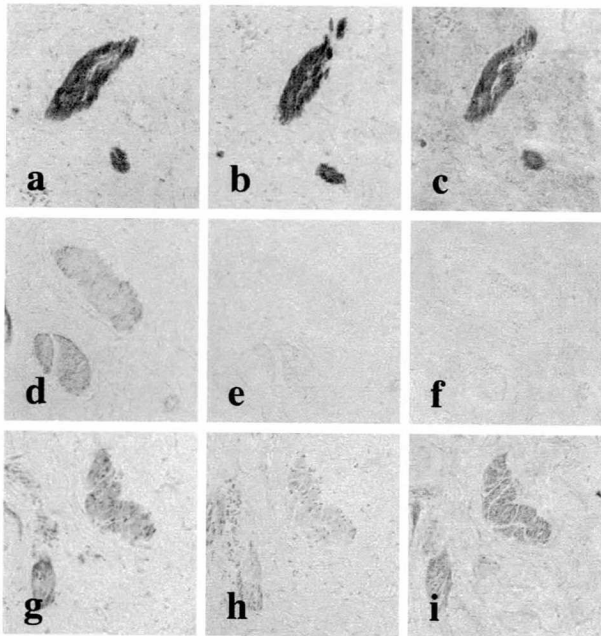


図2 立毛筋のジストロフィン染色
 a~c:コントロール (x 36) d~f: Duchenne型筋ジストロフィー (x 24)
 g~i: Becker型筋ジストロフィー (x 36)
 a,d,g; ジストロフィンC-terminus b,e,h: ジストロフィンrod domain
 c,f,i; ジストロフィンN-terminus
 Duchenne型筋ジストロフィーではC-terminusが淡く染色されるが、rod domain, N-terminusは染色されない。Becker型筋ジストロフィーは、コントロールに比べ発現が低下している。

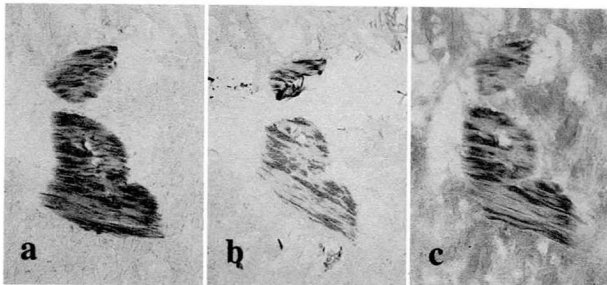


図3 症候性保因者の立毛筋におけるジストロフィン染色 (x 60)
 a; ジストロフィンC-terminus b: ジストロフィンrod domain c; ジストロフィンN-terminus
 ジストロフィン陽性細胞と陰性細胞の混在しているモザイクパターンを認める。

Duchenne型筋ジストロフィーでC末は淡く陽性であり、Becker型筋ジストロフィーではC末・N末・Rodの各々で発現低下の程度が異なった。研究結果に一部違いを認めたのは、抗体の稀釈倍率が異なる為ではないかと考え、Duchenne型筋ジストロフィーの立毛筋でC末が淡く発現したのは、骨格筋と立毛筋でisoformが異なる可能性が考えられた。

また、今回皮膚生検を施行したDuchenne型筋ジストロフィー患者の中には、電動車椅子状態もしくは気管切開・人工呼吸器管理・寝たきり状態の患者も含まれており、これら患者の立毛筋においても機能・形態が保たれていた。これは立毛筋においてC末が軽度発現していることが関与しているのかもしれない。また、筋萎縮・筋力低下の進行した患者でも皮膚生検による

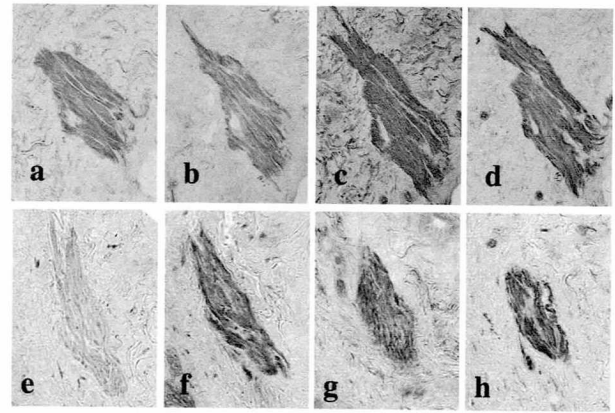


図4 立毛筋におけるジストロフィン関連蛋白の免疫染色 (x 30)
 a~d; コントロール e~h; 肢体型筋ジストロフィー
 a,e; α -sarcoglycan b,f; β -sarcoglycan c,g; γ -sarcoglycan d,h;
 δ -sarcoglycan
 コントロールの立毛筋では α -sarcoglycanの発現を認め、肢体型筋ジストロフィーで α -sarcoglycanの発現が低下している症例を認めた。

病理診断が可能であることが示唆された。

症候性保因者のジストロフィン染色におけるモザイクパターンは、骨格筋・心筋で報告があるが、平滑筋での報告はない^{2,11,16}。今回我々は、1例のみであるが症候性保因者の皮膚平滑筋組織である立毛筋が骨格筋同様にモザイクパターンを示すことを明らかにした。

以上の結果から、3つのdomain各々のジストロフィン染色を施行する必要があるが、皮膚生検は筋生検同様にジストロフィノパチーの診断に有用と考えられた。さらに、ジストロフィン関連蛋白に関して、 α -SGは骨格筋に特異的で平滑筋にはないと報告され、平滑筋では α -SGが ϵ -SGに置換されている報告されているが、我々の研究で皮膚平滑筋組織である立毛筋は α -SGが発現していた。立毛筋は平滑筋組織のなかでも異質なのかもしれない。今回肢体型筋ジストロフィー患者5例のうち3例において α -SGの発現が低下していた。今後、皮膚生検によるサルコグリカノパチー、ジストログリカノパチーの診断の可能性が示唆された。

【結論】

皮膚生検は、筋生検と同様にジストロフィノパチーの診断に有用と考えられた。

筋萎縮・筋力低下の進行したジストロフィノパチー患者でも皮膚生検による病理診断が可能と考えられた。

皮膚生検によるサルコグリカノパチー、ジストログリカノパチーの診断が行える可能性が示唆された。

【参考文献】

1. Arahata K, Ishiura S, Ishiguro T, Tsukahara T, Suhara Y, Eguchi C, Ishihara T, Nonaka I, Ozawa E, Sugita H. : Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide.

- Nature 1988; 333:861-863.
2. Arahata K, Ishihara T, Kamakura K, Tsukahara T, Ishiura S, Baba C, Matsumoto T, Nonaka I, Sugita H. : Mosaic expression of dystrophin on symptomatic carriers of Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 1989; 320:138-142.
 3. Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, Kunkel LM. : Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. *Hum Genet* 1990; 86:45-48.
 4. Bonilla E, Samitt CE, Miranda AF, Hays AP, Salviati G, DiMauro S, Kunkel LM, Hoffman EP, Rowland LP. : Duchenne muscular dystrophy: deficiency of dystrophin at the muscle cell surface. *Cell* 1988; 54:447-452.
 5. Byers TJ, Kunkel LM, Watkins SC. : The subcellular distribution of dystrophin in mouse skeletal, cardiac, and smooth muscle. *J Cell Biol* 1991; 115:411-421.
 6. Cullen MJ, Walsh J, Nicholson LV, Harris JB. : Ultrastructural localization of dystrophin in human muscle by using gold immunolabelling. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1990; 240:197-210.
 7. Higuchi I, Fukunaga H, Motokura F, Goto T, Niiyama N, Inose M, Izumi K, Ohkubo R, Nakagawa M, Arimura K, Osame M. : Characteristic expression of cell adhesion molecules in adhalin deficiency. *J Neurol Sci* 1996; 143:79-83.
 8. Hoffman EP, Fischbeck KH, Brown RH, Johnson M, Medori R, Loike JD, Harris JB, Waterston R, Brooke M, Specht L, Kupsky W, Chamberlain J, Caskey CT, Shapiro F, Kunkel LM. : Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 1998; 318:1363-1368.
 9. Hoffman EP, Knudson CM, Campbell KP, Kunkel LM. : Subcellular fractionation of dystrophin to the triads of skeletal muscle. *Nature* 1987; 330:754-758.
 10. Hsu SM, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29:577-580.
 11. Kamakura K, Kawai M, Arahata K, Koizumi H, Watanabe K, Sugita H. : A manifesting carrier of Duchenne muscular dystrophy with severe myocardial symptoms. *J Neurol* 1990; 237:483-485.
 12. Marbini A, Bellanova MF, Ferrari A, Lodesani M, Gemignani F. : Immunohistochemical study of merosin-negative congenital muscular dystrophy: laminin alpha 2 deficiency in skin biopsy. *Acta Neuropathol (Berl)* 1997; 94:103-108.
 13. Marbini A, Marcello N, Bellanova MF, Guidetti D, Ferrari A, Gemignani F. : Dystrophin expression in skin biopsy. Immunohistochemical localisation of striated muscle type dystrophin. *J Neurol Sci* 1995; 129:29-33.
 14. Miyatake M, Miike T, Zhao J, Yoshioka K, Uchino M, Usuku G. : Possible systemic smooth muscle layer dysfunction due to a deficiency of dystrophin in Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol Sci* 1989; 93:11-17.
 15. Uchino M, Teramoto H, Naoe H, Yoshioka K, Miike T, Ando M. : Localization and characterization of dystrophin in the central nervous system of controls and patients with Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57:426-429.
 16. Watanabe K, Izumi T, Natsui M, Matsubara N, Miyakita Y, Koyama S, Inomata T, Suzuki M, Shibata A. : Dystrophin negative skeletal and myocardial muscle cells in a carrier of Duchenne's muscular dystrophy. *Eur Heart J* 1993;14:989-992.
 17. Wessel HB : Dystrophin. a clinical perspective. *Pediatr Neurol* 1990; 6:3-12.
 18. Zubrzycka-Gaarn EE, Bulman DE, Karpati G, Burghes AH, Belfall B, Klamut HJ, Talbot J, Hodges RS, Ray PN, Worton RG. : The Duchenne muscular dystrophy gene product is localized in sarcolemma of human skeletal muscle. *Nature* 1988; 333:466-469.

Collagen VI Deficiency in Ullrich's Disease

Itsuro Higuchi, MD,¹ Masahito Suehara, MD,²
 Hiroyuki Iwaki, MD,¹ Masanori Nakagawa, MD,¹
 Kimiyoshi Arimura, MD,¹ and Mitsuhiro Osame, MD¹

Ullrich's disease is a unique congenital disorder described by Ullrich in 1930.¹ The major clinical findings include muscle weakness and wasting, striking contractures of the proximal joints, and hyperflexibility of the distal joints from an early infantile stage. This disease is considered to be a distinct entity of multisystemic involvement inherited as an autosomal recessive trait. Two patients, a 20- and a 21-year-old male, with sporadic cases of Ullrich's disease are presented. The patients showed generalized muscle weakness, hypotonia, hyperextensibility of the distal joints, and contractures of the proximal joints. The clinical course was progressive, and they underwent tracheotomy because of respiratory failure between the ages of 17 and 18 years. On histochemical examination of biceps brachii muscle, proliferating connective tissue and marked variation in muscle fiber diameter were recognized. We performed an immunohistochemical study on components of the extracellular matrix in biopsied skeletal muscle and skin specimens. The monoclonal antibodies used were collagen IV (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN), collagen VI (Fuji Chemical, Takaoka, Japan, and ICN Biomedicals, Aurora, OH), collagen VII (Chemicon, Temecula, CA), and other components of the extracellular matrix. We found a characteristic hallmark of Ullrich's disease in the two patients. Collagen VI expression was completely deficient in the skeletal muscle and skin specimens from the two patients with Ullrich's disease (Fig).

Collagen VI is a widely expressed protein with cell adhesive properties. Mutations in the genes that code for collagen VI subunits (i.e., COL6A1, COL6A2, and COL6A3) have been reported in Bethlem's myopathy.^{2,3} It has been reported that the immunohistochemical expression of collagen VI in Bethlem's myopathy is not deficient but reduced and suggested that the disease results from functional protein haploinsufficiency of collagen VI. Because patients with Ullrich's disease have no dominant family history and exhibit marked distal joint laxity and hyperflexibility, it has been considered that both diseases are different clinical entities until now. Although molecular genetic analysis of collagen VI in these patients with Ullrich's disease is underway, it is important to determine whether the genetic defect in Ullrich's disease constitutes structural mutations of collagen VI or enzymatic defects of collagen VI biosynthesis.

In conclusion, our findings suggest that immunohistochemical collagen VI analysis may greatly improve the quality of diagnosis of Ullrich's disease, which can be classified as one of the heritable collagen disorders. This is the first report on a pathogenetic defect in Ullrich's disease.

¹Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima, and ²National Okinawa Hospital, Okinawa, Japan

References

- Ullrich O. Kongenitale atonisch-sklerotische Muskeldystrophie ein weiterer Typus der heredodegenerativen Erkrankungen des neuromuskularen Systems. *Z Ges Neurol Psychiatr* 1930;126:171-201.

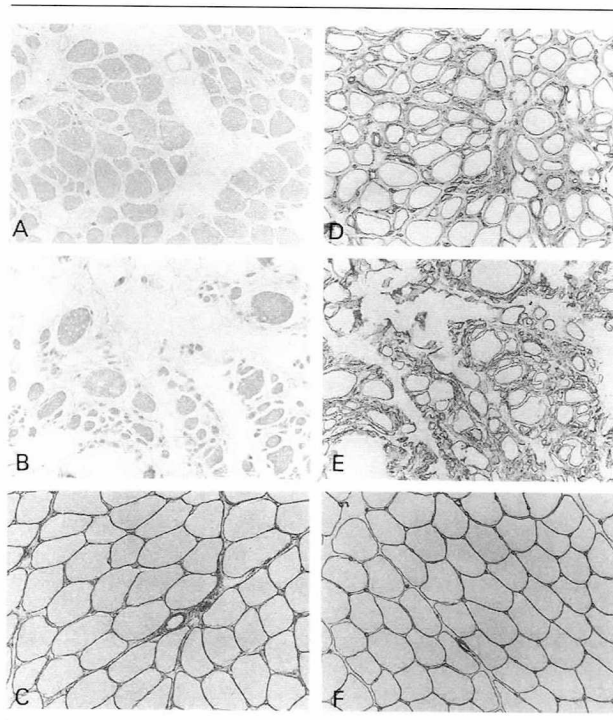


Fig. Immunohistochemical analysis of collagen VI (A-C) and collagen IV (D-F) in biopsied muscle specimens from two patients with Ullrich's disease (Case 1: A, D; Case 2: B, E) and a control patient (C, F). Collagen VI is deficient in the two patients with Ullrich's disease. Normal collagen IV expression can be seen in all patients.

- Jöbsis GJ, Keizers H, Vreijling JP, et al. Type VI collagen mutations in Bethlem myopathy, an autosomal dominant myopathy with contractures. *Nat Genet* 1996;14:113-135.
- Pan TC, Zhang RZ, Pericak-Vance MA, et al. Missense mutation in a von Willebrand factor type A domain of the $\alpha 3(VI)$ collagen gene (COL6A3) in a family with Bethlem myopathy. *Hum Mol Genet* 1998;7:807-812.

Cathepsin D Polymorphism Not Associated with Alzheimer's Disease in Japanese

Toshifumi Matsui, MD,¹ Yu-ichi Morikawa, BS,¹
 Masayoshi Tojo, BS,¹ Nobuyuki Okamura, MD,¹
 Masahiro Maruyama, MD,¹ Hisao Hirai, MD,¹
 Hiroshi Chiba, MD,¹ Sachio Matsushita, MD,²
 Susumu Higuchi, MD, PhD,² Hiroyuki Arai, MD, PhD,¹
 and Hidetada Sasaki, MD, PhD¹

We read with interest the report of Papassotiropoulos and colleagues regarding the association between the Ala224Val (C→T) polymorphism encoded at cathepsin D (catD) exon 2 and the development of Alzheimer's disease (AD).¹ In this report, they demonstrated that the catD*T allele was significantly overrepresented in AD patients (11.8%) compared with nondemented control subjects (4.9%) and that a combination of apolipoprotein E (ApoE) $\epsilon 4$ and catD*T allele further increased the risk of AD. Because several studies have shown that catD is one of the putative enzymes that are capable of cleavage of β -amyloid precursor protein,² the

6. Hadjivassiliou M, Gibson A, Davies JG, et al. Does cryptic gluten sensitivity play a part in neurological illness? *Lancet* 1996; 347:369–371.
7. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Chattopadhyay AK, et al. Clinical, radiological, neurophysiological, and neuropathological characteristics of gluten ataxia. *Lancet* 1998;352:1582–1585.
8. Pellicchia MT, Scala R, Filla A, et al. Idiopathic cerebellar ataxia associated with celiac disease: lack of distinctive neurological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;66:32–35.
9. Wieser H. The precipitating factor in coeliac disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995;9:191–207.
10. Kaknoff MF. Genetic basis of coeliac disease-role of HLA genes. In: Marsh MN, ed. *Coeliac disease*. Boston: Blackwell, 1992:215–238.
11. Hadjivassiliou M, Grunewald RA, Davies-Jones GA. Gluten sensitivity: a many headed hydra. *BMJ* 1999;318:1710–1711.
12. Cooper BT, Holmes GK, Ferguson R, Cooke WT. Celiac disease and malignancy. *Medicine (Baltimore)* 1980;59:249–261.
13. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997;3:797–801.
14. Volta U, Molinaro N, De Franchis R, et al. Correlation between IgA anti-endomysial antibodies and subtotal villous atrophy in dermatitis herpetiformis. *J Clin Gastroenterol* 1992;14: 298–301.
15. Kinney HC, Burger PC, Hurwitz BJ, et al. Degeneration of the central nervous system associated with celiac disease. *J Neurol Sci* 1982;53:9–22.
16. Chinnery PF, Reading PJ, Milne D, et al. CSF antigliadin antibodies and the Ramsay Hunt syndrome. *Neurology* 1997;49: 1131–1133.
17. Collin P, Pirttila T, Nurmikko T, et al. Celiac disease, brain atrophy, and dementia. *Neurology* 1991;41:372–375.

Frameshift Mutation in the Collagen VI Gene Causes Ullrich's Disease

Itsuro Higuchi, MD,¹ Tadafumi Shiraishi, MD,¹
Teruto Hashiguchi, MD,² Masahito Suehara, MD,³
Takahito Niiyama, MD,¹ Masanori Nakagawa, MD,¹
Kimiyoishi Arimura, MD,¹ Ikuro Maruyama, MD,¹
and Mitsuhiro Osame, MD¹

Patients with Ullrich's disease have generalized muscle weakness, multiple contractures of the proximal joints, and hyperextensibility of the distal joints. Recently, we found a deficiency of collagen VI protein in two patients with Ullrich's disease. In this study, we detected a homozygous 26 bp deletion in exon 14 of the collagen VI alpha 2 gene (COL6A2) in one patient. This mutation causes a frameshift and a premature termination codon, and results in a truncated collagen VI alpha 2 chain. Our data suggest that at least some cases of Ullrich's disease result from recessive mutations in COL6A2.

Ann Neurol 2001;50:261-265

Ullrich's disease is a unique congenital disorder described as congenital hypotonic-sclerotic muscular dystrophy by Ullrich in 1930.¹ The major clinical findings include generalized muscle weakness and wasting, striking contractures of the proximal joints, hyperflexibility of the distal joints from an early infantile stage, and a progressive course. Muscle biopsies have revealed unequivocal pathological changes of muscular dystrophy.^{2,3} Although the gene locus has not been mapped yet, this disease is considered to be a distinct entity of multisystemic involvement inherited as an autosomal recessive trait.^{4,5} Recently, we found a complete deficiency of collagen VI in two patients with Ullrich's disease.⁶ Our present molecular genetic study confirmed the disease entity of Ullrich's disease, which was called "a forgotten muscular dystrophy" in a previous report.⁷

From the ¹Third Department of Internal Medicine and ²Department of Laboratory and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima; and ³National Okinawa Hospital, Okinawa, Japan.

Received Feb 5, 2001, and in revised form May 7, 2001. Accepted for publication May 9, 2001.

Published online Jun 27, 2001.

Address correspondence to Dr Higuchi, Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8520, Japan.
E-mail: ihiguchi@med6.kufm.kagoshima-u.ac.jp

Patients and Methods

Patient 1

A 20-year-old male whose parents had no apparent clinical symptoms had neonatal hypotonia and was able to walk supported only between 3 and 5 years old. On examination he showed generalized muscle weakness and atrophy, hyperextensibility of the distal joints, contractures of the proximal joints, a high-arched palate, posterior protrusion of the calcaneus, and kyphoscoliosis (Fig 1). His intellectual development and sensory systems were normal. The serum creatine kinase (CK) was normal. Percent VC (vital capacity) had decreased to 15.8%. Electromyography was myopathic. The clinical course was progressive and the patient underwent tracheotomy because of respiratory failure at the age of 17 years. Muscle and skin biopsy was performed at the age of 20 years.

Patient 2

A 21-year-old male whose parents had no apparent clinical symptoms had neonatal hypotonia and was diagnosed as having congenital dislocation of the bilateral hip joints at 3 months. He was able to sit upright at 3 years but has not been able to walk so far. On examination he showed generalized muscle weakness and atrophy, hyperextensibility of the distal joints, contractures of the proximal joints, a high-arched palate, posterior protrusion of the calcaneus, torticollis, and kyphoscoliosis (see Fig 1). His intellectual develop-

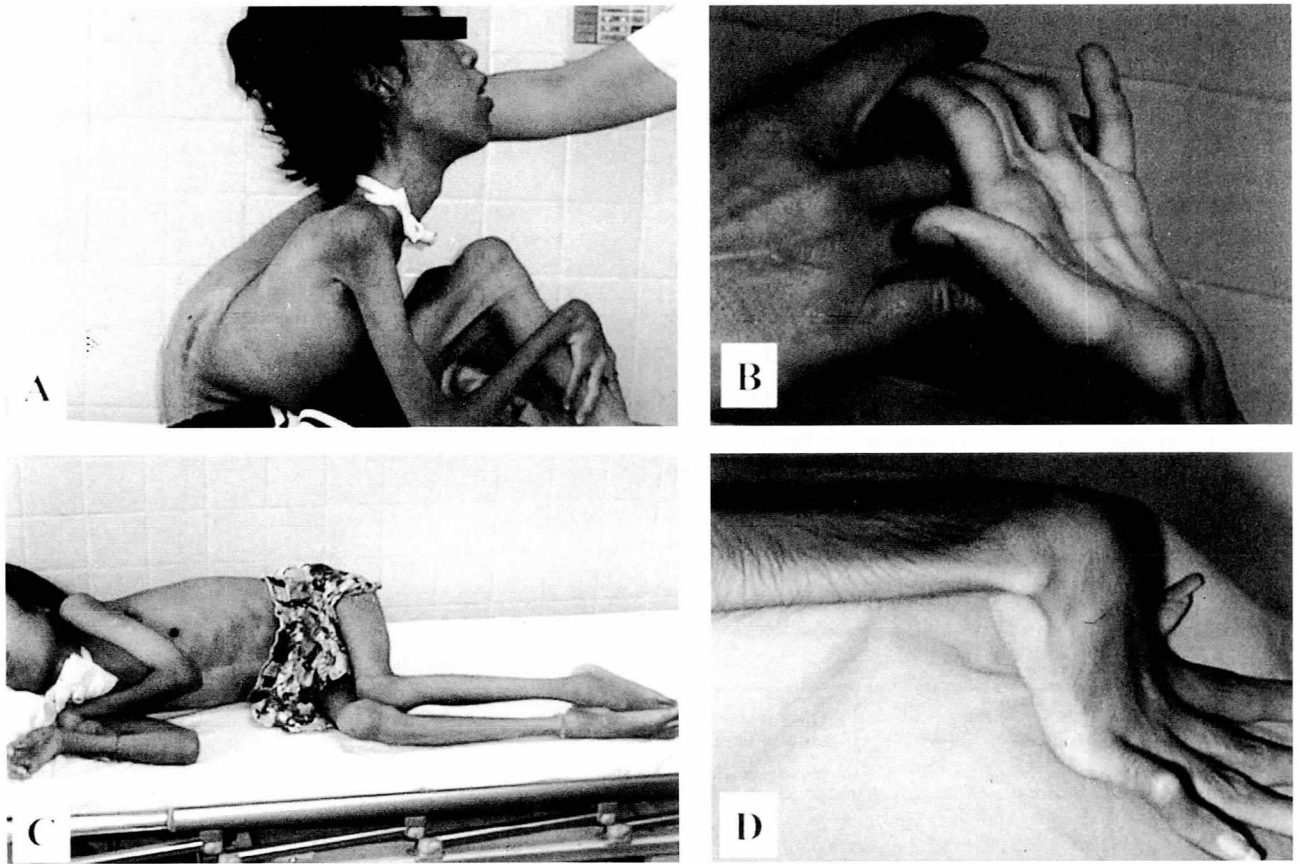
ment and sensory systems were normal. The serum CK was normal. Electromyography was myopathic. He underwent tracheotomy because of respiratory failure at 14 years old. He has been receiving artificial ventilation during the night since he was 18 years old. Muscle and skin biopsy was performed at the age of 21 years.

As controls, muscle or skin specimens were obtained by open biopsy from patients with various neuromuscular diseases.

Immunohistochemistry

Frozen biopsied biceps brachii muscle specimens and biopsied skin specimens from the two patients and other neuromuscular diseases were cut into 8 μ m sections. Besides standard histochemical analysis, an immunohistochemical study was performed on components of the cell membrane and extracellular matrix. The monoclonal antibodies used comprised a 1:100 dilution of collagen III (Chemicon, Temecula, CA), a 1:50 dilution of collagen IV (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN), two kinds of collagen VI (Fuji Chemical, Takaoka, Japan, 1:1000 dilution; ICN Biomedicals, Aurora, OH, 1:100 dilution), a 1:50 dilution of collagen VII (Chemicon), a 1:100 dilution of chondroitin-4-sulphate (Chemicon), a 1:200 dilution of heparan sulfate proteoglycan (Boehringer Mannheim), a 1:1000 dilution of merosin (Gibco BRL, Gaithersburg, MD), and a 1:2000 dilution of

Fig 1. Clinical picture of Ulrich's disease. Generalized muscle atrophy with contractures of proximal joints (A, C), and marked hyperflexibility of distal joints (B, D) in Patient 1 (A, B) and Patient 2 (C, D) with Ulrich's disease.



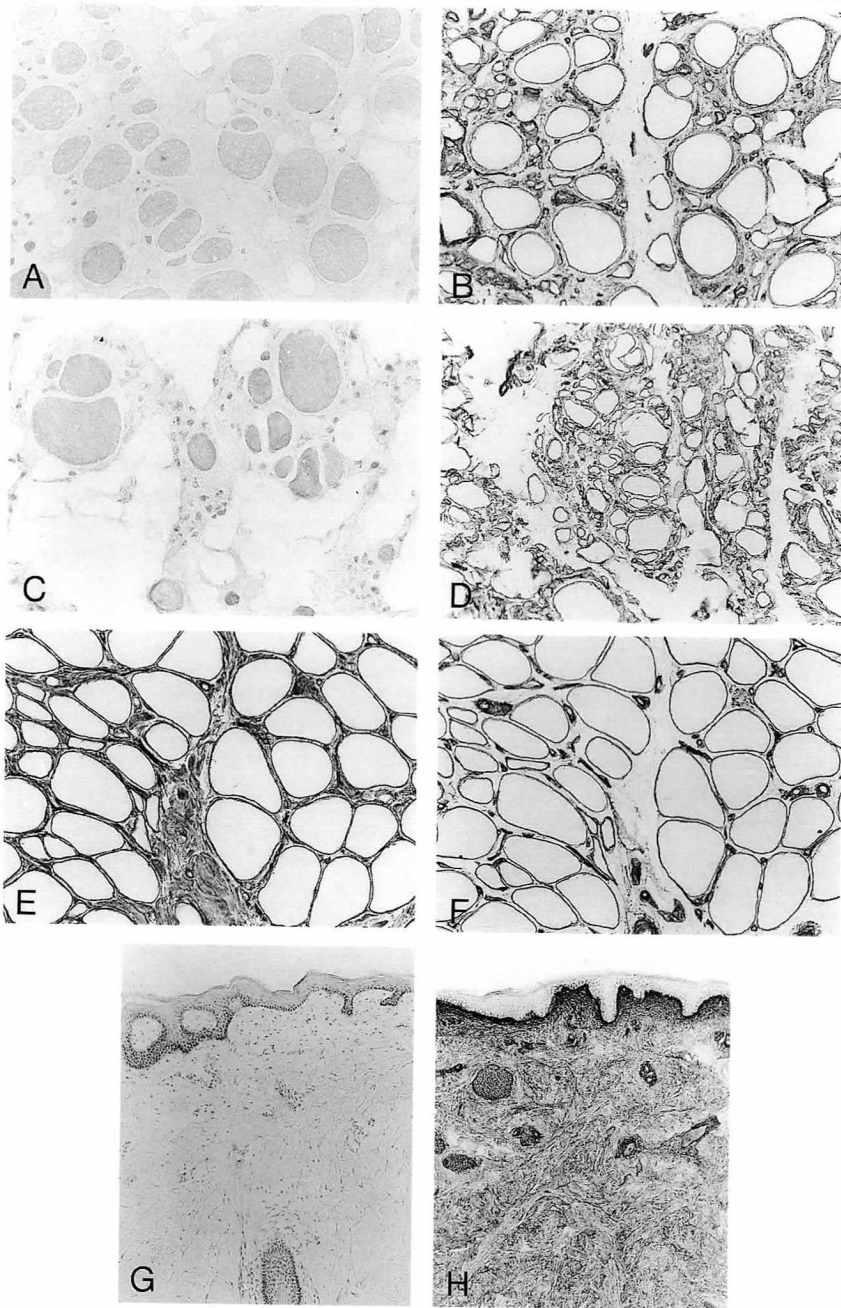


Fig 2. Immunohistochemical staining of biopsied muscle (A–F) and skin (G, H) specimens. Immunohistochemical analysis of collagen VI (A, C, E) and collagen IV (B, D, F) in biopsied muscle specimens from two patients with Ulrich's disease (Patient 1: A, B; Patient 2: C, D), and a patient with Becker muscular dystrophy (E, F). Collagen VI is deficient in the two patients with Ulrich's disease. Collagen IV expression was upregulated in the endomysium of the skeletal muscle specimens from the two patients with Ulrich's disease. Immunohistochemical analysis of collagen VI in biopsied skin specimens from Patient 1 with Ulrich's disease (G) and a patient with Duchenne muscular dystrophy (H). Collagen VI is completely deficient in the patient with Ulrich's disease in contrast to the marked expression in the dermis in the patient with Duchenne muscular dystrophy. $\times 150$.

laminin B1 (Gibco). All immunohistochemical procedures were performed as reported previously.⁸

Collagen VI Mutation Detection

Total cellular RNA of fibroblasts, obtained from skin biopsy specimens, was isolated by the modified acid guanidinium-phenol-chloroform method.⁹ The RNA solutions were then used to synthesize cDNA with a first-strand cDNA Kit (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ). The cDNA solutions were prepared with N6 random primer and reverse transcriptase. The triple helical domains of the three collagen VI genes (COL6A1, COL6A2, and COL6A3) were amplified by polymerase chain reaction (PCR) using three specific pairs of

synthetic oligonucleotides per gene, which were designed on the basis of the collagen VI cDNA sequence reported previously.^{10,11} The nine sets of primers used were as follows:

388 bp: COL6A11-F-(5'-TCGAATGCCAGCCTGCAAG-AGGACC-3');
 COL6A11-R-(5'-TCAGCTCCAGGCTCGCCCTTT-TCTC-3');
 355 bp: COL6A12-F-(5'-CCGGCGCCTTTGGACTGAA-AGGAGA-3');
 COL6A12-R-(5'-CCCTCATCGCCTCGGTAGCCTT-TAG-3');

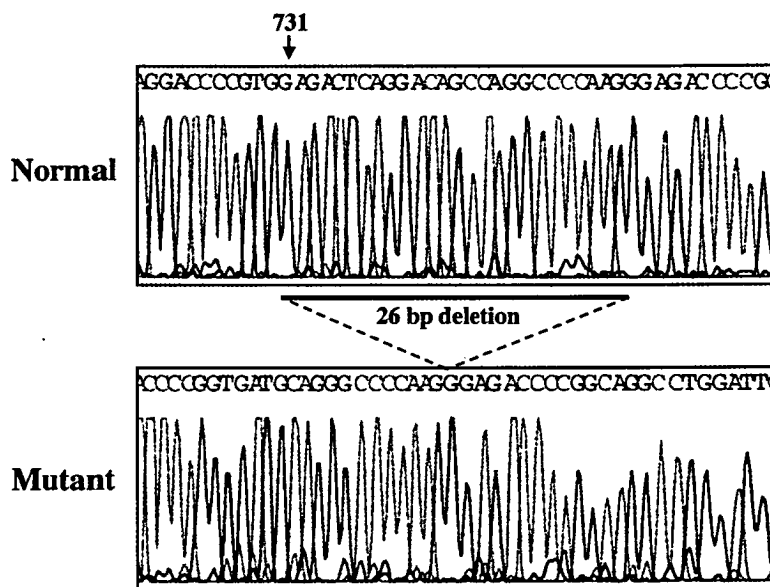


Fig 3. Direct analysis of the nucleotide sequences of COL6A2 cDNA surrounding the deletion in exon 14 in Patient 1 with Ullrich's disease and in a normal control. A frameshift mutation with a deletion of 26 nucleotides from nt 731 to nt 756 can be seen.

388 bp: COL6A13-F-(5'-AGGCTGGCCCTATCGGACC-TAAAGG-3');
 COL6A13-R-(5'-AAAATCTCGCATTTCGTCCGGC-CCAG-3');
 472 bp: COL6A21-F-(5'-CTACGGAGAGTGCTACAAG-GTGAG-3');
 COL6A21-R-(5'-ATTGTTGCCTTGATACCCCTT-3');
 524 bp: COL6A22-F-(5'-ATGGACAGAAGGGCAAGC-TG-3');
 COL6A22-R-(5'-TGGCTGTCCTGAGTCTCCAC-3');
 500 bp: COL6A23-F-(5'-GAGAGTTGGCAACAAAGG-AG-3');
 COL6A23-R-(5'-AGCTGTCGATGACGAAGACC-3');
 400 bp: COL6A31-F-(5'-TTCCCTGCAAGTGCTCTG-GGCAGAG-3');
 COL6A31-R-(5'-TGGCTGTCTTGTCTCTGGGTTAC-CCG-3');
 409 bp: COL6A32-F-(5'-GAGATGTTGGGATTTCGAG-GGGACCC-3');
 COL6A32-R-(5'-CCGATTCCTCCTTTTGGTCCTG-GCT-3');
 328 bp: COL6A33-F-(5'-TGGAAGAAAGGGTGAGC-CCGGAGA-3');
 COL6A33-R-(5'-GCACATTGATCGATGGAGTCGCC-CC-3').

Genomic DNA of leukocytes was also subjected to PCR amplification for COL6A2 genomic fragments using the same primers as those used for the cDNA. The PCR product was separated, purified, and concentrated with a Gel Extraction Kit (Qiagen, Bothell, WA). The cycle sequencing reaction was performed with 10 ng/100 bp of the purified PCR product, using 3.2 pmol of the same primers as those used for PCR amplification. Sequencing was performed with an ABI PRISM dye terminator cycle sequencing kit (PerkinElmer, Oak Ridge, TN). The purified products were run on an ABI PRISM 310

DNA Sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA). As controls in the gene analysis, fibroblasts and circulating leukocytes obtained from normal volunteers were used.

Results

On histochemical examination of the two patients, marked proliferation of fibrous connective tissue, variation in muscle fiber diameter with very small calibered muscle fibers, a fair number of degenerating and regenerating fibers, scarce necrotic fibers, and occasional lobulated fibers were observed. On immunohistochemical examination, collagen VI expression was observed to increase with the proliferation of fibrous connective tissue in other neuromuscular diseases; however, collagen VI expression was completely absent in the skeletal muscle and skin specimens from the two patients with Ullrich's disease (Fig 2). In contrast, collagen IV expression was upregulated in the endomysium and perimysium of skeletal muscle specimens from the two patients with Ullrich's disease (see Fig 2). Other cell membrane and extracellular matrix components examined were all normal in the two patients.

Direct sequencing of both PCR products from cellular RNA of fibroblasts and genomic DNA of leukocytes revealed a homozygous 26 bp deletion in exon 14 of the collagen VI alpha 2 gene (COL6A2) in Patient 1 with Ullrich's disease (Fig 3). This mutation causes a frameshift and a premature termination codon, 169 bp downstream from the deletion, and results in a truncated collagen VI alpha 2 chain, which exhibits impaired assembly and is supposed to be degraded before secretion from the cell. The pathogenetic mutation of collagen VI in Patient 2 with Ullrich's disease has not yet been determined.

Discussion

The most conspicuous pathological finding in the present study was that collagen VI expression was completely deficient in the two patients with Ullrich's disease in spite of the marked proliferation of fibrous connective tissue. The generalized symptoms of Ullrich's disease can be explained by the defect of the collagen VI protein, which shows a widespread distribution in virtually all connective tissues, including skeletal muscle,¹² joint capsules, ligaments, tendons, and skin.¹³ Collagen VI is a microfibrillar protein in the extracellular matrix with cell adhesive properties and serves as an anchoring element between collagen I/III fibrils and basement membranes.¹⁴ Many matrix components have been reported to interact with collagen VI.¹⁵ Mutations in the genes that code for collagen VI subunits have been reported in Bethlem myopathy.^{16,17} Bethlem myopathy is an autosomal dominant inherited disease characterized by proximal muscle weakness and joint contractures. It has been reported that the expression of collagen VI in Bethlem myopathy is not deficient, and suggested that the disease results from a functional protein haploinsufficiency of collagen VI. Ullrich's disease exhibits no dominant family history and shows marked distal joint laxity and hyperflexibility lasting into the advanced stage, and its clinical course is more severe than in patients with Bethlem myopathy.

A complete deficiency of collagen VI has been reported in a homozygous mutant of COL6A1 knockout mouse as an animal model for Bethlem myopathy.¹⁸ However, the present study suggests that this homozygous knockout mouse should be regarded as an animal model of Ullrich's disease and the milder heterozygous mouse is an animal model of Bethlem myopathy. Interestingly, in the COL6A1 knockout mouse, the most prominent pathological change was observed in the diaphragm, which may be relevant as to the frequent manifestation of respiratory failure in patients with Ullrich's disease.

Although the precise mechanism underlying the dystrophic muscle changes with a deficiency of collagen VI remains unknown, collagen VI play important roles in wound healing in the skin.¹⁹ In the myogenic C2C12 cell line, COL6A2 has been reported to exhibit the same regulation as the MyoD1 and myogenin genes.²⁰ These data indicate that COL6A2 and the collagen VI protein may be involved in a differentiation or regeneration process in skeletal muscle. In conclusion, our findings suggest that at least some cases of Ullrich's disease result from mutations in COL6A2. They also expand the clinical spectrum of phenotypes associated with the collagen VI gene. This is the first report of a pathogenetic mutation in Ullrich's disease and the first demonstration that a heritable collagen disorder can cause congenital muscular dystrophy.

This study was supported in part by the Research Grant (10A-1) for Nervous and Mental Disorders from the Ministry of Health and Welfare.

We thank Noriko Hirata for her technical assistance.

References

1. Ullrich O. Kongenitale atonisch-sklerotische Muskeldystrophie ein weiterer Typus der heredodegenerativen Erkrankungen des neuromuskularen Systems. *Z Ges Neurol Psychiat* 1930;126:171-201.
2. Nonaka I, Une Y, Ishihara T, et al. A clinical and histological study of Ullrich's disease (congenital atonic-sclerotic muscular dystrophy). *Neuropediatrics* 1981;12:197-208.
3. Goto A, Ishida A, Kobayashi Y, Takada G. A case of Ullrich disease with distinct pathological change of muscular dystrophy. *No To Hattatsu* 1991;23:289-293 (in Japanese).
4. Furukawa T, Toyokura Y. Congenital, hypotonic-sclerotic muscular dystrophy. *J Med Genet* 1977;14:426-429.
5. De Paillette L, Aicardi J, Goutieres F. Ullrich's congenital atonic sclerotic muscular dystrophy. *J Neurol* 1989;236:108-110.
6. Higuchi I, Suehara M, Iwaki H, et al. Collagen VI deficiency in Ullrich's disease. *Ann Neurol* 2001;49:544.
7. Serratrice G, Pellissier JF. A forgotten muscular dystrophy: Ullrich's disease. *Rev Neurol Paris* 1983;139:523-525 (in French).
8. Higuchi I, Niiyama T, Uchida Y, et al. Multiple episodes of thrombosis in a patient with Becker muscular dystrophy with marked expression of utrophin on the muscle cell membrane. *Acta Neuropathol* 1999;98:313-316.
9. Chomczynski P, Sacchi M. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-159.
10. Chu ML, Conway D, Pan TC, et al. Amino acid sequence of the triple-helical domain of human collagen type VI. *J Biol Chem* 1988;263:18601-18606.
11. Saitta B, Wang YM, Renkart L, et al. The exon organization of the triple-helical coding regions of the human alpha 1 (VI) and alpha 2 (VI) collagen genes is highly similar. *Genomics* 1991;11:145-153.
12. von der Mark H, Aumailley M, Wick G, et al. Immunohistochemistry, genuine size and tissue localization of collagen VI. *Eur J Biochem* 1984;142:493-502.
13. Hessle H, Engvall E. Type VI collagen. Studies on its localization, structure, and biosynthetic form with monoclonal antibodies. *J Biol Chem* 1984;259:3955-3961.
14. Kuo HJ, Maslen CL, Keene DR, Glanville RW. Type VI collagen anchors endothelial basement membranes by interacting with type IV collagen. *J Biol Chem* 1997;272:26522-26529.
15. Bidanset DJ, Guidry C, Rosenberg LC, et al. Binding of the proteoglycan decorin to collagen type VI. *J Biol Chem* 1992;267:5250-5256.
16. Jöbsis GJ, Keizers H, Vreijling JP, et al. Type VI collagen mutations in Bethlem myopathy, an autosomal dominant myopathy with contractures. *Nat Genet* 1996;14:113-135.
17. Pan TC, Zhang RZ, Pericak-Vance MA, et al. Missense mutation in a von Willebrand factor type A domain of the alpha 3 (VI) collagen gene (COL6A3) in a family with Bethlem myopathy. *Hum Mol Genet* 1998;7:807-812.
18. Bonaldo P, Braghetta P, Zanetti M, et al. Collagen VI deficiency induces early onset myopathy in the mouse: an animal model for Bethlem myopathy. *Hum Mol Genet* 1998;7:2135-2140.
19. Oono T, Specks U, Eckes B, et al. Expression of type VI collagen mRNA during wound healing. *J Invest Dermatol* 1993;100:329-334.
20. Ibrahimi A, Bertrand B, Bardon S, et al. Cloning of alpha 2 chain of type VI collagen and expression during mouse development. *Biochem J* 1993;289:141-147.

受精卵診断における展望

—日本産科婦人科学会との関わりから—

分担研究者 貝谷久宣

(社)日本筋ジストロフィー協会

共同研究者 河端静子、米園弥生

[緒 言]

平成5年に鹿児島大学医学部 永田行博教授がデュシヤンヌ型筋ジストロフィーの長男のいる夫婦に対する「着床前診断」の実施を同大学倫理委員会に申請した。これを機に、着床前診断の代表的な対象疾患として「筋ジストロフィー」がクローズアップされた。

平成8年度より日本産科婦人科学会理事会内に「診療・研究に関する倫理委員会」が設置され、平成10年に着床前診断を学会の審査等を条件に認める：「会告」が定められた。これをよりどころに鹿児島大学医学部倫理委員会は、平成11年1月28日永田教授の申請を承認、この臨床研究実施は同大学より日本産科婦人科学会に申請された。これにたいし、平成12年2月26日、(社)日本産科婦人科学会から承認しない旨の最後報告がなされた。

これまでの経過を概観し、(社)日本筋ジストロフィー協会の関与について報告する。

[背景と方法]

受精卵の着床前遺伝子診断の臨床応用：

経過 (1) 平成4年～7年

平成4年4月22日：鹿児島大学産婦人科学講座は、臨床応用を前提としたヒト受精卵による基礎的検討を行うために、「ヒト胚(受精卵)バイオペシーによる遺伝子診断に関する研究」を鹿児島大学医学部倫理委員会に申請した。

平成4年6月16日：同申請が許可され、ヒト受精卵を用いての研究がはじまった。

平成5年7月8日：鹿児島大学産婦人科学講座は、「ヒト胚(受精卵)バイオペシーによる遺伝子診断の臨床応用」を鹿児島大学倫理委員会に申請した。

平成7年3月9日：鹿児島大学倫理委員会は、15回の審査の結果ほぼ審議を尽くしたとして、条件付きで申請を認め、次回の倫理委員会で正式承認することを決定した。

平成7年3月24日：第33回倫理委員会が開催された。マスコミや障害者団体からの意見が殺到し、この倫理委員会では正式承認は検討されなかった。

受精卵の着床前遺伝子診断の臨床応用：

経過 (2) 平成7年～8年

平成7年8月25日：(社)日本産科婦人科学会および日本不妊学会に対して、鹿児島大学 永田行博教授は「受精卵の着床前診断について検討してほしい」との要望の書簡を発送した。

平成7年9月29日：(社)日本産科婦人科学会から回答：昭和58年10月に「体外受精・胚移植」に関する見解を会告として公表しており、これらに抵触しないかぎりは「ヒト(胚)受精卵バイオペシーによる遺伝子診断の臨床応用」は実施して差しつかえない。

平成7年12月6日：第37回鹿児島大学医学部倫理委員会開催。(社)日本産科婦人科学会での結論を待つとして、以後この件に関する実質的な討議は行われず。

平成8年4月27日：鹿児島大学医学部主催の市民公開シンポジウム「着床前診断を考える」を開催した。

受精卵の着床前遺伝子診断の臨床応用：

経過 (3) 平成9年～10年

平成9年3月：(社)日本筋ジストロフィー協会理事が(社)日本産科婦人科学会会長、倫理委員会委員長、その他の役員および鹿児島大学医学部永田教授と意見交換。

平成9年3月25日：鹿児島大学医学部主催の市民公開シンポジウム「着床前診断を考える」を鹿児島大学医学雑誌 第48巻補冊として発行した。

平成10年3月14日：(社)日本産科婦人科学会主催「着床前診断に関する公開討論会」に(社)日本筋ジストロフィー協会よりシンポジストとして貝谷理事が参加。

平成10年6月10日：(社)日本産科婦人科学会主催「着床前診断に関する第2回公開討論会」に(社)日本筋ジストロフィー協会より横田昌樹理事および貝谷嘉洋会員が参加。

平成10年6月27日：(社)日本産科婦人科学会理事会は「着床前遺伝子診断の臨床応用を臨床研究として行うことを認める。

受精卵の着床前遺伝子診断の臨床応用：

経過 (4) 平成10年～11年

平成10年10月：(社)日本産科婦人科学会雑誌50巻10号に、会告「ヒトの体外受精・胚移植の臨床応用の範囲」についての見解」「ヒトの体外受精・胚移植の臨床応用の範囲」についての見解に対する解説」および「着床前診断」に関する見解」「着床前診断」に関する見

解に対する解説」が掲載された。

平成11年1月28日：鹿児島大学医学部倫理委員会はデュシェンヌ型筋ジストロフィーを対象とした着床前診断を条件付きで承認：1)ICをクライアントからとるための説明の医師を2から3名へ、2)増員する医師は産婦人科医ではなく、日本人類遺伝学会遺伝相談カウンセラーの資格を持つ医師か小児科医

平成11年2月17日：(社)日本筋ジストロフィー協会は鹿児島大倫理委員会委員長および(社)日本産科婦人科学会会長宛てに申入書の送付。2月19日、同文書をマスコミへも送付。

受精卵の着床前遺伝子診断の臨床応用：

経過(5)平成11年

平成11年5月24日：鹿児島大学医学部産婦人科は「着床前遺伝子診断の臨床応用」を(社)日本産科婦人科学会へ申請。

平成11年6月24日：(社)日本産科婦人科学会より鹿児島大学へ中間報告。1)着床前遺伝子診断ではなく着床前性別診断である。2)本件の対象疾患であるデュシェンヌ型進行性筋ジストロフィーでは、着床前疾患遺伝子診断は、症例によっては可能。

平成11年10月13日：(社)日本産科婦人科学会より質問書。申請対象疾患がデュシェンヌ型進行性筋ジストロフィーである本件(1件)では、特定のエクソン欠失が同定されているので、性別診断ではなく、遺伝子診断をする必要がある。クライアントが着床前診断とくに性別診断を選択するに至った経緯を再確認のためクライアントから直接聴取することを要望。

受精卵の着床前遺伝子診断の臨床応用：

経過(6)平成11年～12年

平成11年11月22日：鹿児島大学より(社)日本産科婦人科学会へ質問書。1)遺伝子診断の正答率について。2)クライアントとの面接は守秘義務を犯すことになる。

平成11年12月24日：(社)日本産科婦人科学会から鹿児島大学への回答。1)現在実施可能な最善の方法として胚性別判定で診断するのは問題がある。2)DM Dの着床前診断が胚性別判定で開始されれば、正常な男性胚の扱いに対して社会的な誇りは免れない。

受精卵の着床前遺伝子診断の臨床応用：

経過(7)平成12年

平成12年2月5日：(社)日本筋ジストロフィー協会は厚生省精神・神経疾患研究委託費「遺伝子性筋疾患

の根本治療への基盤研究」と共催にて、公開シンポジウム「遺伝子医療における社会的・倫理的問題を考えるーPart2」において受精卵診断に焦点を絞って開催。

[結果]

平成11年5月24日付けの申請：「着床前遺伝子診断の臨床応用」にたいし、平成12年2月26日、(社)日本産科婦人科学会から鹿児島大学医学部産婦人科へ審議結果の最終報告がなされた。その内容は「申請対象疾患がデュシェンヌ型進行性筋ジストロフィーである本件では、エクソン44欠失が同定されています。この場合遺伝子診断が優先されるべきであり、性別判定による着床前診断の実施は承認できません。

着床前診断の実施にあたっては、クライアントに対して第三者的な立場から公平な情報を提供できる遺伝学および生殖医学の専門家によるカウンセリングの実施が必要です。

クライアントのためにも早急に原因遺伝子(エクソン44)の診断を導入されることを望みます。」というものであった。

[考察]

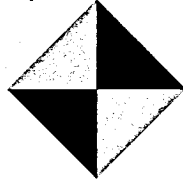
(社)日本産科婦人科学会の報告は「着床前性別診断ではなく、受精した胚が患者かどうかわかるよう技術が進歩してからにしてもらいたい。現在の方法だと正常な男児胚(半数)の扱いに問題があり、時期尚早と考える」と、(社)日本筋ジストロフィー協会が申入れた内容を十分考慮していただけたものとする。

[結論]

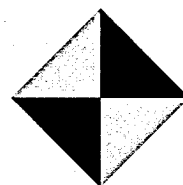
(社)日本筋ジストロフィー協会は、「生殖医療」に対して、患者家族の意識統一は避け、持てる情報を積極的に提供し、その技術の進歩と安全性が確認されたものについては、あくまでも当事者が判断・決定するという方針である。

しかし、「着床前診断」については倫理的問題、技術面、母体や卵子に及ぼす影響、経済的問題など、不安材料がまだまだ多いのが現状といえる。

実施にあたっては、医療者だけではなく第三者的な立場からのカウンセリングが保証されるような体制作りを、研究班としても取り組んでいただきたい。

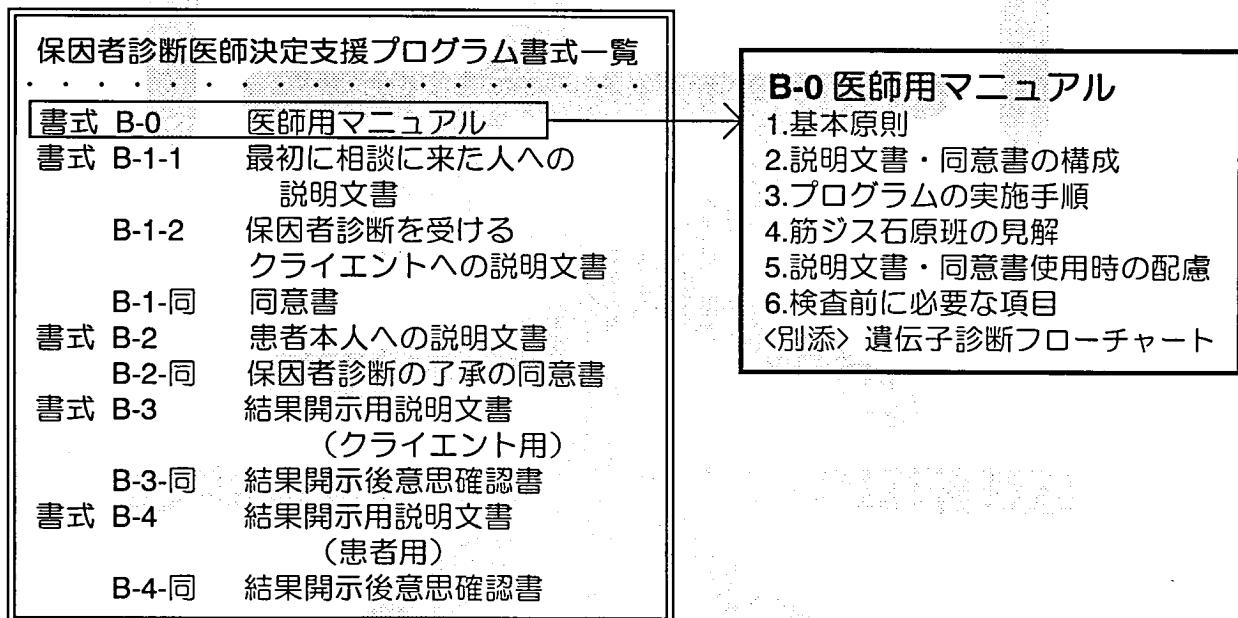


遺伝子パンフレット



筋ジスの保因者診断意思決定支援プログラムを利用される

担当医師のみなさまへ



平成 13 年度 厚生労働省 精神・神経疾患研究委託費

筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態把握と対策に関する研究 遺伝相談プロジェクト

大澤 真木子(東京女子医科大学小児科)	白井 泰子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
丸山 英二(神戸大学大学院法学研究科)	土屋 貴志(大阪市立大学大学院文学研究科)
齋藤 有紀子(北里大学医学部)	玉井 真理子(信州大学医療技術短期大学部)
佐藤 恵子(国立がんセンター中央病院)	掛江 直子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
中井 博史(国立療養所八戸病院)	

このプログラムは、ご兄弟に筋ジストロフィーの患者さんがいらっしゃる方のうち、結婚や挙児などで保因者診断を希望されている女性（以下クライアントと略）の保因者診断を実施するにあたり、クライアントご本人および患者（患児）ご本人のご理解と承諾を得るためのものです。

このプログラムの対象者は、小児期発症の筋ジストロフィーで、過去に筋生検などを受けて筋ジストロフィーの診断はついていても、免疫組織化学染色や遺伝子検査を受けていないため、病型が確定していない患者およびその姉妹です。

1. 本プログラムの基本原則は、以下の通りです。したがって、この原則に賛同できない場合は、プログラムをご利用いただけません。

- 1) 保因者診断は、クライアントおよび患者の同意に基づいて実施する。
 - ①クライアントおよび患者本人に、病名を含む正しい情報を説明すること
 - ②患者本人に対しても遺伝子検査の目的（病型確認および保因者診断のための協力であること）を説明すること

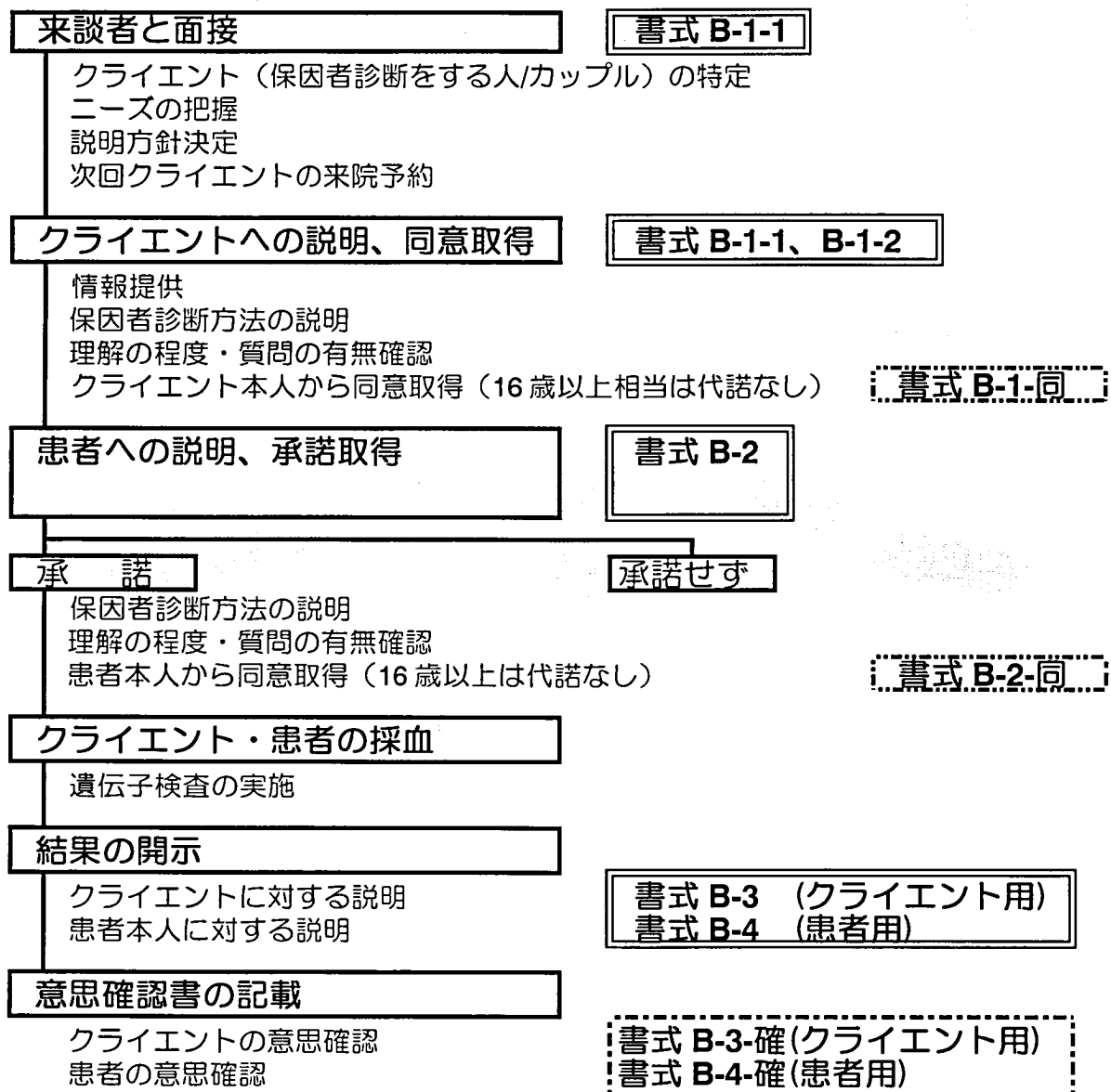
- 2) 保因者診断の実施の基準および同意取得の手続きは、原則として以下の通りとする。
 - ①クライアントは、16歳以上相当の同意能力をもっていること
 - ②患者は、原則として16歳以上相当の同意能力をもっていること
 - ③患者の同意能力が不十分なときは、以下を目安に検討する
 - a. 16歳以上であるが同意能力が不十分な場合：親の同意と本人の了承
 - b. 11歳以上で16歳未満の場合：原則として行わない（ただし、特段の事情がある場合のみ、親の同意と本人の了承を得て行う）
 - c. 11歳未満相当の場合：保因者診断のための遺伝子検査は行わない

- 3) 医療従事者は、上記の基本方針をクライアント、患者、家族などに説明し、了承を得てから保因者診断を実施する。
 - ①医療従事者はクライアントおよび患者の意思を尊重し、意思決定を支援すること
 - ②患者に説明できない場合や患者の同意が得られなかった場合でも保因者診断を実施したい場合は、家族内で話し合い、解決してもらうこと

2. 説明文書・同意書の構成は、以下の通りです。

書式 B-0	医師用マニュアル（本文書）
書式 B-1-1	最初に相談に来た人に対する説明文書
B-1-2	保因者診断を受けるクライアントに対する説明文書
B-1-同	同意書
書式 B-2	患者本人に対する説明文書
B-2-同	保因者診断の了承に対する同意書
書式 B-3	結果開示用説明文書（クライアント用）
B-3-確	結果開示後意思確認書（クライアント用）
書式 B-4	結果開示用説明文書（患者用）
B-4-確	結果開示後意思確認書（患者用）

3. プログラムの手順は、以下の通りです。



4. 筋ジス石原班の筋ジストロフィーの保因者診断に対する見解は、以下のようなものです。

1. <医療従事者の役割>

保因者診断を受けるかどうかは、家族内で解決される問題であり、医療従事者は、それぞれの意思を尊重し、意思決定を支援するものである。患者へ説明できない場合や同意を得られなかった場合でも、クライアントが保因者診断の実施を希望する時は、家族内でさらに話し合ってもらおう。

*文書中の記載 (B-1-1, p.5)

きちんと説明しないで採血し、それを姉妹の保因者診断のために使用することの方が、かえって患者さんのお気持ちを傷つけることになるのではないかと、また、これは医療従事者が解決する問題というよりも、ご家族の間で解決してもらった方がよい問題ではないかと考えたからです。あなたにこの説明文書を渡された先生方も、このような考えをもっております。

*文書中の記載 (B-1-1, p.6)

患者さんに説明できない場合や、説明した後、同意を得られなかった場合は、遺伝子検査は行いません。それでも保因者診断を実施したい場合は、ご家族内で話し合ってくださいが必要です。

2. <情報の提供>

保因者診断について情報が必要な人に対しては、十分で正確な情報をわかりやすく説明する。

3. <保因者診断の奨励の禁止>

クライアントの保因者診断は、医療側から積極的におすすめするものではない。

*文書中の記載 (B-1-1, p.4)

保因者診断を受けるかどうかは、ご本人に自由に決めていただくものです。医師がおすすめするものでもありませんし、受けない方もたくさんいらっしゃいます。

4.<対象者の限定>

保因者診断は、原則として16歳未満の人には行わない。なお、保因者診断を含む遺伝相談は、妊娠する可能性が生じる前に受けた方がよいことを伝える。

5.<保因者診断の時期>

保因者診断の説明を行う対象は、原則として、近い将来に育児や結婚などの具体的な予定のある16歳以上の女性またはカップルとする。近い将来に結婚などの予定はないが、16歳以上の女性が遺伝子検査を強く希望した場合は、リスク等に関して充分説明した上で実施を検討する。

*文書中の記載 (B-1-1, p.5)

遺伝子の情報は、原則として一生変わることがありませんので、遺伝子検査は何歳のときに受けても原則として同じ結果が得られることとなります。筋ジストロフィーをはじめ、X連鎖型の遺伝子疾患では、ご兄弟に患者さんがいれば、その姉妹は保因者である可能性があり、婚約や結婚などを控え、実際にお子さんをもつ可能性があるときに、受けるかどうかを考えたらよいと思われま

す。現在すぐにはご結婚やお子さんをもつという予定がない方の中でも、今後の人生設計や家族計画のために、保因者診断を受けたいと希望される方もいらっしゃると思います。しかし、もし検査で陽性という結果が出た場合、不安や心配などの心理的な負担を感じたり、そのこと自体が結果的に人生にマイナスの影響をもたらしてしまうという可能性も少なくないようです。「保因者じゃないことがわかれば安心だから」くらいの気持ちで受けられると、「やはりやめておけばよかった」と思われることもあるようです。したがって、実際にお子さんをもつことを考えられたときなど、妊娠する前に受けた方がよいと思われま

6.<クライアントへの説明と代諾の禁止>

クライアントについては、本人に説明し、本人の同意を得る。親の代諾は認めない。

7.<患者への説明と本人の同意>

患者（患児）本人に、採血の目的（本人の遺伝子型を調べる、姉妹が同じ病気の保因者かどうかを知ること）を説明し、本人の同意を得る。患者が16歳以上相当の同意能力をもっている場合は、親の代諾は認めない。

*文書中の記載 (B-1-1, p.6)

しかし、筋ジストロフィーの遺伝相談を検討する厚生労働省の研究班（筋ジ

ス石原班)では、患者さんが理解力のある年齢に達している場合は、「患者さん本人にきちんと検査の目的や内容をお話して、同意を得てから採血させてもらった方がよいのではないか」と考えました。

*文書中の記載 (B-1-2, p.5)

したがって、あなたが、保因者診断を受けると希望される場合は、ご兄弟に説明し、採血をお願いすることになります。ご兄弟には、医療従事者がお話をしますが、親御さんも含めて、ご家族内でもよくご相談くださることをお願いいたします。

8.<患者の同意能力が不十分な場合>

保因者診断においては、家族内で利益が相反することもあるため、親は患者の利益を代弁する者として必ずしも適切でない場合も多い。したがって、患者の同意能力が不十分な場合であっても、原則として親の代諾のみでの保因者診断の実施は認めない。

16歳以上で患者の同意能力が不十分な場合は、親の同意に加え、本人に対して理解力にあわせた説明を行い、本人の意思を確認する。患者の了承がない場合は、遺伝子検査は実施しない。患者が11歳以上16歳未満の場合は、クライアントがすでに妊娠しているなどの事情がある場合に限って、親の同意および患者の了承を得て実施する。患者が11歳以下の場合は実施しない。

9.<保因者診断拒否時の対応>

患者が保因者診断に協力せず、本人の病型確認のための遺伝子検査のみを希望した場合は、保因者診断プログラムに対して拒否の意思の表示と、遺伝子検査のための同意が必要となる。

10.<結果開示の範囲の限定>

遺伝子検査の結果は、クライアント、患者および同意書にて指定された人に知らせるが、それ以外の人からの問い合わせには応じないことを伝える。家系内の他の人への結果の開示は、家族の中で話しあってほしいことを伝える。

5. 説明文書・同意書は、上記の観点から作成されているので、
使用される際は、以下の点にご配慮ください。

1. 口頭説明をお願いします

説明文書は、口頭による説明を補うためのものですから、必ず口頭にてわかりやすく説明してください。

2. 説明の手順

2-1 親またはクライアントに対する説明

保因者診断の受付：親またはクライアントから、保因者診断の問い合わせや要請があったときに保因者診断の説明を行う。

1) クライアントの背景やニーズの把握：医療従事者は、最初に相談にきた人と面接し、以下の事項について把握する。（書式 B-1-1）

- ・ 相談に来た人の来院の動機：保因者診断を受ける人の状況と立場（結婚前か後かなど）
- ・ 家族歴（家系内に病気の人がいるかなど）
- ・ 人間関係（クライアントと家族の関係、婚家との関係など）
- ・ 生活の予定：結婚や拳児の予定、希望（クライアント本人がいれば、以下の事項も）
- ・ 拳児に対する希望の強さ
- ・ 病気や患者に対してもっているイメージ（肯定的か否定的か）
- ・ 病気についてもっている情報（量的に十分か、内容は正確か）
- ・ 病気の子どもをもつことについて（肯定的か否定的か）
- ・ 宗教観、中絶についての考え方（肯定的か否定的か）
- ・ その他の意向や希望、価値観など

2) 説明方針の設定：説明の対象者、説明時期と回数、説明内容を勘案しながら説明方針の大筋を決める。

① 説明対象を誰にするか

- ・ クライアントのみ
- ・ クライアント＋実親
- ・ クライアント＋配偶者・婚約者など
- ・ クライアントの実親のみ
- ・ その他

②いつ説明するか

- ・初回面接時
- ・次回以降の面接時

③何をどこまで説明するか

- ・出生前診断のニーズがあるか

④誰が説明や相談にあたるのが適切か

- ・医師、看護婦
- ・カウンセラー
- ・家族会などの支援者

3) 必要な情報の提供：わかりやすい言葉で説明する(書式 B-1-1、B-1-2)

- ・病気の説明
- ・遺伝様式、確率
- ・遺伝子検査の目的、内容
- ・リスク
- ・検査で遺伝子に変異があったとき/なかったときの意味
- ・はっきりとした結果が得られなかったときのこと
- ・保因者が拳児を希望したとき、どのような選択肢があるか

4) 保因者診断の方法の説明

- ・患者（患児）の血液とクライアント本人の血液が必要であること
- ・患者（患児）には採血の目的を説明し、同意を得る必要がある
- ・患者の同意がないかぎり採血できないので、その際は家族での話し合いが必要であること

5) クライアントの同意取得：説明してから同意まで、十分な時間や質問の機会を設定する

- ・最終ページの複写式の同意書（書式 B-1-同）は、同意書のみを切り離して使用しない。
- ・ご本人の署名をもらったら、1枚目を切り離して保管し、2枚目は切り離さずに説明書と一緒にご本人に渡す。

6) 費用について：

- ・筋ジストロフィーの遺伝子検査は、保険の適応となっていないこと
- ・費用負担については家族の中で話しあってほしいこと

2-2 患者への説明を実施する際の配慮（書式 B-2）

1) 親への事前説明

- ・ 保因者診断に対する患者の協力を得るための前提条件として、患者本人に病名や採血の目的を説明することをあらかじめ親に知らせておく
- ・ 本人への説明を行う際は、同席者についての希望の有無を患者本人に確かめる

2) 患者本人への説明：わかりやすい言葉で説明する

- ・ 遺伝性疾患であること
- ・ 遺伝子検査でわかること：本人の病型、姉妹が同じ病気をもっているかどうか、姉妹が妊娠した場合お腹の赤ちゃんが病気をもっているかどうか

3) 患者本人の同意取得：説明してから同意まで、十分な時間や質問の機会を設定する

- ・ 最終ページの複写式の同意書（書式 B-2-同）は、同意書のみを切り離して使用しない
- ・ 患者本人の署名の他、代諾者の署名が必要な場合は、併記してもらう
- ・ 署名をもらったら、1枚目を切り離して保管し、2枚目は切り離さずに説明書と一緒にご本人に渡す

3. 採血の時期

- ・ 患者については、クライアントの同意と患者の同意を得たあとに採血を行う
- ・ クライアントについては、クライアントの同意取得後ならいつでもよい

4. 結果の説明

- ・ クライアント本人および患者本人に伝えることを原則とする
- ・ 同席者については、遺伝子検査を受ける前の意思確認書にて確認する
- ・ 家系内の他の人にどのように伝えるかについては、家族内で話し合って決めてもらう

4-1 クライアントに対して（書式 B-3）

- ・ 結果を知りたいかどうかを確かめる（知りたくないという人は考えにくいですが、検査を受けたあと心変わりした人はいるかもしれないため）
- ・ 遺伝子に変異があったとき/なかったときの意味
- ・ 妊娠したときの対応

4-2 患者本人に対して（B-4）

- ・ 結果を知りたいかどうかを確かめる

- ・病型の説明
- ・クライアントの結果については医師の方からは伝えない（家族内で話し合ってもらおう）

4-3 検査結果および残りの血液の保管や利用に関する意思を確認

- ・結果開示文書（クライアント用 B-3 および患者用 B-4）の最終ページの意思確認書（クライアント用 B-3-確および患者用 B-4-確）を用いて、検査結果の保管方法および検査結果と残りの血液の利用に関する意思を確認する。

5. クライアントのジストロフィン遺伝子検査を実施する場合は、診断に必要な家族歴の聴取およびクライアントのCK値の測定を実施しておいてください

5-1 家族歴の聴取

1) X連鎖劣性遺伝を示唆する家族歴

- クライアントの兄弟
- クライアントの姉妹の息子
- クライアントの息子
- 母方の兄弟および母方の姉妹の息子
- 母方の祖母の兄弟および母方の祖母の姉妹の息子
- 父親および父方の祖父

2) 常染色体劣性遺伝を示唆する家族歴

- クライアントの姉妹、兄弟に同じ病気があるか
- 両親の間にいとこなどの血縁関係があるか

3) 常染色体優性遺伝を示唆する家族歴

- クライアントの父、父方の祖父および祖母
- 父方の兄弟および姉妹
- クライアントの母、母方の祖父および祖母
- 母方の兄弟および姉妹

5-2 CK 値を測定したことがあるかどうか

- ・上記の家系内の人で、CK 値を測定したことがあるか、「CK 値が高い」と言われた人がいたかどうかを確認する。

厚生省筋ジストロフィー石原班 2001 B-1-1

- | |
|---|
| <input type="checkbox"/> クライアント用
<input type="checkbox"/> カルテ控え用 |
|---|

筋ジストロフィーの保因者診断について お知りになりたい方へ

—ご兄弟が筋ジストロフィー（詳しい病型は不明）と
診断されている女性の検査のための説明書—

- ①はじめに
- ②保因者診断の説明を受ける前にご理解いただきたいこと

平成 13 年度 厚生労働省 精神・神経疾患研究委託費

筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態把握と対策に関する研究
遺伝相談プロジェクト

大澤 真木子(東京女子医科大学小児科)	白井 泰子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
丸山 英二(神戸大学大学院法学研究科)	土屋 貴志(大阪市立大学大学院文学研究科)
齋藤 有紀子(北里大学医学部)	玉井 真理子(信州大学医療技術短期大学部)
佐藤 恵子(国立がんセンター中央病院)	掛江 直子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
中井 博史(国立療養所八戸病院)	

はじめに

1. この説明書について

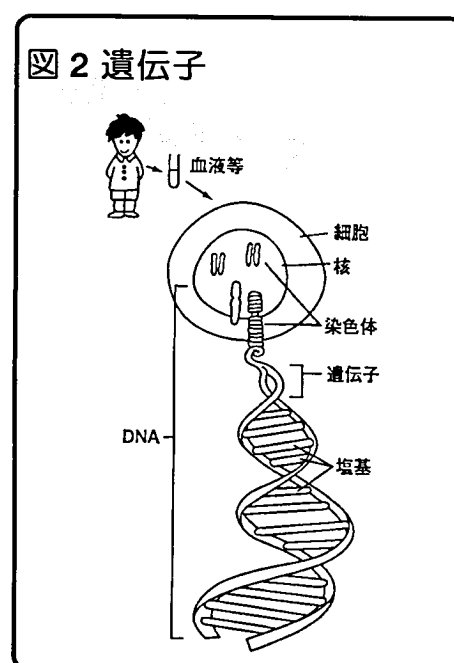
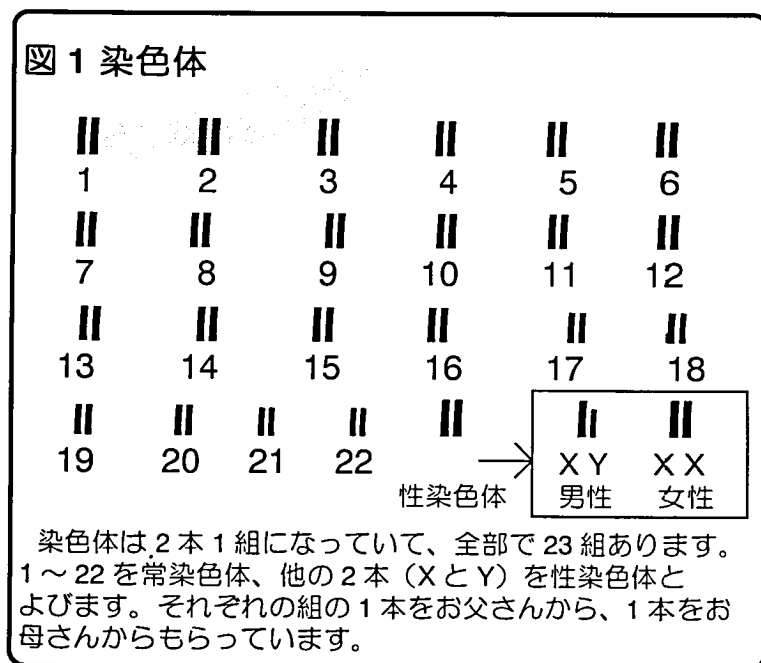
この説明書は、ご兄弟が筋ジストロフィーと診断されていて、ご自身も同じ病気の保因者（病気の遺伝子をもっているが発病しない人）かどうかを知り、今後の家族計画などに役立てようと考えている方を対象に作成されたものです。医師の説明をおぎなうためのものですので、よくお読みになって、かならず医師の説明も受けてください。わからないことがあれば、遠慮なく医師にたずねてください。

なお、この説明文書は、最初に相談に見えた方にお渡ししておりますが、遺伝子診断などの詳しいお話は、実際に保因者診断を受ける方にいたします。この文書を手にされた方が実際に保因者診断を受ける方と違う場合は、この文書をお渡しの上、予約した来院日に来院くださるよう、お伝えください。

2. 遺伝子の検査について

最近になって、筋肉の病気のうち、筋ジストロフィーという病気の一部については、血液の中の遺伝子を調べることにより、診断できるようになってきました。遺伝子を調べて診断することを遺伝子検査といいます。

遺伝子は、細胞の中にある染色体（図1）のうえにのっています（図2）。遺伝子は、身体がうまく働くための設計図のような働きをしますので、もしも病気と関係のある遺伝子に変異があると、病気になりやすかったりします。



3. 保因者診断について

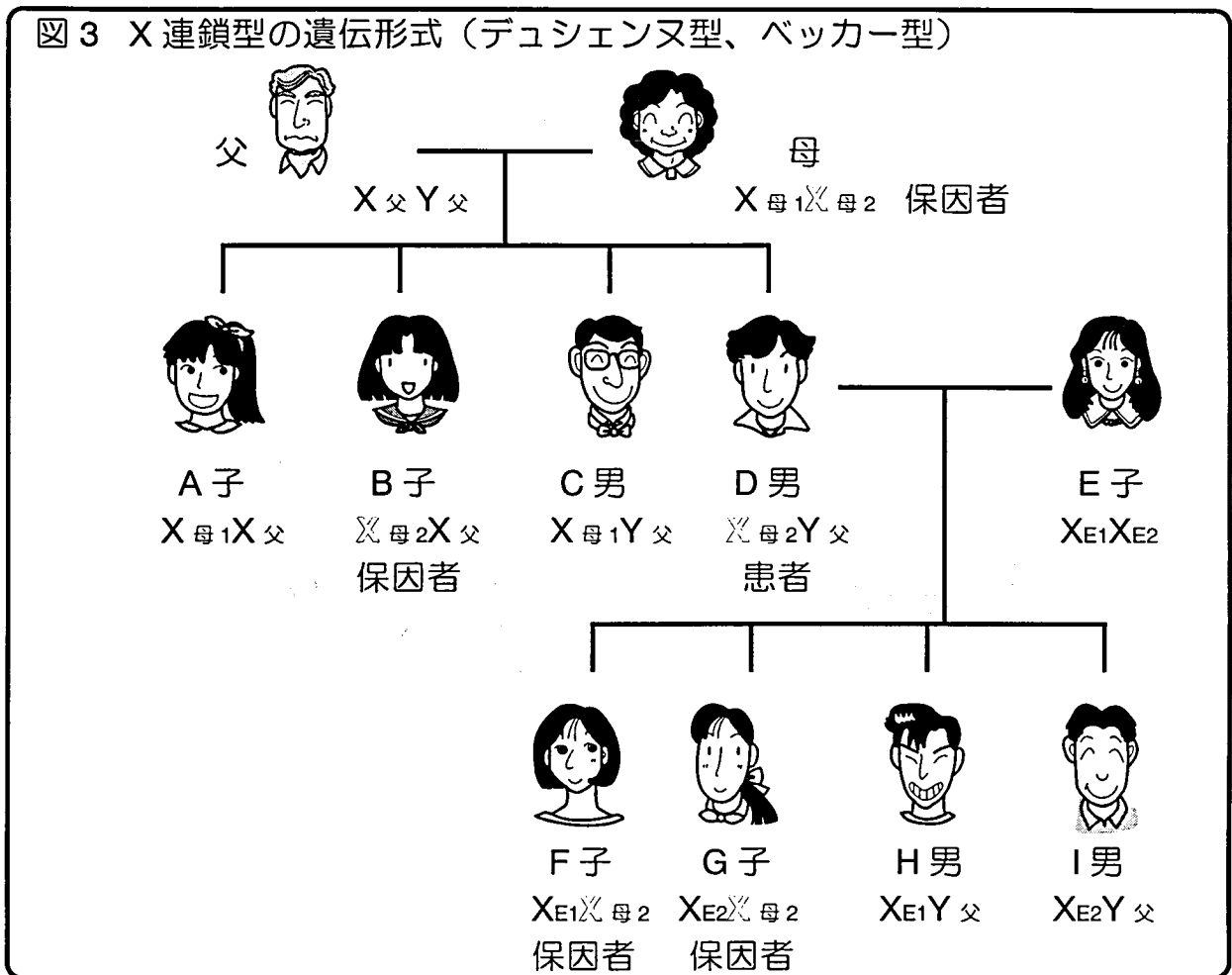
筋ジストロフィーにはたくさんの病型があることが知られていますが、遺伝子の変異と病気の関係がわかっているものは数種類です。中でもデュシェンヌ型やベッカー型の筋ジストロフィーは、X染色体にのっている遺伝子の変異でおこる病気（X連鎖型の遺伝子疾患といいます）であることがわかっています。

X染色体は、男性には1本、女性には2本あります（図1）。このため、X染色体にのっている遺伝子の変異でおこる病気の場合、女性はX染色体の2本のうち片方に変異があっても、もう片方が働くために症状が出ませんが、男性の場合は、X染色体が1本しかないため、症状が出ることになります。遺伝子の変異をもっているにもかかわらず症状が出ない人のことを「保因者」といいます。

あなたのご兄弟の患者さんは、症状などから筋ジストロフィーと診断されていますが、詳しい検査は受けておられず、正確な病型についてはわかっていない状態だと思えます。もし、あなたのご兄弟の病気がデュシェンヌ型やベッカー型、エメリードライフス型など、X染色体にのっている遺伝子の変異（図3の $\times_{母2}$ ）でおこる筋ジストロフィーだった場合、姉妹は同じ遺伝子の変異をもっている可能性もあり、姉妹の血液を調べることによって保因者かどうかを調べることができます。これを保因者診断といいます。図3の中ではお母さんと娘さんのB子さんが保因者ということになります。

保因者の方は、遺伝子の変異をもっていますが、病気になることはありません。ただし、生まれてくるお子さんが、病気になる可能性は1/4となります。男の子に限っていえば1/2、女の子でも、症状は出ませんが、保因者の可能性は1/2となります。

図3 X連鎖型の遺伝形式（デュシェンヌ型、ベッカー型）



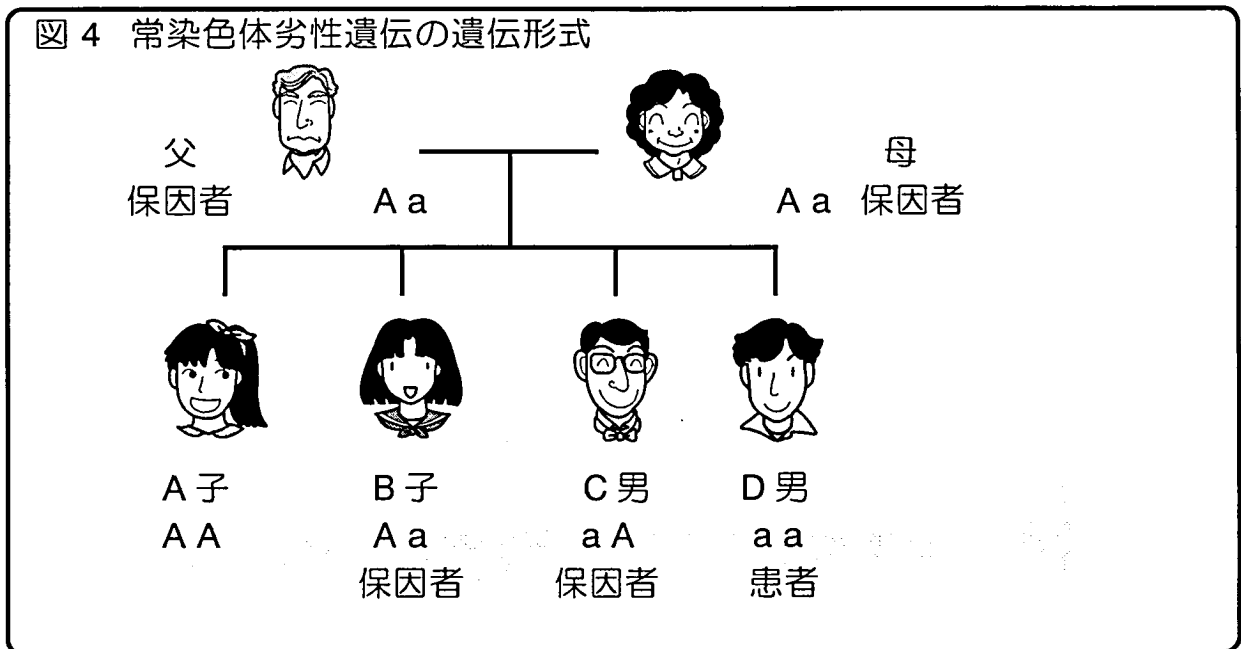
4. X連鎖型以外の筋ジストロフィーについて

あなたのご兄弟の遺伝子を調べてみて、デュシェンヌ型やベッカー型ではなかった場合は、ほかの型の筋ジストロフィーの可能性がります。症状や経過がデュシェンヌ型やベッカー型に似ていても、^{したいがた}肢帯型筋ジストロフィー、アダリン欠損症や福山型筋ジストロフィーなど、他の病型である可能性がります。

これらの筋ジストロフィーは、^{しょうせんしよくたい}常染色体の劣性遺伝といって、お父さんとお母さんから1本ずつもらった常染色体の両方に遺伝子の変異があった場合に限り、症状が出ることとなります（図4）。したがって、あなたのご兄弟がこれらの型の筋ジストロフィーで、あなたが保因者だったとしても、近親婚などの特殊な場合を除き、お子さんが病気になる可能性は非常に低くなります。

お子さんの性別には関係なく、生まれてくるお子さんの2/4が保因者となり、1/4が患者となります。

図 4 常染色体劣性遺伝の遺伝形式



5. 検査を受けるかどうかについて

あなたが保因者かどうかを調べるためには、まず、血液検査で、血中のクレアチンキナーゼ（CK、CPKともよばれます）という物質の測定、つぎに遺伝子検査という順番で行います。クレアチンキナーゼは、筋ジストロフィーの保因者の6割（60%）で、正常値よりも高くなることが知られていますので、まずこれを測定します。しかし、保因者の3割は正常値ですし、この検査値だけで正確なことはわかりませんので、続けて遺伝子検査を実施します。

保因者診断を受けるかどうかは、ご本人に自由に決めていただくものです。医師がおすすめるものでもありませんし、受けない方もたくさんいらっしゃいます。保因者診断は血液の中の遺伝子を調べるものであり、普通の血液検査とちがう特徴をもっていますので、できればご家族とも相談のうえ、受けるかどうかをお決めください。

保因者診断をご希望の場合は、同意書が必要になります。

遺伝子検査の説明を受ける前にご理解いただきたいこと

6. 遺伝子検査を受ける時期について

遺伝子の情報は、原則として一生変わることがありませんので、遺伝子検査は何歳のときに受けても原則として同じ結果が得られることとなります。筋ジストロフィーのうち、X連鎖型のものでは、ご兄弟に病気の方がおられれば、その姉妹は保因者である可能性があり、婚約や結婚などを控え、実際にお子さんをもつ可能性があるときに、受けるかどうかを考えたらよいと思われま

す。現在すぐには結婚や妊娠の予定がない方の中でも、今後の人生設計や家族計画のために、保因者診断を受けたいと希望される方もいらっしゃると思います。しかし、もし検査で「保因者である」という結果が出た場合、不安や心配などの心理的な負担を感じたり、そのこと自体が結果的に人生にマイナスの影響をもたらしてしまうという可能性もないわけではありません。「保因者じゃないことがわかれば安心だから」くらいの気持ちで受けられると、「やはりやめておけばよかった」と思われることもあるようです。したがって、実際にお子さんをもつことを考えられたときなど、妊娠する前に受ける方がよいと思われま

す。この説明文書は、読む人が、近い将来、結婚や妊娠を考えているということ

7. 保因者診断についての問題点と筋ジス石原班の見解

あなたが保因者かどうかを調べるには、あなたに遺伝子検査を受けていただいて、その結果をご兄弟の遺伝子検査の結果とくらべる必要があります。遺伝子は暗号の海のようなものですので、どこの場所に変異があるかを探すのは難しく、患者さんの遺伝子を調べて、変異のある場所を特定しておいてから、あなたの遺伝子とくらべます。このため、患者さんから血液をいただくかなくてはなりません。

患者さんは、症状などから筋ジストロフィーであることがわかっていますので、患者さんが遺伝子検査を受けるメリットは、詳しい病型を知ることができるという以外、ほとんどありません。したがって、あなたの保因者診断を行うために、患者さんから血液をいただくこととなります。

このような場合、これまでは、病気の説明や、姉妹が同じ病気のお子さんをもつ可能性があるかどうかを知るために検査する、ということをお子さんにきちんと説明しないで、「検査で必要だから」という説明だけで採血することが多くありました。患者さんが小さかったりして、病気の説明を聞いてショック

を受けるとかわいそうだから、というのが主な理由です。

しかし、筋ジストロフィーの遺伝相談を検討する厚生労働省の研究班（筋ジス石原班）では、患者さんが理解力のある年齢に達している場合は、「患者さん本人にきちんと検査の目的や内容をお話して、同意を得てから採血させてもらった方がよいのではないか」と考えました。きちんと説明しないで採血し、それを姉妹の保因者診断のために使用することの方が、かえって患者さんのお気持ちを傷つけることになるのではないかと、また、これは医療従事者が解決する問題というよりも、ご家族の間で解決してもらった方がよい問題ではないかと考えたからです。

あなたにこの説明文書を渡された先生方も、このような考えをもっておりません。

8. あなたと患者さんの遺伝子検査の手順について

したがって、あなたと患者さんの遺伝子検査を実施するには、以下のような手順です。患者さんの現在の状況や、ご家族との関係、病院との関係など、患者さんやあなたご自身の事情は、ひとりひとりで違いますので、必ずしもこの通りになるわけではありませんが、担当医師は、状況をみながら、あなたのご希望をお聞きしながら、もっとも適切と思われる方法でお話をすすめていきます。どうぞご了承くださいよう、お願いいたします。

①あなたのご希望や、状況を詳しくお聞きします。

その上で、どなたといつお話をするか、などの方針を決めます。お子さんをもつことは、あなたとパートナー（配偶者・婚約者など）のお二人の問題でもあるため、パートナーの方にも来ていただいて、お二人にお話をうかがうこともあります。

②保因者診断の詳しいお話をします。

③あなたが保因者診断を受けることを希望した場合は、同意書に署名をいただきます。

④患者さんへの説明をし、了承を得ます。

患者さんに説明できない場合や、説明した後、同意を得られなかった場合は、遺伝子検査は行いません。それでも保因者診断を実施したい場合は、ご家族内で、話し合ってください必要があります。

⑤結果の説明

結果は、あなたご本人とあなたが希望される方に説明します。

厚生省筋ジス石原班 2001 B-1-2

筋ジストロフィーの保因者診断を受ける クライアントへの説明文書

平成 13 年度 厚生労働省 精神・神経疾患研究委託費

筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態把握と対策に関する研究
遺伝相談プロジェクト

大澤 真木子(東京女子医科大学小児科) 白井 泰子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
丸山 英二(神戸大学大学院法学研究科) 土屋 貴志(大阪市立大学大学院文学研究科)
齋藤 有紀子(北里大学医学部) 玉井 真理子(信州大学医療技術短期大学部)
佐藤 恵子(国立がんセンター中央病院) 掛江 直子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
中井 博史(国立療養所八戸病院)

1. 筋ジストロフィーという病気について

筋ジストロフィーは、筋肉の力が落ちてきて、運動機能が低下し、からだは動かしくくなる病気です。筋肉は、筋繊維からできていて、筋繊維は3枚重ねの膜で包まれており、さらにこの3枚重ねの膜は、「ジストロフィン」といういわばホチキスの針のような役割をするタンパク質でとじられているため、筋肉が強く保たれています。デュシェンヌ型やベッカー型の筋ジストロフィーの患者さんは、ジストロフィンをからだの中でつくることができず、このため、筋肉が壊れやすくなると考えられています（図1）。

ジストロフィンとは、「ジストロフィン遺伝子」によって作られます。したがって、この遺伝子の変異によって機能を失うと、ジストロフィンが作られなかったり、不完全なジストロフィンしか作られないことになり、筋肉が壊れやすくなります。ジストロフィンが作られない場合をデュシェンヌ型ジストロフィー、作られてもジストロフィンが少量または不完全な場合をベッカー型ジストロフィーといいます（図2）。

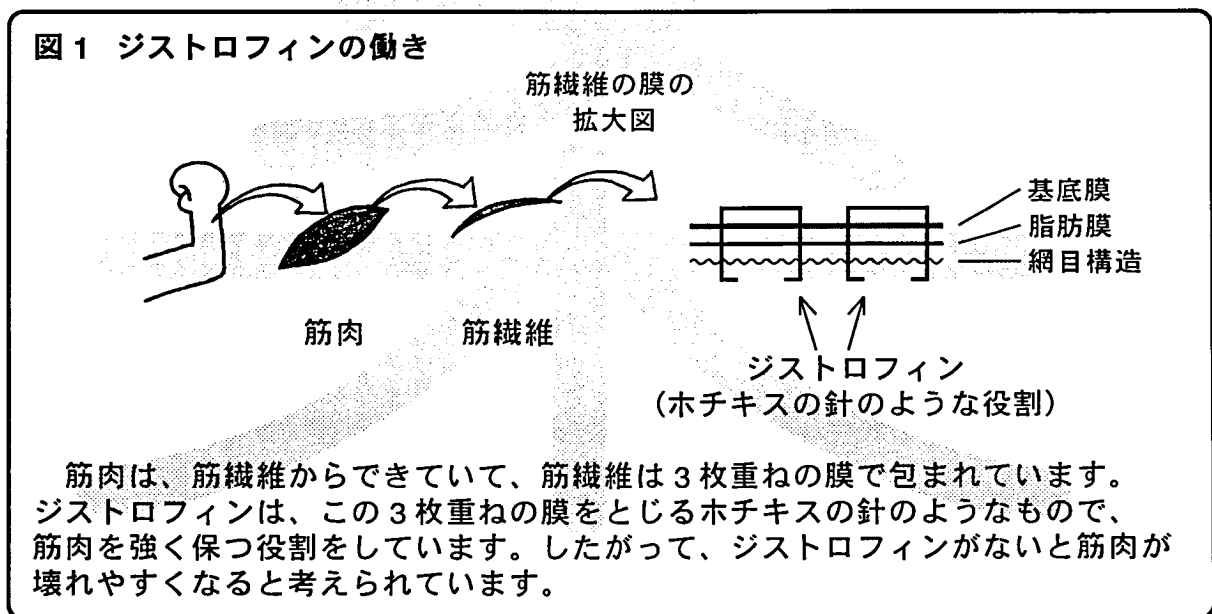
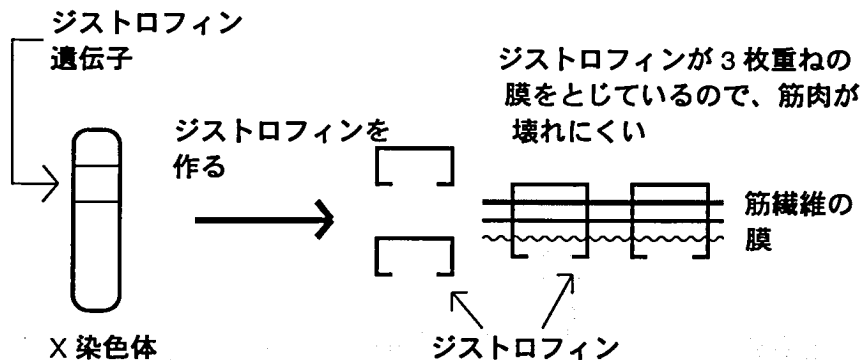
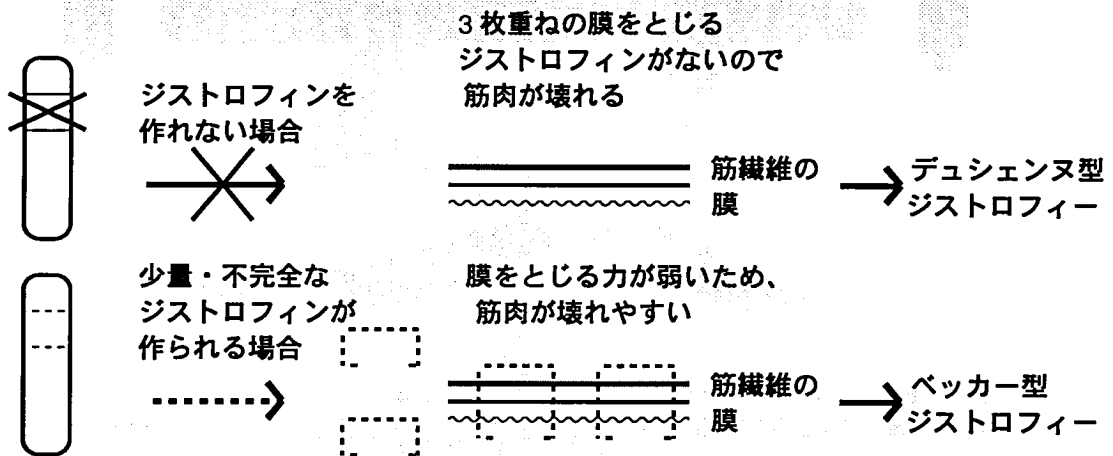


図2 ジストロフィンとジストロフィン遺伝子

機能が正常なジストロフィン遺伝子変異により機能を失ったジストロフィン遺伝子

ジストロフィンとは、ジストロフィン遺伝子によって作られます。したがって、この遺伝子が、変異によって機能を失うと、ジストロフィンが作られなかったり、不完全なジストロフィンしか作られないことになり、筋肉が壊れやすくなります（筋ジストロフィー）。ジストロフィンが作られない場合をデュシェンヌ型ジストロフィー、作られてもジストロフィンが少量または不完全な場合をベッカー型ジストロフィーといいます。

2. ジストロフィン遺伝子の検査について

①ジストロフィン遺伝子と検査の目的

あなたの血液を使って、その中の遺伝子を調べます。

私たちの遺伝子は、細胞の中にある染色体のうえにのっています（図3、図4）。

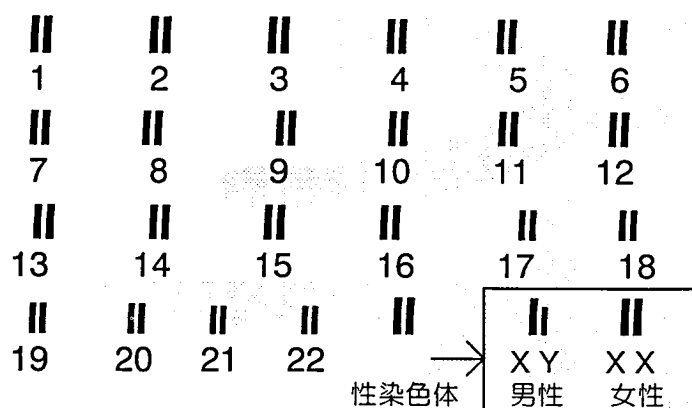
遺伝子は、からだがうまく働くための設計図のような働きをしますので、もしも病気と関係のある遺伝子に変異があると、病気になりやすかったりします。

からだの中で作られるタンパク質は数多くの種類があり、それぞれ特有の遺伝子からつくられます。ジストロフィン遺伝子は、X染色体の上ののっていて、ふだんからだのなかで、筋肉を強く保つためのジストロフィンをつくって

います。このジストロフィン遺伝子の一部が欠けていたり（欠失）、余分にあたり（重複）すると、ジストロフィンをうまくつくることができないため、筋ジストロフィーがおきると考えられています。

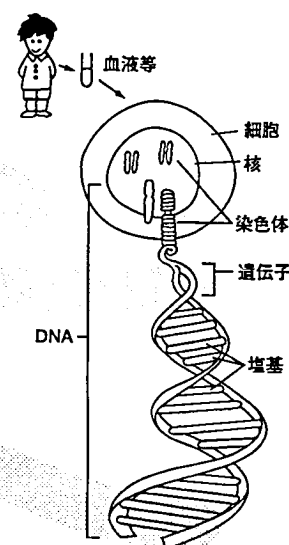
女性の場合は、この遺伝子に変異があっても、X染色体はもう一本あって、そこにある遺伝子によりジストロフィンが作られますので、病気にはなりません。しかし、男性の場合は、X染色体は一本なのでこれに変異があると、ジストロフィンが作られないので、病気になります。

図3 染色体



染色体は2本1組になっていて、全部で23組あります。1～22を常染色体、他の2本（XとY）を性染色体とよびます。それぞれの組の1本をお父さんから、1本をお母さんからもらっています。

図4 遺伝子



②筋ジストロフィーと遺伝のしかたについて

ジストロフィン遺伝子の変異は、患者さんのうち、3人に2人はお母さんからもらった遺伝子によるもので、3人に1人は遺伝子の突然変異でおこるといわれています。もし、あなたのご兄弟の病気がお母さんからもらった遺伝子（図5のA母2）によるものだった場合は、あなたご自身が保因者である可能性は1/2です（図5のB子さん）。一方、突然変異によるものであった場合は、あなたが保因者である可能性はありません。お母さんのご兄弟や、そのご家族にまったく病気の方がいらっしやらない場合は、遺伝ではなく、患者さんだけに突然変異がおこった可能性が高くなります（図6）。

図5 X連鎖型の遺伝形式（デュシェンヌ型、ベッカー型）

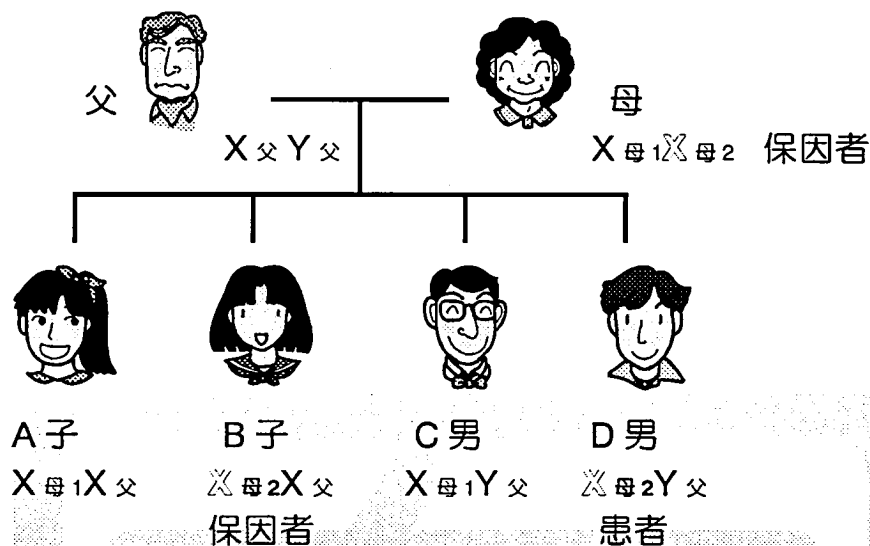
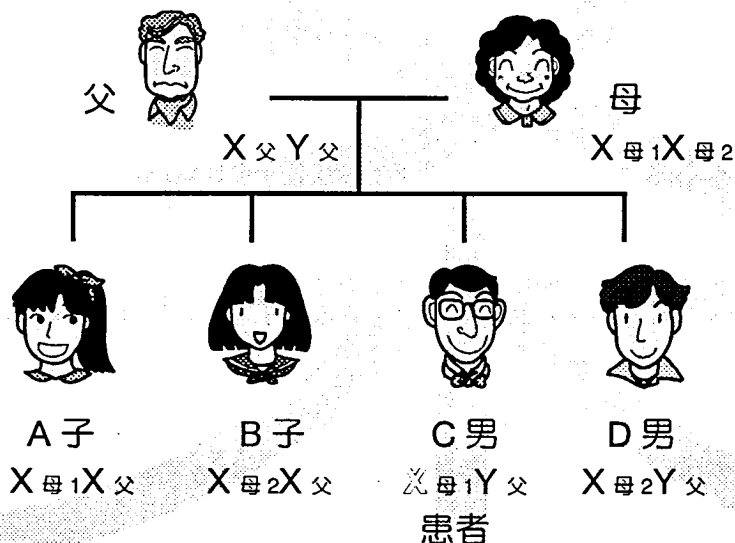


図6 突然変異型の遺伝形式



仮にあなたが保因者の場合で、生まれたお子さんが、男の子なら病気になる可能性は 1/2（五分五分）、女の子なら通常、病気にはならず、保因者である可能性が 1/2 です。1/2 といっても、確率の話ですので、妊娠するたび生まれたお子さんが病気になったり保因者になる確率が五分五分ということです。最初の子が病気だったから、次の子が病気ではない、ということではありません。2人男の子がいたら、二人とも病気でないこともあり、二人とも病気のこともあります。

③遺伝子検査の手順

あなたのご兄弟と同じ病気の遺伝子をもっているかどうかを調べるには、患者さんであるご兄弟に遺伝子検査を受けていただき、あなたの遺伝子を比べて

みる必要があります。遺伝子は暗号の海のようなものですので、どこの場所に変異があるかを探すのは難しく、患者さんの遺伝子を調べて、変異のある場所を特定しておいてから、あなたの遺伝子とくらべます。

したがって、あなたが保因者診断を受けることを希望される場合は、病気のご兄弟に説明し、採血をお願いすることになります。ご兄弟には、医療従事者がお話をしますが、親御さんも含めて、ご家族内でもよくご相談くださることをお願いいたします。

なお、すでに患者さんの血液が採取され、保管されている場合は、患者さんが新たに採血を受ける必要はありません。

④遺伝子検査の方法

遺伝子検査は、普通の血液検査と同じように 15～20cc の血をとって行います。この量で貧血になるなどの心配はありません。結果がでるまでに数週間かかります。健康保険の対象とはなりませんので費用は自費になります。

ジストロフィン遺伝子を調べる遺伝子検査には、いくつか種類があります。一般的に行われているのは、PCR 法やサザン・ブロット法という方法で、この方法でわかるのは、デュシェンヌ型・ベッカー型筋ジストロフィーの人の 50～60%（10 人のうち 5～6 人）です。残りの約 40～50%の方は、ジストロフィン遺伝子のこれまでにわかっていない部分に変異がおこっている「点突然変異」の場合も考えられます。その場合には、それを調べるくわしい検査をするために、専門の病院をご紹介することもあります。

当施設では、以下の検査を行います。

遺伝子検査の種類	検査するもの	結果が出るまで	費用
□ PCR 法	ご兄弟の血液	週間	円
	あなたの血液	週間	円
□ サザンブロット法	ご兄弟の血液	週間	円
	あなたの血液	週間	円

⑤遺伝子検査の限界

保因者であるかどうかは、あなたの血液中の CK 値や、ご兄弟とあなたの遺伝子検査の結果などから総合的に診断する必要があります。しかし、検査の限界もあり、「保因者ではない」ということを 100%確実に言うことは、なかなか難しく、はっきりした結果が出なかったり、さらにくわしい検査が必要な場合もあります（図 7）。

図7 保因者診断の方法

①あなたの血液中 CK (CPK) 値を測定する

保因者の 60%：正常値より高値→保因者の可能性あり

// 30%：正常→保因者の可能性は低くなるが確実には否定できない
妊娠中は正常

②ご兄弟とあなたの遺伝子検査

ご兄弟の血液

1) PCR 法：約 50%変異あり
約 50%変異なし

2) サザンブロット法：
約 60%変異あり
約 40%変異なし

3) 直接塩基決定法：非常に時間がかかる

あなたの遺伝子検査を行い、
同じ変異を探す

多型分析が必要

3. 検査でわかること

検査の結果は、数週間ぐらいで出ます。結果は、①保因者ではない（陰性）、②保因者である（陽性）、③保因者かどうかははっきりしない、のいずれかになります。

①保因者ではなかったとき

遺伝子検査で、あなたが筋ジストロフィーの保因者ではないとわかった場合は、あなたのお子さんがデュシェンヌ型またはベッカー型の筋ジストロフィーを発症する可能性はほとんどありません。

ただし、私たちは誰でも 5～10 個くらいのなんらかの遺伝子の変異をもっていると言われておりますし、何かのきっかけで突然変異がおこることもありますので、生まれてくるお子さんが遺伝子の変異が関係する病気をもつ可能性を完全に否定することはできません。

②保因者であることがわかった場合

遺伝子検査で、あなたが保因者だとわかった場合でも、あなたが筋ジストロフィーになることは今後ともありません。生まれたお子さんが男の子の場合、1/2 の確率で病気になります。また、女の子の場合、通常病気にはならず、保因者である確率が 1/2 です。

お子さんをもつかどうかとか、何人ほしいか、といったことは、それぞれの夫婦で考えていただくのですが、選択肢はいろいろあります。

子どもをもたないという選択をする人もいます。お子さんがほしいと思った

場合、妊娠したら、そのまま産むという方もいらっしゃいます。もしお子さんが筋ジストロフィーになったとしても、専門の医師などの支援が受けられます。

一方、妊娠中に、お腹の赤ちゃんが筋ジストロフィーかどうかを調べ、妊娠を継続するかどうかを検討することもできます。生まれる前のお腹の赤ちゃんを調べるので、出生前診断といいます。具体的には、赤ちゃんが浮かんでいる羊水や、絨毛という胎盤の組織の一部をとって、あなたのご兄弟と同じ遺伝子の変異をもっているかどうかを検査します（羊水を調べるのを羊水検査、絨毛を調べるのを絨毛検査といいます）。

出生前診断を受けるかどうかや、受けたあとどのような選択をするかは、ご本人やご夫婦の考え方によって違ってきます。出生前診断を受けずに産むという選択をされている方もいます。いずれにせよ、「こうしなくてはいけない」ということはありません。

③はっきりとした結果が出なかった場合

患者さんの遺伝子に変異がみつからなかった場合は、遺伝子検査の結果によってあなたが保因者かどうかを判断することは難しくなります。他の方法としては、あなた自身のCK値の検査や筋生検、家系の連鎖解析などが考えられます。くわしいことは、担当医にご相談ください。

4. 検査結果のお知らせについて

検査結果の報告時に、どなたの同席を希望されるかなどについて、検査前に、あらかじめおうかがいします。同意書に記入欄がありますので、ご希望の方法を指定してください。

遺伝子検査の結果は、医師が説明し、文書でお渡しいたします。

* 検査についてのお問い合わせ・ご質問先 *

(説明者をご記入ください)

施設名：

住 所：

連絡先/TEL： ()

担当医師/担当者名：

受付時間： : ~ :

5. プライバシーの保護について

遺伝子検査は、

- 受診なさっている施設の検査部
- 協力医療機関
- 外部の検査会社（おかかりになっている施設から依頼します）

などで行われます。いずれの場合も、検査記録は、厳重に管理されます。

また、検査結果の報告は、あらかじめ同意書の中でご指示いただいた方のみ、ご指示いただいた方法で行います。それ以外のご家族、ご親族、学校、企業、保険会社に、ご本人の許可なく、だまって検査結果を知らせることはありません。

また、検査の結果や残りの血液を研究にご提供いただける場合でも、あらかじめご指定いただいた方法、目的の範囲にかぎって使用されます。

6. 検査結果が出たあとで、お伺いしたいこと

遺伝子検査の結果をお渡しするときに、あらためて次のことについておうかがいいたします。くわしくは結果報告時にお渡しする文書をご覧ください。

- ①検査結果の保存方法について
- ②結果をお知らせしてもよいご家族の範囲について
- ③検査結果、残りの血液の医学研究への提供について

7. 検査の選択の自由について

遺伝子検査を受けるか受けないか、また、どの検査を受けるのかについて、選ぶのは、ご本人の自由です。検査の意味や影響を十分ご検討のうえ、ご自身の判断で選択をなさってください。

検査について、疑問や不安がありましたら、いつでも、ご相談ください。検査の意味や影響について十分理解して決めていただくことが大切ですので、小さなこと、つまらないことと思われても、遠慮なくたずねていただければ幸いです。

8. 検査をやめる自由について

遺伝子検査は、いつでもやめることができます。医師の説明を受けたあとや、この説明書を読んだあとで、お気持ちが変わった場合には、いつでもご連絡ください。採血の後でお気持ちが変わられた場合でも、検査の中止を検討いたし

ますので、遠慮なくお申し出ください。

検査をやめることで、医師との関係が気まずくなったり、その後の医療が受けにくくなるなどの心配はありません。安心してお申し出ください。

なお、採血を終えてから検査の中止を申し出られた場合には、検査の費用をお返しできないことをご了承ください。

9. ご相談ください

筋ジストロフィーの保因者診断は、検査結果によっては、ご本人をはじめ、ご家族にも、かえって心配になることがあるかもしれません。医療スタッフは、できるだけあなたやご家族をサポートしたいと思っております。

また、遺伝子検査をすることにより、生命保険の加入や、学校、結婚、就職などで問題がおこるのではないかとのご心配をおもちかもしれません。そのようなことがないよう、遺伝子検査の結果は、学校、保険会社、お勤め先をはじめ、他のご親族にも、ご本人の許可なく伝えることはいたしません。ご心配な点がありましたら、いつでもご相談ください。

* ご相談先 *

(説明者をご記入ください)

施設名：

住 所：

連絡先/TEL： ()

担当医師/担当者名：

受付時間： : ~ :

筋ジス保因者診断意思決定支援プログラム
担当医師保管用

厚労省筋ジス石原班 2001 B-1-同

筋ジストロフィー遺伝子の保因者診断に関する同意書

私は、筋ジストロフィーの保因者診断について以下の説明を受けました。
(説明を受けた項目にチェックしてください。チェックのない項目は再度説明します。)

- 保因者診断の手順（私の同意だけでなく、患者さんである兄弟の同意も必要であること、家族での話し合いが必要であること、パートナーと面談する可能性もあることなど）
- 保因者診断の目的（ジストロフィン遺伝子を調べることによりデュシェンヌ型あるいはベッカー型の筋ジストロフィーの保因者かどうかを診断すること）
- 遺伝子検査の限界（100%確実に診断がつくわけではないこと）
- 遺伝子検査で予想される影響（医学的なこと、心理的・社会的なこと）
- プライバシーが保護されること（許可なく、私以外には知らされないこと）
- 検査結果の報告方法（同席者をあらかじめ指定できること）
- 検査を受けること・受けないことが自由であること
- 検査を途中で中止することができること
- 検査の方法と費用

1. 私は、保因者診断の説明について

- よく理解しました → 保因者診断を 希望します
希望しません

2. 私は、検査結果の説明の際、次の人が同席することを希望します

- 自分一人で聞きたい
- 配偶者・婚約者など
- 親（父・母）
- 配偶者・婚約者などと親（父・母）の両方
- その他（_____）
- いまはわかりません

説明年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

本人氏名（自署）： _____

医師記入欄

説明者氏名（自署）： _____

施設名： _____

厚生省筋ジストロフィー石原班 2001 B-2

- 患者さん用
 カルテ控え用

「ジストロフィン遺伝子」の遺伝子検査について

この冊子は、「ジストロフィン遺伝子」の遺伝子検査の説明書です。この冊子を読んで、ジストロフィン遺伝子とはなにか、遺伝子検査でどのようなことがわかるのか、検査をすることが、あなたやご家族にとってどのような意味があるのかについて、考えたり、理解する手助けにしてください。

読んでいて、よくわからないところや、むずかしいところがあるかもしれません。そのようなときは、担当の医師に遠慮なくたずねてください。あなたにわかるように、ていねいに説明いたします。

遺伝子検査を受けるかどうかは、あなたの自由です。検査を受けても受けなくても、あなたの医療はこれまでどおり行われますので、ご安心ください。これからの説明をよく読んで、遺伝子検査を受けるか受けないかを考えてください。

平成 13 年度 厚生労働省 精神・神経疾患研究委託費

筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態把握と対策に関する研究

遺伝相談プロジェクト

大澤 真木子(東京女子医科大学小児科) 白井 泰子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
丸山 英二(神戸大学大学院法学研究科) 土屋 貴志(大阪市立大学大学院文学研究科)
齋藤 有紀子(北里大学医学部) 玉井 真理子(信州大学医療技術短期大学部)
佐藤 恵子(国立がんセンター中央病院) 掛江 直子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
中井 博史(国立療養所八戸病院)

1. 遺伝子を調べる、とはどういうことでしょうか？

遺伝子とは、からだのしくみを決める設計図のようなものです。遺伝子の検査では一人一人の遺伝子（設計図）の中をくわしく見ていき、変わったところがないかを調べていきます。

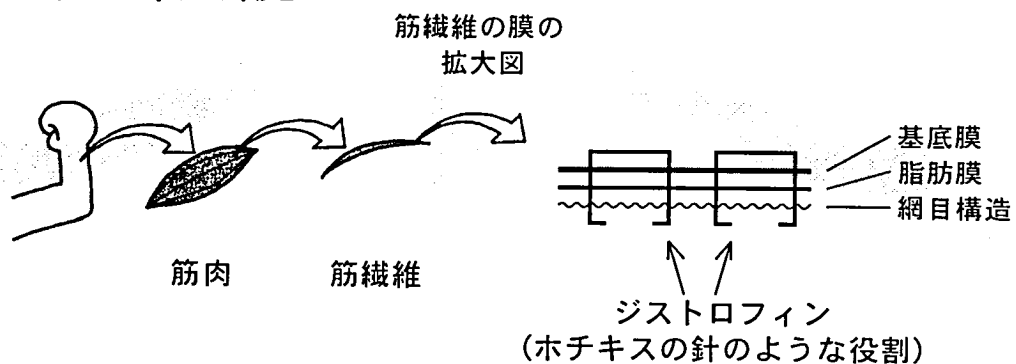
遺伝子を調べると、誰でもいくつかの変異^{へんい}をもっています。病気と関係している遺伝子に変異があると、その人は病気になったり、病気になりやすかったりします。

遺伝子を調べることで、その人が病気と関係している遺伝子の変異をもっているかどうか、何の病気になる可能性があるか、などを診断することができます。

2. ジストロフィン遺伝子は、どんな働きをしているのでしょうか？

ジストロフィン遺伝子は、からだの中で、ジストロフィンというタンパク質をつくることに関係しています。このタンパク質には、筋肉を強く保つ働きがあります。そのためジストロフィン遺伝子に変異があると、からだの中でジストロフィンを十分につくることができないため、筋肉の働きが弱くなると考えられています（図1）。

図1 ジストロフィンの働き

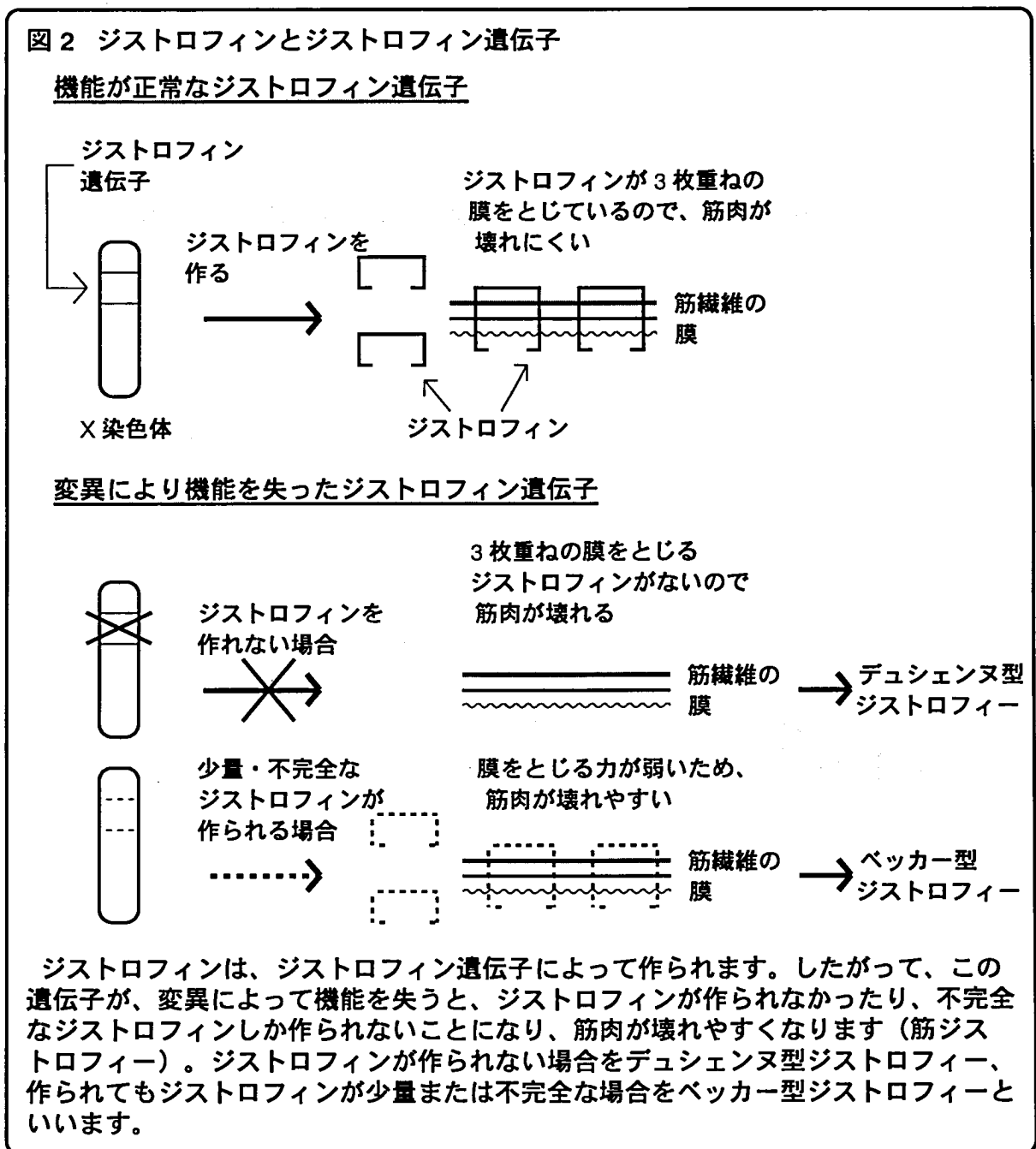


筋肉は、筋繊維からできていて、筋繊維は3枚重ねの膜で包まれています。ジストロフィン^{ジストロフィン}は、この3枚重ねの膜をとじるホチキスの針のようなもので、筋肉を強く保つ役割をしています。したがって、ジストロフィンがないと筋肉が壊れやすくなると考えられています。

3. ジストロフィン遺伝子は、どのような病気に関係しているのでしょうか？

ジストロフィン遺伝子に変異があると「筋ジストロフィー」という病気になることがあります。

筋ジストロフィーにはいくつかの種類がありますが、ジストロフィン遺伝子を調べてわかる筋ジストロフィーには、①デュシェンヌ型筋ジストロフィーと②ベッカー型筋ジストロフィーの二種類があります（図2）。



4. 遺伝子検査はどのようにして行われるのですか？

一般に遺伝子検査は、ふつうの血液検査と同じように、腕から 15 ～ 20cc の血液をとって行います。血液を調べるだけですので、検査当日は、ふだんの日と同じように過ごして大丈夫です。

5. 遺伝子検査以外の筋ジストロフィーの診断方法について

遺伝子検査ができるようになったのは、比較的最近です。それまでは、筋肉の病気を診断するために、患者さんの腕や脚から筋肉を少しだけとってその組織を調べる「筋生検^{きんせいけん}」という検査が行われてきました。医師は、この筋生検と、他の血液検査や、その人の症状を合わせてみていくことによって、患者さんが筋ジストロフィーかどうかを診断してきました。

この冊子をお読みになっている方のなかにも、これまでに筋生検を受けて診断されている人がいるかもしれません。筋生検は、小さいころに行われることも多いので、おぼえていない人もいます。わからない場合には、ご両親や担当の先生に、たずねてみてください。

むかしの筋生検では、筋肉の組織をみて、筋肉の病気の種類を診断するだけでした。最近では、それに加えて、筋肉を強く保つ働きのあるタンパク質の有無を確かめることができるようになりました。

これらの方法だけでも病気の診断をすることはできます。しかし、これだけでは、次の項目（6 の①）で説明するような、「患者さんの診断結果をご家族のために使う」ことは、むずかしくなります。

6. なぜ、今、遺伝子検査を紹介されているのですか？（検査の目的）

①遺伝子検査を行うと、あなたの情報を、ご家族のために使うことができます

この冊子を読んでいる方のなかには、ご家族から、「遺伝子検査を受けてほしい」「受けるかどうか考えてほしい」と言われた患者さんもいるかもしれません。

遺伝子検査であなたの病気の種類が確認されると、その情報をもとにして、あなたのご家族が自分の遺伝子の情報を知ったり（保因者診断^{ほいんしゃしんだん}）、ご家族が妊娠中の場合は赤ちゃんの遺伝子の情報を知ったり（出生前診断^{しゅっせいぜんしんだん}）することが

できます。あなたのご家族も、あなたと同じ遺伝子の変異をもっている可能性があるからです。

保因者診断や出生前診断は、患者さん本人の遺伝子の情報がないと、実施することがとてもむずかしくなります。患者さんの遺伝子変異の場所がわからないと、ご家族の遺伝子の、どの場所を調べればよいか、わからないからです。

あなたが、ご家族のために遺伝子検査を受けるかどうかを決めるには、時間が必要だと思います。ただし、ご家族が妊娠・出産について患者さんの遺伝子の情報を必要としている場合には、遺伝子検査を受けるか、受けないかの決断をするための時間が、とても限られていることもあります。医師や看護婦は、何度でも、できるだけご相談にのりますので、よく考えて、納得のできる結論を出してください。

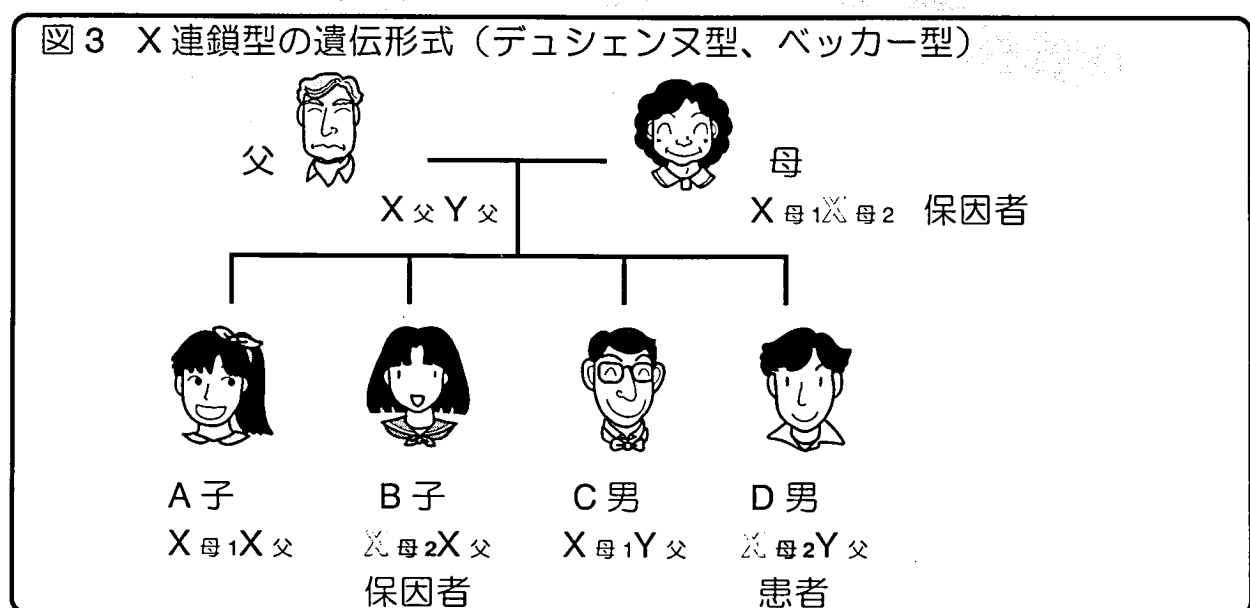
②自分の病気の種類を、よりくわしく確認することができます

遺伝子検査はもちろん、あなた自身のために行うことができます。あなたの病気が筋ジストロフィーの場合、デュシェンヌ型か、ベッカー型かなど、病気の種類をくわしく知ることができます。

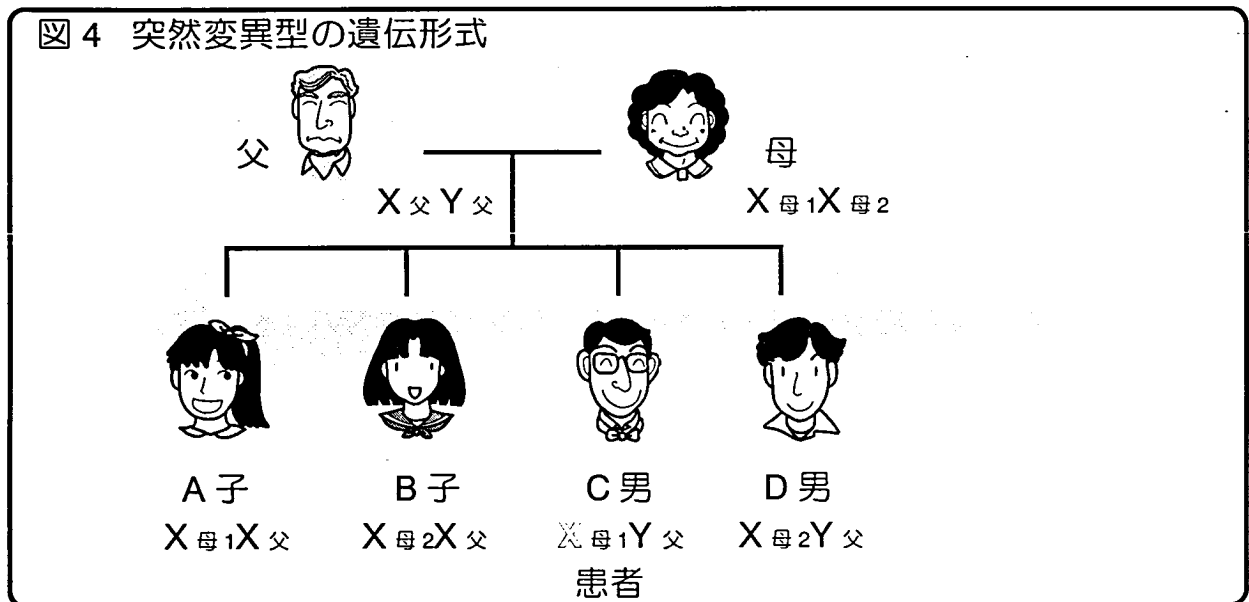
病気の種類がわかると、医師は、患者さんのこれからの状態を予測して、診療について計画を立てたり、これからの生活について一緒に考えることができます。

また、最近の研究で、患者さんの遺伝子変異のタイプによって、特別な治療法の可能性が出てきました。遺伝子検査で変異のタイプがわかることにより、研究段階ではありますが、そのような治療を受ける可能性の有無を知ることができます。

さらに、遺伝子検査で病気の種類がわかることにより、あなたの遺伝子変異の情報の伝わり方についても知ることができます（図3）。



筋ジストロフィーの人のうち、3人に1人は、突然変異^{とつぜんへんい}によっておこるといわれています。突然変異というのは、その人が、お父さんとお母さんから遺伝子情報を引きつぐときに、遺伝子が思いがけない変化をおこして、その人がお父さんやお母さんとちがうタイプの遺伝子をもつことです(図4)。患者さんのうち、3人のうち2人の割合で、ご家族や親戚が同じ遺伝子変異をもっているために、病気になったと考えられています。



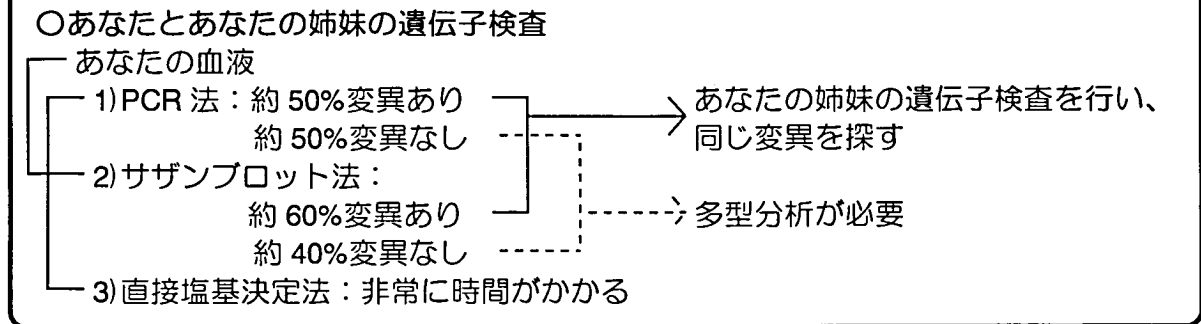
7. 遺伝子検査でわからないこと (遺伝子検査の限界)

ジストロフィン遺伝子の検査で、遺伝子の変異がわかるのは、①デュシェンヌ型筋ジストロフィーと、②ベッカー型筋ジストロフィー、の二種類です。この二つも、いつも確実に診断されるわけではありません。検査の方法によって、診断できる確率が変わってきます。くわしくは図5をご覧ください。

一回の検査で、結果がはっきりと出なかった場合、さらに別の遺伝子検査や、筋生検をして、くわしく調べることが必要になることがあります。そのことについては、検査の結果をお伝えするときに、医師からくわしく説明があります。

さらに検査が必要なときは、その方法・費用などをよく聞いて、あらためて検査を受けるかどうかを判断してください。

図5 遺伝子検査で分かること分からないこと



8. 遺伝子検査の結果はどのように教えてもらえますか？

遺伝子検査の結果がわかるまでには、数週間かかります。検査の結果は医師が説明し、文書であなたにおわたしします。検査の結果は、将来必要になることもありますので、大切にっておいてください。

検査の結果を聞くときには、あなたが一人で聞いても、ご家族の誰かと一緒に聞くのでもかまいません。誰と、どのように聞きたいか、特別に希望があれば、前もって医師に伝えてください。

また、採血をしてから結果を聞くまでのあいだに、「やはり結果を聞きたくない」と思われることもあるかも知れません。その場合は、そのことを医師に伝えてください。

9. 遺伝子検査の結果について、秘密は守られます

あなたの遺伝子検査の結果は、とくにご希望がなければ、あなたにだけ知らされます。検査の結果が、もしも外に漏れてしまった場合、「遺伝子の病気」あるいは「遺伝病」ということで、あなたやあなたのご家族が学校、職場、結婚、保険などで不利な扱いを受ける可能性があります。ですから、遺伝子検査の結果をご親戚、お友達、学校、職場、保険会社などに、あなたの許可を得ずに、知らせることはいたしません。

あなたの遺伝子検査の結果を、医師などが学会で報告したり、論文として発表したり、統計情報として用いるときには、誰の検査結果かまったくわからないようにしますので、あなたを特定する情報が公開される心配はありません。

10. 遺伝子検査を受ける前に知っておきたいこと（心理的・社会的影響）

あなたのまわりの人のなかには、遺伝子についての理解の不足や、病気に対する誤解や偏見をもっている人がいるかもしれません。なにかご心配があるときには一緒に考えていきますので、遠慮なく相談してください。私たち医師、看護婦などは、あなたが不利にならないように、まわりの人に説明をするなど、最大限の努力をします。

11. 遺伝子検査の記録はどのように保存されますか？

検査の結果は、あなたの医療情報として、カルテと一緒に大切に保管されます。病院によっては、遺伝子検査の結果をカルテとは別に保管しているところもあります。病院ごとの対応については、医師におたずねください。

この冊子と別におわたしする「意思確認書」に、検査結果の保管方法について、あなたの希望を記入する欄があります。よく考えて、ご希望をお知らせください。施設によっては、すべてのご希望にそえない可能性があることも、ご了承ください。

12. 遺伝子検査の費用はどのくらいかかるのですか？

遺伝子検査には、健康保険がつかえません。検査の方法によって、かかる費用がちがってきます。

13. 遺伝子検査のときの残りの血液について

遺伝子検査を行ったあとで、血液がすこし残る場合があります。もしも残りの血液を保存しておく、将来、あなたと同じ遺伝子情報を共有しているご家族の医療に役立てたり、あなたと同じ病気の治療法などを探る医学研究に使用することができます。

くわしい説明は、この冊子と別におわたしする「意思確認書」に書いてあります。よくお読みになって、残りの血液を保存するかどうか、保存する場合はどのような目的で使ってよいかについて、ご検討ください。意思確認書にあなたの希望を記入する欄がありますので、ご意向をお知らせください。施設によっては、すべてのご希望にそえない可能性があることも、ご了承ください。

14. 遺伝子検査は、いつでも自由にやめることができます

最初にも書きましたが、遺伝子検査を受けるか、受けないか、受けるとしたらいつ受けるのかなど、決めるのは、あなたの自由です。

検査を申し込んだあとも、結果を聞くまでのあいだに、お気持ちが変わられることがあるかもしれません。採血前であれば、いつでも検査を中止することができます。もしも気持ちが変わられた場合は、そのことを医師に伝えてください。ただし、採血が終わってから同意を取り消された場合には、検査の費用をお返しできないことをご了承ください。

検査結果が出たあとも、あなたが検査の結果を聞きたくなければ、医師は結果を伝えませんので、いつでもご希望をお知らせください。

15. わからないことは、いつでも医師におたずねください

遺伝子検査は、ふつうの血液検査とはちがいます。この説明書を読んでも、わからないところ、むずかしいと思うところがあるかもしれません。遠慮なく、何度でも、医師に質問してください。

遺伝子検査は、患者さんが自分で納得して受けることが大切です。私たち医療関係者は、患者さんの気持ちを一番尊重したいと思っています。

* お問い合わせ、ご質問先 *

(説明者をご記入ください)

施設名：

住 所：

連絡先/TEL： ()

担当医師/担当者名：

受付時間： : ~ :

筋ジス保因者診断意思決定支援プログラム
担当医師保管用

厚労省筋ジス石原班 2001 B-2-同

ジストロフィン遺伝子検査に関する同意書

私は、筋ジストロフィーの遺伝子検査について以下の説明を受けました。
(説明を受けた項目にチェックしてください。チェックのない項目は再度説明します)

- 今回の遺伝子検査の目的には、次の2つがあること
 - ①保因者診断を希望している人(お名前: _____)のため
 - ②私自身の詳しい病型を確認するため
- 遺伝子検査を受けなくても不利益はないこと
- 遺伝子検査の方法(15～20ccの採血)
- 遺伝子検査の限界(100%確実に診断がつくわけではないこと)
- 遺伝子検査で予想される影響(医学的なこと、心理的・社会的なこと)
- 検査を途中で中止することができること
- 検査結果を知らないでいることもできること
- 検査結果の報告方法(同席者をあらかじめ指定できること)
- 検査の費用
- 保因者診断には、私の遺伝子検査の結果が必要であること
- 保因者診断を希望している人の状況によっては、すぐに検査が必要な場合もあること

1. 私は、遺伝子検査の説明について(どちらかに✓)

- よく理解しました → 上記の目的のための遺伝子検査に 同意します
同意しません

2. 私は、検査結果の説明の際、次の人が同席することを希望します(どちらかに✓)

- 自分ひとりで聞きたい
- 親(父・母)
- その他(_____)
- いまはわかりません

説明年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

本人氏名(自署)： _____ (年齢： _____ 歳)

_____ (続柄： _____)

医師記入欄

説明者氏名(自署)： _____

施設名： _____

厚生省筋ジス石原班 2001 B-3

クライアント用
 カルテ控え用

遺伝子検査を受けられたみなさまへ

- ①検査結果のご説明
- ②検査結果の取り扱いなどに関する意思確認書

平成 13 年度 厚生労働省 精神・神経疾患研究委託費
筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態把握と対策に関する研究
遺伝相談プロジェクト

大澤 真木子(東京女子医科大学小児科) 白井 泰子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
丸山 英二(神戸大学大学院法学研究科) 土屋 貴志(大阪市立大学大学院文学研究科)
齋藤 有紀子(北里大学医学部) 玉井 真理子(信州大学医療技術短期大学部)
佐藤 恵子(国立がんセンター中央病院) 掛江 直子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
中井 博史(国立療養所八戸病院)

検査結果貼付欄

1. この文書について

この文書は、ジストロフィン遺伝子の遺伝子検査をされた皆さまに、検査結果をお知らせするものです。わからないこと、心配なことは、遠慮なく医師までご相談ください。

2. 検査の結果（検査結果報告書を参照してください）

①あなたの診断は、②でご説明する結果から総合的に判断して、下記の通りになりました

- あなたは保因者であることがわかりました
- あなたは保因者でないことがわかりました
- はっきりしませんでした

②結果の説明

	ご兄弟	あなた
PCR 法		
ジストロフィン遺伝子の欠失	<input type="checkbox"/> 認めました () <input type="checkbox"/> 認めませんでした	<input type="checkbox"/> 認めました () <input type="checkbox"/> 認めませんでした
サザンブロット法		
ジストロフィン遺伝子の欠失	<input type="checkbox"/> 認めました () <input type="checkbox"/> 認めませんでした	<input type="checkbox"/> 認めました () <input type="checkbox"/> 認めませんでした
ジストロフィン遺伝子の重複	<input type="checkbox"/> 認めました () <input type="checkbox"/> 認めませんでした	<input type="checkbox"/> 認めました () <input type="checkbox"/> 認めませんでした
その他の方法		
血清 CK 値	/	<input type="checkbox"/> 高値 <input type="checkbox"/> 境界値 <input type="checkbox"/> 正常値

3. 診断

①ご兄弟のジストロフィン遺伝子に変異が認められた場合

①-1 あなたのジストロフィン遺伝子にも変異が認められた場合
あなたが保因者であることがわかります。

①-2 あなたのジストロフィン遺伝子に変異が認められなかった場合
あなたが保因者でないことがわかります。

②ご兄弟のジストロフィン遺伝子に変異が認められなかった場合

今回の検査では、ご兄弟の筋ジストロフィーが、X連鎖型の遺伝によるデュシェンヌ型やベッカー型であるかどうかわかりません。あなたが保因者であるかどうかについては、さらにくわしく調べる必要があります。

②-1 母方の叔父さんや男性のいところに病気の方がいらっしゃる場合

- ・ X連鎖型の遺伝による可能性が高いのですが、今回の検査ではわかりませんでしたので、患者さんをさらにくわしく調べるか、あなたの筋生検をすることで、わかる場合があります。
- ・ おじぎがしにくかったり、不整脈などの症状が患者さんにあり、またあなたに不整脈がある場合は、「エメリードライフ型」の可能性ががあります。検査で調べることができます。

②-2 家系の中で、あなたのご兄弟以外に病気の方がいらっしゃらない場合

- ・ ご兄弟は、突然変異によって病気になった可能性が高いと考えられます。この場合、親御さんからの遺伝ではありませんので、あなたが保因者である可能性は低くなると考えられます。

4. 診断後の対応について

①遺伝子検査で診断がついた場合

詳細については、医師から説明をお聞きください。

1)保因者ではなかった場合

遺伝子検査で、あなたが筋ジストロフィーの保因者ではないとわかった場合は、あなたのお子さんがデュシェンヌ型やベッカー型の筋ジストロフィーを発症する可能性はほとんどありません。

ただし、私たちは誰でも5～10個くらいのなんらかの遺伝子の変異をもっ

ていると言われておりますし、何かのきっかけで突然変異がおこることもありますので、生まれてくるお子さんが遺伝子の変異が関係する病気をもつ可能性を完全に否定することはできません。

2)保因者であることがわかった場合

遺伝子検査で、あなたが保因者だとわかった場合でも、あなたが筋ジストロフィーになることは今後ともありません。生まれたお子さんが男の子の場合、1/2の確率で病気になります。また、女の子の場合、通常病気にはならず、保因者である確率が1/2です。

お子さんをもつかどうかとか、何人ほしいか、といったことは、それぞれのご夫婦で考えていただくものですが、選択肢はいろいろあります。

子どもをもたないという選択をする人もいます。お子さんがほしいと思った場合、妊娠したら、そのまま産むという方もいらっしゃいます。もしお子さんが筋ジストロフィーになったとしても、専門の医師などの支援が受けられます。

一方、妊娠中に、お腹の赤ちゃんが筋ジストロフィーかどうかを調べ、妊娠を継続するかどうかを検討することもできます。生まれる前のお腹の赤ちゃんを調べるので、出生前診断といいます。具体的には、赤ちゃんが浮かんでいる羊水や、絨毛という胎盤の組織の一部をとって、あなたのご兄弟と同じ遺伝子の変異をもっているかどうかを検査します（羊水を調べるのを羊水検査、絨毛を調べるのを絨毛検査といいます）。

出生前診断を受けるかどうかや、受けたあとどのような選択をするかは、ご本人やご夫婦の考え方によって違ってきます。出生前診断を受けずに産むという選択をされている方もいます。いずれにせよ、「こうしなくてはいけない」ということはありません。

3)保因者かどうかははっきりとした結果が出なかった場合

患者さんの遺伝子に変異がみつからなかった場合は、遺伝子検査の結果によってあなたが保因者かどうかを判断することは難しくなります。他の方法としては、あなた自身の筋生検、家系の連鎖解析などが考えられます。くわしいことは、担当医にご相談ください。

5. 検査結果の保管について

医療機関における検査結果の保管方法には次の2つがあります。ご検討のうえで選択してください（施設によっては、保管方法を選択できない場合もあります）。

①通常のカルテに記録する方法

検査結果は、検査を受けたあなた自身のカルテに記録されます。これは、ふつうの医療記録と同じ扱いになります。必要なときに、施設内の医師や看護婦が、自由に記録をみながら、ご本人の診療にあたることができます。医療スタッフには、守秘義務（秘密を守る義務）がありますので、知りえた情報を第三者に伝えることはありません。

②カルテとは別に保管する方法

検査結果は、検査を受けたあなた自身のカルテとは別に記録・保管されます。この場合、医師も看護婦も、カルテをみただけでは遺伝子検査の結果を知ることができません。検査結果は、カギのかかる部屋に保管されたり、見ることができる人や時間が限定されます。

6. 検査結果や、残りの血液の使用について

検査結果や、残りの血液は、他のご家族の診療や、医学研究のために役立てることができます。ただし、検査結果はあなたの許可なく、他のご親族に伝えたり、医学研究に使うことはありません。そこで、今後、検査結果をどのように扱うかについて、ご指示いただきたいと思います。

ご家族・ご親族への提供、医学研究への提供は、あなたの自由です。検査結果や血液を研究のためにご提供なさらなくても、医師との関係が気まずくなったり、医療を受けにくくなることなどはまったくありません。

また、もし提供を申し出てくださった場合でも、施設によっては、スペースの関係で残りの血液を保存できないころもありますので、ご了承ください。

①他のご親族の診療のために使う場合

検査結果や、残りの血液は、他のご親族のために役立てることができます。この場合は、個人情報はずけたままで保存されます。

②医学研究のために提供する場合

検査結果や、残りの血液を医学研究にご提供いただくことで、病気の原因を解明したり、治療法の確立につなげることができます。この場合は、個人情報をつけず、誰のものかわからないかたちで提供いただくことも可能です。

もしも個人情報をつけて医学研究に提供いただいた場合には、新しいことがわかったときに、いち早く情報をお伝えし、ご本人の診療に生かす可能性が

高まります。そのような連絡を希望される場合には、当方からの連絡を確実にするために、転居先などをつねにお知らせいただく必要があります。

それらのことをご理解のうえで、意思確認書（B-3-確）の希望項目をチェックしてください。

7. お気持ちが変わられたとき

この意思確認書を提出されたのち、記載内容の変更・訂正をご希望の場合には、いつでも担当医（者）までお申し出ください。

8. 支援体制

あなたがかかっている施設の他、筋ジストロフィーの患者さんやご家族を支援する活動をしている施設や団体がありますので、医師等におたずねください。

- ①遺伝に関する相談やカウンセリングを行っているところ
- ②患者団体
- ③福祉に関する問い合わせ

*** この書類についてのお問い合わせ先 ***

施設名：

連絡先/TEL： （ ）

担当医師/担当者名：

受付時間： ： ～ ：

担当医師保管用

厚労省筋ジス石原班 2001 B-3-確

*** 意思確認書 ***

検査の結果についてよくわからないところがありましたら、もう一度説明をうけてください。

1. 検査結果がどのように保管されることを希望しますか？（どちらかに✓）

- 検査結果が、通常の医療記録と同様に、私のカルテに記録され、今後の診療の参考にされることを希望します
- 検査結果が、通常の医療記録とは別に保管され、私のカルテを見ても、すぐにはわからないかたちで扱われることを希望します

2. 検査結果と残りの血液が、どのように使用されることを希望しますか？

①家族・親族の診療のために提供されますか？（どちらかに✓）

- 提供しません
- 提供します（個人情報はずけたままです）
- ↳ その場合、条件として（いずれかに✓）
- 提供を認めてもよいと思われる人を前もって指定しておきたい
あなたとの続柄：きょうだい・おい・めい・子ども・その他()
- 使うときに、私の意向をそのつど確認してほしい
- 血縁者に必要なら、特にことわりなく使ってかまわない

②医学研究のために提供されますか？（どちらかに✓）

- 提供しません
- 提供します
- ↳ その場合、条件として（それぞれに✓）
- (1) 使うときに、私の意向をそのつど確認してほしい
- とくにことわりなく使ってかまわない
- (2) 筋ジストロフィーの診断・治療に関する研究のために提供する
- 医学研究のためならどのように使ってもかまわない
- (3) 個人情報を記号化するなど、たどれないかたちで使ってほしい
(本施設でのみ使用可・ 他施設などの国際共同研究でも可)
- 個人情報をつけたままかまわない
(本施設でのみ使用可・ 他施設などの国際共同研究でも可)
- ↳ その場合、新しいことがわかったときに
- 私に知らせてほしい
- あえて知らせてくれる必要はない

説明年月日：西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

本人氏名（自署）： _____

当方からのお知らせを希望する場合は住所：(住所変更の際には再度住所をご連絡ください)

〒 _____

医師記入欄

説明者氏名（自署）： _____

施設名： _____

- 患者さん用
- カルテ控え用

ジストロフィン遺伝子の 遺伝子検査を受けられたみなさまへ

- ①検査結果のご説明
- ②検査結果の取り扱いなどに関する意思確認書

平成 13 年度 厚生労働省 精神・神経疾患研究委託費
筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身的病態把握と対策に関する研究
遺伝相談プロジェクト

大澤 真木子(東京女子医科大学小児科) 白井 泰子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
丸山 英二(神戸大学大学院法学研究科) 土屋 貴志(大阪市立大学大学院文学研究科)
齋藤 有紀子(北里大学医学部) 玉井 真理子(信州大学医療技術短期大学部)
佐藤 恵子(国立がんセンター中央病院) 掛江 直子(国立精神・神経センター精神保健研究所)
中井 博史(国立療養所八戸病院)

検査結果貼付欄

1. この文書について

この文書は、ジストロフィン遺伝子の遺伝子検査をされたみなさまに、検査結果や、残りの血液の取りあつかいについておうかがいするものです。よくご検討のうえ、最終ページの意思確認書にご記入ください。わからないこと、心配なことは、遠慮なく医師までご相談ください。

2. 検査の結果（検査結果報告書を参照してください）

①遺伝子検査で診断がついた場合

これからのことなど、くわしくは医師から説明をお聞きください。

②遺伝子検査ではっきりと診断がつかなかった場合

今回の遺伝子検査で診断がつかなかった場合、ほかの検査について、ご案内することがあります。

3. 検査結果の保管について

医療機関における検査結果の保管方法には次の2つがあります。ご希望の方法を選択してください（施設によっては、保管方法を選択できない場合もあります）。

①通常のカルテに記録する方法

検査結果は、検査を受けたあなた自身のカルテに記録されます。これは、ふつうの医療記録と同じ扱いになります。必要なときに、施設内の医師や看護婦が、自由に記録をみながら、ご本人の診療にあたります。医療スタッフには^{しゅひぎむ}守秘義務（秘密を守る義務）がありますので、カルテで知りえた情報を、第三者に伝えることはありません。

②カルテとは別に保管する方法

検査結果は、検査を受けたあなた自身のカルテとは別に記録・保管することもできます。この場合、医師も看護婦も、カルテをみただけでは、その人の遺伝子検査の結果を知ることはできません。検査結果は、カギのかかる部屋に保管されたり、見ることができる人や時間が限定されます。

4. 検査結果や、残りの血液の使用について

検査結果や、残りの血液は、あなたの診療のほかに、他のご家族の医療や、医学研究のために役立てることができます。

あなたは、既に、どなたか特定のご家族のために遺伝子検査をなさっているかも知れません。これからおうかがいすることは、そのこととは別に、将来、あなたと遺伝情報を共有するご家族が、あなたの遺伝情報を必要としたときに、あなたの血液と遺伝情報を使ってもよいかどうかについて、おたずねするものです。

検査結果と残りの血液をどのように扱ってよいかについて、ご指示いただきたいと思います。

検査結果と残りの血液の、ご家族・ご親族への提供や、医学研究への提供は、患者さんご本人の自由です。提供なさらなくても、医師との関係が気まじくなったり、医療を受けにくくなることなどはまったくありません。

施設によっては、スペースの関係で残りの血液を保存できない場合もありますので、ご了承ください。

①家族・親族の医療のために提供する場合

遺伝子検査で、遺伝子の変異の場所が確認されることにより、あなたのご家族が同じ病気になるかどうか、同じ遺伝子変異をもっているかどうかを、医学的に推定することができます。そのためには、あなたと、そのご家族の血縁関係をきちんと記録しておく必要がありますので、あなたの情報や血液は、個人情報をつけたままで保存・使用されます。ご本人の情報がわからないかたちで保存されていると、ご家族にとって十分な医療情報とはなりません。

ご家族のために提供される場合、個人情報をつけたままで保存されることへの不安を少しでも解消するために、患者さんに提供のかたちを前もってお選びいただき、できるだけ安心していただきたいと思います。意思確認書（B-4-同）に記入欄がありますので、ご希望の項目にチェックしてください。

②医学研究のために提供する場合

検査結果や、残りの血液を医学研究にご提供いただくことで、病気の原因を解明したり、治療法の確立につなげることができます。この場合は、あなたの情報や血液に個人情報をつけず、誰のものかわからないかたちで提供いただくことも可能です。

もしも個人情報をつけて医学研究に提供いただいた場合には、新しいことが

わかったときに、いち早く情報をお伝えし、あなたの診療に生かす可能性が高まります。そのような連絡を希望される場合には、医療機関からの連絡を確実にするために、転居先を、つねにお知らせいただく必要があります。

それらのことをご理解のうえで、意思確認書の希望項目をチェックしてください。

5. お気持ちが変わられたとき

この意思確認書を提出されたのち、内容の変更・訂正をご希望の場合には、いつでも担当医（者）までお申し出ください。

* お問い合わせ先 *

施設名：

連絡先/TEL： ()

担当医師/担当者名：

受付時間： : ~ :

担当医師保管用

厚労省筋ジス石原班 B-4-確

*** 意思確認書 ***

検査の結果についてよくわからないところがありましたら、もう一度説明をうけてください。

1. 検査結果がどのように保管されることを希望しますか？（どちらかに✓）

- 検査結果が、通常の医療記録と同様に、私のカルテに記録され、今後の診療の参考にされることを希望します
- 検査結果が、通常の医療記録とは別に保管され、私のカルテを見ても、すぐには分からないかたちで扱われることを希望します

2. 検査結果と残りの血液が、どのように使用されることを希望しますか？

- 私の診療のためだけに使用する
- 私の診療以外の目的にも提供する
 - 今回の家族以外の親族の診療のために提供します(個人情報はずけたままです)
 - ↳ その場合、条件として
 - 提供を認めてもよいと思われる人を前もって指定しておきたい
患者さんとの続柄: きょうだい・おい・めい・子ども・その他()
 - 使うときに、私の意向をそのつど確認してほしい
 - 血縁者に必要なら、特にことわりなく使ってかまわない

医学研究のために提供します

- ↳ その場合、条件として
 - (1) 使うときに、私の意向をそのつど確認してほしい
 - とくにことわりなく使ってかまわない
 - (2) 筋ジストロフィーの診断・治療に関する研究のために提供する
 - 医学研究のためならどのように使ってもかまわない
 - (3) 個人情報を記号化するなど、たどれないかたちで使ってほしい
(本施設でのみ使用可・他施設などの国際共同研究でも可)
 - 個人情報をつけたままでかまわない
(本施設でのみ使用可・他施設などの国際共同研究でも可)
 - ↳ その場合、新しいことがわかったときに
 - 私に知らせてほしい
 - あえて知らせてほしくない

説明年月日：西暦 年 月 日

本人氏名(自署)： _____

(続柄: _____)

当方からのお知らせを希望する場合は住所:(住所変更の際には再度住所をご連絡ください)

〒 _____

医師記入欄

説明者氏名(自署)： _____

施設名： _____

11指-1 筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に基づく治療法の開発に関する研究

分担研究 課題番号	区分	氏名	所属施設・職名	分担研究課題	所属施設所在地 (TEL・FAX・E-mailアドレス)
11指-1-01	主任	石原 傳幸	国立療養所箱根病院 神経内科 副院長	筋ジストロフィー遺伝子診断と呼吸不全対策	〒250-0032 神奈川県小田原市風祭412 TEL 0465-22-3196 (内1112) FAX 0465-23-1167 E-mail isharata@hakone.hosp.go.jp
11指-1-02	分担 (運営幹事)	神野 進	国立療養所刀根山病院 神経内科 副院長	筋ジストロフィーの運動障害進展の関連因子の解明と防止策の確立	〒560-8552 大阪府豊中市刀根山5-1-1 TEL 06-6853-2001 (内112) FAX 06-6853-3127 E-mail shinno@toneyama.hosp.go.jp
11指-1-03	分担 (監事)	松岡 幸彦	国立療養所鈴鹿病院 神経内科 院長	筋強直性ジストロフィーに対する人工換気療法の検討	〒513-8501 三重県鈴鹿市加佐登3-2-1 TEL 0593-78-1321 (内211) FAX 0593-78-7083 E-mail matsukaka@suzuka.hosp.go.jp
11指-1-04	分担	足立 克仁	国立療養所徳島病院 内科 副院長	筋ジストロフィー各病型における心・骨格筋障害に関する研究	〒776-8585 徳島県麻植郡鴨島町敷地1354 TEL 0883-24-2161 (内201) FAX 0883-24-8661 E-mail adachi@tokushima.hosp.go.jp
11指-1-05	分担	福田 清貴	国立療養所原病院 臨床検査科長・小児科	DMD及びBMDにおける血液凝固障害に関する研究	〒738-0031 広島県廿日市市原926-1 TEL 0829-38-0111 (内203) FAX 0829-39-6372 E-mail
11指-1-06	分担	荒巻 晴道	国立療養所箱根病院 リハビリテーション科 医局長	筋ジストロフィー進行例における臨床病態に関する研究	〒250-0032 神奈川県小田原市風祭412 TEL 0465-22-3196 (内1303) FAX 0465-23-1167 E-mail
11指-1-07	分担	原 修	国立療養所道北病院 神経内科 副院長	筋ジストロフィーにおける横隔膜と胸部運動の評価にDSAを用いた研究	〒070-8644 北海道旭川市花咲町7丁目4048番地 TEL 0166-51-3161 FAX 0166-53-9184 E-mail yahara@dohoku.hosp.go.jp
11指-1-08	分担	石川 幸辰	国立療養所八雲病院 小児科 副院長	Duchenne 型筋ジストロフィーの迅速な遺伝子変異解析法及び遺伝相談を含む包括医療システム	〒049-3198 北海道山越郡八雲町宮園町128 TEL 01376-3-2126 (内2220) FAX 01376-4-2715 E-mail y-ishi@host.or.jp

分担研究 課題番号	区 分	氏 名	所 属 施 設 ・ 職 名	分 担 研 究 課 題	所 属 施 設 所 在 地 (TEL・FAX・E-mailアドレス)
11指-1-09	分 担	大 澤 真木子	東京女子医科大学 小児科 主任教授	筋ジストロフィーの遺伝相談法及び病態に 関する研究	〒162-8666 東京都新宿区河田町8-1 TEL 03-3353-8111 (内37308) FAX 03-5379-1440 E-mail mosawa@ped.twmu.ac.jp
11指-1-10	分 担	三 池 輝 久	熊本大学医学部 小児科 教 授	筋ジストロフィーの血管平滑筋機能不全を 考慮した治療法の開発	〒860-8556 熊本県熊本市本庄1-1-1 TEL 096-373-5195 FAX 096-373-5200 E-mail miketeru@kaiju.med.kumamoto-u.ac.jp
11指-1-11	分 担	岩 谷 道 生	国立療養所岩木病院 整形外科 医 長	筋ジストロフィー患者に合併する脊柱変形 に対する外科的治療に関する研究(プロジェ クト外科治療)	〒038-1331 青森県南津軽郡浪岡町大字女鹿沢平野155 TEL 0172-62-4055 (内211) FAX 0172-62-7289 E-mail iwaya@iwaki.hosp.go.jp
11指-1-12	分 担	今 野 秀 彦	国立療養所西多賀病院 臨床検査科 科 長	肢体型筋ジストロフィーII B (ジスフェルリ ン異常症)の臨床像と遺伝子診断に関する研 究	〒982-8555 宮城県仙台市太白区鉤取本町2-11-11 TEL 022-245-2111 FAX 022-243-2530 E-mail
11指-1-13	分 担	中 田 好 則	国立療養所千葉東病院 整形外科 医 長	筋ジストロフィーによる脊柱変形に対する 手術治療法の開発	〒260-8712 千葉県千葉市中央区仁戸名町673 TEL 043-261-5171 (内316) FAX 043-264-3269 E-mail
11指-1-14	分 担	清 水 潤	国立療養所下志津病院 神経内科・臨床研究部 研究員	筋ジストロフィーの画像診断及び合併症の 診断と治療に関する研究	〒284-0003 千葉県四街道市鹿渡934-5 TEL 043-422-2511 (内240) FAX 043-421-3007 E-mail jshimizu-tky@umin.ac.jp
11指-1-15	分 担	白 井 泰 子	国立精神・神経センター 精神保健研究所 社会精神保健部 社会文化研究室 室 長	筋ジストロフィーの遺伝子診断及び遺伝相 談法に関する法的、倫理的、心理・社会的諸 問題の検討	〒272-0827 千葉県市川市国府台1-7-3 TEL 047-372-0141 (内1282) FAX 047-371-2900 E-mail shirai@ncnp.k.go.jp
11指-1-16	分 担	大 矢 寧	国立精神・神経センター 武蔵病院 神経内科 医 長	筋ジストロフィーの clenbuterol の投与の 効果	〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1 TEL 042-341-2711 FAX 042-346-1705 E-mail yoya@ncnppmusashi.gr.jp

分担研究 課題番号	区 分	氏 名	所 属 施 設 ・ 職 名	分 担 研 究 課 題	所 属 施 設 所 在 地 (TEL・FAX・E-mailアドレス)
11指-1-17	分 担	若 田 宣 雄	東邦大学医学部・大橋病院 第四内科 教 授	筋障害とフリーラジカル	〒153-8515 東京都目黒区大橋2-17-6 TEL 03-3468-1251 (内2323) FAX 03-3468-5082 E-mail waka@oha.toho-u.ac.jp
11指-1-18	分 担	未 岡 浩	慶應義塾大学医学部 産婦人科学教室 助教授	筋ジストロフィー各種遺伝子病型に対応する着床前遺伝子診断法の開発と意義に関する研究	〒160-0016 東京都新宿区信濃町35 TEL 03-3353-1211 (内62393) FAX 03-3226-1667 E-mail ksueoka@ms.sc.keio.ac.jp
11指-1-19	分 担	近 藤 浩	国立療養所新潟病院 神経内科 医 長	筋ジストロフィーの全身性病態解析に関する研究	〒945-8585 新潟県柏崎市赤坂町3-52 TEL 0257-22-2126 (内251) FAX 0257-24-9812 E-mail h-kondo@mxg.mesh.ne.jp
11指-1-20	分 担	本 家 一 也	国立療養所医王病院 小児科 副院長	筋強直性ジストロフィー患者の呼吸障害およびその他の病状に対するセロトニンターゲル1Aレセプターアゴニストの有効性について	〒920-0192 石川県金沢市岩出町2-73 TEL 076-258-1180 FAX 076-258-6719 E-mail honkek@iou.hosp.go.jp
11指-1-21	分 担	渡 邊 宏 雄	国立療養所長良病院 小児科 医 師	筋ジストロフィー症における呼吸不全、心不全による心機能への影響の検討 (第2報)	〒502-8582 岐阜県岐阜市長良1291 TEL 058-232-7574 (内214) FAX 058-294-3718 E-mail hiroo@nagara-lan.hosp.go.jp
11指-1-22	分 担	樋 口 嘉 久	国立療養所宇多野病院 小児科 医 長	デュシェンヌ型進行性筋ジストロフィーの中枢神経症状についての研究	〒616-8255 京都府京都市右京区鳴滝菅戸山町8 TEL 075-461-5121 (内7051) FAX 075-464-0027 E-mail Yhiguchi@unh.hosp.go.jp
11指-1-23	分 担	三 木 哲 郎	愛媛大学医学部 老年医学 教 授	筋強直性ジストロフィーの分子遺伝学	〒791-0295 愛媛県温泉郡重信町志津川 TEL 089-960-5495 (直通) FAX 089-960-5852 E-mail tmiki@m.ehime-u.ac.jp
11指-1-24	分 担	安 東 範 明	国立療養所西奈良病院 神経内科 医 長	(1)筋ジストロフィーにおけるクワアリン経口投与による血栓準備状態の改善 (2)筋ジストロフィーの動作解析に基づく機能改善	〒630-8053 奈良県奈良市七条2-789 TEL 0742-45-4591 (内707) FAX 0742-48-3512 E-mail andon@wnara.hosp.go.jp

分担研究 課題番号	区 分	氏 名	所属施設・職名	分 担 研 究 課 題	所 属 施 設 所 在 地 (TEL・FAX・E-mailアドレス)
11指-1-25	分 担	竹 島 泰 弘	神戸大学医学部附属病院 小児科 助手	精神発達遅滞に係わるジストロフィー遺伝 子異常に関する研究	〒650-0017 兵庫県神戸市中央区楠町7-5-2 TEL 078-382-6091 FAX 078-382-6099 E-mail takesima@med.kobe-u.ac.jp
11指-1-26	分 担	吉 岡 三 恵 子	神戸市総合療育センター 小児神経科 所長	福山型先天性筋ジストロフィーの臨床的・遺 伝的研究	〒653-0875 兵庫県神戸市長田区丸山町2-3-50 TEL 078-646-5291 FAX 078-636-5289 E-mail mieko@nte.biglobe.ne.jp
11指-1-27	分 担	多 田 和 雄	国立療養所兵庫中央病院 神経内科 医長	筋ジストロフィーの知能障害に関する研究	〒669-1515 兵庫県三田市大原1314 TEL 0795-63-2121 (内417) FAX 0795-64-4626 E-mail
11指-1-28	分 担	下 山 良 二	国立療養所松江病院 リハビリテーション科 医長	筋ジストロフィー患者の心不全と呼吸不全 における組織低酸素状態の検討	〒690-8556 島根県松江江市上乃木5-8-31 TEL 0852-21-6131 FAX 0852-27-1019 E-mail yoshino@matsue.hosp.go.jp
11指-1-29	分 担	佐 野 壽 昭	徳島大学医学部 第一病理学 教授	筋ジストロフィー剖検例の全国登録および 病理組織学的研究	〒770-8503 徳島県徳島市蔵本町3-18-15 TEL 088-633-7063 (直通) FAX 088-633-9423 E-mail sano@basic.med.tokushima-u.ac.jp
11指-1-30	分 担	菅 理 恵	国立療養所筑後病院 神経内科 医師	筋ジストロフィーの病態と治療に関する研 究	〒833-0054 福岡県筑後市蔵敷515 TEL 0942-52-2195 (内315) FAX 0942-53-7053 E-mail rsuga@tku.go.hosp.go.jp
11指-1-31	分 担	後 藤 勝 政	国立療養所西別府病院 神経内科 医長	筋ジストロフィーにおける自律神経機能の 研究	〒874-0838 大分県別府市鶴見4548 TEL 0977-24-1221 (内705) FAX 0977-26-1163 E-mail gotouk@wbepnu.hosp.go.jp
11指-1-32	分 担	田 村 拓 久	国立療養所川棚病院 内科 医長	筋ジストロフィーの心臓合併症の診断と治 療	〒859-3615 長崎県東彼杵郡川棚町下組郷2005-1 TEL 0956-82-3121 (内2004) FAX 0956-82-4630 E-mail tamu@kawatana.hosp.go.jp

分担研究 課題番号	区 分	氏 名	所 属 施 設 ・ 職 名	分 担 研 究 課 題	所 属 施 設 所 在 地 (TEL・FAX・E-mailアドレス)
11指-1-33	分 担	今 村 重 洋	国立療養所再春荘病院 神経内科 医 長	BMD患者の自律神経機能について	〒861-1196 熊本県菊池郡西合志町須屋2659 TEL 096-242-1000 (内814) FAX 096-242-2619 E-mail imamura@saisyunso.hosp.go.jp
11指-1-34	分 担	隈 本 健 司	国立療養所宮崎東病院 内 科 院 長	筋ジストロフィーの遺伝相談に関する研究	〒880-0911 宮崎県宮崎市大字田吉4374-1 TEL 0985-56-2311 (内200) FAX 0985-56-2257 E-mail kumamoto@miyazakie.hosp.go.jp
11指-1-35	分 担	園 田 至 人	国立療養所南九州病院 神経内科 医 長	Mechanomyography (筋音図法) を用いた筋疾患の新たな診断法の検討	〒899-5293 鹿児島県始良郡加治木町木田1882 TEL 0995-62-2121 FAX 0995-63-1807 E-mail yoshito@dream.com
11指-1-36	分 担	石 川 清 司	国立療養所沖繩病院 外 科 院 長	Ullrich 型先天性筋ジストロフィーの臨床、病理、遺伝学的研究	〒901-2214 沖縄県宜野湾市我如古3-20-14 TEL 099-398-2121 FAX 098-897-0938 E-mail
11指-1-37	分 担	員 谷 久 宣	社団法人 日本筋ジストロフィー協会 神経精神医学 理 事	筋ジストロフィー患者・家族の遺伝相談と啓蒙に関する研究	〒162-0051 東京都新宿区西早稲田2-2-8 TEL 03-5273-2930 FAX 03-3208-7030 E-mail

研究班構成

班 長	石原 傅幸
運営幹事	神野 進
監 事	松岡 幸彦
幹 事	足立 克仁
	福田 清貴
	箭原 修
	石川 幸辰
	大澤 真木子
	三池 輝久

プロジェクトリーダー

遺伝子診断・出生前診断	石川 幸辰・川村 潤
Quality Controller	加藤 真吾
遺伝相談	大澤 真木子・白井 泰子・末岡 浩
疫学・データベース	石川 幸辰・貝谷 久宣・佐野 壽昭
画像診断	足立 克仁
先天性筋ジストロフィー	大澤 真木子・吉岡 三恵子
筋強直性ジストロフィー	松岡 幸彦・箭原 修・三木 哲郎
臨床病態	
凝固亢進	福田 清貴・安東 範明
心肺不全	石原 傅幸
その他（特に中枢神経）	三池 輝久・近藤 浩
薬物療法	神野 進・本家 一也
外科治療	岩谷 道生・中田 好則

筋ジストロフィー研究石原班

平成11年度

ワークショップ・プログラム

日 時：平成11年11月28日（日） 10：00～17：00

場 所：全共連ビル

東京都千代田区平河町2-7-9

TEL：03-3265-3111

（裏面の地図を参照のこと）

ワークショップ・プログラム

筋ジストロフィーの脊柱変形手術と遺伝相談法の実際

9 : 5 5

班長挨拶

石原 傳幸

1) 神経筋疾患に対する脊柱固定術

司会 国立療養所刀根山病院

姜 進

10 : 00 - 10 : 30

1. 脊柱固定術のdecision making

大竹整形外科

大竹 進

10 : 30 - 11 : 30

2. 手術方法および症例呈示

国立療養所岩木病院・整形外科

岩谷 道生

— 昼食 —

2) 遺伝相談法の実際

司会 国立精神・神経センター・精神保健研究所
東京女子医科大学・小児科

白井 泰子
大澤真木子

13 : 00 - 13 : 30

1. 遺伝相談・遺伝子診断の指針に関する世界の動向

国立精神・神経センター・精神保健研究所

白井 泰子

13 : 30 - 14 : 00

2. 遺伝子診断の現況

慶應義塾大学・医学部・微生物学教室

加藤 真吾

14:00-14:30

3. 遺伝相談・遺伝子診断・出生前診断の説明における法的解釈について

神戸大学・法学部

丸山 英二

14:30-15:00

4. 出生前診断における患者さんへの説明の実際

慶應義塾大学・医学部・産婦人科

末岡 浩

15:00-15:30

5. 遺伝相談の実際とその問題点

遺伝相談事例の紹介

東京女子医科大学・小児科

大澤真木子

15:30-16:00

6. 遺伝相談・遺伝子診断・出生前診断でのそむ事

—私が傷ついた医師の言動—

日本筋ジストロフィー協会

貝谷 久宣

16:00-16:30

7. 遺伝相談の実際とその問題点

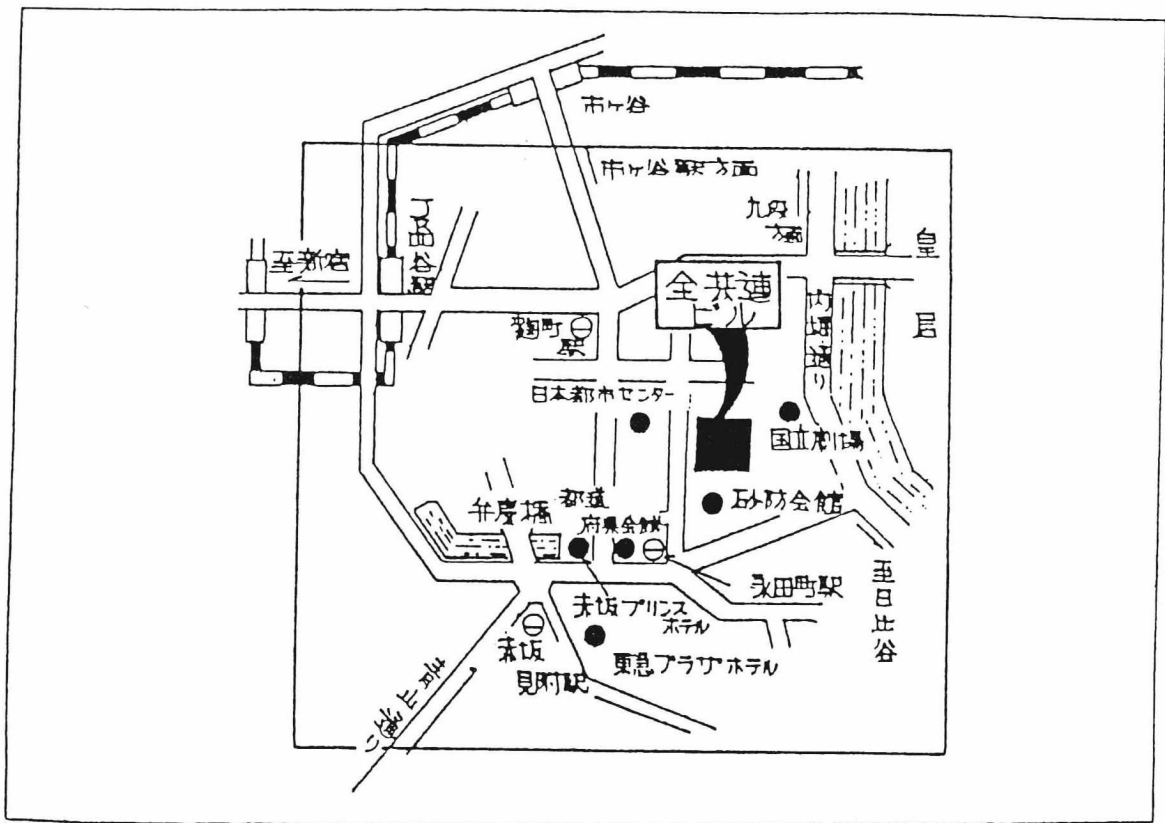
遺伝相談における遺伝子診断実施の許容範囲—事例分析

国立療養所西多賀病院

中井 博史

16:30-17:00

総合討論



場所 全共連ビル

東京都千代田区平河町 2-7-9

☎03-3265-3111

営団地下鉄 { 赤坂見附 (丸ノ内線・銀座線)
永田町 (有楽町線・半蔵門線)
麹町 (有楽町線) } 下車

アルカディア市ヶ谷 (私学会館)



⊕ 営団地下鉄 市ヶ谷駅出口 (有楽町線・南北線)
⊙ 都営地下鉄 市ヶ谷駅出口 (新宿線)

〒102-0073 東京都千代田区九段北 4 丁目 2 番 25 号
TEL 03 (3261) 9921 (代表)

厚生省精神・神経疾患研究委託費
**筋ジストロフィーの遺伝相談法及び
病態に基づく治療法の開発に関する研究**

(筋ジス研究石原班)
班長 石原 傳幸

**平成12年度
ワークショップ・プログラム**



日時：平成12年 7月15日(土) 10:00～

場所：砂防会館 別館1階 淀信濃
東京都千代田区平河町2-7-5
TEL：03-3261-8390

(裏面の地図を参照のこと)

プログラム

筋ジストロフィーのNIPPV治療と遺伝相談

9 : 5 5

班長挨拶

石原 傳幸

1) 筋ジストロフィー呼吸不全治療においてNIPPVの限界はあるのか

司会

国立療養所刀根山病院

姜 進

国立療養所箱根病院

春原 經彦

1 0 : 0 0 - 1 0 : 2 0

国立療養所八雲病院

石川 悠加

1 0 : 2 0 - 1 0 : 4 0

国立療養所徳島病院

弓田羅勝義

1 0 : 4 0 - 1 1 : 0 0

国立療養所東埼玉病院

谷田部可奈

1 1 : 0 0 - 1 1 : 2 0

国立療養所刀根山病院

齊藤 利雄

1 1 : 2 0 - 1 2 : 0 0

総合討論

1 2 : 0 0 - 1 3 : 0 0

- 昼 食 -

2) 遺伝相談ワークショップ

司会 国立精神・神経センター精神保健研究所 白井 泰子
東京女子医科大学・小児科 大澤真木子

13:00-13:40

遺伝相談とは

東京女子医科大学・小児科 大澤真木子

13:40-14:55

事例呈示(1)

担当医師	国立療養所東埼玉病院	石原 傳幸
クライアント	信州大学医療技術短期大学	玉井真理子
	明治大学・法学部	斎藤有紀子
	国立療養所西多賀病院	中井 博史

参加者による挑戦・全体討論

14:55-15:05 - 休憩 -

15:05-17:00

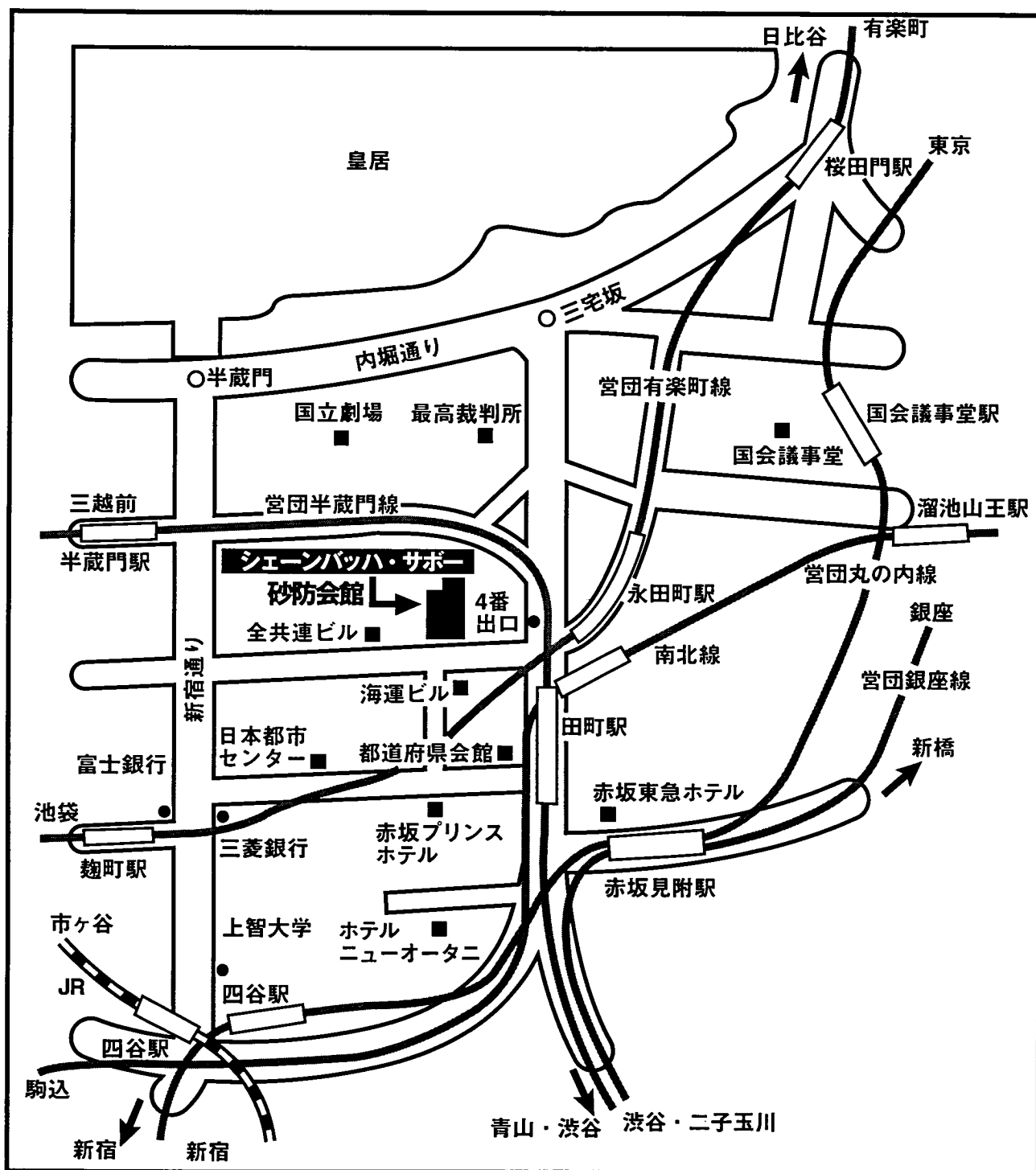
事例呈示(2)

担当医師	国立療養所東埼玉病院	石原 傳幸
クライアント	信州大学医療技術短期大学	玉井真理子
	明治大学・法学部	斎藤有紀子
	国立療養所西多賀病院	中井 博史

まとめ

会場案内図

シェンバツハ・サポー



■交通のご案内

地下鉄<有楽町線・半蔵門線・南北線>永田町駅4番出口より徒歩1分

地下鉄<銀座線・丸の内線>赤坂見附駅より徒歩8分

社団法人 全国治水砂防協会

東京都千代田区平河町2-7-5

☎03-3261-8390

厚生労働省精神・神経疾患研究委託費
筋ジストロフィーの遺伝相談法及び
病態に基づく治療法の開発に関する研究
(筋ジストロフィー研究石原班)
班長 石原 傳幸

平成13年度
ワークショップ・プログラム



日時：平成13年 8月25日(土) 9:30～

場所：全共連ビル 別館1階 コンベンションホール
東京都千代田区平河町2-7-9
TEL 03-5215-9501

(裏面の地図を参照のこと)

プログラム

遺伝相談と筋強直性ジストロフィー

9 : 3 0

班長挨拶

石原 傳幸

1) 遺伝相談ワークショップ 2

司会 国立精神・神経センター精神保健研究所
東京女子医科大学・小児科

白井 泰子
大澤真木子

協力 信州大学医療技術短期大学
慶應義塾大学・医学部
国立療養所八戸病院
神戸大学大学院・法学研究科
大阪市立大学・文学部
北里大学・医学部
国立がんセンター中央病院
国立精神・神経センター精神保健研究所

玉井真理子
末岡 浩
中井 博史
丸山 英二
土屋 貴志
斎藤有紀子
佐藤 恵子
掛江 直子

9 : 3 5 - 9 : 5 0

2001年遺伝相談とは

東京女子医科大学・小児科

大澤真木子

9 : 5 0 - 1 0 : 0 5

事例呈示

1 0 : 0 5 - 1 0 : 3 5

参加者group討論 (6 ~ 8 groupにわかれて作業)

1 0 : 3 5 - 1 1 : 0 5

groupの発表と討論

1 1 : 0 5 - 1 1 : 1 5

参加者による挑戦

1 1 : 1 5 - 1 1 : 4 5

全体討論コメント

12:00-13:30

— 昼食 —

2) 筋強直性ジストロフィーの延命を考える

司会

国立療養所鈴鹿病院

松岡 幸彦

国立療養所道北病院

箭原 修

13:30-13:55

核医学からみた心機能評価について

国立療養所道北病院

榎本 博之

13:55-14:20

心不全および類似病態の診断と治療

国立療養所川棚病院

田村 拓久

14:20-14:45

嚥下障害

国立療養所東埼玉病院

花山 耕三

14:45-15:10

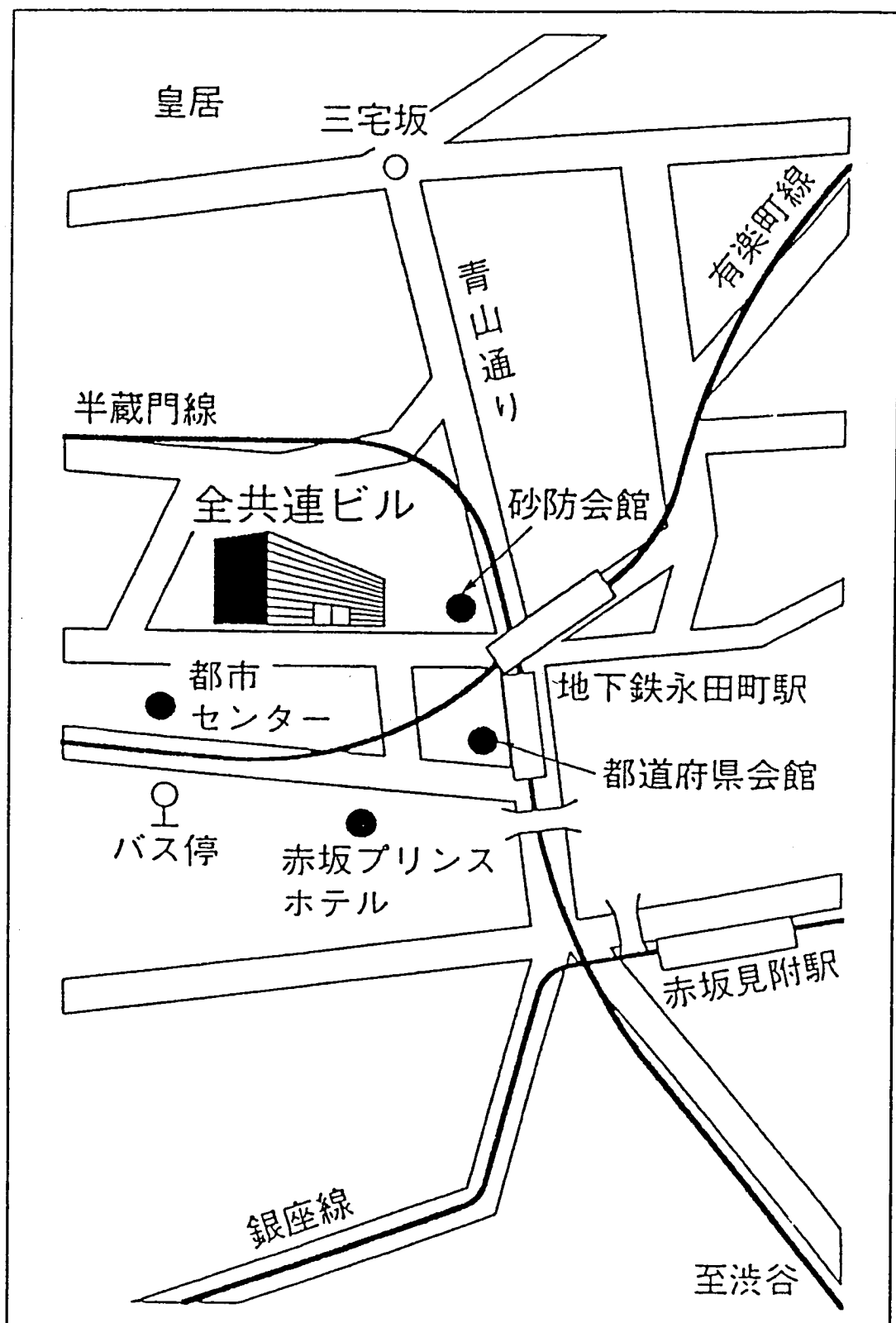
呼吸不全の評価と治療

国立療養所鈴鹿病院

久留 聡

15:10-15:40

総合討論



●交通のご案内

地下鉄 / 有楽町線・半蔵門線永田町駅下車出口No. 4 (徒歩1分)

丸の内線・銀座線赤坂見附駅下車 (徒歩5分)

J R線 / 中央線・総武線四谷駅下車 (徒歩15分)

タクシー / 四谷駅から5分、東京駅、新橋駅から10分

都バス / 新橋・新大久保駅より (橋63)

平河町2丁目都市センター前下車 (徒歩1分)

筋ジストロフィー研究石原班・事務局

TEL : 048-768-1161 (内線458)

FAX : 048-769-5347

住所 : 〒349-0196 埼玉県蓮田市黒浜4147

(国立療養所東埼玉病院内)

印刷所 株式会社 誠心堂印刷所

〒174-0051 東京都板橋区小豆沢2-9-10

TEL : 03-3967-4240