

厚生省「神経疾患研究委託費」

筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究

杉田班

昭和60年度研究報告書

昭和61年3月

## 研究報告書の作成にあたって

厚生省神経疾患研究委託費「筋ジストロフィー症の臨床、病態と成因に関する研究」班が発足して第2年度の研究報告書を作成する運びとなりました。デュシャンヌ型筋ジストロフィー症の研究は遺伝子工学的手法を用いその遺伝子座の局在の解明に近づきつつあり、今後遺伝子異常が直接どの様に疾患と係わっているかが問題となりましょう。この意味でも筋ジストロフィー症の病態の究明と治療法の開発は今後も本研究班の最重要課題になると思います。

本年度の研究成果はこの報告書に示されてあります様に筋ジストロフィー症並びに関連疾患に関する優れた報告がなされており、国際的にもこの方面の研究者に寄与する処が大きいと思います。班員の皆様の御努力に心から敬意を表しますと共に今後一層の発展を班長として期待したいと存じます。

本研究班に賜った厚生省当局、国立武蔵療養所神経センター、そして日本筋ジストロフィー協会の深い御理解と多大の御援助に深く感謝し、引きつづいての御支援をお願い致します。

昭和60年12月

〈班長〉 杉 田 秀 夫

## 目 次

昭和60年度総括研究報告	7
昭和60年度総合班会議研究報告抄録	13
分担研究報告	25
I. モデル動物・実験的ミオパチー	33
II. 遺 伝	77
III. 臨床・臨床病理	97
IV. 再生・Glycerol Kinase 欠損・赤血球	149
V. 遠位型ミオパチー	187
VI. ミトコンドリアミオパチー	203
VII. CK・エネルギー代謝・蛋白代謝	273
昭和60年度研究班名簿	335

昭和 60 年 度

# 総 括 研 究 報 告

# 総括研究報告

班長 杉田秀夫

## 〔はじめに〕

本研究報告書は「筋ジストロフィー症の臨床、病態と成因に関する研究」班の昭和60年度（第2年度）の報告書である。この報告書には昭和60年12月7日（土）、8日（日）の両日に開催された当研究班の班会議席上で行われた報告をまとめた59編の論文が集録されている。また昭和60年8月1日（木）に行われた当研究班のワークショップ「ミトコンドリアミオパチーをめぐって」の抄録及び昭和61年1月19日（日）に行われた「筋ジストロフィー症」総合班会議における当研究班の報告の抄録も掲載してある。

## 〔研究方針〕

当研究班の研究は従来より班員各自の独創且つ自由発想を基盤として来た。筋ジストロフィー症の様に原因不明の疾患の解決には特にこの点は尊重されねばならない。しかし、班研究の意義を考慮し、研究の能率化をはかるため、プロジェクト研究として特定のテーマを掲げて集中的に研究を行った。

本研究は内容的に次の7つに分類され、各項目に属する発表演題数は下記の通りである。

I モデル動物の実験的ミオパチー7、II 遺伝4、III 臨床・臨床病理11、IV 再生・Glycerol kinase 欠損・赤血球8、V 遠位型ミオパチー3、VI ミトコンドリアミオパチー14、VII CK・エネルギー代謝・蛋白代謝12。

個々の研究はそれぞれ本症の研究を進めて行く上で重要な意義を持っているが、この中から2、3のトピックについて述べる。

### A. 筋ジストロフィー症

#### 1) モデル動物

モデル動物は従来よりヒト筋ジストロフィー症との対比において病態の一面を明らかにする上で意義があったが、今回 X 染色体劣性筋萎縮症 mdx マウスが英国より輸入され、生理・形態・生化学的に検討された。種々の点でデュシャンヌ型筋ジストロフィー症(DMD)に類似するが再生がほぼ完全に行われる点で DMD とは著しく異なっている。この点でも有用なモデルである。

## 2) 臨床, 遺伝及び遺伝子工学的アプローチ

過去1年間にX染色体・常染色体相互転座による女兒DMD 3例が見出された。X染色体の切断部位は全てp21であり、従来の報告に一致した。

又、先天性副腎低形成を伴う複合Glycerol kinase欠損症の男児例が発見され、染色体分析の結果p21付近の部分欠失が認められ、同様の欠失は母親にも認められた。此等の症例はDMD遺伝子座位決定の為に極めて重要な意義を持っている。

DMDのマーカーRFLPの単離の試みは第一年度に引き続き行われており、当面DMD遺伝子の近傍にあるOTC遺伝子を単離して、ヒトOTC遺伝子中のユニークなDNA断片を使ってRFLPの検出を行っている。

## 3) 筋の変性と再生, 新技術の開発

骨格筋の変性と再生の問題は本症の病態の中心課題であり変性に関しては骨格筋の崩壊機構はかなり明らかになって来たと言える。

しかし現象論的には原発性の変化が骨格筋にどの様に表現されているが依然として明らかではない。この問題を解決すべく多くの新しい研究技術が開発された。骨格筋のCTによる検討はすでに定着し、NMRによる分析、或いは超音波顕微鏡及び筋電図なども行われつつある。

それ以外に酵素蛋白の免疫電顕、筋蛋白のモノクローン抗体など数多い。又今年度はヒト筋肉細胞のクローン化も試みられつつあり、新しいstrategyとなろう。

一方、再生に関する研究も変性機構と平行して行われて来たが、今後再生の異常は再生筋自身に問題があるのか、或いは内部環境か、或いは両者によるのか重要な研究テーマとなろう。

## B. 関連疾患

### 1) Rimmed vacuole を伴う遠位型ミオパチー(プロジェクト研究)

酵素抗体法によりrimmed vacuole周辺にリソゾーム酵素の存在が確認され本症におけるリソゾーム酵素の病態生理学的意義が明らかになった。また本症のモデルと考えられるクロロキンミオパチーはチオールプロテアーゼ阻害剤であるESTを10mg/kg/日経口投与する事により治療出来る事が明らかとなり、今後DMRV治療への道が開かれたと考えられる。

### 2) ミトコンドリアミオパチー(プロジェクト研究)

8月1日“ミトコンドリアミオパチー”というテーマでワークショップが開かれた。ミトコンドリアミオパチー、或いはミトコンドリア脳、筋症の臨床像の多様性、またこれと

関連してミトコンドリア酵素，特に電子伝達系酵素異常の病態生理的意義，及びその遺伝学的背景，又検索方法論の開発などに関して多くの発表がなされた。当班では昭和61年度本邦における症例を集積しその病態生理学的解析及び Coenzyme Q などによる治療を系統的に行う予定である。

昭和60年度厚生省神経疾患研究委託費

「筋ジストロフィー症」総合班会議

筋ジストロフィー症の臨床，病態と成因に関する研究

研究報告抄録

## 本邦における X 染色体の異常を伴った DMD

杉田 秀夫\*, 富 英明\*, 里吉 栄二郎\*,  
斎藤 深美子\*\*, 石原 傳幸\*\*\*, 後藤 順\*\*\*\*,  
( 柿沼 宏明\*\*\*\*, 中野 今治\*\*\*\* )  
( 国立武蔵療養所神経センター\*, 東京医科歯科大学\*\*,  
国立療養所東埼玉病院\*\*\*, 国立療養所下志津病院\*\*\*\* )

デュシャンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は伴性劣性の遺伝子性疾患である。本症の発症原因を究明し、更に胎児診断、遺伝相談等を実施する為には、その遺伝子座位や遺伝子産物の解明は不可欠である。

最近の染色体分染法の進歩による高精度染色体分染法によっても DMD 男児染色体の異常は認められていない。しかし近年女児 DMD 患者において X 染色体と常染色体の相互転座を見出した報告や、又 X 染色体の部分欠失による DMD を含めた複合疾患を示す男児例の存在する事が明らかになっている。此等の症例は DMD 遺伝子座の解明の為に極めて重要な strategy である。前者の例としては Toronto の Worton によって検索されている 46, Xt(X:21)(p21:p12)の相互転座例、後者の例としては Boston の Kunkel らによって研究されている Xp21の部分欠失による DMD, retinitis pigmentosa, chronic granulomatous disease を伴う症例がある。

そこで本邦における相互転座による女児 DMD 症例、及び X 染色体の部分欠失による DMD を含めた複合 Glycerol kinase 欠損例について報告し若干の考察を加えたい。

### 1) X 染色体, 常染色体相互転座

X 染色体と常染色体との間の相互の均衡転座を示した所謂 X 染色体の non random な不活性化による女性 DMD は 1977 年 Greenstein らにより記載され、その後現在迄に欧米で約 10 例が報告されている。

本邦では 1984 年 檜崎らの報告が最初であり、我々が経験した 3 例を含め現在迄に 5 例の報告がある。図 1 は国立武蔵療養所の 11 歳女児例で X 染色体 p21 と 5 番常染色体 q13 間の均衡転座を示している。本邦及び欧米に於いて報告された症例に共通するのは次の点である。

- ① 転座に関与する X 染色体の切断点は常に p21 バンドである。
- ② 転座に関与する常染色体は様々であり一定しない。
- ③ 正常な X 染色体が選択的に不活性化されている。

以上の事から DMD の遺伝子座位は p21 付近にありこの部位を切断点とする相互転座が起る事によってその座位上の遺伝子が突然変異、或いは欠失を生じ、同時に正常染色体が選択的に不活性化する事により DMD が発現すると考えられる。

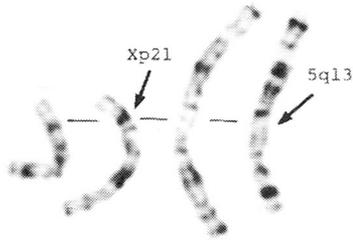
### 2) 家族性の Xp21 欠失による Glycerol kinase (GK) 欠損症

症例は国立療養所下志津病院にて経過観察中の 10 歳男児である。本例は臨床的に GK 欠損症, DMD, 先天性副腎低形成(CAH), および精神発達遅延を伴っている。高精度分染法による染色体分析によると、X 染色体 p21 部位のギムザで濃染するバンドが小さい事が明らかになった(図 2)。この事から患児においては Xp21.1~Xp21.3 の間で欠失が存在すると考えられる。更に両親及び兄の染色体分析の結果、父親及び兄の染色体構成は正常であったが母親の一方の染色体で患児と同様の短

腕の部分欠失が認められた。尚母親の GK 活性は正常の1/2であった。

DMD 遺伝子座に関しては転座症例などの結果から考えて Xp21上にある事が明らかになっており、また GK 欠損症や CAH もまた X 連鎖性の疾患であるから此等疾患の主因となる遺伝子は DMD の遺伝子と同様に p21上に座位する事が示唆された。

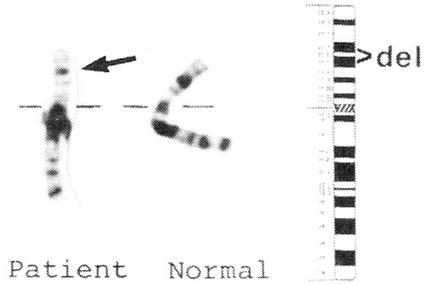
46,X,t(X;5)(p21;q13)



der(5) X der(X) 5

図1. X染色体p21と5番常染色体q13の相互転座

G-banded X chromosomes



Patient Normal

図2. X染色体p21の部分欠失

# ミトコンドリアミオパチー

## 1. 組織化学

埜 中 征 哉

(国立武蔵療養所神経センター微細構造研究部)

### ① ミトコンドリアミオパチーの形態学的特徴

ミトコンドリア異常は形態学的には ragged-red fiber (RRF) に代表される。RRF は Gomori トリクローム変法で最もよく染出され、筋鞘膜下に集積したミトコンドリアが赤染し、少しボロボロした感じとなるので RRF の名称が与えられた。この RRF そのものには疾患特異性はなく筋ジストロフィー、多発性筋炎その他多くの疾患で見い出されている。また逆にミトコンドリア酵素異常が生化学的に証明された例でも RRF を認めないことも少なくない。すなわち RRF はミトコンドリア異常症を推定させる重要な所見ではあるが、それが無いからといって否定的な材料とはならない。自験例での RRF 出現率は以下の通りである。

Pyruvate dehydrogenase complex deficiency	4/7 <sup>*</sup>	(57%)
NADH-CoQ reductase deficiency	3/4	(75%)
Cytochrome c oxidase deficiency		
fatal infantile form	1/1	(100%)
benign infantile	2/2	(100%)
encephalomyopathic	4/8	(50%)
partial deficiency	7/8	(88%)
<hr/>		
Total	21/30	(70%)

\* 文献例 5 例を含む

### ② Cytochrome c oxidase (CCO) 欠損

#### 1. 乳児致死型 fatal infantile form

生後まもなく、あるいは乳児期早期に筋力、筋緊張低下で発症し、意識障害、高乳酸血症を伴って 1 歳未満で死亡する。筋線維は細く、筋原線維の形成悪く、多くの RRF を認める(文献的には 1 例のみ RRF を認めていない)。脂肪滴も増加する。CCO 染色、抗ヒト CCO 抗体染色で筋線維は全く染色されないが、筋紡錘の錘内線維や線維芽細胞には活性がみられる。培養線維芽細胞にも活性が存在する。筋線維は培養系でも増殖悪く、CCO 活性はみられない。生化学的には多くの例で cytochrome aa<sub>3</sub>(CCO)のみならず cytochrome b, carnitine が欠損している。

#### 2. 乳児良性型 benign infantile form

乳児期にフロッピーインファントであった例で症状は次第に改善することがある。乳児期には RRF を多く認め、CCO 活性は低いが、症状が改善することと平行して RRF は減り CCO 活性も上昇する。

### 3. 脳筋型 encephalomyopathic form

症例は最も多い。臨床的には Leigh 脳症, MELA などの診断が下されている。中枢神経系症状の退行, 高乳酸血症があれば本症を疑い筋生検の適応となる。RRF の出現頻度は自験例 8 例中 4 例(50%)にしかすぎない。CCO 染色と生化学的な値はかなりよく相関している。

### 4. 部分欠損 partial deficiency

最も問題になっているのがこの部分欠損である。部分欠損とは多くの筋線維には CCO 活性はあるのに、散在性に酵素欠損した線維をみるものである。生化学的に CCO 活性低下を認めるものもあるが多くは正常域にある。部分欠損を認めた症例は以下の如くである。

Chron, prog, external ophthalmoplegia (CPEO)	4*
NADH-CoQ reductase 欠損症	1
CCO 欠損症	
脳筋型(娘)の母親	1
乳児良性型の回復例	1
MELA(ミトコンドリア酵素は正常)	1
<hr/>	
計	8
* 1 例のみ生化学的に CCO 活性低下(正常の20%)	

部分欠損は多因的ではあるが、CCO 欠損症の母性遺伝をとるその母親や、良性の回復例、生化学的に CCO 活性低下した症例も含まれている。すなわち部分欠損は単に二次的な結果でなく重要な意味が含まれている例もあるので、組織化学的染色の必要性を強調したい。

# ミトコンドリアミオパチー：電子伝達系酵素異常の 免疫組織化学的研究

佐藤 猛

(順天堂大学医学部脳神経内科)

## 〔目的〕

ミトコンドリア(Mit.)脳筋症では、最近 cytochrome c oxidase (CCO)をはじめとして電子伝達系を構成する種々の酵素欠損例が報告されている。CCO および complex IIIの抗体を用いて、剖検例のパラフィン切片から酵素蛋白を検出する方法を確立した。この方法により3例のCCO欠損例を見出した。

次に免疫電顕によりMit.内膜におけるCCO蛋白の局在を観察する方法を検討したので報告する。

## 〔症例〕

症例1：Leigh症候群(都立清瀬小児病院，初鹿野 浩)，症例2：Mit.脳筋症(国立神経センター，向山昌邦)，症例3，4：Leigh症候群姉妹例(鳥取大，中村晴臣)，症例5：Leigh症候群(岡山大，林 一彦)，症例6：Leigh症候群(北大，中村仁志夫)。

## 〔方法〕

①抗体：CCO抗体は東工大理学部化学福森義宏博士から分与を受けた。さらに牛心筋からCCOを精製，家兎に免疫して作製，complex IIIは名古屋大生化学小沢高将教授より分与。②免疫組織化学：大脳，小脳，肝，腎，心筋，骨格筋のパラフィン切片は脱パラ後，0.1% Triton X-100処理後，抗血清(1000倍稀釈)を反応させ，avidin-biotin complex法にて呈色させた。③免疫電顕：生検筋をグルタルアルデヒド固定後，10% DMSO処理し，凍結切片を作成した。この切片に抗体を反応させ，ABC法にて呈色させた。オスミウム酸固定後エポン包埋し，超薄切片は無染色にて電顕観察した。

## 〔結果〕

症例2では骨格筋のCCOが欠損していたが，筋紡錘では陽性に反応，症例3では肝細胞でCCOが欠損，症例5では大脳，小脳，肝，腎，心筋すべてにおいてCCOが欠損していた。これら3例いずれもcomplex IIIは正常に検出された。

免疫電顕では正常形態を示すMit.の外膜と内膜との間隙，およびクリステ膜はCCO抗体により陽性に染色された。巨大Mit.では増殖したクリステは染色されなかった。

## Reducible cytochrom b 欠損を示した mitochondrial encephalomyopathy の一例

中川正法, 今隈満,  
山野隆, 納光弘  
(鹿児島大学第三内科)

いわゆる“mitochondrial myopathy”において、その一部は電子伝達系の異常によることが知られている。今回、われわれは、mitochondrial encephalomyopathy に、reducible cytochrome b 欠損を伴った一例を経験したので報告する。

### 〔症例〕

M.K. 15歳男子，身長143cm，体重31.5kg，家族歴：母親に軽度難聴あり。既往歴：12歳時に扁桃摘出。

現病歴：満期安産，処女歩行1歳4カ月，幼小児期より知能発達および身体発育遅延があり，また運動時易疲労性を自覚している。昭和60年9月15日，部落の運動会に出場し2，3回全力疾走をしている。翌日，起床時より頭痛を訴え，夕刻より嘔吐および全身けいれん発作を頻発し，発作重積状態になったため緊急入院。

### 〔入院時現症〕

血圧158/90，意識レベル：111-200，瞳孔：左右差（-），対光反射（+），項部硬直（-），チアノーゼ（-），呼吸音：両側湿性，ラ音（+），心音：収縮期雑音（+），胸部X線像：肺紋理の増強（+），血液ガス分析にて，pH7.11，pCO<sub>2</sub> 40.9，pO<sub>2</sub> 104.3，BE-16.2と著明な代謝性アシドーシスを示した。CT所見に異常なし。脳波上，速波を基礎とし時にデルター波の混入を認めた。

入院後経過：アシドーシスの補正により，意識はすみやかに回復し入院2日目には歩行可能となる。回復後所見として，知能低下（100-7=?），眼球運動：正常，両側軽度眼瞼下垂，感音性難聴，全身性軽度筋力低下を認めた。知覚障害なし。二次性徴を認めない。脳波所見では，全誘導にてシーター波を基礎波とし，時に鋭波を含むデルター波の群発を認めた。心胸郭比：56%，心電図にて，左脚ブロックを認め，心エコーにて肥大型心筋症と診断された。

### 〔検査所見〕

赤血球：369×10<sup>4</sup>/mm<sup>3</sup>，白血球：14900/mm<sup>3</sup>，Hb：11.1g/dl，Ht：32%，GOT 37，GPT 26，LDH 338，CK 77，BUN 12.6，クレアチニン1.0，血糖109mg/dl，PSPテスト：正常。血液中乳酸20.6（9-16）mg/dl，ピルビン酸0.98（0.36-0.59）mg/dl，髄液中乳酸49.1（8.3-17.5）mg/dl，ピルビン酸1.27（0.62-1.20）mg/dlと高値を示した。

自転車エルゴメーターによる15分間運動負荷テストでは，血中乳酸が負荷開始後15分値で，45.6（7.7-12.0）mg/dlと著明な上昇を認めた。

### 〔筋病理所見〕

左上腕二頭筋にて筋生検を行なった。光顕所見では、軽度の変性線維を認め、Gomori-trichrome 染色にて“ragged-red fiber”を認めた。Type 2c fiber の atrophy と type 1 fiber における lipid 含有量の増加を認めた。電顕所見では、paracrystalline inclusion body は認めなかったが、筋細胞膜下に巨大化した mitochondria が集積し、その中に膜様構造や dense body を認めた。

### 〔筋肉生化学〕

生検筋400mg より Bookelman らの方法にて、mitochondria を分離し電子伝達系酵素および cytochrome 含量を測定した。Succinate および KCN による還元一酸化差スペクトルにて、561 nm, 431nm における cytochrome b の peak の出現がなく、Antimycin A による還元一酸化差スペクトルでも、cytochrome b の peak を認めなかった。Cytochrome  $cc_1$  含量は、2774 (615±258) p mol/mg と増加し、 $aa_3$  は 413 (550±167) p mol/mg と正常範囲であった。還元剤である sodium dithionate にて還元した場合には、正常対照の40%の cytochrome b が検出された。しかし、reducible cytochrome b 含量が低下しているにもかかわらず、cytochrome b- $c_1$  complex を介する NADH-cytochrome c reductase (rotenone sensitive), succinate-cytochrome c reductase 活性は、それぞれ 0.576 (0.201+0.098) u mol/mg/min, 0.592 (0.321+0.118) u mol/mg/min とやや高値であった。NADH-dehydrogenase, cytochrome c oxidase および citrate synthase 活性は、いずれも正常範囲であった。以上より、本症例は、in vitro における測定上、電子伝達系酵素活性低下を示さない reducible cytochrome b 欠損症と考えられた。

### 〔考察〕

reducible cytochrome b 欠損をともなった mitochondrial myopathy は、現在まで6例の報告があるのみであるが、運動時易疲労性、筋力低下、高乳酸ピルビン酸血症が共通する症状としてみられ、眼瞼下垂や眼球運動障害を示す例も報告されている。本症例のように中枢神経障害を示した例として、Spiro の父子例、Morgan-Hughes ら (1982) の報告があるが、小脳失調、ミオクローヌス等の症状をともなっている点が本症例と異なる。また、本症例の生化学的特徴として、cytochrome b- $c_1$  complex を介する各電子伝達系酵素活性の低下がなかった点があるが、このことは、in vivo において何らかの代償機構が働いている可能性を示唆していると思われる。しかし、ATP 産生能との関係やこれらの酵素活性の Antimycin A 感受性について今回は不明であり、さらに詳細な検討が必要と考える。今後、免疫学的検討および培養細胞を用いた検索を行ない病態の解明につとめたい。

# ミトコンドリア酸化的リン酸化系酵素群のサブユニットの異常に対する検索法の確立

小澤 高将, 錦見 盛光, 田中 雅嗣  
(名古屋大学医学部生化学第二講座)

ミトコンドリア (Mt)・ミオパチーは幅広い疾患群を包括している。その診断・治療法の開発にあたっては正確な病態の把握および一次的な病因の解明が必須である。Mtの酸化的リン酸化系酵素群は最近の膜固有蛋白質の単離精製技術の発展によりその構造の解明がすすんでいる。本研究はこれを基礎としてミオパチーにおける Mt 酵素系の異常をポリペプチドレベルで解明し、これまでの酵素学的ならびに分光学的分析法では捉え得なかった病因を分子レベルでさぐり治療方針の確立に寄与しようとするものである。

Mtにおける酵素異常の検索法としては少量の生検試料を用いて、Mtに存在する数多くの複合酵素系のそれぞれのサブユニットの量および分子量の異常を特異的に検出しうるのが必須条件である。また同時に複合酵素系に属さないポリペプチドの異常をも捉えるために、非特異的ではあるが分離同定能の高い方法を併用する必要がある。このために我々は容易に大量の試料の得られるウシ心筋 Mt を酵素精製の材料として用い、従来から行われてきた胆汁酸存在下における塩析に加えて、疎水結合クロマトグラフィーおよびアフィニティクロマトグラフィーにより各複合酵素を高度に精製した。また複合酵素をカオトロピックイオンにより解離させ電子伝達系を構成するポリペプチドすなわち、鉄イオン蛋白質、ユビキノン結合蛋白質、チトクロム b, チトクロム c<sub>1</sub>などを単離精製した。これらに対する特異抗体を作製したところ、抗ウシ酵素抗体はヒトの酵素蛋白質と良好な交差反応を示し免疫化学的検出法および免疫沈殿法による酵素蛋白質の異常の検索に有力な手段を提供した。

## 1. ウェスタンブロット——免疫化学的検出法

生検筋より単離した Mt の蛋白質を SDS・尿素により処理し、指数関数的濃度勾配ポリアクリルアミドゲルを用いた電気泳動により分離し、これを Durapore filter にブロットし、これと特異抗体と反応させ、抗原抗体複合体をペルオキシダーゼ・抗ペルオキシダーゼ法により検出し、電気泳動的移動度および発色の程度から酵素蛋白質の分子量および含量の異常の有無を検討した。その結果電子伝達複合体 I, III, IVおよび F<sub>1</sub>-ATPase においてそれぞれ、4, 5, 18および2種のサブユニットを特異的に検出した。さらにチトクロム c オキシダーゼ欠損症の患者では複合体 IV のサブユニット IV, V, VI, VII の量が著しく減少していることを見出した。

## 2. 免疫沈殿——銀染色法

Mt の蛋白質を界面活性剤を用いて可溶化し、酵素に対する特異抗体を加え、形成された免疫複合体をプロテイン A-セファロースに結合させ、非特異的吸着物を洗浄除去した後 SDS 電気泳動を行い、銀染色法により微量の酵素蛋白質を検出した。本法によりウェスタンブロット法では直接検出できない疎水性の高いポリペプチドの異常を追求することが可能である。チトクロム c オキシダーゼ欠損症の患者では他のサブユニットに比してサブユニット II の量の著しい減少が見い出された。

### 3. 高分解能一次元電気泳動——銀染色法

Mt の蛋白質全体を SDS・尿素で処理した後、大型の指数関数濃度勾配ポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行い、銀染色によりポリペプチドを検出し、同時に泳動された精製酵素標品のサブユニットの移動度との比較により同定を行った。ウシ心筋酵素のサブユニットの分子量はヒトのそれとほぼ一致し標準蛋白質として利用できた。この方法は免疫化学的検出法、免疫沈殿法では検出できない未知の蛋白質の異常を捉えることができるものである。あるチトクロム c オキシダーゼ欠損症の患者では本酵素の欠落に加えて、少なくとも他の 6 種のポリペプチドの量の著しい減少が見い出された。

Mt・ミオパチーにおける酵素活性欠損の原因を明らかにし、その治療方針を確立するためには、どの酵素のどのサブユニットが欠損しているか、またどのポリペプチドの減少を随伴しているかを個々の症例において明らかにし、分子レベルでの欠損と臨床像の相関をたどる必要がある。こうした研究の成果として、単に酵素サブユニットによる疾患群の分類にとどまらず、ヒトの呼吸系酵素遺伝子のクローニング、Mt 遺伝子の発現制御、Mt への蛋白の輸送機構などの基礎的研究の発展とともに、基礎・臨床のより一層の研究協力が期待される。

# 分 担 研 究 報 告

## 目 次

### I. モデル動物・実験的ミオパチー

- 1) mdx マウス骨格筋の経時的变化 ..... 35  
九州大学医学部脳研神経内科 後藤 幾生
- 2) mdx マウス骨格筋に対する神経切断の影響 ..... 39  
鳥取大学医学部脳研神経病理 中村 晴臣
- 3) mdx マウスの電気生理学的研究：  
膜電位及び筋細胞内 Ca の計測 ..... 44  
宮崎医科大学第三内科 栗原 照幸
- 4) mdx マウス骨格筋におけるリソゾームチオールプロテアーゼ活性と  
その局在について ..... 51  
東京医科歯科大学医学部神経内科 塚越 廣
- 5) Local Tetanus による実験的ミオパチーに関する研究 ..... 57  
東京都立神経病院 田辺 等
- 6) Vincristine, Vinblastine, Colchicine によるラット骨格筋の  
形態学的変化に関する研究  
——ライソゾーム系を含んで—— ..... 63  
大阪医科大学第一内科 茂在 敏司
- 7) 筋ジストロフィー鶏胚の交感神経節における蛋白質合成能の  
特異性についての研究 (第2報)  
——加齢にともなう変化について—— ..... 69  
東京都神経科学総合研究所神経生化学 堀 眞一郎

### II. 遺 伝

- 8) ドシャンヌ型筋ジストロフィー症の遺伝分析  
I. 女性ドシャンヌ型筋ジストロフィー症の染色体分析 ..... 79  
杏林大学保健学部 古庄 敏行
- 9) 本邦における X染色体  
——常染色体転座を伴った女性 Duchenne 型筋ジストロフィー ..... 84  
国立武蔵療養所神経センター疾病研究第一部 杉田 秀夫

- 10) SV40遺伝子導入によるヒト骨格筋細胞株樹立の試み ..... 88  
自治医科大学小児科 桃井真里子
- 11) 筋ジストロフィー症遺伝子のマーカーとなる DNA 断片の単離 ..... 92  
東京都臨床医学総合研究所遺伝情報研究部 鈴木紘一
- III. 臨床・臨床病理
- 12) 常染色体劣性遠位型筋ジストロフィー (三好) における骨格筋障害様式：  
CT による検討 ..... 99  
筑波大学臨床医学系神経内科 中西孝雄
- 13) 神経筋疾患における Ultrasound imaging  
——超音波顕微鏡および EMG-guided biopsy needle の臨床応用—— 103  
北海道大学医学部脳神経外科神経内科部門 田代邦雄
- 14) いわゆる rigid spine syndrome の臨床像と予後 ..... 109  
九州大学医学部脳研神経内科 後藤幾生
- 15) Sarcotubular myopathy の一例 ..... 111  
大阪医科大学第一内科 茂在敏司
- 16) 遠位性筋萎縮を示す多発性筋炎の 5 症例 ..... 115  
国立療養所宇多野病院臨床研究部神経内科 斎田孝彦
- 17) 福山型先天性筋ジストロフィー症の筋細胞膜の変化について  
——II. Freeze fracture 法による膜内粒子密度の検討—— ..... 119  
昭和大学藤が丘病院神経内科 若山吉弘
- 18) 筋病変の検討における免疫組織化学の応用について  
——ミオグロビンおよび免疫グロブリンに関する方法論を中心として——  
..... 123  
東京都立神経病院 田辺 等
- 19) DMD 筋におけるミオグロビン局在の変化  
——免疫電顕による検討—— ..... 130  
徳島大学医学部第一内科 川井尚臣
- 20) Emery-Dreifuss 型筋萎縮症の剖検所見 ..... 134  
国立療養所筑後病院 馬渡志郎
- 21) 筋緊張性ジストロフィーの筋病理 ..... 140  
虎の門病院神経内科 高木昭夫
- 22) 筋緊張性ジストロフィーにおけるカルシウム代謝異常に関する研究 ..... 145  
東邦大学医学部第四内科 木下真男

#### IV. 再生・Glycerol Kinase 欠損・赤血球

- 23) 実験的再生筋における筋芽細胞増殖促進因子について……………151  
東北大学医学部脳研神経内科 高瀬 貞夫
- 24) 筋再生に関する実験的研究  
——腱切断と筋壊死後の再生について——……………156  
金沢大学医学部神経内科 福原 信義
- 25) ジストロフィー筋の再生と種々の萎縮筋中の遊離アミノ酸の変動……………162  
帝京大学医学部第一内科 寺尾 寿夫
- 26) Duchenne 筋ジストロフィー症生検筋のヌードマウスへの移植実験  
——再生筋組織の Cathepsin B 活性について——……………166  
昭和大学藤が丘病院神経内科 若山 吉弘
- 27) Glycerol kinase 欠損症：  
1. 自験1例を含めての臨床像の検討……………170  
国立療養所下志津病院神経内科 中野 今治
- 28) Glycerol kinase 欠損症：  
2. 家族性の Xp21欠失，および X 染色体の不活性化について……………175  
国立療養所下志津病院神経内科 中野 今治
- 29) Glycerol Kinase 欠損を伴う筋ジストロフィー症  
赤血球リン脂質について……………179  
国立武蔵療養所神経センター 吉田 瑞子
- 30) Duchenne 型筋ジストロフィー症赤血球膜 spectrin の分析……………183  
国立療養所筑後病院 馬渡 志郎

#### V. 遠位型ミオパチー

- 31) 遠位型ミオパチーにおける神経筋接合部の電顕的，形態計測的研究……………189  
金沢大学医学部神経内科 福原 信義
- 32) Rimmed vacuole を伴う筋疾患におけるリソゾームカテプシン群の  
局在と意義……………193  
徳島大学医学部酵素化学 木南 英紀
- 33) 実験的クロロキンミオパチーに対する EST の治療効果……………197  
国立武蔵療養所神経センター疾病研究第一部 杉田 秀夫

