

厚生省「精神・神経疾患研究委託費」

筋ジストロフィー症及び関連疾患の病態と  
その病因に関する研究

杉田班

昭和62年度研究報告書

昭和63年3月

厚生省「精神・神経疾患研究委託費」

筋ジストロフィー症及び関連疾患の病態と  
その病因に関する研究

杉田班

昭和62年度研究報告書

昭和63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」班は過去3年間に多くの研究成果を挙げ、昭和61年度をもって終了致しました。そして昭和62年度より新たに厚生省精神・神経疾患研究委託費「筋ジストロフィー症及び関連疾患の病態とその病因に関する研究」班として発足し、不肖私が2期目の班のお世話をする事になりました。

当研究班は従来より一貫して筋ジストロフィー症の病態及び発症機序解明を中心課題として研究を行ってまいりました。昨今の欧米における分子遺伝学の進歩によりデュシャンヌ型筋ジストロフィーの遺伝子座、遺伝子そのものも明らかとなり、筋ジストロフィー症の研究もようやくその方向づけが出来てくるものと思われます。

3年間の班研究の間に筋ジストロフィー症の病態を解明し、且つ治療法の開発を目ざし、病床に横たわる患者さんの為に努力したいと考えております。その為に班員各位の今後一層の努力と研究の発展を班長として期待しております。

本研究班に賜った厚生省当局、国立精神・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御支援に深く感謝致します。

昭和62年12月

〈班長〉 杉 田 秀 夫

# 目 次

昭和62年度総括研究報告	7
昭和62年度総合班会議研究報告抄録	11
分担研究報告	21
I. 臨床	29
II. 生化学	57
III. ミトコンドリアミオパチー	93
IV. 変性と再生	169
V. 遺伝	189
VI. 生理学	217
VII. 培養	247
VIII. 形態	271
昭和62年度研究班名簿	315

昭和 62 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及び関連疾患の病態とその病因に関する研究」班の昭和62年度（初年度）の報告書である。

本研究班の目的は筋ジストロフィー症及び関連疾患特にミトコンドリア脳筋症の病態を分子遺伝学を含む基礎研究並びに臨床面から解明し、治療法の開発を最終目標としている。

## 〔研究組織〕

本研究班はその目的遂行の為班長以下38名（監事1名、幹事6名、班員29名、公募班員2名）より構成され、4つの柱となるべき研究課題を設立し、各々の課題に対し2名の担当幹事を指名し、幹事の指導の基に総合的研究を行ないつつある。

- 1) 遺伝子診断と解析（荒木淑郎、鈴木絃一）
- 2) 筋変性と再生（寺尾寿夫、杉田秀夫）
- 3) 筋ジストロフィーの病態（宮武 正、高木昭夫）
- 4) ミトコンドリア脳筋症（垂井清一郎、佐藤 猛）

（ ）内は担当幹事

## 〔研究成果の要約〕

本年度発表された報告の中から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) 遺伝子診断と解析

デュシャンヌ型（DMD）、ベッカー型（BMD）の遺伝子座、惑いはその近傍の特異的な数種類のDNAプローブを用い患者家族の家系分析を行ないつつありすでに約10%に於いて欠失症例が見出されているが、今後更にプローブをふやし、多くの症例について、欠失部位と臨床症状との対比を行なう予定である。

#### 2) 筋変性と再生

DMDにおける再生の研究は本疾患の対象療法としての骨格筋移植の問題に深い関連を有している。骨格筋の移植が何故従来より成功しないのかその疑問を追究中であ

る。

### 3) 筋ジストロフィーの病態

DMD, BMDの14kbの mRNA にコードされている蛋白質は分子量50万の未知の蛋白質でありその同定が現在中心課題となっている。Wood らが報告したネビュリンは DMD では発現されているが早期にプロテアーゼにより分解する事が明らかとなり、DMD の病態の解明に重要な意味を持っている。

### B.関連疾患

#### ミトコンドリア脳筋症

ミトコンドリア脳筋症のうち特に MELAS は主として complex I, MERRF は complex IVの低下が重要な役割を持つと考えられ、現在母系遺伝をする症例について微量材料を用いミトコンドリア DNA の解析を行なう方法を検討中であり、近い将来遺伝子レベルでの病態が解明されるであろう。

昭和62年度厚生省「精神・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及び関連疾患の病態と  
その病因に関する研究

研究報告抄録

# Duchenne 型筋ジストロフィー症(DMD)における 巨大分子蛋白, connectin, nebulin の変化について

荒木 淑郎  
(熊本大学医学部第一内科)

## 〔目 的〕

DMD の遺伝子座は Xp<sub>21</sub> の約 2,000kb にわたる DNA 鎖上にあり、この中に含まれる約 60 個の exon の一部あるいは大部分が欠失することにより DMD が発症することが次第に明らかになってきている。Wood らはこれをうけて、その mRNA size (14kb) から、単一の蛋白の遺伝情報がコードされているとすると、分子量約 500kd の蛋白に相当するとの考えのもとに 30 例の DMD で SDS-PAGE による筋構造蛋白 (Mf) 分析を行い、DMD では全例 nebulin (分子量 500~600kd) が消失していることを報告した。従来 DMD の Mf については myosin heavy chain (MHC) 以下の低分子蛋白については詳細に検討されていたが、MHC より高分子領域の蛋白については最近漸く研究が開始されたばかりである。今回 DMD における巨大分子蛋白, connectin (C) (=titin) および nebulin (N) を中心とした mf の変化について検討を加えた我が国での研究結果について報告する。

### I. 荒木, 内野ら

方法：対象は DMD 3 例 (7, 9, 12 歳), Becker 型 MD (BMD) 1 例, myotonic dystrophy 2 例, 多発性筋炎 5 例, MG 1 例, CMT 1 例, HAM 1 例, ALS 4 例, control 4 例で、生検筋より約 10 数本の筋線維を分離し、homogenize 後、50°C 20 分間の incubation を行って SDS-PAGE による Mf の分析を行った。

結果：DMD では 3 例とも N と思われる band が消失していたが、これに加えて C も著減し、 $\alpha$ -actinin, troponin-T, tropomyosin の減少傾向もみられた。程度は軽いが類似の変化が BMD および急性多発性筋炎例で観察された。

考案と結論：今回の分析結果は Wood らの報告と異なり、DMD においては C の著減に加えて、 $\alpha$ -actinin も減少しており、内因性 protease の関与も否定できないように思われた。

### II. 豊島ら

方法：対象は DMD 生検筋 3 個, 剖検筋 2 個から凍結乾燥切片を作成し、4.5% slab gel を用い各 lane に 3  $\mu$ g 乾燥重量を添加した。対照に正常ヒト骨格筋 2 個, 剖検ヒト腸管平滑筋, 鶏, 兎, 牛の骨格筋を用いた。

結果：正常対照ヒト骨格筋および動物の骨格筋では、MHC より高分子量成分として 10 本ほどの band がみられ、主要なものは C, N, filamin 類似蛋白と考えられた。DMD 筋では MHC 含量に変動がみられ、高分子量成分も消長をともにした。MHC が保たれている例では N をはじめ他の band の変動も明らかでなかったが、崩壊産物との鑑別が困難であった。

結論：N に相当する band が DMD 筋でもみられたが、今後抗体による検討が必要と考えられた。

### III. 杉田ら

方法：DMD 筋 (preclinical = 1 歳 5 ヶ月, 2 歳 2 ヶ月, 臨床症状発現時期 = 2 歳 9 ヶ月, 6 歳,

8歳), 正常対照筋について SDS-PAGE による Mf の分析を行い, 同時に鶏砂囊より抽出した C, N に対する polyclonal 抗体を作成し, immuno blot 法による検索を行った。

結果: 発症初期の preclinical 段階の骨格筋では C, N は明らかに存在した。臨床症状が発現し始めた時期では band が薄くなっていたが, immuno blot でみる限り, C および N は発現していた。実験的に鶏胸筋を 0℃ に保存した場合にも N は 24 時間をすぎると減少分解が目立つようになり, N は protease 特に CANP に感受性が強いように思われた。従って Wood らが DMD 生検筋の SDS-PAGE で N の band を検出できなかったのは, N が protease により分解したと考えれば充分説明できるように思われた。

[参考文献]

- 1) Wood DS, Zeviani M et al: Is nebulin the defective gene product in Duchenne muscular dystrophy? N Engl J Med 310 : 107-108, 1987.
- 2) Sugita H, Nonaka I et al: Is nebulin the product of Duchenne muscular dystrophy? Proc Japan Acad 63 : 107-110, 1987.

表 1 DMD における筋構造蛋白の変化

	connectin	nebulin	MHC	$\alpha$ -Act
Wood ら	→	absent ~ ↓↓↓	→	→
荒木, 内野ら	↓↓↓	absent ~ ↓↓↓	↓ ~ →	↓
豊島ら	↓↓ ~ →	↓↓ ~ →	↓↓ ~ →	
杉田ら	{ → ↓	→ ↓↓	(preclinical) (clinical)	

( ↓↓↓ : 著減, ↓↓ : 中等度減, ↓ : 軽度減  
→ : 不変 )

# 骨格筋の移植

## ジストロフィー筋などの移植について

寺尾 寿夫  
(帝京大学医学部第一内科)

### 〔目 的〕

骨格筋の移植は筋再生の研究や治療の目的で行なわれているが、ジストロフィー筋についてはあまり報告されていない。ジストロフィー患者に対する筋移植が可能になるためには 1) 移植された筋がジストロフィーの host の中で正常に再生をするか、2) 再生筋の収縮能力、3) 大型の筋の移植法などの問題が検討されなければならない。この研究はこれらを明らかにするために行なわれたものである。

### 〔方 法〕

1) 交換移植：mdx マウスとコントロールマウス C57BL/10sc との間に長指伸筋 (EDL) の交換移植を行なった。移植後経時的に取り出し、組織標本を作製し、再生筋線維の直径、variability coefficient (V.C.)、数を測定した。

2) 再生筋収縮力の測定：ラット EDL 自家移植後 2 ヶ月目の再生筋を使用した。電気刺激は *in vivo* で直接筋刺激で行ない、twitch および tetanic tension を測定した。

3) 比較的大型筋の移植：2 g 以上の筋の移植では神経と血流の維持が大きな問題である。今回はネコの EDL の autograft に前脛骨筋の一部を有茎の graft (inlay graft) として埋め込み、inlay を行なわなかった autograft と比較した。

### 〔結 果〕

1) 交換移植：移植後の再生筋線維の直径は表 1 にみる如く、 $C \rightarrow C > C \rightarrow D > D \rightarrow D > D \rightarrow C$  の順であった。(C → C はコントロールの EDL をコントロールマウスに移植、D → C は mdx の EDL をコントロールマウスに移植したことを示す。以下同様) また V.C. は逆に  $D \rightarrow D > D \rightarrow C > C \rightarrow D > C \rightarrow C$  の順であった。(表 1)。

2) 再生筋の収縮特性：表 2 に示す如く、ラット EDL 自家移植後 2 ヶ月目の再生筋の tetanic contraction では単位断面積当りの収縮力は  $0.28 \pm 0.07 \text{ kg/cm}^2$  であり、移植前の収縮力の約 25% であった。

3) inlay graft：ネコでは EDL の自家移植後 graft 中心部は壊死におちいり、空洞が形成される。inlay graft を行なうとその周辺にも再生筋線維が多数形成され、空洞形成が抑えられた。

### 〔結 論〕

ジストロフィーマウスとコントロールマウスの EDL の交換移植では、その再生筋は host よりも donor の筋の性質を受けついでいると思われる。したがって、ジストロフィーの個体に正常筋を移植した場合には、正常の再生筋線維が再生すると考えられる。再生筋の収縮力は移植後 2 ヶ月目では移植前の約 25% であった。inlay graft では inlay された筋の周りにも筋線維が再生され、空洞形成が防がれた。

[参考文献]

- 1) Sola OM, Dillard DH et al.: Autotransplantation of skeletal muscle into myocardium. Circulation, 71:341-348, 1985.
- 2) Jasmin G and Bokdawala F: Muscle transplantation in normal and dystrophic hamster. Rev Can Biol, 29 : 197-201, 1970.
- 3) Hironaka T and Miyata Y: Transplantation of skeletal muscle in normal and dystrophic mice. Exp Neurol 47 : 1-15,1975.
- 4) Wakayama Y, Schotland DL and Bonilla E: Transplantation of human skeletal muscle to nude mice: A sequential morphologic study. Neurology 30:740, 1980.

表1 Diameter and Variability coefficient of regenerated muscle fibers ; 2 months after cross-transplantation of EDL between normal and dystrophic mice (mdx)

	Diameter ( $\mu\text{m}$ )	Variability coefficient
C $\rightarrow$ C (n=3)	21.64 $\pm$ 0.87	258.75 $\pm$ 40.89
C $\rightarrow$ D (n=7)	21.19 $\pm$ 3.56	286.75 $\pm$ 58.71
D $\rightarrow$ C (n=8)	17.15 $\pm$ 2.79	356.28 $\pm$ 30.07
D $\rightarrow$ D (n=5)	19.08 $\pm$ 1.27	393.86 $\pm$ 101.53

D=mdx      \* P<0.025  
C=C57BL/10SC    \*\* P<0.01

表2 Contractile properties of rat EDL (control and autograft) 2 months after transplantation

	Intact (n=6)	Autograft (n=6)
Twitch tension (g)	24.94 $\pm$ 4.49	9.20 $\pm$ 3.37
Tetanic tension (g)	178.67 $\pm$ 57.53	29.37 $\pm$ 11.33
Twitch tension/area of muscle section(kg/cm <sup>2</sup> )	0.21 $\pm$ 0.07	0.10 $\pm$ 0.04
Tetanic tension/area of muscle section(kg/cm <sup>2</sup> )	1.11 $\pm$ 0.12	0.28 $\pm$ 0.07
Contraction time (m sec)	31.44 $\pm$ 5.52	16.78 $\pm$ 2.88
Half-relaxation time (m sec)	52.48 $\pm$ 16.02	27.68 $\pm$ 4.17

# ヒト・ミトコンドリアDNAの多型解析と ミトコンドリア脳筋症への応用

宝 来 聡  
(国立遺伝学研究所)

## 〔目 的〕

ヒトのミトコンドリアDNA(mtDNA)は、約16,560塩基対の環状DNAで、Andersonら(1981)によって一個体の全塩基配列が決定されている。mtDNAは核DNAに比べて、塩基置換速度がかなり速いことが知られており、ヒトにおいてもかなりの個体間変異(多型)が予想される。本研究では、mtDNAの制限酵素切断型多型(RFLPs)による正常日本人集団での多様性の分析を行った。さらに、これらの解析結果を踏まえて、ミトコンドリア脳筋症におけるミトコンドリアゲノムの欠陥、あるいは疾患に特有の変異を明らかにするべく、Denaturing Gradient Gel Electrophoresis(DGGE)法を応用したmtDNAのミスマッチ同定のための手法の確立を行った。

## 〔材料及び方法〕

ヒトのmtDNAのソースとしては、血液・臓器等が考えられるが、多くの検体をより多くの種類の制限酵素で解析するためには、胎盤が最も適当な材料と考えられる。演者らの経験では、新鮮な胎盤を用いれば、ミトコンドリア分画の分離・DNA抽出・CsCl-EtBr密度勾配遠心法等の一連の操作による環状mtDNAの回収率は、胎盤あたり200~300 $\mu$ gであった。これは多種類の制限酵素による切断パターンを、サザンブロッティングあるいはエンドラベリング法を用いず、EtBr染色で識別するのに充分な量である。日本国内、3地域(静岡・沖縄・青森)において約260検体の胎盤を収集し、mtDNAを精製した。まず6塩基認識の制限酵素15種類による切断型分析を行い、各集団ごとに変異型(morph)の分布を明らかにした。さらに4塩基認識の制限酵素を用いた詳細な分析を行い、各々の酵素によるmorphの頻度を明らかにし、全部の酵素の認識部位の比較により各個体のタイプ(restriction type)分類を行った。

## 〔結果及び考察〕

(1) 日本人集団での変異：日本人3地域集団は、各morphの頻度およびタイプの分布においては、かなり異なっていることが明らかとなった。しかし、タイプを基にした系統樹分析においては、クラスタリングパターンは各集団で基本的にはよく類似していた。すなわち、本土2集団で観察された2大クラスター(group IとII)は、沖縄集団でも観察され、各系統樹における最初の分岐時間もほぼ同様であった。さらに本土および沖縄集団を合わせた系統樹分析の結果、両集団にかなりの遺伝子交流があったことが推測され、日本におけるfounder populationにおいてすでにmtDNAは多型的であったことが示唆された。

(2) 他人種との比較分析：さらに日本人集団に見いだされた2大クラスターの分子進化的意義を明らかにするため3大人種(日本人、白人および黒人)のmtDNA制限酵素地図のデータ解析を試みた。我々の分析した日本人(静岡、n=116)とCann(1982)によって分析された白人(n=41)および黒人(n=19)のデータを併せて解析した。三大人種全体で117の異なったタイプが観察され、個々のタイプはそれぞれの人種に特有のものであった。個々の人種集団内におけるDNAレベル

の多様性, すなわち nucleotide diversity ( $d$ ) を算出したところ, 日本人 ( $d=0.0026$ ) と白人 ( $d=0.0025$ ) は, ほぼ同じ値であったが, 黒人 ( $d=0.0047$ ) では約2倍近い値が得られた. さらに三大人種集団からのタイプのすべての組み合わせ間で  $d$  を計算し, それに基づいて UPG 法により系統樹を作成した(図2). 得られた系統樹で, クラスタリングパターンによって便宜的に8つのクラスター(C1からC8)に分類したところ, 3クラスターでは複数の人種からのタイプの混ざり合いが観察されたが, 他の5クラスターは同一人種からのみなる顕著なクラスターであった. mtDNA の塩基置換速度を  $2 \times 10^{-8}$ /site/年と推定すると一番古いクラスター(C1とC2)の分岐は約17万年前と計算された. ここでC1は黒人のみのクラスターであり, C2は日本人のみのクラスター(日本人集団中の group I に相当)である. この値は, Nei のグループによって研究されたタンパク質の遺伝子頻度データに基づいた3大人種の分岐年代に比べるとかなり古い. すなわち遺伝子頻度のデータからは, 白人と東洋人の分岐を約5万年前, 白人・東洋人のグループと黒人の分岐を約12万年前とそれぞれ推定している. 我々の分析は mtDNA 遺伝子の系統樹であり, 一方 Nei らの分析は人類集団の分岐に関するものである. これらの推定値は, 人種の分岐よりずっと以前に遺伝子の分岐が起こっていたことを示唆している. また人種間での系統分析では gene migration の影響も当然考慮しなければいけないが, mtDNA は人種の分岐以前にすでに多型的であったという説明が最も妥当であろうと考えられる.

(3) DGGE 法によるミスマッチの同定: さて近年, ミトコンドリア・サイトパチー等の疾患において, ミトコンドリアゲノムの欠陥, あるいは関与が問題にされている. 患者試料は血液あるいは微量の生検組織に限られるため, 演者らが行って来たような分析は困難である. またサザンブロット法では, 分解能力に限界があり, ゲノム中に大きな欠失・挿入があった場合にしか変化が観察されない. このため, 近年開発された Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) 法を用いた, mtDNA におけるミスマッチの同定法への応用を試みた. まずこの方法の確立のため以下の実験を行った. 正常人2個体より精製した mtDNA の2.1kb の Pst I 断片を pUC19 にクローニングした. この2個体の mtDNA のうち一方は制限酵素による分析でこの Pst I 断片中に 9 bp の欠失があることがわかっている. クローニングされた2種類の DNA を等量ずつ混ぜた後, 熱変性, 再結合するとホモデュプレックス2種類とヘテロデュプレックス2種類の混合物ができる. この混合物を, インサートをさらに切断するような制限酵素(この場合は Rsa I) で消化し, DGGE で分析した. この時, 泳動方向と平行に変性剤の濃度勾配をつけたゲルで, 60°C の温度を保ちながら泳動する. ヘテロデュプレックス中に塩基置換等によるミスマッチがあると低い変性剤濃度で二本鎖 DNA の部分解離がおこり, その高次構造の変化によって易動度がおそくなるためホモデュプレックスと区別できる. 実際, 上述の混合物を Rsa I で切断し, DGGE で分析すると, 一方に欠失のある相同断片同士のヘテロデュプレックスではかなりの易動度の遅滞がみられた. さらに別の断片(411bp)のヘテロデュプレックスでも易動度の遅滞が観察され, シークエンスによる分析で, この2種類の mtDNA の断片の塩基配列には1塩基置換があることが明らかになった. この方法を用いると, ミトコンドリア・サイトパチーの患者試料を用いた場合でも正常人試料との比較によって, どの部位でも塩基置換があるかをまず決め, その後シークエンスによる分析に発展できるという利点がある.

#### [参考文献]

- 1) Horai S, Gojobori T and Matsunaga E :Mitochondrial DNA polymorphism in Japanese: I. Analysis with restriction enzymes of six base pair recognition. Hum Genet 68 : 324-332,1984.
- 2) Horai S and Matsunaga E :Mitochondrial DNA polymorphism in Japanese: II. Analysis

- with restriction enzymes of four or five base pair recognition. *Hum Genet* 72 : 105-117, 1986.
- 3) Horai S, Gojobori T and Matsunaga E : Distinct clustering of mitochondrial DNA types among Japanese, Caucasians and Negroes. *Jpn J Genet* 61 : 271-275, 1986.
  - 4) Horai S, Gojobori T and Matsunaga E : Evolutionary implications of mitochondrial DNA polymorphism in human populations. *Human Genetics, Proc. 7th Int Cong Hum Genet Berlin* (ed by Vogel F, Sperling K,) 1987, pp177-181.

# 分 担 研 究 報 告

# 目 次

## I. 臨床

- 1) Rimmed vacuole を認めた rigid spine syndrome の 1 例 ..... 31  
新潟大学脳研究所神経内科 宮 武 正
- 2) 心伝導障害と rigid spine を合併した scapulooperoneal syndrome ..... 36  
九州大学医学部脳研神経内科 後 藤 幾 生
- 3) 筋萎縮, 皮疹, 関節拘縮変形を伴う Lipodystrophy 症に類似する症例 ... 40  
秋田大学医学部第一内科 豊 島 至
- 4) 筋 US・筋 CT による筋緊張性ジストロフィー症の検討 ..... 45  
信州大学医学部第三内科 庄 司 進 一
- 5) 神経筋疾患における Ultrasound Imaging・超音波顕微鏡による  
組織固有インピーダンス定量化と画像シミュレーション ..... 51  
北海道大学医学部神経内科 田 代 邦 雄

## II. 生化学

- 6) Duchenne 型筋ジストロフィー症における超高分子蛋白,  
titin, nebulin の変化について ..... 59  
熊本大学医学部第一内科 荒 木 淑 郎
- 7) 筋ジストロフィーマウス (MDX) における筋蛋白質の  
高分子領域における異常について ..... 65  
東京都神経科学総合研究所神経生化学 堀 真一郎
- 8) Duchenne 型筋ジストロフィー症の生検筋の  
高分子量成分の検討 (予報) ..... 74  
秋田大学医学部第一内科 豊 島 至
- 9) 筋ジストロフィーマウス (dy/dy) の交感神経筋の蛋白質合成能について 77  
東京都神経科学総合研究所神経生化学 堀 真一郎
- 10) 骨格筋における受容体の誘導とその調節に関与する  
カルチトニン遺伝子関連ペプチドの研究 (第 1 報) ..... 80  
金沢大学医学部神経内科 高 守 正 治

11) 骨格筋 AChR anchoring protein ——43KDa ポリペプチドに関する研究 .....	84
金沢大学医学部神経内科 高 守 正 治	
12) 筋収縮及び myosin リン酸化に対する除神経効果の検討 .....	88
信州大学医学部第三内科 庄 司 進 一	
 <b>III. ミトコンドリアミオパチー</b>	
13) チトクローム c 酸化酵素欠損症における免疫組織化学的研究 .....	95
鹿児島大学医学部第三内科 納 光 弘	
14) ミトコンドリアミオパチーの発症機序に関する臨床的並びに 生化学的研究 .....	99
自治医科大学神経内科 水 野 美 邦	
15) MERRF (福原病) 剖検例の生化学的・免疫組織化学的研究 .....	104
新潟大学脳研究所神経内科 宮 武 正	
16) ミトコンドリア脳筋症の電顕的研究 .....	111
金沢大学医学部神経内科 福 原 信 義	
17) チトクローム c 酸化酵素欠損・クローン化筋細胞の分子遺伝学的解析 .....	116
自治医科大学小児科 桃 井 真 里 子	
18) ミトコンドリア・サイトパチーにおける家系分析 .....	120
名古屋大学医学部第二生化学 小 澤 高 将	
19) ヒトミトコンドリア DNA の多型解析 .....	127
国立遺伝学研究所 宝 来 聰	
20) ゴールド標識, 免疫電子顕微鏡によるミトコンドリアミオパチーの研究 .....	133
順天堂大学医学部脳神経内科 佐 藤 猛	
21) 鉄欠乏食のラット骨格筋ミトコンドリアの 電子伝達系酵素に及ぼす影響 .....	136
順天堂大学医学部脳神経内科 佐 藤 猛	
22) 脱髄性神経炎をきたしたミトコンドリアミオパチーの一例 .....	141
名古屋大学医学部神経内科 杉 村 公 也	
23) Scanning Organ Spectrophotometer による ミトコンドリア電子伝達系の検討 (第2報) .....	147
北海道大学医学部神経内科 田 代 邦 雄	

- 24) ミトコンドリア脳筋症における Coenzyme Q<sub>10</sub>療法の持続的効果の検討…153  
 大阪大学医学部第二内科 垂井清一郎
- 25) 副甲状腺機能低下症ミオパチーにおける運動筋の  
 プリン体異化亢進……………158  
 大阪大学医学部第二内科 垂井清一郎
- 26) 熱測定法による mdx マウス骨格筋のエネルギー論的研究 ……162  
 大分医科大学生理学 山田和廣

#### IV. 変性と再生

- 27) 骨格筋の移植に関する研究……………171  
 帝京大学医学部第一内科 寺尾寿夫
- 28) 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  
 ——再生筋組織のリソゾームプロテアーゼ活性と含有量について——…176  
 昭和大学藤が丘病院神経内科 若山吉弘
- 29) 脱神経後の筋萎縮におけるリソゾームカタプシン群の動態……………179  
 徳島大学酵素科学研究センター 木南英紀
- 30) Local tetanus 法の応用による実験的ミオパチーに関する研究—第3報—  
 E-64の効果の検討 ……184  
 東京都立神経病院 田邊 等

#### V. 遺伝

- 31) 日本人筋緊張性ジストロフィー症と apolipoprotein CII 遺伝子の  
 連鎖解析……………191  
 九州大学医学部脳研神経内科 後藤幾生
- 32) 女性筋ジストロフィーにおける細胞遺伝学的研究並びに  
 リンパ芽球培養細胞株の樹立……………194  
 東京医科歯科大学難治研細胞遺伝 斉藤深美子
- 33) Duchenne 型筋ジストロフィー症の遺伝子診断 ……198  
 熊本大学医学部第一内科 荒木淑郎
- 34) 筋ジストロフィー症の DNA 診断……………202  
 国立精神・神経センター神経研究所 鈴木義之

- 35) 女性発症例を含む DMD 家系の遺伝子解析……………208  
筑波大学臨床医学系神経内科 中西孝雄
- 36) 欠損を伴う DMD 遺伝子の検出……………213  
東京都臨床医学総合研究所遺伝情報 鈴木紘一

## VI. 生理学

- 37) ジストロフィー筋の収縮特性と細胞内小器官の元素分析……………219  
東海大学医学部生理学 吉岡利忠
- 38) fura-2 による骨格筋細胞内の  $Ca^{2+}$  濃度測定を試み ……223  
国立精神・神経センター神経研究所 吉田瑞子
- 39) mdx マウスにみられる myotonic burst の筋細胞内記録……………227  
東邦大学医学部第四内科 栗原照幸
- 40) 骨格筋における  $Ca^{++}$  paradox について (第2報) ……232  
金沢大学医学部神経内科 高守正治
- 41) 各種神経筋疾患における針筋電図上の  
spontaneous activity についての検討……………237  
国立療養所下志津病院神経内科 中野今治
- 42) 筋緊張性ジストロフィーにおけるミオトニア現象定量化の試み……………242  
大阪大学医学部第二内科 垂井清一郎

## VII. 培養

- 43) 筋緊張性筋ジストロフィー症, 先天性パラミオトニア  
培養筋細胞の電気生理学的検討……………249  
東京医科歯科大学神経内科 塚越 廣
- 44) ヒト生検筋組織培養法による筋細胞及び神経筋接合部の  
発達に関する検討……………255  
東京医科歯科大学神経内科 塚越 廣
- 45) 筋ジストロフィー症におけるクレアチン代謝異常: ラット筋芽細胞 (L6) のク  
レアチン代謝と甲状腺ホルモンの影響……………262  
冲中記念成人病研究所 高木昭夫

46) 筋芽細胞 (L6) の増殖, 分化と Ca イオノフォアおよび サイトカラシン B の影響	265
徳島大学医学部第一内科 川井尚臣	
<b>VIII. 形態</b>	
47) 横隔膜の多様性病変について	273
東京都立神経病院神経内科 田邊 等	
48) 凍結損傷による筋病変の組織学的研究	279
東北大学医学部神経内科 高瀬貞夫	
49) ラット骨格筋における雌雄差と性腺摘出の影響	284
国立療養所宇多野病院臨床研究部 斎田孝彦	
50) 福山型先天性筋ジストロフィーの脳奇形 —小脳小多脳回の特徴とその成立機序—	287
鳥取大学医学部神経病理 中村晴臣	
51) ネマリンミオパチーの進行性	291
国立精神・神経センター神経研究所 埜中征哉	
52) 成熟 mdx マウス長趾伸筋細胞膜の caveolae 密度の freeze fracture による検討 —ヒト筋ジストロフィー症との比較—	296
昭和大学藤が丘病院神経内科 若山吉弘	
53) Core formation の免疫化学的研究	300
東京大学医学部脳研神経内科 清水輝夫	
54) 抗 Ca pump 蛋白 (ヒトまたはラット) 抗体による免疫組織化学	303
冲中記念成人病研究所 高木昭夫	
55) 細胞骨格蛋白 (ネビュリン, コネクチンおよび $\alpha$ -アクチニン) から 見た DMD の病態	311
国立精神・神経センター神経研究所 杉田秀夫	

# I. 臨 床

# 1) Rimmed vacuole を認めた Rigid spine syndrome の一例

宮 武 正\*

研究協力者 小野寺 理\* 山崎 元義\* 渥美 哲至\*  
埜 晴男\*\* 和泉 徹\*\*

## はじめに

Rigid spine syndrome (以後 RSS と略す) は Dubowitz により幼少時期に発症し、脊椎特に頸椎前屈制限を主症状とし、肘関節、足関節を初めとする多発性関節拘縮と、四肢体幹の筋萎縮と筋力低下を有する症例にたいして命名されたものである<sup>1)2)</sup>。しかし、近年多くの報告者の指摘にあるように、その組織所見の多様性や Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィー症との関連などから疾患としての単一性に疑問が持たれている<sup>3)4)</sup>。今回我々は、心筋障害と呼吸障害を伴う RSS の 1 例を経験し、筋生検上多数の rimmed vacuole を認めたので、それらの所見を報告する。

## 症 例

症例：36歳，男性，(神内4220)

主訴：頸部前屈制限。筋力低下。歩行障害。

家族歴，既往歴：特記すべき事無し。

現病歴：幼少時より，走ることが遅く，体格は痩せ型であった。筋力は学童期より徐々に低下したが，日常生活上困ることはなかった。

昭和62年6月4日右片麻痺と言語障害をきたし，CT上左基底核に低吸収域を認め，入院加療中，心電図異常，全身の筋萎縮と筋力低下に気づかれ神経内科に入院。

現症：身長162cm，体重34.5kg，脈拍81不整，血圧100/54，高口蓋弓，扁平胸を認める。頸部に著明な前屈制限と軽度側屈制限を認めるが，後屈

は比較的良好である。心，肺，腹部ともに異常なし。両側足関節に軽度の拘縮を認める。

神経学的には，意識清明で知能正常。視野，眼球運動異常は認めない。軽度の構語障害，嚥下困難を認めるが，他の脳神経は正常。運動系では，身体幹近位部優位の筋萎縮，翼状肩甲が認められる。徒手筋力テストでは，胸鎖乳突筋右4<sup>-</sup>，左4<sup>-</sup>，頸部前屈筋で2，頸部後屈筋で4<sup>-</sup>，三角筋で3，右上腕筋，前腕筋，手根筋で4<sup>-</sup>。下肢では，腸腰筋右3左4<sup>-</sup>，前脛骨筋で3，大腿四頭筋右5<sup>-</sup>，他の諸筋は正常。Gowers'徴候陽性。Barré徴候は右上肢で陽性。筋線維束攣縮，筋痙攣，仮性肥大，等認めない。

片足だち，爪先だちは可能であるが，かかとだちは不能。右足をやや引きずりぎみに歩く。小脳症状，錐体外路症状はみられない。深部腱反射は上肢で消失，下肢は正常。病的反射は認めない。膀胱直腸障害，感覚障害も認められない。

検査所見：検血，生化学所見，CK 63 IU/L，アルドラーゼ 2.4 IU/L を含めて正常。心電図で右軸変位，V1 aVf の P 波陰転，V4 V5 の ST 上昇，V5 V6 の T 波陰転，QT 延長を認める。ホルター心電図で最高 4 連発の非持続性心室頻拍。心音図，脈波検査で II 音の亢進，固定性分裂，駆出性雑音を認める。心エコーで左室の壁運動のび慢性の低下と僧帽弁逸脱，TL<sup>201</sup>TC<sup>99m</sup>による心筋シンチでは，心臓の時計回りの回転，左室，右室の拡大，左室駆出率の軽度低下，心カテーテル検査では，駆出率の低下 (46%) とびまん性の壁運動の低下を認める。脊椎の X 線検査では Straight back index (胸郭前後径/胸郭横径) 20%，第 8 胸椎前

\* 新潟大学脳研究所神経内科

\*\* 新潟大学医学部第一内科

