

平成14—16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治療と
医学的管理に関する臨床研究

論文集

主任研究者 川井 充

The Clinical Studies on Treatment and
Medical Management of Muscular Dystrophy

Mitsuru Kawai M.D.
(Higashisaitama National Hospital)

2002-2004

平成17年3月

まえがき

1987年のジストロフィンの発見以来、筋ジストロフィーの原因に関する探求が急速に進みました。2005年の現時点で（疾患の頻度を考慮した場合）大部分の筋ジストロフィー患者にとって自分の病気は少なくとも理論的には原因が解明されているものと考えられます。一方、呼吸管理などの進歩により重症でもっとも頻度が高いデュシェンヌ型筋ジストロフィーの寿命は最近20年で10年程度延長しました。原因にもとづく治療はまだ大分先のことになると思われませんが、治療研究の成果は確実に上がっております。この成果に対して歴代の筋ジス臨床研究班（祖父江班、西谷班、高橋班、石原班）の果たしてきた役割は非常に大きいといえます。その筋ジス臨床神経班の流れを汲んで2002年にスタートした川井班は、「少しでもよく、少しでも長く」をモットーに、役に立つ研究、科学的な研究、倫理的な研究をめざして3年間研究活動を行ってきました。5つの基本テーマ「心不全／心筋障害の改善」「側弯治療の改善」「筋強直性ジストロフィーの標準的医療の確立」「遺伝子検査の技術の開発と継承」「QOL評価尺度の開発」をかかげ、多施設共同研究を推進いたしました。エビデンスの重視、研究計画に基づく近代的な臨床研究法の採用、倫理委員会での承認など、単にテーマの選択のみならず、研究の進め方においても時代の要請にそうように努めてまいりました。予定の3年間の研究期間を終了した現在、当初のめざしたところがどれだけ達成できたかについて皆様の御批判を受けるため、3年間の成果を論文集の形でまとめることに致しました。既に公表された論文、投稿準備中の論文、報告書の形で書かれたものなど体裁は統一されておりませんが、研究班事務局に寄せられた多数の論文を研究テーマ別に編集致しました。我が国における筋ジストロフィー臨床研究の一里塚になれば幸いです。

2005年3月

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治療と医学的管理に関する臨床研究

主任研究者

川井 充

目次

QOL 診断基準

介入の効果判定のための筋ジストロフィーQOL 評価尺度 MDQpL-60 の開発	1
川井 充, 小野美千代, 谷田部可奈, 大矢 寧, 齊藤 利雄, 杉山 浩志, 吉田 誠, 本吉 慶史, 野崎 雅之, 大澤真木子, 高澤みゆき, 猪子 香代	
3年間(平成14~16年度)における研究成果	6
筋ジストロフィーの診断基準作成の試み	
大澤真木子, 池谷紀代子, 炭田 澤子, 宍倉 啓子, 鈴木 陽子, 平山 義人	14

遺伝子検査

半定量PCR法によるジストロフィン遺伝子変異解析能の向上	17
加藤るみ子, 津久井伸枝, 川村 潤, 川井 充	
オリゴマイクロアレイを用いたジストロフィン遺伝子欠失迅速診断法	21
竹島 泰弘, 八木麻理子, 橋本 博支, 安田 剛, 渡辺 一史, 松尾 雅文	
Multiplex Amplifiable Probe Hybridization 法を用いたジストロフィン 遺伝子エクソンの迅速な欠失・重複診断	24
石川 幸辰, 石川 悠加	

筋強直性ジストロフィー

Pioglitazone 長期投与による筋強直性ジストロフィーの糖尿病の治療	28
山本 敏之, 大矢 寧, 磯部 建夫, 白藤 俊彦, 尾方 克久, 小川雅文, 川井 充	
筋強直性ジストロフィー患者の糖負荷によるインスリン過剰分泌の検討	33
齊田 和子, 塩屋 敬一, 米川 忠人, 隈本 健司	
筋強直性ジストロフィーにおける呼吸不全: ソムノグラフィーによる検討	36
高田 博仁, 小山 慶信, 今 清覚	
筋強直性ジストロフィーでの息こらえによる息苦しさの検討	38
村上 泰生, 大矢 寧, 小川 雅文, 川井 充	
筋強直性ジストロフィーの夜間低酸素に対するアマンタジンの効果	42
多田 和雄, 二村 直伸, 戸根幸太郎, 河本 邦彦, 小坂加代子, 三谷 真紀	
筋強直性ジストロフィーにおけるSniff nasal inspiratory pressure(SNIP)の検討	46
下山 良二	
¹³ C-酢酸呼気試験法を用いた筋強直性ジストロフィー患者の胃排出能の評価および消化管運動充進剤 (クエン酸モサプリド)の有効性に関する検討	49
内田 靖, 勝部 知子, 下山 良二	
Myotonic Dystrophy(MyD)の嚥下障害の特徴および嚥下障害に対するエナラプリルの効果	52
福田 清貴, 鳥居 剛, 満岡 恭子, 渡辺 千種	
筋強直性ジストロフィー患者における動脈硬化性病変-頸部血管超音波法による検討	
田中 尚, 松村 剛, 斎藤 利雄, 猪山 昭徳, 宮下 典子, 藤川 亮, 野崎 園子, 藤村 晴俊, 神野 進	56
筋強直性ジストロフィー患者に対する間欠的拍動性空気式圧迫装置を用いた血栓予防効果に関する検討	59
山田 史郎, 岩谷 道生, 藤 哲, 高田 博仁, 今 清覚, 小山 慶信	
筋強直性ジストロフィー患者の心筋障害と心伝導障害の経年的変化	62
久留 聡, 若山 忠士, 木村 正剛, 酒井 素子, 小長谷正明, 安間 文彦	
筋強直性ジストロフィーでは子宮筋腫合併率が高い	65
松村 剛, 野崎 園子, 横江 勝, 斎藤 利雄, 国富 厚宏, 神野 進	

筋強直性ジストロフィーの筋外症状に関する画像的検討	木村 隆	68
筋強直性ジストロフィーの病態と治療への展望	古谷 博和	69
Some flavonoids and DHEA-S prevent the cis-effect of expanded CTG repeats in a stable PC12 cell transformant	Hirokazu Furuya, Nobue Shinnoh, Yasumasa Ohyagi, Koji Ikezoea, Hitoshi Kikuchi, Manabu Osoegawa, Yasuyuki Fukumaki, Yusaku Nakabeppu, Toshimitsu Hayashi, Jun-ichi Kira	77
先天性筋強直性ジストロフィー	武藤 順子, 齋藤加代子, 大澤真木子	91
筋強直性ジストロフィー小児の認知に関する検討ーより良い教育的配慮を求めてー	大澤真木子, 猪子 香代, 寺沢 由布, 高澤みゆき, 武藤 順子, 石井かやの	97
筋強直性ジストロフィーの病態と管理に関する研究ー3年間における研究成果ー	土屋 一郎, 石原 傳幸, 伊藤 博明, 横山 照夫, 山口 亜希, 坂巻 豊教, 小池 雅美, 高橋 倫子	102
心筋障害		
Beta-Blocker Therapy of for Cardiac Dysfunction in Patients with Muscular Dystrophy	Hidemi Kajimoto, Toshio Nakanishi, Kenichi Okumura, Hirofumi Tomimatsu, Makoto Nakazawa, Kayoko Saito, Makiko Oosawa	105
Duchenne 型筋ジストロフィー患者の心機能障害に対する β 遮断薬治療に関する多施設臨床研究	松村 剛, 田村 拓久, 菊池 泰樹, 川井 充	109
慢性心不全患者に対する β 遮断薬導入後の心事故発生例の特徴	佐々木典子, 安村 良夫	113
心不全に対する β ブロッカー療法： β 1受容体自己抗体測定の有用性に関する研究	池田 宇一, 去川 睦子, 山本 啓二, 吉尾 卓, 矢崎 善一, 高橋 将文	116
筋ジストロフィー症例の心不全病態とangiotensin-converting enzyme(ACE) 遺伝子多型との関連	田村 拓久, 後藤 公文, 澁谷 統壽	119
Duchenne 型筋ジストロフィーの心筋症に対するアンギオテンシン 変換酵素阻害剤早期投与の有効性について	本家 一也, 大野 一郎, 森尻悠一郎	121
Duchenne 型筋ジストロフィーの心筋障害の指摘	田村 拓久, 福留 隆泰, 後藤 公文, 松尾 秀徳, 澁谷 統壽	124
デュシャンヌ型筋ジストロフィーにおける心筋障害についての臨床病理学的研究	今野 秀彦, 高橋 俊明, 佐々木俊明, 大村 清, 大隅 悦子, 吉岡 勝, 木村 格, 斉藤 博, 本良いよ子, 青木 正志, 小野寺好明, 鈴木 直輝, 豎山 真規, 相場 瞳, 伊藤真理子, 近藤 恵美, 糸山 泰人	127
Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 症例の心室性不整脈の検討	渡邊 宏雄, 加藤 義弘	135
Duchenne 型筋ジストロフィー女性保因者の心障害の病態と心不全治療の必要性	足立 克仁, 齋藤 美穂, 木村千代美, 柏木 節子, 乾 俊夫, 橋口 修二, 馬木 良文, 野崎 園子, 川井 尚臣	137
筋ジストロフィー剖検心における心筋細胞の細胞接着分子の発現	和田美智子, 香川 典子, 佐野 壽昭, 足立 克仁	140
重症心不全に対する補助人工心臓治療 ー筋ジス症例に対するVAS治療の可能性の検討ー	許 俊鋭	144
EM-algorithmによる生存関数の推定	菊池 泰樹, 野間口謙太郎, 安楽 和夫	148
3年間における研究成果	尾形 仁子	152

脈波伝播速度によるDuchenne型筋ジストロフィー患者の循環動態の検討	154
今村 重洋, 山口喜久雄, 山下 太郎, 安東由喜雄, 菅 智宏, 山下 真史, 内野 誠	
側弯	
筋ジストロフィーの脊柱側弯治療プロジェクト研究	156
安東 範明, 川井 充, 高相 晶士, 小林 顕, 井ノ上 博也	
筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対する外科的治療の検討	165
高相 晶士	
その他	
筋ジストロフィー患者へのクレアチン投与の試み	171
福留 隆泰, 田村 拓久, 渋谷 統壽	
筋ジストロフィー患者におけるクレアチン療法の試み	
松村 剛, 横江 勝, 中森 雅之, 服部 憲明, 齊藤 利雄, 野崎 園子, 藤村 晴俊, 神野 進	173
筋ジストロフィー患者の尿路結石に対する健康茶(流石茶)の効果について	
後藤 勝政, 島崎 里恵, 佐藤紀美子, 伊藤 知子	179
Proportional assist ventilation を用いた、呼吸筋力低下患者の呼吸器系のelastanceとresistanceの測定	
大矢 寧, 小川 雅文, 川井 充	182
筋疾患における呼吸機能スクリーニングとしての最大発声時間	187
豊田千純子, 小川 雅文, 大矢 寧, 川井 充	
筋ジストロフィー患者における母指の動作解析と母指動作に関連した手内筋の表面筋電図に関する研究	
森島 大静, 小林 顕, 沼 とう子, 松本 知大, 猪又 八郎, 井上 浩	190
Mechanomyography(筋音図)を用いた筋ジストロフィーの評価法の検討	
園田 至人, 内田 裕一, 丸田 恭子, 下川 充芳, 福永 秀敏, 三田 勝己, 赤滝 久美, 有村 公良, Arlene Ng	201
Aberrant Neuronal Migration in the Brainstem of Fukuyama-Type Congenital Muscular Dystrophy	
Yoshiaki Saito, Makio Kobayashi, Masayuki Itoh, Kayoko Saito, Masashi Mizuguchi, Hiroshi Sasaki, Kunimasa Arima, Tomoko Yamamoto, Sachio Takashima, Masayuki Sasaki, Kitami Hayashi, Makiko Osawa	204
デュシェンヌ型筋ジストロフィーでは赤血球膜脆弱性が存在する	
松村 剛, 高橋 正紀, 中森 雅之, 齊藤 利雄, 野崎 園子, 藤村 晴俊, 神野 進	216
経管栄養下神経・筋疾患患者における栄養状態に関する検討	220
小山 慶信, 高田 博仁, 今 清覚	
進行性筋萎縮症における下肢深部静脈血栓症	
川上 英孝, 中島 孝, 亀井 啓史, 他田 真理, 米持 洋介, 榛沢 和彦	223
DMDにおける中枢画像一小脳のMRS所見について	226
樋口 嘉久, 本郷 政子	
軽度の筋症状を呈した三好型遠位型筋ジストロフィーの保因者の臨床像と遺伝子異常	
乾 俊夫, 足立 克仁, 橋口 修二, 馬木 良文, 高橋 俊明, 青木 正志, 川井 尚臣	229
Dysferlin expression in tubular aggregates: their possible relationship to endoplasmic reticulum stress	
Koji Ikezoe, Hirokazu Furuya, Yasumasa Ohyagi, Manabu Osoegawa, Ichizo Nishino, Ikuya Nonaka, Jun-ichi Kira	232
脳塞栓症を合併したベッカー型筋ジストロフィーの2例	239
後藤 勝政, 伊藤 知子, 佐藤紀美子, 島崎 里恵	

介入の効果判定のための筋ジストロフィー QOL評価尺度MDQoL60の開発

川井充^{1, 2)}, 小野美千代¹⁾, 谷田部可奈¹⁾, 大矢寧²⁾, 斉藤利雄³⁾, 杉山浩志⁴⁾ ※
吉田誠⁵⁾, 本吉慶史⁶⁾, 野崎雅之⁶⁾ ※※, 大澤真木子⁷⁾, 高澤みゆき⁷⁾, 猪子香代⁷⁾

近年筋ジストロフィーに対してステロイド¹⁾, クレアチンコ²⁾, β 刺激薬: ³⁾ などにより筋障害の改善や進行抑制が試みられるようになってきた。呼吸管理によりデュシェンヌ型筋ジストロフィーの寿命は10年延長し⁴⁾, 現在心不全の薬物治療の臨床試験が実施されている⁵⁾。遺伝子治療の研究も活発に行われ, 近い将来臨床応用も可能になることが期待される。

一方, 科学的手法を用いて臨床研究が行われるようになり, 治療の効果判定も寿命や筋力などの他党的評価に加えて, 患者本人の主観的QOL評価をあわせ用いることが一般的になりつつある。QOL評価尺度には, SF36⁶⁾ やEUROQOL⁷⁾ などのように疾患の種類を越えて比較可能な一般的(疾患非特異的)尺度とパーキンソン病のPDP39⁸⁾, 筋萎縮性側索硬化症のALSAQ-40⁹⁾ 多発性硬化症のMSQOL-54¹⁰⁾ ように特定の疾患で特異的に障害される内容をいくつもの因子に分けて評価する疾患特異的尺度の2種類があり, 両者を組み合わせて評価することが多い。筋ジストロフィーに対しては, これまで国立療養所鈴鹿病院で開発された30項目の質問で構成されるQOL評価尺度¹¹⁾があるが, ADLに関する項目が含まれないなどこの目的に利用しにくいのが難点である。今後の治療研究のための基盤整備として適切なQOL評価尺度を開発することが求められている。QOL評価尺度が開発されれば, 治療のみならず, パラメディカルスタッフや福祉関係者によるQOL改善の取り組みの成果の評価も同様に定量的に行うことが可能となる。

我々は筋ジストロフィーおよび関連疾患の治療等の介入の効果判定のための疾患特異的な質問紙法による主観的QOL評価尺度を開発することを目的として3年間の多施設共同研究を行い, 最終的に筋ジストロフィー関連疾患のQOLを構成する11領域60項目の質問で多面的に評価できる評価尺度MDQoL60を開発した。このQOL評価尺度の対象疾患はさまざまな病型の筋ジストロフィーであり, 性別, 療養形態(在宅, 入院)を問わず, 歩行可能な段階から車椅子使用, 臥床に至るまでの様々な障害段階患者に対して適用可能である。また, 質問紙にある調査項目に対して患者が自己記入により回答できる形式であり, 文章は12歳以上の患者が理解し回答できる程度のものである。本論文はMDQoL60の開発の過程まで段階を追って提示することを目的とする。

一次調査のための質問150項目の生成と質問票作成

1 筋ジストロフィー患者のQOLを規定する要因の調査

筋ジストロフィーの医療と医療, 生活指導, 療養相談, 心理療法に従事している医師, 児童指導員, 心理療法士からなる専門家集団に対して, 筋ジストロフィー患者のQOLを規定すると考えられる要因についてアンケート調査を行った。その結果, 表1にあげる15領域があげられた。

2 候補となる質問項目の蒐集

同じ専門家集団に対して, 上記15領域を念頭におきながら候補質問項目を募集したところ, 409項目がよせられた。これら候補質問項目の中には, 入院療養を前提としたもの, 男性患者を前提としたもの, 特定の障害段階を前提としたもの, 質問の内容のわかりにくいものなどが含まれていた。また重複する内容のものも存在した。なおこの409項目の中には鈴鹿病院のQOL評価尺度にある30質問項目が含まれていた。

3 一次調査のための質問項目の選択

すべての候補調査項目を

- 1) 中学生以上の人であれば理解できること
- 2) 意味が明確でいろいろな意味に解釈できないこと
- 3) すべての病型, 障害程度, 性, 療養形態(在宅, 入院)の患者に理解でき, 意味がある調査項目であること
- 4) 主観的QOLに関する調査項目であること
- 5) 倫理的に問題がないこと

の5つの観点からチェックし, 問題のあるものを除いた上, さらに内容が重複するものを除外して, 一次調査のために用いる調査項目150を選定した。自己イメージの劣化に関する質問, 生き甲斐に関する質問, 将来の展望に関する質問の中には重要であるが患者を精神的に傷つける恐れのある質問も含まれていた。鈴鹿病院のQOL調査表に含まれる「生まれてきてよかったと思いますか?」などがこれにあたる。これらの質問が適当であるかどうかは議論のあるところであったが, その判断は一次調査において患者自身に判断してもらうことになった。

¹⁾国立病院機構東埼玉病院 ²⁾国立精神・神経センター武蔵病院

³⁾国立病院機構刀根山病院 ⁴⁾国立病院機構箱根病院

⁵⁾国立病院機構下志津病院 ⁶⁾国立病院機構新潟病院

⁷⁾東京女子医科大学小児科

※現国立病院機構甲府病院 ※※現国立病院機構神奈川病院

表1 要因別質問項目数総数409

筋ジストロフィーの医療と福祉にかかわる専門家より蒐集

1	運動機能低下によるADLの障害	61
2	疼痛, 呼吸困難などの身体的苦痛	28
3	不安感, 気分, 情緒, 情動の異常	47
4	自己イメージの低下	25
5	人間関係の問題	33
6	社会生活の問題	25
7	家庭生活の問題	25
8	生き甲斐, 趣味, 余暇活動の問題	19
9	将来に対する展望	16
10	医療, 福祉に対する満足	34
11	生活環境	20
12	食事, 排泄, 睡眠の支障	35
13	異性, 恋人, 性	8
14	整容, みだしなみ	22
15	分類不能	30

4 一次調査の調査用紙作成

一次調査に用いる調査票の作成にあたっては以下の点に注意をはらった。

1) 答えが「はい」「いいえ」の一方を選ぶ形式の質問では一方の答えを期待する印象を与えるので, 文章の語尾が反対になるような組み合わせを作り, 両極端を1および5として1から5の数字を選択するように工夫した。

例 洗顔や歯磨きが一人でできないので困って
(いる・・・いない).
1 2 3 4 5

のように, アンダーラインの部分を5段階に分け, 自分はそのあたりに位置するかを尋ねるといった形式とした。

2) 同じ領域の質問が連続すると, 場合によって患者に心理的なダメージを与える可能性がある。また前に質問に後の質問の回答が影響される可能性もある。一次調査の質問項目が150項目で数が多いこともあって, 疲労の影響で終わりの方の質問の回答率が低下することも予想された。これらの点を考慮して, 同じ領域の質問が連続して現れず, いろいろな領域の質問が不規則な順序で現れるような配慮を加えた。

3) それぞれの項目に対して, QOL 評価尺度に含めることが適当でないと判断した場合はチェックを入れることができるような欄を用意した。

4) できるだけ全ての項目に回答して欲しいが, どうしても答えられない項目は未記入でもかまわないことを明示した。

5) 回答は無記名で行うようにしたが, 年齢, 性別, 病型, 障害度, 呼吸器使用の有無, 心筋障害の治療の有無, 療養形態 (在宅, 入院) に関する情報については記載を求めた。

さらに最後にこのようにしてできあがった調査票を若干名の筋ジストロフィー患者に見てもらい, わかりにくい質問, 心を傷つけるような質問が含まれているかどうか尋ね, 多少の修正を加えた。

5 説明文書作成と倫理委員会承認

患者に対する説明に用いる文書を作成した。また研究統括施設である国立精神・神経センターの武蔵地区倫理委員会の承認を得た。

一次調査の実施

調査への協力を依頼し, 協力を表明した患者だけに調査票を手渡したので, 正確な回答率は不明であるが100%に近いものであったと考える。

質問票の記入は匿名で, 回収は回答者がわからないようにして行った。在宅患者の場合は「筋ジストロフィーの治療と医学的管理に関する臨床研究班」事務局を宛先として印刷した封筒に差出人の住所氏名を記入せずに投函するようにした。

一次調査の結果の分析

1 一次調査対象患者のプロフィール

総回答数222。性別：男152, 女69, 不明1。

療養形態：在宅105, 入院114, 不明3。

車椅子使用状態：未使用53, 手動76, 電動86, 不明7。人工呼吸器使用状態：未使用134, 夜だけ21, 昼もときどき15, いつも35。気管切開陽圧人工呼吸27, 非侵襲的人工呼吸51。心臓の薬：使用79, 未使用125。

病型, 年齢, 障害度：図1, 2, 3。

2 項目の削減

5%以上の患者が不適当と回答した項目と回答の中央値が5および1の項目を質問項目リストから削除したところ, 125の項目が残った。

3 因子分析

統計パッケージSYSTATを用いて反復主軸法により因子分析を行った。因子数の設定法は因子の解釈により, 最終的に因子数は11とした。回転はバリマックス回転を選択した。

4 因子の解釈

11の因子はそれぞれ「1心理的安定」, 「2ADL」, 「3環境」, 「4希望」, 「5活動」, 「6健康感」, 「7人間関係」, 「8家族」, 「9性」, 「10呼吸と咽頭機能」, 「11排便」と解釈した。「3環境」の中には居住環境, 医療環境, 生活環境が入り交じっており, 便宜上3つに亜分類した。

質問項目の選択と信頼性の検討

1 質問項目の選択

因子負荷0.3以上, 同等の負荷の第2因子が存在しない変数(質問項目)を選択し, さらに類似の質問を除外し各因子に適当な数の質問が分配され全体の質問数が60になるように調整した。

2 最終60項目に対する因子分析

最終60項目に対して(3) - 3と同じ方法で再度因子分析を実施した。初回の因子分析と全く同じ内容の11因子が抽出され, 各質問項目の因子負荷も初回とほぼ同じであった。「排便のコントロールがうまくいっていないと感じる/感じない」のみが0.3を下回ったが, この項目を「11排便」に分類することには何ら問題ないと考えた。

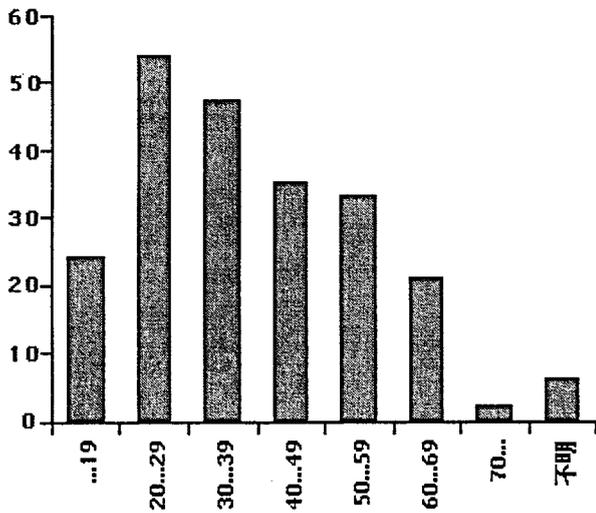


図1 年齢内訳縦軸は人数，横軸は年齢階層（歳）

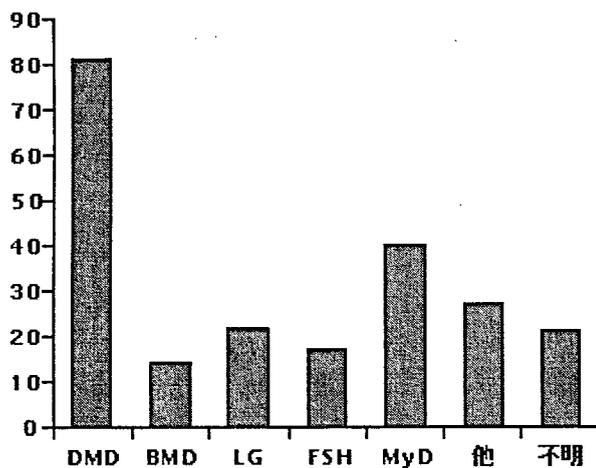


図2 病型内訳縦軸は人数，横軸は病型

DMD：デュシェンヌ型，BMD：ベッカー型，LG：肢帯型，FSH：額面肩甲上腕型，MyD：筋強直性s

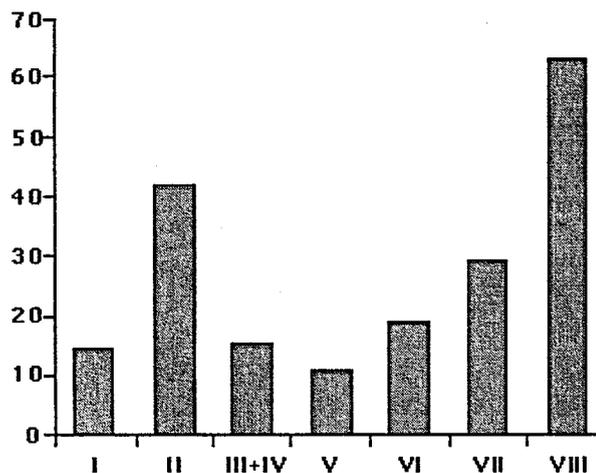


図3 障害度内訳縦軸は人数，横軸は障害度

「9性」の0.643であり，それ以外は0.7以上であった．結果を表2に示す．

質問紙の作成

最終成果物として，このQOL尺度を用いて患者のQOLを測定する時に用いる質問紙を作成した．同じ領域の質問が続き，後の質問の答えが前の質問に影響されることを防ぐ目的で，60項目の質問はランダムに配列するようにした．また全ての質問に答えるように要請し，質問が自分に当てはまらないときは5に○をつけるように指示することにした．

筋ジストロフィーのQOL評価指標としては，国立療養所鈴鹿病院で高井，野尻らが作成し1993年に報告した調査表が知られている¹¹⁾．1病気への態度，2医療・看護への満足度，3過去・現在・将来の評価，4心理的安定，5家族・社会・交友6生活の張り・活力・目標施行の6領域についてそれぞれ5項目の質問をもうけ，「はい」「いいえ」のどちらかで答えるようになっている．主としてQOLの心理社会的側面の評価で治療の効果が第一に反映されるADL評価項目が含まれていない．また妥当性と信頼性の検討は行われていない．我々は鈴鹿病院のQOL調査表の限界を認識し，広く臨床試験の効果判定に利用可能な，多面的QOL評価尺度を開発することを目標とした．

本研究で行ったQOL評価尺度の開発は現在行われている質問項目の蒐集，質問項目の削減，妥当性の検討という一般的方法にしたがったものである¹²⁾．質問項目は専門家のパネルで409項目を蒐集し，その削減はまずパネルで検討して150項目までしぼり，さらに患者集団の協力を得て実施した一次調査によって統計学的に最終的な11領域60項目に簡素化した．信頼性の検討は領域ごとのクロンバック α 値を計算することによって行い，おおむね良好な結果が得られた．今後本評価尺度の信頼性と妥当性を検証するために，患者を対象とした二次調査を実施する予定である．現在，2度の近接した調査で結果の再現性がみられるかを検討することによって更に信頼性を高め，他の一般的QOL尺度（SF36やEuroQolなど）の測定結果との相関を調べることで妥当性を検討する研究を計画中である¹³⁾．

今後この評価尺度を実施することが想定されている患者は，12歳以上のあらゆる病型，あらゆる障害段階，あらゆる療養形態の患者である．一次調査に協力した患者集団の病型の内訳は，現実に筋ジストロフィー専門病院で診療している患者の各病型の比率とほぼ一致している．男性が女性に比して多いが，これはデュシェンヌ型が多数を占めることの当然の帰結である．12歳以上のデュシェンヌ型はほとんどが歩行不能であり，歩行可能な患者の割合が半分以下であることも現実の患者集団の割合と大きくかけはなれていない．つまり，MDQoL60の開発に用いられた患者集団のプロフィールは，実際にこの評価尺度が用いられる対象となる患者集団の内容とほぼ一致しており，目的に合致した適切な患者のサンプリングが行われたと考えられる．しかしこの評価尺度も目的に合わせて使用することが必要である．たとえば，歩行可能な患者を対象とする臨床試験では起居動作，平地や階段

3 信頼性の検討

すべての因子についてクロンバック α を計算した．最低は

表2 質問項目の選択と検討

			因子負荷	初回	再計算
1 心理的安定	$\alpha = 0.832$				
23		気分が落ち込むことが	(ある ない)	0.793	0.771
33		ささいなことが気になることが	(ある ない)	0.64	0.615
13		不安を感じて	(いる いない)	0.631	0.627
24		人から見られることが気になることが	(ある ない)	0.468	0.52
49		自分のつらさを周囲にわかってもらえてないと思うことが	(ある ない)	0.445	0.424
73		意欲がないことが	(ある ない)	0.442	0.461
83		孤独な気持ちになることが	(ある ない)	0.434	0.465
3		イライラしたり、腹を立てたりすることが	(ある ない)	0.425	0.457
2 ADL	$\alpha = 0.910$				
81		洗面をすることが大変で	(ある ない)	0.809	0.831
91		歯磨きをすることが大変で	(ある ない)	0.808	0.812
5		食事を食べるのに不自由	(である ではない)	0.773	0.766
11		衣服や日用品の整理が一人でできないので困って	(いる いない)	0.747	0.739
25		排尿や排便に不自由	(である ではない)	0.701	0.685
82		痒いところがかけないので困ることが	(ある ない)	0.619	0.609
61		字を書くのに不自由を感じて	(いる いない)	0.538	0.559
75		寝返りができずつらいと感じて	(いる いない)	0.487	0.481
3 環境	$\alpha = 0.820$				
3-1 居住環境					
20		現在の居住環境は快適	(ではない である)	0.699	0.655
40		自分で自由に使えるスペースが	(ない ある)	0.496	0.476
10		自分の生活環境はプライバシーが保てないので不満に思っ	(いる いない)	0.458	0.407
3-2 医療環境					
39		自分が受けている医療について不満が	(ある ない)	0.56	0.567
89		医師を信頼	(できる できない)	0.517	0.546
19		自分の状態は医師や看護師によくわかってもらって	(いない いる)	0.488	0.579
3-3 生活環境					
100		食事が	(おいしくない・おいしい)	0.527	0.442
35		入浴は気持ちよく	(できない できる)	0.491	0.436
28		好きなことに時間が使えないと感じて	(いる いない)	0.385	0.396
4 希望	$\alpha = 0.833$				
147		将来の希望について	(考えない 考える)	0.776	0.728
18		人生の目標が	(ない ある)	0.691	0.717
98		これから先、何か良いことがあると	(思わない 思う)	0.684	0.744
108		将来の困難を乗り越えることができると	(思わない 思う)	0.604	0.665
8		日々の生活に「はりあい」が	(ない ある)	0.451	0.469
149		死んでしまいたいと思うことが	(ある ない)	0.345	0.376
141		もっとよい治療法が見つかる	(思わない 思う)	0.312	0.348
5 活動	$\alpha = 0.800$				
105		屋外の移動に不自由を感じて	(いる いない)	0.712	0.74
68		趣味、余暇活動が病気のために支障をきたしていると感じて	(いる いない)	0.585	0.597
21		外出に不自由を感じて	(いる いない)	0.575	0.618
70		やりたいことはあるが環境がないと感じて	(いる いない)	0.529	0.537
112		病気のことで仕事や勉強ができな	(いる いない)	0.491	0.511
6 健康感	$\alpha = 0.704$				
45		気持ちよく	(眠れない 眠れる)	0.756	0.747
80		熟睡	(できない できる)	0.702	0.679
2		体のどこかに痛みやしびれが	(ある ない)	0.536	0.308
7 人間関係	$\alpha = 0.727$				
64		人から頼りにされていると	(思わない 思う)	0.6	0.607
14		人から好かれていないと	(思う 思わない)	0.586	0.538
36		相談できる人がいないと感じて	(いる いない)	0.57	0.529
44		自分は人の役に立ってないと思うことが	(ある ない)	0.566	0.587
46		手助けしてくれる人がいないと感じて	(いる いない)	0.486	0.411
8 家族	$\alpha = 0.771$				
17		家族は協力的でないと感じて	(いる いない)	0.533	0.602
107		家族に悩みを相談することが	(できない できる)	0.506	0.586
67		家族は自分の意志を尊重して	(くれない くれる)	0.495	0.545
7		家族とは気持ちが通じ合わないと思うことが	(ある ない)	0.493	0.519
87		家族といると心が	(安まらない 安まる)	0.483	0.514
9 性	$\alpha = 0.643$				
124		惟のことでイライラすることが	(ある ない)	0.674	0.666
132		異性のことで悩むことが	(ある ない)	0.617	0.61
145		病気が異性との交際に影響を及ぼしていると	(思う 思わない)	0.467	0.456
10 呼吸と咽頭機能	$\alpha = 0.783$				
22		たんがからんで苦しいことが	(ある ない)	0.659	0.647
72		むせてつらいことが	(ある ない)	0.585	0.647
12		息が苦しいことが	(ある ない)	0.525	0.56
31		声が出にくい、発音しにくいなどで困って	(いる いない)	0.499	0.559
41		食べ物のがみこみにくいで困って	(いる いない)	0.455	0.513
11 排便	$\alpha = 0.745$				
62		便秘でつらいことが	(ある ない)	0.462	0.326
111		排便のコントロールがうまくいって	(いる いない)	0.398	0.294

の歩行能力などに関連する質問項目が多く含まれることが望ましい。この評価尺度は開発の目的から汎用性をめざしたために、対象患者の半数以上が歩行不能な患者であり、最終的に残った調査項目にはこれらの項目は含まれなかった。目的によっては別の評価尺度を開発する必要があるかもしれない。

当初、我々は筋ジストロフィーのQOLを規定する領域として表1の15領域をあげ、これを念頭に質問項目を蒐集した。最終的にこれらの領域が因子として抽出されてくることを期待して作業を進めた。実際には1運動機能低下によるADLの障害、2疼痛、呼吸困難などの身体的苦痛、5人間関係の問題、7家庭生活の問題、9将来に対する展望、13異性、恋人、性はそれぞれ最終的な評価尺度の領域における、「2 ADL」、「1 心理的安定」、「7 人間関係」、「8 家族」、「4 希望」、「9 性」に対応していた。一方因子分析を実施して判明したことは、「現在の居住環境は快適」などの居住環境、「自分の受けている医療に対する不満」などの医療環境、「食事がおいしい」などの生活環境はすべて「3 環境」としてひとつの因子として抽出されたことがあげられる。日本の筋ジストロフィー患者にとってはこれら3つの環境は意識の上では渾然一体となっていると思われる。最終的な成果物である質問紙にはこの3つの亜領域を区別する方が実用であると判断し、亜領域別に採点するようにしたが、統計学的にはこれら全体でひとつの因子を構成するということは特筆に値する。これが日本の筋ジストロフィー患者のみにあてはまるのか、それとも根本的な治療法のない疾患として世界共通の現象であるのかは興味深く、今後の検討が必要である。また、入院という療養形態をとる患者の比率が高いのは日本の筋ジストロフィー医療の現実を反映したものである。もし、将来この評価尺度が外国語に翻訳されて国外で使われることがあれば、妥当性の検討のところでこの点が問題になるかもしれない。

信頼性の検証はクロンバックの α の算出の形ですでに実施されているが、さらに今後の研究で妥当性を検証し、再現性を調べ信頼性を高める努力が必要と考える。また実際の介入研究で利用してその有用性を確認することも必要である。

付属資料

- 1) 一次調査協力者への説明文
- 2) 一次調査用紙
- 3) MDQoL

謝辞：MDQoL60の開発にあたり、貴重な助言をいただいた、日本筋ジストロフィー協会理事で精神科医の貝谷久宣先生に深甚なる感謝を捧げる。

MDQoL60の利用法：MDQoL60は登録すれば無料で利用可能である。筋ジストロフィー臨床研究班のホームページwww.pmdrinsho.jpの該当ページで研究者名、施設名、利用目的を登録すると質問紙をダウンロードできる。

文 献

- 1) ManzurAY, Kuntzer T, Pike M, Swan A: Glucocorticoid corticosteroids for Duchenne muscular dystrophy.Cc:chrane Database Syst Rev 2004;(2):CDOO3725
- 2) Tarnopolsky MA, Mahoney DJ, Vajsar J, Rodriguez C, Doherty TJ, Roy BD, Biggar D: Creatine monohydrate enhances strength and body composition in Duchenne muscular dystrophy. Neurology 2004 May 25;62(10):1771-7
- 3) Van Der Kooi EL, Vogels OJ, Van Asseldonk fU, Lindeman E, Hendriks JC, Wohlgemuth M, Van Der Maarel SM, Padberg GW: Strength training and albuterol in facioscapulohumeral muscular dystrophy. Neurology 2004 Aug 24;63(4):702-8
- 4) 川井充, 福永秀敏: 神経・筋疾患政策医療ネットワークにおける筋ジストロフィー患者データベースの構築. 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 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 主任研究者福永秀敏 平成11-13年度研究成果報告書 pp263 - 272, 2002年
- 5) 松村剛: 初期心不全デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者における β 遮断薬治療に関する研究. 平成14年度厚生労働省精神・神経疾患研究委託費による報告集(2年度班・初年度班) p287, 2003年
- 6) Ware JE, Sherbourne CD: The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. Med Care 1992 Jun;30(6):473-83
- 7) EuroQol group: EuroQol-a new facility for the measurement of health-related quality of life. Health Policy 1990 Dec;16(3):199-208
- 8) Peto V, Jenkinson C, Fitzpatrick R, Greenhall R: The development and validation of a short measure of functioning and well being for individuals with Parkinson's disease. Qual Life Res 1995 Jun;4(3):241-8
- 9) Jenkinson C, Fitzpatrick R, Brennan C, Bromtarg M, Swash M: Development and validation of a short measure of health status for individuals with amyotrophic lateral sclerosis/motor neuron disease: the ALSAQ-40. J Neuro 1999 246(Suppl 3): III/16-III/21
- 10) Vickrey BG, Liays RD, Harooni R, Myers LW, Ellison GW: A health-related quality of life measure for multiple sclerosis. Qual Life Res 1995 Jun;4(3): 187-206
- 11) 高井輝雄, 野尻久雄, 小笠原昭彦, 岡森正吾, 小長谷正明: 筋ジストロフィー患者のQOL調査表. 厚生省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーの療養と看護に関する総合的研究 平成4年度研究成果報告書 主任研究者岩下宏 pp321-326 1993
- 12) Guyatt GH, Bombardier C, Tugwell PX: Measuring disease-specific quality of life in clinical trial. CMJ 1986 Apr;134 889-895, 1986

筋ジストロフィーの治療と医学的管理に関する臨床研究班（川井班） 3年間（平成14～16年度）における研究成果

貝谷 久宣*, 河端 静子*, 貝谷 嘉洋**

テーマ

神経・筋疾患をもつ者のQOLの実態およびニーズ

概要

平成14年度は(社)日本筋ジストロフィー協会の患者のQOLの実態およびニーズ（医療・介助・生活）に関するアンケート調査（3442人対象）を分析し考察した。その結果、特にニーズについては量的調査では十分に表出されていないことがわかった。そこで、平成15・16年度においては、在宅の患者に対して同内容に関する聞き取り調査（12人対象）を行った。これらから在宅患者の実態についてはかなり明らかになったが、真のニーズの解明については継続的に調査の必要性を認識した。

研究目的

ノーマライゼーションの環境の中で重度の神経・筋疾患をもつ者が将来の目標・人生設計に向けて自己実現を図っていくことが、あるべき地域社会での姿であることを前提とし、現状およびその方向へ向かうためのニーズ、またそれを満たすためのサポートは今後どうあるべきかということ、アンケート調査（第1部）および聞き取り調査（第2部）により明らかにする。

第1部 アンケート調査

I. 調査の概要

次のような調査を行った。

◆対象

(社)日本筋ジストロフィー協会の会員を中心に筋ジストロフィーをもつ在宅者または国立療養所入所者

◆方法

入所：療養所の親の会、協会各県支部を通して調査票を配布、回収。

在宅：協会各県支部を通して調査票を配布、回収。※解析はSPSSを利用

◆調査期間

平成13年7月15日～8月31日

◆回収状況

入所： 1,645通配布 1,106通回収（回収率 67.2%）

在宅： 1,797通配布 1,007通回収（回収率 56.0%）

◆調査内容

基本事項、医療、看護、生活実態、福祉サービス・要望など

II. 分布

分布は次の4つのグラフに表したとおりである。これら4つのグラフにより、筋ジストロフィーをはじめとする神経・筋疾患をもつ者の年齢、性別、障害等級、病型、入所・在宅の分布を包括的に明らかにした。なお、それぞれのグラフについて「その他」、「よくわからない」と回答した者、無回答の者は対象者に含めていない。

グラフ1：年齢、性別による障害等級の分布

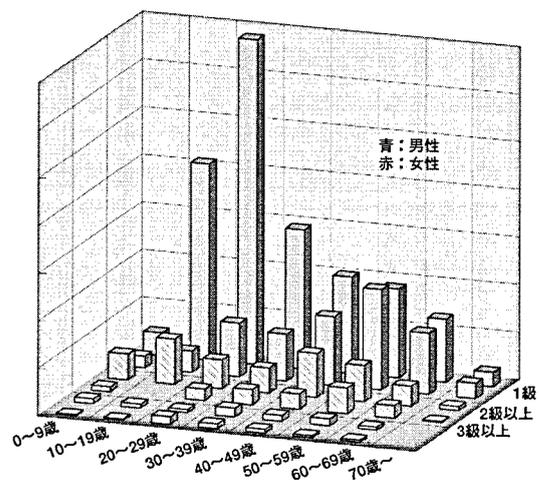
（対象者1777名）

グラフ2：年齢、性別による病型の分布（対象者1420名）

グラフ3：年齢、障害等級による入所者および在宅者の分布（対象者1783名）

グラフ4：年齢、病型による入所者および在宅者の分布（対象者1424名）

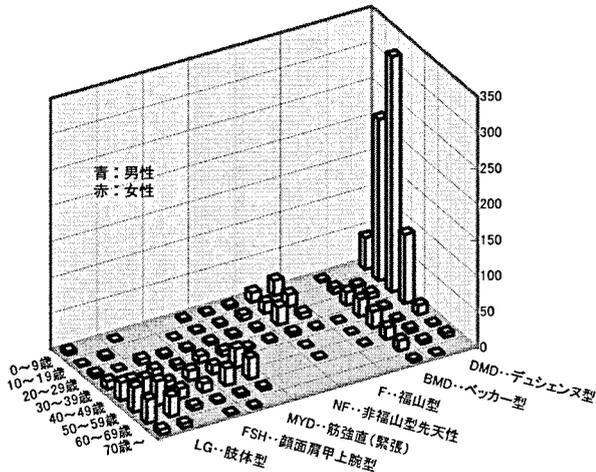
グラフ1：年齢、性別による障害等級の分布（対象者1777名）



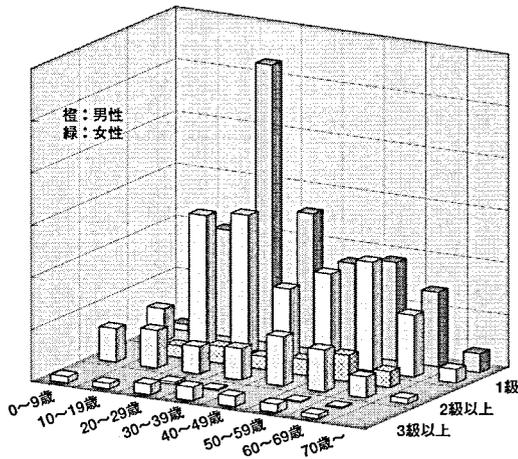
* (社)日本筋ジストロフィー協会

**上智大学大学院

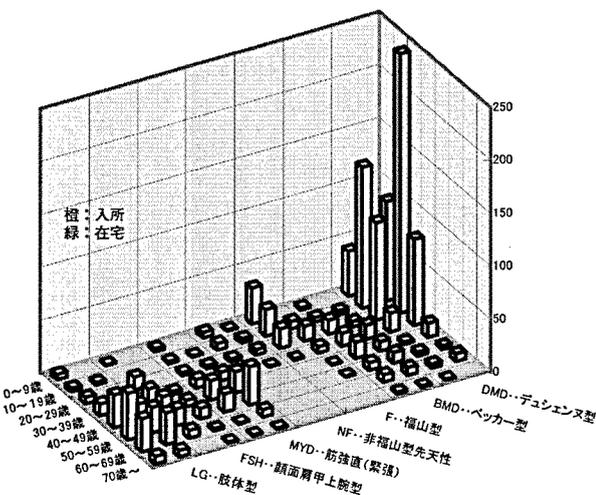
グラフ2：年齢、性別による病型の分布 (対象者1420名)



グラフ3：年齢、障害等級による入所者および在宅者の分布 (対象者1783名)



グラフ4：年齢、病型による入所者および在宅者の分布 (対象者1424名)



Ⅲ. 考察

以下、在宅のアンケート調査の一部について考察を行った。性別、年齢、配偶関係

回答者のおよそ3分の2が男性で、3分の1が女性であった。回答者の年齢は、男女に大きく隔たりがあり、男性では若年10～19歳が最も多く、4人に1人がこの年齢層である。女性では50～59歳が最も多く4人に1人がこの年齢層で、人数は男性を上回る。

男性の回答者の平均年齢は、30.55 (± 0.73) 歳、女性の場合は42.05 (± 1.01) 歳で、男性回答者の平均年齢は女性のそれより10歳以上低い。年齢と性には比較的相関 (0.281, 1%水準で有意) が見られる。

これは、男性の筋ジストロフィー者のほうが、女性に較べて人数が多く発症年齢が比較的に早いのである。それを裏付けることとして、男性の回答者の44.2%がデュシャヌ型という発症年齢の早いタイプ (通常10代前半までに歩行不能) である。なお、デュシャヌ型は性染色体劣性遺伝で、女性は保因者となり発症することは一般的にないといわれている。

15歳以上の配偶関係について、「未婚」か「既婚」の2つの選択のうち、3人に2人にあたる69.2%が未婚であると答えた。男性では76.9%が未婚であるが、女性は56.3%と男性よりも未婚者の割合が低く、相関 (0.216, 1%水準有意) が比較的強い。これは、幼少期に発病する男性特有のデュシャヌ型の未婚の割合が非常に高い (98.1%) こと、また女性の発症が比較的に早いことである。

総務省の平成12年調査では、15歳以上の国民全体の未婚者の割合は27.6%であり、筋ジストロフィー者は結婚することが少ないことがわかる。

その他、特徴的であったのが障害の等級と配偶関係は相関が非常に少ないという点である。

手帳の種類と等級

身体障害者手帳のみの保持者は有効回答のうち87.1%であり、療育手帳と両方の保持者は11.8%であった。福山型である者のうち4割が療育手帳と両方を保持しているのをはじめ、各型で両方の保持者が少々みられる。

身障者手帳の等級については、1級の者が68.1%、また2級とあわせて93.8%であった。男性の66.1%、女性の72.0%が1級、男性の28.3%、女性の20.9%が2級で、性別と等級については相関が非常に低い。

障害度に関する質問では、最も重度のカテゴリーに属する座位保持不能、常時臥床と回答したのが、有効回答のうち16.7%で、これも含めて歩行不能なものは同じく72.8%を占める

これらのことから回答者の多くがいわゆる重度の肢体不自由者であることがわかる。一方、障害の等級については性別とは相関は低かった。

なお、療育手帳については全体の11.9%が保持していて、そのうち等級が最重度または重度という者が多く、合わせて87.5%であった。

また、症状について複数回答で心臓に疾患があると回答したのが、全体の12.0%、人工呼吸器を使用していると回答し

たのが、全体の12.4%であった。また全体の23.4%が何らかの形で心肺機能に疾患があると回答している。

進行性筋ジストロフィーは肢体不自由に加えて、心肺機能に障害があるものがおよそ4人に1人とこの疾病の特徴を示す。特にデュシャンヌ型の39.3%が心肺機能に障害がある。

タイプでみる進行性筋ジストロフィー

疾病の型については、いずれも有効回答のうちデュシャンヌ型が圧倒的に多く31.3%と全体の約3分の1で、男性がほとんどである。次いで肢体型が14.5%で、女性がほとんどである。次いで常染色体劣性遺伝の福山型の8.2%。これは、日本人特有の型だといわれている。デュシャンヌ型と同じ性染色体劣性遺伝の特性をもつベッカー型は6.7%で、男性のみである。比較的軽度な顔面肩甲骨型腕型の6.6%とつづく。一方、その他が15.3%、よくわからないと回答した者が10%であった。

社会参加について

職業

7歳から17歳までの者のうち97.4%が生徒・学生と回答し、就学率の高さがうかがわれる。一方、18歳以上については4.6%が生徒・学生と回答し、3人に2人の63.2%が働いていないと答えている。有給の仕事についていると答えた者が17.9%である。これについて等級が1級の者の中では11.5%、デュシャンヌ型の中では5.6%である。手帳の等級と、有給の仕事をしている者の間には強い相関(0.296, 1%水準有意)がみられる。

通所の、作業所、授産所などで働いている者は11.1%であった。ボランティアとして社会参加している者は3.1%である。

これらのことから、筋ジストロフィー者の職業については非常に限られている現状がうかがえる。

外出

41.3%が毎日、25.9%が週に2、3回程度外出していると答え、3人に2人が日常的に外出している。等級が1級の者に限定するとほぼ毎日外出しているのが32.7%、デュシャンヌ型に限定すると同じく53.4%であった。等級とは比較的強い相関(係数0.162, 1%水準で有意)があり、障害が重いほうが外出の機会が少ないという結果である。デュシャンヌ型とその他のタイプで較べたときに有意な相関はみられないが、重度であるはずのデュシャンヌ型の者のほうが平均よりも10%以上も毎日外出する人が多い結果がでている。

.....

一方、9.7%がほとんど外出しない、5.2%が年に5,6回程度と、合計15%程度が非常に限られた外出となっている。

社会参加全体で見ると、外出する機会は比較的多いが、有給の職業にはほとんどついていないといえる。

収入、福祉サービス、自己負担額について

年金、手当、生活保護

障害基礎年金は20歳以上の709名の有効回答のうち、72.2%が受給しているとしている。特別障害者手当は、34.8%

が受給していると答えた。

障害児福祉手当、特別児童扶養手当は、有効回答280名の20歳以下の者のうち43.6%、61.4%が受給していると答えた。

生活保護を受けているのは全回答者1,007名のうち16名であり、1,000名あたり15.9(±3.9)であった。国立社会保障・人口問題研究所の平成11年度の実績の世帯1,000に対する15.7とほぼ同じくらいの水準である。

福祉サービス

現在受けているその他の給付、福祉サービスについての質問(複数回答)。

車いすなど福祉機器に関わる給付、自動車税の減免の両者が圧倒的に多く全回答者の6割近くが受けている。住宅改造に関わる給付は2割程度と比較的少ない。その他としてはいずれも1割程度で多くはないが、デイケア、ショートステイ、訪問看護サービス、人工呼吸器のレンタルと買い取り、医師による往診、移送サービスと続いている。とくに少ないのが自動車改造費用の補助や駐車場賃貸料の減免や家賃補助であるが、これらはとくに一般の職場で働くために必要なサービスである。このことから筋ジスの患者にとって一般就労が非常に困難であることが理解される。

車いすのように日常生活に欠かすことができない物への給付はかなり進んでいる。自動車税の減免が多いのは、自動車での移動を必要としている人々が多いためであろう。一方、移送サービスを受けている者が8.0%と低いのは、多くの者が移送に関しては家族に頼り、自家用車を利用しているためであると思われる。*必要な行政サービスと較べて考察。

医療機関の利用

国立療養所に通院していると回答したのが432名と全回答者の42.9%であった。国立療養所に緊急・短期入所をしたことがあるものは154名で、在宅で生活をしていても国立療養所の必要性が高いようだ。特に、心肺機能に疾患がある者と、国立療養所の利用者との間には多少の相関(0.113, 1%水準有意)が見られる。国立療養所の通院の頻度は、平均年間7.19(±0.50)回であった。

かかりつけ医にかかっていると回答した者は415名、全回答者の41.2%で、通院回数の平均は回数、年23.88回(±1.14)、国立療養所に較べて通院の頻度が高いことがわかる。

医療費の自己負担については、390名の有効回答者のうち50.8%が負担無しと答えている。全体の平均自己負担額は年間4万2,550(±6,032)円であった。負担割合がゼロの者は48.2%であった。これは、自治体によっては、難病指定された者の医療費の自己負担分を補助するところがあるためである。

自己負担の内訳の中で目立つのが、人工呼吸器への自己負担で、有効回答者のうち63名が給付を受けていて、平均7万2,610(±1万2,079円)の負担をしている。負担額の最頻値、中央値はともに3万円であった。このことから、人工呼吸器を利用するものの負担が特別に大きいことがわかる。

通院の交通費などにかかわる出費は、有効回答者のうち399名であり、その負担額の平均は6万6,067(±8,154)円であった。

これらから、年間におよそ10万円程度の医療費の自己負担があることが分かる。

介助

主な介助者について複数回答で聞いている。母親は全回答者の60.9%を占めていて、次いで父、姉妹と近親の家族で回答のほとんどすべてを占めている。主な介護者を「2親等以内の家族」と、「それ以外の介助者（ボランティア、及び有料介助者、看護師による介助、その他）」のグループに分けると、49.1%が2親等以内の家族のみの介助で、2親等以内の介護者とそれ以外の介助者と両方を回答した者が35.6%で、合わせて84.7%になっている。「それ以外の介助者」のみは5.7%にとどまり、介助のほとんどが家族に頼っているということが浮き彫りになった。

1日のうちで介助に要する時間は、有効回答数65.2%の平均時間が11.24（±0.35）時間であった。障害等級別では1級については、12.60時間であった。タイプ別では、デュシャンヌ型については14.76（±0.57）時間、福山型は19.60（±0.75）時間で特に高い値を示している。

必要な介助の種類については、入浴、食事の準備、車椅子への乗降、着替えといった身体介助、掃除、洗濯といった家事援助全般について全回答者の6割以上が必要であると答えた。一方、食事介助については必要と答えた者が同じく25.4%と最も少なかった。

目立つところでは、寝返りの介助が47.9%と高く、夜中の介助が必要な者は340名（33.8%）であり、平均は3.59（±0.16）回となっている。このことから、介助の負担の大きさがうかがえる。

介助に対する満足度については、「満足している」と答えた者が、・・・34.7%、「満足していない」と答えた者が23.2%であった。前述の「2親等以内の家族のみ」と、「それ以外の介助者が含まれている」グループに分けると、前者のグループでは「満足している」が圧倒的に多く、後者のグループでは「満足していない」と「満足している」がほぼ同数であった。これらの相関は0.199（1%水準で有意）で、家族が介助のすべてを担っているほうが、満足している傾向にあるといえる。

この理由については次のようなことが考えられる。まず、家族の介助の方が、介助の質・量において高いという可能性が考えられる。また、家族以外の人に介助されている人は、どちらかというとき自己実現に対する意識が高く、介助の質・量が同程度であっても満足しないということがあり得る。

さらに、誰がアンケートに記入者にしたかが満足度に関係しているように思われる。つまり、「2親等以内の家族」が記入した場合と、「本人、家族以外の介助者、その他」のグループの記入を比較してみると、介助の満足度に関する相関がある程度みられた（0.093、5%水準で有意）。このことから本人が記入者に遠慮しているという可能性が考えられる。

介助に満足していない人に、理由を尋ねた。最も多かったのが、「介助人にこれ以上負担をかけたくないから」というものであった。本人が介助人に負担がかかっていることを知っていて、その状況に苦慮しているということである。

続いて、介助の時間が短い、介助者を自分で選ぶことが出来ない、必要な介助人を見つけるのに苦労しているなどの理由が挙げられた。

介助人とうまくいっていないと答えた人は非常に少なかった。

ホームヘルプサービスなどの利用について、ホームヘルプサービスを利用していると答えたのは17.1%であった。利用者の平均利用時間は、月30.82（±3.57）時間であり、これは1日1時間程度の非常に限られた利用であった。

全身性介護人派遣制度などを含めて何らかの形で行政の介助サービスを受けていると答えたのは21.4%と非常に限られていた。

在宅であることの理由

「状態がそれほど悪くなく在宅でもよいと判断したため」が全体の54.7%と最も高い。また、「家族と別れて住むのがいやだから」、「在宅のほうが生活の質（QOL）が高いから」、「施設や病院では自由がなくなるから」が、それぞれ3割以上と比較的高かった。また、入所（院）しようと思ったが、何らかの理由で断られたという者は非常に少なかった。さらに、在宅のほうが手当や介助料などで経済的負担が少ないからと回答した者は6.7%と少なく、このことから経済的負担が多くても在宅を希望し実現していることがわかる。

行政サービスへの必要度について、「必要ない」を1、「どちらともいえない」を2、「必要である」を3としてその合計を平均した値を指数として表した。

最も必要度の高かったのは、「住宅改造費用への助成金の増額」（2.77）であった。次に、「車いす以外の福祉機器（ベッド、リフト）への助成金の増額」（2.75）であった。後者は、ベッドやリフトであり、住宅改造に付随するものである。住宅改造は、介助の負担や本人の生活の質を高めるために、非常に基本的な部分であると同時に、介助などのサービスと違って、実際に見える物であるため、行政も比較的助成しやすいはずであるにも関わらず、必要度が高いことは、この分野がいかに遅れているかを物語っている。

次に高いのは、「移送サービスの拡充」（2.70）であった。前述のように自動車税の減免を受けている者が多く、自動車の利用が一般的であるにも関わらず、運転手が別について、リフトなどで車内にそのまま乗り込める大型車の利用への必要度があると思われる。

「介助人の育成、紹介、派遣システムの充実」（2.69）については、介助の状況に満足している人が多いにもかかわらず必要度は高いという結果であった。

続いて「車いすへの助成金の増額」（2.69）、「相談の窓口の一本化」（2.68）、「リハビリ（理学療法、作業療法など）の拡充」（2.66）、「自動車改造費用への助成金の増額」（2.66）となっている。

必要度が低かったものは、「作業所、授産所の拡充」、「人工呼吸器への助成金の増額」、「修学時の受け入れ支援」、「住宅の家賃減免」、「普通学校への入学」、「一般の職場で働くことに対する支援拡大」などであった。

第2部 聞き取り調査

I. 調査方法

1. 市区町村に補助制度の全貌についてインタビュー前にメール、ファックスのいずれかの媒体でアンケート調査を行う。

2. 当事者本人に対する聞き取り調査

(1) サンプリングの方法

理論的サンプリングに基づいて、属性の多様性を最大限にするように段階的に調査対象者を選択する。具体的には、性別、年齢、配偶関係、障害の程度の当初は4つの要素が最大限満たされるようにサンプリングを行う。要素の増減、要素内の区分変更は適時行う。

サンプリングは、当初は研究者の知り合いを中心に調査対象者を選択する。その後は、(社)日本筋ジストロフィー協会の会員を中心に多様性を最大限にするよう選択する。

(2) 聞き取りの方法

研究者が調査対象者の自宅を訪れて、1対1の対面調査を行う。

①年齢や性別など基本的事項は、予め用紙を作成し、最初に訊ねて記入するものとする。

②その他、自己実現、ニーズに関するものについては、半構造化インタビューとし、インタビュー・ガイドをもとに行い、順番や内容の広さ、深さについては状況に応じて決める。インタビュー中の会話は録音する。

なお、研究者が社会のサポート体制がもっと整うべきだという強い問題意識をもっているため、問題中心インタビューの手法をとる。また、研究者自身が当事者であり、国内外で経験・知識が豊かなため、啓発的な話をし、ニーズに対して刺激を与えることにより、また同じ目線で聞き取りを行うことにより、比較的隠れがちなニーズについても解き明かそうとする。

分析の際に、聞き足りない事項については調査対象者に電話で補足してもらう。

(3) 聞き取り調査の時間 2時間程度

(4) 聞き取り調査で明らかにしたいこと

①調査対象者がどのような将来の目標、人生設計をもっているのか

ノーマライゼーション理論の中でも、人生設計を普通の人のように行える環境が最も重要であると考えられる。毎日の生活のニーズは、将来の目標、人生設計に向かって自己実現する過程から生まれてくるという考えのもと、ニーズを解き明かすための前提としての設問とする。将来の目標、人生設計には、生活形態、リクリエーション(趣味・旅行)、仕事・ボランティアワーク、家族・結婚観などの側面がある。

②将来の目標、人生設計に向かって自己実現を図っていく上でのニーズは何なのか

この調査で明らかにしたいニーズの種類は、概念としては基本的に次の2つである。

第一は、自己実現を図っていく上で主に物理的かつ直接的なニーズであり、医療、介助、支援機器などに対するニーズがこれに含まれる。

第二は、自己実現を図っていく上で、間接的なまたは側面的なニーズであり、権利擁護、精神的なサポート、セーフティーネットに対するニーズがこれに含まれる。

③社会の(市区町村、コミュニティ)のサポート体制について

市区町村の補助金についての情報を調査協力者に確認し、その他のコミュニティのサポート体制について聞き取る。

(5) 聞き取り調査のコーディング

①将来の目標・人生設計については、その種類によってコーディングする必要がある。単なる願望や、全く裏づけのない夢と、工程がはっきりした目標・人生設計とは区別する。また、どのくらい先の目標・人生設計なのかということも区別する。

②ニーズについては、比較的細かくコーディングする必要がある。医療、介助、支援機器、権利擁護、精神的サポート、セーフティーネットのうちどれに関するニーズかも区別する。これらのニーズについては特に、自己実現をするためにどの程度必要なものなのか、またコミュニティの現状からみて充足するための社会的コストはどのくらい困難なのかコーディングを行う。

(6) 聞き取り調査内容

①基本的な事項

インタビューの場所
開始時間・終了時間
氏名
住所(市区町村)
生年月日
性別
発症年齢(診断の経緯)
筋疾患の種類
教育
生活形態
同居家族
日常生活動作

②インタビューガイド

1. どのような将来の目標、人生設計をもっているのか。

(1) 生活形態

- (2) リクリエーション(趣味・旅行)
 (3) 仕事・ボランティアワーク
 (4) 家族・結婚観

- (2) (1) の中で足りない、不満と感じていること
 (3) そのことが自己実現を図っていく上でどのような障害になっているのか
 (4) どのようなサービスが存在すればよいと思うか

2. 目標, 人生設計に向かって自己実現を図っていく上でのニーズは何なのか

(1) 現在の状況, 受けているサービス(メインの調査項目)

生活費について

医療について

種類(国立療養所, 診療所, 訪問看護婦, 専門医とのつながり)

治療の内容(人工呼吸器, 薬物, PT, その他)

通院・訪問の頻度

介助について

主な担い手(両親, 両親以外の家族, 無償介助, 有償介助)

支援費で受けている支給量

支援機器の利用について

車いす(手動・電動, リクライニング, チルト, エレベーション)

電話(携帯, コードレス, ハンズフリー)

パソコン(種類, 入力支援装置, 設置状況, インターネット)

環境制御(リモコン装置など)

精神的サポートについて

家族, 介助者, 医療関係者, 友人, ピアカウンセリング 専門の心理カウンセラー

筋ジストロフィーの受容(病気に対する知識, 意識レベル)

セーフティーネットについて

権利擁護について

社会参加について

種類(レクリエーション, ボランティア, 有給の仕事)

移動手段(福祉タクシー・自家用車(運転は?), 公共交通機関(バリアフリー?))

分析

調査対象者の現状, また将来の目標・人生設計について認識した上でニーズを分析する。

それぞれのニーズは排他性がある場合もあるが, 補完性, 代替性, 相互作用, 発展性がある場合がほとんどである。よってコーディングの結果を画一的に分析するのではなく, それぞれのニーズの性格を考慮に入れ, その充足が将来の目標, 人生設計に向けて自己実現を図っていく上でどのように貢献するのか, またしないのかを分析する。

さらにそのニーズを充足するための社会的コストを考慮に入れ, ノーマライゼーションの環境においてあるべきサポート体制を提案する。

II. 調査協力者

表1のように12ケースの聞き取り調査を行った。40歳代の男性が5ケース, 30歳代の女性が4ケースと性別, 年齢については属性の類似が顕著である。居住地については4都道府県に集中している。

病型については, 筋ジストロフィーが7ケースで, その他の神経・筋疾患が4ケースであり, 比較的多様性を確保した。日常生活のほとんどに介助が必要な10ケースは重度の肢体不自由者に分類され, ほとんど介助が必要で無い2ケースについては軽度と分類した。

配偶関係は有り, 無しが半々の6ケースずつであった。今後さらに, 性別, 年齢, 障害の程度, 配偶関係の属性の多様性の最大化に努める必要がある。

III. 12ケースの調査結果の全般的な分析

現在のところ, コーディング, 詳細の分析は行っていない。これまでのところ, 簡易に分析した結果, 全般的に表れた生活実態, 自己実現, ニーズについて次のようにまとめた。

表1: 調査協力者(平成15・16年度)の属性と基本的事項

	性別	年齢	居住地	病型	教育	配偶関係	同居者	支援費支給量(月時間)
A	男性	40代	東京都	ベッカー型	養中等	無	一親	358
B	男性	40代	東京都	顔面肩甲上腕型	普高等	有	妻、子供2	0
C	女性	30代	埼玉県	ウェルニッヒホフマン	四大卒	無	両親、兄弟1	99
D	男性	40代	北海道	KW神経原性筋萎縮症	養高等	有	妻	420
E	男性	60代	北海道	ベッカー型	養高等	有	妻	230
F	男性	30代	埼玉県	デュシャンヌ型	養高等	無	両親	341
G	女性	30代	埼玉県	ウェルニッヒホフマン	養高等	無	両親、弟1夫婦、甥1、姪1	130
H	男性	40代	沖縄県	KW神経原性筋萎縮症	普高等	有	妻、子供2	129.5
I	男性	20代	沖縄県	デュシャンヌ型	養高等	無	なし	186
J	男性	40代	沖縄県	肢帯型普高等		有	妻	186
K	女性	30代	東京都	不明 四大在学		無	なし	744
L	女性	30代	埼玉県	肢帯型普高等		有	夫	0

1. 自己実現について

まずほぼ全員が、「自立」を自己実現の重要なものとして位置づけている。ここでいう自立とは、自薦ヘルパーを自身で管理し一人暮らし(または配偶者と同居)をすること、親と同居しても有給の仕事をもつことのどちらかの意味である。

10ケースの重度の者のうち、自薦ヘルパーを管理し一人暮らししているのは2ケースで、同じく配偶者と同居しているのは、4ケースであった。残りの4ケースについても完全に両親に介助を依存しているものではなく、この意味での自立という自己実現を図る点ではかなり達成しているケースが多かった。

自薦ヘルパーを自身で管理するという意味の自立をある程度達成すると、自己実現の目標が有給の仕事に移行していく傾向にある。調査時点で、有給で常勤に相当する職業にしていたのは、5ケース(重度3ケース)であった。特に20から30歳代のケースは将来の職業に対してかなり具体的な目標をもっているケースが多かった。また過去に有給の仕事をやっていた人はそのことを強調してお話するケースが目立った。

いずれにしても有給の仕事については各ケースにとって重要であるようだ。

症状、障害の程度と自立への意思との相関は低く、重度であっても自立について強い思いをもっているケースが目立った。また病気をほぼ完全に受容し、治るということに大きな望みをもっていないケースがほとんどだった。

また、半分の6ケースは既婚であるが残りの6ケースについては、配偶者を得ることにに対して比較的肯定的に捕らえている。

2. 生活実態、ニーズについて

今回の調査では比較的活発な人々が多く、自立度の高いケースが多かった。制度や両親の私財をうまく利用していて、生活水準全般という点では一般と同じ程度である。

行政の制度やバリアフリー・インフラは全体としてかなり充実してきているが、柔軟性がなく必要な人に十分なサービスが行き渡っているとはいえない。周りとの妥協・協調のなかでバランスを取りながら生活しているケースが目立った。とはいえ、「値段が高いからそのサービスは受けない」「前はそう思っていたけど今は・・・」「何とかなっている」という言葉に代表されるように、自己実現に向けてニーズが満たされているとはいえない現状が浮き彫りになった。

また、自己実現をしていく上で健常者と比べて不利になるようなサービスの欠如や不整備も多く存在することが明らかになりつつある。

医療

医療については自己管理ができていてケースが多く、不満はあまり聞かれなかった。国立療養所や大学病院などの専門の医療機関の専門医によって確定診断を受けていたのは12ケース中、11ケースであった。

これらの医療機関への通院頻度は、1年以上行っていないケースが目立つなど大変限られているようだ。むしろ一般の

人と同じように近隣の医療機関に必要なに応じていくケースが多かった。これは比較的健康状態が安定した人が、サンプリングされていることも大きな原因であると考えられる。

同じように神経・筋疾患に関わる薬物を服用していたのは3ケースのみで、いずれも強心剤であった。

理学療法、職業訓練療法について定期的に受けていたケースは皆無だった。

訪問医療を定期的に受けていたのは3ケースで、いずれも入浴など介助的色彩が強い内容のサービスで、理学療法などリハビリを内容としたものは皆無だった。これは、近隣に適切なステーションがないことや、仕事をしている人にとっては日中の時間が合わないことなどが原因として考えられるが、その必要性の教育や啓発がされていないことが最も大きな原因として考えられる。

介助

平成15年度から導入された支援費制度によって介助サービスの支給量は、導入前に較べて確実に増加している。表1のケースKにおいては24時間介助にあたる支給量が認められている。また、親と同居していた場合、すべてのケースにおいて大幅に介助サービスの利用が増えた。これは措置から契約に移ったことにより、本人および家族の中で介助サービスを利用する権利意識が芽生えたことが大きな理由だと考えられる。

支給量には地域格差がみられ、同じ都道府県でも都市部が郊外に較べて支給量が多い。

支給量がもっと多いほうがよいという意見は多く聞かれたが、生きていくのに必要な最低限の介助は家族や職場の人々に担ってもらう形で得られている。また、母親など一部の人に介助の負担がかかりすぎて危機的状況にあるケースもなかった。

とはいえ、介助者がいないために外出が思うようにできないと本人が認識しているケースが、介助が必要な10ケースの半分で見られた。また本人が認識せずに介助が十分にえられていないケースも見られた。介助者が十分ではないことによって、社会参加や職業技能の向上が阻まれている可能性が高いといえる。

介助者が十分かどうかの評価項目は支給量だけではなく、必要な時に適切な介助者が得られるかどうかも重要である。この点、支援費制度は介助内容によって枠組みが細かく定められ、使いにくい制度であるという指摘が多くされた。

支援機器

支援機器として最も重要な車いすについてであるが、12ケース中10ケースが電動車いすを利用し、1ケースは寝たきりのため、もう1ケースは自立歩行可能のため車いすは利用していなかった。

電動車いすは1ケースを除いて電動リクライニング、昇降機能がついたものはなかった。長時間の座位保持が困難である重度のケースにおいては、大腿部や臀部の痛みを我慢しながらも何とか座位を保持しているようだ。先進諸国の同じレベルの障害をもつ人々の使う電動車いすの多くはこのような機能がついている。

室内で電動リフトを使っているのは2ケース、電動ベッドの使っているのは4ケースと室内での介助用支援機器の利用は限られていた。

パソコンは9ケースにおいて日常的に利用しているが、特殊な入力装置を使っているのは1ケースのみで、あとは普通の使い方をしていくということであった。電話についてはスピーカーフォン、携帯はiPhone付きハンズフリーフォンの利用が一般的であった。

環境制御装置を使っているのは1ケースであった。

全体として支援機器の利用は、先進諸国と比べると質・量ともに抑えられているという印象である。行政が対応できていない部分もあるが、どちらかというとな本人が支援機器の利用に積極的ではない感じも強かった。

移動環境

公共交通機関の利用はかなり増えてきているようである。交通バリアフリー法の影響で駅のバリアフリーが促進されつつあることも影響している。

リフト付きタクシーなどはサービスが存在するが、台数が限られていてかなり前もって予約を入れなければならないなど利用がしにくく、あまり利用されていなかった。リフト車付き自家用車の所有、利用は皆無であった。全体としてリフト(またはスロープ)付き自動車の利用は限られていて、公共交通機関の駅からは遠距離であっても電動車いすのまま目的地まで行くケースが一般的である。

このような状況は、移動時間を著しく長くし社会参加を難しいものになっている。リフト付き自動車などの移動手段の拡充を求める声も多く聞かれた。

街のバリアフリーについては、米国と比べるとかなり遅れているが、不満はあまり聞かれなかった。

精神的サポート

いずれのケースも心理カウンセラーなど有料の専門家のサポートは受けていない。

セーフティーネット

最も重度のケースでも現在起こる身体的な危険の回避は重要だが、いずれのケースも将来の生活について大きな不安はない。

権利擁護

弁護士など専門家からサービスを受けているケースは無い。本人のもつ権利意識はとても低い印象を受けた。

Ⅳ. ケーススタディー

参考までに最も重度のケースFについての

性別：男性

年齢：30歳代

配偶関係：未婚

居住地：埼玉県

住居形態：賃貸集合住宅

同居家族：両親

病型：デュシャンヌ(DMD)型

ADL等：寝たきり、ADLはすべて「全くできない」気管切開、人工呼吸器使用声が出ないため介助者が読唇で通訳

手当等：障害基礎年金・特別障害者手当・心身障害者福祉手当

介助：支援費支給量341時間 平日の朝9時から夜7時

自薦ヘルパー、それ以外はほぼ母親

支援機器：外出時ストレッチャーを利用

パソコン、電話などICT機器不使用

医療：国立療養所の専門医の受診は年一回

(本年は体調を崩したので月一回)

普段は近隣の内科医の受診

訪問看護婦(週2回)

ダイアログ(抜粋)

<将来、何か夢見ていることとか、実際にやりたい目標みたいなものはありますか？>

自立。今は自立。あとは考えていない。

<自立ということは具体的にどういうことなのですか。>

どういう生活の状態というか、形態というか、をイメージしていますか？>

24時間ヘルパーさんに来てもらって・・・、何て言ったらいいんでしょう、要するに基本は一人で暮らして24時間援助を受けて、ということですね。ただね、ちょっと大雑把ですけどね。

<実際に、それをやろうと思ったときに、一番高いハードルというのは何だと思いますか？>

市役所。うん。市役所、今の。ネックになっているところですね。今自分のことを実現しようと思うのにネックになっているところは市役所。

<何を市役所が受け入れてくれないから一番困りますか？>

時間です。支給量、ね。時間。時間があれば、うん、いいんだけど。うん。

筋ジストロフィーの診断基準作成の試み

大澤真木子, 池谷紀代子¹⁾, 炭田 澤子¹⁾, 宍倉 啓子¹⁾,
鈴木 陽子¹⁾, 平山 義人¹⁾²⁾

目的: 研究の進歩に伴い, 筋ジストロフィー (PMD) 新病型が次々と提唱されている。しかしながら, PMD 病棟には, 過去の精査実施例も多く, 病型分類は必ずしも容易ではない。そこで, 臨床家がどこまで診断を確実にしうるか, 臨床的に有用な診断基準作成に挑戦する。

診断の確実性レベルについて

A 臨床症状が明確な場合と B 若年のため臨床症状が不明確な場合と C. 臨床的に非典型な場合がある。その中で, 更に精度の点から, L1: 遺伝子診断+筋組織の免疫組織化学染色で明確な異常が判明。L2: 遺伝子診断で明確な異常が判明。L3: 筋組織の免疫組織化学染色で明確な異常が判明。L4: 免疫組織化学染色は不明だが, 筋組織でジストロフィー所見有。L5: 家族歴 (孤発例では, 全遺伝形式がありうる)。
X連鎖性劣性遺伝の場合 確実な家族歴: 最低限, 患者の兄弟, 母方伯・叔父, 伯・叔母の息子が同じ疾患に罹患。 可能性の高い家族歴: 患者の兄弟が同じ疾患に罹患。 考えにくい家族歴: 同じ疾患に罹患し, 同程度の重症度の女性患者がいる。

除外すべき家族歴: 父が同疾患に罹患している。

常染色体性劣性遺伝の場合 原則的に両親は同一疾患に非罹患。 確実な家族歴: 1) 近親婚があり, 患者の姉妹も罹患。 2) 近親婚はないが, 患者の姉妹も同じ重症度で罹患。 かなり確実な家族歴: 1) 近親婚があり, 患者の兄弟も罹患している。母の兄弟, 母方伯・叔父, 伯・叔母の息子には同疾患の罹患者は無。 可能性の高い家族歴: 1) 両親に近親婚があり, 患者の兄弟も罹患している。母の兄弟, 母方伯・叔父, 伯・叔母の息子には同疾患の罹患者の有無は不明。 2) 両親に近親婚はないが, 患者の兄弟も罹患。母の兄弟, 母方伯・叔父, 伯・叔母の息子には同疾患の罹患者の有無は不明。 3) 両親に近親婚はないが, 患者の姉妹も罹患。母の兄弟, 母方伯・叔父, 伯・叔母の息子に同疾患の罹患者の有無は不明。 除外すべき家族歴: 片親が, 同疾患に罹患。

常染色体性優性遺伝の場合 確実な家族歴: 患児は男であり, 父と息子が同じ疾患に罹患している。

確実な家族歴: 片親が罹患。患児は女性または, 男でも姉妹が同じ疾患に罹患している。 可能性の低い家族歴: 女性が病気の場合には子が全員罹患しているが, 男性が病気の場合には子が全員非罹患。 X連鎖性劣性遺伝を示唆する家族歴。

個別疾患の診断基準

Duchenne 型 PMD (DMD)。

判定項目 1. 5歳未満の発症 2. 進行性左右対称性の筋力低下, 近位筋優位, 初期には下肢筋のみ。しばしば腓腹筋の肥大を伴う。 3. 除外基準: 線維束性収縮, 知覚障害 4. 13歳未満に, 支持なしでの歩行が不可能となる 5. 血清クレアチニン キナーゼが正常上限の10倍以上に上昇。(年齢と運動能力により変化) 6. 筋生検: 筋繊維の大小不同, 壊死, 再生を認め, 硝子化繊維と endomysial の結合織, 脂肪織の増加を認める。 7. 筋生検免疫組織化学: 5%以下の陽性繊維を除きジストロフィンを認めない。 8. DNA: ジストロフィン遺伝子内に DMD 型の変異や家系内に認めた患者と同一のハプロタイプ (近隣のマーカーを含む) を認める。 9. X連鎖劣性遺伝に適合する家族歴を認める。

評価: **確定診断** L1, 2, 3相当, 下記全てを満足

A. 孤発例: a 5歳未満: (2), 3, 5, 6, 7, (8), b 5—12歳: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, (8) c 12歳以上: (1), 2, 3, 4, 5, 8 (または6と7)

B. 該当家系に A の診断基準に適合する罹患者がいる場合 a 5歳未満: 5と9 b 5—12歳: 1, 2, 3, 5 (最低1回) 全て存在 c 12歳以上: (1), 2, 3, 4, 5,

診断の可能性 L4相当, 下記全てを満足

a 5歳未満: (2), 3, 5, 6 b 5—12歳: 1, 2, 3, (4), 5,

Becker 型

1. 進行性左右対称性の筋力低下と萎縮, 近位筋優位, 初期には下肢筋のみ。しばしば腓腹筋の肥大をとともう。長期間, 大腿四頭筋の筋力低下のみが症状となる。ある患者は運動により生ずる有痛性筋硬直を呈する。肘の屈曲拘縮は, 経過の晩期に出現する。Becker 型筋ジストロフィーは, 筋痛と筋硬直, 耐運動能の低下とミオグロビン尿, 無症候性高クレアチニン キナーゼ血症, 心筋症,

東京女子医大小児科

¹⁾東京女子医大小児科

²⁾都立東大和療育センター

あるいは、高次機能障害を呈してくることがある。

2. 除外基準：線維束性収縮，知覚障害
3. 16歳未満に，車椅子生活にはならない。
4. 年齢と運動能力により変化するが，血清クレアチニンキナーゼが正常上限の5倍以上に上昇する。
5. 筋電図：短持続，低振幅，多相性の活動電位，線維性収縮と陽性波．運動神経伝導速度および感覚神経伝導速度は正常。
6. 筋生検：筋繊維の大小不同（瀰漫性あるいは小集団の萎縮筋および肥大筋），再生繊維（の focus）を認め，瀰漫性壊死性繊維を認る．病期により異なるが，筋線維型の群化と結合織，脂肪織の増加を認める。
7. 筋生検：異常な分子量の／異常に少ない ジストロフィン を認める。
8. DNA: ジストロフィン遺伝子内に Becker 型の変異，以前に家系内にみられた患者と同一のハプロタイプ（近隣のマーカーを含む）を，認める。
9. X連鎖劣性遺伝に適合する家族歴を認める。

評価

確定診断

- A. 該当家系に初めての罹患者である場合
 - (1), 2, 3, 4, 5 と, 8 または 6, と 7 全て満たす
- B. 該当家系に A の診断基準に適合する罹患者がいる場合
 - a 家系内の罹患者が1度の近親の場合 4（最低1回）
 - b その他の場合 (1), 2, 3, 5 と (最低1回), 8 または 6, と 7 全て満たす

診断の可能性

- (1), 2, (3), 4, 5 と 6 の全てを満たす
Emery-Dreifuss (EMD) 型筋ジストロフィー

確定診断の条件

要約

X連鎖劣性 EDMD の家系の確定診断には下記の全てが満たされる必要がある（但し，一人の患者に全てが認められなくてもよい）

1. 早期に出現するアキレス腱，肘，脊柱の拘縮
2. 上肢では humeral 筋優位，下肢では peroneal 筋優位の緩徐進行性の筋力低下と萎縮．両側性で，ほぼ対称性。
3. 心臓の伝導障害その他の心筋症の所見を呈する。
4. 筋生検では，筋原性変化あるいはあきらかな筋ジストロフィー所見を呈する。
5. 明確な X連鎖劣性遺伝に適合する家族歴を認める。

発症年齢

小児期，20歳以降の発症はまれ

早期の拘縮

明らかな筋力低下が出現する前に生ずる．肘関節の拘縮により，結果的に肘は屈曲位をとり，アキレス腱の拘縮により患者はつま先で歩くようになり，脊柱は特に頰が著明だが，前屈が制限される。

手首は伸展位拘縮，指節関節は屈曲位拘縮を呈する。

筋萎縮と筋力低下

筋萎縮と筋力低下は，上肢では humeral 筋優位，下肢では peroneal 筋優位に起こる。

両側性で，ほぼ対称性．後に，肩甲帯，腰帯，大腿の筋力低下が生ずる。

顔筋の筋力低下を示す患者もいる．胸鎖乳突筋の萎縮／筋力低下も生ずることもある。

筋肥大

通常下腿三頭筋は萎縮する。

著明な下腿三頭筋の肥大

経過

病気は進行性であるが，通常は緩徐

心筋障害

心筋伝導障害（例えば，徐脈，期外収縮，房室ブロック，右脚ブロック）と／あるいは他の心筋障害の証拠（例心肥大，左室機能不全）．このような障害は，24時間の心機能モニターをしないと分からない．30歳までには出現する。

明確な X連鎖劣性遺伝に適合する家族歴

筋ジストロフィーの免疫組織染色による診断の手引き

1) Duchenne muscular dystrophy (DMD)

認識部位の異なる複数のジストロフィン抗体により，細胞膜が染色されないが，revertant とよばれる極少数の陽性細胞が存在する。

ジストロフィン関連蛋白（ユートロフィン）抗体で，細胞膜が正常対照に比べて明らかに強く染色される。

サルコグリカン抗体で，正常対照に比べて染色性が低下し，ジストロフィン関連蛋白（ユートロフィン）抗体で，細胞膜が正常対照に比べて明らかに強く染色される。

サルコグリカン抗体で，正常対照に比べて染色性が低下している。

2) Becker muscular dystrophy (BMD)

ジストロフィン抗体により，細胞膜が正常より明らかに弱く (faint)，あるいはむらに (patchy) 染色される．認識部位の異なる複数の抗体を用いた時，遺伝子欠失に一致して，著しい染色性の低下を認める。

ジストロフィン関連蛋白（ユートロフィン）抗体で，細胞膜は正常対照より強く染色される。

サルコグリカン抗体で，正常対照に比べて染色性が低下している。

3) Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMD)

メロシン抗体により，細胞膜が弱く染色されているもの，むらに染色されているものが混在して認められる。

α -ジストログリカンの糖鎖部位認識抗体で，細胞膜の染色性が著明に低下している。

4) Merosin deficiency メロシン欠損症

メロシン抗体による細胞膜の染色性が著明に低下している。

5) non-Fukuyama muscular dystrophy (non-FCMD)

明らかな染色性の異常を示す抗体は現在のところ存在せず、免疫染色による診断は不可能である。

6) Limb-girdle muscular dystrophy (LG) 肢帯型筋ジストロフィー

LGには多くの疾患は含まれるが、そのうち免疫組織染色が診断に役立つのは、現在のところサルコグリカノパチーとジスフェルノパチーである。

1. Sarcoglycanopathy サルコグリカノパチー

すべてのサルコグリカン抗体で、著明な細胞膜の染色性の低下を認める。原因となるサルコグリカンでの発現低下が最も著しい。ジストロフィン抗体は細胞膜を強く連続的に染色する。

2. dysferlinopathy ジスフェルノパチー

ジスフェルリン抗体により細胞膜が染色されない。

7) Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EMD) Emery-

Dreifuss型筋ジストロフィー

1. XEMD X染色体性Emery-Dreifuss型筋ジストロフィー

エメリン抗体で細胞の核膜が染色されない。

2. ADEM D 常染色体優性Emery-Dreifuss型筋ジストロフィー (laminopathy ラミノパチー)

ラミンA/C抗体による核膜の染色性は、正常対照と同様であり、免疫染色による診断は現在のところ不可能である。

結 論

本邦にはPMDの基礎dataの貴重な蓄積があるが、実際にはL4の診断レベルの例が多いと推測される。少しでもdataの信頼度をあげてするために更に家族歴を追加分析できるものを検討する。

半定量PCR法によるジストロフィン遺伝子変異解析能の向上

加藤るみ子, 津久井伸枝, 川村 潤, 川井 充

要旨: ジストロフィン遺伝子変異解析法として用いられてきた定量的サザンプロット法, multiplex PCR法, およびmRNA塩基配列決定法に加えて, 半定量PCR法を導入することにより当院での解析能は大きく向上した。複数のエクソンにつき欠失のみならず重複の判定が可能で, 従来変異の同定が困難であった87症例中23例において新たに変異が同定された。簡便かつ迅速に実施できること, また保因者診断にも応用できることから, 当院での解析の有力な手段となった。またサザンプロット法との結果が一致しない2症例の解析を行うことにより, PCRプライマー設計部位に関わる半定量PCR法の弱点を検討した。正確な遺伝子変異の同定に際しては, 複数の解析手段を組み合わせる必要がある。

はじめに

当院では1992年からジストロフィン遺伝子変異解析を開始した¹⁾²⁾。当初はラジオアイソトープを用いた定量的サザンプロット法³⁾によるエクソン単位での欠失・重複, および保因者診断を行っていた。その後Chamberlain-Beggsのプライマーセットによるmultiplex PCR法を導入し, 簡便・迅速な欠失症例の検出が可能になった。遺伝子異常が検出されない場合はmRNAの塩基配列解析により点変異などの微小変異やスプライシング異常を同定している。1998年からは半定量PCR法⁴⁾を取り入れ, 欠失症例の保因者診断を行ってきた。本研究ではこの半定量PCR法を重複症例にも応用しスクリーニングとして確立し, これまで遺伝子変異が未同定であった症例に施行し, その有用性を確認した。一方, 半定量PCR法での結果が従来のサザンプロット法での結果と一致しなかった2症例を通してその問題点を検討した。

対象・方法

従来行ってきたサザンプロット法やmultiplex PCR法, また一部の症例においてはmRNA解析によっても変異が同定できなかった87家系を対象とした。複数のエクソンに対応するプライマーを組み合わせることで作成した反応液に蛍光標識R6G dUTPを加えPCR増幅した。反応がプラトーに達する前の指数関数的に増幅しているサイクル数で停止させ, PCR産物をオートシーケンサーによりフラグメント解析した。PCR産物量は蛍光強度に反映されるため定量的な測定が可能になり, エクソンの欠失や重複が同定される。欠失患者では蛍光は検出されず, 重複の場合は正常対照の約2倍の強度を示す。欠失・重複の保因者においては, それぞれ正常の0.5倍, 1.5倍となる。プライマーはChamberlain-Beggsによる19個のエクソンのほか, これらでカバーしていない領域のエクソンを追加し, プライマーミックス1 (Pm, 2, 3, 6,

8, 11, 12, 13, 19, 34, 46, 50の12エクソン), プライマーミックス2 (4, 5, 17, 22, 43, 44, 45, 48, 49, 51, 52, 55, 60, 62, 70の15エクソン), プライマーミックス3 (Pm, 16, 32, 33, 36, 41, 42, 47, 53, 54, 56, 58, 61の13エクソン)の3種を作成し計39個のエクソンを解析した。

なお, 化学発光を利用しプローブにゲノムDNAのPCR産物を用いた非RI-サザンプロット法の技術も取り入れ, 一部の症例の解析に応用した。

結 果

1. 半定量PCR法によるジストロフィン遺伝子変異解析の再検討

87家系のうち, 16家系の重複変異と7家系の欠失変異が同定された(表1)。今回診断できた重複症例は当院においてこの時点で診断の確定している重複症例(49家系)の32.7%にあたり, その中でもエクソン2単独重複は8家系と最多を占めていた。欠失症例はいずれもChamberlain-Beggsのプライマーセットに含まれていないエクソン部分の変異であり, エクソン53以降の欠失症例が5家系確認された。非

表1 半定量PCR法により新たに変異が同定された重複・欠失症例

重複変異	家系数	欠失変異	家系数
エクソン 2	8	エクソン 10-11	1
エクソン 3-12	1	エクソン 22-41	1
エクソン 3-16	1	エクソン 53-55	3
エクソン 3-22	1	エクソン 55	1
エクソン 5-7	1	エクソン 56	1
エクソン 8-44	1		
エクソン 12	1		
エクソン 45-52	2		
重複の合計	16	欠失の合計	7

図1-A

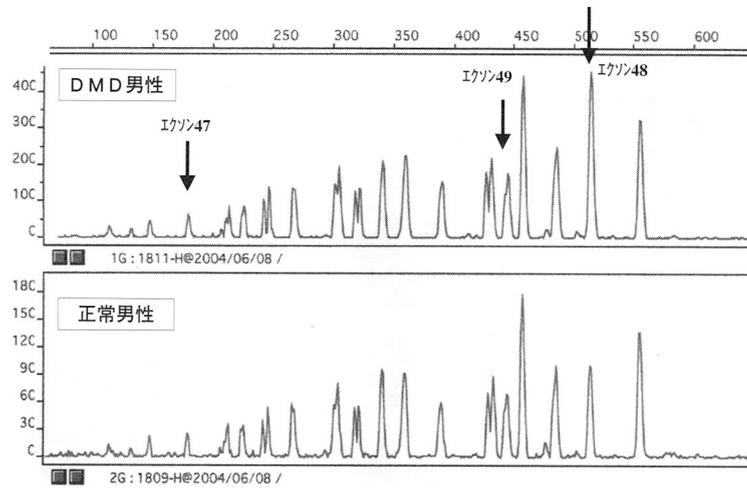


図1-B

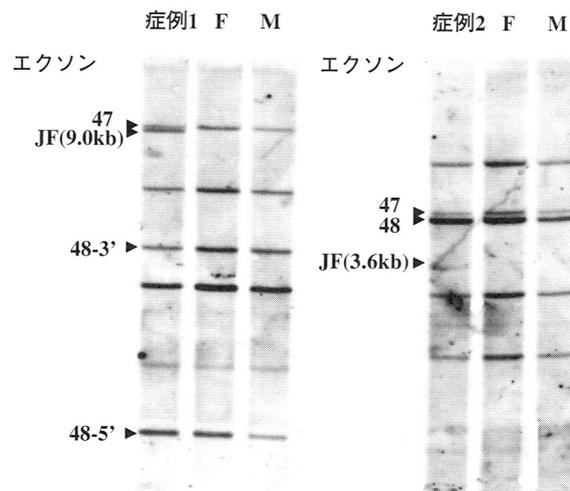


図1-C

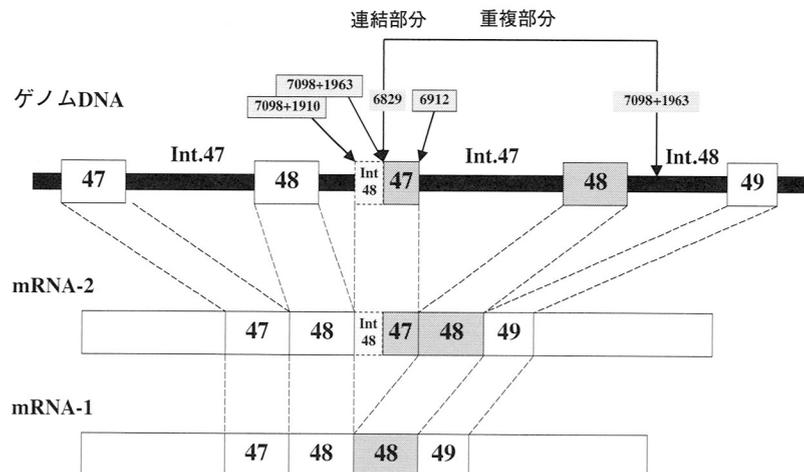


図1 症例1の解析結果

A：半定量PCR法. エクソン48の重複を示す

B：非RI-サザンプロット法. 左はHindIII、右はPstIで酵素切断. Fは正常女性、Mは正常男性.

C：ゲノムDNAおよびmRNAの構造

RI-サザンプロット法においても重複の同定がなされ、その結果は半定量PCR法の結果と一致した。

2. 半定量PCR法・サザンプロット法不一致症例の解析

症例1：DMD男性。半定量PCR法ではエクソン48の重複変異と判定した（図1A）。Hind IIIで酵素切断しゲノムDNAを用いてサザンプロット法を行うと、エクソン48の5'側部分のバンドは2コピー分認められるのに対し、3'側部分

図 2-A

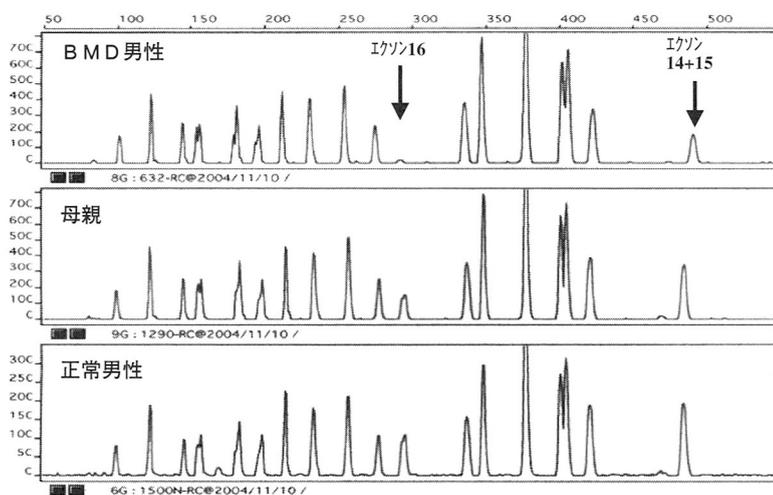


図 2-B

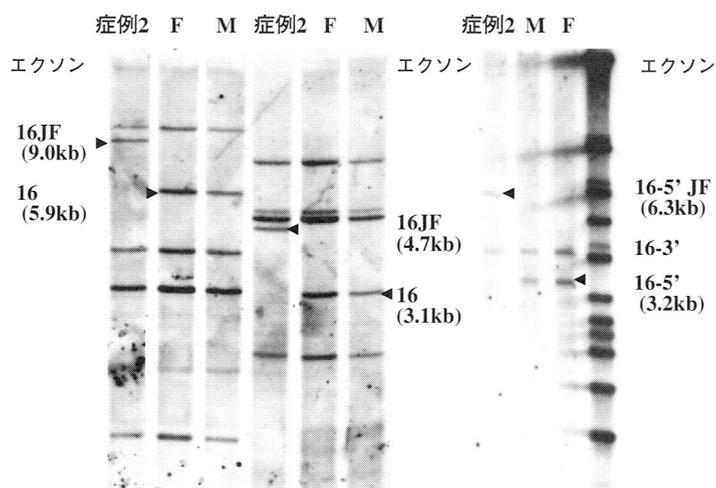


図 2-C

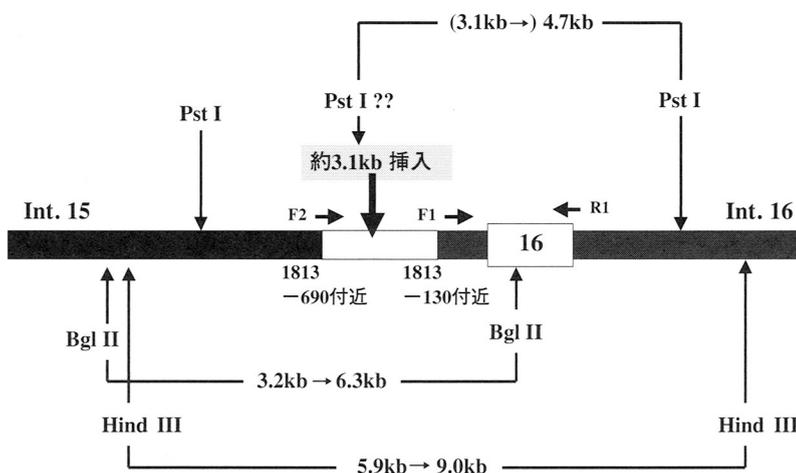


図 2 症例 2 の解析結果

A : 半定量 PCR 法, エクソン 16 の欠失を示す

B : 非 RI-サザンプロット法, 左は HindIII、中央は PstI、右は Bgl II で酵素切断.

C : ゲノム DNA 構造と制限酵素切断部位

のバンドは 1 コピー分しかなく、9.6kb 付近にはジャンクションフラグメント (JF) が出現していた。PstI で酵素切断を行ったサザンプロット法ではエクソン 48 は 2 コピー分あり、さらに 3.6kb 付近に JF が認められた (図 1B)。RNA 解

析では 2 種類の mRNA が確認された。一方はエクソン 48 が重複している mRNA-1、もう一方はエクソン 48 とエクソン 49 の間にイントロン 48 の一部 (7098+1910_7098+1963) とエクソン 47 の 3' 側部分 (6829_6912) およびエクソン 48

(6913_7098) が連なったセグメントが挿入された mRNA-2 であり、両者はほぼ同程度に増幅していたが、正常な長さをもつ mRNA はほとんど認められなかった。ゲノム DNA の塩基配列解析により、イントロン 48 の途中にエクソン 47 の 3' 側部分以降が連結した構造の、6829_7098+1963 重複変異と判定した (図 1C)。

症例 2: BMD 男性。半定量 PCR 法ではエクソン 16 のピークがなく、また母親にも正常対照の 1/2 のピーク高しか認められず、エクソン 16 の欠失変異と判定した (図 2A)。患者 DNA について Hind III および PstI でそれぞれ酵素切断してサザンプロット法を行うと、ともにエクソン 16 のバンドは消失していたが、前者では 9.0kb 付近に、後者では 4.7kb 付近に JF が出現していた。Bgl II で切断したサザンプロット法では、エクソン 16 の 3' 側部分のバンドは正常の位置に認められたが、5' 側部分のバンドは 6.3kb 付近に移動していた (図 2B)。なお半定量 PCR 法プライマー F1, R1 を用いサイクル数を増やして反応を行ったところ、正常の長さをもつフラグメントの増幅が認められたが、F2, R1 プライマーによっては増幅できなかった (図 2C)。

考 察

半定量 PCR 法は重複変異とくにエクソン 2 単独重複の診断に対して有力であった。従来のサザンプロット法は DNA を HindIII で酵素切断し cDNA をプローブとしてエクソン単位の変異同定を行っていたが、エクソン 2 はエクソン 1 の近傍に泳動されサイズも小さいため検出が困難であった。本研究で実施した非 RI-サザンプロット法ではこの点が改良されエクソン 2 の検出も可能になったが、手技としては従来法同様に煩雑で時間を要するものである。塩基配列決定法においては、重複変異の場合概してサイズが大きくなるため、cDNA の当該領域が増幅されにくくなる。さまざまなスプライシングがおこり複数の mRNA が生じることも変異同定を困難にする一因になっている。半定量 PCR 法ではプライマーを適切に組み合わせることにより、個々のエクソンにおける変異の同定が可能であり、multiplex PCR 法でカバーできなかった領域の欠失変異も検出できるようになった。簡便・迅速に実施できるためスクリーニングの第一手段として確立された。定量的サザンプロット法同様保因者診断にも応用できることにより、当院の遺伝子診断能は向上した。現在解析可能なエクソンは 54 個に増えており、残るエクソンについても解析準備を進めている。

一方、2 症例の解析結果より半定量 PCR 法の問題点が示された。症例 1 は重複変異によりイントロン 48 のスプライス部位の認識にずれが生じ、7098+(1908_1909) の AG を 3' スプライス部位とするスプライシングがおこり、7098+1910 以降が mRNA-2 上に出現する複雑な構造になったと推測される。症例 2 は Hind III および Bgl II で処理したサザンプロッ

ト法の結果からはイントロン 15 の 3' 側に約 3kb の挿入が疑われたが、PstI によるサザンプロット法の結果とは一致しなかった。RNA が得られず mRNA 解析はできていないが、患者および母親で PCR がかかりにくいことから、なんらかのゲノム上の構造異常が推測される。

PCR 法の弱点であるが、半定量 PCR 法で使用しているプライマーは通常エクソン内やエクソンとの境界に近いイントロン部分に設計しているため、この 2 症例にみられるように変異の生じた部位がプライマー部分に重なると PCR 増幅ができずサザンプロット法の結果と一致しない場合がある。とくに単一エクソンの変異においては判定を誤るおそれがある。患者の遺伝子診断に際しては複数の解析手段を組み合わせ慎重に行う必要がある。

当院では現在までに DMD419 家系、BMD61 家系の計 480 家系を解析している。エクソン単位の欠失は 265 家系 (55.2%)、重複 54 家系 (11.3%) であり、微小変異 (エクソン内塩基置換、挿入・欠失、イントロン塩基置換) は 83 家系 (17.3%) 確認している。RNA もしくは DNA が入手できておらず解析ができない症例などを除き、現在 7 家系について RNA 解析中である。

DMD/BMD の遺伝子診断においては、遺伝子治療の実施や着床前診断の承認などにより、正確な変異の同定が要求されるようになってきた。もはや研究の域を超えており、診療の一部として認められるべきものとする。現在国内にはスクリーニング以上の解析が可能な施設は数えるほどしかなく、そこに全国の症例が集められている。経済的問題にも増してマンパワーの不足は深刻である。センター施設への診断機能などの抜本的解決を早急に検討する必要があると考える。

文 献

- 1) Roberts RG, Barby TFM, Manners E, et al: Direct detection of dystrophin gene rearrangements by analysis of dystrophin mRNA in peripheral blood lymphocytes. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 298-310
- 2) Roberts RG, Coffey AJ, Bobrow M, et al: Exon structure of the human dystrophin gene. *Genomics* 1993; 16: 536-538
- 3) Hiraishi Y, Kato S, Ishihara T, et al: Quantitative southern blot analysis in the dystrophin gene of Japanese patients with Duchenne or Becker muscular dystrophy: a high frequency of duplications. *J Med Genet* 1992; 29: 897-901
- 4) Yau SC, Bobrow M, Mathew CG, et al: Accurate diagnosis of carriers of deletions and duplications in Duchenne/Becker muscular dystrophy by fluorescent dosage analysis. *J Med Genet* 1996; 33: 550-558

オリゴマイクロアレイを用いたジストロフィン遺伝子欠失迅速診断法

竹島 泰弘¹⁾, 八木麻理子²⁾, 橋本 博支³⁾,
安田 剛³⁾, 渡辺 一史³⁾, 松尾 雅文¹⁾

要旨：近年、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（Duchenne muscular dystrophy: DMD）に対して個々の症例の遺伝子異常に対応したオーダーメイド分子治療が注目されている。このような治療法を臨床に応用する上において、迅速かつ高精度のジストロフィン遺伝子診断法の開発が不可欠である。今回、DNAマイクロアレイを用いた迅速かつ高精度のジストロフィン遺伝子欠失診断法を開発した。

マイクロアレイとして、各エクソンの配列に相当する短鎖合成DNAをガラス板に固定したオリゴマイクロアレイを作成し、反応条件の検討を行った。また症例のジストロフィン遺伝子の全エクソンを増幅する方法として、3反応に分けたマルチプレックスPCR法を用いた。これらの検討によって、2日間という短期間で正確にジストロフィン遺伝子欠失を診断するシステムを開発することに成功した。

今回の研究成果は次世代型遺伝子診断法を確立したものであり、このシステムによってデュシェンヌ型筋ジストロフィーのオーダーメイド分子治療は大きく推進される。

（キーワード；マイクロアレイ, ジストロフィン, 遺伝子診断, オーダーメイド分子治療, 筋ジストロフィー）

緒 言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（Duchenne muscular dystrophy: DMD）は進行性遺伝性の筋疾患であり、10歳前後で独歩不能となり10歳台後半から20歳前後で呼吸不全・心不全に陥る重篤な疾患である。しかし現時点では対症療法のみで、有効な根治療法はない。近年、DMDに対して個々の症例の遺伝子異常に対応したオーダーメイド分子治療が注目されている。このような治療法を臨床に応用する上において、ジストロフィン遺伝子診断が不可欠である。

従来、ジストロフィン遺伝子異常の同定はサザンブロット法、マルチプレックスPCR法によって行われ、さらに微小変異の解析はゲノムDNAあるいはcDNAの全塩基配列解析によって行われてきた¹⁾。しかしこの遺伝子は3000kbに及ぶ巨大な遺伝子であり²⁾、さらに欠失・点変異など多彩な変

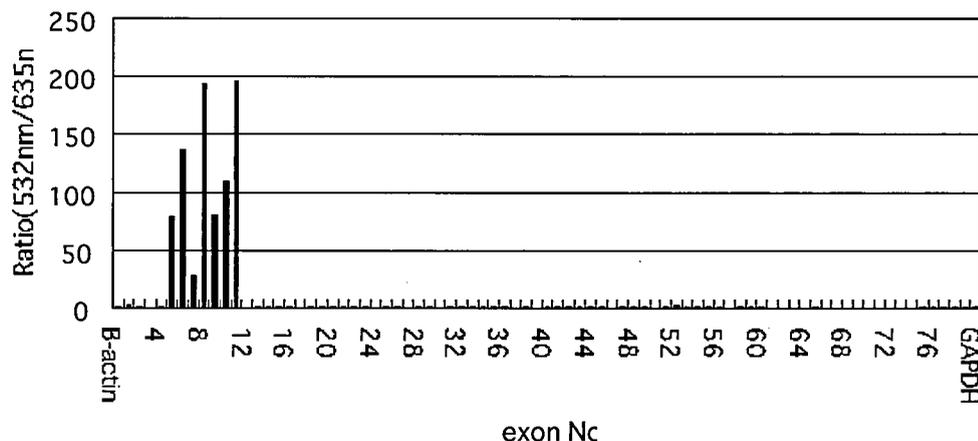
異がみられるため、従来の診断法は長日時を要する、あるいは診断ができないことがあるなど十分なものではなかった。そのため迅速で高精度の診断法の確立が、緊急の課題となっている。

私たちはDNAマイクロアレイを用いた解析法が遺伝子変異を大量並列的に処理する手法であることに注目した。今回、オリゴマイクロアレイを用いてジストロフィン遺伝子欠失変異を迅速かつ正確に診断する方法を開発した。

方 法

1. オリゴマイクロアレイの作成

ジストロフィン遺伝子各エクソン内の配列に相当する60塩基のオリゴDNAを作成し、GENEMACHINE社製スポットターを用いてポリカルボジイミド化スライドガラスへのスポットを行い、オリゴマイクロアレイを作成した。



神戸大学大学院医学系研究科小児科学¹⁾
神戸大学大学院医学系研究科薬効評価学²⁾
北海道システム・サイエンス株式会社³⁾

2. 症例の遺伝子の調整

症例および正常対照の血液よりゲノムDNAを抽出し、3反応に分けたマルチプレックスPCR法によってジストロフィン遺伝子の全エクソンの増幅を行った。増幅した正常ジストロフィン遺伝子各エクソンをCy3によって、DMD症例ジストロフィン遺伝子各エクソンをCy5によって標識した。

3. マイクロアレイへのハイブリダイゼーションおよび解析

増幅された正常 (Cy3によって標識) およびDMD症例 (Cy5によって標識) のPCR産物をオリゴマイクロアレイに競合ハイブリダイゼーションした。その後、Cy3およびCy5それぞれの蛍光強度を解析し、Cy3 (正常ゲノム) とCy5 (DMD症例ゲノム) の蛍光強度の比を計測し、欠失エクソンの判定を行った。

結 果

1. 正常ゲノムDNAを用いた解析

まず、正常ゲノムDNAよりジストロフィン遺伝子全エクソンをマルチプレックスPCR法によって2サンプル分増幅し、一方をCy3によって標識し、他方をCy5によって標識してオリゴマイクロアレイに競合ハイブリダイゼーションさせた。各々の蛍光強度の比 (Cy3/Cy5) を解析したところ、その値は0.8から1.7の間に収まっており、それ以上の差をもって欠失を判定することが可能であることが明らかになった。

2. DMD症例のゲノムDNAを用いた解析

次に、DMD症例より抽出したゲノムを用いて検討を行った。エクソン5~11の欠失DMD症例より抽出したゲノムをマルチプレックスPCR法によって増幅し、Cy5によって標識、正常対照をCy3によって標識し、オリゴマイクロアレイに競合ハイブリダイゼーションした。蛍光シグナルを解析し、両者の比 (Cy3/Cy5) をグラフ化したものを図に示す。欠失エクソンは、Cy3/Cy5比がいずれも25以上であり、欠失を明確に同定することが可能であった。

同様にエクソン45~48の欠失を認める症例において検討したところ、欠失エクソンは、Cy3/Cy5比が60以上であり、欠失を明確に同定することが可能であった。さらに、エクソン20の欠失を認める症例ではCy3/Cy5比が1000以上、エクソン3~7の欠失を認める症例ではCy3/Cy5比が50以上、エクソン48の欠失を認める症例ではCy3/Cy5比が200以上、エクソン45~50の欠失を認める症例ではCy3/Cy5比が100以上であり、欠失を明確に同定することが可能であった。

さらに、同様の解析を他のエクソンの欠失症例のDNAを用いて行った。いずれにおいても欠失エクソンを正確に同定することが可能であった。

考 察

今回、オリゴマイクロアレイを用いたジストロフィン遺伝子欠失診断システムの開発を行った。オリゴマイクロアレイ

では、60塩基のオリゴDNAの塩基配列によってハイブリダイゼーションの強さが大きく異なる。そのため、正常DNAとDMD症例DNAをマイクロアレイに競合ハイブリダイゼーションさせる手法を用いることとした。その結果、安定したデータを得ることが可能となった。オリゴマイクロアレイは均一な商品が容易に大量生産できるため、商品化を検討する上においてcDNAマイクロアレイに比べ優れている。今回オリゴマイクロアレイによるシステムの開発を成し得たことは、商品化に向け大きく前進したことを意味するものと考えられる。

私たちは、DMDの治療として、ジストロフィン遺伝子において欠失しているエクソンに隣接するエクソンをスキップさせ機能的なジストロフィン蛋白の発現を誘導する治療法を見出し、臨床応用を開始している^{3,9)}。また、ナンセンス変異を有する症例に対し、ゲンタマイシンによる治療もすでに臨床応用の段階に入っている⁶⁾。このように個々の症例でみられる遺伝子異常に応じたオーダーメイドの分子治療の臨床への応用が開始されている。今回確立した診断システムはこのような分子治療の発展を大きく推進するものである。また、今回開発したシステムはジストロフィン遺伝子異常のみではなく、他の遺伝子異常にも応用することが可能である。臨床の場において、遺伝子診断は非常に身近なものになってきているが、迅速かつ高い診断率のマイクロアレイを用いた診断システムが、普遍的な遺伝子診断法として広く普及する可能性がある。

今回、マイクロアレイを用いたジストロフィン遺伝子欠失解析システムの開発に成功した。ジストロフィン遺伝子異常では欠失変異がおよそ6割であり、3割の症例では点変異がみられる。今回の成果をもとに、オリゴマイクロアレイを用いた点変異解析システムの開発を行っていく必要がある。

参考文献

- 1) 足立佳代, 八木麻理子, 伊東利幸, 竹島泰弘, 西尾久英, 和田博子, 中村肇, 松尾雅文. ジストロフィン異常症76家系の遺伝子解析. 脳と発達2002; 34(5):391-397.
- 2) Nishio H, Takeshima Y, Narita N, Yanagawa H, Suzuki Y, Ishikawa Y, Ishikawa Y, Minami R, Nakamura H, Matsuo M. Identification of a novel first exon in the human dystrophin gene and of a new promoter located more than 500 kb upstream of the nearest known promoter. J Clin Invest. 1994 Sep;94(3):1037-42.
- 3) Takeshima Y, Wada H, Yagi M, Ishikawa Y, Ishikawa Y, Minami R, Nakamura H, Matsuo M. Oligonucleotides against a splicing enhancer sequence led to dystrophin production in muscle cells from a Duchenne muscular dystrophy patient. Brain Dev. 2001 Dec;23(8):788-90.
- 4) Yagi M, Takeshima Y, Surono A, Takagi M, Koizumi M, Matsuo M. Chimeric RNA and 2'-O, 4'-C-ethylene-bridged nucleic acids have stronger activity than phosphorothioate oligodeoxynucleotides in induction of exon 19 skipping in dystrophin mRNA. Oligonucleo-

- tides. 2004 Spring;14(1):33-40.
- 5) Surono A, Van Khanh T, Takeshima Y, Wada H, Yagi M, Takagi M, Koizumi M, Matsuo M. Chimeric RNA/ethylene-bridged nucleic acids promote dystrophin expression in myocytes of duchenne muscular dystrophy by inducing skipping of the nonsense mutation-encoding exon. Hum Gene Ther. 2004 Aug; 15(8):749-57.
- 6) 松尾雅文, 竹島泰弘, 八木麻理子, 石橋和人, 和田博子. Duchenne型筋ジストロフィーのgentamicin治療. 脳と発達 2004; 36(2):125-129.
-

Multiplex Amplifiable Probe Hybridization 法を用いた ジストロフィン遺伝子エクソンの迅速な欠失・重複診断

石川 幸辰, 石川 悠加

要旨: Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)の原因であるジストロフィン遺伝子のエクソン重複や multiplex PCR法で見逃された稀なエクソン欠失を短時間に効率良く検出する Multiplex Amplifiable Probe Hybridization (MAPH)法を確立した。Multiplex PCRで欠失を認めない4症例で本法を施行したところ、エクソン12, 50-52の重複が同定された。少なくとも、multiplex PCRおよびMAPH法により、DMD全体の65-67%の遺伝子診断が可能である。

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)の原因であるジストロフィン遺伝子異常には、欠失、重複、点変異、欠失/挿入の微小変異、フレームシフトなど知られているが、日常的には、multiplex PCR, サザンブロットが行われている。Multiplex PCR¹⁾は、~60%前後の症例のエクソン欠失を証明することが可能であり、さらに、サザンブロット解析²⁾により、10%の希な欠失や重複が検出可能である。残り~35%は、塩基置換によるナンセンス変異、フレームシフトを引き起こす微小欠失・挿入、スプライス部位の変異と考えられている⁴⁾。これらの解析を困難にしているのは、ジストロフィン遺伝子がヒト遺伝病原因遺伝子では最大のそのサイズにある。ジストロフィン³⁾は、X染色体の0.1%を占め、24Mbにわたり79個のエクソンがゲノムDNA上に散在している。現時点では、時間的、費用の面から、重複の解析がなされていないことが多く、また、数%ではあるが稀な欠失が見逃されている。今回、私共は、2002年に den Dunnenらにより開発された Multiplex Amplifiable Probe Hybridization (MAPH)法⁶⁾を確立したので報告する。

対象と方法

MAPH法は、両端に共通配列を持つ特殊なプローブセットにより定量的サザンブロットを行い、回収されたプローブをPCR増幅し蛍光DNAシークエンサーで欠失、重複を解析する方法である (Fig.1)。Amplifiable probe (DNA probe set は、96 well plate に分注されており、各々、10ngの template をPCR再増幅したものは、平成14年10月に、DR. JT den Dunnen (Leiden University Human and Clinical Genetics, The Netherlands) とDNA probeの material transferの同意契約を終え、同年12月末に入手した。DNA probe set は、96 well plate に分注されており、各々、10ngの template をPCR再増幅したものである。A1-12~G1-7に exon 1-79, G8-12, H1-6にBRCA1,2, Y-chromosome, NF2

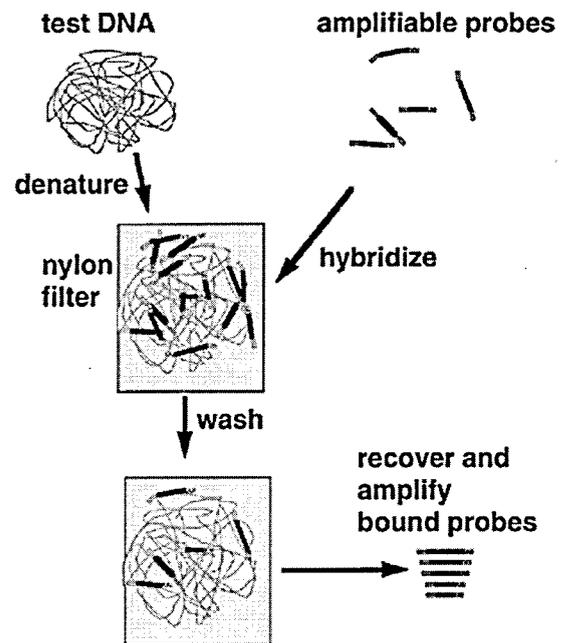


Fig. 1 General principle of MAPH. (cited from Amour JAL, Sismani C, Patsalis PC, et al: Measurement of locus copy number by hybridization with amplifiable probes. Nucleic Acids res 28: 605-609, 2000)

geneの内部標準用 probe が分注されていた。DNA濃度は、2~144ng/ μ lで、分取用3%アガロースSで電気泳動し純度をチェックしたところ、exon 2,5,7,24,26,34,44,58,65,69,73,75,76が純度不良のため (Fig. 2A)、10ngの template を再PCR増幅し、MicroSpin Column S-400で精製した (Fig. 2B)。

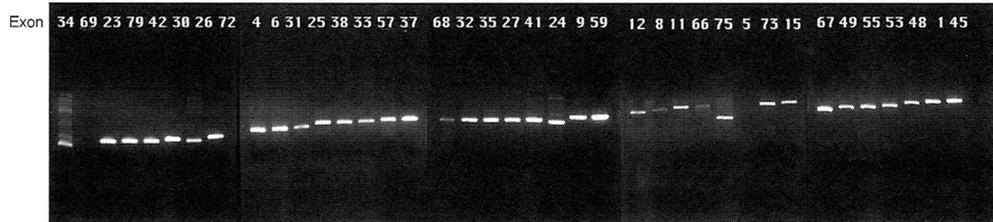
方法は、1) micro-Southern Blot: 正常人白血球由来の高濃度DNA (>0.5 μ g/ μ l, 1 μ g/spot) をアルカリ処理しナイロンフィルターにUV-クロスリンク (50 mJ, each side) した。ヒトCot-1 DNA, herring sperm DNA含有溶液で pre-hybridization 後、probe濃度 500pg/ μ l (each exon) で hybridization を行った。60℃で 1xSSC/1% SDS, 0.1xSSC/0.1% SDSで強力に wash した。2) first & second

2 (A)

Probe Set A



Probe Set B



2 (B)

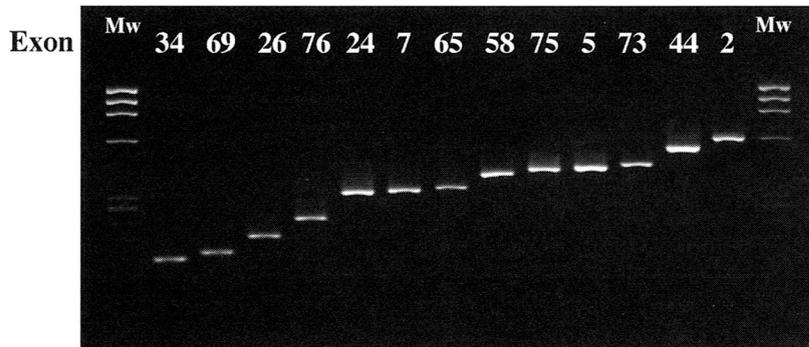


Fig. 2 Amplifiable probe sets of MAPH (A, B).

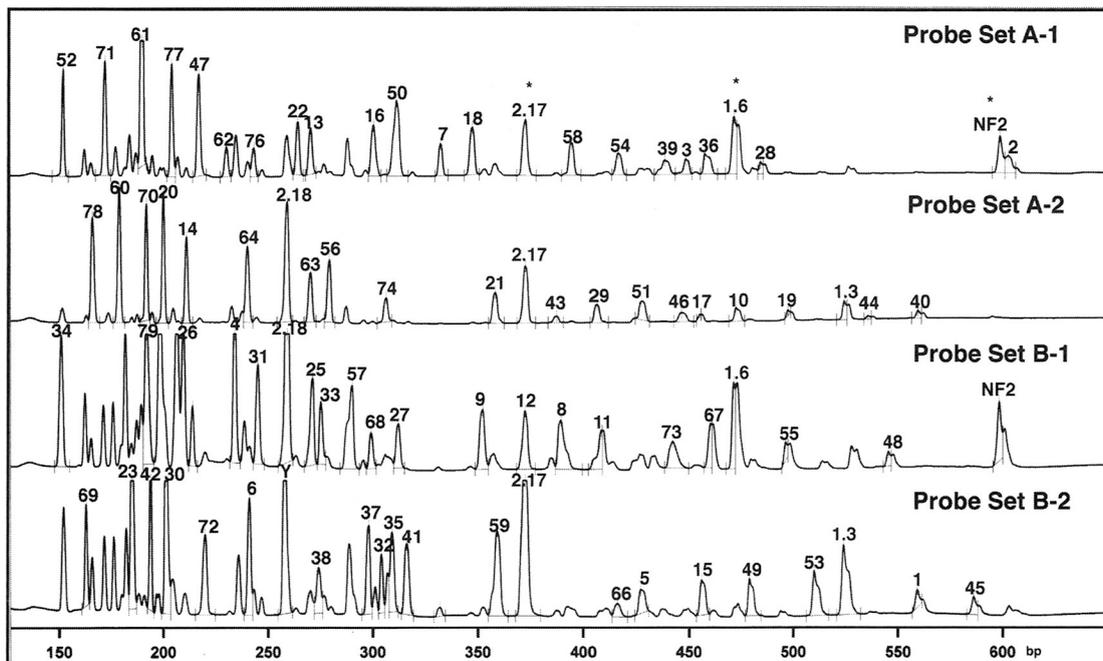


Fig. 3 Trace patterns obtained from analysis of male control individual by use of probe set A-1, A-2, B-1 and B-2.

Male's duplicated exon 12

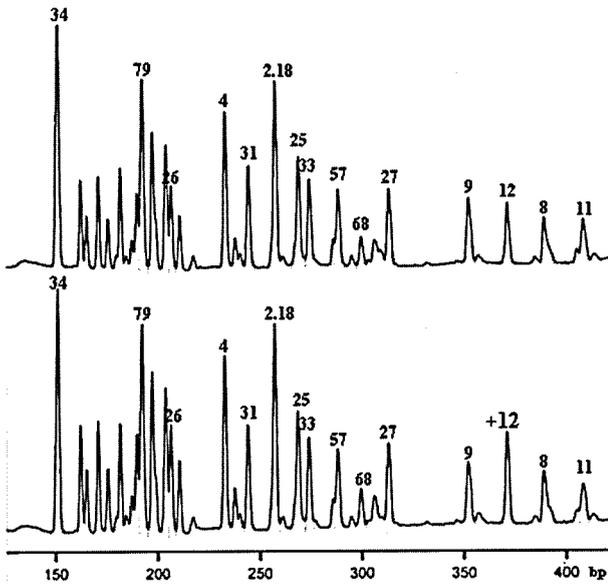


Fig. 4 Male patient's duplicated exon 12 (lower lane) and male control individual (upper lane).

Male's duplicated exon 50-52

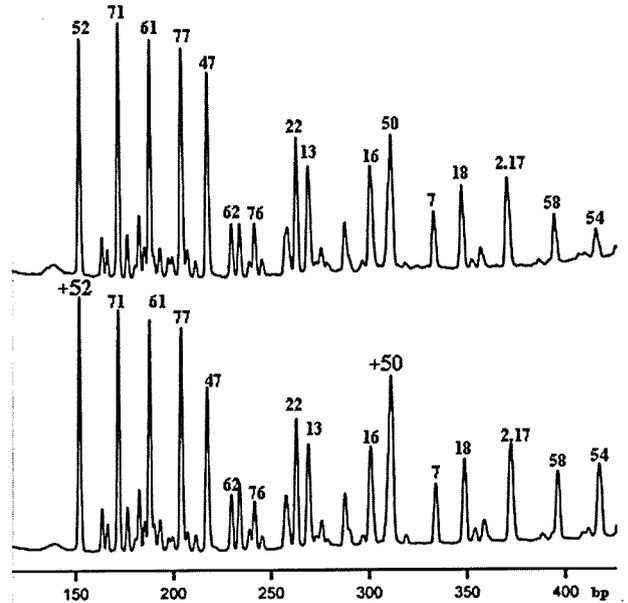


Fig. 5 Male patient's duplicated exon 50-52 (lower lane) and male control individual (upper lane).

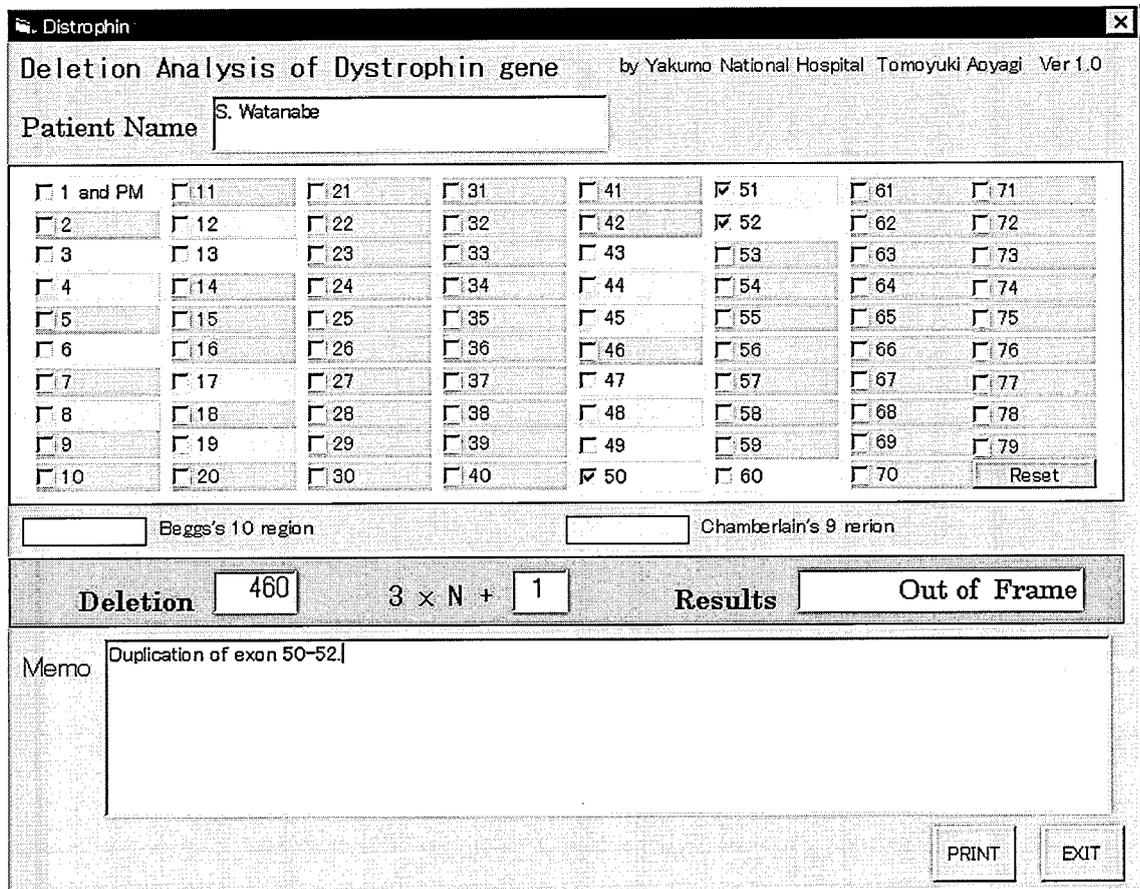


Fig. 6 This PC-base software (Deletion Analysis of Dystrophin gene, ver 1.0) can check DMD exonic deletions/duplications reading-frame (updated 2004/9/11, compatible to Windows 98, 98 second edition. Windows XP version is also available. Please contact to author). Please note that literature reports several exceptions where changes at DNA level do not match exactly with changes on RNA level.

PCR: PCR増幅は, AmpliTaq Gold (PE Applied Biosystems) のkitを用いた. 1st PCRは, washしたナイロンメンブレン (2x3 mm) をサンプルとして用い, 5サイクル行い (94℃ 5min, 94℃ 45sec/57℃ 1min/68℃ 1min, 68℃ 10min, final 50 μ l), 2nd PCRとして, 1st PCR産物 5 μ lを分取し, 25サイクル増幅した. 3) ALF II DNA シークエンサー: RiproGel Long Read (アマシャムファルマシア) にて電気泳動した (850V, 38mA, 30W, 600min, 55℃). 解析にはファルマシア Fragment Manager ver1.1を用いた.

結 果

原法ではProbe Set A (40 exons), B (39 exons) を96-capillary シークエンサーを用いて分離しているが, ALF II DNA シークエンサーでの分離能を考慮し, 同定を容易にするため新たに A-1 (20 exons), A-2 (20 exons), B-1 (20 exons), B-2 (19 exons) のprobe setを調製した. 結果は, 79の exonをすべて認識同定できた (Fig. 3). Multiplex PCR, サザンブロットでエクソン欠失を認めないDMD患児4例に本法を施行したところ, 新しい重複 (exon 12, 50-52) が同定された (Fig. 4, 5).

考 察

Whiteら⁶⁾によると, 重複はジストロフィン遺伝子変異のおよそ6%を占めると報告している. 本法により, 重複およびmultiplex PCRで見逃されている希な欠失の診断が可能となる. 最近, Yanら⁸⁾は, multiplex PCR/MAPH/DOVAM-S (detection of virtually all mutation-SSCP) の3段階からなる解析システムを行うと, 遺伝子変異の検出率は96%にもなると報告している. 内訳は, 欠失: 59%, 点変異: 29%, 重複: 5%, 見逃された欠失: 3%, 変異なし: 4%であった. 従って, 少なくとも, multiplex PCRおよびMAPH法により, DMD全体の65-67%の遺伝子診断が可能である. また, 私共の新たに作成した79領域の欠失エクソン欠失の結果を入力して, 欠失断端の確定, フレームシフトの有無を判定する自作PC版解析ソフト (Windows 98SE対応版) を併用するとより迅速な確定診断が可能である (Fig. 6). 将来のDMD遺伝子治療の臨床応用のためには, 分子レベルの正確な記載が不可欠である. 今後の遺伝子診断のシステムとして, 私共は, multiplex PCR/MAPH/RT-nested PCR+protein-truncation-test (PTT)^{7,8)}によりDMD遺伝子診断を進めていきたいと考えている.

文 献

- 1) Chamberlain JS, Gibbs RA. Et al: Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res* 16:11141-11156, 1988
- 2) Beggs AH, Kunkel LM.:Improved diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy. *J Clin Invest* 85:613-619, 1990
- 3) Den Dunnen JT, Grootsholten PM. Bakker E. et al: Topography of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) gene: FIGE and cDNA analysis of 194 cases reveals 115 deletions and 13 duplications. *Am J Hum Genet* 45 : 835-847, 1989
- 4) Roberts RG, Gardner RJ, Bobrow M.: Searching for the 1 in 2,400,000: a review of dystrophin gene point mutations. *Hum Mutat* 4:1-11, 1990
- 5) Yan J, Feng J, Buzin CH. Et al: Three-tiered noninvasive diagnosis in 96% of patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD). *Hum Mutat* 23:203-204, 2004
- 6) White S, Kalf M, Liu Q. et al: Comprehensive detection of genomic duplications and deletions in the DMD gene, by use of multiplex amplifiable probe hybridization. *Am J Hum Genet* 71:365-374, 2002
- 7) Roest PA, Roberts RG, Sugino S. et al: Protein truncation test (PTT) for rapid detection of translation-terminating mutations. *Hum Mol Genet* 2:1719-1721, 1993
- 8) Roest PA, Roberts RG, van der Tuijn AC. et al: Protein truncation test (PTT) to rapidly screen the DMD gene for translation terminating mutations. *Neuromuscul Disord* 3:391-394, 1993

Pioglitazone 長期投与による筋強直性ジストロフィーの糖尿病の治療

山本 敏之, 大矢 寧, 磯部 建夫, 白藤 俊彦, 尾方 克久, 小川雅文, 川井 充

要旨: 筋強直性ジストロフィー (DM1) に合併する糖尿病に対しインスリン抵抗性改善薬 pioglitazone の効果を検討した。糖尿病を合併した DM1 患者 8 人で、うち 3 人は glibenclamide を内服していたが血糖コントロールは不良であった。Pioglitazone 15mg 連日投与 (glibenclamide は中止) で平均 15.4 ± 9.6 ヶ月間観察し、血糖コントロールは良好で、低血糖発作や副作用は生じなかった。75g 経口ブドウ糖負荷試験では、糖負荷後の血糖は全例で低下し、インスリン分泌量は 4 人がほぼ不変、4 人が低下した。DM1 患者の糖尿病には、とくに反応性にインスリンが過分泌の傾向にある患者では、pioglitazone が有効であると考えた。

Key words: 筋強直性ジストロフィー, 糖尿病, インスリン抵抗性, チアゾリジン誘導体, 75g 糖負荷試験

はじめに

筋強直性ジストロフィー (DM1) では 5~12.5% の患者が糖尿病を合併するが¹⁾、糖尿病に到らなくとも、しばしばインスリン抵抗性を合併し、空腹時の血糖や血中インスリン値 (IRI) が正常であっても、ブドウ糖負荷により著しく IRI が上昇することが多い²⁻⁵⁾。DM1 の糖尿病は 2 型糖尿病と類似した病態であるが^{6,7)}、2 型糖尿病で行われる食事療法と運動療法は十分に行えないことが多い。DM1 患者は、筋力低下のため自分で食事が作れず、腹部症状や欠食も多く、食事療法は乱れやすい。運動療法は筋力低下のために困難である。インスリン抵抗性改善薬 pioglitazone は、食事療法、運動療法のみでは十分な効果が得られず、インスリン抵抗性があるか、もしくはスルホニル尿素薬で血糖降下が不十分な 2 型糖尿病に適応がある⁸⁾。そこで糖尿病を合併した DM1 のインスリン抵抗性を改善し、血糖をコントロールすることを目的に pioglitazone 内服治療の効果を検討した。

対象と方法

当院に入院中で、末梢血白血球でミオトニンプロテインキナーゼ遺伝子の非翻訳領域の CTG リピート延長がある DM1 患者で、糖尿病を合併した 8 人 (男性 6 人, 女性 2 人)、平均年齢 52.1 ± 8.6 歳 (32~60 歳) を対象とした (table.1)。同一家系の者はいなかった。患者の移動能力は 2 人 (患者 2, 3) は歩行器で自力歩行可能で、他の 6 人は車椅子で自力移動できた。Body mass index (BMI)⁹⁾ では患者 3, 6 の 2 人が BMI 25 以上で肥満であった。日本糖尿病学会の診断基準に準拠し¹⁰⁾、(1) 随時血糖 200mg/dl 以上を確認、(2) 早朝空腹時血糖 126mg/dl 以上を確認、(3) 75 g 糖負荷試験 (75g OGTT) で 120 分後の血糖 200mg/dl 以上を確認、のいずれかで糖尿病型とし、別の日に再び糖尿病型が確認されたものを糖尿病と診断した。患者 1, 3, 5, 6 は診断基準 (1) を満たし、患者 2, 4, 7, 8 は (1) と (3) を満たした。(2) を満たす患者はい

なかった。患者 1~5 は血糖降下薬は使用せず、食事制限をしていた。患者 6~8 は glibenclamide (Euglucon[®]) を規則的に内服していたが、血糖のコントロールは不良で、月に 1~2 回程度、空腹時に低血糖症状が生じることがあった。そのため 3 人とも glibenclamide を減量した既往があり、glibenclamide の内服を中止すると高血糖が生じたが、患者 7 は 2.5mg から最終的には 0.25mg まで glibenclamide を減量していた。Homeostasis model assessment - insulin resistance (HOMA-IR) は末梢のインスリン抵抗性の評価指数で、空腹時血糖 (mg/dl) × 空腹時インスリン値 (μ U/ml) / 405 で算出した¹¹⁾。胸部 X 線写真、心電図、ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド (HANP) は全例が正常範囲にあり、心不全を示唆する所見はなかった。

患者 1~5 は糖尿病の診断後、口頭による説明と同意のもとに pioglitazone (Actos[®]) 15 mg を朝食後に内服した。患者 6~8 は、glibenclamide 内服治療で血糖のコントロールが困難であることを説明し、同意を得て glibenclamide を中止し、朝食後 pioglitazone 15mg 内服に変更した。内服開始前 1 ヶ月以内の検査値と治療中の最新の検査値を比較し治療効果を判定した。なお、患者 6~8 は glibenclamide 内服中に pioglitazone 内服開始前の検査を行った。75g OGTT では糖負荷前、糖負荷 30 分後、60 分後、90 分後、120 分後、180 分後に血糖と IRI を測定した。治療効果の評価には 75g OGTT での糖負荷後 120 分の血糖と糖負荷後 120 分までの IRI 曲線下面積 (Σ IRI (μ U · hr/ml))、HOMA-IR を比較した。治療期間中は BMI、HbA1c を測定し、HANP を含めた血液検査、胸部 X 線写真、心電図、心エコー、眼科検診を定期的におこなった。解析には StatView (ver.5.0)[®] を使用し、paired t 検定でいずれも p < 0.05 を有意とした。

結果

pioglitazone 治療は 6~36 (平均 14.8 ± 9.1) ヶ月間観察した。観察期間中に脱落した患者はいなかった。

75 g OGTT の変化 (Fig.1) : 糖負荷前の血糖は全例で

Table.1: Pretreatment profile of patients

BMI: body mass index, HOMA-IR: homeostasis model assessment – insulin resistance, M: male, F: female, WC: wheelchair, and WA: walking with aid.

Patient	Age(year)/Sex	CTG repeat	Walking ability	BMI (kg/m ²)	Dose of glibenclamide (mg)	Casual plasma glucose (mg/dl)	HbA _{1c} (%)	HOMA-IR
1	51 / M	400	WC	17.8	-	230	6.1	0.6
2	60 / F	1700	WA	18.2	-	289	6.1	2.3
3	52 / M	1400	WA	25.0	-	202	5.7	2.8
4	54 / F	900	WC	16.0	-	269	6.8	1.6
5	54 / M	1000	WC	20.6	-	225	5.6	2.7
6	32 / M	1400	WC	26.9	1.25	213	7.9	2.8
7	57 / M	1100	WC	21.6	0.25	257	6.3	0.6
8	57 / M	1400	WC	17.1	1.25	231	7.0	3.3
Mean±SD	52.1±8.6	-	-	20.4±3.9	-	239.5±29.5	6.4±0.8	2.1±1.0

126mg/dl以下であった。血糖降下薬の内服歴がない患者5人のうち3人は、治療前の75gOGTTで一相性に血糖が上昇するパターンであり、患者1は糖負荷90分後に、患者2は糖負荷60分後に、患者3は糖負荷30分後に、それぞれ血糖のピークがあった (Fig.1(A))。患者4, 5は、糖負荷180分後に再び血糖が上昇する二相性パターンであった (Fig.1(B))。IRIのパターンは個人差があり、IRIのピークの時間は一定しなかった。pioglitazone 治療中のIRIの変化も個人差があった。glibenclamide から pioglitazone に内服薬を変更した患者6, 7, 8は、75gOGTTの血糖はわずかに低下した。しかし、患者6, 7ではすべての測定で治療前よりも治療中のIRIが低下した (Fig.1(C))。

糖負荷120分値, Σ IRI, HOMA-IR (Fig.2) : pioglitazone 治療前に比べて治療中は全例で糖負荷後120分の血糖が低下し、治療前の平均 203.3 ± 41.7 mg/dl から治療中は平均 153.9 ± 39.5 mg/dl に有意に改善した ($p=0.004$) (Fig.2(A))。 Σ IRI は、pioglitazone 治療前の平均 $236.9 \pm 170.2 \mu\text{U} \cdot \text{hr/ml}$ から治療中は平均 $169.6 \pm 81.3 \mu\text{U} \cdot \text{hr/ml}$ に低下傾向を認めた ($p=0.12$)。治療前に Σ IRI が $250 \mu\text{U} \cdot \text{hr/ml}$ 以上であった4人は治療中に Σ IRI が減少し、治療前に Σ IRI が $150 \mu\text{U} \cdot \text{hr/ml}$ 以下であった4人は治療中に Σ IRI は軽度増加した (Fig.2(B))。HOMA-IR は治療前の平均 2.1 ± 1.0 から治療中は 1.1 ± 0.4 に有意に改善した ($p=0.04$)。治療前に HOMA-IR が2.5以上であった4人は、治療中はHOMA-IR が下がった。また、8人中7人は治療中のHOMA-IR が1.5以下であった (Fig.2(C))。

BMI, HbA_{1c}, 副作用 (table.2) : Pioglitazone 治療前と治療中でBMIとHbA_{1c}に有意な変化はなかった ($p=0.34$, $p=0.21$)。治療期間中に新たな肝機能障害, 腎機能障害, 心不全, 低血糖発作, 網膜症は生じなかった。患者8はHANPが軽度上昇したが、胸部X線写真, 心エコーで心機能低下はなく、pioglitazone 内服治療を継続した。

考 察

DM1患者は腹部症状などから欠食することも多く、食事が一定せず、スルホニル尿素薬のようなインスリン分泌を促進する薬剤⁹⁾の内服やインスリン皮下注射による糖尿病の治療では低血糖を生じる危険がある。また、DM1では空腹時に糖を負荷すると急激に過剰なインスリンが分泌され、低血糖発作が誘発されることが報告されている¹⁰⁾。glibenclamide から pioglitazone に変更した患者も含め、pioglitazone 治療中は低血糖発作が起きず、臨床的に有用な治療と考えた。

75gOGTTでのDM1の血糖の変動は、正常型、糖尿病型、二相性など、多様であることが報告されている^{11,12)}。本研究の対象患者でも糖負荷後の血糖の上昇パターンは様々であったが、いずれのパターンであってもpioglitazone 治療中の血糖は改善した。 Σ IRIの変動は個人差があった。 Σ IRIが $250 \mu\text{U} \cdot \text{hr/ml}$ 以上の過分泌の患者は Σ IRI が減少し、インスリン必要量が減少して、血糖も改善した。 Σ IRIが $150 \mu\text{U} \cdot \text{hr/ml}$ 以下の分泌不良患者は、 Σ IRIは軽度増加した。pioglitazone 内服によってDM1のインスリン分泌量が良好に調節された可能性がある。また、HOMA-IRは一般に2.5以上でインスリン抵抗性があり、1.5以下で正常とされている⁹⁾。この基準によると、本研究の8人中4人はpioglitazone 治療前にインスリン抵抗性があったが、治療中はインスリン抵抗性は認められなかった。pioglitazone はDM1のインスリン抵抗性を改善したと考えた。とくにインスリン過分泌の糖尿病の患者で有用性が高い可能性がある。

これまでにDM1にインスリン抵抗性を改善するとされるチアゾリジン誘導体の一つである troglitazone を投与した報告がある。糖尿病を合併したDM1の22歳女性では、troglitazone を12週間投与したところ、インスリン抵抗性が改善し、臨床的にはミオトニアが改善した¹³⁾。しかし、糖尿病にはいたらないDM1の35歳男性では、amitriptyline に併用して troglitazone を6週間投与したところ、インスリン基礎値

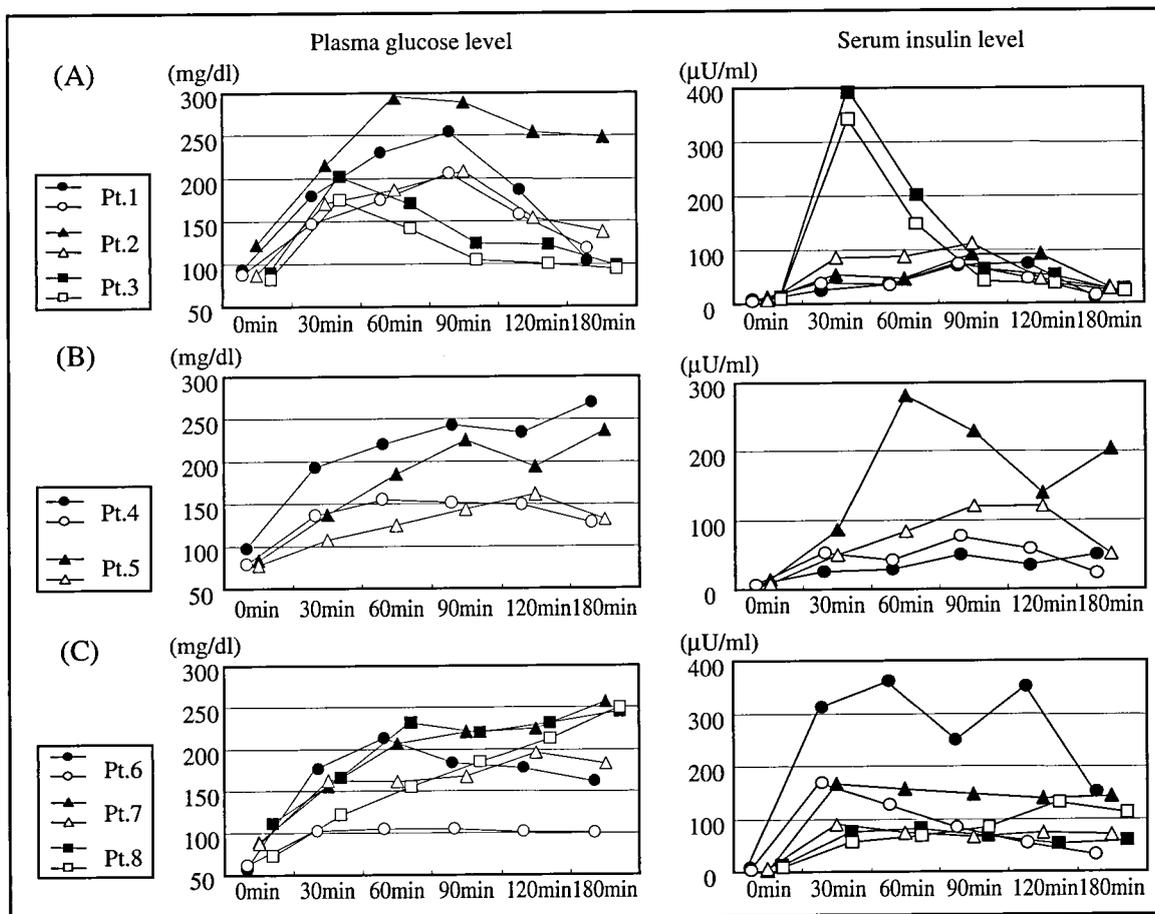


Fig.1 Results of 75 g oral glucose tolerance test. Patient 1, 2, and 3 show monophasic increased in plasma glucose (A), Patient 4 and 5, biphasic increased in plasma glucose 180 min later (B). Patient 7, 8, and 9 were under glibenclamide treatment (C). Plasma insulin levels decreased significantly in patient 5, 6 and 7, but remained unchanged in others. Pt: patient. ●, ■, ▲: pretreatment and ○, □, △: during pioglitazone treatment.

が上昇し、インスリン過分泌反応が増悪した。そして、troglitazone 中止4週後の検査ではインスリン過分泌が改善したため、troglitazone はインスリン抵抗性を改善させないと考察された¹⁴⁾。troglitazone は重篤な肝機能障害の副作用のため製造中止になり、結局DM1に合併した糖尿病への治療効果の評価は定まらなかった。しかしpioglitazone ではインスリン抵抗性は改善され、インスリン過分泌は抑制された。なおミオトニア現象に対する効果は、対象患者では明らかではなかった。

pioglitazone の有害事象は、肝機能障害は少なく、体液貯留による心不全が報告されている¹⁵⁾。本研究の患者では、8人中1人にHANPの上昇がみられたが、心不全ではなかった。DM1では心不全がなくても脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)が上昇することは多く、心機能の評価にはHANPがより有用であることが示唆されていた¹⁶⁾。しかし、心機能が正常でもHANPが上昇するという報告¹⁷⁾もあり、患者のHANP上昇の意味づけは困難であった。pioglitazone 治療中は胸部X線写真などでの経過観察は必要と考えるが、DM1でpioglitazone 内服により心不全を発生する危険が特に高いとは考えにくい。

一般に2型糖尿病発症の経過は、まずインスリン抵抗性の

獲得によって糖利用が障害され、血糖を保つために膵β細胞からのインスリン分泌が促進する。やがて膵β細胞の疲弊によってインスリン分泌が低下し、高インスリン血症でありながら血糖が上昇する相対的インスリン不足の状態になり、さらに絶対的インスリン分泌不足による糖尿病へと進行すると考えられている¹⁸⁾。もともとインスリン抵抗性があり、高インスリン血症を伴うDM1患者が2型糖尿病と類似の経過をたどるとすると、pioglitazone 治療によってDM1の膵β細胞の疲弊を予防することで、糖尿病の増悪を阻止する効果が期待できる可能性がある。しかし、現時点では、HbA_{1c}が正常なDM1患者にpioglitazone 治療を行う必要性や耐糖能障害を改善することでどのような合併症を予防でき、それが生命予後とどのように関わるのかなど、不明点が多い。今後、さらに長期にわたってpioglitazone 治療を経過観察するとともに、糖尿病を発症する前にpioglitazone を投与し、膵β細胞の疲弊を予防することで糖尿病の発症を阻止できるかを検討すべきであろう。

高インスリン血症 ($\Sigma\text{IRI} > 90 \mu\text{U} \cdot \text{hr}/\text{ml}$)、肥満 ($\text{BMI} \geq 25\text{kg}/\text{m}^2$)、高血圧、脂質代謝異常、動脈硬化性病変などの因子は、それぞれが軽度であっても同時に存在することで虚血性心疾患などの発症リスクを上げるとされ、インスリン

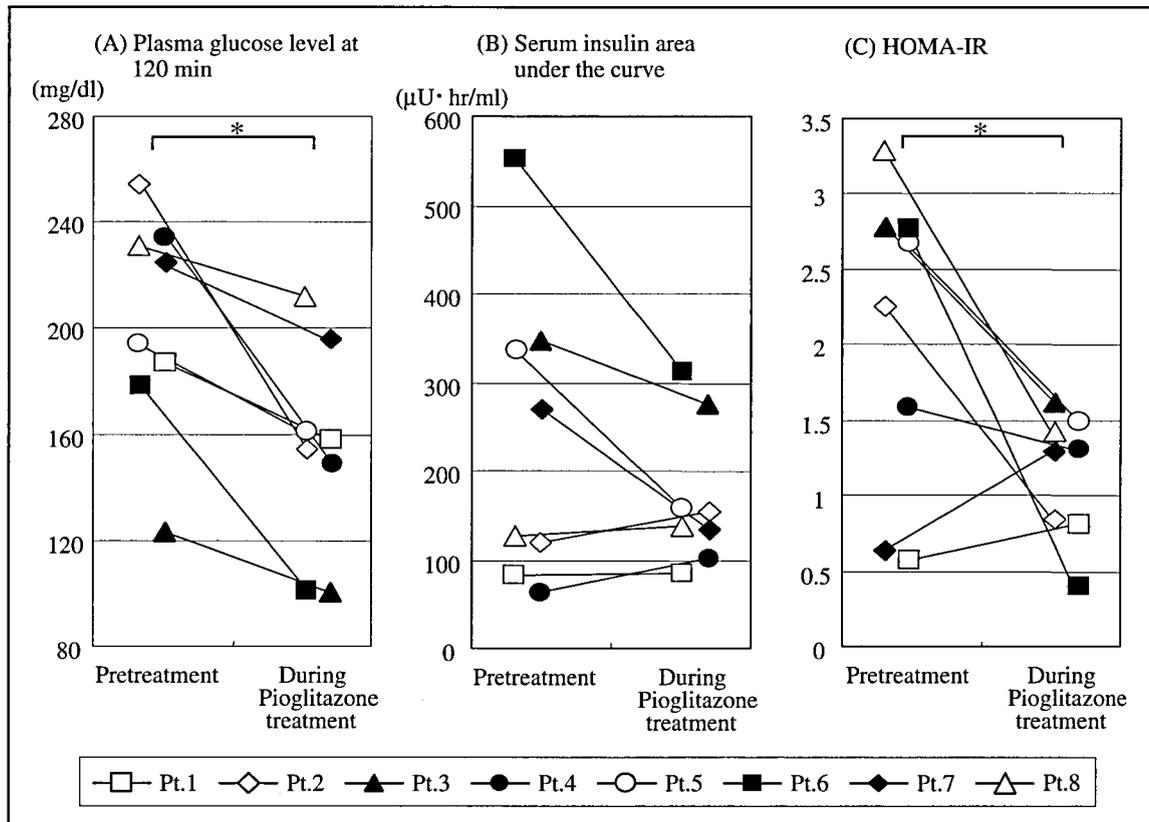


Fig.2 Plasma glucose level at 120 min of 75 g oral glucose tolerance test (75g OGTT) (A), serum insulin area under the curve (Σ IRI) of 75g OGTT (B) and the homeostasis model assessment - insulin resistance (HOMA-IR) (C). Plasma glucose level at 120min decreases during pioglitazone treatment in all patients. Σ IRI decreased patient 3, 5, 6 and 7 with a pretreatment Σ IRI $\geq 250 \mu U \cdot hr/ml$, while it increased in other patients with pretreatment Σ IRI $\leq 150 \mu U \cdot hr/ml$ slightly. HOMA-IR improved significantly during pioglitazone treatment in patient 3, 5, 6 and 8. Pt.: patient. *: $p < 0.05$.

Table.2: During pioglitazone treatment.
BMI: body mass index, HANP: human atrial natriuretic peptide.

Patient	Pioglitazone administration period (months)	BMI (kg/m ²)	HbA _{1c} (%)	HANP (pg/ml)
1	12	17.8	6.0	<10
2	12	19.1	6.4	25
3	9	25.0	5.6	16
4	16	15.7	6.5	14
5	12	19.8	5.4	<10
6	36	25.7	4.6	10
7	6	21.6	6.5	26
8	15	16.5	6.1	47
Mean±SD	14.8±9.1	20.2±3.7	5.9±0.7	-

抵抗性症候群という概念が提唱されている¹⁹⁾。DM1ではインスリン抵抗性と脂質代謝異常を認め、内臓脂肪も多く²⁰⁾、動脈硬化が著しいことも少なくない。pioglitazoneには内臓脂肪を減少させる効果もあり²¹⁾、pioglitazone投与によってDM1患者の持つ複数の危険因子を減らせる可能性がある。

しかし、DM1患者で虚血性心疾患が多いか、またDM1でも危険因子として重要かどうかは不明であり、検討すべき課題と考える。DM1の標準的な医療として確立するためには、より多くのDM1患者でpioglitazone治療の長期経過を観察する必要がある。

付記：この論文の内容は 臨床神経 2005 年の 4 月号に掲載予定である。

文 献

- 1) Harper PS: Myotonic dystrophy -3rd edition. WB Saunders, London, 2001, pp180-183
- 2) Huff TA, Horton ES, Lebovitz HE: Abnormal insulin secretion in myotonic dystrophy. *N Engl J Med* 1967; 277: 837-841
- 3) Gorden P, Griggs RC, Nissley SP, et al: Studies of plasma insulin in myotonic dystrophy. *J Clin Endocr* 1969; 29: 684-690
- 4) Mendelsohn LV, Friedman LM, Corredor DG, et al: Insulin responses in myotonia dystrophica. *Metabolism* 1969; 18: 764-769
- 5) 河野茂夫：筋緊張性ジストロフィーにおけるインスリン抵抗性. *日本臨床* 2002; 60(S7): 734-738
- 6) Moxley RT, Corbett AJ, Minaker KL, et al: Whole body insulin resistance in myotonic dystrophy. *Ann Neurol* 1984; 15: 157-162
- 7) Perseghin G, Caumo A, Arcelloni C, et al: Contribution of abnormal insulin secretion and insulin resistance to the pathogenesis of type 2 diabetes in myotonic dystrophy. *Diabetes Care* 2003; 26: 2112-2118
- 8) 日本糖尿病学会編：糖尿病治療ガイド 2002-2003. 文光堂，東京，2002, pp8-38
- 9) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al: Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419
- 10) Sohmiya M, Yamauchi K, Koshimura K, et al: A case of myotonic dystrophy (MD) associated with glucose-induced hyperinsulinemia followed by reactive hypoglycemia and increased number of cytosine-thymine-guanine (CTG) trinucleotide repeats in MD gene. *Endocr J* 2000; 47: 277-283
- 11) 山本みゆき，鬼頭昭三，藤森直春ら：筋強直性ジストロフィー症における内分泌学的研究－血中インスリンおよび HGH (human growth hormone) 反応を中心として－. *臨床神経* 1974; 14: 406-414
- 12) Russell D, Sjaastad O: Biphasic response on oral glucose tolerance testing in myotonic dystrophy. *Acta Neurol Scand* 1976; 53: 226-228
- 13) Kashiwagi K, Nagafuchi S, Sekiguchi N, et al: Troglitazone not only reduced insulin resistance but also improved myotonia in a patient with myotonic dystrophy. *Eur Neurol* 1999; 41: 171-172
- 14) 宗宮基，山内公子，西木正照ら：Amitriptyline の長期投与後に筋力改善にもかかわらずインスリン抵抗性の増加を示し，Troglitazone 投与により耐糖能の悪化を来した筋強直性ジストロフィーの 1 例. *糖尿病* 1998; 41: 839 - 845
- 15) Nesto RW, Bell D, Bonow RO, et al: Thiazolidinedione use, fluid retention, and congestive heart failure. A consensus statement from the American heart association and American diabetes association. *Circulation* 2003; 108: 2941-2948
- 16) 田村拓久：筋強直性ジストロフィーの慢性心不全のマネジメント. *神経内科* 2004; 60: 366-371
- 17) Parlapiano C, Antonini G, Vichi R, et al: Increased plasma concentration of atrial natriuretic hormone in myotonic dystrophy. *Eur Neurol* 1998; 39: 238-241
- 18) 柏木厚典：高インスリン血症の臨床的意義. *日本臨床* 1997; 55:805-811
- 19) 原納優：虚血性心疾患. *総合臨床* 1997; 46: 2102-2108
- 20) 野崎園子，宮井一郎，姜進：Myotonic dystrophy における内臓脂肪. *臨床神経* 1992; 32: 521-523
- 21) Kelly IE, Han TS, Walsh K, et al: Effects of a thiazolidinedione compound on body fat and fat distribution of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 288-293

筋強直性ジストロフィー患者の糖負荷によるインスリン過剰分泌の検討

齊田 和子¹⁾, 塩屋 敬一¹⁾, 米川 忠人²⁾, 隈本 健司²⁾

要旨：正常耐糖能である筋強直性ジストロフィー (MyD) の糖負荷によるインスリン過剰分泌の検討をおこなった。糖負荷試験においてインスリン抵抗性が認められ、9例中7例においてインスリンの過剰分泌が認められた。特に4例においては、糖負荷後15分ですでに血中インスリンは100 uU/mlを超えていた。MyDにおけるインスリン過剰分泌は早期にもたらされており、インスリンの貯蔵異常も示唆された。また正常耐糖能MyD 3例に塩酸メトホルミンを投与した。2週間後のインスリン総和量、HOMA-Rは、投与前後で全例で減少した。以上よりMyDにおいて、塩酸メトホルミンはインスリン過剰分泌の状態を改善する可能性がある。しかしながら、長期のメトホルミン投与下でのインスリン分泌については、更なる検討が必要と思われた。

はじめに

以前より筋強直性ジストロフィー (MyD, DM1) では、高インスリン血症をきたすことが知られているが¹⁾、MyDはDMPK遺伝子の3'非翻訳領域にあるCTG3塩基配列の増大により発症する。近年、疾患の病態メカニズムとして、増大したCUG反復配列を有した転写産物 (CUG-repeat RNA) が核内に蓄積し、RNA結合蛋白 (CUG-BP) の機能障害をきたす説が提示された。その結果として標的遺伝子の転写産物のスプライス異常が生じ、様々な機能異常を起こしている²⁾。標的遺伝子の一つとしては、骨格筋インスリン受容体遺伝子がある。MyDにおいては、CUG-repeat RNAの核内蓄積により、CUG-BPの発現レベルが上昇し、インスリン受容体遺伝子のエクソン11のスプライス異常により、IR-Bに比してIR-Aアイソフォームが増加する。その結果としてMyDにおいては、インスリン抵抗性を示すという説がある³⁾。

以上より、MyDのインスリン抵抗性はインスリン受容体からの刺激伝達能力の低下を伴うと考えられ、ことから、その加療においては、インスリン作用以外の系で糖の取り込みを促進する方法が合目的である。我々はAMPキナーゼを活性化することが証明された糖尿病治療薬である塩酸メトホルミンを最終的にはMyD患者に用い、インスリン抵抗性の改善薬としての効果を期待している⁴⁾。

一方、発症早期のMyDにおいてはインスリン抵抗性は認められず、糖負荷試験におけるインスリン過剰分泌の原因として、膵臓β細胞の機能異常を示唆する報告を最近認めた⁵⁾。従って今回我々は、塩酸メトホルミン投与の前段階として正常耐糖能MyDの早期インスリン分泌能をまず検討した。その後、承諾の得られたMyD患者に塩酸メトホルミンを短期間投与しインスリン過剰分泌の変化を検討した。

方 法

1. 正常耐糖能であるMyD患者の糖負荷によるインスリン過剰分泌の検討

対象は国立病院機構宮崎東病院に入院中、あるいは外来に通院中のMyD男性5名、女性4名 (年齢26歳から51歳、 47 ± 3.1 歳 (mean \pm SD)) でBMIは 22.5 ± 1.0 kg/m² (mean \pm SD) であった。通常の75g糖負荷試験に加え、15分後の血糖、インスリンも合わせて検討した。

2. 正常耐糖能MyDにおける塩酸メトホルミンの投与効果

当院における倫理委員会での申請通過後、研究概要を説明し文書で同意を得た正常耐糖能入院MyD患者3名 (男性2名、女性1名、平均年齢 52.0 ± 3.0 歳、BMI 24.9 ± 0.5 kg/m² (mean \pm SD)) に対して塩酸メトホルミンを1日500mg投与した。投与前と2週間後に通常の75g糖負荷試験に加え、15分後の血糖、インスリンも合わせて検討した。

結 果

9例の75g糖負荷試験の結果では、全例が正常耐糖能であった (図1)。

また、9例中7例に糖負荷時のインスリン分泌過剰が認められ、特に4例においては、糖負荷後15分ですでに血中インスリンは100 uU/mlを超えていた。(図2)。Insulinogenic indexは 3.90 ± 0.79 であった (図1, 2)。

一方、インスリン抵抗性を示す指標であるHOMA-Rは 1.82 ± 0.42 (mean \pm SD) であり、正常耐糖能にもかかわらずインスリン抵抗性が認められた。

正常耐糖能MyDにおける塩酸メトホルミンの投与効果では、メトホルミン2週間投与前後におけるグルコースの値は大きな変化はなかった (図3)。一方インスリン分泌は30、

¹⁾独立行政法人国立病院機構宮崎東病院神経内科,

²⁾同内科, ³⁾現宮崎大学第3内科

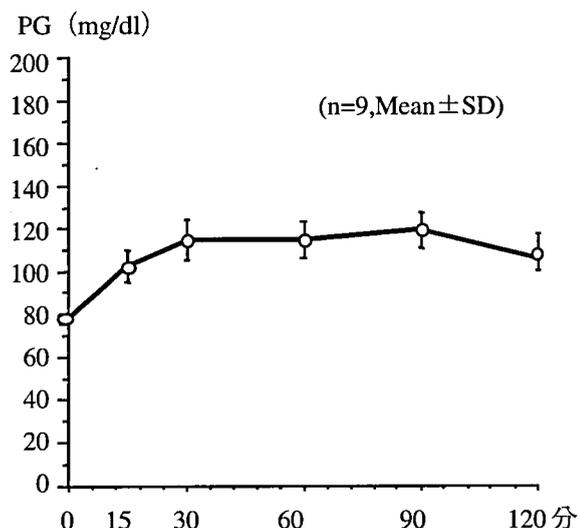


図1 MyD 9例における75g糖負荷試験の結果 (グルコース)

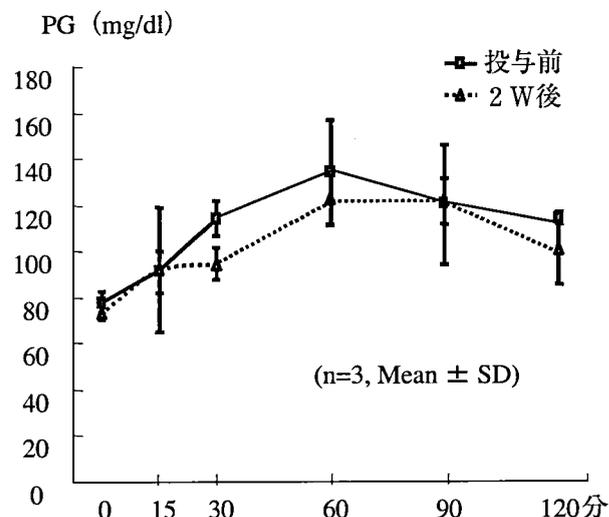


図3 塩酸メトホルミン投与前と2週間後の75g糖負荷試験の結果 (グルコース)

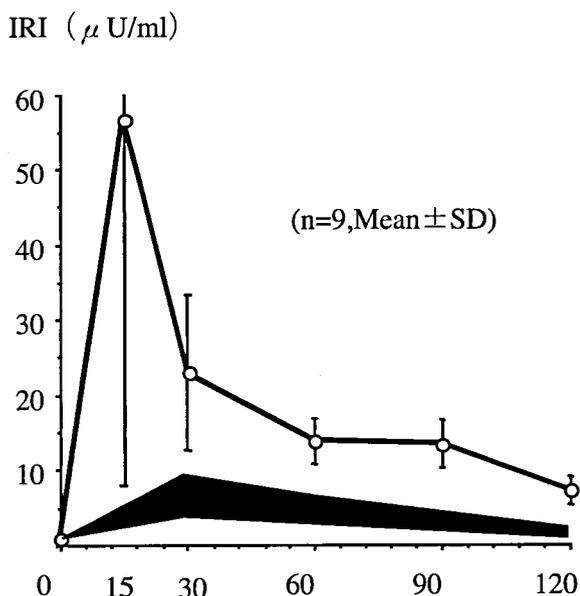


図2 MyD 9例における75g糖負荷試験の結果 (インスリン)

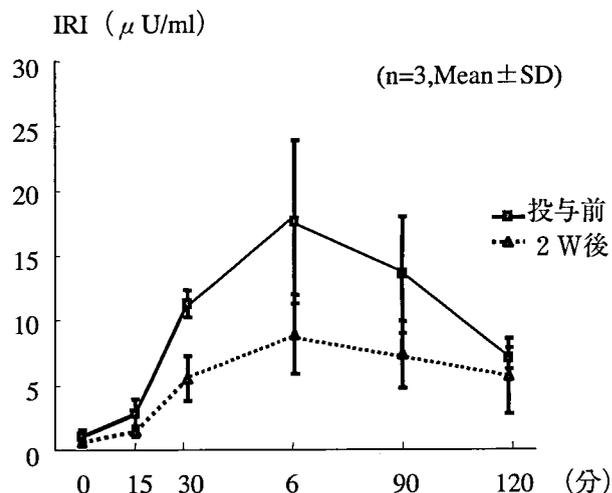


図4 塩酸メトホルミン投与前と2週間後の75g糖負荷試験の結果 (インスリン)

60, 90分で大きく低下した (図4)。

Σ IRIの値は 塩酸メトホルミン投与前後で全例減少した (図5)。

HOMA-Rは, 塩酸メトホルミン投与前後で全例減少した (図6)。

考 察

MyDにおいては, 以前より糖負荷後の高インスリン血症が見られることが知られている。今回の我々の検索では, 正常耐糖能MyD患者の4割で, 糖負荷後15分にはすでに血中インスリンは100 uU/mlを超える著しい高インスリン血症を認めた。即ち, MyDにおけるインスリン過剰分泌は糖負荷後の早期にもたらされていた。残念ながらMyDにおける

糖負荷試験の長期観察の結果は, 調べた限りでは未だなされていないが, MyDの経過のいずれかの時期におそらくインスリンの過剰分泌を認める時期が存在し, それは, 末梢組織のインスリン抵抗性の持続により, 膵ラ氏島B細胞が連続的なインスリン分泌を余儀なくされた結果ではないかと類推される。しかし, 一方で早期のインスリンの過剰分泌は膵臓β細胞自身の機能異常やインスリンの貯蔵異常も示唆され得ると考えられた。

また, 正常耐糖能MyD患者において, 塩酸メトホルミン投与は, 糖負荷におけるインスリン分泌総和量を大きく改善したことより, 高インスリン血症の状態を改善する可能性がある。しかしながら, MyDの高インスリン血症への介入が, その後の糖代謝や脂質代謝にどう影響を及ぼすかは更なる検討が必要である。また, 正常耐糖能MyDにおける長期のメ

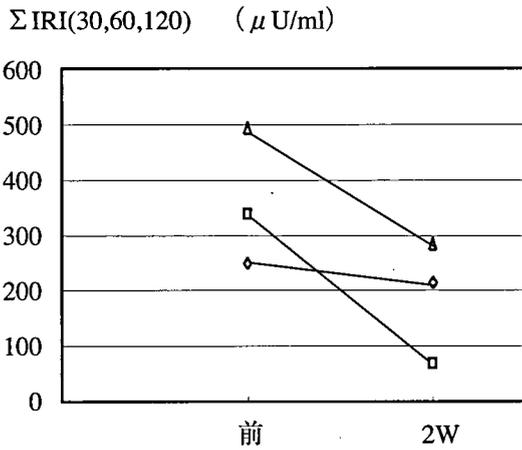


図5 塩酸メトホルミン投与前後でのΣIRI (30,60,120)

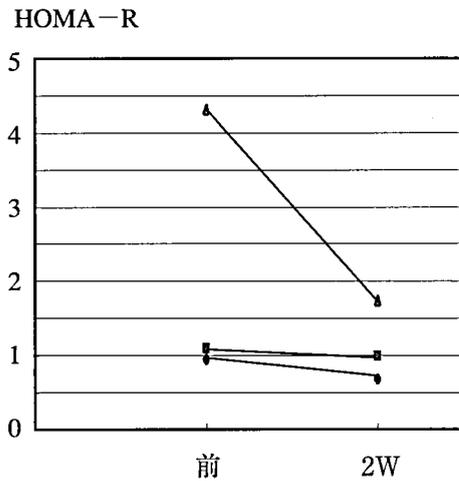


図6 塩酸メトホルミン投与前後でのHOMA-R

トホルミン投与下でのインスリン分泌については、今後長期の検討が必要と思われた。

結 論

正常耐糖能MyDにおいては、糖負荷試験においてインスリン抵抗性が認められ、9例中7例においてインスリンの過剰分泌が認められた。

正常耐糖能MyD 3例に塩酸メトホルミンを投与した。2週間後のインスリン総和量、HOMA-Rは、投与前後で全例減少した。以上よりMyDにおいて、塩酸メトホルミンはインスリン過剰分泌の状態を改善する可能性がある。しかしながら、長期のメトホルミン投与下でのインスリン分泌については、更なる検討が必要と思われた。

文 献

- 1) Moxley R T, et al : Decreased insulin sensitivity of forearm muscle in myotonic dystrophy. J Clin Invest 62: 857,1978
- 2) Timchenko LT: Myotonic dystrophy : The role RNA CUG triplet repeats. Am J Hum Genet 64: 360,1999
- 3) Savkur RS, et al: Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. Nat Genet 29: 40,2001
- 4) Musi N, et al: Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. Diabetes 51: 2074, 2002
- 5) Perseghin G, et al: Contribution of abnormal insulin secretion and insulin resistance to the pathogenesis of type 2 diabetes in myotonic dystrophy. Diabetes Care 26: 2112, 2003

筋強直性ジストロフィーにおける呼吸不全：ソムノグラフィーによる検討

高田 博仁, *小山 慶信, 今 清寛

要旨：ソムノグラフィーを用いて筋強直性ジストロフィー (MyD) 18例における呼吸障害の検討を行った。同程度の呼吸機能検査結果を有する肢帯型を中心とした他型の筋ジストロフィー17例を対照群として、MyD群では、有意に低いPaO₂値、高いPaCO₂値、低い夜間平均経皮的測定血中酸素飽和度、高い夜間低酸素指数を認めしたが、夜間睡眠中の無呼吸の数や持続時間、無呼吸指数等の睡眠時無呼吸に関するパラメーターに関する有意差は認められなかった。MyDの呼吸不全には、睡眠時無呼吸は一義的な原因ではなく、より重要な要因が他に存在することが示唆された。

Key words 筋強直性ジストロフィー, 呼吸不全, 睡眠時無呼吸, ソムノグラフィー, 肢帯型

目 的

筋強直性ジストロフィー (MyD) における主要死因として呼吸不全が指摘されている¹⁾が、その呼吸不全を生じる機序については、スパイログラムでは拘束性換気障害のパターンがみられる²⁾³⁾ものの、中枢性の呼吸障害を示唆する報告もあり、種々の要因が関与するものとされ、未だ明らかになっていない⁴⁾。近年、睡眠に関係する呼吸の異常が報告されている⁵⁾⁶⁾が、睡眠における呼吸異常と呼吸不全の発現との関連は未だ不明である。今回、我々は、睡眠時無呼吸の有無や程度がMyDの呼吸不全にどのように係わっているのかを明らかにする目的で、ソムノグラフィーを用いてMyDにおける呼吸障害の検討を行った。

方 法

対象は、当院筋ジストロフィー病棟および神経難病病棟に入院中のMyD患者18例 (女性7例, 男性11例) であり、全例が夜間の非侵襲的経鼻間歇的陽圧式人工呼吸療法 (NIPPV) を施行しておらず、独歩乃至支持歩行可能か車イス自走可能な状態にあった。対照群として、MyD群と同程度の肺機能検査結果 (パーセント肺活量; %VC, 一回換気量; TV) を有する当院入院中で夜間NIPPVを施行していないMyD以外の進行性筋ジストロフィー患者17例 (女性3例, 男性14例, 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) を設定した。両群の比較検討は、Mann-Whitney U testにより施行し、p<0.05以下を持って有意と検定した。

両群に対して、ルーチン肺機能検査 (%VC, TV等)、夜間ソムノグラフィー記録 (Sleep Tester LT-200, Fukuda Denshi Co., Japan.) を施行し、夜間睡眠中の無呼吸の数 (NA) ・無呼吸のタイプの分別 (中枢型・閉塞型・混合型) ・全無呼吸に対する中枢型無呼吸の割合 (%CSA) ・平均無呼吸持続時間 (DA) ・平均経皮的測定血中酸素飽和度

(mSatO₂) ・無呼吸指数 (Apnoea Index; AI, 1時間あたりの無呼吸数) ・川井ら⁷⁾の夜間低酸素指数 (NHI) を測定、早朝血液ガス検査 (PaO₂, PaCO₂) を施行し、身長と体重からBody Mass Index (BMI) を算出した。

結 果

MyD群と対照群、両群の間で、%VC・TVに関する有意差は認められなかった (%VC: 63.0 ± 15.4 vs. 65.7 ± 23.4; MD群 vs. 対照群, mean ± SD, 以下同様) (TV: 482.7 ± 440.1cc vs. 446.7 ± 190.4cc)。MyD群における平均年齢 (42.9 ± 11.7歳) は、対照群のそれ (51.6 ± 12.8歳) に比して、有意に低かった。両群において、BMIの有意差は認められなかった (22.9 ± 5.2 vs. 20.4 ± 3.4)。

MyD群におけるPaO₂値 (78.8 ± 13.2mmHg) は、対照群のそれ (94.1 ± 10.9mmHg) に比して、有意に低値であった。また、MyD群におけるPaCO₂値 (49.1 ± 3.9mmHg) は、対照群のそれ (40.3 ± 4.9mmHg) に比して、有意に高値であった。夜間mSato₂値は、MyD群 (94.7 ± 1.6%) において、対照群 (96.9 ± 0.7%) に比し、有意に低かった。NHIも、MyD群 (96.1 ± 45.3) において、対照群 (36.0 ± 16.7) に比し、有意に高い値を示した。

夜間ソムノグラフィーの結果では、両群におけるAI (26.6 ± 18.0 vs. 33.9 ± 23.5), NA (207.4 ± 140.9 vs. 252.1 ± 180.1), DA (25.3 ± 13.4 vs. 27.9 ± 11.4) に有意な差は認められなかった。また、%CSA (24.2 ± 21.5 vs. 17.0 ± 16.9) も、MyDでやや多い傾向を示したが、両群の間で有意差は認められなかった。また、MyD群において、これらソムノグラフィーから得られた無呼吸に関するパラメーターと血液ガス (PaO₂, PaCO₂) および呼吸機能検査の結果との間には、有意な相関関係は認められなかった。

考 察

MyDにおける呼吸不全は、呼吸機能検査で呼吸筋の筋力

低下に関連した拘束性換気障害のパターンを呈する^{2) 3)}一方で、%VCが保たれている段階で夜間周期性低酸素血症がみられたり⁸⁾、呼吸筋病理での障害程度はデュシャンヌ型に比し軽度であったり⁹⁾と、中枢性呼吸障害の存在も示唆され、単に呼吸筋の筋力低下による肺泡低換気のみによるものではない多因子の関与する機序が考えられている^{2) 3)}。高炭酸ガス負荷から呼吸中枢感受性低下を指摘する報告¹⁰⁾がある一方で、化学受容器の応答は正常でありmyotoniaが問題であるとする検討も報告¹¹⁾されているが、近年の電気生理学的検討による呼吸調節システムの複数レベルにおける異常¹²⁾や病理学的検討による延髄網様体の神経細胞脱落と呼吸機能との関連性¹³⁾は、呼吸調節機能の異常が強く関与している可能性を示している。最近になって、閉塞性および中枢性の睡眠時無呼吸の増大など睡眠に関係する呼吸の異常を指摘する報告⁵⁾がなされたが、日中の呼吸機能と睡眠時異常のパターンとの関連はないとする報告⁶⁾もあり、実際に睡眠の異常が呼吸不全にどの程度関与するのかを明らかにする必要に迫られていた。

今回の我々の検討結果は、こうした疑問にある程度の回答を与えるものと思われる。MyDを他型の筋ジストロフィーと比較した際に、呼吸機能検査に有意差がないにも係わらず、血液ガスに有意差が生じているということは、MyDにおける呼吸障害の決め手となっているのが、呼吸筋の筋力低下に基づくものではなく、化学受容器の感受性を含めた中枢性の因子であることを示唆している。さらに、ソムノグラフィーの結果で両群における無呼吸の因子には有意差がないことから、MyDにおける呼吸障害の主因は、無呼吸や呼吸パターンの統御、リズムの乱れである可能性が低いことも示唆された。即ち、今回の検討結果からは、MyDにおける呼吸不全の大きな原因になっているのは、呼吸筋の筋力低下でも中枢性の呼吸パターンやリズムの異常でもなく、化学受容器を介して血中の高炭酸ガス血症や低酸素血症を認知して反応する経路の何れかにおける障害であると考えられた。今後は、この経路における障害と呼吸不全の関連性を明らかにし、かつ、これらの障害の程度は何らかの治療に反応するものかどうかを検討して行く必要がある。

尚、今回の検討結果で、比較的年齢の高い肢帯型を中心とした対象筋ジストロフィー群にも、睡眠時無呼吸の存在が確認されたことは注目に値し、ある程度のステージや年齢層における肢帯型筋ジストロフィーにおいても、夜間睡眠時無呼吸のスクリーニングテストを行ってみるべきであることが示唆された。

結 論

MyDは、肢帯型筋ジストロフィー等に比して、呼吸機能検査結果やソムノグラフィーの結果が同程度であっても、有

意なPaO₂の低下・PaCO₂の増大・NHIの上昇を認めることが示された。

文 献

- 1) 川井 充, 多田羅勝義, 福永秀敏: 筋ジストロフィー死亡年齢と死因—国立筋ジストロフィー担当27施設における文責—(会). 神経治療学 2003; 20: 322
- 2) Harper PS: Myotonic Dystrophy 3rd ed, Saunders, 2001.
- 3) 久留 聡: 筋強直性ジストロフィーにおける呼吸障害. 神経内科 2004; 60: 355-360
- 4) Bogaard JM, van der Meche FG, Hendriks I, et al: Pulmonary function and resting breathing pattern in myotonic dystrophy. Lung 1992; 170: 143-153
- 5) Finnimore AJ, Jackson RV, Morton A, et al: Sleep hypoxia in myotonic dystrophy and its correlation with awake respiratory function. Thorax 1994; 49: 66-70
- 6) Ververs CC, van der Meche FG, Verbraak AF, et al: Breathing pattern awake and asleep in myotonic dystrophy. Respiration 1996; 63: 1-7
- 7) 川井 充, 新谷盟子, 小宮 正ら: 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
- 8) 尾方克久, 河野 智, 小宮 正ら: 呼吸機能と酸素飽和度の対比からみたDuchenne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 1996; 36: 850-853
- 9) 石原傳幸, 川村 潤, 田村拓久ら: 筋強直性ジストロフィーの呼吸筋病理(会). 医療 1995; 49: 765
- 10) Carroll JE, Zwillich CW, Weil JV: Ventilatory response in myotonic dystrophy. Neurology 1977; 27: 1125-1128
- 11) Bégin R, Bureau MA, Lupien L, et al: Pathogenesis of respiratory insufficiency in myotonic dystrophy: the mechanical factors. Am Rev Resp Dis 1982; 125: 312-318
- 12) Zifko UA, Hahn AF, Remtulla H, et al: Central and peripheral respiratory electrophysiological studies in myotonic dystrophy. Brain 1996; 119: 1911-1922
- 13) Ono S, Kanda F, Takahashi K, et al: Neuronal loss in the medullary reticular formation in myotonic dystrophy: a clinicopathological study. Neurology 1996; 46: 228-231

筋強直性ジストロフィーでの息こらえによる息苦しきの検討

村上 泰生, 大矢 寧, 小川 雅文, 川井 充

要旨:筋強直性ジストロフィー (MyD) 患者は著しい低酸素状態になっても呼吸困難感を訴えないことが多い。MyD 患者9名と健常人8名に息こらえを行わせ、息苦しきの感じ方を比べた。患者でも健常人と同様に息苦しさを訴え、経皮的動脈血酸素飽和度 (SpO₂) は低下した。MyD 患者の息こらえによる SpO₂ 最低値は、24時間モニタリングの SpO₂ 最低値より高かった。息こらえ試験では、MyD 患者の日常生活の中でみられる低酸素状態に対する感受性の低下 (呼吸困難感の欠如) は評価できないが、実際に生じている低酸素状態の重大性を実感させるには有用である。

key words: 筋強直性ジストロフィー, 息こらえ, 低酸素血症, 呼吸困難感

はじめに

筋強直性ジストロフィー (MyD; DM1) 患者は、急性肺炎で呼吸状態が悪化しても呼吸困難感を訴えることは稀である。MyD 患者は低酸素状態に対する呼吸困難・息苦しきの感受性が低下しているのではないかと考えられる。吸気の酸素・二酸化炭素分圧への換気応答の低下も MyD 患者では報告されているが、これまで低酸素での呼吸困難感を検討した報告はない。MyD では肺活量低下に比して低酸素血症が目立つことが多く¹⁾、安静での低酸素状態が運動により改善することもあり²⁾、中枢神経病変も伴うため、中枢性要素も想定されている。息こらえは持続時間が短くなる以外には換気障害の影響がない。呼吸筋力低下の影響の少ない息こらえによって低酸素状態を作り出すことで、MyD 患者での息苦しきの感受性低下の確認を試みた。

対象・方法

検査内容を理解し承諾の上で協力が得られた、筋疾患病棟に入院中の MyD (DM1) 患者9名 (年齢39~60 (52.0 ± 7.1), 男4名・女5名, 1名を除いて車椅子使用), 対照健常人8名 (年齢28~56 (46.5 ± 9.6), 男6名, 女2名) を対象とした。既往歴の他、患者では心電図や胸部写真などで、息こらえの安全性を評価・確認した。本研究は国立精神・神経センター武蔵地区倫理委員会の承認を受け、被験者からインフォームドコンセントを得た。

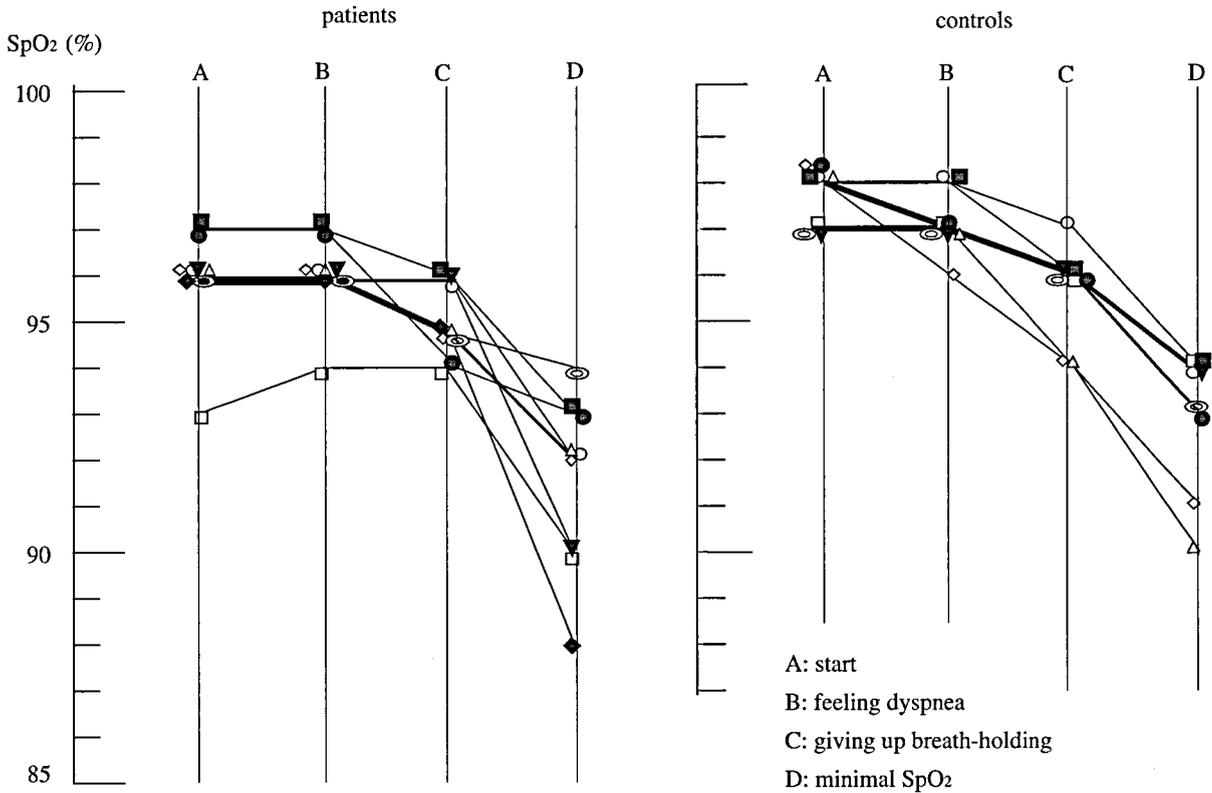
SpO₂ 値をモニターしながら、日中覚醒時に10分間座位で安静を保ち、SpO₂ が安定していることを確認し、安静呼吸中の吸気位で息止めを開始し (A)、そのまま息こらえを継続させた。息こらえ中に苦しさを少し感じ始めた時点 (B) と、限界に達し息こらえを継続できなくなった時点 (C) に、拳手による合図を求めた。この (C) の時点で直ちに呼吸を再開させた。SpO₂ は呼吸再開後も更に低下し、最低値になる時点 (D) を経て、息止め開始前の値に回復した。回復後、

過換気による上昇を経て、十分安定するまで測定した。患者群と健常人群の比較は2-way repeated ANOVAで行った。SpO₂ はNovametri社のコスモ7100を用いて、8秒ごとに測定した。また患者で日常生活の SpO₂ 値の変動範囲を、日本光電製BSM-7100を用いて1分ごとに24時間記録した。

結果

患者9名全員と健常人8名中2名で、SpO₂ が低下する前に息苦しさを感じ始めた (Fig.1)。SpO₂ が低下し始めた時点は、患者3名で息止め継続が出来なくなった後であった。全例で呼吸再開後に過換気が出現したが、SpO₂ 値はその後更に低下し最低値に至った。患者と健常人で SpO₂ が低下していく変化を比較すると、SpO₂ 値 (%) は患者 (A) 95.9 ± 1.2, (B) 96.0 ± 0.9, (C) 95.1 ± 0.8, (D) 91.7 ± 1.7, 健常人 (A) 97.7 ± 0.5, (B) 97.1 ± 0.6, (C) 95.7 ± 1.1, (D) 93.0 ± 1.7 で、有意な違いはなかった (p=0.267)。息苦しさを感じ始めるまでの時間 (A - B) は患者 21.3 ± 5.7 秒, 健常人 29.0 ± 9.5 秒, 息こらえが継続できた時間 (A - C) は患者 35.6 ± 8.1 秒, 健常人 49.0 ± 15.7 秒, SpO₂ 最低値に到るまでの時間 (A - D) は患者 52.4 ± 8.1, 健常人 74.0 ± 19.0 秒, 呼吸再開から SpO₂ が息こらえ開始前の値に戻るまでの時間 (C - D) は患者 28.9 ± 3.2, 健常人 41.5 ± 6.0 秒であり、いずれも患者では健常人よりも短かった (有意差は A - B は p=0.0582, A - C は p=0.0319, A - D は p=0.0071, C - D は p=0.0001)。日常生活24時間での SpO₂ 変動範囲の最低値 (87.7 ± 2.4) と比較し、息こらえ継続不能時の SpO₂ 値 (95.1 ± 0.8) は全例で、また呼吸再開後にみられた SpO₂ 最低値 (91.6 ± 1.7) も1名を除いた8名で、より高かった (Fig.2)。なお覚醒安静座位での SpO₂ は患者6名で日常の変動範囲の最高値より低かった。また SpO₂ 変動範囲のモニター中に息苦しさを訴えることはなかった。なお2種類の測定機器での同時測定を、4人の患者で安静呼吸と深呼吸を含め約15~30分間行ったが SpO₂ 値はほぼ一致していた。

Figure 1

Figure 1: SpO₂ changes in breath-holding test.

Patients feel dyspnea before decrease of SpO₂, as 2 out of 8 healthy controls.
In 3 patients, SpO₂ starts to decrease after they give up breath-holding.

考 察

MyD患者では息こらえでも息苦しきは生じにくいのではないかと予想したが、予想に反し、息こらえではSpO₂が低下する前に息苦しきは生じ、健常者との間に有意な差は認められなかった。さらに、息苦しさを訴えた時のSpO₂や息こらえで生じた最低値は、睡眠中も含めた日常生活でのSpO₂最低値を下回る値であった。息こらえでは低酸素状態での息苦しきの知覚を評価できないことが判り、低酸素状態での息苦しきと息こらえでの息苦しきは別の機序に基づくことが示された。なお、息こらえ自体の持続時間、酸素飽和度の最低値までの時間、また回復するまでの時間が、患者群で短かったのは、開始前の酸素飽和度が低いことが反映されていると考えられる。

息苦しきや呼吸困難感は一連の感覚ではなく、生理学的機序も単純ではないことが示唆されている^{4,5}。息こらえで生じる息苦しきは空気飢餓感に近い感覚とされ⁴、呼吸努力とは無関係で、機械的刺激や化学的刺激に依存すると考えられる。MyD患者でも、少なくとも息こらえで生じる息苦しきに関する入力系の一部と中枢は正常に保たれていると考えられる。息こらえ試験では、呼気終末二酸化炭素分圧は息止め中の値が得られず、経皮的測定も反応に時間を要するために、

二酸化炭素分圧の検討は出来なかった。呼吸困難の知覚の評価方法には、呼吸に抵抗を加えた時の主観的評価⁶や、再呼吸による呼気炭酸ガス上昇時の炭酸ガス分圧や換気量と呼吸困難感の変化^{7,8}があるが、MyD患者での検討はなく、今後の検討を要する。

覚醒時の息こらえと睡眠時無呼吸とで酸素飽和度低下を比較すると、一般に酸素飽和度の低下率は睡眠時無呼吸と覚醒時息こらえとではほぼ同じで、無呼吸開始時点での酸素飽和度に依存する⁹。MyDでも睡眠時無呼吸による低酸素状態が著しいことが多く、覚醒時の息こらえ試験でも、ある程度の推測が出来る可能性がある。

非侵襲的陽圧換気(NIPPV)は、呼吸筋力が低下した神経筋疾患患者で寿命の延長などに有用だが、MyD患者では精神発達遅滞や知的機能低下を伴うこともあり、NIPPVの導入に関して、必ずしも合理的な説明で理解が得られず、NIPPV導入自体に拒否的なこともある。導入して呼吸状態が改善しても、しばしばコンプライアンスは悪い¹⁰。しかしMyD患者でも息こらえによる低酸素状態は息苦しきを伴うため、息苦しきを本来感じるはずの低酸素状態の重大さを実感させ、理解を促進するには、息こらえによるシミュレーションは有用であると考えた。

今回の息こらえ試験は座位で行った。MyD患者の呼吸は姿勢による違いがあることが多いために、息こらえによる酸

Figure 2

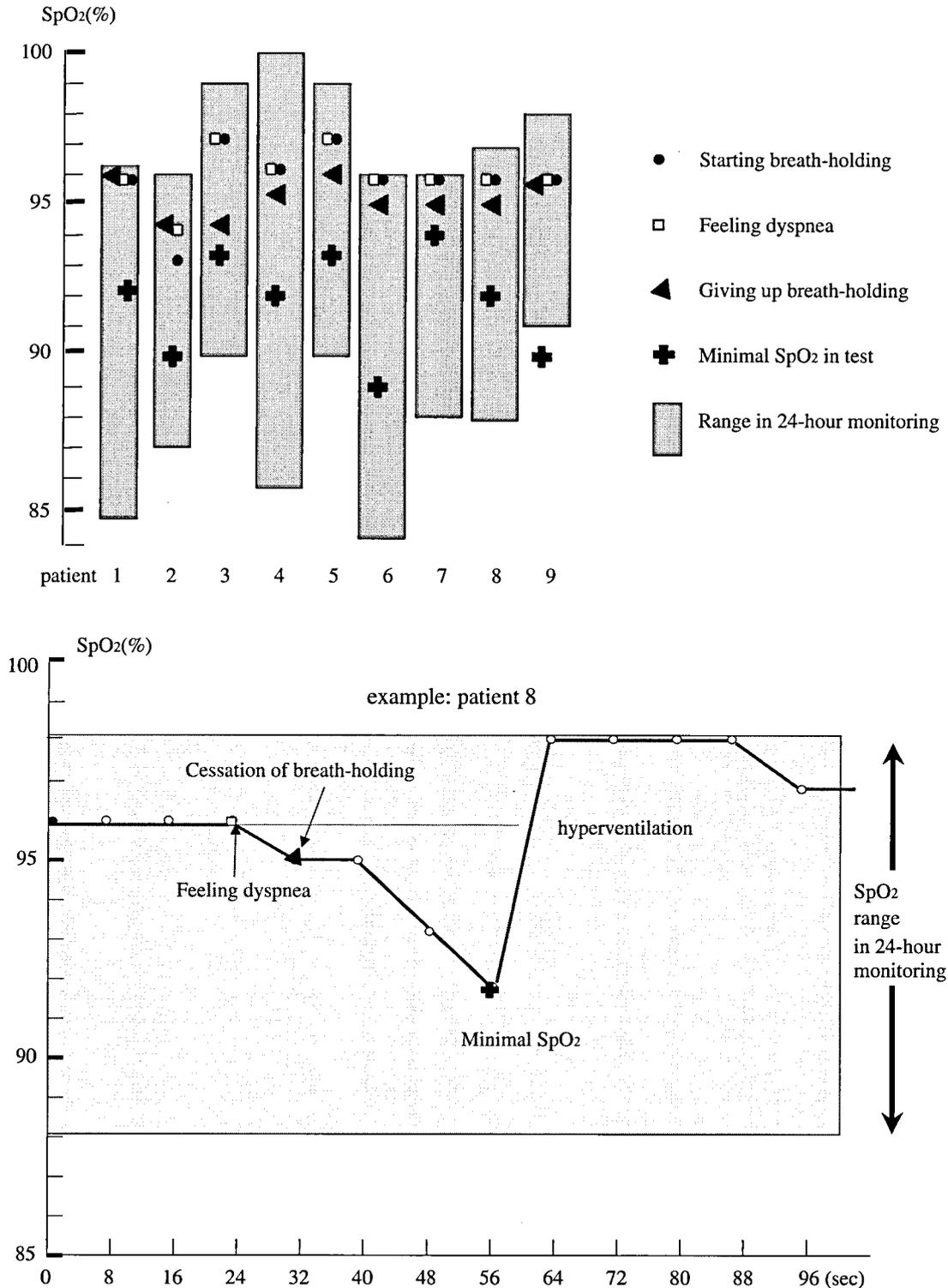


Figure 2: SpO₂ ranges in breath-holding test and in 24-hour monitoring in 9 patients.

In all but one patient, minimal SpO₂ induced by breath-holding is higher than minimal SpO₂ in 24-hour monitoring. In 6 patients, when sitting awake at rest, SpO₂ is lower than maximal SpO₂ in 24-hour monitoring.

Example: patient 8.

素飽和度低下が、睡眠中の無呼吸による酸素飽和度低下と同じかどうかは、臥位での検討も要するであろう。

付記：この論文は臨床神経45巻2005年2月号に掲載され

文 献

- 1) 尾方克久, 河野 智, 小宮 正ら: 呼吸機能と夜間酸素飽和度の対比からみた Duchenne 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 1996;36:850-853
- 2) 中山貴博, 山本敦子, 内山 剛ら: 筋強直性ジストロフィーの呼吸調節機能異常. 臨床神経 1999;39:1006-1009
- 3) Carroll JE, Zwillich CW, Weil JV: Ventilatory response in myotonic dystrophy. Neurology 1977;27:1125-1128
- 4) Simon PM, Schwartzstein RM, Weiss JW, et al: Distinguishable sensations of breathlessness induced in normal volunteers. Am Rev Respir Dis 1989;140:1021-1027
- 5) Manning HL, Schwartzstein RM: Pathophysiology of dyspnea. N Engl J Med 1995;333:1547-1553
- 6) Weiner P, Inzelberg R, Davidovich A, et al: Respiratory muscle performance and the perception of dyspnea in Parkinson's disease. Can J Neurol Sci 2002;29:68-72
- 7) Lanini B, Misuri G, Gigliotti F, et al: Perception of dyspnea in patients with neuromuscular disease. Chest 2001;120:402-408
- 8) Lanini B, Gigliotti F, Coli C, et al: Dissociation between respiratory effort and dyspnoea in a subset of patients with stroke. Clin Sci 2002;103:467-473
- 9) Strohl KP, Altose MD: Oxygen saturation during breath-holding and during apneas in sleep. Chest 1984;85:181-186.
- 10) Nugent AM, Smith IE, Shneerson JM: Domiciliary-assisted ventilation in patients with myotonic dystrophy. Chest 2002;121:459-464.

筋強直性ジストロフィーの夜間低酸素に対するアマンタジンの効果

多田 和雄 (14,15年度), 二村 直伸 (16年度)
戸根幸太郎, 河本 邦彦, 小坂加代子, 三谷 真紀

要旨: 筋強直性ジストロフィー (MyD) の呼吸不全に対する薬物治療の可能性を検討した。夜間のSpO₂の低下があるMyDの患者5人にアマンタジンを投与し, パルスオキシメーターで夜間低酸素の検討を行った。さらに別な患者2人にアマンタジンを投与した後にクロミプラミンを眠前に追加投与し, 高度夜間低酸素の検討を行った。軽度の夜間低酸素の症例ではアマンタジンが無効であったり, あるいは小さな効果が短期間だけみられた。高度の夜間低酸素の症例では1例だけではあるが1年以上著明な効果が持続し, 極度の夜間低酸素の症例では4ヵ月しか測定できていないが著明な効果があった。2症例で, クロミプラミンの少量投与で夜間高度低酸素が有意に改善した。

目 的

筋強直性ジストロフィー (MyD) の呼吸不全に対して呼吸器療法が行われているが, 呼吸器の使用を拒否したり, うまく使用できなかったり, あるいは呼吸器を使用しなくてもそれほど大きな影響がない場合もある。MyDの呼吸機能障害は末梢性よりも中枢性の要素が強い場合が多いことが知られているので, この呼吸不全にたいする薬物治療の可能性を検討した。

方 法

夜間 (午後9時から午前6時) のSpO₂の低下があり, PaCO₂の上昇のみられるMyDの患者5人 (当初4人, 後に1人追加) の同意を得たうえで, アマンタジンを100mg分2投与し, パルスオキシメーターで夜間低酸素 (SpO₂が90%以下) の検討を行った。さらに別の患者2人の同意を得たうえで, アマンタジンを100mg分2投与し, 10-14日後にクロミプラミン10mgを眠前に追加投与し, パルスオキシメーターで夜間低酸素および高度夜間低酸素 (SpO₂が80%以下) の検討を行った。

結 果

アマンタジン投与1日後に, 4名中3人の夜間低酸素が改善した。1名は変化がなかった (fig.1)。投与7日, 10日, 14日後には, 4名中3名の夜間低酸素が有意に改善した (夜間のSpO₂が90%以下の時間がアマンタジン投与前の44.8 ± 15.5%になった。)。1名には有意差がでなかった (fig.2)。

12ヵ月以上継続して測定できたのは2名であった。アマンタジン投与後1ヵ月で1名が便通の異常を訴え, 投与を中止した。3ヵ月で1名が四肢の浮腫を訴え, 投与を中止した。

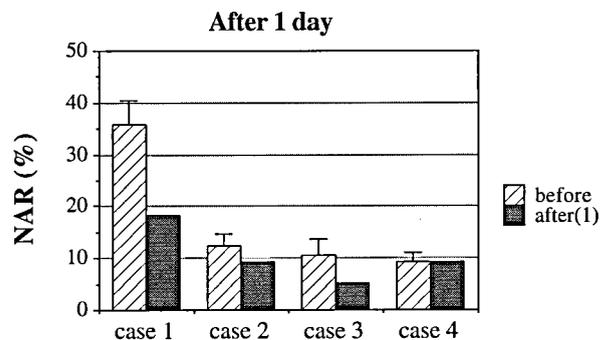


Fig. 1

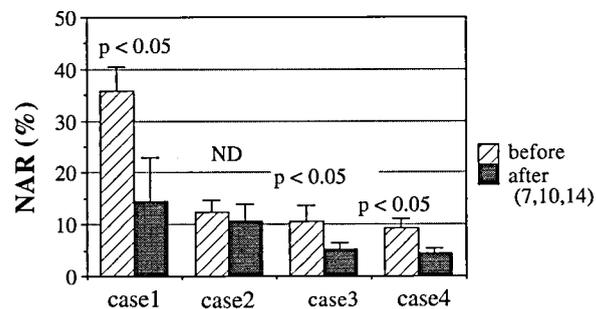


Fig. 2

中止後約2週間で浮腫は消失した。4ヵ月で1名がSpO₂の測定に非協力的となり, 測定できなくなった。長期投与した2名のうち1名は投与前の夜間低酸素率 (NAR) が35.8 ± 4.8%, 1ヵ月未満が16.5 ± 6.8%, 1ヵ月以上13ヵ月までが11.6 ± 10.5%でアマンタジンの効果が持続した (fig.3, 4, 5)。もう1名は, 投与前が10.6 ± 3.0%, 1ヵ月未満が4.7 ± 1.7%, 1ヵ月以上12ヵ月までが7.7 ± 2.3%、13ヶ月以上22ヶ月までが11.1 ± 2.7%で, 1ヵ月未満では有意に改善したが, 1ヵ月以上22ヵ月まででは投与前と有意差がなくなった (fig.6)。

投与前のNARが10%前後の3名では1名が投与前12.4 ±

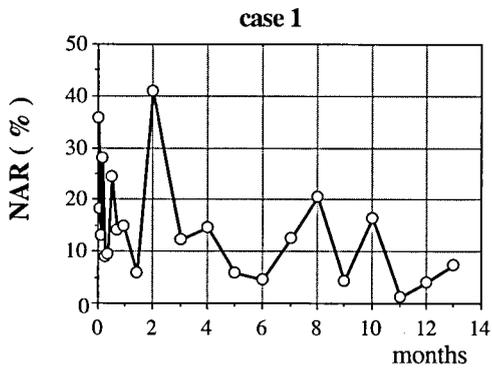


Fig. 3

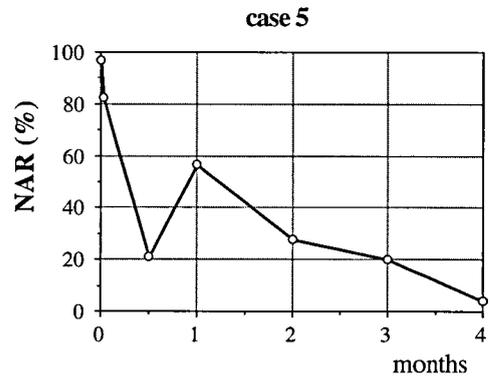


Fig. 6

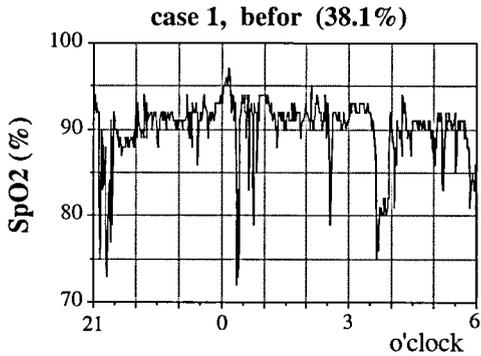


Fig. 4

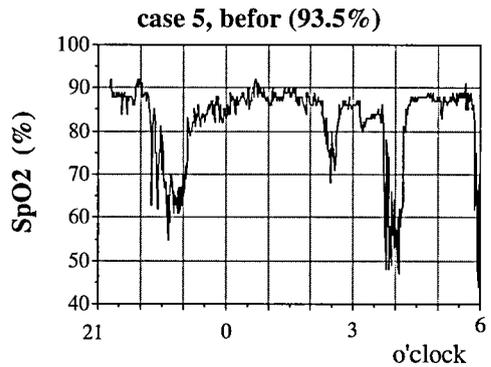


Fig. 7

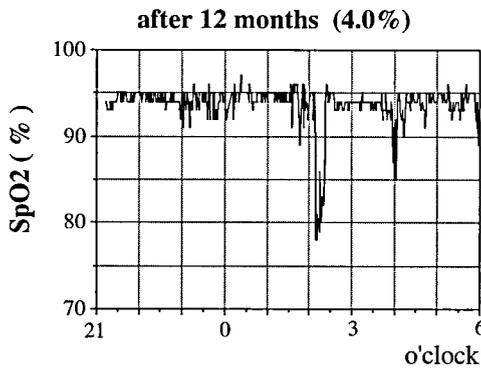


Fig. 5

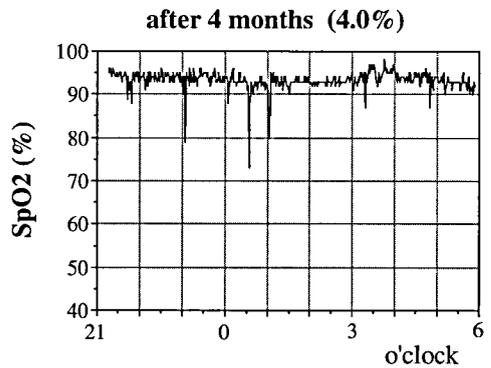


Fig. 8

2.4%, 1ヵ月未満が $11.0 \pm 3.1\%$ で効果なく, 1名は1ヵ月未満では有効であったが長期には無効であり, もう1名は投与前が $9.3 \pm 1.9\%$, 3ヵ月未満が $5.3 \pm 1.8\%$ で, 3ヵ月までは有効であったが, 投与中止後 $54.5 \pm 23.9\%$ と悪化した.

投与前のNARが $35.8 \pm 4.8\%$ の症例では13ヵ月まで有効であり, NARが著明に改善した. 投与前のNARが $96.9 \pm 3.2\%$ の症例では投与後4ヵ月までが $35.4 \pm 28.8\%$ で, NARが著明に改善した (fig.7, 8, 9).

クロミプラミン追加投与した2名のうち1名は投与前の夜間低酸素率 (NAR) が $31.8 \pm 9.1\%$, 夜間高度低酸素率 (NSAR) が $1.46 \pm 0.04\%$ であった. アマンタジン投与7-10日後, NARが $20.8 \pm 4.4\%$ と低下したが有意差はなかった. NSARは $1.42 \pm 0.75\%$ と変化なかった. クロミプラミン追加投与3-14日後, NARは $26.5 \pm 12.7\%$ とかえって上昇したが有意差はなかった. NSARは $0.35 \pm 0.43\%$ と有意に低下した

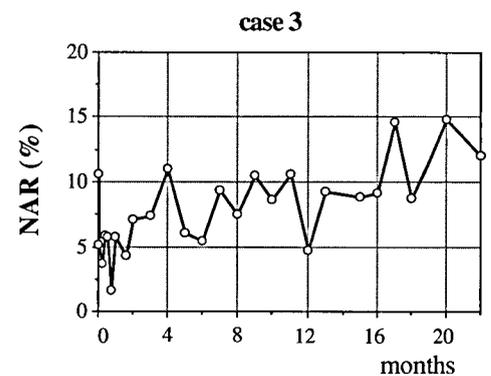


Fig. 9

(fig.10, 11, 12). クロミプラミン追加投与15日後, 視力低下を訴え, 緑内障が疑われたためクロミプラミンの投与を中止した. 中止後視力は元に戻った.

もう1名は投与前の夜間低酸素率 (NAR) が $50.7 \pm 6.0\%$,

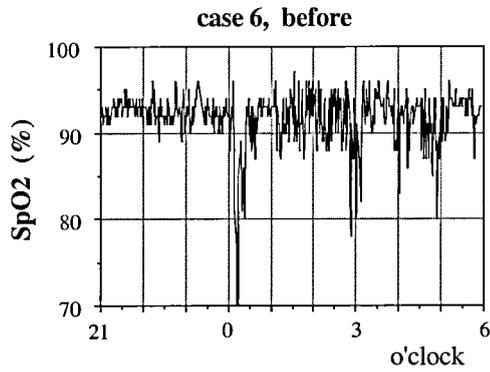


Fig. 10

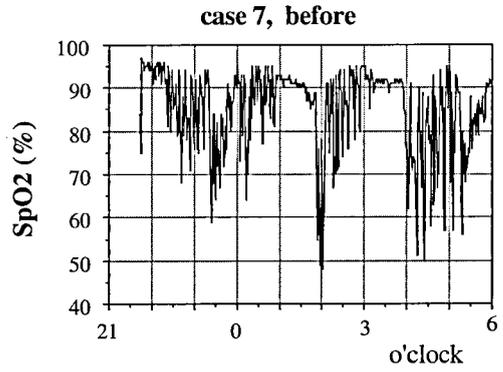


Fig. 13

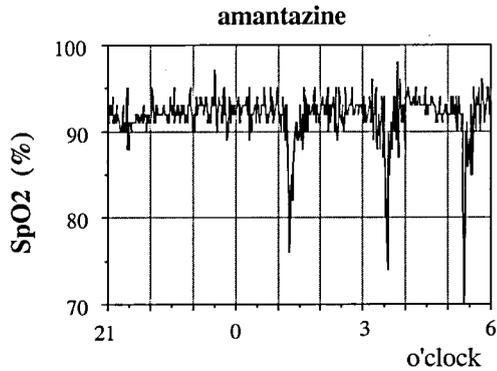


Fig. 11

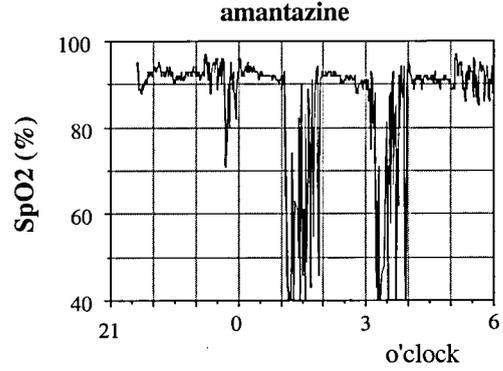


Fig. 14

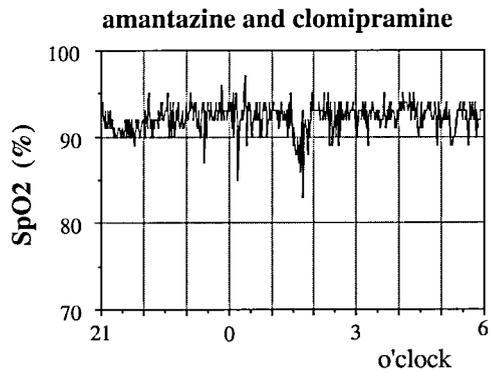


Fig. 12

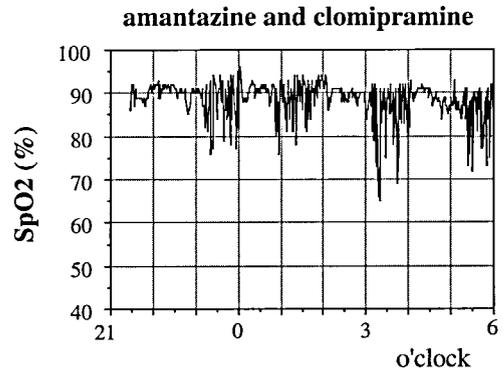


Fig. 15

夜間高度低酸素率 (NSAR) が $22.2 \pm 3.0\%$ であった。アマンタジン投与7-10日後, NARが $52.2 \pm 17.9\%$, NSARは $22.0 \pm 8.8\%$ と, 変化なかった。クロミプラミン追加投与3-14日後NARは $67.6 \pm 10.2\%$ とかえって上昇したが有意差はなかった。NSARは $8.9 \pm 4.5\%$ と有意に低下した (fig.13, 14, 15)。アマンタジン投与後便通異常を訴えたが, 下剤の調整で訴えは消失した。

考 察

MyDの呼吸機能障害に対してセロトニンレセプターアゴニストが有効との報告がある。また自験例でキサンチン誘導体が有効であった。しかし直接呼吸中枢を刺激する方法では, 当初は有効であっても次第に効果が弱くなることが考えられ, 長期投与がためらわれる。

アマンタジンが4名中3名に対して有効であったが, アマ

ンタジンが間接的 (あるいは直接的) に呼吸機能を刺激していることが考えられる。またMyDの患者の夜間SpO₂が低下しているときに体位交換すれば直ちにSpO₂の上昇がみられることは日常的に経験することであり, 睡眠の状態により呼吸状態が影響をうけていることが考えられ, アマンタジンが睡眠状態に影響を与えていることも考えられる。軽度の夜間低酸素の症例ではアマンタジンが無効のことがあり, また有効な場合でも効果が長期に持続しなかったり, またその効果も大きなものではなく, アマンタジンの有用性は少ない。ただし投与中止後にNARが悪化したことから, アマンタジンが自然経過によるNARの悪化を防いでいる可能性も否定できない。

高度の夜間低酸素の症例では1例だけではあるが1年以上著明な効果が持続し, 極度の夜間低酸素の症例では4カ月しか測定できていないが著明な効果があり, アマンタジンが有用であった。

夜間低酸素に対するアマンタジンの作用機序は明らかではないが、全測定のうち数回SpO₂が100%の状態が持続することがあったことから、アマンタジンが呼吸中枢を刺激していることが考えられる。またアマンタジン投与後に極端にSpO₂が低下する回数が減ったりその時間が短縮したりすることから、アマンタジンが睡眠の状態を変えていることが考えられる。

極端にSpO₂が低下する現象を改善するためにクロミプラミンの少量投与を行ったが、2症例で、夜間高度低酸素が有意に改善した。今回症例数が少なく睡眠脳波の測定もしていないが、クロミプラミンがREM睡眠を遮断することが知られており²³⁾、夜間高度低酸素の改善がREM睡眠遮断による可能性があると考えられる。ただし有意差はなかったが夜間低酸素率はかえって上昇しており、また投与期間が短く、どの程度の期間効果が持続するかわかっておらず、臨床上の有効性を考えるにはさらに症例数を増やし、長期のデータが必要である。

文 献

- 1) 本家一也, 狩野 操, 土井建朗. 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5-H1Aレセプターアゴニストの有用性について. 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報告書. 2002: 208
- 2) Kupfer DJ, Ehlers CL, Pollock BG, et al: Clomipramine and EEG sleep in depression. *Psychiatry Res.* 1989; 30: 165-180,
- 3) 尾方克久, 河野 智, 谷田部可奈ら: Duchenne型筋ジストロフィーの夜間周期性低酸素血症に対するクロミプラミンの効果. *臨床神経* 1996; 36: 602-604

筋強直性ジストロフィーにおける Sniff nasal inspiratory pressure (SNIP) の検討

下山 良二

要旨：CHEST社製呼吸筋力計・VITALOPOWER KH-101を用いMyD患者12例のsniff nasal inspiratory pressure (SNIP)を測定した。SNIPと最大吸気時口腔内圧 (P_Imax)は有意な相関を示した。SNIPはP_Imaxより有意に低値を示したが、SNIPと肺活量 (VC)は有意な相関を示し、SNIPがMyDの呼吸筋力評価に有用であることが示唆された。

Key Words：筋強直性ジストロフィー，sniff nasal inspiratory pressure (SNIP)，最大吸気時口腔内圧 (P_Imax)

はじめに

吸気筋力の評価法として最大吸気時の口腔内圧 (P_Imax)が用いられてきたが、マウスピースの周りの空気漏れや不完全な吸気努力により評価は困難となることが指摘されている。近年、吸気筋力の評価法として、最強のSniff (ひとかき、鼻からすう)における鼻孔の陰圧を測定するsniff nasal inspiratory pressure (SNIP)の手法¹⁾が報告されている。SNIPはP_Imaxに比べマウスピースを必要とせず、またP_Imaxの様に閉塞気道にたいし持続的な最大吸気を行うのと異なり、瞬間的に横隔膜が収縮した状態を測定するため高度の協調運動を要さず、小児²⁾や多様な神経筋疾患³⁾での非侵襲的かつ簡便な吸気筋力の評価法としての有効性が報告されている。顔面筋の筋力低下や意欲低下がみられることの多い筋強直性ジストロフィー (MyD)患者ではP_Imaxの測定に困難を生じることが予想され、それに代わる吸気筋力の指標としてのSNIPの有効性を評価することは必要であると思われた。

対象・方法

対象はMyD患者の12例 (男性5例、女性7例)であり、年齢は29から62歳にわたり、平均は46.9 ± 11.2歳 (mean ± S.D.)であった。厚生省筋ジス班障害度分類では2から8にわたる。SNIP、最大吸気圧 (P_Imax)ならび肺活量 (VC)を測定した。健常人でのSNIPとP_Imaxとの関連をみるため9例の対照群 (年齢33.6 ± 9.8歳、男性7名、女性2名)でSNIPとP_Imaxを測定した。

SNIPの測定はCHEST社製呼吸筋力計・VITALOPOWER KH-101を用いた。センサーのマウスピース接続部に熱可塑性プラスチックを介して栄養注入用シリンジの先端を接合した。シリンジ先端の回りを密ろう粘土で覆い、空気漏れのないように鼻孔にあわせたプラグを作り、これを鼻孔に挿入した。

SNIPの測定法は先に述べた、プラグを鼻孔に挿入し座位

で軽く息を吐いた状態 (FRC)で、もう一方の鼻孔からシャープな最強のSniffを行わせ、その陰圧を記録した。最低30秒の休憩をとり、10回の試行を行い最大の値を結果として用いた。

P_Imaxも同じ機器を用い、フランジつきマウスピースを用い座位にて鼻クリップで鼻をふさぎFRCから測定した。最低1分ずつの休憩をとり5回の試行を行い、最大の値を結果として採用した。

結 果

MyD患者群の測定結果を表に示す (Table)。

MyD患者群では1例がマウスピースをくわえられずP_Imax・VCともに測定不能であった。以下、SNIPと

Table 1 MyD12例の検査結果

症例	生別	年齢	障害度	SNIP (cmH ₂ O)	P _I max (cmH ₂ O)	VC(L)	SNIP/P _I max
1	M	29	2	46	58.2	2.11	0.79
2	M	30	4	15.2	23	1.03	0.66
3	F	36	3	32	46.7	2.57	0.69
4	M	40	2	89.2	107.7	3.71	0.83
5	F	43	2	43.5	35.2	3.31	1.24
6	F	49	7	19.5	26.5	1.97	0.74
7	F	49	7	9.5	12.7	1.04	0.74
8	F	52	8	12.5	※	※	
9	F	56	2	28.5	46.7	1.37	0.61
10	M	56	7	15.5	29.5	1.75	0.53
11	F	60	6	15.5	15.3	1.19	1.01
12	M	62	7	6.5	11	1.02	0.59

P_Imaxがともに測定可能であった11例での検討を行う。

SNIPの平均は29.2 ± 23.8cmH₂O、P_Imaxの平均値は37.5 ± 27.8 cmH₂Oであった。SNIPとP_Imaxは有意な正の相関を示した (r=0.96, p<0.0001) (Fig.1)。9例でSNIPはP_Imaxより小さい値を示し、SNIPはP_Imaxより有意に低値を示した (p<0.01) (Fig.2)。

VCに対しSNIPとP_Imaxは、ともに有意な正の相関を示した (SNIPとVC r=0.87, p<0.0005) (P_ImaxとVC r=0.78, p<0.005) (Fig. 3, Fig. 4)

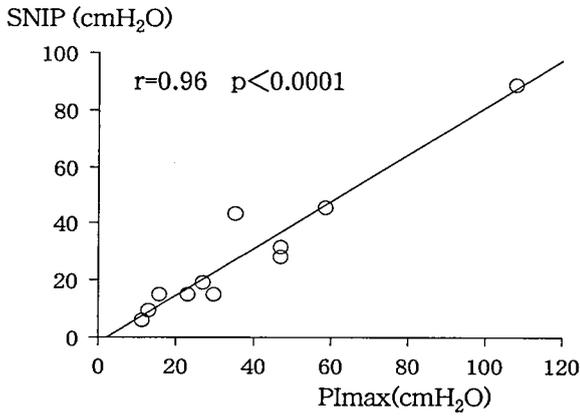


Fig.1 SNIPとPImaxの関係 (MyD11例)

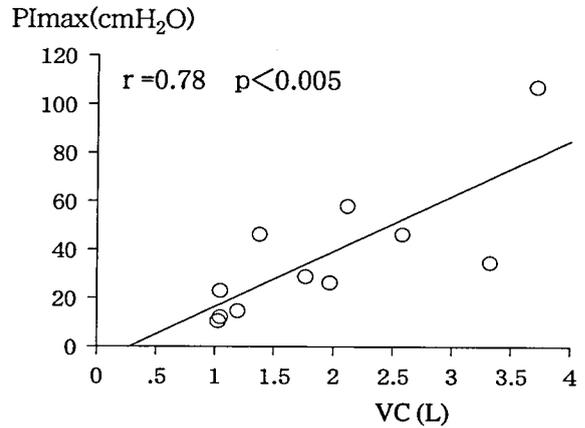


Fig.4 PImaxとVCの関係 (MyD11例)

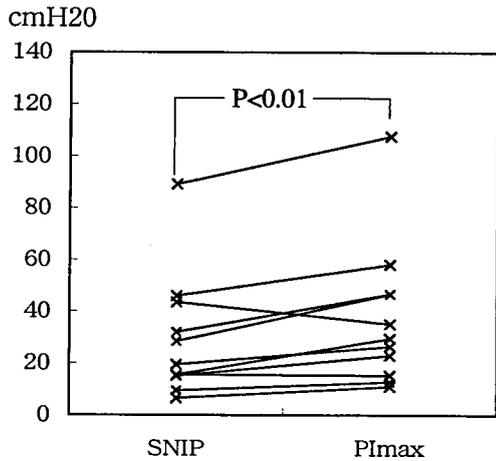


Fig.2 SNIPとPImaxの比較 (MyD11例)

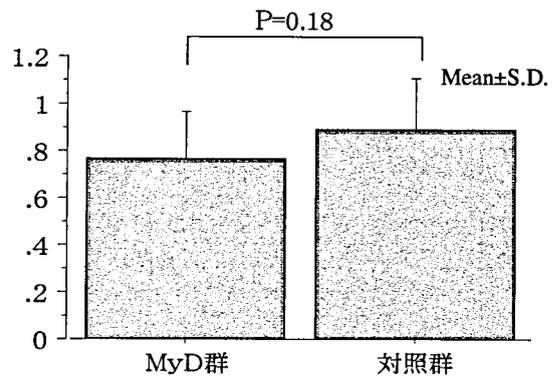


Fig.5 SNIP/PImax, MyD群と対象群との比較

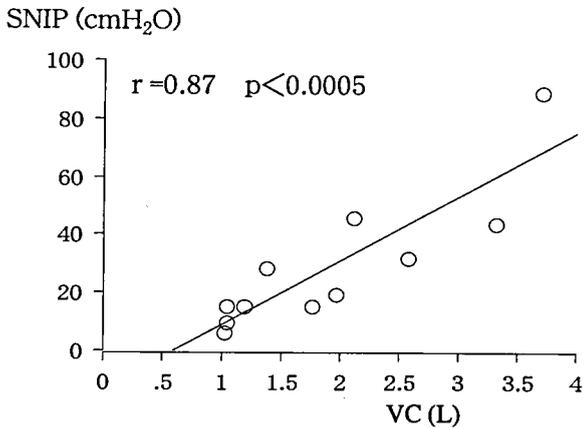


Fig.3 SNIPとVCの関係 (MyD11例)

MyD患者のSNIPとPImaxの比 (SNIP/PImax) は 0.77 ± 0.20 で、対照群でのSNIP/PImax (0.90 ± 0.21) より低い値であったが、有意差は認められなかった ($P=0.18$) (Fig. 5).

考 察

MyDの呼吸筋力に注目した研究は五十嵐ら⁴⁾の報告があ

り、標準値と比較してMyDでは肺活量の低下より最大換気流量・呼吸筋力 (最大吸気時・呼気時の口腔内圧) の低下が著しく、MyDの換気機能障害を早期にとらえるためには最大換気量と呼吸筋力に注目する必要があると述べている。しかしPImaxの手技は過酷であり不快なものであり、仮に低い値が得られたとしても真の吸気筋力低下を示している以外に、やる気 (モチベーション) の欠如や非協力的であったという可能性が否定できない。MyD患者においては顔面の筋力低下を認めマウスピースをくわえることが困難であると予想される。また松永がMyDの中樞神経症状のreviewのなかでMyDの性格変化に共通しているものとして「自主性低下、無関心、非活動性」を上げていた⁵⁾ようにPImaxを行う上でのモチベーションの低さが予想される。以上のことからMyDの吸気筋力をPImaxの手法により評価するのは困難があると思われる、MyD患者の吸気筋力の測定の代替的な手段としてのSNIPの検討は必要なものと思われた。

今回の検討でもマウスピースをくわえられずPImax・VCともに測定不能であったMyD患者が1例あったが、SNIPの測定は可能であった。Sniffは瞬間的で自然な運動でありSNIPはマウスピースが不要で意欲の低下しているMyD患者でも容易に施行でき、MyD患者におけるSNIPの有用性を示す結果と思われる。

SNIPの正常値(絶対値)は男性で70cmH₂O以上、女性で60cmH₂O以上⁹⁾であり今回のMyDでの検討では障害度2の男性患者一例をのぞいてSNIPは60cmH₂O以下であり、平均は29.2 ± 23.8cmH₂Oで正常値より非常に低い値をとっていた。

健康成¹⁾りや神経筋疾患²⁾を対象とした検討で、SNIPはPI_{max}より高値を示す傾向が報告されている。MyD患者では顔面の筋力が低下しマウスピースをしっかりとくわえることができずPI_{max}はSNIPより低い値を示すと予想されたが、今回の検討ではMyD患者群ではSNIP/PI_{max}は0.77 ± 0.20でSNIPはPI_{max}より有意に低値を示し、健康対照群でもSNIP/PI_{max}は0.90 ± 0.21であり他の報告の結果とは異なっている。この理由として考えられるものを述べることにする。

① Sniffにおいては鼻孔が狭窄をきたすが、10から15cmH₂Oの臨界値以上の吸気圧では鼻孔の抵抗が吸気圧に比例して高くなることで鼻孔の吸気流量は一定となると報告されている⁷⁾。今回検討したMyDの症例ではSNIPが15cmH₂O台以下の例が6人を占めており、このように吸気筋力が非常に低下するとSniffに見られる鼻孔の狭窄が不十分となり、圧のロスを生じSNIPがより低く測定された可能性がある。一方PI_{max}は鼻孔を閉鎖しており圧のロスがなく、その結果SNIP/PI_{max}が低くなったと思われる。

② ZifkoらはMyDでは皮質磁気刺激で横隔膜・肋間筋のCMAPが小さく、興奮域値も高いことを明らかにし、これを中枢神経の吸気ドライブの障害によるものと述べている⁸⁾。MyDにおいては他の神経筋疾患にもみられる吸気筋力低下の因子以外に、このような中枢神経の吸気ドライブの障害によりSniffにおける横隔膜の瞬間的な収縮の障害が生じSNIPがより低くなった可能性も考えられる。

③ PI_{max}は1秒間の平均値で表す⁹⁾ことが推奨されており他の報告でもPI_{max}を1秒間の平均値で表すのに対し、今回の報告で使用した機器(CHEST社製呼吸筋力計・VITALOPOWER KH-101)はPI_{max}をピーク圧のみで表現するものであった。この結果今回の検討ではMyD群・健康対照群ともに他の報告よりもPI_{max}を過大に評価した可

能性も否定できず、健康対照群でもSNIP/PI_{max}の平均が0.9となった可能性がある。

MyDにおいてSNIPはPI_{max}と同様にVCに対し有意な正の相関を示し、SNIPがMyDにおける吸気筋力の評価法として有用であることを示唆するものである。SNIPはPI_{max}よりも値が小さいものの、PI_{max}が困難なMyD症例においても可能な検査であると思われる。

文 献

- 1) Uldry C, Fitting JW : Maximal values of sniff nasal inspiratory pressure in healthy subjects. *Thorax* 1995 ; 50 : 371-37
- 2) Stefanutti D, Fitting JW : Sniff nasal inspiratory pressure. Reference values in Caucasian children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 ; 159 : 107-111
- 3) Stefanutti D, Benoist MR, Scheinmann P, et al : Usefulness of sniff nasal pressure in patients with neuromuscular or skeletal disorders. *Am J Respir Crit Care Med* 2000 ; 162 : 1507-1511
- 4) 五十嵐ら : 筋強直性ジストロフィー患者の呼吸機能, 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1999 : 251
- 5) 松永宗雄 : 筋強直性ジストロフィーの中枢神経症状. *神経内科* 1988 ; 29 : 461-468
- 6) ATS/ERS Statement on Respiratory Muscle Testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 166 : 518-624
- 7) Bridger P, Proctor F : Maximal nasal inspiratory flow and nasal resistance. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1970 ; 79 : 481-48
- 8) Zifko UA, Hahn AF, Remtulla H, et al : Central and peripheral respiratory electrophysiological studies in myotonic dystrophy. *Brain* 1996 ; 119 : 1911-1922

¹³C-酢酸呼気試験法を用いた筋強直性ジストロフィー患者の胃排出能の評価および消化管運動亢進剤（クエン酸モサプリド）の有用性に関する検討

内田 靖, 勝部 知子, 下山 良二

要旨：¹³C-酢酸呼気試験にて、消化管運動亢進剤を内服していない筋強直ジストロフィー患者10名の胃排出能を検討した。一般成人男性の56.02±8.82分に比し、筋強直ジストロフィー患者では79.24±22.72分と有意な胃排出能の延長が認められた。また、胃排出能と肺機能（肺活量、血中ガス分析値など）、心機能（BNP値）および臨床的障害度との間には有意な相関は認められなかった。さらに、消化管運動亢進剤（クエン酸モサプリド）を投与したが、83.12±24.97分と胃排出能の改善はみられなかった。

Key words: 胃排出能, ¹³C-酢酸呼気試験, 筋強直ジストロフィー, 消化管運動亢進剤

はじめに

筋強直ジストロフィーにおける腹部症状の主な誘因として、消化管平滑筋障害による消化管運動障害が推察されているが、その詳細な検討は少ない¹⁾。その一方で消化管平滑筋に作用する消化管運動亢進剤にて腹部症状が改善する報告例があり²⁾、客観的検討も乏しいまま薬物治療が行われている。

上部消化管愁訴において胃排出遅延が主要な原因と考えられているが、臨床的胃排出能評価方法については未だ明確なコンセンサスは得られていない。現在までに、胃排出能を測定する方法としてradioisotope (RI) 法、アセトアミノフェン法、放射線不透過マーカー法などが行われてきたが、手技的煩雑さ、侵襲性、危険性、経済性などの問題から、研究的検査とみなされ日常臨床上の検査としては使用されていないのが現状である³⁾。一方、1988年、Ghoosらが¹³C-化合物を用いた呼気試験法を報告し⁴⁾、非侵襲的な新しい胃排出能検査法として注目され、本邦においても数施設で基礎的検討が行われている。RI法との比較検討においても高い相関を示したことから、呼気試験法はRI法に代わり得る検査法として日本平滑筋学会を中心に検査方法の標準化に向けて検討中である⁵⁾。

今回、同方法を用いることにより筋強直ジストロフィー症例における胃排出能を検討すると共に、薬物投与による効果を客観的に評価した。

対象と方法

本研究につき説明同意の得られた当院入院中の、消化管運動亢進剤を内服していない筋強直ジストロフィー患者10名を対象とした。内訳は男性4名、女性6名、平均年齢52.5±9.1 (38~65) 歳、厚生省筋ジス班による障害度分類はⅢが1名、Ⅳが1名、Ⅴが3名、Ⅵが2名、Ⅶが3名で全例自発呼

吸症例であった。上部消化管症状につきQUEST問診票(患者自記式質問表による上部消化管症状をスコア化した問診表⁶⁾)を用いて聞き取りを行った。朝絶食後、1300mlの呼気を採取後、¹³C-酢酸ナトリウム100mg含有の流動食ラコール[®]200mlを摂取させ、座位にて摂取後10、15、20、30、40、50、60、75、90、105、120分後の11ポイントで120mlの呼気を採取した。胃排出能は、得られた呼気中の¹³CO₂濃度をUBiT-IR300[®](大塚電子株式会社)にて測定し、簡易胃排出能検査プログラム⁷⁾にて作成した排出曲線上のTmax(呼気中¹³C存在率が最高となるまでの時間)をもって評価した。対照として健康成人男性7名に対して同様に¹³C-酢酸呼気試験を行った。また、TmaxとBMI、障害度分類、肺機能(肺活量、血中ガス分析値、夜間低酸素指数)および血中BNP値との相関を検討した。身長、体重、肺活量、血中ガス分析値、夜間低酸素指数および血中BNP値の測定は、呼気試験前4週間以内に行った。さらに、消化管運動亢進剤としてクエン酸モサプリド(15mg/day)を一週間内服後、再度QUEST問診票による聞き取りおよび呼気試験を行い、症状やTmaxの変化を観察し消化管運動亢進剤の効果を判定した。

結 果

QUEST問診票から、いずれの症例においても、むねやけ、腹部膨満感といった上部消化管症状は認められなかった。筋強直ジストロフィー患者10名の平均Tmaxは79.24±22.72分で、対照とした健康成人男性7名の平均Tmax 56.02±8.82分に比して有意(p<0.05)に延長が認められた(Fig.1)。また、TmaxとBMI、障害度分類、肺活量、血中ガス分析値、夜間低酸素指数、血中BNP値との相関を検討したが、有意な相関は得られなかった。

クエン酸モサプリド投与による症状の変化は認められず、投与後の平均Tmaxは83.12±24.97分で投与前に比して有意な変化は認められなかった(Fig.2)。

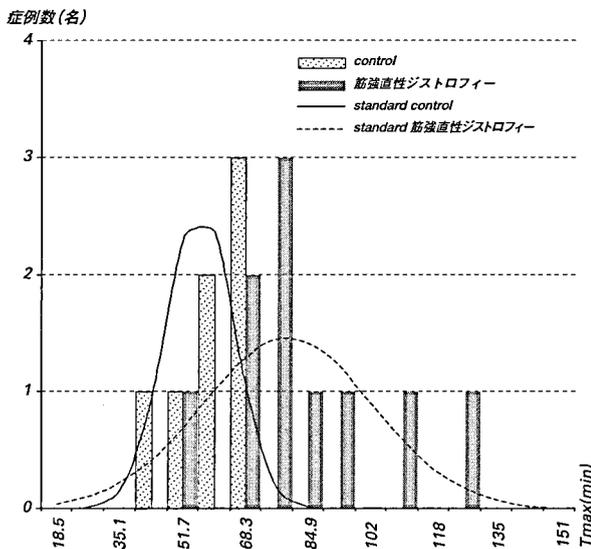


Fig.1 健康成人と筋強直ジストロフィー患者の胃排出能の比較

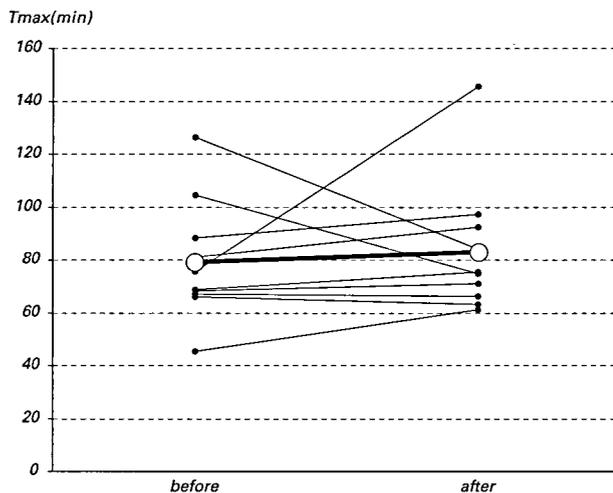


Fig.2 筋強直ジストロフィー患者におけるクエン酸モサプリド投与における胃排出能の変化

考 案

日常診療において患者が消化器愁訴を主訴に来院した際、内視鏡検査や超音波検査などの画像診断で原因となり得る器質的病変が同定されないことに遭遇することがある。そのような消化器愁訴には消化管運動障害が深く関与していると推察されるが、その機能異常を日常診療において客観的に検討されることは少ない。その理由の一つとして、客観的な標準検査が広く普及していないためと我々は考えている。今回、消化管運動障害のうち胃排出能につき検討を行ったが、その検査法も様々な方法が報告されており、大きく分けると、摂取した食物またはマーカークの排出動態を直接的に画像で捉える「直接法」、試験食とともに胃から排出された薬物や標識化合物が腸管から吸収されて血中や呼気中に現れたものを測

定することにより胃排出速度を調べる「間接法」となり、また、試験食から固形食法と液状食法にも分類できる。このうち、放射線活性をもつRI標識化合物を投与し対外からガンマカメラで撮影した画像イメージから機能評価を行うRI法は現在、胃排出能検査法の“gold standard”と考えられているが、手技的煩雑さ、侵襲性、経済性などの問題から、日常診療として普及していない。そこで我々は、非侵襲的で応用範囲が広いと考えられる「間接法」の一つである¹³C-酢酸呼気試験法を用いて胃排出能の検討を行った。

¹³C-酢酸呼気試験法は、経口投与された¹³C標識化合物が吸収・代謝されて呼気中に¹³CO₂として排泄されることを利用した検査法で、(1) 特殊な設備を必要としない、(2) ¹³C標識化合物が安定同位体であり取り扱いが容易、(3) 標識化合物として脂肪酸を用いるため肝障害などの危険性がなく安全、(4) 放射線被曝を伴わない、(5) 呼気採取により測定が可能であり採血による静脈穿刺を必要としない、(6) 技術的な熟練を要さないなどの利点^{8,9)}があり、近い将来、胃排出能検査として標準化される検査と考えられる。現在までに筋強直ジストロフィー患者の胃排出能についてRI法による検討が行われ、健常者に比して有意な延長を認めたと報告されている^{10,11)}。今回の¹³C-酢酸呼気試験法での検討でも同様な結果が得られた。また既報の如く、腹部症状のない段階ですでに胃排出能低下が生じていることも観察された¹²⁾。胃排出能低下が胃平滑筋の障害によるものかどうかは不明であるが、胃排出能の遅延は上腹部症状出現前から生じており、肺機能や心機能とは相関せずに変化すると推察された。しかし、直接法のRI法では胃から排出された核種が直後のガンマカメラ撮影で即座に反映されるのに対して、間接法である同方法は、筋強直ジストロフィー患者における食道運動機能障害¹³⁾、食道・胃・十二指腸の器質的疾患の存在や¹³C標識化合物の吸収(小腸)→代謝(肝)→排泄(肺)の過程での障害により影響を受けやすいと考えられ、その比較には更なる検討も必要と考えられる。

一方、消化管運動障害に由来すると考えられる上部消化管愁訴に対し、消化管運動亢進剤が使用される。今までに開発された消化管運動亢進剤はその作用機序から大別すると①ドーパミンD₂受容体遮断作用のあるもの、②セロトニン(5-HT₁~5-HT₄)受容体に作用するもの、③オピオイド受容体に作用するもの、④モチリン受容体に作用するものがあり、それぞれの受容体の刺激、あるいは拮抗作用によりアセチルコリンの遊離を促進して消化管平滑筋を収縮させ、消化管運動を促進すると考えられている。しかし、我々は以前より平滑筋そのものに障害を生じている可能性のある筋強直ジストロフィー患者に対し、消化管運動亢進剤を投与することに疑問を感じていた。そこで我々は、クエン酸モサプリドを用いて胃排出能の変化を検討したが、有意な改善は得られなかった。HorowitzらはRI法にてメトクロプラミドによる胃排出能改善効果を報告しているが、全16症例中固形食法にて有意に遅延した9症例のみにおいてメトクロプラミドを投与し、結果として固形食法にて改善を認め、液体食法では改善しなかったとしている¹⁰⁾。また、Ronnblomらはエリスロマイシンを用いてRI法、固形食法にて胃排出能の変化を観察し有意な変化は認めなかったと報告している¹¹⁾。これは、ド

ーパミンD₂受容体, セロトニン5-HT₄受容体やモチリン受容体といった受容体を介する神経系に障害があるのか, それとも平滑筋細胞自体の障害なのかにより検討が異なるが, Lewisらはマノメトリーを用いた検討において, 胃を支配するコリン作動性神経は機能的に正常であり, 平滑筋自体の障害が問題であると指摘している. 日常臨床において上部消化管愁訴を訴える筋強直性ジストロフィー患者に対し, 消化管運動亢進剤を投与し愁訴が改善する経験もあるが, その作用機序を考えると客観的な標準検査を用いた薬理効果の確認, さらにプラセボとの対比といった検討が必要であり, 漫然とした投与には疑問が残ると考えられた.

謝辞: ¹³C-酢酸呼気試験法につき御教授くださいました島根大学光学医療診療部天野祐二先生に深謝いたします.

文 献

- 1) 奥村利勝, 並木正義: 筋緊張性ジストロフィーの内臓平滑筋障害について. 神経内科 1988; 29: 582-588
- 2) Bujanda L, Lopez MA, Alcon A, et al: The gastrointestinal changes in dystrophia myotonica. Rev Esp Enferm Dig 1997; 89: 711-714
- 3) 石塚 泉, 西山順博, 小山茂樹ら: ¹³C-化合物を用いた胃排出能検査. 臨床消化器内科 2002; 17: 1769-1776
- 4) Ghos YF, Maes BD, Geypens BJ, et al: Vantrappen Measurement of gastric emptying rate of solids by means of a carbon-labeled octanoic acid breath test. Gastroenterology 1993; 104: 1640-1647
- 5) ワークショップ: ¹³C呼気試験法胃排出能検査 (¹³C法)の現状と未来—標準化に向けて. 日本平滑筋学会機関紙 2002; 6: 11-13
- 6) 本郷道夫: QUEST問診票について. Therapeutic Research 2000; 21: 1422-1425
- 7) 野坂千紘: ¹³C 標識化合物を用いた胃排出測定試験におけるパラメータ算出プログラム. 消化器の臨床 2001; 4: 776-780
- 8) Braden B, Adamus S, Duan L, et al: The ¹³C-acetate breath test accurately reflects gastric emptying of liquids in both liquid and semisolid test meals. Gastroenterology 1995; 108: 1048-1055
- 9) Choi MG, Camilleri M, Burton DD, et al: ¹³C-octanoic acid breath test for gastric emptying of solids; accuracy, reproducibility, and comparison with scintigraphy. Gastroenterology 1997; 112: 1155-1162
- 10) Horowitz M, Maddox A, Maddern GY, et al: Gastric and Esophageal Emptying in Dystrophia Myotonica. Gastroenterology 1987; 92: 570-577
- 11) Ronnblom A, Andersson S, Hellstrom PM, et al: Gastric emptying in myotonic dystrophy. European Journal of Clinical Investigation 2002; 32: 570-574
- 12) Bellini M, Alduini P, Coata F, et al: Gastric emptying in myotonic dystrophic patients. Digest Liver Dis 2002; 34: 484-488
- 13) Eckardt VF, Nix W, Kraus W, et al: Esophageal motor function in patients with muscular dystrophy. Gastroenterology 1986; 90: 628-35
- 14) Lewis TD & Daniel EE: Gastrointestinal motility in a case of dystrophia myotonica. Gastroenterology 1981; 81: 145-149

Myotonic Dystrophy (MyD) の嚥下障害の特徴および 嚥下障害に対するエナラプリルの効果

福田 清貴, 鳥居 剛, 満岡 恭子, 渡辺 千種

要旨: 筋緊張性ジストロフィー (以下MyD) 患者の嚥下障害をビデオ嚥下造影 (Videofluorography; 以下VF) を用いて検討し, さらにエナラプリルを用いて嚥下障害が改善するかどうかを検討した. [対象と方法] 1, MyD患者の嚥下障害の特徴 (健常群との比較): 当院に通院中または入院中のMyD患者12名を対象とした. 健康成人5名を対照としVFを施行した. 2, エナラプリルの嚥下運動改善効果: MyD患者12例に対しエナラプリル5mg/日を4週間投与した. 投与前後にVFを施行した. 3, プラセボ対照クロスオーバー二重盲検比較試験: MyD患者15名を対象とした. 患者をランダムにA, Bの2群に分け, A群にはエナラプリル10mg/日を4週間投与後, 2週間の休薬期間を置いてプラセボを4週間投与した. B群はプラセボ4週間, 2週休薬, エナラプリル4週間投与した. VFはLeonardらの報告に従い, 嚥下第2相を評価した. [結果] 1, MyDの嚥下障害の特徴: 検査食の通過時間は咽頭期と下咽頭期が健常群に比べて有意に延長していた. 嚥下運動時間は, 軟口蓋挙上開始, 軟口蓋が最高位に達する時間, 咽頭 食道括約筋 (以下PES) 開放開始の時間, PESが最大開放に至る時間, PES閉鎖に至る時間が対照群に比して有意に延長していた. 2, エナラプリルの嚥下運動改善効果: 検査食の通過時間では口腔咽頭期が有意に短縮した. 嚥下運動時間では, 軟口蓋挙上開始, 舌骨移動開始が投与前に比して有意に短縮した. 3. プラセボ対照二重盲検クロスオーバー比較試験: エナラプリルはプラセボに比して有意に軟口蓋挙上開始を改善させた. [考察] 脳梗塞や高血圧を合併した高齢者にACE阻害薬を投与すると誤嚥性肺炎の発症率が低下するという報告が近年なされている. 本研究の結果, MyD患者の嚥下障害は嚥下第2相に特徴があり, エナラプリルは軟口蓋の挙上開始を有意に改善させることが明らかになった. 軟口蓋挙上の改善は嚥下反射の改善を反映していると考えられ, ACE 阻害薬はMyDの誤嚥予防に期待が持てる. 今後は多施設共同研究を行い, 症例数を増やしたい.

はじめに

筋緊張性ジストロフィー (以下MyD) 患者は経過中に嚥下障害を来し, 誤嚥性肺炎を発症することが多い. 本研究はMyD患者の嚥下障害についてビデオ嚥下造影 (Videofluorography; 以下VF) を用いて検討し, さらにエナラプリルを用いて嚥下障害が改善するかどうかを検討した. さらにプラセボ対照二重盲検クロスオーバー比較試験を行った.

対象と方法

1, MyD患者の嚥下障害の特徴 (健常群との比較)

当院に通院中または入院中のMyD患者12名を対象とした. 男性7名, 女性5名, 平均年齢48.2歳, 平均罹病期間は18.9年であった. 健康成人5名を正常対照とした. 男性4名, 女性1名, 平均年齢44.4歳であった (表1).

2, エナラプリルの嚥下運動改善効果 (オープン試験)

書面にて同意が得られたMyD患者12例 (男性9名, 女性3名, 平均年齢46.6歳, 平均罹病期間は17.8年) に対してエナラプリル5mg/日を4週間投与前後に, VFを施行した (Table 1).

Table 1 Clinical profile for pilot trial of enalapril in MyD

Case	Age/Sex	Duration of MyD (yrs)
1	49/m	41
2	29/m	6
3	59/m	29
4	51/m	14
5	38/m	13
6	63/f	15
7	42/m	29
8	45/m	15
9	40/f	6
10	50/f	10
11	52/f	22
12	5/f	26

3, プラセボ対照クロスオーバー二重盲検比較試験

対象は書面にて同意を得たMyD患者15名. 男性9名, 女性6名, 平均年齢51.2歳, 平均罹病期間は24.1年であった. 患者をランダムにA, Bの2群に分け, A群にはエナラプリル10mg/日を4週間投与後, 2週間の休薬期間を置いてプラセボを4週間投与した. B群はプラセボ4週間, 2週休薬, エナラプリル4週間投与した. A群は男性4人, 女性4人, 平均年齢51.2歳, 平均罹病期間20.4年, B群は男性5人, 女性2人, 平均年齢51.1歳, 平均罹病期間28.4年であった (Table 2).

嚥下造影²⁾

50%w/vの硫酸バリウム水溶液を患者が1回で嚥下できる量(5-10ml)を口に含ませ、指示下で嚥下させた。側面像をエックス線透視し、嚥下第2相の以下のパラメータを測定し

Table 2 Clinical profile of participants for double-blind cross-over trial.

Case	Age/sex	Duration of MyD	MDRS	MR
1	48/M	24	3	-
2	66/F	16	4	+
3	50/F	20	3	-
4	44/M	28	4	+
5	66/F	25	4	+
6	54/F	8	4	-
7	39/M	19	1	-
8	43/M	23	3	+
9	42/F	42	3	+
10	43/M	43	4	+
11	55/M	25	3	+
12	56/M	5	2	-
13	49/F	19	4	+
14	53/M	15	4	+
15	60/M	50	2	-

Abbreviations:

MDRS:muscular disability rating scale), 0 = no clinical impairment, 1 = minimal signs of impairment, 2 = distal weakness, 3 = moderate proximal weakness, and 4 = nonambulatory. Cough: cough symptom expressed before the present trial. MR:mental retardation.

た。B1: 咽頭期の始まり。検査食が脊椎(下顎角)を通過する時点。BV1:検査食の先端が喉頭蓋谷に入った時点。BV2:検査食の先端が喉頭蓋谷を出た時点。SPst:軟口蓋挙上開始時点。SPmax:軟口蓋が最高点に達した時点。SPcl:軟口蓋挙上終了した時点。Pop:咽頭食道括約筋(PES)が開いた時点。Pmax:PESが最大に開いた時点。Pcl:PESが閉鎖した時点。H1:舌骨が上前方に動き始めた時点。H2:舌骨が最高点に達した時点。H3:舌骨が下方に動き始めた時点。H4:舌骨が安静位に戻った時点。EM:嚥下運動が終わり、喉頭蓋が元の位置に戻った時点。

これらのパラメータから、検査食の通過時間(咽頭期:Pcl-B1, 口腔咽頭期:BV1-B1, 下咽頭期:Pcl-B1)および嚥下動作時間(軟口蓋挙上開始:SPst-B1, 軟口蓋が最高位に達するまでの時間:SPmax-SPst, 舌骨運動開始:H1-B1, 舌骨が最高位に達するまでの時間:H4-H1, 最高位の持続時間:H3-H2, PES開放開始:Pop-B1, PESが開放しはじめる時間:Pcl-Pop, 最大開放に至る時間:Pmax-B1, PESが閉鎖する時間:Pcl-B1, 喉頭蓋が安静位にもどる時間EM-B1)を算出した。ビデオは30frames/secで録画し、1frame=0.033secとして計算した。すべての測定が終了した後、患者がどちらの群かオープンした。投薬後の値が投薬前に比して改善している場合、有効と判定した。統計学的検討は、症例構成の検討には χ^2 検定を用いた。健常群とMyD群との比較およびオープン試験はt検定を用いた。二重盲検クロスオーバー比較試験においてパラメータの変化の検定にはt検定を用い、有効率の検定には χ^2 検定を用いた。

Table 3 Bolus Transit Time

Transit time	Control	MyD	MyD(enalapril)
咽頭期(Pcl-B1)	0.804 ± 0.353	1.69 ± 1.73*	1.53 ± 1.1
口腔咽頭期(BV1-B1)	0.008 ± 0.008	0.69 ± 0.74*	0.277 ± 0.41*
下咽頭期(Pcl-BV2)	0.464 ± 0.39	0.95 ± 0.54	1.00 ± 0.80

*: p<0.05

Table 4 Swallow Gesture

Swallow Gesture	Control	MyD	MyD(enalapril)
Soft Palate Elevation			
軟口蓋挙上開始 (SPst-B1)	-0.796 ± 0.387	0.447 ± 0.59**	-0.124 ± 0.28*
最高位に達する時間 (SPm-SPst)	1.158 ± 0.719	0.520 ± 0.449*	0.479 ± 0.453
Hyoid Displacement			
舌骨移動開始 (H1-B1)	0.174 ± 0.352	0.893 ± 0.703*	0.113 ± 0.533*
最高位に達する時間 (H2-H1)	0.222 ± 0.307	0.432 ± 0.367	0.323 ± 0.380
最高位の持続時間 (H3-H2)	0.222 ± 0.335	0.476 ± 0.385	0.861 ± 0.617
PES Opening			
PES開放開始の時間 (Pop-B1)	0.358 ± 0.427	1.08 ± 0.616*	0.636 ± 0.974
持続時間 (Pcl-Pop)	0.446 ± 0.394	0.700 ± 0.573	0.714 ± 0.342
最大開放に至る時間 (Pm-B1)	0.394 ± 0.43	1.26 ± 0.579**	0.674 ± 0.978
PES Closure			
PES閉鎖に至る時間 (Pcl-B1)	0.804 ± 0.353	1.78 ± 0.820*	1.35 ± 1.12
Epiglottis			
喉頭蓋が安静位に戻る時間 (EM-B1)	1.686 ± 0.464	2.76 ± 1.02	2.25 ± 1.46

Abbreviations: PES: pharyngo-esophageal sphincters *: p<0.05, **: p<0.01

p<0.05を有意差ありと判定した。副作用を調べるため、VF施行時に血圧測定、血液検査(血算・血液生化学的検査)を施行し、咳など有害事象がないかどうか質問した。本研究は国立病院機構原病院倫理委員会の承認を得たのちに施行した。

結 果

1, MyDの嚥下障害の特徴 (Table 3,4)

検査食の通過時間は咽頭期 (p=0.023) と下咽頭期 (p=0.003) が健常群に比べて有意に延長していた。嚥下運動時間は、軟口蓋挙上開始 (p=0.0007), 軟口蓋が最高位に達する時間 (p=0.04), PES開放開始の時間 (p=0.031), PESが最大開放に至る時間 (p=0.0093), PES閉鎖に至る時間 (p=0.023) が対照群に比して有意に延長していた。

2, エナラプリルの嚥下運動改善効果 (Table 3,4)

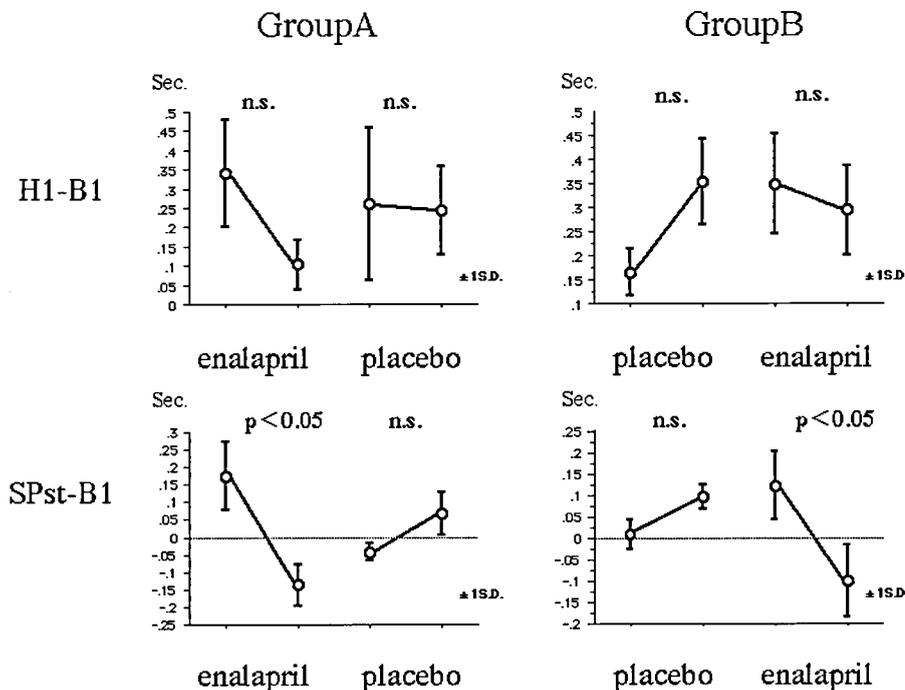
エナラプリル4週投与後、検査食の通過時間では口腔咽頭期が有意に短縮した (p=0.014)。嚥下運動時間では、軟口蓋挙上開始 (p=0.022), 舌骨移動開始 (p=0.016) が非投与時に比して有意に短縮した。

3, プラセボ対照二重盲検クロスオーバー比較試験

1) 患者背景

A群とB群で年齢、性、罹病期間に有意差はなかった。

2) 評価項目 (Figure)



A群のH1-B1は、エナラプリル投与前後で0.34+/-3.82secから0.10+/-3.07秒となり (p=0.08), プラセボ投与前後では0.26+/-3.18秒から0.24+/-2.19秒になった (p=0.86)。A群のSPst-B1はエナラプリル投与前後で0.17+/-0.26secから-0.14+/-0.16秒となり (p=0.04), プラセボ投与前後では-0.04+/-0.07秒から0.07+/-0.16秒になった (p=0.17)。B群のH1-B1は、エナラプリル投与前後で3.51+/-2.47secから

3.94+/-2.60秒となり (p=0.80), プラセボ投与前後では0.19+/-3.08秒から0.45+/-3.59秒になった (p=0.95)。B群のSPst-B1はエナラプリル投与前後で0.12+/-0.19secから0.10+/-0.21秒となり (p=0.042), プラセボ投与前後では0.01+/-0.08秒から0.09+/-0.08秒になった (p=0.11)。

3) 有効率 (Table 5)

Table 5 rate of effectiveness

		enalapril	placebo
H1-B1	Gr.A	6	3
	Gr.B	4	2
	total (%)	10 (66.7%)	5 (33.3%)
SPst-B1	Gr.A	7	3
	Gr.B	6	2
	total (%)	13 (86.7%) *	5 (33.3%)

A群のH1-B1は、エナラプリル投与で6名が有効、プラセボ投与では3名が有効であった。A群のSPst-B1はエナラプリル投与で7名が有効、プラセボ投与では3名が有効であった。B群のH1-B1は、エナラプリル投与で4名が有効、プラセボ投与では2名が有効であった。B群のSPst-B1はエナラプリル投与で6名が有効、プラセボ投与では2名が有効であった。AB群を合計すると、エナラプリルの有効率はH1-B1が46.7%, SPst-B1は73.3%であった。プラセボの有効率はH1-B1が40%, SPst-B1が33%であった。エナラプリルはプラセボに比して有意にSPst-B1を改善させた (p=0.029)。H1-B1の有効率に有意差はなかった。

3) 安全性評価

自他覚的所見では1例が咳を認めたが、試験を中止するほどではなかった。血液検査では異常を呈した例はなく、血圧も投与後に収縮期圧が90mmHg以下になる例はなく、安全に施行できた。

考 察

MyD患者の嚥下障害は嚥下第2相に特徴があることが明らかになった。すなわち、嚥下食の通過時間が延長しており、嚥下運動では軟口蓋挙上開始、舌骨の挙上開始が健常にくらべて遅れていた。健常者では検査食が喉頭に入る前に軟口蓋と舌骨の挙上を開始しているのに対してMyD群では検査食が喉頭に流入した後に軟口蓋と舌骨の挙上を開始している。Leonardらの報告でも本研究の結果と同様、MyD患者の嚥下食の通過時間が延長し、嚥下運動の開始が遅れていた²⁾。

脳梗塞や高血圧を合併した高齢者にACE阻害薬を投与すると誤嚥性肺炎の発症率が低下するという報告が近年なされ

ている^{3)~6)}。ACE阻害薬はACEのキニナーゼIIを阻害する。これによりサブスタンスP（以下SP）の分解が阻害される^{7)~10)}。SPは咳反射や嚥下反射にも関与するので、血中濃度が上昇すれば嚥下反射が改善する。Araiらは脳梗塞患者の血中SP濃度が対照より低値で、イミダプリル投与によりSP濃度が改善したと報告した¹¹⁾。ACE阻害薬の誤嚥改善効果に関する報告の多くがイミダプリルを用いており、対象は高血圧患者がほとんどである。本研究では、血圧が正常のMyD患者を対象にしたため、降圧効果がイミダプリルより劣るとされるエナラプリルを用いた。副作用としては咳が1例あったが、研究を中止するほど重篤にはならなかった。過剰な血圧低下をきたした例はなく、血液検査でも異常をみとめなかった。エナラプリルも5-10mg/日で比較的 safely 使用できると考えられる。今後はMyD患者のSP濃度の変化やエナラプリルの至適投与量を検討する必要がある。

過去にACE阻害薬の効果を判定するのにVF用いた報告はなかったので、我々は、まずオープン試験を施行した。軟口蓋挙上開始および舌骨移動開始が非投与時に比して有意に短縮していた。さらに、二重盲検試験によりACE阻害薬の誤嚥予防効果を確認した報告はなかったので、プラセボ対照二重盲検試験を施行した。本研究は単施設で症例数が限られていたため、クロスオーバー比較試験を行った。この結果、軟口蓋の挙上開始を有意に改善させることが明らかになった。軟口蓋挙上の改善は嚥下反射の改善を反映していると考えられ、ACE阻害薬はMyDの嚥下障害に有用であると考えられる。しかし、ACE阻害薬の内服のみで誤嚥を完全に予防することは不可能である。多面的な介入が必要である。例えば食事の喉頭残留が脳梗塞後遺症患者ではよく認められ、これを改善させるために食後の空嚥下が有効であることが知られている。MyD患者でも空嚥下をさせると喉頭に残留した残渣を減らすことができる。MyD患者は知的障害を伴う例が多いので、空嚥下は患者に任せるよりも介助者が積極的に介入して行う方が効果を期待できる。また、MyD患者は食道蠕動が低下していることがわかっており、嚥下した食物が逆流し誤嚥性肺炎を起こす可能性がある。食後数時間を経てもなお食道に食物が残存している例もあるが、食直後の臥位は避けたほうがよい。

今後は多施設共同研究を行い、症例数を増やしたい。さらに他の神経筋疾患への応用も期待できるので対象を広げたい¹²⁾。

- 1) J Mathieu, M De Braekeleer, C Prevost et al: Myotonic dystrophy: clinical assessment of muscular disability in an isolated population with presumed homogeneous mutation. *Neurology*. Jan 1992;42:203-208
- 2) Leonard RJ, Kendall KA, Johnson R, et al: Swallowing in myotonic muscular dystrophy: a videofluoroscopic study. *Arch Phys Med Rehabil*. 2001;82:979-985
- 3) Marik PE, Kaplan D: Aspiration pneumonia and dysphagia in the elderly. *Chest*. 2003;124:328-336
- 4) Okaishi K, Morimoto S, Fukuo K, et al: Reduction of risk of pneumonia associated with use of angiotensin I converting enzyme inhibitors in elderly inpatients. *Am J Hypertens*. 1999;12:778-783
- 5) Teramoto S, Ouchi Y: ACE inhibitors and prevention of aspiration pneumonia in elderly hypertensives. *Lancet*. 1999;353:843
- 6) Arai T, Yasuda Y, Toshima S, et al: ACE inhibitors and pneumonia in elderly people. *Lancet*. 1998;352:1937-1938
- 7) Arai T, Yasuda Y, Takaya T, et al: Angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor antagonists, and symptomless dysphagia. *Chest*. 2000;117:1819-1820
- 8) Arai T, Yasuda Y, Takaya T, et al: Technetium tin colloid test detecting symptomless dysphagia and ACE inhibitor prevented occurrence of aspiration pneumonia. *Int J Mol Med*. 2000;5:609-610
- 9) Nakayama K, Sekizawa K, Sasaki H: ACE inhibitor and swallowing reflex. *Chest*. 1998;113:1425
- 10) Iwasaki K, Wang Q, Seki H et al: The effects of the traditional chinese medicine, "Banxia Houpo Tang (Hange-Koboku To)" on the swallowing reflex in Parkinson's disease. *Phytomedicine*. 2000;7:259-263.
- 11) Arai T, Yoshimi N, Fujiwara H, et al: Serum substance P concentrations and silent aspiration in elderly patients with stroke. *Neurology*. 2003;61:1625-1626
- 12) Ebihara S, Saito H, Kanda A et al: Impaired efficacy of cough in patients with Parkinson disease. *Chest*. 2003;124:1009-1015

筋強直性ジストロフィー患者における動脈硬化性病変 —頸部血管超音波法による検討—

田中 尚, 松村 剛, 斎藤 利雄, 猪山 昭徳,
宮下 典子, 藤川 亮, 野崎 園子*, 藤村 晴俊, 神野 進

要旨: 頸部血管超音波法, 頭部MRIを用いて, 筋強直性ジストロフィー患者 (MyD) における動脈硬化性病変を検討した。MyDでは, 頸動脈の内中膜肥厚やプラーク, 狭窄を認め, 動脈硬化性疾患のリスクがあると考えられた。頭部MRIでは大脳白質にラクナ梗塞様のspottyな病変を認める症例があり, 脳虚血性病変の可能性も示唆された。MyDでは, 動脈硬化性合併症の評価とそのリスク管理も重要である。

はじめに

筋強直性ジストロフィー (MyD) では, 脳梗塞を合併するという報告が散見されるが^{1),2),3)}, 詳細な病態については十分検討されていない。またMyDは糖尿病や高脂血症などを合併し, 動脈硬化性疾患のリスクがあると考えられるが, このような観点からの臨床研究は少なく, 特に, 我々が検索し限り, 動脈硬化の評価法として汎用されている頸部血管超音波法を用いた検討はなされていない。今回我々は, 頸部血管超音波法, 頭部MRIにてMyDの動脈硬化性病変について評価した。

対 象

対象は, 脳血管障害, 虚血性心疾患の既往のない入院中のMyD10例 (男4名, 女6名, 50.0 ± 5.5歳) である。頸部血管超音波法では, 健常者18名 (男9名, 女9名, 33.2 ± 7.6歳) をコントロールとした。

方 法

MyD群の糖尿病 (FBS126mg/dl以上), 高脂血症 (総コレステロール220mg/dl以上もしくは, 中性脂肪150以上), 肥満 (BMI25以上), 不整脈の有無を検討した。不整脈の評価には, 12誘導心電図とホルター心電図を用いた。

超音波機器は, OLYMPUS社製SonoSite180PLUSを使用し, 7.5MHzのリニアプローブを用いて, B-mode法により総頸動脈 (CCA: common carotid artery), 内頸動脈 (ICA: internal carotid artery) を描出し, CCAのfar wallの最大内中膜厚 (maxIMT: max intima-media thickness) およびCCA, 椎骨動脈 (VA: vertebral artery) の血流速度を測定した。IMTは, 1.1mm以上を肥厚とした。plaqueは, IMT1.1mm以上の隆起性病変とした。またカラードプラ法で血流を描出し, 狭窄病変やプラークを評価した。また

CCAの拡張末期血流速度の左右比 (EDratio: end-diastolic ratio) を算出し, 1.4以上を遠位部の高度閉塞性病変の疑いとした。

脳器質性病変は, 0.5teslaのMRI装置を用い, T1, T2強調画像, フレア画像の水平断にて評価した。またflow voidの有無で主幹動脈の閉塞性病変を判定した。T2強調画像で高信号を示す長径1.5cm以下のspottyな病変とdiffuseな病変を評価した。

統計処理はt検定を用いた。

結 果

結果を表1に示した。MyDでは, 糖尿病6例, 高脂血症8例, 肥満7例を合併していた。心房細動などの不整脈を有した症例はなかった。MyD群のmaxIMTは, 1.06 ± 0.16 (mm) で, コントロール群の0.68 ± 0.11より有意に肥厚していた (p<0.01) (図1)。maxIMTが1.1mm以上の肥厚を示したのは7例, 10血管であった。IMT肥厚例を図2に示した。高輝度な1.2mmのIMT肥厚を認めた。また分岐部, ICAにプラークを認めたのは7血管で, このうち1血管は低輝度プラークを有した約50%のIC狭窄であった (図3)。CCAの血流速度の左右差 (EDratio ≥ 1.4) は認めず, VAの血流は順行性であった。頭部MRIでは, T2強調画像またはフレア画像でのdiffuseな病変は8例, spottyな病変は5例に認めた。脳主幹動脈の閉塞性病変は認めなかった (表1)。diffuseな病変とspottyな病変が混在する症例を提示した (図4, 5)。

考 察

MyDでは, 脳梗塞を合併することが報告されており, 不整脈に伴う塞栓性機序が指摘されている^{1),2)}。また, 凝固線溶系の異常も指摘されており, 血栓性の脳梗塞の病態も推察されている³⁾。しかし, 脳梗塞の合併頻度や詳しい病態は不明な点が多い。

表1 結果

case	age/sex	obesity	DM	HL	Af	maxIMT		plaque	MRI T2 lesion	
						R/L(mm)			spotty	diffuse
1	51/M	-	+	+	-	1.2/1.2	-	-	-	-
2	54/F	+	-	+	-	1.2/0.9	+	+	+	+
3	53/M	-	+	+	-	1.3/1.3	-	+	+	+
4	48/F	+	-	+	-	0.9/1.0	-	+	+	+
5	44/M	-	+	-	-	0.9/1.3	+	-	+	+
6	56/F	+	-	+	-	0.8/0.9	-	+	+	+
7	50/F	+	+	+	-	0.8/1.2	+	-	+	+
8	51/F	+	+	+	-	1.1/1.0	+	+	+	+
9	38/M	+	-	+	-	0.9/1.0	+	-	+	+
10	55/F	+	+	-	-	1.1/1.0	+	ND	ND	ND

ND: not done

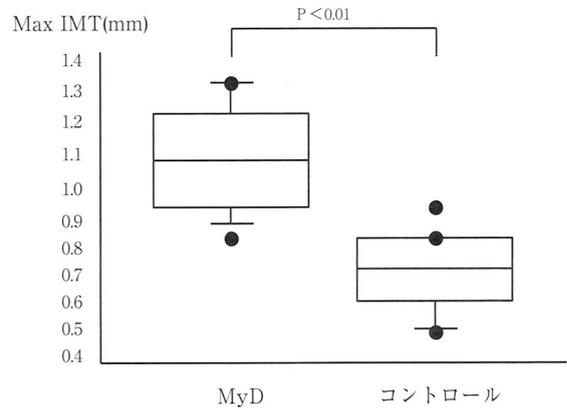


図1 MyD群のmaxIMTは、 1.06 ± 0.16 (mm) で、コントロール群の 0.68 ± 0.11 より有意に肥厚していた ($p < 0.01$)

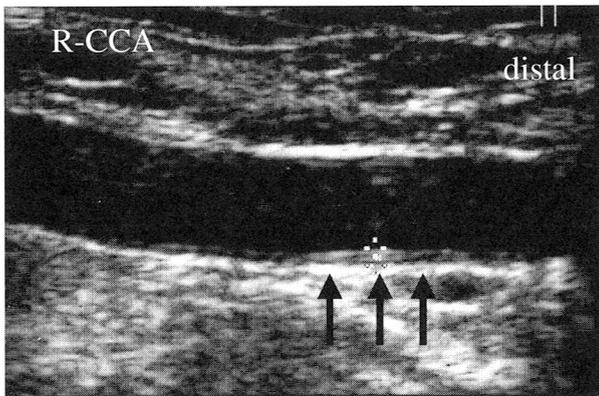


図2 症例2の右総頸動脈のB-mode法高輝度な1.2mmのIMT肥厚を認める。

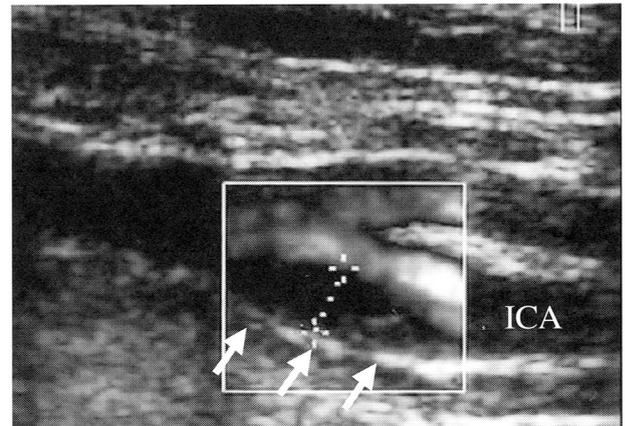


図3 症例7の右内頸動脈分岐部のカラードプラ法低輝度プラークによる約50%の狭窄性病変を認める。

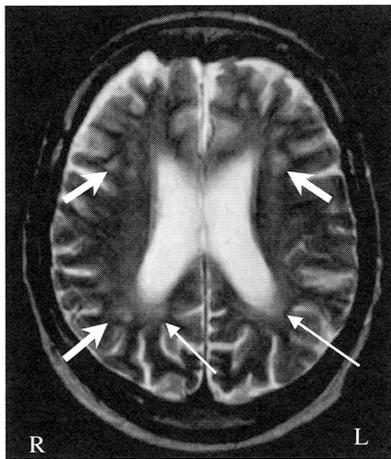


図4 症例3の頭部MRI T2強調画像
脳室周囲に左右対称的にdiffuseな高信号域(細い矢印)を、皮質下にspottyな高信号域(太い矢印)を認める。

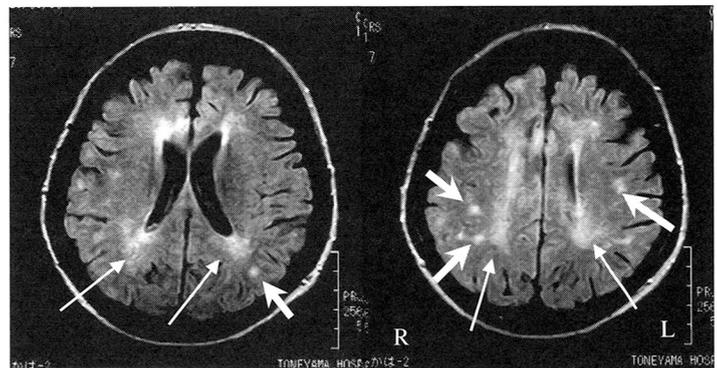


図5 症例4の頭部MRI フレア画像
脳室周囲、半卵円中心にdiffuseな高信号域(細い矢印)を、皮質下にspottyな高信号域(太い矢印)を認める。

従来から、頸部血管超音波法による頸動脈の内中膜肥厚やプラークの所見は、虚血性心疾患や脳梗塞などの動脈硬化性疾患の危険があることを示していると報告されている⁴⁾。それゆえ、頸部血管超音波法は、動脈硬化疾患の評価やスクリーニング検査の目的で、広く用いられている⁵⁾。そこで、

我々は、MyDが糖尿病、高脂血症、肥満といった合併症を有する可能性があることから、脳梗塞などの動脈硬化性疾患のリスクを評価する目的で、頸動脈の内中膜肥厚とMRIによる脳虚血性病変、血管病変の検討を行った。

今回の検討では、入院患者を対象としていたためか、肥満、

糖尿病、高脂血症の合併頻度は高く、これらの合併症を一つ以上有していたが、不整脈の合併はなかった。頸部血管超音波法のパラメーターとしては、CCAのmaxIMTは再現性に優れており、信頼性が高いとされおり⁵⁾、我々は、これに着目した。MyDのmaxIMTは、 1.06 ± 0.16 (mm)で、健常者の 0.68 ± 0.11 より有意に肥厚していた。しかしIMTは年齢とともに肥厚するため、疾患群とコントロール群の年齢がマッチしていない今回の検討では、maxIMTの肥厚の原因として、動脈硬化性疾患の合併症だけでなく、年齢の影響も考えられた。

しかし、IMTは年齢とともに肥厚するものの、通常1.0mm以下であり、1.1mm以上は病的な肥厚とされている⁵⁾。今回、IMTが1.1mm以上の肥厚を呈した7症例やプラークを認めた症例は動脈硬化性疾患のリスクがあると考えられた。これらのことから、動脈硬化性疾患を有するMyDの脳梗塞の発症については、不整脈に伴う塞栓性機序だけでなく、血栓性機序の可能性も示唆された。特に、症例7(図3)のような無症状ながら約50%のIC狭窄を示した低輝度プラークは、不安定プラークといわれており、脳梗塞の発症や血管病変の進展の可能性が考えられ、リスクファクターの管理と頸部血管超音波法による定期的なフォローアップが必要であると考えられた。

頸動脈や脊骨動脈の血流速度測定では、測定部位だけでなく、血流速度の低下からその遠位部の閉塞性病変の診断が可能である⁴⁾。今回の検討では、主幹動脈の高度な閉塞病変は否定的であり、頭部MRIのflow voidの評価でも、閉塞性病変は認めなかった。

従来、MyDのMRI所見として、大脳白質病変が指摘されているが^{6),7)}、変性によるものか、虚血によるものかどうかなどその病変は詳しくわかっていない。今回の検討では、T2強調画像でのspottyな病変に着目したが、これらはラクナ梗塞様であり、虚血性病変の可能性も考えられた。diffuseな病変については、変性や代謝性変化、虚血性変化などが推察された。しかし、より詳細な検討のためには、これらの画像診断と病理学的な対比が必要であると考えられた。

MyDの動脈硬化性疾患の病態を把握するためには、対象群と年齢をマッチさせた上で、どういった因子が、内中膜肥

厚や脳虚血性病変と関連があるかなど、多面的に解析を進めて行く必要がある。今後、補助呼吸療法などによって、MyDの平均寿命が延長すれば、ますます動脈硬化性合併症の評価とそのリスク管理が重要となると考えられた。

文 献

- 1) Biller J, Ionasescu V, Zellweger H, Adams HP Jr, Schultz DT: Frequency of cerebral infarction in patients with inherited neuromuscular diseases. *Stroke*. 1987;18(4):805-7.
- 2) 橋本和孝, 藤原和彦, 牧田圭弘, 木村隆, 箭原修: 筋強直性ジストロフィーにおける脳梗塞. 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, p449
- 3) 橋本和季, 藤原和彦, 鈴木康博, 木村隆, 箭原修: 筋強直性ジストロフィーにおける凝固線溶系の異常および脳梗塞に関する検討. 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, p138-139
- 4) O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Savage PJ, Borhani NO, Kittner SJ, Tracy R, Gardin JM, Price TR, Furberg CD: Thickening of the carotid wall. A marker for atherosclerosis in the elderly? *Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group*. *Stroke*. 1996 ;27(2):224-31.
- 5) 遠田栄一, 佐藤 洋編集: 頸動脈・下肢動静脈超音波検査の進め方と評価法. 医歯薬出版株式会社, 東京, 2004
- 6) 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*. 1994;127(2):179-85.
- 7) Di Costanzo A, Di Salle F, Santoro L, Tessitore A, Bonavita V, Tedeschi G. : Pattern and significance of white matter abnormalities in myotonic dystrophy type 1: an MRI study. *J Neurol*. 2002;249(9):1175-82.

筋強直性ジストロフィー患者に対する間欠的拍動性空気式圧迫装置を用いた血栓予防効果に関する検討

山田 史郎¹⁾, 岩谷 道生¹⁾, 藤 哲²⁾, 高田 博仁³⁾, 今 清覚³⁾, *小山 慶信³⁾

要旨:筋強直性ジストロフィー患者11名に間欠的拍動性空気式圧迫装置を装着して血栓準備状態の改善の可能性について検討した。経時変化ではfibrinogen高値の患者は有意にその値が低下した。また、BNPは装着施行後に有意に低下した。TAT, PTF1+2, DDおよびPICについては装着者, 非装着者間に有意な差は認められなかったが, 平均値は装着者群で低かった。すでに血栓の既往のある患者は対象にはならないが, 血栓準備状態が改善する可能性が示された。

Key words 筋強直性ジストロフィー, 間欠的拍動性空気式圧迫装置, 血栓症

はじめに

結 果

筋ジストロフィー患者は不動化に伴い血栓形成の準備状態にあると考えられている。整形外科領域において下肢人工関節手術後などの血栓症が問題となっており, 薬物療法による予防法が検討されている。一方, 早期理学療法の一環として血栓形成予防のため, 間欠的拍動性空気式圧迫装置 (intermittent pneumatic-pump compression: 以下, IPCと略) を用い薬物療法と同等の効果が得られるとされている。われわれは, 筋強直性ジストロフィー (以下, MyDと略) 患者にIPCを装着し血栓形成の予防効果, 心不全に対する影響を検討したので報告する。

対象および方法

院内の倫理委員会の了承を受けた後, 当院に入院中のMyD患者にIPCの説明を行い, 了解の得られたMyD患者に装着を行った。

SIGMAX社製PLEXIPULSEを用い, 装着は患者のスケジュールのあいている時間帯で, 連日1時間とした。装着施行前後で1回ずつ, 計2回の採血を行った。採血時間は朝8時30分から9時で, 22G以上の注射針を用い動脈より行った。Fibrinogen, プロトロンビン時間 (PT), 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) および心機能の評価としてBNPの各項目について経時変化の比較検討を行った。さらに装着, 非装着患者間でのTAT (thrombin-antithrombin III complex), PTF1+2 (prothrombin fragment 1+2), DD (D-dimer) およびPIC (plasmin- α 2 plasmin inhibitor complex) の比較検討を行った。

装着施行前後の比較はt検定, 装着者と非装着者の比較はMann-WhitneyのU検定を用い, $p>0.05$ をもって有意差ありとした。

4ヶ月以上の継続装着を行った患者は11名であった (男性6名, 女性5名, 平均年齢52.3歳, 平均装着期間9.2ヶ月)。装着に伴うトラブルは特に認められなかった。使用期間中に明らかな血栓症症状を呈する患者はいなかった。装着しなかった患者は16名であった (男性12名, 女性4名, 平均年齢52.1歳)。

1. 装着患者のfibrinogen, PT, APTTおよびBNPの変化 (表1)

a. Fibrinogen

IPC装着患者中, 施行開始前にfibrinogen値の異常値 (400mg/dl以上) を示した患者は5名であった。施行後は2名に減少した。装着患者で異常値を示したグループでは装着施行後有意にfibrinogenの減少が認められた ($p<0.05$)。装着しなかった患者は当初3名で異常値を示した。同一期間経過後に2名が異常値を示した。

b. PT・APTT

IPC装着患者には施行開始前にPT異常値を示した患者はいなかった。施行後に異常値を示した患者もいなかった。APTT値は施行開始前に3名が異常値を示したが, 施行後は全員正常値を示した。装着しなかった患者は当初PT値で16名中1名が異常値を示した。同一期間経過後には1名が異常値を示した。APTT値は異常値を示した患者は16名中1名が2名となった。

c. BNP

IPC装着患者の施行開始前の平均は25.45pg/mlであった。異常値を示した患者は8名であった。施行後平均18.70pg/mlで有意に減少した ($p<0.05$)。異常値を示した患者は6名に減少した。装着しなかった患者の初期の平均値は25.93pg/mlで16名中4名で異常値を示した。同一期間経過後の平均値は41.94pg/mlであった。異常値を示した患者は4名であった。

¹⁾独立行政法人国立病院機構青森病院整形外科, ²⁾弘前大学医学部整形外科,

³⁾独立行政法人国立病院機構青森病院神経内科

表1 装着患者のfibrinogen、PT、APTTおよびBNPの変化

年齢	性別	装着期間 (ヶ月)	Fibrinogen(mg/dl)		PT(秒)		APTT(秒)		BNP(pg/ml)	
			施行前	施行後	施行前	施行後	施行前	施行後	施行前	施行後
73	F	4	670	435	10.3	10.3	23.5	24.2	31.9	29.1
49	F	4	445	344	10.0	10.6	25.7	24.9	43.9	23.4
44	F	7	352	351	10.8	10.8	27.5	28.6	36.2	35.5
64	M	7	303	289	10.9	10.7	26.8	27.5	12.1	5.4
43	F	12	301	351	11.3	11.2	28.0	28.4	41.1	31.1
57	M	12	365	339	10.8	10.9	29.3	29.6	32.2	14.1
57	F	12	602	333	11.8	11.4	34.7	27.7	28.3	26.6
53	M	12	257	208	10.6	10.0	27.2	27.8	23.4	25.7
36	M	12	277	242	10.2	10.4	26.0	26.7	23.4	8.2
49	M	12	552	414	10.7	10.9	25.4	28.1	2.9	2.0
50	M	12	400	273	11.2	11.8	34.4	31.0	4.5	4.6

表2 凝固・線溶系マーカーの装着者・非装着者の比較

	装着者 (n=11)	非装着者 (n=16)
TAT(ng/dl)	平均 3.56(1.1-11.5)	平均 6.19(1.1-26.9)
基準値(3.0以下)	異常者 4/11	異常者 7/16
PTF1+2(nMOL/l)	平均 0.678(0.45-1.11)	平均 0.850(0.43-1.87)
基準値(0.4-1.4)	異常者 0/11	異常者 3/16
DD(μ g/ml)	平均 1.077(0.50-2.64)	平均 1.665(0.50-5.41)
基準値(1.0未満)	異常者 5/11	異常者 8/16
PIC(μ g/ml)	平均 1.09(0.5-2.0)	平均 1.48(0.6-3.8)
基準値(0.8以下)	異常者 7/11	異常者 13/16

(両群に統計学的有意差は認められなかった)

2.TAT, PTF1+2, DDおよびPICの装着者と非装着者のまとめ(表2)

d. 凝固系

TATでは、装着者で4名、非装着者は7名で異常値を示した。装着者(平均3.56ng/ml)と非装着者(平均6.19ng/ml)では有意な差は認められなかった。

PTF1+2では、装着者は全員が正常範囲以内であった。非装着者は16名中3名で異常値を示した。装着者(平均0.678nMOL/l)と非装着者(平均0.850nMOL/l)では有意な差は認められなかった。

e. 線溶系

DDは、装着患者で5名、非装着者は8名で異常値を示した。装着者(平均1.077 μ g/ml)と非装着者(平均1.665 μ g/ml)では有意な差は認められなかった。

PICでは装着者で7名、非装着者で13名が異常値を示した。装着者(平均1.09 μ g/ml)と非装着者(平均1.48 μ g/ml)では有意な差は認められなかった。

考 察

血栓形成には古くからVirchowの3徴として、①血流の停滞、②血管壁の障害、③血液凝固系の関与が知られている。筋ジストロフィーでは、筋力低下に伴う不動化により血液の停滞が存在する。Duchenne型筋ジストロフィーでは凝固線

溶系の亢進状態が報告されているが¹⁾、MyDでも凝固線溶系の異常が示唆されている²⁾。このようにVirchowの3徴の二つの要素を備えるMyDは血栓準備状態の可能性はある。

一方、整形外科領域においても下肢人工関節手術後などの深部血栓症や肺梗塞が問題となっている。時に致死的でありその予防法が検討されている。この場合の予防法は大きく二つに分けられるが、一つはwarfarin, aspirinなどを用いた薬物療法である。もう一つがIPCの使用や早期理学療法である。IPCは空気圧で足部または下腿部を外側から圧迫し静脈還流を促進する装置である。血液の遅速やうっ滞が主因となる血小板由来の凝固活性化物質による血栓の形成防止が期待され、局所の線溶系の活性を高めるとされている³⁾。術後の使用に限れば深部血栓症や肺梗塞症の予防効果は同等とされている⁴⁾。しかも出血傾向を含めた副作用の心配もない。そこでわれわれは、血栓準備状態にあると思われるMyD患者に渉猟された範囲内では初めてIPCを使用した。

MyDでの凝固・線溶系の異常の報告は少ないが²⁾、われわれの結果からも、全例ではないが凝固・線溶系に異常を認める患者が存在した。

IPC装着によりfibrinogen高値の患者で減少が認められた。これはうっ滞による凝固活性化物質の減少がfibrinogenの減少として示された可能性がある。Fibrinogenは患者の状態により変動するが、血栓形成の危険因子とされ^{6)~9)}しており、また、fibrinogen高値は血流を低下させるとされている⁶⁾。

このような fibrinogen の高値の状態が IPC の装着で改善傾向を示したことは、危険因子が軽減する可能性を示唆している。装着者群と非装着者群での凝固・線溶系のマーカーについては、今回の検討では両群に有意な差は認められなかったが、各項目とも装着者群では平均値が低かった。PT, APTTとも正常値を示す人数が装着により増えたこととあわせて、少なくとも悪影響はないと思われる。

静脈還流の増加に伴い、心不全の出現や増悪が懸念されたが、BNP の変化として悪化は認められず、むしろ改善が認められた。これだけで心機能の評価はできないが、後負荷の減少が良い影響を与えているのかもしれない。

実際に血栓の存在する患者には使用は禁忌とされている¹⁰⁾が、凝固・線溶系の異常や fibrinogen 高値といった血栓準備状態にあると思われる患者で装着を拒まなければ薬剤治療のような副作用はなく試みて良い方法と考える。

文 献

- 1) 齊藤祐子, 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 1997; 37: 374-378
- 2) 橋本和孝 : 筋強直性ジストロフィーにおける凝固系の検討. 筋ジストロフィーの遺伝相談及び全身状態の把握と対策に関する研究班研究報告書 1999, pp138-139
- 3) Comerota AJ, Chouhan V, Hanada RN, et al : The fibrinolytic effects of intermittent pneumatic compression. Ann Surg 1997; 226: 306-314
- 4) Stannard JP, Harris RM, Bucknell AL, et al : Prophylaxis of deep venous thrombosis after total hip arthroplasty by using intermittent compression of the plantar venous plexus. Am J Orthop 1996; 25: 127-134
- 5) Westrich GH, Sculco TP : Prophylaxis against deep venous thrombosis after total knee arthroplasty. Pneumatic plantar compression and aspirin compared with aspirin alone. J Bone Joint Surg Am 1996; 78: 826-834
- 6) Mammen EF : Pathogenesis of venous thrombosis. CHEST 1992; 102: 640S
- 7) Coull BM, Bremer N, de Garmo P, et al : Chronic blood hyperviscosity in subjects with acute stroke, transient ischemic attack and risk factors for stroke. Stroke 1991; 22: 162-168
- 8) Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Beggsen K, et al : Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. N Engl J Med 1984; 311: 501-505
- 9) Goleg DB : Fibrinogen and thrombophilia. Clin Lab Sci 2001; 14: 269-271
- 10) Oakley MJ, Wheelwright EF, James PJ : Pneumatic compression boots for prophylaxis against deep vein thrombosis : beware occult arterial disease. BMJ 1998; 316: 454-455

筋強直性ジストロフィー患者の心筋障害と心伝導障害の経年的変化

久留 聡, 若山 忠士, 木村 正剛, 酒井 素子, 小長谷正明, 安間 文彦

緒 言

筋強直性ジストロフィー (MyD) は高率に心伝導障害をきたし, 末期には10%以下の患者が心不全症状を呈するとされる¹⁾. 本症の心機能の評価は電気生理検査, 超音波, 核医学検査, 液性因子などを用いて行われデータが蓄積しつつあるが, 長期にわたる経年的変化を調べた報告は少ない. 今回われわれはMyD患者の心筋障害と心伝導障害の経年的変化を診療録から後方視的に調べた.

対象と方法

対象は1993年時点で国立療養所鈴鹿病院 (現国立病院機構鈴鹿病院) に入院中であった成人型MyD患者13例 (男10例, 女3例, 平均年齢 51.9 ± 5.2 歳). CTGリピート数は900~4000 (1例は遺伝子解析未施行). 以下の方法でおこなった心電図, 心エコー所見, 血漿脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) 値を診療録から調べた.

1. 心電図: 標準心電計 (フクダ電子製FCP-4031) を用いて4ヶ月に一度記録されていた.
2. 心エコー: 超音波断層心エコー装置 (日立メディコEUB415) を用い, 左室長軸断層より左室駆出率 (LVEF) を算出した.
3. BNP: 1997年以降年4回測定した.

結 果

調査期間中に6例が死亡し (死亡時年齢 61.5 ± 3.3 歳), 死因は3例が誤嚥・窒息, 多臓器不全, 突然死がそれぞれ1例であった. 平均観察期間は 7.9 ± 2.6 年であった. 5例で人工ペースメーカーの植え込みを施行された.

1. 心電図の変化: 初回調査では13例中12例 (92%) に異常所見 (I度房室ブロック10例, 脚ブロック6例, T波異常6例, 異常Q波2例) がみとめられ, 最終調査時点までに刺激伝導障害進行5例, 左軸偏位1例, T波異常1例が加わった. PR間隔は初回調査では 220.5 ± 34.3 msecであったが, 最終調査時には 253.6 ± 49.5 msecと有意に伸長していた (図1). 個々の症例のPR間隔の変化をみると, 症例1のように比較的一定の比率で増加していく例から, 症例8のようにある時点まではほとんど伸長がなく, その後急激な伸びを示す例までさまざまであった (図2). 年平均延長率は1.7%であった.
2. 心エコー所見の変化: 1993年の初回記録では13例のLVEFは $59.5 \pm 18.9\%$ であり4例が50%未満の例が4例であった. 最終調査時のLVEFは $46.2 \pm 15.3\%$ と有意に低下しており, うち10例が50%未満であった (図3). 1例で肥大型心筋症様の所見がみとめられた.
3. BNP値は初回調査時平均 26.7 ± 17.5 pg/mlであったものが最終調査時には 61.4 ± 47.4 pg/mlと有意に上昇していた (図4).

PR間隔とLVEF, PR間隔とBNPの間, LVEFとBNPの

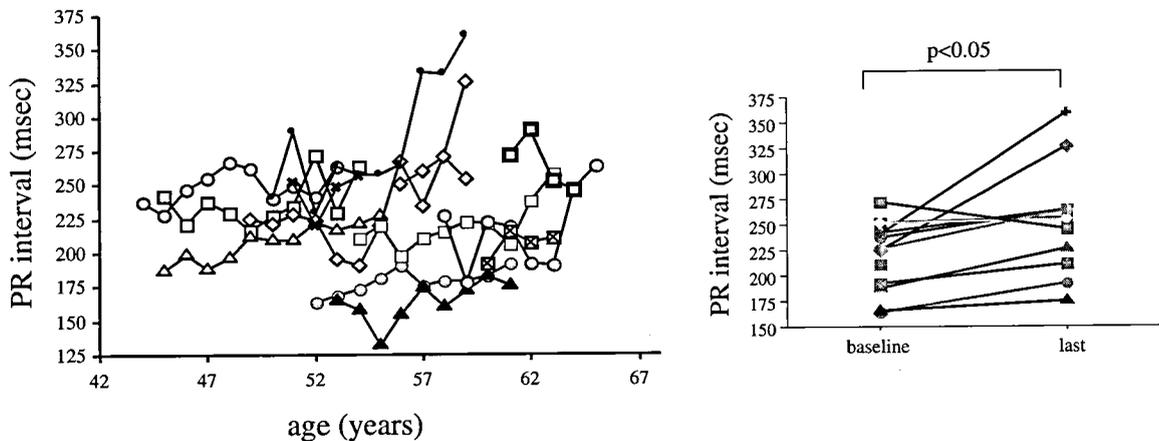
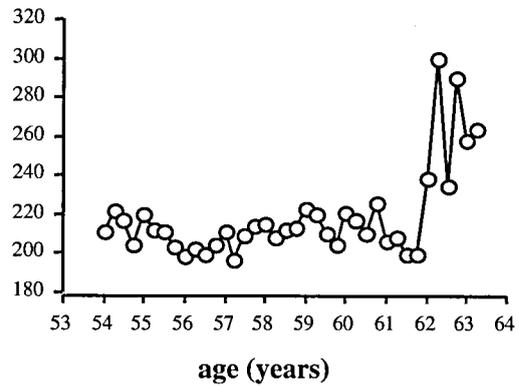


図1 PR間隔の経年的変化



症例 1



症例 8

図 2

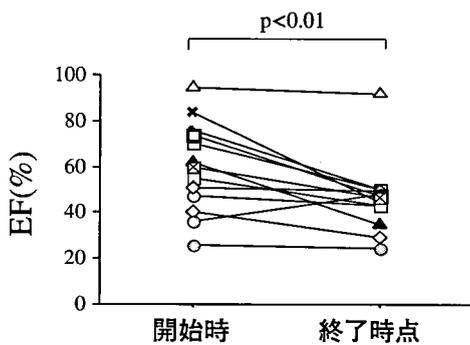


図 3 新エコー：左室駆出率 (EF) の推移

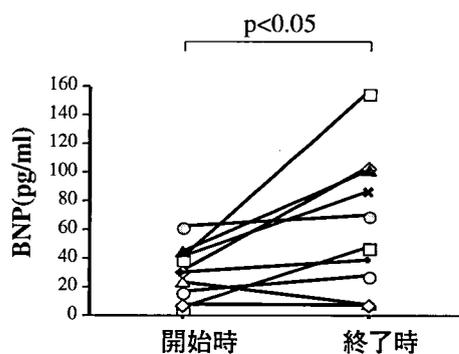


図 4 BNP 値の変動

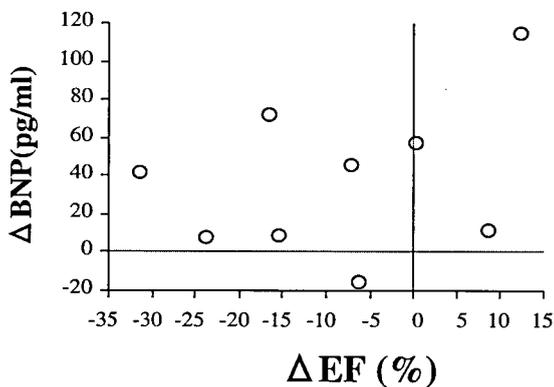


図 5 左室駆出率 (EF) と BNP 値の関係

間にはいずれにも有意な相関はみられなかった。BNP 測定を開始した 1997 年と調査終了時点の 2002 年とを比較して、BNP の上昇と LVEF の低下とがそろってみられたのは 9 例中 5 例であった (図 5)。

考 察

心電図所見では従来の報告^{2)~3)}通り房室ブロックが高率にみとめられた。PR 間隔は経時的にみると進行性であり、5 例で心臓ペースメーカーの植え込みを行った。PR 間隔の年

平均延長率は 1.7% とほぼ従来の報告²⁾³⁾と一致していた。ただし PR 間隔の延長していくパターンは必ずしも一様ではなく、症例毎にかなりの差が認められた。本症は突然死を起こす例がみられるが、このなかで伝導障害の占める割合は少ないと推定される。伝導障害の増悪による突然死の予防には適切な時期にペースメーカー導入が必要である。PR 間隔が延長する程度やパターンを知ることは临床上非常に重要であり今後のデータの蓄積が必要である。

LVEF は調査開始時点では平均 59% と正常下限であったが、最終調査時には 46% と有意に低下していた。既報告では LVEF は正常ないし軽度低下とするものが多い。本症は症例間の重症度の差が非常に大きい疾患であり、研究対象となる群の罹病期間、年齢、CTG リピート数により結果にも当然差がみられることになる。Melacini ら⁴⁾の平均年齢が 39 歳の 42 例の報告では LVEF が平均 $62 \pm 5.9\%$ と比較的保たれている。これに対し隈本ら⁵⁾の平均年齢が 52 歳の 9 例の報告では LVEF が平均 $59.1 \pm 9.3\%$ であり、これは本研究の調査開始時の年齢と検査結果と似通った値になっている。また本研究の対象群の CTG リピート数は 900~4000 と比較的大きい。リピート数が心合併症の発現時期と関係するかどうかについては意見が分かれている⁶⁾⁷⁾。本班会議のプロジェクト研究でこの点が解明されることが期待される。

BNP は近年筋ジストロフィーの心機能の評価や経過観察に有用な指標であるとして注目されている。本研究では BNP は高値を示し、経過とともに上昇した。田村ら⁸⁾の報告

では、25例中10例で上昇しており、特に左室拡張機能障害や伝導障害の高度な例で高値であるとしている。LVEFの低下とBNPの上昇が一致してみられたのは約半数で、どちらか一方の検査のみで心機能を評価するだけでは不十分と考えられた。

MyDの死因としては心不全が呼吸不全や感染症と並んで上位を占めるそのため、本症の診療においては心機能を定期的にモニターし、適切な時期に薬物療法や人工ペースメーカーの植え込みなどの治療を行うことが極めて重要である。本研究ではMyD患者は高率に心伝導障害、収縮機能低下をきたし、進行性の経過をとることが示された。また症例によって心機能障害の発現時期や進行の仕方や速さはかなりの差があった。今後症例を増やすとともに心筋シンチや剖検病理所見の裏づけをとっていくことが正確な病態把握のために重要であると考えられる。

文 献

- 1) Nguyen HH, Wolfe JT 3rd, Holmes DR Jr, Edwards WD. Pathology of the cardiac conduction system in myotonic dystrophy: a study of 12 cases. *J Am Coll Cardiol.* 11: 662-71, 1988.
- 2) Hawley RJ, Milner MR, Gottdiener JS, et al. Myotonic heart disease: a clinical follow-up. *Neurology* 41: 259-62, 1991.
- 3) Hawley RJ, Collieran JA, Fletcher R, et al. Indications for Cardiac Pacemaker Implantation in Myotonic Dystrophy. *Med Gen Med.* 1999 Sep 7:E5
- 4) Melacini P, Villanova C, Menegazzo E, Novelli G, Danieli G, Rizzoli G, Fasoli G, Angelini C, Buja G, Miorelli M, et al. Correlation between cardiac involvement and CTG trinucleotide repeat length in myotonic dystrophy. *J Am Coll Cardiol.* 25:239-45, 1995.
- 5) 隈本健司. 筋強直性筋ジストロフィー患者 (MyD患者) における心機能及びナトリウム利尿ペプチドの検討. 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 p427, 1999
- 6) Antonini G, Giubilei F, Mammarella A, et al. Natural history of cardiac involvement in myotonic dystrophy: Correlation with CTG repeats. *Neurology* 55: 1207-1209, 2000.
- 7) Merlevede K, Vermander D, Theys P, et al. Cardiac involvement and CTG expansion in myotonic dystrophy. *J Neurol* 249: 693-698, 2002.
- 8) 田村拓久, 福留隆康, 松尾秀徳ら: 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. 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費による11～13年度研究報告書 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 p302, 2002.

筋強直性ジストロフィーでは子宮筋腫合併率が高い

松村 剛, 野崎 園子, 横江 勝, 斉藤 利雄, 国富 厚宏, 神野 進

要旨：25歳以上の筋強直性ジストロフィー女性患者40名で、子宮筋腫および月経困難症の合併頻度を調査した。回答が得られた30名中18名に子宮筋腫を認め、卵巣嚢腫も少なくとも4名で合併していた。ほとんど全例が何らかの月経困難症を訴えた、女性ホルモン異常症・子宮筋腫は一般人口でも有病率の高い疾患であるが、本症においてきわめて高い合併率を示したことから、何らかの関連が疑われる。今後その原因を明らかにしていくとともに、本症女性例の診療においては、婦人科的合併症の存在を念頭に当たることが重要である。

(キーワード：筋強直性ジストロフィー, 子宮筋腫, 月経困難症, 合併症)

THE INCIDENCE OF UTERINE LEIOMYOMA IS HIGH IN MYOTONIC DYSTROPHY

Tsuyoshi MATSUMURA, Sonoko NOZAKI, Masaru YOKOE,
Toshio SAITO, Atsuhiko KUNITOMI and Susumu SHINNO

Myotonic dystrophy (DM) is one of the most common forms of muscular dystrophy, inherited in autosomal dominant fashion. DM is also known as multiple organ disease, complicating with cataracts, baldness, cognitive dysfunction, endocrine abnormalities, and so on. Various kind of tumors have also been reported in DM. We surveyed coincidence of uterine leiomyoma and dysmenorrhea in 30 female myotonic dystrophy patients. As a result, 18 of 30 (60%) patients had uterine leiomyoma. At least 4 patients showed ovarian cyst. The profiles of onset for uterine leiomyoma was similar to general population. The mean age of onset for DM was higher in the patients with uterine leiomyoma than those without uterine leiomyoma. Most patients were suffering from dysmenorrhea. Although we do not know the exact reason, we should take care for gynecological complication when we see female DM patients.

(Key Words : myotonic dystrophy, uterine leiomyoma, dysmenorrhea, complication)

はじめに

筋強直性ジストロフィー (Myotonic dystrophy: 以下DM) は、Duchenne型や顔面肩甲上腕型と並んで有病率の高い筋ジストロフィーの一つで、常染色体優性遺伝形式を示す。本症は、19p13に存在するmyotonic dystrophy protein kinase gene (以下DMPK) の3'非翻訳領域 (3' untranslated region: 以下3' UTR) で、CTG repeat反復回数が増加すること (正常: 37回以下, DM: 50回以上) によって引き起こされるtriplet repeat diseaseの一つである¹⁾。

本症の特徴に、筋力低下や筋強直現象などの筋症状以外にも、白内障や禿頭、内分泌異常、高次脳機能障害など多臓器が冒されることが挙げられる。内分泌異常としては、インスリン抵抗性の耐糖能障害、男性ホルモン低下による男性不妊などが知られている。この他、各種の腫瘍の合併が多いことも注目されている^{2,6)}。今回我々は、DMに子宮筋腫の合併が多いのではないかという疑問をもち、25歳以上の女性DM

患者にアンケート調査を実施した。その結果、調査した30名中18名で子宮筋腫、4名で卵巣嚢腫の合併を認め、ほとんど全例で月経困難症を認めた。本症女性例の診療においては、性ホルモン異常症の合併を念頭に置いた指導・治療が重要である。

対象・方法

対象は、1995年以降に本院通院歴のある25歳以上の女性DM患者40名で、このうち30名からアンケート調査に対する協力を得た。回答を得た30名の平均年齢は46.6歳 (26-69歳)、平均DM発症年齢は27.7歳 (0-48歳) であった。Congenital myotonic dystrophyは2名である。DMの診断は、遠位筋優位の筋力低下と臨床的・電気生理学的な筋強直現象、血清CK高値に基づいて行った。家族歴が不明なのは24名で、13名では遺伝子診断により本人もしくは家族にCTG repeatの延長を確認した。

アンケートでは、子宮筋腫の既往・合併の有無、子宮内膜

症の既往・合併の有無，月経困難症の有無，ホルモン検査・治療の有無・内容について質問した。

表1. アンケートの結果

子宮筋腫合併	18名	(60%)
平均発症年齢	39.6歳	(25-52歳)
手術施行例	13名	
筋腫先行例	6名	
巨大筋腫例(新生児頭大)	3名	(少なくとも)
卵巣嚢腫合併例	4名	(少なくとも)
月経困難症(2名無回答)	26名	(93%)
生理不順		(83%)
生理痛		(59%)
経血量過多		(53%)

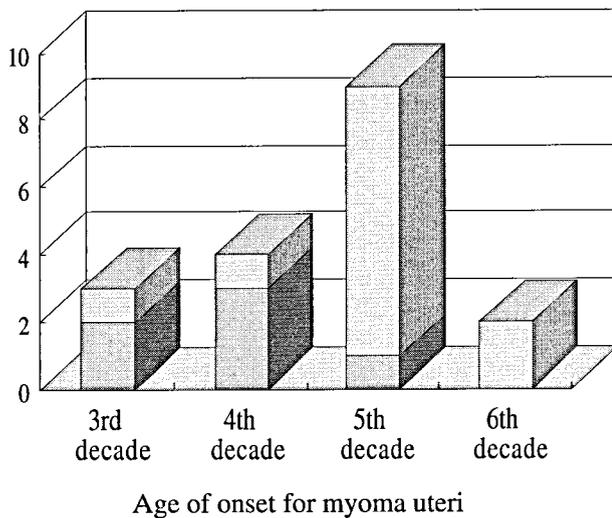


Fig. 1. Profile of onset for myoma uteri

Black box means patients who presented myoma uteri prior to muscle symptoms. Checker box shows patients who presented myoma uteri after onset of DM.

About a half of patients with myoma uteri were detected in their fifth decade. The distribution of onset for myoma uteri was quite similar to that of general population. Six patients presented myoma uteri prior to muscle symptoms. These patients showed tendency of younger onset for myoma uteri.

結果

アンケートの結果，14名で子宮筋腫の既往を認めた。更に，調査期間中に検索を行った6名中4名で子宮筋腫が発見された。また，調査項目にはなかったものの，卵巣嚢腫の合併が少なくとも4名で見られた(表1)。子宮筋腫の平均発症年齢は39.6歳(25-52歳)で，40歳代での発症が最も多かった。6名では，DM発症以前に子宮筋腫が発見されていた(Fig. 1)。子宮筋腫の合併とDM発症年齢との検討では，合併群ではDM平均発症年齢は31.6歳で非合併群の21.8歳に比べ高

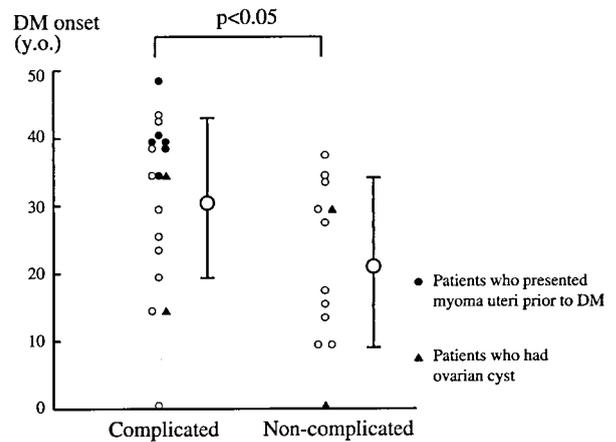


Fig. 2. Relationship between DM onset and coincidence of myoma uteri

Closed circle shows patients who presented myoma uteri prior to DM. Closed triangle presents patients who had ovarian cyst.

The mean age of onset for DM with Myoma uteri was 31.6 \pm 12.5 and that of without myoma uteri was 21.8 \pm 12.2. The p value in student t was 0.043. Those who presented myoma uteri prior to DM showed relatively higher onset for DM.

い傾向が見られた(Fig. 2)。

何らかの月経困難症はほとんどの症例で認められた。しかし，産婦人科を受診した人は少なく，ホルモン異常を指摘され治療を受けていたのは，黄体ホルモン低下を示した1例のみであった。

考察

DMは非翻訳領域の3'UTRの変異によって生じる稀な疾患で，このような疾患は本症以外には脊髄小脳変性症の一種であるSCA8で報告されているのみである⁷⁾。本症では多臓器が冒されるが，その原因としてDMPK以外の複数の遺伝子の発現にも変化が生じていることが示されている。例えば，DMPKに隣接するSIX5やDMWDの発現が示されており⁸⁾，CUG binding proteinの核内homeostasisの破綻が種々の遺伝子発現に影響を与える可能性⁹⁾も報告されている。本症と腫瘍との関連について，陣内らは腫瘍組織においてCTG repeat数が他の組織よりも多いことを示した⁶⁾。また，培養細胞でCTG repeat数の多い細胞系が少ない系に比べ増殖力に優れることも示され¹⁰⁾，anticipationや腫瘍形成との関連で注目される。

内分泌異常については，耐糖能異常の原因として最近insulin receptorのaberrant splicing¹¹⁾が報告された。その他，IL-6などのcytokine異常と視床下部・下垂体・副腎系ホルモン異常症との関連を示唆する報告¹²⁾がある。子宮筋腫は，一般人口でも有病率が高い(20-25%)ことなどから，これまで注目されていなかったと思われる。しかし，今回の調査では6割(95%信頼区間: 42.5-77.5%)という極めて高い頻

度で合併を認め、本症の合併症として留意すべきと思われた。産婦人科の低い受診傾向を考慮すると、実際の合併率は更に高い可能性もある。月経困難症の訴えも多く、女性ホルモン異常症はDMにおける合併症の一つとして認識すべきと考える。今回の調査で、原因を明らかにすることはできなかったが、性ホルモン異常、筋腫組織におけるCTG repeat延長、子宮でのestrogenおよびprogesterone receptor発現異常などが考慮される。今後、内分泌学的・遺伝学的・組織学的検討などにより原因の解明を進めるとともに、本症女性例の診療においては産婦人科的疾患の合併を念頭に適切な処置を実施することが求められよう。

謝辞：今回の調査に御協力いただいた、患者様・御家族の皆様へ深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Mahadevan M, Tsilfidis C, Sabourin L, et al: Myotonic dystrophy mutation: an unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene. *Science* 255:1253-5, 1992
- 2) Kuroiwa Y, Yamada A, Ikebe K, et al: Myotonic dystrophy and thymoma: a necropsy case report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 44: 173-175, 1981
- 3) Ichikawa K, Crosley CJ, Culebras A, et al: Coincidence of neurofibromatosis and myotonic dystrophy in a kindred. *J Med Genet* 18: 134-138, 1981
- 4) Reimund JM, Duclos B, Chamouard P, et al: Intestinal carcinoid tumor and myotonic dystrophy. A new association? *Dig Dis Sci* 37: 1922-1925, 1992
- 5) Sugio T, Jinnai K, Ohara T, et al: Myotonic dystrophy associated with insulinoma. *Intern med* 38: 504-506, 1999
- 6) Jinnai K, Sugio T, Mitani M, et al: Elongation of (CTG)_n repeats in myotonic dystrophy protein kinase gene in tumors associated with myotonic dystrophy patients. *Muscle Nerve* 22:1271-1274, 1999
- 7) Koob MD, Moseley ML, Schut LJ, et al: An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). *Nat Genet* 21:379-384, 1999
- 8) Inukai A, Doyu M, Kato T, et al: Reduced expression of DMAHP/SIX5 gene in myotonic dystrophy muscle. *Muscle Nerve* 23(9):1421-1426, 2000
- 9) Miller JW, Urbinati CR, Teng-Umuay P, et al: Recruitment of human muscleblind proteins to (CUG)_n expansions associated with myotonic dystrophy. *EMBO J* 19:4439-4448, 2000
- 10) Khajavi M, Tari AM, Patel NB, et al: "Mitotic drive" of expanded CTG repeats in myotonic dystrophy type 1 (DM1). *Hum Mol Genet* 10:855-63, 2001
- 11) Savkur RS, Philips AV, Cooper TA., et al: Aberrant regulation of insulin receptor alternative splicing is associated with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 29:40-47, 2001
- 12) Johansson A, Carlstrom K, Ahren B, et al: Abnormal cytokine and adrenocortical hormone regulation in myotonic dystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 285:3169-3176, 2000

筋強直性ジストロフィーの筋外症状に関する画像的検討 (3年間のまとめ)

木村 隆

要旨：筋強直性ジストロフィー (MyD) は、筋症状以外に多彩な全身臓器障害をきたすことが知られている。我々は、筋外症状の病態を明らかにする目的で、種々の画像を用いた検討を行った。

(1) 筋強直性ジストロフィーの核医学検査による心機能評価

これまでの検討では、臨床徴候及び心筋シンチグラフィー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レポート数が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ること。また、血流シンチグラフィーとされている^{99m}Tc-MIBIにて明かな集積低下を認めるにもかかわらず、異常所見が先行すると考えられる代謝シンチグラフィーである^{123I}-BMIPP (脂肪酸代謝シンチグラフィー)、^{123I}-MIBG (交感神経機能シンチグラフィー)にて集積異常を認めない症例を20例中2例認めることが明らかとなっており、今回は同症例の核医学検査による再検討として、ともに血流シンチグラフィーとされている^{123I}-Tlと^{99m}Tc-MIBIのdual scintigraphyにて評価を行った。その結果、^{123I}-Tlでの異常は認められず、^{99m}Tc-MIBIの異常が血流とは別の何らかの代謝異常を含めた心筋障害を反映する可能性が示唆された。

(2) 筋強直性ジストロフィーにおける知的機能検査と脳画像所見との関連性

MyD24例について、改定長谷川式簡易知能評価スケール(HDS-R)およびMinimental state examinationを行い、脳MRIにおける各種パラメーターと比較検討した。対象は、当院入院中の30～66歳までの筋強直性ジストロフィー患者24人で、平均年齢は50.8歳、男女比は13：11だった。高齢であるほどMMSEが高い傾向があった。年齢と大脳断面積の関係では年齢の上昇に伴い、断面積の低下する傾向にあった。さらに、左前大脳横径、後大脳横径も年齢の上昇に対し、有意に低下していた。CTGレポート数とMMSEの関係では、CTGレポートの増加に伴い、MMSEは低下する傾向にあった。MRIで検出された側頭極白質病変は年齢と負の相関傾向があり、若年者に多く病変を認める傾向にあった。さらに島回皮質下白質病変では、病変のある群でCTGレポート数は増加する傾向にあり、HDS-Rは低下する傾向にあった。以上のことから、MyDでは加齢とともに脳の大きさは減じる傾向にあるが、これらのパラメーターは知的機能には相関せず、知的機能は側頭葉病変との関連が示唆された。

(3) 筋強直性ジストロフィーにおける3D-SSPとSSEの検

討

MyDにおける局所脳血流を評価する目的で、脳血流シンチグラフィデータを三次元統計処理プログラムで定量的に解析した。対象は当院入院中のMyD患者27名(男性14名、女性13名)で平均年齢は 52.2 ± 8.6 歳。脳血流SPECT検査は^{123I}-IMPを用い、画像データを3D-SSP処理し、さらにSSEで定量的に解析し、Level 3の解析結果に対しては左視床(全例で血流低下なし)と各脳回についてWilcoxon符号順位検定を行い評価した。その結果、MyDでは全般的な血流低下傾向があり、有意に血流低下している脳回が多く認められた。視床、梁下野では保たれる傾向があった。MDに特異的な特異的な血流低下部位は認めなかった。また、先天型と成人型との比較でも、特異な差異は見られなかった。以上の検討から、MyDでは全般的な血流低下が特徴であると考えられた。

今回の3年間の検討では、MyD例には病態が明らかとされていない、筋外症状が多く存在し、病態の解明には核医学検査が有用と考えられた。

筋強直性ジストロフィーの病態と治療への展望*

古谷 博和**

Key Words :myotonic dystrophy, CTG repeat, RNA toxicity, gain-of-function, re-peat binding protein

はじめに

筋強直性ジストロフィー1型（筋緊張性ジストロフィー，Myotonic dystrophy type 1 (DM1) [MIM 160900]) は，10万人に故人の割合で発症する成人で最も頻度の高い筋ジストロフィーであり，根治的な治療法はいまだに見出されていない¹⁾，しかし，1992年にDM1がCTG繰り返し配列によるトリプレットリピート病 (triplet repeat disease) であることが判明し²⁾，2001年にDM1に類似しているものの，やや軽微な症状を呈する筋強直性ジストロフィー2型 (myotonic dystrophy type 2 (DM2) /proximalmyotonic myopathy (PROMM) [MIM 602668]がCCTGの4塩基繰り返し配列病であることが明らかになったことより³⁾⁴⁾，病態の解明が少しずつ進みつつある，またごく最近，新たに筋強直性ジストロフィー3型 (DM3) が報告された (Table 1)⁵⁾。

本稿ではDM1を中心に，疾患発症機序の概要に関して近年の研究進歩を述べるとともに，それに基づく治療法開発の可能性について解説する。

I. DM1の臨床的・遺伝学的特徴

DM1は常染色体優性の遺伝形式をとり，四肢の骨格筋，特に頸筋，四肢の遠位筋に筋萎縮と筋力低下に加え，握った手がなかなか開けないという特徴的なミオトニア現象が起こる，このため筋症状に注意が向けられがちであるが，それに加えて白内障，知能低下，性格変化などの中枢神経系 (CNS) のtauopathy，白内障，禿頭，IgG分泌低下，甲状腺・副甲状腺機能障害，胆石症，肝機能障害 (脂肪肝，ICG排泄異常)，インスリン非反応性の難治性糖尿病，睾丸萎縮，麻酔後の悪性高体温症 (malignant hyperthermia)，低免疫グロブリン血症，高い良性・悪性腫瘍の合併頻度 (特に甲状腺腫瘍，卵巣腫瘍，巨大子宮筋腫，胆嚢癌) など，全身性疾患であるという特徴を有し，通常これらの症状が患者さんの生命予後やquality of life (QOL) を左右する¹⁾⁶⁾⁷⁾。

またDM1家系の調査を行うと，世代を経るに従って発症年齢が早くなり，それとともに症状が重篤化するanticipation現象が認められることが，早くから知られていた。特に母親がDM1罹患者である場合には，重症の先天性DM1の子供

が生まれ，出生時に人工呼吸管理が必要なこともある (congenital myotonic dystrophy)。このようなanticipation現象は，世代を経るに従ってCTGリピートのサイズが延長することから生じる。

DM2の臨床症状も殆どDM1と同じであるが，中枢神経症状や先天性DM2の報告がないことがDM1と異なる⁸⁾，またこれとは逆に，DM3は中枢神経症状が目立つという特徴がある (Table 1)⁹⁾。

II. トリプレットリピート病としてのDM1

ゲノムの中で，3塩基の繰り返し配列 (Triplet repeat) が延長することで疾患が発症するものをトリプレットリピート病といい，現在までにこの範疇に入る15種類の疾患が見出されている。トリプレットリピート病はその繰り返し配列により，それぞれの発症機序および臨床症状が異なっていることが特徴であるが，この中でCAGリピート病が最も解析されている。この疾患群では，延長したCAG配列はエクソン内に存在しており，ポリデルタミン鎖に翻訳され，異常ユビキチン化が起こり，神経細胞核内に封入体を形成し，アポトーシスが誘導される。また，臨床的にCAGリピート病は，球脊髄性筋萎縮症を除いて症状がCNSに局限するという特徴がある。

一方CTGリピート病としては，DM1と脊髄小脳失調症8型 (SCA8) の2種類がある，DM1ではdystrophia myotonic-protein kinase (DMPK) 遺伝子，SCA8ではSAC8遺伝子の3'非翻訳領域に，DM1では80回以上，SCA8では100回以上に延長したCTGリピートが存在し，延長したCTG配列はmRNAには転写されるが，

蛋白質には翻訳されない¹⁰⁾，またDM2では，核酸結合蛋白であるzinc finger protein 9 (ZNF9) 遺伝子のイントロン1に存在するCCTGリピートが，75～11,000回にまで延長している¹¹⁾¹²⁾。

III. CTGリピート延長とDM1発症機序

1. DMPKとCTGリピート延長

DM1の場合，CTG配列は平均数百回にまで増加しており，特に先天性DMでは1,000～3,000まで著増する，またリピー

*Pathogenesis and Trial for Treatment of Myotonic Dystrophy.

**独立行政法人国立病院機構筑後病院神経内科 Hirokazu Furuya: Department of Neurology, Chikugo National Hospital, Chikugo, Fukuoka, Japan

Table 1 Clinical Features of the Myotonic Dystrophies (DM1, DM2, DM3)

FEATURE	DM1	DM2/PROMM	DM3
Myotonia	+++	+++	+++
Facial weakness	+	+	+
Proximal weakness	+++	+++	+++
Distal weakness	++	++	++
Sternocleidomastoid atrophy	++	++	++
Iridescent cataracts	++	++	++
Cardiac arrhythmias	++	++	?
Testicular failure	+	+	?
Insulin resistance diabetes mellitus	++	++	+
Hypogammaglobulinemia	+	+	?
Elevated creatine kinase (CK)	+	+	±
Tauopathy	+	-	++
Gene	DMPK	ZNF9	?
Repeat	CTG	OCTG	?
Gene locus	19q 13.2-q13.3	3q 13.3-q24	15q21-24

(Adapted with minor modification from the reference 4,5 and 26)

トの数は組織ごとに多少異っており、腫瘍組織では延長しているとの報告もある⁹⁷⁾。

DMPX 遺伝子は全長が121kbで、15個のエクソンより構成されている。最初はリピートの延長によるDMPK自身の発現量の減少や、その選択的スプライシング (alternative splicing) の変化が病因につながると考えられていたが、DMPK ノックアウトマウスが軽微な心筋障害以外に典型的なDM1の症状を呈さないということが、この仮説の欠陥であった⁹⁾。

一方Thorntonらのグループは、骨格筋アクチン遺伝子の3' 非翻訳領域にCTGリピートを入れたトランスジェニックマウスを作成したところ、電気生理的にミオトニアを呈し、筋病理所見もDM1に酷似するモデルマウスが作成されることを発見した¹⁰⁾、このことから、最近ではリピートを含むmRNAが発現すること自体がDM1の病態に関与し、DMPK自体はそれほど重要な意味を持たないのではないかという考えが強くなってきている。

2. リピートを含むRNAの周辺遺伝子へ及ぼす影響

ゲノム上でDMPK遺伝子の周辺には密に遺伝子が存在しており、DMPKのすぐ5'上流にはDMWD (以前はprotein 59と呼ばれていた)、3'下流にはSIX5 (以前はDMAHPと呼ばれていた) が位置している、また後者のプロモーター領域はCTGリピートの位置とオーバーラップしている。したがって、リピートの延長は下流のSIX5遺伝子のプロモーター領域を壊し、遺伝子の発現を抑制する。これに基づいてSIX5のノックアウトマウスを作成したところ、DM1に最も多い合併症である白内障が発生することがわかった¹¹⁾。このことより延長したCTGリピートは、周辺に存在する遺伝子の発現に影響することが判明した。ただこの場合、リピートが延長しているアレルの3'下流遺伝子の発現の抑制と、それに起因する合併症の発症は説明できるが、他の合併症については説明困難である。そこで延長したCTGリピートは、同時期に発現する他の遺伝子の発現にも影響を及ぼしている可能性が考えられた (trans-効果)。

リピート部分をプローブとして患者と正常人の筋芽細胞内

でのDMPX mRNAの局在をRNA-FISH法で調べてみると、患者筋芽細胞ではシグナルは核膜の所に多く存在していた (Fig. 1B)。同様の実験を線維芽細胞で行っていても、やはり通常認めるより多くのスポットが検出され (Fig. 1C)、リピートを有するmRNAは核内に多く存在することがわかった。さらにリピートの周辺の部分をプローブとして又RNA-FISHを行うと、DMPKのシグナルがやや増加しているだけでなく、通常は離れた位置に認められるDMPKとSIX5のシグナルが、DM患者の筋芽細胞では重なって見えるものが多かった (Fig. 2B, 矢印)。つまりリピートを含むRNAは、同時に発現する他の遺伝子の発現にも影響していることが確認されたわけである^{12,13)}。

3. DM1のRNA病因論 (toxic RNA, もしくはRNA gain of function説)

CTG (CUG) リピートを含むmRNAが核内に多く存在していることが判明すると同時に、DM1患者筋細胞や線維芽細胞、中枢神経細胞などで種々の遺伝子 (心トロポニンT (cTNT)¹⁴⁾、インスリン受容体 (IR)¹⁵⁾、筋特異的クロライドチャンネル (MSCC)^{16,17)}、タウ蛋白¹⁸⁾、ミオチューブラリン (myotubularin) など) に、選択的スプライシングの異常が生じることが判明した。その結果IRではエクソン11の欠損したIRが筋細胞で発現することでインスリン抵抗性の糖尿病が発症し、MSCCでは通常型の受容体が発現しなくなるによりミオトニア現象が起こり、CNSに発現するタウ蛋白では、エクソン2, 3の欠損したタウ遺伝子が発現することで、異常リン酸化タウ蛋白の沈着 (tauopathy) が生じるのではないかと考えられるようになってきた。このように異常なRNAが種々の遺伝子発現の異常をきたす病態は、最近ではtoxic RNA説、もしくはRNA自体に毒性があるわけではないので、RNA gain of function説などと呼ばれている。事実これらCUG配列の延長したRNAは、核から細胞質に移動すれば、全く害を引き起こさず、正常な蛋白質への翻訳が起こる¹⁹⁾。

次にそのような異常RNAはどのような機序で種々の遺伝子発現の異常を起こすかが問題になる。これに押しては、

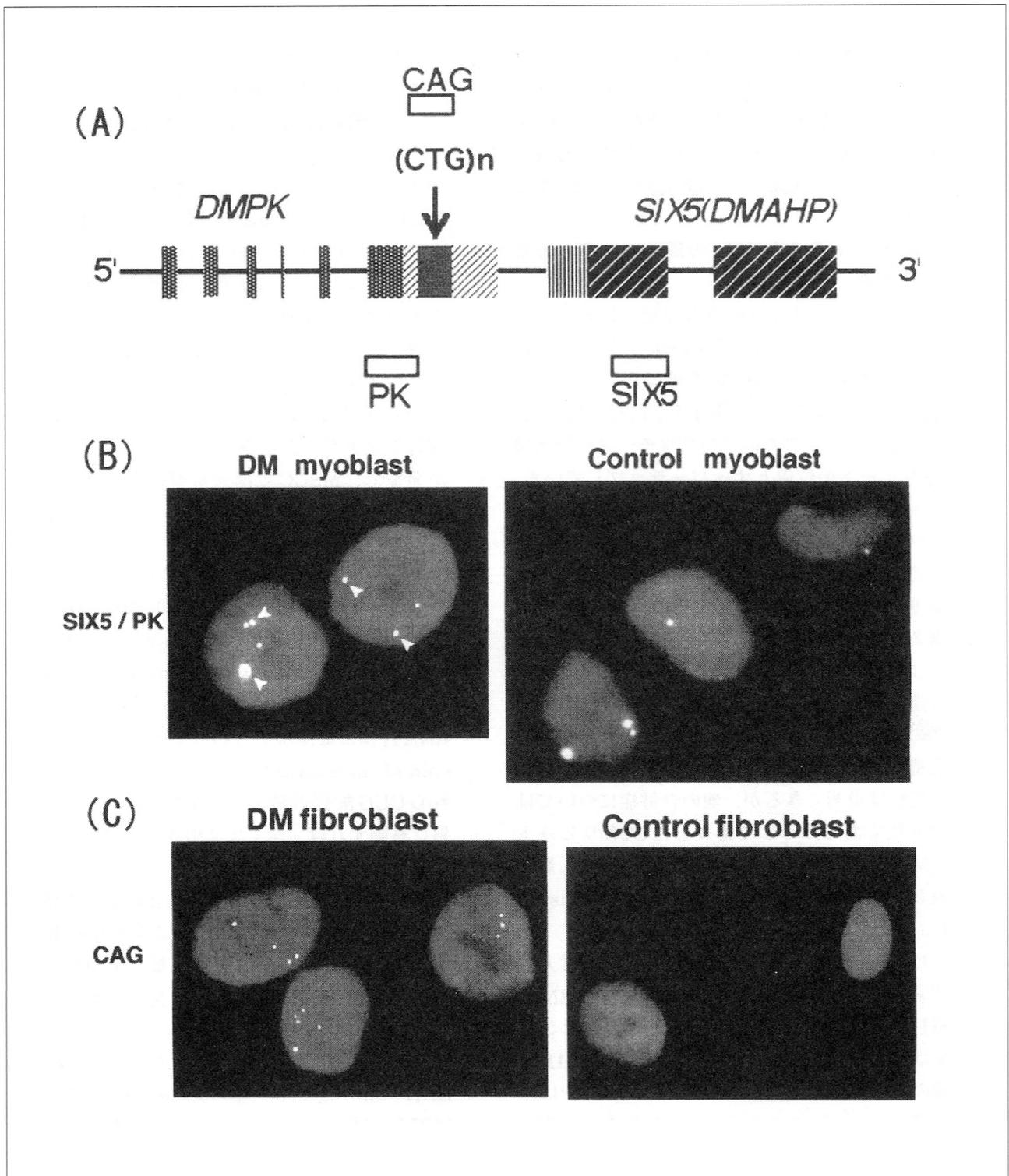


Fig.1 (A)Location of synthesized RNA-FISH probes. CAG ; complementary sequence of (CTG)n repeats, which detect the CUG repeat sequence, PK ; complementary sequence of exon 15 region of DMPK gene, SIX5 ; complementary sequence of SIX5 gene. (B) RNA-FISH analysis of normal and DM1 patient myoblast cell using SIX5 and PK probes. Note both of the signals are located in the different region of nucleus in normal myoblast. However, in patient myoblast, both signal overlapped (arrow head). (C) RNA-FISH analysis of normal and DM1 patient fibroblast cell using CAG probe. Note increased number of signal in DM1 fibroblast.

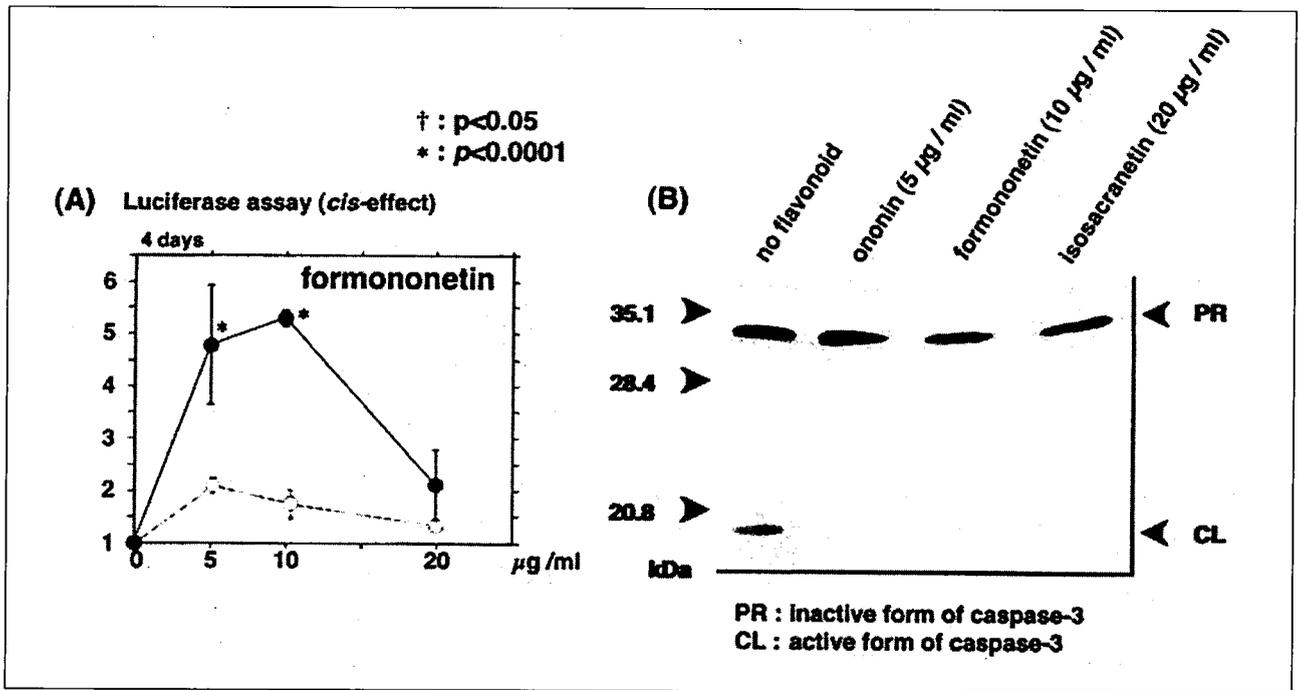


Fig.2 (A) Inhibition by formononetin (isoflavone) of the cis-effect caused by expanded CTG repeat. The points represent means luciferase activity \pm standard errors of control PC12 cell, which expresses luciferase mRNA with out expanded CUG repeat (○) and DM1 model PC12 cell which stably expresses luciferase mRNA which contains 250 expanded CUG repeat in its 3' UTR (●). Values are ratios for luciferase for each untreated cell. The box shows the findings after 4 days of incubation with present of nerve growth factor and various concentration of formononetin, absent of fetal calf serum, which causes the oxidative stress. Statistical significance also is shown (* ; $p < 0.0001$). (B) Oxidative stress increases the active form of caspase-3 (CL) in DM1 model PC12 cell (Lane 1 : no flavonoid), but the increase is inhibited by flavonoid treatment. Long incubation of DM1 model PC12 cell in serum-free media with NGF increases cleaved caspase-3 (active form of caspase-3) (CL) more than uncleaved caspase-3 (inactive form) (PR). Longer incubation of DM1 model PC12 cell after differentiation under the oxidative stress condition (FCS (-), NGF (+), for 144 h) increases the active caspase-3 form (CL). But, this is inhibited by flavonoid treatment. Lane 1 : no flavonoid, 2 : ononin (5 $\mu\text{g/ml}$), 3 : formononetin (10 $\mu\text{g/ml}$), 4 : isosakuranetin (20 $\mu\text{g/ml}$), PR : inactive form of caspase-3 (prcaspase-3), CL : active form of caspase-3 (cleaved caspase-3). Positions to which molecular markers (kDa) migrate are indicated on the left.

CUGリピート領域に特異的に結合する蛋白質がDM1, 2発症に大きな影響を与えていると推察されている。そのような蛋白質として、まずCUG-BP蛋白質が同定され、次にRNA-binding protein muscle blind (MBNL, MBLL, MBXL)が発見された¹⁹⁻²¹⁾。石浦らのグループの研究から、これらの蛋白質は必ずしもCUGやCCUGリピートに特異的に結合するものではないが^{19, 21)}。CUG-BPの過剰発現や、MBNL1の不足は選択的スプライシングの異常をきたすことから、延長したCUG, CCUGリピートは、これらの蛋白質を多く結合してしまい、結果として不足状態を起こす可能性が考えられた。

これはSwansonらのグループが、MBNL1遺伝子のノックアウトマウスを作成し、これでcTNT遺伝子に選択的スプライシングの異常が起こり、白内障が発症し、電気生理学的にも筋病理学的にもDM1と同じ所見がみられたことで証明された²²⁾。このことは、DM1ではリピートの含まれる遺伝子産物ではなく、その転写、翻訳に関与する因子、あるいはそれとRNAとの複合体が病態に深く関与していることを意味している。

さらにリピート結合蛋白とDM1, 2の発症機序が問題になるが、最近Swansonらのグループは、MBNLがcTNTやIRの選択的スプライシングに関与していることを証明した²³⁾。おそらくMBNLなどがリピートと強く結合して離れないために、選択的スプライシングでの機能を果たすことができなくなり、異常が生じるのではないだろうか。

IV. 病態に則した治療法開発の試み

以上のようにDM1に関する新しい病態仮説が提唱されてきたので、それに則した治療法が考えられるようになってきた。最初DM1では、リピートのcis-効果によって、原因遺伝子であるDMPKや、その下流のSIX5の発現が減少していることが判明したので、DMPKやSIX5の補充が有効ではないかと考えられたが、それだけでは治療効果は疑わしくなってきた。DM1はCUGリピートの延長したmRNAが核内に滞り、そこにリピート結合蛋白が結合して複合体を形成してcis-, trans-効果を起こすことが、病態に深く関与している。

したがって治療の可能性としては、(1) リピートの延長したRNAの転写を防ぐ、(2) 消耗するリピート結合蛋白を補充する、(3) リピートの延長したRNAを、核から細胞質へできるだけ早く輸送して無害化する、などの方法が考えられる。

これらの仮説に基づいたDM1治療の試みとして、リボザイムを用いてCUGリピートの延長したmRNAの転写を細胞レベルで抑制する方法が報告された²⁰。また、Swansonらのグループは、RNAi法などを用いての間接的なMBNL1の遺伝子発現増加や、MBNL1と競合して選択的スプライシングを制御するCELFの発現コントロールを行うことで、RNA gain of functionを改善できるのではないかと考えている²⁰。

ところで、DM1におけるRNA gain of functionは、リピートの延長したmRNA (おそらくDM2ではhnRNAではないかと考えられる)が核内に存在することが問題であるので、RNAの核・細胞質輸送を促進して細胞質にRNAを輸送すれば治療効果の出る可能性が考えられる。このような仮説に基づいて、われわれは神経系培養細胞(PC12)を用いてDM1のモデル細胞を作成した。この細胞では、レポーター遺伝子(ルシフェラーゼ)の3'非翻訳領域に250回に延長したCTGリピートを有し、延長したCUGリピートを恒常的に発現することができる。ここで筋細胞ではなく、神経系の培養細胞を用いたのは、神経系の培養細胞ではいったん分化が始まると細胞分裂しなくなるので、核膜が維持されて異常RNAの効果が出やすくなるのではないかと考えたからである。このようにして作成したDM1モデル細胞は、分化誘導して軽い酸化ストレスをかけると、レポーター遺伝子の翻訳が悪くなり、細胞死が起こることが判明した。レポーター遺伝子の活性を測定するのは容易なので、酸化ストレスをかけた後に235種類のbio-flavonoidを培地の中に加えて、レポーター遺伝子の発現を促進し、細胞死を抑制する薬剤のスクリーニングを行ったところ、数種類にその効果のあることが判明した(Fig. 2)、このシステムは迅速かつ容易にDM1の治療に有効な薬剤の取捨選択ができるので、RNA gain of function効果を抑制して、DM1の発症を遅らせるような薬剤のスクリーニングに有効ではないかと期待される(投稿中)。

まとめ

これまでDM1, 2の病態の解明には、(1) DM1がCTGリピート病であることの発見、(2) アクチン遺伝子を用いたトランスジェニックマウスでのDM1発症、(3) DM2の発見、(4) DM1, 2での種々の遺伝子の選択的スプライシングの異常の発見、(5) MBNL1ノックアウトマウスのDM1症状の発現などの研究が重要な役割を果たしてきた。

それらを総合して考えると、細かい機序は不明な点が多いがDM1ではDMPK mRNAのプロセッシング、核から細胞質への輸送が核膜レベルで妨げられ、核内に残っているmRNAがMBNL1のようなリピート結合蛋白と強固な複合体を形成し結合蛋白を消耗するなどの理由で、自分自身やそのアレルの周辺の遺伝子の発現のみならず(cis-効果)、選択的スプライシングの異常をも含み、同時に発現する他の遺伝子の発現にも影響を及ぼすのではないかと考えられる

(trans-効果)(Fig. 3A)。おそらく、DM2の場合には、ZNF9遺伝子のhnRNAレベルでDM1と同じようなことが起こっていると予想される(Fig. 3B)。しかしリピート結合蛋白が、細胞にとってそれほど重要な働きをしているとすれば、DM1患者は思春期以降に症状が出現する頻度の高いことや、先天性DM1患者は出生時には重篤な症状を呈するのに、その後は症状が軽減して長期間生存可能な症例の多いことをこの仮説で説明することは困難である。

いずれにせよDM1, 2は、RNA病とでもいうべき、これまでに報告のない新たな病態ともいえる^{23, 24}。近年、RNAはアミノ酸に翻訳されて蛋白質になる以外、核内で遺伝子発現制御にも関与していることがわかってきており、DM1, 2の病態はそのような細胞内の基礎的メカニズムの攪乱とも深くかかわっていることも考えられ、今後のさらなる研究の発展が望まれる。

謝辞：稿を終えるにあたり、RNA-FISH法の写真提供をしていただいた国立遺伝研の佐々木裕之先生と九州大学生体防御研究施設の大野みずき先生、Bioflavonoidの提供をしていただいた、富山医科薬科大学の林利光先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Harper PS : In : Myotonic Dystrophy. 3rd ed. WB Saunders, London, p 17-165, 2000
- 2) Fu YH, Pizzuti A, Fenwick RG Jr, King J et al : An unstable triplet repeat in s gene related to myotonic muscular dystrophy. Science 255 : 1256-1258, 1992
- 3) Liquori CL, Ricker K, Moseley ML et al : Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. Science 293 : 864-867, 2001
- 4) Day JW, Ricker K, Jacobsen JF et al : Myotonic dystrophy type 2 : molecular, diagnostic and clinical spectrum, Neurology 60 : 657-664, 2003
- 5) Le Ber I, Martinez M, Campion D et al : A non-DM1, non-DM2 multisystem myotonic disorder with frontotemporal dementia : phenotype and suggestive mapping of the DM3 locus to chromo-some 15q21-24. Brain 127 : 1979-1992. 2004
- 6) Kinoshita M, Igarashi A, Komori T et al : Differences in CTG triplet repeat expansions in an ovarian cancer and cyst from a patient with myo-tonic dystrophy. Muscle Nerve 20 : 622-624, 1997
- 7) Kinoshita M, Osanai R, Kikkawa M et al : A patient with myotonic dystrophy type 1 (DM1) accompanied by laryngeal and renal cell carcinomas had a small CTG triplet repeat expansion but no somatic in normal tissues. Inten Med 41 : 312-318, 2002
- 8) Koob MD, Moseley ML, Schut LJ et al : An un-translated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). Nature Genet 21 : 379-384, 1999
- 9) Timchenko LT : Myotonic dystrophy : the role of BNA CUG triplet repeats. Am J Hun Genet 64 : 360-364,

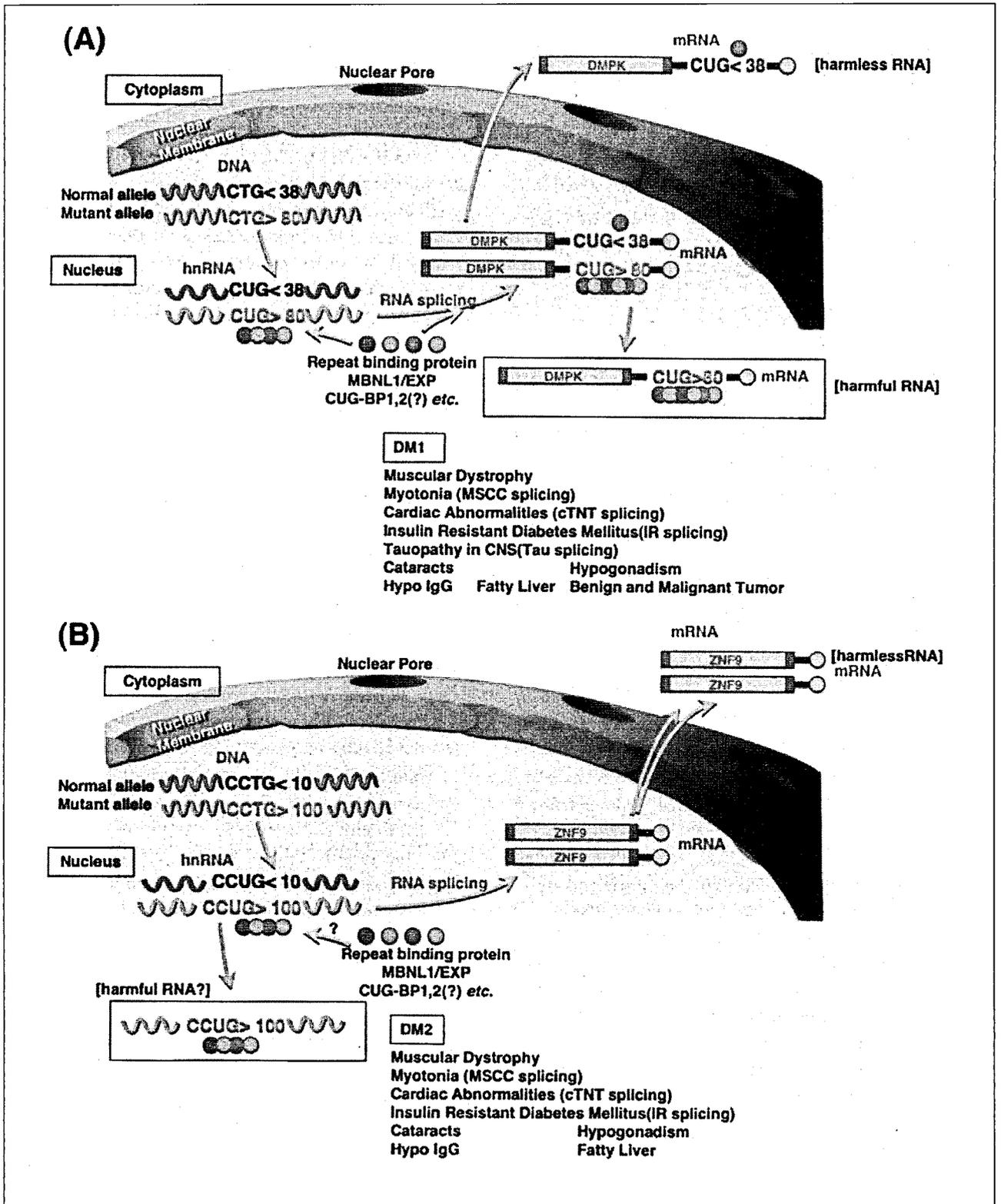


Fig.3 Schematic diagram of steps involved in RNA gain-of-function mechanism in DM1 (A) and DM2 (B). A CTG repeat expansion, which is transcribed into mRNA but not translated, causes DM1 (A) and a CCTG repeat expansion, which is expressed at the RNA but not the protein level, causes DM2 (B). Specific changes in premRNA(hnRNA) splicing have been associated with several genes, including the insulin receptor (IR), the chloride channel (MSCC), tau and cardiac troponin T (cTNT) which is correlated with insulin resistance diabetes mellitus, myotonia, tauopathy and cardiac abnormalities both in DM1 and 2. (adapted with modification from reference 25 and 26.)

- 1999
- 10) Mankodi A, Logigian E, Callahan L et al : Myo-tonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat. *Science* 289 : 1769-1773, 2000
 - 11) Klesert TR, Cho DH, Clark JI et al : Mice defi-cient in Six5 develop cataracts : implications for myotonic dys-trophy. *Nat Genet* 25 : 105-109, 2000
 - 12) Davis BM, McCurrach ME, Taneja KL et al : Ex-pansion of a CUG trinucleotide repeat in the 3' untranslat-ed region of myotonic dystrophy protein kinase tran-scripts results in nuclear reten-tion of transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 : 7388-7393, 1997
 - 13) 古谷縛博和 : CTG リピート病としての筋強直 (緊張) 性ジストロフィー, *福岡医学雑誌* 93 : 153-160, 2002
 - 14) Philips AV, Timchenko LT, Cooper TA : Disruption of splicing regulated by a CUG-binding protein in myotonic dystrophy. *Science* 280 : 737-741, 1998
 - 15) Savkur RS, Philips AV, Cooper TA : Abrrant reg-ulation of insulin receptor alternative splicing is associat-ed with insulin resistance in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 29 : 40-47, 2001
 - 16) Charlet-B N, Savkur RS, Singh G et al : Loss of the muscle-specific chloride channel in type 1 myotonic dystrophy due to misregulated alterna-tive splicing. *Mol Cell* 10 : 45-53, 2002
 - 17) Mankodi A, Takahashi MP, Jiang H et al : Expanded CUG repeats trigger aberrant splicing of CIC-1 chlo-ride channel pre-mRNA and hyperexcitability of skele-tal muscle in myotonic dystrophy. *Mol Cell* 10 : 35-44, 2002
 - 18) Sergeant N, Sablonniere B, Schraen-Mashke S et al : Dysregulatio of human brain microtu-bule-associated tau mRNA maturation in myotonic dystrophy type 1. *Hun Mol Genet* 10 : 2143-2155, 2001
 - 19) Takahashi N, Sasagawa N, Suzuki K et al : The CUG-binding protein binds specifically to UG dinucleotide repeats in a yeast three-hybrid sys-tem. *Biochem Biophys Res Commun* 277 : 518-523, 2000
 - 20) Miller JW, Urbinati CR, Teng-umnuay P et al :Recru-itement of human muscle blind proteins to (CUG)n expansions associated with myotonic dystrophy, *EMBO* 19 : 4439-4448, 2000
 - 21) Kino Y, Mori D, Oma Y et al : Muscleblind pro-tein, MBNL1/EXP, binds specifically to CHHG repeats. *Hum Mol Genet* 13 : 495-507, 2004
 - 22) Kanadia RN, Johnstone KA, Mankodi A et al : A mus-cleblind knockout model for myotonic dystro-phy. *Ssence* 302 : 1978-1980, 2003
 - 23) Ho TH, Charlet-B N, Poulos MG et al : Muacle-blind proteins regulate alternative splicing. *EMBO J* 23 : 3103-3112, 2004
 - 24) Langlois MA, Lee NS, Rossi JJ et al : Hammer-head ribozyme-mediated destruction of nuclear foci in myotonic dystrophy myoblasts. *Mol Ther* 7 : 670-680, 2003
 - 25) Tapscott SJ, Thornton CA : Reconstructing myo-tonic dystrophy. *Science* 293 : 816-817, 2001
 - 26) Ranum LP, Day JW : Myotonic dystrophy : RNA pathogenesis comes into focus. *Am J Hum Genet* 74 (5) : 793-804, 2004

Pathogenesis and Trial Treatment of Myotonic Dystrophy

Hirokazu Furuya

Department of Neurology, Chikugo National Hospital, Chikugo, Fukuoka, Japan

Myotonic dystrophy (DM) is the most common form of muscular dystrophy in adults with mul-tisystemic clinical features affecting skeletal muscle, the heart, the eye, the central nervous system (CNS) and the endocrine system. Two genetic loci have been reported with the type 1(DM1) and type 2 (DM2). The former was iden-tified as a CTG expansion in the 3' untranslated region of the dystrophia myotonica-protein ki-nase gene (DMPK) and the latter was caused by an untranslated CCTG expansion in the intron of zinc finger protein 9 (ZNF9). Along with other discover-ies on DM1 pathogenesis, the clinical features common to

both diseases are caused by a gain-of-function RNA mecha-nism in which the CUG and CCUG repeats alter cellular basic function, including alternative splicing of vari-ous genes probably with the mediation of repeat binding pro-teins such as MBNL or CUG-BP. Based on these findings, several trials for treat-ment of DM1,2 were proposed using murine DM1 model animal and cell-culture model with the method of ribozyme, RNAi or screening of model cell with bioflavonoids. These studies demonstrate for the possibility of recovery of nuclear-retained mutant mRNAs, providing the treatment of DM I,2.

3年間における研究成果(論文)

- 1) Ikezoe K, Furuya H, Ohyagi Y, Osoegawa M, Nishino I, Nonaka I, Kira J. Dysferlin expression in tubular aggregates: their possible relationship to endoplasmic reticulum stress. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2003; 105(6): 603-609
 - 2) Furuya H, Shinnoh N, Ohyagi Y, Ikezoe K, Kikuchi H, Osoegawa M, Fukumaki Y, Nakabeppu Y, Hayashi T, Kira J. Some flavonoids and DHEA-S prevent the cis-effect of expanded CTG repeats in a stable PC12 cell transformant. *Biochem Pharmacol*. in press
 - 3) 古谷博和, トリプレットリピート病と痴呆. 痴呆症学(3). 日本臨床, 2004 62巻 増刊号4. pp224-228
 - 4) 古谷博和, 筋強直性ジストロフィーの病態と治療への展望. 神経治療2004; 21 (5) : 511 - 519.
-

Some flavonoids and DHEA-S prevent the *cis*-effect of expanded CTG repeats in a stable PC12 cell transformant

Hirokazu Furuya^{a,b,*}, Nobue Shinnoh^a, Yasumasa Ohyagi^a, Koji Ikezoea, Hitoshi Kikuchi^a, Manabu Osoegawa^a, Yasuyuki Fukumaki^c, Yusaku Nakabeppu^d, Toshimitsu Hayashi^e, Jun-ichi Kira^a

^aDepartment of Neurology, Neurological Institute, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

^bDepartment of Neurology, Chikugo National Hospital, Fukuoka 833-0054, Japan

^cDivision of Disease Genes, Research Center for Genetic Information, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University and CREST JST, Fukuoka 812-8582, Japan

^dDivision of Neunofunctional Genomics, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University and CREST JST Fukuoka 812-8582, Japan

^eFaculty of Pharmaceutical Sciences, ToyoM Medical and Phannaceutical University, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan

Received 9 July 2004; accepted 20 October 2004

Abstract

Expanded CUG triplet repeats carrying mRNA seem to be responsible for myotonic dystrophy type 1 (DM1). To study the pathogenesis of DM1, we constructed a DM1 cell culture model using a PC12 neuronal cell line and screened flavonoids that ameliorate this mRNA gain of function. The expanded 250 CTG repeat was subcloned into the 3'-untranslated region of the luciferase gene yielding a stable transformant of PC12 (CTG-250). The cytotoxicity of CTG-250 was evaluated by intracellular LDH activity, and the *cis*-effect by luciferase activity. To find agents that alter CTG-250 toxic effects, 235 bioflavonoids were screened. An increased *cis*-effect and cytotoxicity were found when CTG-250 was treated with nerve growth factor to induce differentiation. Western blotting with anti-caspase-3 antibody suggested that cell death was caused by apoptosis. Screening analysis confirmed that a flavone (toringin), an isoflavones (genistein and formononetin), a flavanone (isosakuranetin), and DHEA-S prevent both the cytotoxicity and *cis*-effect of CTG-250 and that a flavanone (naringenin), isoflavone (ononin), and xanthylatin strongly inhibit the *cis*-effect of CTG repeats. In conclusion, we found that this neuronal cell line, which expresses the CUG repeat-bearing mRNA, showed *cis*-effects through the reporter gene and neuronal death after cell differentiation *in vitro*. However, some flavonoids and DHEA-S inhibit both the *cis*-effect and cytotoxicity, indicating that their chemical structures work to ameliorate both these toxic effects. This system makes it easy to evaluate the toxic effects of expanded CTG repeats and therefore should be useful for screening other DM1 treatments for their efficacies.

© 2004 Published by Elsevier Inc.

Keywords: Myotonic dystrophy type 1 ; Trinucleotide repeats; PC12; Flavonoid; RNA gain of function; Tauopathy

1. Introduction

Myotonic dystrophy, type 1 [MIM 160900; dystrophia myotonica 1 (DM1)] is an autosomal dominant form of muscular dystrophy. Although its common features are myotonia and progressive type 1 dominant muscle fiber atrophy, other frequent defects are cardiopathy, cataracts, insulin resistance, frontal balding, mild

dementia, and other systemic involvements [1]. To date, two mutations (DM1 and DM2 [MIM 602668; dystrophia myotonica 2 (DM2)]), at unlinked loci, are known to be associated with myotonic dystrophy.

The DM1 mutation has been identified as an expanded CTG trinucleotide repeat tract in the 3'-untranslated region (3'-UTR) of the DM1 protein kinase (DMPK) gene [2]. In DM1 patients, the mRNA for DM1 protein kinase (DMPK) has from 50 to more than 2000 CTG repeats in its 3'-untranslated region (3'-UTR) [3]. Although this DM1 mutation accounts for 98% of DM cases, it is not known exactly how it causes the disease [4]. Several mechanisms, which indicate altered DMPK and/or isoforms, and misexpression of self or neighboring genes at the DM1 locus (*cis*-effect), and/or at *trans*-dominant mutant DMPK mRNA (*trans*-effect), have been proposed [5].

Recently, a CCTG repeat expansion disease (DM2), in which the CCTG repeat is in intron 1 of the *zinc finger protein 9 (ZNF9)*

Abbreviations: DM1, myotonic dystrophy type1; DM2, myotonic dystrophy type2; DMPK, DM 1 protein kinase; 3'-UTR, 3'-untranslated region; RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction; MW, molecular weight; kDa, kilo-Dalton; EtBr, ethidium bromide; cone., concentration; nt, nucleotides length; DHEA-S, dehydroepiandrosterone sulfate; DMSO, dimethyl sulfoxide; DMEM, Dulbecco's modified Eagle's medium; CNS, central nervous system

* Corresponding author. Tel.: +81 92 642 5340; fax: +81 92 642 5352.

E-mail address: furuya@neuro.med.kyushu-u.ac.jp (H. Furuya).

0006-2952/\$ - see front matter © 2004 Published by Elsevier Inc.

doi: 10.1016/j.bcp.2004.10.005

gene, has been reported [6,7]. Like the CUG-bearing RNA in DM1, the CCUG-bearing RNA in DM2 accumulates at a small number of foci in the nucleus. The expression of RNA carrying either a CUG or CCUG expanded repeat, rather than a deficiency of the DMPK, SIX5 or ZNF9 proteins, therefore is thought to account for the disease features common to DM1 and DM2 [4]. Mutant transcripts are retained in the nuclei of mouse C2C12 myoblast cells and aggregate into distinct foci [8,9]. Moreover, there is increasing evidence that mutant DMPK mRNA acts in trans- to disrupt cellular RNA metabolism (the toxic RNA theory of DM1 or RNA gain of function theory) [10-12]. Further, we have shown that CTG repeats interfere with the expression of the reporter gene in *Xeno-pus* oocytes but not in embryos (fertilized eggs). Early embryonic cells undergo extensive division, whereas the oocyte nucleus never divides and does not liberate nuclear materials into the cytoplasm. CTG repeats therefore are thought to interfere with the nucleus-cytoplasm transport of mRNA, especially at the nuclear membrane, rather than transcription of the gene [13].

To explain how RNA gain of function causes DM1, the protein sequestration hypothesis has been proposed [10-12,14]. According to this hypothesis, the DM1 expansion leads to sequestration of (CUG)_n binding proteins on mutant DMPK RNAs and depletion from other transcripts that require these proteins for normal gene expression. Several (CUG)_n binding proteins have been subcloned, and proteins in the MBNL (muscleblind-like) family bind to expanded CUG repeats in vitro and colocalize with mutant DM transcripts in vivo [11,15,16]. Expression of CUG and CCUG expansion RNAs induces MBNL recruitment into nuclear RNA foci, and disruption of the mouse Mbnl1 gene leads to muscle, eye, central nervous system (CNS) and RNA splicing abnormalities that are characteristic of DM1 [11,17,18].

The human CNS has tau proteins that consist of six isoforms which differ by the presence or absence of alternatively spliced exons 2, 3 and 10. The main pattern of aggregated tau isoforms in DM1 brain lesions is the shortest human tau isoform. Reduced expression of tau isoforms containing exon 2 occurs at both the mRNA and protein levels [19]. The same tau isoform pattern occurs in the CNS of a mouse transgenic model for DM1 [20]. These findings indicate that normal neuronal functions are disturbed by the CTG repeat expansions, resulting in abnormal phosphorylation of tau protein, which has recently been called tauopathy. Further, the expanded CTG90 repeats is reported to inhibit neuronal differentiation in a PC12 rat neuronal cell line [21].

We established a PC12 cell line that stably expresses expanded 250 CUG repeat-bearing mRNA. In this system, mitosis occurs, and the nuclear membrane disappears during very mitotic period until cell differentiation starts, but once differentiation starts, mitosis never occurs [22]. We hypothesized that this system shows the toxicity of CUG repeat-expanded mRNA after cell differentiation much more effectively than do cell lines with frequent mitosis. Since tau plays a significant role in the cytoskeletal changes that occur during apoptosis in the PC12 cell line [23], for example, in

the histopathology of Alzheimer's disease patients or tauopathy, and because the removal of serum from the culture medium causes oxidative stress and triggers cell injury characterized by signs of apoptosis [24,25], we first examined the abnormal phosphorylation of tau protein resulting from the different alternative splicings of the tau gene using this system. We confirmed the cytotoxicity and cis-effect of the expanded repeat under the oxidative stress after neuronal cell differentiation in vitro.

Then, we screened chemicals that ameliorate the cytotoxicity and cis-effect of toxic RNA with expanded CUG repeats. For the screening, panels of bio-flavonoids were the candidates for treatment because (1) flavonoids are ubiquitous polyphenolic compounds in the human diet, (2) the basic flavonoid structure is very simple, but there are hundreds of derivatives, and (3) some flavonoids have a variety of biological activities that include beneficial effects on cancer or for coronary heart disease prevention [26]. We found that some bioflavonoids inhibit the cytotoxicity and/or cis-effect of expanded CTG repeats carrying mRNA.

2. Materials and methods

2.1. Plasmid constructions

A CTG repeat-bearing DNA fragment was isolated from genomic DNA extracted from leukocytes obtained from a mildly affected 47-year-old male with DM1 after obtaining his informed consent. When this genomic DNA was subjected to Southern blot analysis, it was found to carry a 250 CTG repeat expansion. The amplified DNA fragment with the repeats was digested with *MspI* and subcloned into the luciferase expression vector pGL3 (Promega) at the blunt-ended *XbaI* sites. The pGL3 vector carrying the luciferase gene and 250 CTG repeats was digested with *HindIII* and *BamHI*, blunt-ended and then subcloned into the *pCAGGSneo* vector [27] at the blunt-ended *EcoRI* site. Subcloned plasmids were sequenced by the dideoxy sequencing method with a Dye Deoxy Terminator Kit (Perkin-Elmer Applied Biosystems).

2.2. Cell culture and transfection

PC12 cells were maintained as described elsewhere [28]. Cells plated on collagen-coated dishes (Sigma) were transfected with reporter plasmids by means of the Lipofectamin Plus Reagent (Gibco-BRL). Stable transfectants were isolated after extended culture in growth medium containing 0.4 mg/ml Neomycin (Gibco-BRL). Surviving cells were re-cultured, and luciferase activity was measured to screen for colonies with a high level of expression. A RTPCR done on the mRNA extracted from these stable cells was performed to analyze whether the clones had 250 CTG repeats. A selected PC12 cell line carrying 250 CTG repeats and efficiently expressing the luciferase gene was named CTG-250. A cell line that expresses the luciferase reporter gene only was named LUC and used as the control. To induce differentiation, cells were treated with 100 ng/ml nerve growth factor (NGF; Gibco-BRL) for up

to 7 days. Serum was removed by replating the differentiated PC12 cells onto new collagen-coated dishes as described elsewhere [29], and cells were maintained in 100 ng/ml NGF with serum-free medium for the appropriate period under oxidative stress [24,25]. For immunohistochemical analysis, cells were reseeded onto glass coverslips in 24-well plates coated with 12 µg/ml poly D -lysine (Sigma).

2.3. Immune fluorescence microscopy

For immuno-histochemical analysis, cells were reseeded onto glass coverslips in 24-well plates coated with 12 µg/ml poly D -lysine (Sigma) at a density of 2.5×10^4 cells/well. Two to 6 days after reseeding with NGF in serum-free medium, cultured the PC12 cells placed cultured on coverslips were fixed with 4% paraformaldehyde-phosphate-buffered saline (PBS) for 15 min. After residual formaldehyde had been quenched with 50 mM NH₄Cl-PBS for 10 min, cells were permeabilized in 0.2% Triton X-100-PBS for 10 min and incubated with 10% fetal bovine serum in PBS for 30 min to block nonspecific antibody binding. Cytoplasmic neurofilaments were detected with an antineurofilament 200 kDa monoclonal antibody (clone NE14, Boehringer Mannheim Biochemica) in PBS (0.5 U/ml) for 1 h. Cells on coverslips were mounted in 90% glycerol containing 0.1% *p*-phenylene-

diamine dihydrochloride in PBS and examined by the method described elsewhere (Fig. 1c) [30]. All the steps were done at room temperature, and the cells were rinsed with PBS between steps.

2.4. RNA extraction and reverse transcription

Total RNA was extracted from the cultured cells with RNeasy Mini (Qiagen), and the concentration measured by means of a NanoDrop (NanoDrop Tech) then used for Northern blotting and the RT-PCR. One microgram of total RNA was reverse transcribed with a First-Strand cDNA

Synthesis Kit (Pharmacia Biotech) using random hexamers. After incubation, the reaction mixture was diluted to 30 µl with water, and 1 µl of the dilution was used for the RT-PCR analysis.

2.5. Northern blot hybridization

Five micrograms of the total RNA from each cell was electrophoresed in an agarose gel and then transferred to a Hybond N⁺ membrane (Amersham Inc.). These membranes were hybridized with a ³²P-labeled luciferase cDNA probe, labeled by the Random Primer labeling system using [³²P]dCTP as the radioactive nucleotide. Blots were exposed on imaging plates, and the radioactivity of the bands quantified with the BAS2000 System (Fuji film Inc.). The radioactivity of the mRNA bands from each cultured cell obtained at each time point (24-48 h) was calculated as the ratio of the value obtained for the undifferentiated CTG-250 cell line. Hybridized blot analysis was performed three times (Fig. 2).

2.6. RT-PCR

PCR amplification of the tau transcripts was done with rat tau primers that recognize differences in the sizes of tau gene products. No DNA amplification was found in the controls. The forward and reverse primer sequences used were M-TauE1.FWD 5'-GGC TTA AAA GAG TCT CCC CCA C-3'; M-TauE1 2.FWD 5'-GGC TTA AAA GAG TCT CCC CCA C-3'; M-TauE4.RV 5'-GGT GTC TCC GAT GCG TGC TTC TTC-3'; M-TauE9.FWD 5'-CCA GAC CTA AAG AAG GTC AGG-3'; M-TauE11.RV 5'-GGA CAT GGG TGA TGT TAT CC-3'; R-GAPDH.FWD 5'-AAT GGC ACA GTC AAG GCT GAG-3'; R-GAPDH.RV 5'-ACC AGT GGA TGC AGG GAT GAT-3' (Fig. 3a). PCR amplification was done at a final volume of 20 µl containing 10 mM Tris/HCl, pH 9.0, 50 mM KCl, 2mM MgCl₂, 0.2mM of each dNTP, 10% DMSO, 20 pmol of each primer set and 0.2 IU HS-Taq polymerase (Takara). The PCR program used a "hot start" PCR protocol, an initial step of 93 °C for 5 min and 72 °C for 2 min (hot start) followed by 42 cycles of 30 s each at 93 °C for DNA denaturation, 30 s each at 55 °C for the annealing of primers, and 4min at 72 °C for primer extension. After the addition of 10 µl of 10× loading buffer, the RT-PCR products were electrophoresed on 2% NuSieve GTG agarose (Cambrex Co.) and a 0.7% agarose mixture gel in 1×TAE buffer followed by stain-

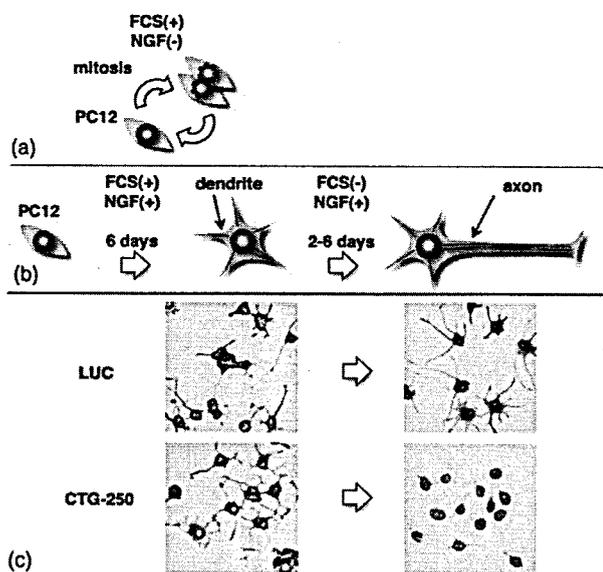


Fig. 1. Schematic presentation of the PC12 cell cycle without differentiation (a), with differentiation (b), and the effect of CTG repeat expression on neurite outgrowth in NGF-treated stably transfected PC12 cell lines under oxidative stress (c). Immunohistochemical staining of the LUC control and CTG-250 neuronal cell lines is shown (neurofilament (NF) staining, 200×). Photos of cells are placed under the corresponding cell figure (c). The nuclear membrane of PC12 cells disappears during every mitotic event (broken line) (a). After cellular differentiation by NGF during 6 days of incubation with fetal calf serum (FCS), PC12 cell mitosis stops, the nuclear membrane is maintained and dendrites and axons are formed (FCS(+), NGF(+)) (b). Note deterioration of the axon and dendrite processes in CTG-250 cells cultured without FCS, but with NGF (FCS(-), NGF(+)) for 2-6 days (c).

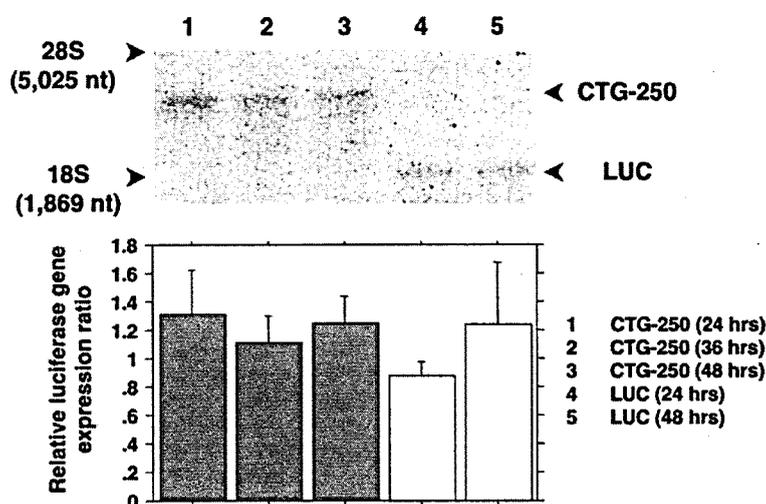


Fig. 2. Quantitative transcriptional analysis in expanded (CTG-250) and nonexpanded (LUC) reporter genes by RNA blotting. Bands were scanned into Image-J. Three independent experiments were done. Results are shown as ratios of the undifferentiated CTG-250 cell line. Note the absence of a significant difference in reporter gene transcription between CTG-250 and LUC with and without differentiation.

ing with 0.2 μ g/ml EtBr. Each gel image was recorded with a CCD camera (MiniVisionary, Fotodyne Inc.), and the intensity of each band measured. Rat glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA was the internal standard amplified with a pair of primers (RGAPDH.FWD and R-GAPDH.RV) and a separate aliquot of the reaction mixture in the same PCR machine (GeneAmp PCR system 9700, Applied Biosystems Inc.).

2.7. Semi-quantitative analysis of tau isoforms mRNA

For each pair of gene-specific primers, semi log plots of the fragment intensity as a function of cycle number were used to determine the cycle number range over which linear amplification occurred. The number of PCR cycles was kept within this range. The range was linear from 33 to 39 amplification cycles (data not shown). The amount of the tau gene product was determined as a ratio for the intensity of the GAPDH band. Because there is an abundance of GAPDH mRNA in neuronal cell lines, we added a set of primer at the 11th amplification cycle after the first 10 cycles of idle running of PCR to get a linear amplification between 33 and 39 amplification cycles. Based on these preliminary amplification experiments, we measured the intensity of bands at 36 amplification cycles (data not shown). Tau gene products were quantified by comparing the intensity of each band with the GAPDH band intensity. Experiments were repeated three times independently, and the data used for the statistical analysis (Fig. 3b-d).

2.8. Immunoblotting analysis of the tau gene and caspase-3 products

Cell homogenates were prepared for immunoblotting analysis as described previously [31]. Ten micrograms of protein was separated by electrophoresis on a 7.5% SDSpolyacrylamide gel then transferred to an Immunobilon-P membrane (Millipore Co.). The

membrane was blocked with 3% nonfat dry milk (Morinaga Co.) then incubated with AT-8 (Pierce Biotechnology, Inc.), rat whole-tau antibody (graciously supplied by Dr. M. Miyazono and Professor T. Iwaki) or phosphorylated tau pS³⁹⁶ antibody (BioSource International) as the primary antibody and with caspase-3 (Cell Signaling Technology) for the analysis of apoptosis (Fig. 10). After incubation with horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody, immunoblots were developed by an Enhanced Chemiluminescence System (ECL system) (Amersham Pharmacia Biotech).

2.9. Luciferase assay and LDH cytotoxicity detection assay

To evaluate the transcription and translation of the CTG repeat-bearing reporter gene, luciferase activity was assayed with a Luciferase Assay System according to the manufacturer's protocol (Promega Co.). After CTG-250 and LUC cell differentiation with NGF, PC12 cells were plated in 96-well plates at 1.3×10^4 cells/well. After 2-6 days incubation period with a flavonoid under oxidative stress, the cells were washed with PBS and assayed (Figs. 4a, 6a, 7a, 8a, and 9a). The amount of protein in each sample was determined by the Lowry-Folin assay [32]. Luciferase activity was expressed on a per-protein basis.

To determine the cytotoxic effect of the expanded CTG repeat, lactate dehydrogenase (LDH) activity in the cell was measured as a gauge of the total number of living cells with a kit from Takara (LDH Cytotoxicity Detection Kit).

Results are shown as intracellular LDH activity on a perprotein basis (Figs. 4b, 6b, 7b, 8b and 9b).

2.10. First screening of bioflavonoids and other chemicals for RNA gain of function prevention

In the cell treatment experiment, 235 purified bioflavonoids and

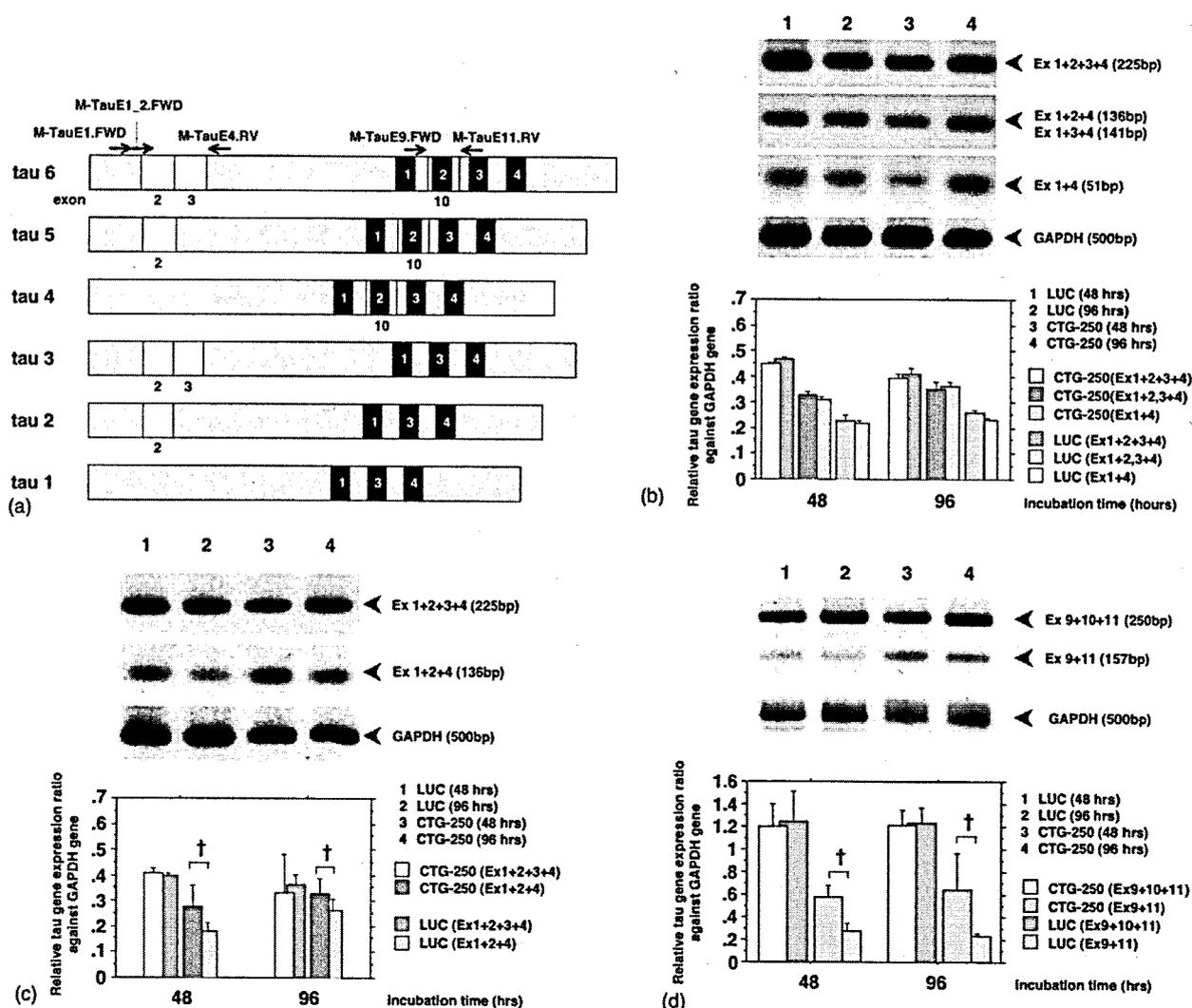


Fig. 3. (a) Diagram of tau isoform structures [34]. Alternatively spliced exons are shown as white boxes. Regions common to all isoforms are shaded. Microtubule (MT) binding repeats (three or four) are indicated numbered black boxes. The diagram is not drawn to scale. Names and locations of the primers used for the RT-PCR are shown as relative positions at the top. The six tau isoforms, tau 1-6, were derived by alternative splicing of exons 2, 3, and 10, three with and three without exon 10, that encode for the additional MT-binding repeat. (b) Expression profile of rat tau mRNA isoforms. RT-PCR products corresponding to the various isoforms were obtained with two sets of primers. Primers M-tauE1.FWD and M-tauE4.RV (b) or M-tauE1 2.FWD and M-tauE4.RV (c) were also used to differentiate tau mRNA isoforms that have or lack exons 2, 3, and 10. Tau mRNA isoforms, that have or lack exon 10 also were identified with primers M-TauE9.FWD and M-TauE11.RV (d). LUC control cells after 48 h (lane 1), and 96 h (lane 2) incubations with differentiation; CTG-250 cells after 48 h (lane 3), 96 h (lane 4) incubations with differentiation (b-d). GAPDH was the internal standard. Relative tau expression ratios are shown in the lower berth of each figure. Data are expressed as transcribed tau gene products normalized to GAPDH gene expression, mean \pm S.E.M. ($n = 3$ in separate experiments). $\dagger P < 0.05$ compared with PC12 cells without expanded CTG repeats (LUC). Note the decrease in tau mRNA isoforms that lack exons 3 and 10 after differentiation for 48-96 h.

other chemicals that structurally resemble bioflavonoids were screened initially. All bioflavonoids were supplied from by the Laboratory of Pharmacognosy, Toyama Medical and Pharmaceutical University. They were originally obtained by isolation from higher plants growing in Japan. Most of them were identified by spectral analyses. Some compounds were obtained by chemical modification of the isolated compounds. The purity of each compound was checked by thin layer chromatography, NMR spectrum, and elemental analysis. The bioflavonoids and other chemicals were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) at a max-

imum DMSO concentration of 0.5%. After differentiation, PC12 cells (LUC and CTG-250) were re-plated in collagen-coated 96-well plates at 1.3×10^4 cells/well in serum-free medium containing 100 ng/ml NGF and 10 μ g/ml of each flavonoid for cell treatment. After 2 days of incubation, the cells were washed with PBS, lysed in Cell Lysate Buffer (Promega Co.), and used in the luciferase assay. Luciferase activity data were compared with the data for untreated cells. Flavonoids and other related chemicals that produced luciferase activity more than three times that of the untreated controls were selected and prepared for second and third

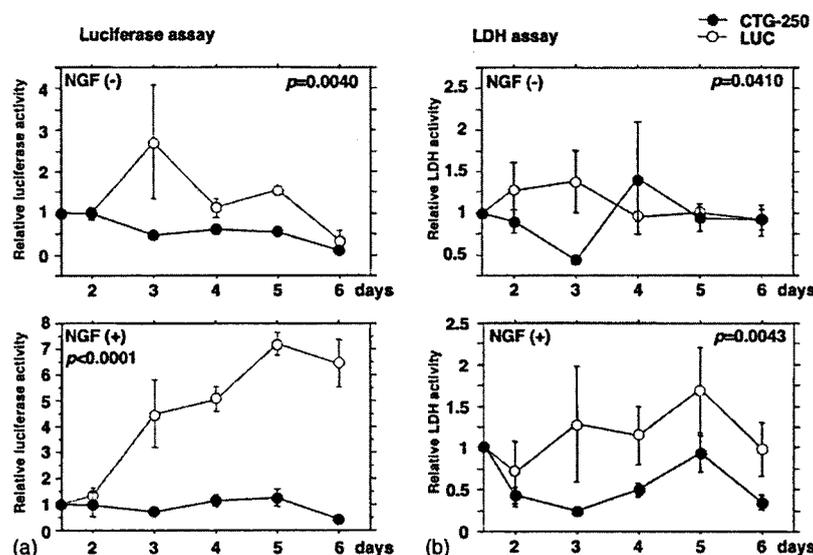


Fig. 4. In vitro luciferase (a) and LDH (b) assay of cultures without (upper graphs) and with (lower graphs) NGF and the incubation periods. The graphed points represent the means \pm standard errors of the LUC (○) and CTG-250 (●) cells. Values shown are ratios to luciferase or LDH activity without incubation. Note that the luciferase activity of LUC cells with NGF is significantly increased ($P < 0.0001$) vs. that of CTG-250 cells, as incubation progresses. The LDH activity of CTG-250 decreased slightly ($P = 0.0043$) when incubated with NGF.

screenings. DHEA-S was used for in the second screening directly because its effectiveness has already reported [33].

2.11. Second and third screenings of flavonoids and other chemicals

After differentiation, PC12 cells (LUC and CTG-250) were replated in collagen-coated 96-well plates at 1.3×10^4 cells/well in serum-free medium containing 100 ng/ml NGF. Various concentrations of flavonoids for cell treatment (10, 20, 40, and 80 $\mu\text{g/ml}$ in the second screening, and 5, 10, 20, 80, and 160 $\mu\text{g/ml}$ in the third) were added on the second and fourth days of culture. Luciferase activities of the CTG-250 and LUC cell lines were compared over the time course. Several flavonoids and other chemicals had statistically significant effectiveness in preventing the *cis*-effect, cytotoxicity of expanded CTG repeats or both (Figs. 6-9 and Table 1). The chemical structures of those flavonoids are presented in Fig. 5.

2.12. Data analysis and statistics

The expression of the luciferase gene in Northern blotting and of the tau protein in RT-PCR were determined by use of the National Institutes of Health Image-J (V1.31b), Java-based image processing program in a Macintosh OSX based computer system. Data were analyzed statistically by the Student's t-test and repeated measures ANOVA.

Data obtained from the experiment that detected RNA gain of function with or without differentiation were expressed as ratios of their respective control values obtained on the first day of sample re-plating, which was not under differentiated conditions (FCS(+), NGF(-), in Fig. 1a) (Fig. 4). In the cell treatment experiment with

bioflavonoids and other chemicals, the data are expressed as ratios of the respective control values for the untreated cells (FCS(-), NGF(+), Fig. 1b) (Figs. 6-9). Data are expressed as means \pm S.D. A repeated measures ANOVA was used for the statistical analysis between CTG-250 and LUC cells based on the time courses in all the experiments related to detecting *cis*-effect and cytotoxicity (Figs. 4 and 6-9, Table 1). Three separate experiments were performed. A P value < 0.05 was considered significant.

The results of in vitro luciferase and LDH assay cultures without and with NGF were analyzed according to the time course (Fig. 4). Thus, the result is displayed only as a P value. The data on inhibi-

Table 1
Inhibitory effect of flavonoids on expanded 250 CTG repeats transcribing PC12 neuronal cell (erG-250)

Chemical name	Cone. ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Cone. (μM)	Cis-effect	Cytotoxicity
Flavone				
Baicalein(280)	5	17.9	+	-
	10	35.7	+	-
	20	71.4	+	-
Toringin(416)	5	12.0	-	-
	10	24.0	-	-
	20	48.0	+	+
Cosmosiin(432)	5	11.6	-	-
	10	23.1	-	-
	10	46.3	-	-
Acacetin(284)	5	17.6	-	-
	10	35.2	-	-
	20	70.4	-	-
Apigenin(270)	5	18.5	+	-
	10	37.0	+	-
	20	74.0	+	-
Irisolone(312)	5	16.0	+	-
	10	32.0	-	-
	20	64.1	-	-
Genkwanin(284)	5	17.6	+	-
	10	35.2	+	-

Isoflavone Genistein(270)	5	18.5	-	-
	10	37.0	+	+
	20	74.0	-	-
Formononetin(268)	5	18.7	+	+
	10	37.3	+	+
	20	74.6	-	-
Ononin(430)	5	11.6	+	+
	10	23.2	+	-
	20	46.5	-	-
Daidzein(254)	5	19.7	-	-
	10	39.4	-	-
	20	78.7	-	-
Flavanone Isosakuranetin(286)	5	17.4	-	-
	10	34.9	+	-
	20	69.9	++	++
Naringenin(272)	5	18.4	-	-
	10	36.8	+	-
	20	73.5	++	-
Coumarin Xanthylatin(228)	5	21.9	-	-
	10	43.9	++	-
	20	87.7	++	-
Steroid DHEA-S(368)	5	13.6	+	-
	10	27.2	+	+
	20	54.3	-	-

(+) effective for inhibition ($P < 0.05$); (++) highly effective for inhibition ($P < 0.0001$); (-) not effective for inhibition; MW, molecular weight; DHEA-S, dehydroepiandrosterone-sulfate.

tion of the *cis*-effect and cytotoxicity by bioflavonoids (Figs. 6-9) was analyzed with ANOVA according to the time course (two and four incubation days) between CTG-250 and LUC cells, and the results are shown in the graph at various bioflavonoid concentrations (0, 5, 10 and 20 $\mu\text{g/ml}$). Thus, the results of statistical analyses are shown by symbols on the graph.

3. Results

3.1. Establishment of stable PC12 clones

Luciferase was used as the reporter gene to determine the *cis*-

effect of the CUG repeat expansion in the 3'-UTR region of the RNA. Reporter plasmids that carried the 3'-UTR region, with or without expanded CTG repeats, were transfected into CT12 cells, producing several stable clones that were selected by the neomycin resistance of each construct. PC12 cells have been widely used as a model for studying the characteristics of neuronal cells because they respond to NGF and differentiate into cells that are morphologically and biologically similar to neurons (Fig. 1a and b). A PCR done on the genomic DNA extracted from these stable cells, performed to analyze whether the clones had CTG repeats in their genomes and expressed CUG repeats carrying RNA *in vitro*, confirmed the presence of the expanded CTG repeat (data not shown). Northern blotting with luciferase cDNA as the probe also showed expanded 250 CUG repeats and the same luciferase mRNA intensities in CTG-250 and LUC, evidence of the successful transcription of the luciferase gene in this system Fig. 2).

3.2. mRNA carrying expanded CUG repeats produce different patterns of alternative splicing of the tau gene but not abnormal phosphorylation

Because differences in the alternative splicing of the tau gene and the abnormal phosphorylation of tau protein have been reported in brains of DM1 patients and in a DM1 mouse model [19,20,34], we examined splicing and phosphorylation in our PC12-based cell system. When primer sets detecting tau1-6 isoforms (M-TauE1.FWD and M-TauE4.RV) (Fig. 3a) were used, no difference in the expression patterns of tau isoforms was detected (Fig. 3b). However, when a primer set that specifically encodes tau 2, 3, 5, 6 were used W-TauE1_2.FWD and M-TauE4.RV) (Fig. 3a), decreased expression of the exon 3 spliced-out isoform was confirmed (Fig. 3c). These results indicate that in the CTG-250 PC12 cell line, tau 2 or tau 5 isoforms, rather than tau 3 or tau 6 isoforms, are increased.

These findings are compatible with previous reports [19,20], but there is a different tau isoform expression pattern, a splice out of exon 10 of the tau gene, also was present in our CTG-250 cell line

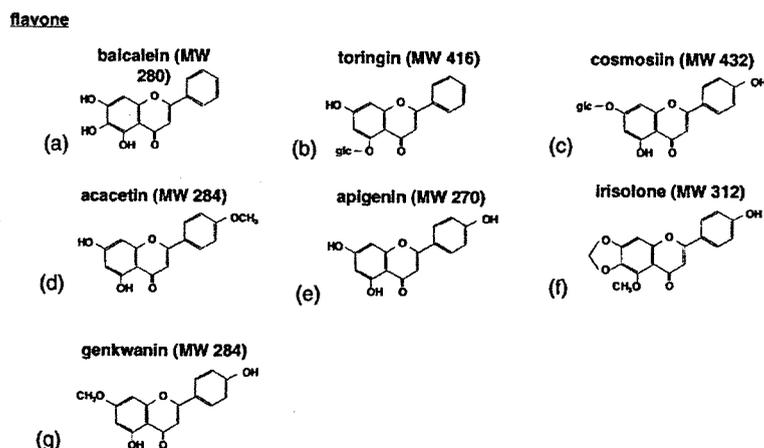


Fig. 5. Structures of flavonoids and the other test chemicals of (1) the flavone family, (2) the isoflavone, flavanone family and the basic structure of flavonoids, MW: molecular weight.

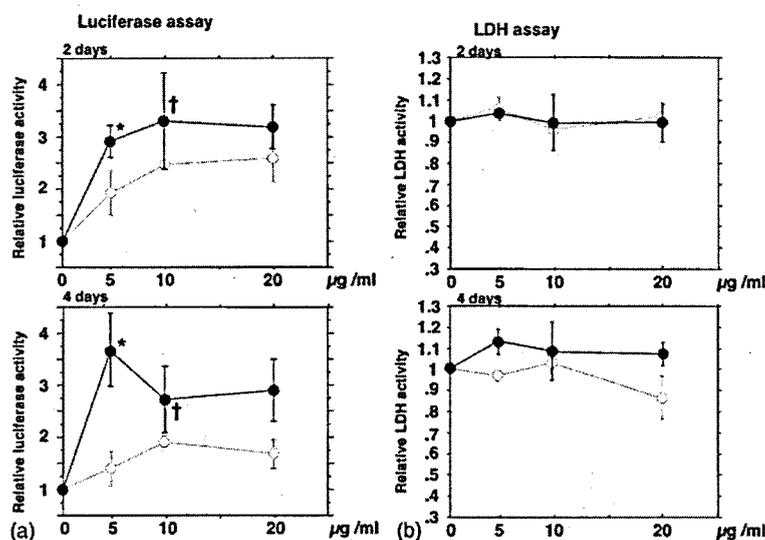


Fig. 6. Inhibition by ononin (isoflavone) of the *cis*-effect (a) and cytotoxicity (b) caused by expanded erG repeats. The points represent means \pm standard errors of LUC (○) and CTG-250 (●) cells. Values are ratios for luciferase (a) or LDH activity (b) for each untreated cell. The upper boxes shown findings after 2 days of incubation, the lower ones after 4 days of incubation (FCS(-), NGF(+)). Statistical significance also is shown (* $P < 0.0001$; † $P < 0.05$).

(Fig. 3d). A different abnormal phosphorylation pattern also has been reported in DM1 patients and in the DM1 mouse model [19,20], but no significant difference in the phosphorylation pattern was found for the stable, repeat-expressing PC12 (CTG-250) and control cell lines (LUC) (data not shown).

3.3. mRNA carrying expanded CUG repeats shows cytotoxicity

To investigate the effect of expanded CTG repeat transcription on the neuronal differentiation and cytotoxicity of PC12 cells, morphological changes in the stable clones were examined during NGF-induced differentiation (Fig. 1c). After 6 days of NGF treatment under oxidative stress, the changes in the characteristics of the CTG-250 cell line were swelling of the cell body and very

short stubby processes that failed to elongate into dendrites and axons, whereas the LUC cell line did not show any marked change (Fig. 1c).

To evaluate the extent of those defects in the CTG-250 cell line, cell function was analyzed with LDH and the luciferase assay. Comparison of the luciferase activity of the CTG-250 cell line, which had cells that expressed expanded CTG repeats, with that of repeat-free clone (LUC) cells carrying repeat-free luciferase showed significantly low translation of luciferase, especially with NGF ($P < 0.0001$) (Fig. 4a).

Results of the LDH assay, which reflects the cytotoxicity of cultured cells, appeared to be equivalent to those of the repeat-free cell lines. They did not significantly differ between CTG-250 and LUC cells without NGF ($P = 0.041$), but with NGF, the difference

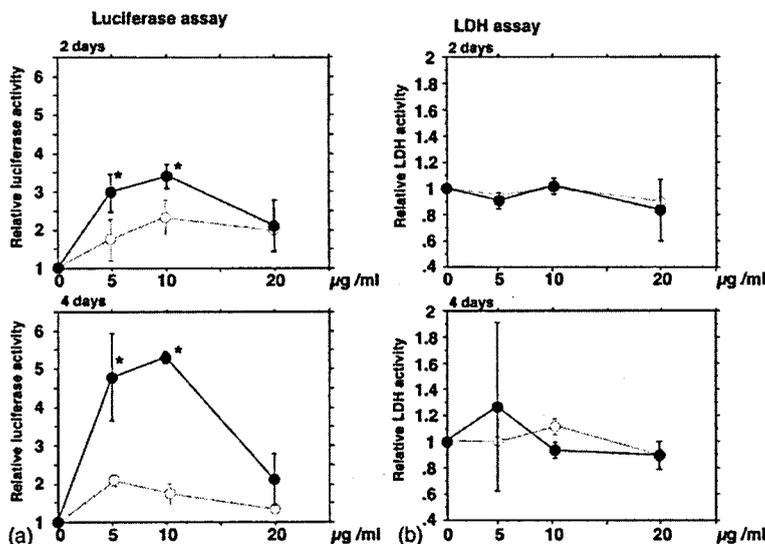


Fig. 7. Inhibition by formononetin (isoflavone) of the *cis*-effect (a) and cytotoxicity (b) caused by expanded CTG repeats (data and abbreviations are the same as in Fig. 6).

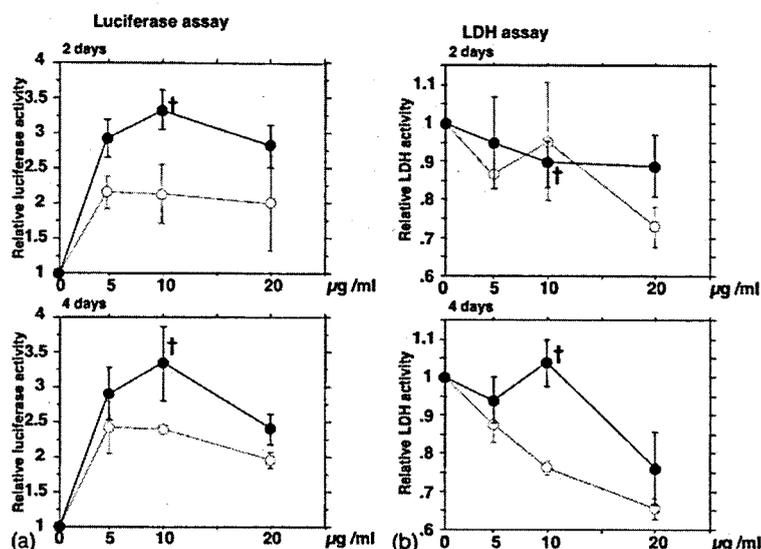


Fig. 8. Inhibition by genistein (isoflavone) of the *cis*-effect (a) and cytotoxicity (b) caused by expanded CTG repeats (data and abbreviations are the same as in Fig. 6).

is significant ($P = 0.0043$) (Fig. 4b). Therefore, expression of the expanded 3'-UTR RNA, affects the NGF-based signaling pathway in particular. These results are evidence that the expression of RNA that carries the 250 CTG repeat expansion in the 3'-UTR region disrupted cell function, especially under oxidative stress. These results also indicate a *cis*-effect on the inhibition of protein production. These findings are consistent with those of a previous report on a muscle cell model [5,35].

3.4. Protective effects of some flavonoids against oxidative stress

When it became clear that the CTG-250 cell to some extent simulates the pathological mechanisms of the neuronal cell of DM1, we screened bioflavonoids and related chemicals for their abilities to inhibit the RNA gain of function seen in this cell system. The structurally related bioflavonoids examined in the third screening

are shown in Fig. 5, and their effects on CTG-250 and LUC cell line proliferations are presented in Figs. 6-9. These flavonoids decreased the differences in luciferase activity, cytotoxicity, or both, between the CTG-250 and LUC cell lines.

The addition of 5-20 $\mu\text{g/ml}$ or any of them inhibited cell cytotoxicity, lessened the *cis*-effect of CTG repeats, or both. Ononin accelerated luciferase activity that resulted from the reduced *cis*-effect of the CTG repeats (Figs. 6a and 7a, Table 1). Genistein, formononetin and isosakuranetin decreased both the *cis*-effect and cytotoxicity of the CTG repeats significantly (Figs. 8a and b and 9a and b, Tables 1 and 2).

Dose-response experiments showed that exposure to ononin (11.6 μM) (Fig. 6, Table 1); formononetin (18.7-37.3 μM) (Fig. 7, Tables 1 and 2); naringenin (73.5 μM) (Table 1); or xanthylatin (43.9-87.7 μM) (Tables 1 and 2) significantly decreased the *cis*-effect of toxic RNA, whereas no decrease in cytotoxicity was

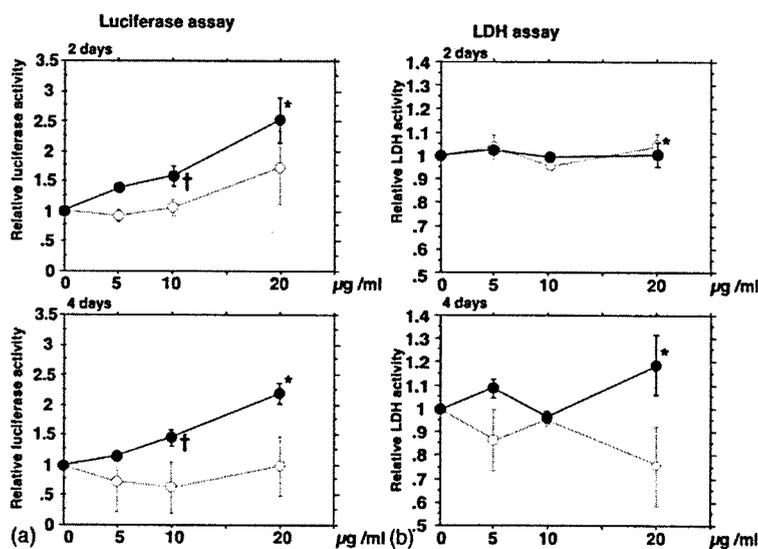


Fig. 9. Inhibition by isosakuranetin (flavanone) of the *cis*-effect (a) and cytotoxicity (b) caused by expanded CTG repeats (data and abbreviations are the same as in Fig. 6).

found during the 2- to 4-day incubation periods. The use of 10-20 µg/ml of genistein (37.0-74.1 µM) (Fig. 8, Table 1), isosakuranetin (34.9-69.9 µM) (Fig. 9, Table 1), or toringin (48.0 µM) (Table 1), however, progressively decreased not only the *cis*-effect of the expanded CTG repeats but cytotoxicity as well. Interestingly, dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) (27.2 µM), which is reported to improve the symptoms of DM1 patients was efficacious against cytotoxicity and the *cis*-effect in our system (Table 1) [33,36].

We have independently constructed two other stable clones containing expanded CTG repeats in the same way (Table 2, CTG250_1, CTG250_12). Using these clones, we confirmed the protective effect of these flavonoid; all of them were revealed to be effective in the same conditions as the previous experiment at a suitable concentration (Table 1). Using these clones, protective effects were also observed with isosakuranetin, formononetin, xanthylatin and DHEA-S, which is almost the same result as that of the CTG-250 and LUC cell lines, except that formononetin showed a protective effect for both *cis*-effect and cytotoxicity (Table 2).

3.5. Protective effect of some flavonoids against the *cis*-effect and cytotoxicity

The underlying cellular mechanisms by which these flavonoids give neuroprotection in this cellular model have yet to be determined, but a significant number of neuronal deaths in a previous C2C12 myoblast cells study done with a transient expression system, showed features of apoptosis with prominent caspase-3 activation [35,37]. We therefore considered whether flavonoid treatment blocks expanded CTG repeat-induced caspase-3 activation in the CTG-250 cell line. First, we used Western blotting to search for formation of the activated form of caspase-3, the p17 form, as well as by cleavage of known caspase-3 substrates [38] and found an increase in the active form of caspase-3 in CTG-250 cells cultured without a flavonoid (Fig. 10a). In cell lysates derived from samples

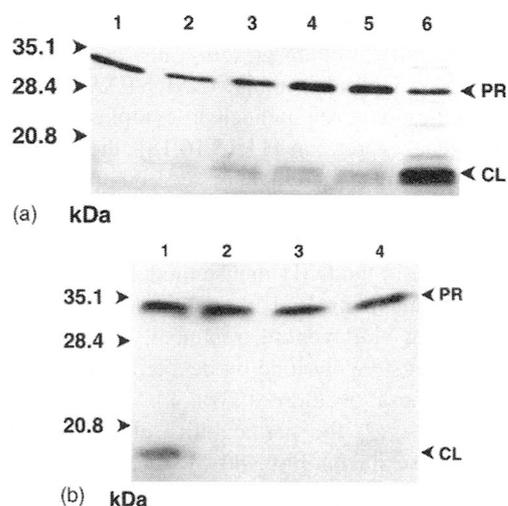


Fig. 10. Oxidative stress increases the active form of caspase-3 (CL) in CTG-250 cells (a), but the increase is inhibited by flavonoid treatment (b). (a) Long incubation of CTG-250 cells in serum-free media with NGF increases cleaved caspase-3 (active form of caspase-3) (CL) more than uncleaved caspase-3 (inactive form) (PR). LUC cells incubated after differentiation (FCS(-), NGF(+)), for 48 h (lane 1), 96 h (lane 2) and 144 h (lane 3), and CTG-250 cells incubated after differentiation (FCS(-), NGF(+), for 48 h (lane 4), 96 h (lane 5) and 144 h (lane 6). (b) Increase in the active caspase-3 form (CL) in CTG-250 cells is inhibited by flavonoid treatment. Lane 1: no flavonoid, lane 2: ononin (5 µg/ml), lane 3: formononetin (10 µg/ml), lane 4: isosakuranetin (20 µg/ml), PR: inactive form of caspase-3 (procaspase-3), CL: active form of caspase-3 (cleaved caspase-3). Positions to which molecular markers (kDa) migrate are indicated on the left.

treated at the appropriate concentration with isosakuranetin, genistein, formononetin, or ononin, however, no cleavage of caspase-3 or its substrates was found in the Western blotting (Fig. 10b). Because caspase-3 works during the last stage of apoptotic pathways, it is not clear whether flavonoids directly block this apoptot-

Table 2

Inhibitory effect of flavonoids on different expanded 250 CTG repeats transcribing PC12 neuronal cell lines (CTG250_1, CTG250_2)

Chemical name(MW)	Conc.(mg/ml)	Cone.(mM)	Cis-effect		Cytotoxicity	
			CTG250_1	CTG250_2	CrG250_1	CTG250_12
Isoflavone						
Genistein(270)	10	37.0	+	+	+	+
Formononetin(268)	5	18.7	+	+	+	++
	10	37.3	-	-	-	-
Daidzein(254)	10	39.4	-	-	-	-
Flavanone						
Isosakuranetin(286)	10	34.9	+	+	+	+
	20	69.9	+	-	+	-
Coumarin						
Xanthylatin(228)	10	43.9	+	++	+	-
Steroid						
DHEA-S(368)	10	27.2	+	+	+	+

(+) effective for inhibition ($P < 0.05$); (++) highly effective for inhibition ($P < 0.0001$); (-) not effective for inhibition; MW, molecular weight; DHEA-S, dehydroepiandrosterone-sulfate.

ic cascade, but our findings suggest that inhibition of the *cis*-effect of the CTG repeat expansions also may inhibit apoptotic neuronal death.

4. Discussion

We showed that a PC12 rat neuronal cell line which expresses expanded CTG repeats that carry reporter mRNA can be characterized simply by measuring its gene translational product in order to evaluate the *cis*-effect of expanded CTG repeats. Under oxidative stress, our neuronal cell line underwent neuronal death just after cell differentiation and showed different alternative splicing patterns of the tau gene. Of course, this system is not completely identical to that of the neuronal cells of DM1 patients or the DM1 mouse model because the gene expression pattern of the tau isoforms differs slightly from that of DM1, and no different pattern of abnormal phosphorylation has yet been observed. These differences may be owing to a difference in the species or organs used, the absence of a neuron-glia cell relationship, or the short culture period used in this system. Its simplicity and ease of handling, however, make the system useful for detecting the mechanisms of altered alternative splicing or apoptosis caused by toxic RNA. Further, in this system, although the nuclear membrane disappears at every mitosis before differentiation, it is preserved after the induction of differentiation by NGF. This means the effects of the retention of the expanded CUG repeats carrying mRNA can be determined at any time in detail (Fig. 1a and b). With this system, we also demonstrated that some flavanones and isoflavones, in particular, isosakuranetin, inhibit the *cis*-effect and cytotoxicity caused by CTG repeat expansions.

Retention of nuclear-cytoplasm transportation is disturbed in cultured DM1 fibroblasts and myoblasts, and increased numbers of probe signals have been confirmed by the FISH method with CUG-repeat or DMPK-specific probes [8,39], resulting in decreased expression of DMPK gene products [40,41]. These phenomena, referred to as the decreased *cis*-effect and reduced cytotoxicity, which are caused by expanded CTG repeats in 3'-UTR may correspond to improvement of the *trans*-effect [5]. The nuclear membrane may have an important role in that situation [13]. Increased luciferase activity in this system, unlike in repeat-free control cells, means that the *cis*-effect of expanded CTG repeats in 3'-UTR was reduced after treatment with several flavonoids. Results of RNA blotting showed that in this system, the amount of gene translation did not differ greatly between CTG-250 and LUC cells. Therefore, the difference in luciferase activity in this system is considered to be a result of translation rather than gene transcription and is generated by repeats that produce RNA intoxication from a disturbance in nucleus-to-cytoplasm transportation in the nuclei [12].

Our findings provide evidence that the expression of expanded 250 CTG repeats in the 3'-UTR region disrupts cellular functions under oxidative stress after differentiation. Quintero-Mora et al. also reported that an expanded 90-CTG repeat in a stable cell line suppressed NGF-induced neuronal differentiation during 6 days of

culture [21]. Our system showed not so strong inhibition of NGF-induced neuronal differentiation under oxidative stress, but fragility followed by apoptosis. Because gene expression efficiency differs a bit in every stable cell lines, if the repeat size is beyond the normal range, the repeat size may not necessarily correlate exactly with the toxic effect [42]. So, both 90-CTG repeats carrying a CAT reporter gene and our 250 CTG repeats with a luciferase reporter gene system are suitable for in vitro research on the effects of toxic RNA in the nucleus or tauopathy in the CNS [4,19].

Our findings also indicate that exposure to isosakuranetin, toringin, genistein, or DHEA-S protects and rescues PC12 neuronal cells that transcribe expanded CTG repeats in the 3'-UTR region of the luciferase gene from apoptotic death under the condition of oxidative stress, acting principally via its flavonoid constitution (Table 1). This is the first report of the effectiveness of flavonoids for ameliorating the RNA gain of function caused by expanded CTG repeats. Flavonoids are reported to have various biological activities and beneficial actions against cancers, coronary heart disease [26], oxidative stress-induced toxicity [43,44,45], and β -amyloid-induced toxicity [46,47], among other pathologies.

Because no chemical ameliorates only cytotoxicity, flavonoids may reduce the *cis*-effect of toxic RNA, causing a reduction in cytotoxicity. Not all the flavonoids examined were equally effective against the *cis*-effect of mRNA and cytotoxicity. The greatest inhibition was produced by isosakuranetin (Fig. 9, Table 1), toringin, genistein, and DHEA-S being less effective (Table 1). Little is known about isosakuranetin, which is present in *Poncirus trifoliata* or *Chromolaena odorata* (Eupolin), and is reported to enhance the proliferation of fibroblasts and endothelial cells [48]. Genistein, a naturally occurring isoflavonoid in soybean, is a well-known anti-carcinogen that is commonly sold as a nutrient. It is reported that the genistein lowers the risk of breast, pancreatic, and prostatic cancers [49-51], although there is a study that did not find it beneficial in vivo [52]. Some steroid derivatives, such as DHEA-S, are reported to be useful for the improvement of the clinical symptoms of muscular dystrophy [33,36]. The effectiveness of DHEA-S in treating DM1 also was confirmed in our model cell system, as was the usefulness of the system for screening various other chemicals.

A comparison of the chemical structures of isoflavones and flavanone may help us to understand how they inhibit the *cis*-effect and/or cytotoxicity. In the isoflavone group, the only difference between genistein and daidzein is the existence of the hydroxyl group at C-5 (Fig. 5h and k). Replacement of the hydroxyl group at the C-4' of daidzein with a methoxy group may increase the compound's ability to protect cells (Fig. 5i and k). However, this effect differs slightly in each cell line (CTG-250, CTG250_1 and CTG250_12, Tables 1 and 2). Further, if the phenolic group at C-3 in genistein is moved to C-2, the effect against cytotoxicity is lost (Fig. 5e and h), and if the hydroxyl group at C-4' in apigenin is replaced with a methyl group (Fig. 5d and e), both effects are lost. In the flavanone group, naringenin possesses a hydroxyl group at

the C-5 and C-4' positions, and it prevents the *cis*-effect only (Fig. 5m). On the other hand, isosakuranetin possesses a hydroxyl group at C-5 and a methyl group at C-4' (Fig. 5n), and it prevents both the *cis*-effect and cytotoxicity constitutively. Although the only constructive difference among isosakuranetin and acacetin is the existence of a double bond between C-2 and C-3 (Fig. 5d and n), the preventative effect differs greatly.

Based on these findings, the presence of a hydroxyl group either at C-4' and C-5 in an isoflavone may inhibit cytotoxicity. Similarly, either the hydroxyl group at C-5 or the methyl group at C-4' in flavanones may inhibit cytotoxicity. It is not known how these flavonoids ameliorate cytotoxicity and the *cis*-effect, but a previous report showed that genistein and daidzein, which are the same natural soybean extract, have the same effect [51]. In our study, genistein was effective, whereas, daidzein was not. These results suggest that the basic flavonoids mechanism against neoplastic and CTG-250 PC12 cells differs in vitro.

Because repeat binding proteins such as CUG-binding protein or muscleblind protein MBNL 1/EXP) are reported to play an important role in nuclear-cytoplasm transportation and gene expression [11,15,16,18], these flavonoids may intervene in the increment or decrement of the affinity between the repeat-expanded mRNA and repeat-specific binding protein. Likewise, it is not clear whether they will be as effective in the DM1 mouse model and/or treatment of DM1 patients in this PC12-based model cell. Therefore, before starting bioflavonoid treatment, there are various factors that must be clarified by detailed examination: (1) the effectiveness of these flavonoids for DM1 model myoblast cells, (2) the permeability of the blood brain barrier to these flavonoids, and (3) the toxicity of these flavonoids to neuronal and glial cells during long-term culture. Detailed studies with this cell model of the effects of these flavonoids on repeat-mediated toxicity are needed.

In summary, we constructed a neuronal cell model that simulates the pathogenesis of DM1 and discovered that several bioflavonoids ameliorate repeat-mediated *cis*-effects, cytotoxicity, or both, that are produced by expanded CTG repeats. These bioflavonoids may have strong potential as agents against the repeat-mediated *cis*-effect, cytotoxicity or both, caused by expanded CTG DM1 or DM2 repeats. Based on the findings presented, effects mainly are attributable to polyvalent actions of the flavonoid constituents of isosakuranetin, including the ability to modulate apoptotic pathways. The protective/rescuing properties of those flavonoids underlie the potential beneficial effects against gain of function of expanded repeats carrying mRNA and other related pathologies likely to be associated with the deleterious effects of increased production of expanded CUG repeat containing RNA.

Acknowledgements

We thank Dr. M. Miyazono (Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyushu University), Dr. R.W. Shin (Department of Neuropathology, Faculty of Medicine, Tohoku University) and Dr. T. Iwaki (Department of Neuropathology,

Faculty of Medicine, Kyushu University) for supplying the rat tau antibody. This study was supported by a Research Grants for Nervous and Mental Disorders (14B-4) from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan.

References

- [1] Harper PS. Myotonic dystrophy. 3rd ed. London: WB Saunders; 2000, p. 17-165.
- [2] Fu YH, Pizzuti A, Fenwick Jr RG, King J, Rajnarayan S, Dunne PW, et al. An unstable triplet repeat in a gene related to myotonic muscular dystrophy. *Science* 1992;255:1256-8.
- [3] Fu YH, Friedman DL, Richards S, Pearlman JA, Gibbs RA, Pizzuti A, et al. Decreased expression of myotonin protein kinase mRNA and protein in adult form of myotonic dystrophy. *Science* 1993;260:235-8.
- [4] Tapscott SJ, Thornton CA. *Biomedicine. Reconstructing myotonic dystrophy. Science* 2001;293:816-7.
- [5] Amack JD, Paguio AP, Mahadevan MS. Cis and trans effects of the myotonic dystrophy (DM) mutation in a cell culture model. *Hum Mol Genet* 1999;8:1975-84.
- [6] Liquori CL, Ricker K, Moseley ML, Jacobsen JF, Kress W, Naylor SL, et al. Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. *Science* 2001;293:864-7.
- [7] Day JW, Ricker K, Jacobsen JF, Rasmussen LJ, Dick KA, Kress W, et al. Myotonic dystrophy type 2: molecular, diagnostic and clinical spectrum. *Neurology* 2003;60:657-64.
- [8] Davis BM, McCurrach ME, Taneja KL, Singer RH, Housman DE. Expansion of a CUG trinucleotide repeat in the 3' untranslated region of myotonic dystrophy protein kinase transcripts results in nuclear retention of transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:7388-93.
- [9] Taneja KL. Localization of trinucleotide repeat sequences in myotonic dystrophy cells using a single fluorochrome-labeled RNA probe. *Biotechniques* 1998;24:472-6.
- [10] Timchenko LT. Myotonic dystrophy: the role of RNA CUG triplet repeats. *Am J Hum Genet* 1999;64:360-4.
- [11] Miller JW, Urbinati CR, Teng-umnuay P, Stenberg MG, Byrne SBJ, Thornton CA, et al. Recruitment of human muscle blind proteins to (CUG)_n expansions associated with myotonic dystrophy. *EMBO* 2000;19:4439-48.
- [12] Ranum LP, Day JW. Myotonic dystrophy: RNA pathogenesis comes into focus. *Am J Hum Genet* 2004;74:793-804.
- [13] Furuya H, Imai N, Nagano S, Amada T, Shiokawa K, Kira J. Expression of reporter gene with expanded CTG trinucleotide repeats in 3'-untranslated region using *Xenopus* Oocytes. *Ann Neurol* 2000;48:441 [abstract].
- [14] Timchenko LT, Miller JW, Timchenko NA, DeVore DR, Datar KV, Lin L, et al. Identification of a (CUG)_n triplet repeat RNA-binding protein and its expression in myotonic dystrophy. *Nucl Acids Res* 1996;24:4407-14.
- [15] Takahashi N, Sasagawa N, Suzuki K, Ishiura S. The CUG-

- binding protein binds specifically to UG dinucleotide repeats in a yeast threehybrid system. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;277:518-23.
- [16] Kino Y, Mori D, Oma Y, Takeshita Y, Sasagawa N, Ishiura S. Muscleblind protein, MBNL1/EXP, binds specifically to CHHG repeats. *Hum Mol Genet* 2000; 13:495-507.
- [17] Mankodi A, Logigian E, Callahan L, McClain C, White R, Henderson D, et al. Myotonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat. *Science* 2000;289:1769-73.
- [18] Kanadia RN, Johnstone KA, Mankodi A, Lurlgu C, Thornton CA, Esson D, et al. A muscleblind knockout model for myotonic dystrophy. *Science* 2003;302:1978-80.
- [19] Sergeant N, Sablonniere B, Schraen-Maschke S, Ghestem A, Muraige CA, Watzet A, et al. Dysregulation of human brain microtubule-associated tau mRNA maturation in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet* 2001;10:2143-55.
- [20] Seznec H, Agbulut O, Sergeant N, Savouret C, Ghestem A, Tabti N, et al. Mice transgenic for the human myotonic dystrophy region with expanded CTG repeats display muscular and brain abnormalities. *Hum Mol Genet* 2001;10:2717-26.
- [21] Quintero-Mora ML, Depardon F, Waring J, Korneluk RG, Cisneros B. Expanded CTG repeats inhibit neuronal differentiation of the PC12 cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;295:289-94.
- [22] Biocca S, Cattaneo A, Calissano P. Nerve growth factor inhibits the synthesis of a single-stranded DNA binding protein in pheochromocytoma cells (clone PC12). *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:2080-4.
- [23] Davis PK, Johnson GV. The microtubule binding of tau and high molecular weight tau in apoptotic PC12 cells is impaired because of altered phosphorylation. *J Biol Chem* 1999;274:35686-92.
- [24] Atabay C, Cagnoli CM, Kharlamov E, Ikomovic MD, Manev H. Removal of serum from primary cultures of cerebellar granule neurons induces oxidative stress and DNA fragmentation: protection with antioxidants and glutamate receptor antagonists. *J Neurosci Res* 1996;43:465-75.
- [25] Goncharova EI, Nddas A, Rossman TG. Serum deprivation, but not inhibition of growth per se, induces a hypermutable state in Chinese hamster G12 cells. *Cancer Res* 1996;56:752-6.
- [26] Marchand LL. Cancer preventive effects of flavonoids: a review. *Biomed Pharmacother* 2002;56:296-301.
- [27] Niwa H, Yamamura K, Miyazaki J. Efficient selection for high-expression transfectants with a novel eukaryotic vector. *Gene* 1991;108:193-200.
- [28] Greene LA, Tischler AS. Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:2424-8.
- [29] Batistatou A, Greene LA. Aurintricarboxylic acid rescues PC12 cells and sympathetic neurons from cell death caused by nerve growth factor deprivation: correlation with suppression of endonuclease activity. *J Cell Biol* 1991;115:461-71.
- [30] Katoh H, Yasui H, Yamaguchi Y, Aoki J, Fujita H, Mori K, et al. GTPase RhoG is a key regulator for neurite outgrowth in PC12 cells. *Mol Cell Biol* 2000;20:7378-87.
- [31] Anastasiadis PZ, Jiang H, Bezin L, Kuhn DM, Levine RA. Tetrahydrobiopterin enhances apoptotic PC12 cell death following withdrawal of trophic support. *J Biol Chem* 2001;276:9050-8.
- [32] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
- [33] Tsuji K, Furutama D, Tagami M, Ohsawa N. Specific binding and effects of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) on skeletal muscle cells: possible implication for DHEA-S replacement therapy in patients with myotonic dystrophy. *Life Sci* 1999;65:17-26.
- [34] Goedert M, Crowther RA, Garner CC. Molecular characterization of microtubule-associated proteins tau and MAP2. *Trends Neurosci* 1991;14:193-9.
- [35] Usuki F, Takahashi N, Sasagawa N, Ishiura S. Differential signaling pathways following oxidative stress in mutant myotonin protein kinase cDNA-transfected C2C12 cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;267:739-43.
- [36] Sugino M, Ohsawa N, Ito T, Ishida S, Yamasaki H, Kimura F, et al. A pilot study of dehydroepiandrosterone sulfate in myotonic dystrophy. *Neurology* 1998;51:586-9.
- [37] Usuki F, Ishiura S. Expanded CTG repeats in myotonin protein kinase increase susceptibility to oxidative stress. *Neuroreport* 1998;9:2291-6.
- [38] Fujikawa DG, Ke X, Trinidad RB, Shinmei SS, Wu A. Caspase-3 is not activated in seizure-induced neuronal necrosis with internucleosomal DNA cleavage. *J Neurochem* 2002;83:229-40.
- [39] Fardaei M, Rogers MT, Thorpe HM, Larkin K, Hamshere MG, Harper PS, et al. Three proteins, MBNL, MBLL and MBXL, co-localize in vivo with nuclear foci of expanded-repeat transcripts in DM1 and DM2 cells. *Hum Mol Genet* 2002;11:805-14.
- [40] Reddy S, Smith DB, Rich MM, Leferovich JM, Reilly P, Davis BM, et al. Mice lacking the myotonic dystrophy protein kinase develop a late onset progressive myopathy. *Nat Genet* 1996;3:325-35.
- [41] Jansen G, Groenen PJ, Bachner D, Jap PH, Coerwinkel M, Oerlemans F, et al. Abnormal myotonic dystrophy protein kinase levels produce only mild myopathy in mice. *Nat Genet* 1996;13:316-24.
- [42] Furling D, Lam le T, Agbulut O, Butler-Browne GS, Morris GE. Changes in myotonic dystrophy protein kinase levels and muscle development in congenital myotonic dystrophy. *Am J Pathol* 2003;162: 1001-9.
- [43] Bastianetto S, Zheng WH, Quirion R. The Ginkgo biloba extract (Egb 761) protects and rescues hippocampal cells

- against nitric oxide-induced toxicity: involvement of its flavonoid constituents and protein kinase C. *J Neurochem* 2000;74:2268-77.
- [44] Sasaki N, Toda T, Kaneko T, Baba N, Matsuo M. Flavonoids suppress the cytotoxicity of linoleic acid hydroperoxide toward PC12 cells. *Biol Pharm Bull* 2002;25:1093-6.
- [45] Sasaki N, Toda T, Kaneko T, Baba N, Matsuo M. Protective effects of flavonoids on the cytotoxicity of linoleic acid hydroperoxide toward rat pheochromocytoma PC12 cells. *Chem Biol Interact* 2003;145:101-16.
- [46] Bastianetto S, Ramassamy C, Dore S, Christen Y, Poirier I, Quirion R. The Ginkgo biloba extract (EGb 761) protects hippocampal neurons against cell death induced by b-amyloid. *Eur J Neurosci* 2000;12:1882-90.
- [47] Yao Z, Drieu K, Papadopoulos V. The Ginkgo biloba extract EGb 761 rescues the PC12 neuronal cells from b-amyloid-induced cell death by inhibiting the formation of b-amyloid-derived diffusible neurotoxic ligands. *Brain Res* 2001;889:181-90.
- [48] Phan TT, Hughes MA, Cherry GW. Enhanced proliferation of fibroblasts and endothelial cells treated with an extract of the leaves of *Chromolaena odorata* (Eupolin), an herbal remedy for treating wounds. *Plast Reconstr Surg* 1998;101:756-65.
- [49] Knowles LM, Zigrossi DA, Tauber RA, Hightower C, Milner JA. Flavonoids suppress androgen-independent human prostate tumor proliferation. *Nutr Cancer* 2000;38:116-22.
- [50] Dixon RA, Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry* 2002;60:205-11.
- [51] Buchler P, Gukovskaya AS, Mouria M, Buchler MC, Buchler MW, Friess H, et al. Prevention of metastatic pancreatic cancer growth in vivo by induction of apoptosis with genistein, a naturally occurring isoflavonoid. *Pancreas* 2003;26:264-73.
- [52] Miltyk W, Craciunescu CN, Fischer L, Jeffcoat RA, Koch MA, Lopaczynski W, et al. Lack of significant genotoxicity of purified soy isoflavones (genistein, daidzein, and glycitein) in 20 patients with prostate cancer. *Am J Clin Nutr* 2003;77:875-82.
-

先天性筋強直性ジストロフィー

武藤 順子, 齋藤加代子, 大澤真木子

はじめに：筋強直性ジストロフィー（以下MyD）は筋ジストロフィーの中でも有病率が高く、様々な合併症をもつためそれが問題とされる疾患である。先天性筋強直性ジストロフィー(以下CMyD)は、殆どの場合母親がMyDであるが、その臨床症状はMyDとはかなり異なる。今回CMyDについてその臨床症状を最近の知見や遺伝子との関連も含め展望し、また当院の経験例についてもまとめてみた。

遺伝子と罹患率

MyDは、第19染色体上のmiotonin protein kinase 遺伝子のCTGリピートが増加している疾患であり、正常人では繰り返し単位が5～35回だが、MyD患者では50回以上数千回にも拡大していることが判明している。特にCMyD患者では1000回以上反復しているといわれている。そして、この配列の長さが長い程臨床症状は重症で、世代を経る度に繰り返し数が増大する表現促進現象(anticipation)が認められている。CMyDでは母がMyDであることが95%以上ほとんどである。

MyDの頻度は10万人に5～6人くらいで、CMyDはそのうち7～8%といわれている。しかし、母の流産歴が多く、新生児、乳児期に診断されないまま死亡している例も多いと考えられるため、本症の罹患率は一般に認知されているものより高い可能性がある。

バンドのサイズと臨床症状との関係 図1

HarperはMyDをその発症時期からCongenital type (先天型), Early childhood type (小児発症型), Classical adult type (いわゆる古典型)の3つに分類している。図1はバンドのサイズ、つまりCTGリピート数と臨床症状との関係を示している。図に示すように、異なる病型でも一部バンドのサイズが重なる部分もあるが、古典型より、小児発症型、それよりも先天型の方がリピート数が長くなるのがよくわかる。

CMyDは成人期に発症する古典型MyDとは臨床的に異なり、知能障害が比較的軽く、筋症状も顔面筋が罹患しやすいとされている。

時期別臨床症状

CMyDでもその時期によって症状が変化する。その時期特有の症状を理解していなければその対策をたてることも困難である。表1に時期別に臨床症状をまとめた。

表1 CMyDの主要症状

時期	症 状
胎内	羊水過多 胎動微弱
新生児期	顔面麻痺 筋緊張低下(筋強直なし) 呼吸不全 哺乳・嚥下障害 内反足(時に多関節拘縮) 不均整な顔面と顎の筋力低下 肺の低形成 レントゲン所見(細い肋骨、横隔膜挙上)
幼児期以降	顔面、顎の著明な筋力低下 進行性の全身筋力低下と萎縮 精神遅滞、認知障害、行動異常 筋強直

1) 胎内の時期

妊娠中に母に羊水過多(胎児の嚥下障害による)や胎動微弱を認めることが多い。妊娠中の検診で母体の症状の有無の確認が重要である。また蛇足であるが、母自身の筋症状は妊娠中に悪化するし、CMyDの出産を契機に診断がつく例も多い。

2) 新生児期～乳児期

重要な症状としては、哺乳・嚥下障害、呼吸不全がある。後者は細い肋骨(肋間筋の低形成)、横隔膜挙上(横隔膜低形成)、肺の低形成とも関連していると思われる。症状が強い時は人工呼吸器管理となることも多い。下顎の筋力低下もありこのために哺乳・嚥下障害を認める場合にはチューブ栄養となる。顔面筋の筋力低下も特徴的で、図2のcのような逆V字またはテント状上口唇は他のタイプのMyDにはみられない所見である。筋強直はこの時期にはみられず、筋緊張低下が前景にたつ。この時期に死亡することを免れれば以後の死亡はまれである。内反足も高頻度に認められる。

3) 幼児期以降

顔面、顎の著明な筋力低下は認めるが、筋緊張低下は軽快し、4歳すぎると筋強直を認め始める。精神遅滞はほぼ全例で認め、時に認知障害や行動異常も伴う。これらに対しては

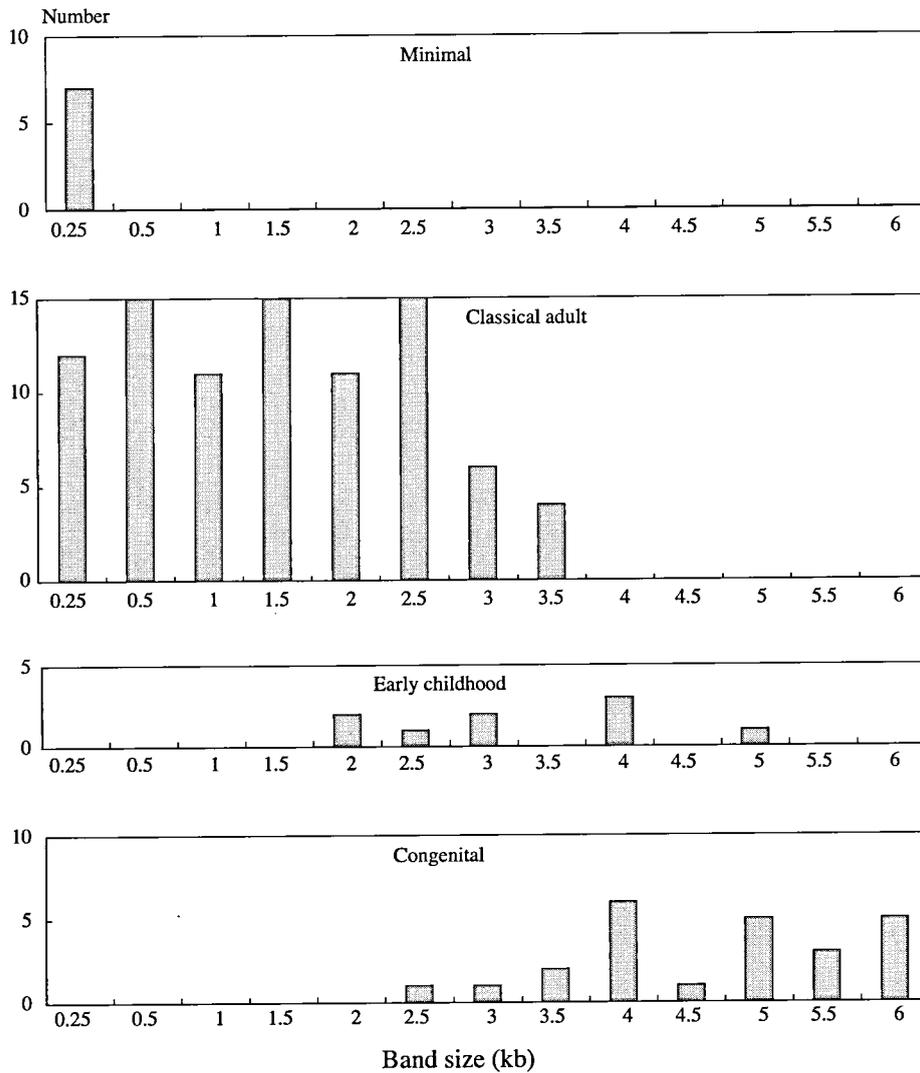


図1 DNAバンドの大きさ (CTGリピート数) と表現型との関係 (文献より)

早いうちの学校との連絡や療育指導が必要である。古典型でよく認めるような合併症としての内分泌、神経、消化器障害もみられることがあるため、定期的な検査や補充・対症療法が必要とされる。進行性の全身性筋力低下と萎縮に対してはリハビリテーションや呼吸・心臓機能の管理が重要である。図2のaとbが母子例の写真である。

全体の症状をまとめる。

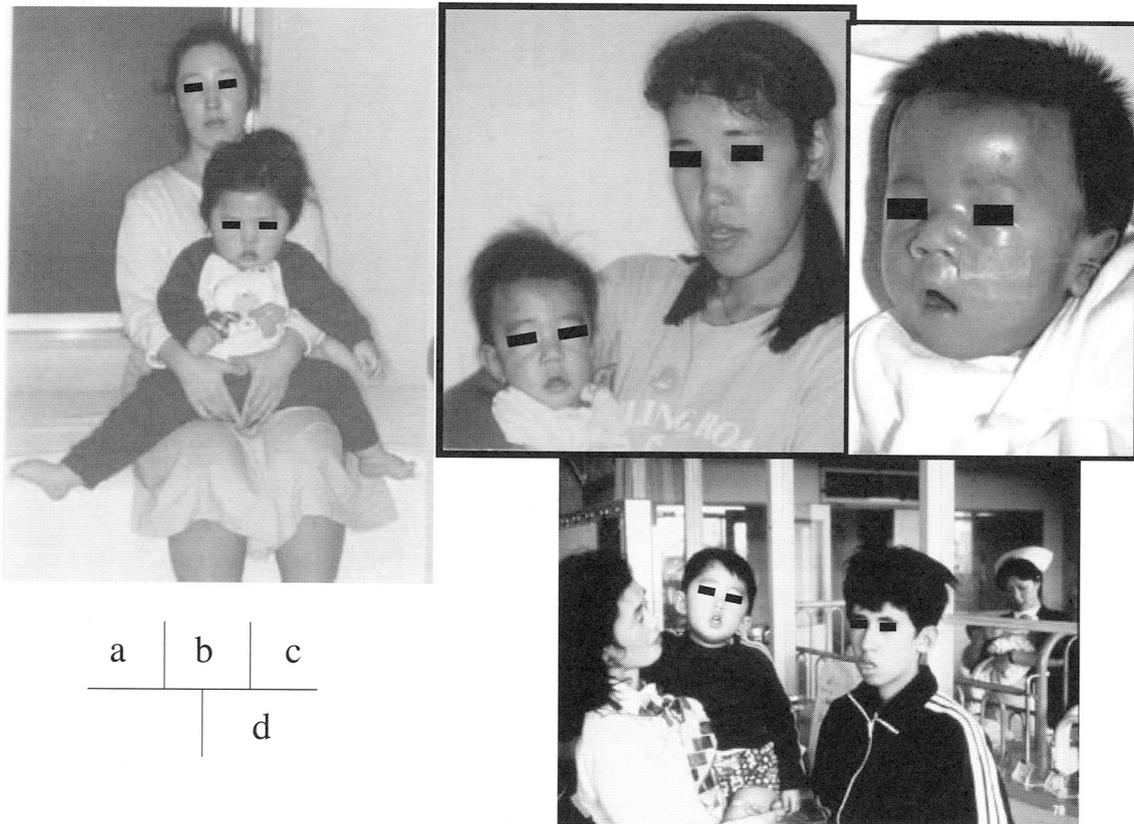
成人期に発症する古典型はミオトニーを主体とする筋症状の他、白内障、不整脈など全身の臓器、組織に症状を呈する。しかしCMyDは古典型と異なり、胎児期の羊水過多、胎動微弱に始まり、出生直後の呼吸不全、哺乳障害、全身の筋緊張低下、顔面筋の筋力低下を認め、筋症状はやがて軽快するが、徐々に古典型の症状を呈する二相性の経過をたどる。

特記すべきこととして横隔膜の挙上は他の先天性ミオパチー以外ではあまり認めないが、本疾患では多い。骨格の変形に関しては子宮内での胎動微弱との関連で、四肢の関節伸展制限なども認める。

最近の知見

最も多くみられるのが、父由来のCMyDについてである。CMyD発症の病態について、母由来の遺伝的因子の他に、子宮内の環境因子なども症状を形成する要因のひとつもいわれていた。父由来のCMyDの特徴としては、羊水過多の症状を大部分に認め、CMyD出生時に父が全く無症状の事が多く、そのCTGリピート数もかなり少ないことである。当院の症例でも父親が由来のCMyDを2例認めた^{3)~9)}。

他の知見としては、CMyDの中樞神経症状についてである。本疾患の頭部MRI所見や脳病理所見についてであり、CTGリピートと大脳所見との関係や、大脳の異常所見と出生時の呼吸障害に強さとの関連について検討されている。CTGリピート数と大脳の異常所見には相関は特になく、呼吸障害がなくても大脳病理所見で異常を認めるため、CMyDでは脳形成異常が基礎にあることが示唆されている^{10)~13)}。MRI所見に関しては白質の障害、皮質萎縮、脳室拡大などが報告されている。



a | b | c

 d

図2 MyD・CMyD親子の写真

実際の症例

CMyDといっても発症の仕方や家族での症状の出方は様々である。実際の症例として経験例を紹介する。

当院では1977年から現在まで全18家系、42症例のMyD患者が受診しており、そのうち遺伝子検査の結果が判明しているのは32例である。親がMyDと遺伝子で確定しているのは16例で、母が87.5%の14例、父は2例である。残念ながら父親例の2例に関して遺伝子異常の有無は検討していない。小児例は26例で、先天型は18例である。このうち2例は新生児期に1例は幼児期に死亡している。兄弟例も8組みられ、興味深いのは先天型と古典型の兄弟例が4組もいるということである。兄弟例のなかには父由来の例も1組含まれている。

当院経験例の家系図を図3に示す¹⁴⁾。家系4以外には必ず胎内死亡例が存在している。これらの胎内死亡例はすべて先天型と考えられる。また家系5の父子例に関しても同様のことがいえる。父からの遺伝であれば軽症MyDであるはずが胎内死亡していることより、胎内死亡例に関してはバンド長だけではなく子宮内環境もなんらかの因子として関連していることが示唆される。兄弟例に関しては家系1と2と4は兄弟例であるが、家系1は先天型同志で家系2は先天型と小児期発症型、家系4は小児期発症型同志と、様々な組み合わせの兄弟例が存在する。バンド長と症状に関しては小児例で見ると家系2の弟が3.7kbでMyDだが、家系3の兄は3.9kbでCMyDと、ほぼ同じバンド長なのにMyDの型が異なる。

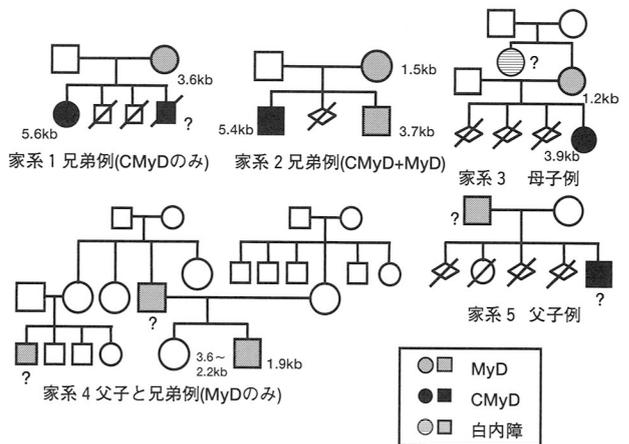


図3 当科のMyD家系図

問題点

CMyDに関しては症例数が少ないこともあり現在でも様々な問題があげられる。経験例を示し、その問題点と対策を具体的にあげていく。

1) 周産期の問題点

問題点として、①CMyDの認識がうすいこと、②周産期での症状が重い程出生後の障害が強い傾向があること、③診断時期に関する問題点（周産期に初めて母がMyD児がCMyDと診断されることが多い）があげられる。

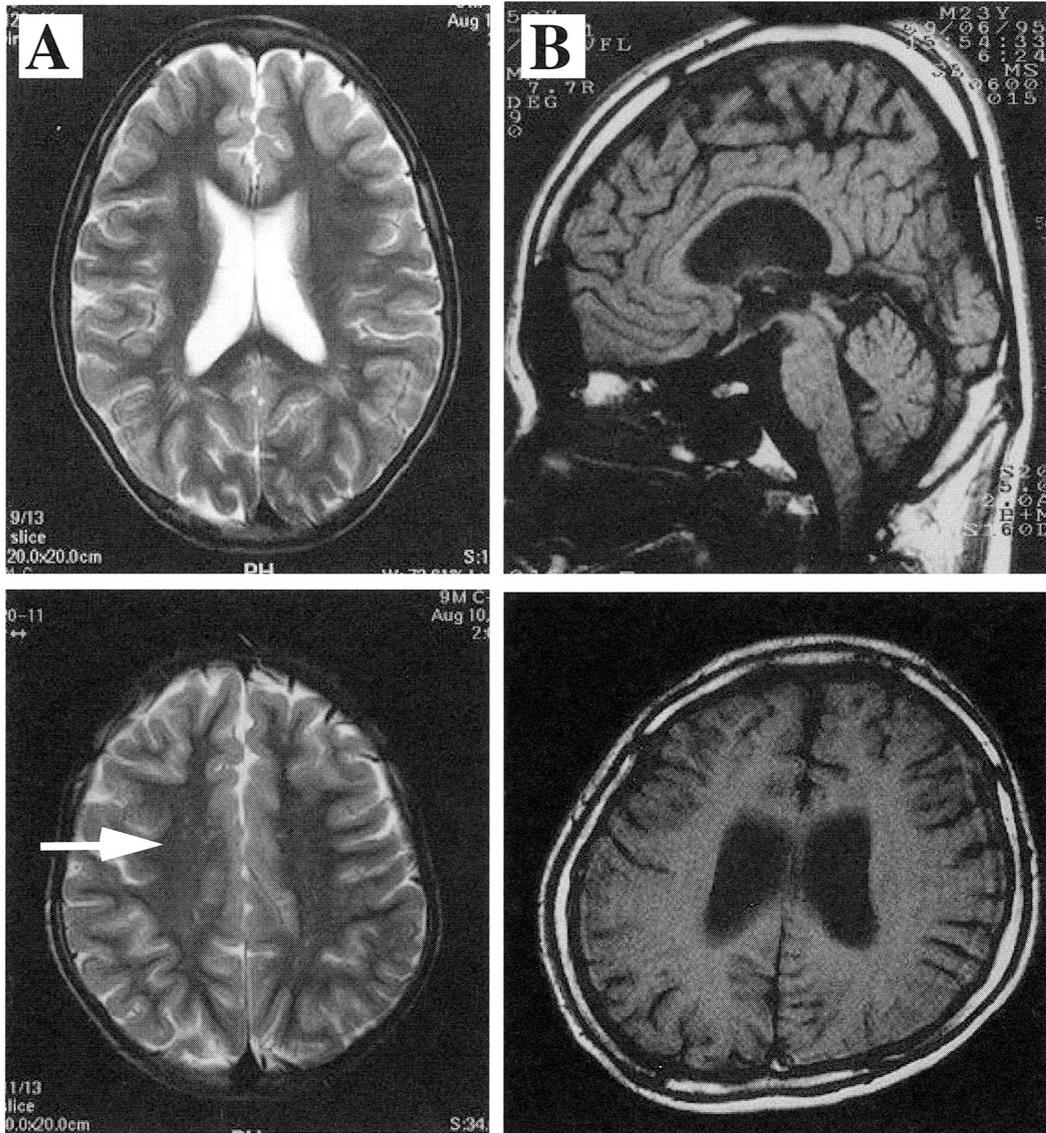


図4 CMyDのMRI所見

A : 9y2m 例 (上 : 脳室拡大, 下 : 白室病変), B : 23y6m (上 : 脳梁の変形, 下 : 大脳萎縮).

①CMyDの認識がうすいこと

CMyDの認識は小児科医, 神経内科医にはあっても, 産婦人科医, 新生児科医, 特に産婦人科医での認識が薄いともきく. MyDの母は, 例えば高校生位からミオトニアを認めたとしても, 他の人もそうなのだろうと思っていることが多く, 妊娠によって症状が悪化し初めて医師に話すということが少なくない. その際に本疾患が認識されていれば, 産婦人科, 新生児科, 神経内科と連携して母と出生する児について方針や治療について考慮可能である.

②周産期での症状が重い程 出生後の障害が強い傾向があること

前に示したようにCMyDの方が小児期MyDより羊水過多, 胎動微弱, 呼吸障害など周産期の問題点が多い. よって周産期での症状が重ければ, 出生後の障害が強いとの予測が可能である. これもやはり各科が連携して治療にあたってい

くことが重要であろう.

③診断時期に関する問題点

診断時期に関して児も母も周産期に初めて診断されることが多いのが問題点にあげられる. 母に関しては症状発現がかなり前で前述のように母の自覚はなく, 妊娠中に悪化したため発覚することが多い. また羊水過多, 胎動微弱なども認めるがCMyD妊娠特有の症状ではないため妊娠中には母は診断されず, 児の出生と共に児の症状(横隔膜挙上, 呼吸障害, 筋緊張低下)から, 母も同時に診断されることが多い. この場合出産後に突然自分自身の疾患について診断され, および児も同じ病気と診断され, 二重の不安を感じるであろう. 今後出現すると予測される本人及び児に関する症状に関する十分な説明や支援, さらに時期を見て, 次の児の予後についてなどの十分な遺伝カウンセリングが行われることが重要である.

2) 神経学的問題

知的障害はCMyDの65%に認めるといわれている。当院の症例では知能・発達検査を施行された全例に知的障害を認めた。CTGリピート数とIQ(知能指数)もしくはDQ(発達指数)の値との相関をみると、IQもしくはDQが低い程リピート数がやや多い傾向を認めたが、同じリピート数でもDQに違いが出る場合もあった。よって一概にリピート数のみで知的障害について予測するのは危険かもしれない。

当科の症例の頭部MRI検査では脳室拡大、白質の高信号域の存在、脳萎縮、脳梁の形の特徴(全体に薄く、軽度ドーム型を呈する)があり、前述した文献同様の所見であった(図4)。

これらの中枢神経障害の原因については以前から多くの議論がなされてきた。出生時より脳室拡大が存在したこと、知的障害と新生児期の呼吸障害の有無に相関を認めないことなどから脳形成異常の可能性が示唆される¹²⁾。しかし、剖検例での脳病理で低酸素性虚血性脳症の存在を示した例もみられ、周産期の脳障害に起因するという説もある¹³⁾。MD遺伝子の異常と脳障害の関連が明確でない現時点では、CMyDの周産期脳障害を最小限にとどめる努力が重要であろう⁶⁾。

ミオトニア出現の時期について考えると、出生時には存在しないのが一般的である。当院のCMyD18例のうち現在ミオトニアが出現しているのは6例であり、発症時期とCTGリピート数を比べてみると、リピート数が少ない程発症時期は早いように思われた。ミオトニアに対してはフェニトイン、カルバゼピンを使用し、効果を認めた症例もあった。

3) 免疫、内分泌学的問題など

当院の例では甲状腺機能低下症を3症例に認めている。チラージン内服により走れなかった児が走れるようになるなど、改善がみられ、治療可能な症状である。CMyDの運動能力に関してはすべてを筋力低下のせいにしてしがちであるが、甲状腺機能低下によるものと考えられるため、甲状腺機能の評価は重要である。

免疫能の低下に関しては、12例中10例、83%にIgGの低下を認めた。平均すると550mg/dlであったが、ほとんどの家族は感染を受けやすいという認識を持っていない。

ほかに電解質異常を認めた症例が1例あり、はっきりとした原因は不明であるが、水分摂取促進により軽快した。

古典型でよく問題になる白内障は39歳と25歳の2症例にしか認めず、古典型よりも頻度も発症時期も遅いと思われる。

今後のfollowや課題

CMyD患者の長期的followは困難なことが多い。これは乳児期の症状が強くなければそれ程大きな問題もなく小学生程度まで過ごし病院から足が遠くケース、母にもやや知的障害、性格の偏りを認める傾向があり、しかも同じ疾患なのでミオトニアが強くなって自分の状態が悪化し、育児が困難となりいつのまにか病院に来なくなるケースなどが考えられる。可能であれば、母がMyDならCMyDの児の養育に関しては父も積極的に参加し、病院受診も一緒に来院する方が母の負担が減り、followも継続できる。CMyDは殆どが母(時

に父)も同じ疾患である点が特殊であり、自分の疾患のみならず兄の事も考えていく親の負担は相当なものである。しかしCMyD患者は症状が徐々に出現し、また殆ど知的障害、学習障害を認めるため就学の問題、場合によっては薬物投与、療育の必要性もあるため定期検査とfollowの継続は重要である。発達や家族の相談の上で心理でのfollowも必要と思われる。

課題としては、CMyDという疾患自体の知名度の低さを改善することが一番重要である。産婦人科、新生児科での認識がやや低いようにも思われる。CMyDの母によると、妊娠中にミオトニアの症状が出現し主治医に訴えても妊娠中はそういうこともあるだろうと言われたという。もし妊娠中に母が診断されれば、児がCMyDであろうとの予測ができ、周産期脳障害の回避のための準備が可能である。またMD遺伝子のバンド長と症状の関係についても更なる症例の積み重ねにより、今後のfollowに有用である。最近では、母がMyDである場合、または前児がCMyDであった場合、出生前診断も行なわれるようになってきているため、その際の遺伝カウンセリングがかなり重要と思われ、この分野の充実も課題の一つと考えられる。

文 献

- 1) Harper P S. Disorder of Voluntary Muscle. 7th edition. London: W.B.Saunders; 1989. p552.
- 2) 古城 徹, 荒畑喜一. 先天性筋緊張性ジストロフィーの臨床的検討と分子遺伝学的解析. 日本臨床 1997; 55: 3234-3238.
- 3) Tanaka Y, Suzuki Y, Shimozaawa N, et al. Congenital myotonic dystrophy: report of paternal transmission. Brain & Development 2000; 22: 132-134.
- 4) Zeeman S, Carson N, Whelan DT. Paternal transmission of the congenital form of myotonic dystrophy type 1: A new case and review of the literature. Am J Med Genet 2002; 107: 222-226.
- 5) Nakagawa M, Yamada H, Higuchi I, et al. A case of paternally inherited congenital myotonic dystrophy. J Med Genet 1994; 31: 397-400.
- 6) Bergoffen J, Kant J, Sladky J, et al. Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy. J Med Genet 1994; 31: 518-520.
- 7) Ohya K, Tachi N, Chiba S, et al. Congenital myotonic dystrophy transmitted from an asymptomatic father with a DM-specific gene. Neurology 1994; 44: 1958-1960.
- 8) Laforet P, Heron D, Gourdon G, et al. A new case of paternally inherited congenital myotonic dystrophy. Eur J Neurol 1995; 2(suppl 1): 29A.
- 9) Die-Smulders CEM, Smeets HJM, Loots W, et al. Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy. J Med Genet 1997; 34: 930-933.
- 10) Martinello F, Piazza A, Pastorello E, et al. Clinical and neuroimaging study of central nervous system in congenital myotonic dystrophy. J Neurol 1999; 246: 186-

192.

- 11) 原中美矢子, 遠藤晃彦, 小平隆太郎, ほか. 先天性筋緊張性ジストロフィー乳幼児例の中樞神経障害. 脳と発達 2000; 32: 268-273.
 - 12) Regev R, de Vries LS, Heckmatt JZ, et al. Cerebral ventricular dilation in congenital myotonic dystrophy. J Pediatr 1987; 111 372-376.
 - 13) 下沢伸行, 稲垣真澄, 水戸 敬, ほか. 先天性筋緊張性ジストロフィー症の中樞神経障害. 脳と発達 1986; 18: 280-285.
 - 14) 武藤順子, 大澤真木子, 宍倉啓子, ほか. 遺伝子解析により表現促進を解明した筋強直性ジストロフィーの1母児例. 東女医大誌 1993; 63:338-344. 「神経内科 60(4):343-349,2004に掲載」
-

筋強直性ジストロフィー小児の認知に関する検討

—より良い教育的配慮を求めて—

大澤真木子¹⁾, 猪子 香代²⁾, 寺沢 由布²⁾,
高澤みゆき²⁾, 武藤 順子²⁾, 石井かやの²⁾

要旨：筋強直性ジストロフィー (Myd) は、さまざまな重症度や経過をもつ疾患である。小児科の対象となるのは、新生児期から哺乳困難や呼吸困難などの症状で明かとなる先天型と新生児期には症状が明らかでないが12歳以下で症状が明らかとなる小児型である。小児型は、筋症状が比較的軽症であるが、しばしば学習障害があるといわれている。またさらに日常の社会生活を困難にしている要因を検討すると、学習障害や認知障害だけでなく、集中力、思考の柔軟性、感情的な豊かさ、友人関係の問題などがいわれる。小児型においても中等度以上の知的障害をもつものも少なくないが、今回は、比較的知的障害の軽症の小児型の症例について、認知的特徴を明らかにし、かれらのもつ社会生活上の困難さとの関連を考察し、その解決方法を得るための手がかりとすることを目的に検討した。対象は、東京女子医科大学病院小児科を受診した小児型の症例で、WISC-IIIまたはWISC-Rにて、VIQまたはPIQが50以上であった6名(8-13歳, 男児3名, 女児3名)である。方法：WISC-IIIまたはWISC-Rのプロフィールについて検討した。また、その他の認知的検査、およびカルテの記述より、注意欠陥多動障害の診断基準に基づいての検討、学校や家庭での学習や対人関係の問題を検討した。結果：WISC-IIIまたはWISC-RによるVIQ(言語性IQ)は50から90, PIQ(動作性IQ)は47から72であり、各個人における言語性検査と動作性検査得点の差をみると、後者が低得点であった。また、これは、筋症状によるだけでなく視覚認知の問題によると考えられた。動作性検査の中で共通して低得点であったのは、とくに「積木」であった。「絵画完成」は、言語性IQの高い児においては、比較的高得点であった。一方、言語性検査においては、「理解」や「類似」で高得点の症例もみられるが、「理解」について低得点の症例もみられた。「理解」の低得点の症例は、日常生活に於いて友人関係をもたず孤独な特徴をもっていた。また、注意欠陥多動障害の診断基準に基づいて検討した症例に於いては、衝動性や多動性は持たないものの、集中困難を示していた。考察：小児型Myd児において、知的には普通校に於ける教育に適応可能と思われる症例に於いても、学校生活、特に対人関係に於いて困難さを伴う事がある。言語性IQと動作性IQの差をみると、前者がより高得点であり、言語的な能力やそれまでの経験を生かすことが可能な課題については、こなしていく能力をもっている。しかし、視覚認知には大きな問題がみられ、新しい視覚的な課題をこなすのは困難と思われた。また、集中力の問題は、「注意欠陥多動障害」の診断基準を満たさない症例においても配慮すべきである。これらの結果と、実生活での「高度な文章を比較的流暢に発言する事ができる」が、「その場になじまない発言となったり、言語表現から期待される本人の理解度と現実の行動が不一致」という日常的な印象を合わせて考えてみると、その集中力制御や思考の柔軟性との関連が推測された。小児型Myd児において「小児では比較的得意と思われる視覚認知から、直感的に得られる理解」が不足しがちであるので、「機敏に周囲に順応していくこと」を要求するのではなく、かれらの「理解しやすい経験として積み重ねやすい課題」を提示するように教育的配慮が求められる。

緒 言

筋強直性ジストロフィー (Myd) は、常染色体優性遺伝であり、(1) 顔面筋の罹患、(2) 四肢の遠位筋の萎縮 (3) ミオトニーによって特徴づけられる。その重症度や経過はさまざまであり、白内障のみを示す軽症例から出生時より呼吸障害のみられるような重症例までみられる。小児科の対象となるのは、新生児期から哺乳困難や呼吸困難などの症状で明かとなる先天型と新生児期には症状が明らかでないが12歳以下で症状が明らかとなる小児型である。

Mydでの認知障害は、かなり認められる¹⁾。Myd全体で(先天型、小児型、および成人型)は、より低い平均IQ値を示したが、軽度のMydではIQは異常がない²⁾。しかし、認知機能を調べた研究では、特定の問題が指摘されている。例えば、集中力の問題³⁾、視覚的な記憶、視覚的構構力、視覚認知⁴⁾、そして遂行機能などである。小児のMydの認知的障害については、集中力の問題であるといわれることもある。多動を示さない集中力の問題をもつADHDが多く、この集中力の問題は、ADHDの診断基準を満たさない症例にもよくみられる⁵⁾。

視覚記憶に問題はあるが、言語的記憶は問題がない。視覚

¹⁾東京女子医科大学 小児科

²⁾東京女子医科大学医学部小児科

構成能力に問題がみられ、これはPIQの低値に影響する。視覚認知に問題があるとされる⁵⁾⁷⁾。

また、MyDに特徴的な性格があるわけではないが⁹⁾⁹⁾、無気力であることが多く、特徴的な感情や人格を示すともいわれる⁹⁾⁹⁾。認知的な障害とともに、心理的な問題もみられる。気分や感情が単調で、感情を表現せず、楽しみを心待ちにするというようなことがない。鈍感で、無気力で、孤独好きで、意欲がなく、知的能力が低い。対人関係からひきこもりがちで、人と話そうとしないといわれる⁷⁾¹⁰⁾。先天型は、生下時より呼吸困難、哺乳困難がみられるが、その後の運動発達は、軽度の遅延から重度のものまでみられ、精神機能は、重度の障害のみられるものから、軽度の発達遅滞のみのものまでみられる。小児型は、筋症状が比較的軽症であるが、しばしば学習障害があるといわれている。またさらに日常の社会生活を困難にしている要因を検討すると、学習障害や認知障害だけでなく、集中力、思考の柔軟性、感情的な豊かさ、友人関係の問題などがあるといわれる。小児型においても中等度以上の知的障害をもつものも少なくない。今回は、比較的知的障害の軽症の小児型の症例について検討した。その認知的特徴を明らかにし、かれらのもつ社会生活上の困難さとの関連を考察し、その解決方法を得るための手がかりとしたということが目的である。

対 象

東京女子医大小児科に、1977年から現在まで受診したMyd, 19家系, 43症例(小児例は、27例で、先天型は18例)の患者の小児例の中から、WISC-IIIまたはWISC-Rにて、VIQまたはPIQが50以上であった6名(8-13歳, 男児3名, 女児3名)である。同胞例も8組みられるが、重症度については同胞間でも一致していないことが多い。小児例27例のうち、知的障害、運動能力障害が重度の症例では、認知的検査、発達検査を施行できないことが多い。認知的検査は、6歳未満にビネー検査が施行された症例は、女児1例(IQ58)、6歳以降にビネー検査の施行された症例は、男児2例(IQ62, 33)、女児1例(IQ75)であった。6歳以降にWISCの施行された症例は、男児3例(IQ44, 59, 52)、女児3例(IQ65, 56, 79)であった。

方 法

WISC-IIIまたはWISC-Rのプロフィールを検討した。また、その他の認知的検査、およびカルテの記述より、注意欠陥多動障害の診断基準に基づいての検討、学校や家庭での学習や対人関係の問題を検討した。

結果：WISC-IIIまたはWISC-RによるVIQ(言語性IQ)は50から90、PIQ(動作性IQ)は47から72であり、各個人における言語性検査と動作性検査得点の差をみると、後者が低得点であった。これは、この6例について、VIQとPIQの差は、平均値で14.5であった。(図1)また、これは、筋症状による検査の困難というよりは、視覚認知の問題によると考えられた。動作性検査の中で共通して低得点であったのは、

とくに「積木」であった。

症例J 13歳男児

普通学級に通っているが、学業にかなり困難がある。

WISC-Rの結果は、FIQ=44, VIQ=50, PIQ=47である。(図2, 図3)6例の中では、もっとも知的障害の重度の症例である。友人関係は限られているが、それなりに交流をもつことができる。動作性検査中の「配列」については、比較的高得点であった。言語性検査においては、「理解」がややできた。これらは、社会的な場面での彼なりの対処を可能にしていると考えられる。

症例Hは、9歳男児であり、WISC-Rの結果は、FIQ=59, VIQ=76, PIQ=48、(図1-3)普通学級に通っているが、集中力の問題があり、綿密に注意することができず、集中力を持続させることが困難である。学業の習得には難しさがあるが、友人関係は比較的良好である。言語性検査においては、「理解」や「類似」で高得点である。このような症例は、比較的、対人関係においての問題が少ない。動作性検査中の「絵画完成」については、言語性IQの高い本児においては、比較的高得点であった。

症例Tは、10歳男児であり、WISC-IIIの結果は、FIQ=52, VIQ=61, PIQ=53((図1-3)、普通学級に通っているが、学業全般に問題があり、友達との交流が乏しいという問題をもっていた。筋症状は、近位筋にも低下がみられた。動作性検査中の「絵画完成」については、言語性IQの高い本児においては、比較的高得点であった。

症例Kは、10歳女児であり、FIQ=65, VIQ=74, PIQ=64(図1-3)、普通学級に通い、成績は普通程度であるが、母親が家で猛勉強をさせている。集中力の問題があり、注意を持続するのが困難であり、課題を順序だてることが苦手である。また、友人との交流が乏しく、感情も豊かでない。意欲をもたせることが難しく、自己主張することがない。話しかけられても聞いていないようなことが多く、いつもぼんやりしていて夢見がちにみえる。宿題などは単独実施は困難である。注意欠陥多動障害の集中困難型であると考えられる。

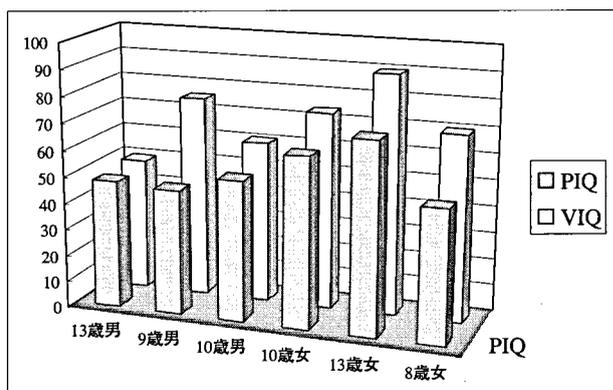


図1 各症例の動作性IQと言語性IQ
(WISC-RまたはWISC-IIIによる)

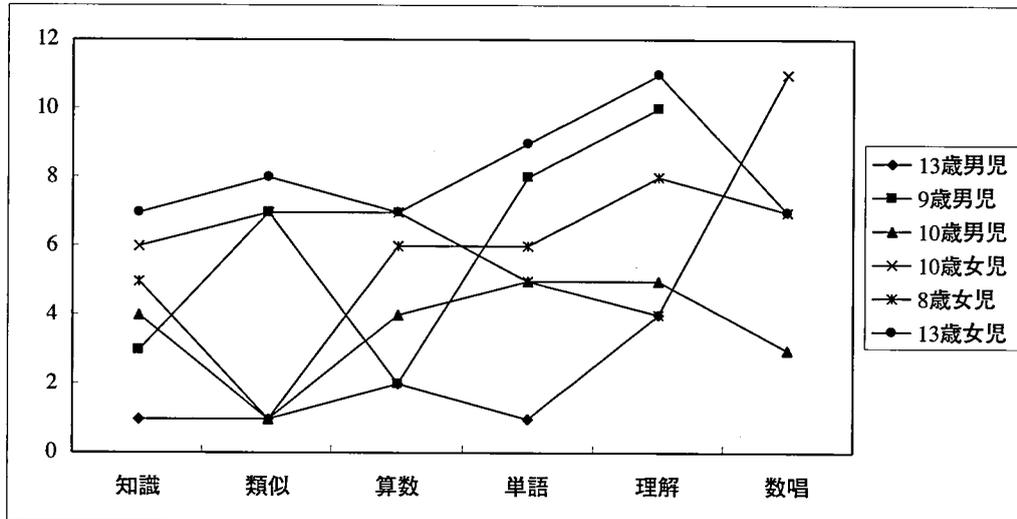


図2 各症例の言語性IQ (WISC-RまたはWISC-IIIによる)

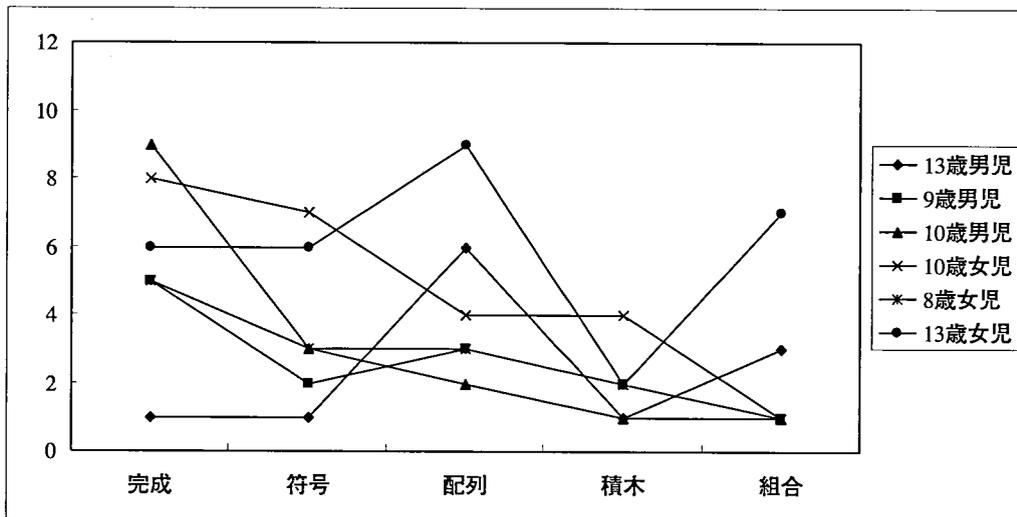


図3 各症例の動作性IQ (WISC-RまたはWISC-IIIによる)

本児は、学校での友人関係の問題や学力の問題を主訴に小児科受診したが、顔面の特徴からMyDが疑われた。周産期、乳児期には問題はなかった。始歩は1歳6ヶ月。2歳くらいから単語の発語はあったが、言語理解も遅れがあり、医療機関や児童相談所などに相談し、療育的指導を受けた。性格的には、不安の強いところがある。家の外では緊張しているのがわかる。大きい音が怖く、運動会のピストルの音に怯えてしまう。友人関係はほとんどなく、「鬼ごっこ」に誘われても、自分が鬼ばかりになると黙って帰ってきて平気であるようなところがある。友人がいないことを悩んでいるようではない。本症例は「理解」が低得点で、クラスにおいても適切な行動がとれずにいることが多い。しかし、本児は言語性IQが高いためか、動作性検査の中の「絵画完成」については、比較的高得点であった。また、符号のような作業能力については問題がないことがうかがわれた。

症例Rは、8歳女児であり、FIQ = 56, VIQ=70, PIQ=50 (図1-3)、集中力の問題があり、普通学級に通っているが、学業の問題がある。しかし、友人関係は良好で、周囲と積極的に交流し自己主張することができる。言語性検査は、比較的良好で、「理解」の高得点は、社会性の良好さと関連があると思われた。動作性検査の中の「絵画完成」については、言語性IQの高い児においては、比較的高得点であった。

症例Aは、症例Rの姉である。13歳女児であり、FIQ = 79, VIQ=90, PIQ=72 ((図1-3)、注意を持続するのが困難で、普通学級に通うが、学業の問題がある。周囲との交流は良好でクラブ活動には積極的に参加している。言語性検査においては、「理解」や「類似」で高得点で、社会性もみられ、柔軟な対応もできることと関連があると推測された。動作性検査の中の「絵画完成」「絵画配列」については、言語性IQ

の高い本児においては、高得点であった。

以上、症例T（10歳男児）は、近位筋の低下もみられるが、その他の症例は、筋強直や顔面筋の筋力低下はみられるが、遠位筋の筋力低下も軽度であった。the criteria of Mathieuによれば、症例T以外は、Stage2（遠位筋は弱くなく、Myotonia、顔面筋の弱さがみられる）である¹⁴⁾。また、注意欠陥多動障害の診断基準に基づいて検討しえた症例に於いては、集中困難を示していた。多動についても、最も知的には高い症例（症例A、13歳女児）に認められた。動作性検査中の「絵画完成」については、言語性IQの高い本児においては、比較的高得点であった。一方、言語性検査においては、「理解」や「類似」で高得点の症例もみられるが、「理解」について低得点の症例もみられた。「理解」の低得点の症例は、日常生活に於いて友人関係をもたず孤独な特徴をもっていた。

考 察

MyDは、骨格筋だけでなく、中枢神経系などに影響がある多系統疾患である。骨格筋の症状は、さまざまな重症さや進行性の違いがある。また、臨床的には、中枢神経症状の重症さも、さまざまである。先天型では、生後すぐに呼吸障害、哺乳困難などで発症する。先天型MyDでは、新生児期の呼吸障害を適切に管理されると、その後は運動機能を獲得して例も多い。多くの例は、中枢神経症状も伴うが、先天型のすべてが、高度の精神遅滞を示す訳ではない。先天型の症例も、軽度の精神遅滞であり、筋症状も幼児期以降は軽度で、日常の家庭生活には大きな問題のないこともある。小児型MyDは臨床的には、筋症状も中枢神経症状も多様である。

本研究において、我々は子どもの社会心理学特徴と認知的特徴に注目した。これらの知見で、MyD小児の、社会的な問題をより理解することができ、かれらに適切に対応すると、生活の質が改善する可能性がある。今回の対象とした6症例の共通の認知的な問題は、言語性検査よりも動作性検査に問題があることである。とくに、「積木」問題が、共通して低得点であった。言語的な能力や「それまでの経験」を生かすことのできる課題については、こなしていく能力もっている。しかし、視覚認知には大きな問題がみられ、「新しい視覚的な課題」をこなすのは難しく、視覚的なものの構成を理解することの困難さがみられた。単純な記憶や言語的に何度も繰り返している記憶に関しては、大きな問題がない。視覚認知の中でもとくに視覚的に認知し、統合して作業をしていくような課題に問題がある。

症例K（10歳女児）については、本人と家族の協力が得られたので、WISC-IIIにくわえて、認知的検査をおこなった。日本版レーヴン色彩マトリックス検査は、非言語性の視覚的類推課題である。セットAのような図の属性や規則が単純なものは正解を得られるが、セットAB、セットBといった複数の属性や規則を考慮しなくてはならない課題は、困難であった。また、K-ABCでは、「絵の統合」、「模様の構成」、「視覚類推」、および「位置さがし」に低得点がみられ、視覚的に認知しそこから類推することに困難があることがわか

る。単純な言語的記憶は問題がない。繰り返し経験のあるような言語的な課題はできる。言語的課題も、質問の意図を理解し、現在までの経験を応用していかなければならないような課題は困難があった。視覚テストでは、Frostig視覚検査で、全体の中で位置関係など視覚の課題が複雑になると困難がある。Bender Gestalt Testにおいても、複雑な図形で統合の失敗がめだち、得点は5で、6歳6ヶ月の知覚年齢になる。Reyの複雑図形テストでは、模写がかなり困難であった。時間をかけての記憶はむしろ問題がなかった。ITPAは、周囲からの刺激を受容し、解釈し、自分の意図を相手に伝える、というコミュニケーションの能力を測定するためのものである。ことば受容、視覚受容、ことば連合、視覚連合、ことば表現、および動作表現という下位分類がある。症例Kは、受容・解釈・表現のいずれも視覚からの刺激による検査で絵や動作の表現のものの方がよくできた。これは、ITPAが言語をみる検査なので、課題の絵が複雑でなく、そのまま絵や動作で回答することは可能であるが、ことばの検査の刺激をことばで与えられて絵の回答に置き換えて答えるという過程が本児には困難と推測された。Movement ABCは、標準化された協調運動の検査である。粗大運動と微細運動の両方が測定できる。症例Kは、手先を器用に作業することには困難がある。しかし、お手玉を投げたり、身体のバランスをとったりという粗大な協調運動は比較的よくできた。しかし、相手の動きに合わせてたり、ボールの動きにあわせてたりという動作は困難であった。視覚認知の問題のある児は、運動機能や協調運動機能にも問題があるように思われやすいが、症例においては、自分の身体を協調的に動かすということには問題がなかった。これは、体育などが、全般に苦手であると自信を失いやすいが、球技のような視覚的認知と瞬時の判断力を要求されるような課題には困難があるものの、ダンスや体操といったものは、繰り返しの動作を記憶することを努力すれば、こなしていくことが比較的可能であることを示している。症例Kは、短期記憶、長期記憶ともに、記憶や記憶の保持には大きな障害がない。認知課題の遂行における情報の保持と処理のためのワーキングメモリーの容量の狭小さがある。それは、視覚的刺激的課題で目立つが、言語から絵への置き換えでもみられた。

MyDの児において、知的には普通校に於ける教育に適応可能と思われる症例でも、共通して、視覚的な刺激からのワーキングメモリーの狭小さがみられる。

このため、症例によっては、学校生活、特に対人関係に於いて困難さを伴う事がある。また、注意欠陥多動障害の診断基準を満たさない症例においても、集中力の問題は配慮すべきである。意欲の問題は、大きな問題となっている症例と、社会生活全般に意欲の問題を感じさせない症例とがみられた。視覚刺激からの構成力のみで困難のある症例から、集中力の問題、そして、社会性や意欲の問題まで広がりをもつ。しかし、これは、一定の重症さと理解するのは難しく、知的に問題のある症例においても、友人との対応に柔軟であることもある。反対に、知的に大きな障害のみみられない症例においても、集中力の問題だけではなく、社会性や意欲の問題をもっていることがある。

以上より、学習には、特別の配慮が必要であろう。複雑な

いくつかの過程を同時には課さない。ひとつひとつの過程を分けて、本人の理解にあわせて指導する。視覚的なものは、多くの情報を含んでいることが多いので、絵のような視覚的刺激を与えるときには、簡単な言語で、患児の受容すべき情報を教える。一般に小児では比較的得意と思われる「視覚認知から、直感的に得られる理解」が本症の児では不足しがちであるので、機敏に周囲に順応していくことを要求するのではなく、かれらの理解しやすい経験として積み重ねやすい課題を提示するような教育的配慮が求められる。

学習の目標としては、本人自身が、複雑な過程をもつ課題を自分でいくつかの理解できる過程に分け、思考の処理の過程で、ひとつひとつの過程を忘れないようにメモに取り、ひとりで問題の解決が図れるようになることである。

症例によっては、対人関係の問題として、いつの間にか遊びや会話でグループから取り残されるということを繰り返しているのが、友人関係も本人の特徴を理解した大人がサポートして、本人に友人がどんな行動を求めているかということを理解させ、友人との共感性を大切にしていくなさと思われ。

今回の症例では、短期記憶（WISC-IIIの数唱など）に問題はなかった。正常知能のMydの症例に記憶の問題がみられるといわれることもあるが¹⁰⁾、記憶の問題は、全般的な知能と関連があり、軽症のMydでは短期記憶の問題がみられないといわれる¹²⁾。前頭葉機能については、今日までにMydで異なる研究結果がいくつかあるが、それは、対象の違いによる可能性がある。前頭葉機能の低下は、意欲のなさに関連がある可能性がある¹¹⁾。

結論：視覚認知が言語性認知よりも低下しているという結果と実生活において「高度な文章を比較的流暢に発言する事ができる」が、「その場になじまない発言となったり、言語表現から期待される本人の理解度と現実の行動が不一致」という日常的な印象を合わせて考えてみると、その集中力の制御の問題と思考の柔軟性との関連が推測された。Myd児では「小児では比較的得意と思われる視覚認知から、直感的に得られる理解」が不足しがちであるので、機敏に周囲に順応していくことを要求するのではなく、かれらの理解しやすい経験として積み重ねやすい課題を提示するように教育的配慮が求められる。

文 献

- 1) Rubinsztein JS, Rubinsztein DC, Goodburn S, Holland AJ. : Apathy and hypersomnia are common features of myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998 Apr;64(4):510-5.
- 2) Turnpenny P, Clark C, Kelly K. Intelligence quotient profile in myotonic dystrophy, intergenerational deficit and correlations with CTG amplifications. *J Med Genet* 1994;31:300-305[Abstract].
- 3) Rubinsztein JS, Rubinsztein DC, McKenna PJ, et al. Mild myotonic dystrophy is associated with memory impairment in the context of normal general intelligence. *J Med Genet* 1997;34:229-233.
- 4) Bird TD, Follett C, Griep E. Cognitive and personality function in myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1983;46:971-980[Abstract].
- 5) Chang L, Anderon T, Migneco OA, et al. Cerebral abnormalities in myotonic dystrophy: cerebral blood flow, magnetic imaging and neuropsychological tests. *Arch Neurol* 1993;50:917-923
- 6) Steyaert J, Umans S, Willekens D, Legius E, Pijkels E, de Die-Smulders C, Van den Berghe H, Fryns JP. : A study of the cognitive and psychological profile in 16 children with congenital or juvenile myotonic dystrophy. *Clin Genet*. 1997;52(3):135-41.
- 7) Palmer BW, Boone KB, Chang L, et al. Cognitive deficits in personality patterns in maternally versus paternally inherited myotonic dystrophy. *J Clin Exp Neuropsychol* 1994;16:784-795.
- 8) Delaporte C. : Personality patterns in patients with myotonic dystrophy. *Arch Neurol*. 1998 May;55(5):635-40.
- 9) Harper PS. Myotonic dystrophy. In: *Major Problems in Neurology*. 2nd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1989.
- 10) Bungener C, Jouvent R, Delaporte C. Psychopathological and emotional deficits in myotonic dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998 Sep;65(3):353-6.
- 11) Mathieu J, De Braekeleer M, Prevost C, et al. Myotonic dystrophy: clinical assessment of muscular disability in an isolated population with presumed homogeneous mutation. *Neurology* 1992;42:203-208
- 12) Marchini C, Lonigro R, Verriello L, Pellizzari L, Bergonzi P, Damante G. Correlations between individual clinical manifestations and CTG repeat amplification in myotonic dystrophy. *Clin Genet*. 2000;57(1):74-82.
- 13) Rubinsztein JS, Rubinsztein DC, McKenna PJ, Goodburn S, Holland AJ. Mild myotonic dystrophy is associated with memory impairment in the context of normal general intelligence. *J Med Genet*. 1997 Mar;34(3):229-33.

筋強直性ジストロフィーの病態と管理に関する研究 — 3年間にわたる研究成果 —

土屋 一郎¹⁾, 石原 傳幸¹⁾, 伊藤 博明¹⁾, 横山 照夫¹⁾,
山口 亜希¹⁾, 坂巻 豊教²⁾, 小池 雅美³⁾, 高橋 倫子⁴⁾

要旨：当院は、平成(以下H)14年度は徐脈性不整脈で心ペースメーカー植え込み術後に脳梗塞が生じたMyDを報告し、この合併症につき注意を喚起した。同年度のMyDの頸部画像所見の再検討ではOPLLを13.3%に認め、H15年度の各筋ジストロフィーにおける肩関節下方亜脱臼の頻度は左肩は43.3%、右は36.7%で、病型別ではFSHで高頻度かつ重症であった。H16年度のMyDにおける腰痛と腰椎MRI所見の検討では腰痛は52.9%にみられ、MRIで著明な異常の出現頻度は少なかった。同年度の多発性筋炎の筋結合織におけるアルカリフォスファターゼアイソザイムの検討では同アイソザイムは肝臓型であることが判明した。

はじめに

当院は、平成(以下H)14年度は、徐脈性不整脈で心ペースメーカー植え込み術後に脳梗塞が生じた筋強直性ジストロフィー(以下MyD)の1例報告とMyDの頸部画像所見の再検討結果を述べた。H15年度は筋ジストロフィー各病型における肩関節下方亜脱臼の頻度を報告し、H16年度は、MyDにおける腰痛と腰椎MRI所見の検討結果と多発性筋炎の筋結合織におけるアルカリフォスファターゼアイソザイム(以下Alp)の検討結果を報告した。

対象方法

H14年度の、徐脈性不整脈で心ペースメーカー植え込み術後に脳梗塞が生じたMyDの1例報告は下記の症例について臨床経過を報告した。

同年度の、MyDの頸部画像所見の再検討は、対象はMyD30例、男15、女15例、年齢33-70歳、歩行困難の自覚を発症時期として罹病期間8-43年であった。これらの対象症例に検査につき説明し、同意を得た後、頸椎単純X-P、同CT・MRI検査を施行した。さらにHbA1c値、末梢血リンパ球のDMPK遺伝子のCTG反復長を測定し、頸椎後縦靭帯骨化症(OPLL)例と非OPLL例とでこれらの値を比較検討した。優位差検定にはStudent t testを用いた。

H15年度の筋ジストロフィー(筋ジス)における肩関節下方亜脱臼の頻度は、対象は筋ジス30例、男18、女12例で、年齢は38-71歳、罹病期間は8-55年、病型の内訳はMyD21例、ベッカー型筋ジス(BMD)3例、顔面肩甲上腕型筋ジス(FSH)4例、肢帯型筋ジス(LG)2例であった。方法は、同様に説明し同意を得た対象症例で臥位および坐位で両肩関節正面X-P像を撮影し、肩峰上腕骨頭間距離(acromio-

humeral interval; AHI)を測定した。また三角筋と棘上筋の筋力を徒手筋力検査で測定し5段階で評価した。そしてAHIを同筋力、病型、罹病期間、肩甲部痛の有無などと対比、検討した。肩関節の下方亜脱臼の診断基準は、AHIが坐位時11mm以上、坐位時は臥位時より3mm以上増大、の2つを満たす時に存在するとした。統計的検討法はStudent T test、相関係数、 χ^2 二乗検定を使用した。

H16年度の、MyDにおける腰痛と腰椎MRI所見は、全対象はMyD34例、男21、女13例で、年齢は31-72歳、末梢血リンパ球のDMPK遺伝子のCTG反復長は0.227-11.7kb、罹病期間は9-34年、ADLは独歩可能4例、車椅子生活25例、ベッド上生活5例であった。これらの症例に腰痛の有無を尋ね、腰痛を有する症例のうちMRI検査の禁忌がなく検査を希望ないし同意した12例、男6、女6例について腰椎MRI検査を施行し、所見を評価した。統計学的検討法はStudent t test、 χ^2 二乗検定を使用した。

同年度の、多発性筋炎の筋結合織におけるAlpアイソザイムの検討結果は、当院で検索した78生検筋の中で多発性筋炎または皮膚筋炎の27例のうち筋結合織がAlpで陽性に染色された3例および剖検患者2名(ALS1、MyD1名)の肝臓、小腸を対象とした。Alp染色は通常の方法で、凍結連続切片を37℃で1時間施行した。温度による障害は、孵卵器内60℃の条件でAlp染色を施行した。薬品による障害には、L-フェニルアラニン、レバミゾール、L-ロイシンを使用した。各々の濃度は複数の文献を参考に設定した。則ちL-フェニルアラニンについては5mM、レバミゾールは0.29mM、L-ロイシンは9.2mMの濃度を採用し、Alp染色液に加えて染色した。上記の方法により5つのアイソザイムを識別した。

結 果

H14年度の、徐脈性不整脈で心ペースメーカー植え込み術

¹⁾独立行政法人国立病院機構箱根病院神経内科

²⁾同整形外科

³⁾同放射線科、東海大学医学部放射線科

⁴⁾現、池上総合病院神経内科

後に脳梗塞が生じたMyDは、症例は56歳、男性である。現病歴は、H12年からMyD、1度房室ブロック、完全右脚ブロック、左軸偏位、糖尿病の状態で外来通院をしていた。H13年1月頃から歩行困難が増悪し、つたい歩きとなった。H14年6月1日より食欲が低下し、同年6月10日に脱水状態で当院に入院した。第1回目の入院時現症は、意識清明、血圧98/54mmHg、脈拍50/分・整。腱反射は低下ないし消失、独歩不能で車椅子で移動していた。入院同日に突然、意識喪失を来した。その時の血圧は143/72mmHg、脈拍は20/分で自発呼吸の低下を認めたため気管内挿管を施行した。脈拍は硫酸アトロピン投与後、100/分前後まで上昇したが不安定であり、意識レベルはJCS10となった。明らかな麻痺は認めなかった。心電図で完全房室ブロックを認めたため緊急心ペースメーカー植え込み術のため他院へ転院し、同日同術を施行された。術後のペースは良好で意識レベルも著変なかったが、術後2日目から意識は昏睡状態になり、左上下肢の自発運動を認めなくなった。術後10日目に当院に第2回目の入院をした。この時の意識レベルはJCS100、血圧153/76mmHg、脈拍70/分・整（ペースメーカー調律）、Cheyne-Stokes呼吸であった。瞳孔正円同大、両側対光反射迅速、眼球運動障害を認めず、角膜反射・毛様体脊髄反射は正常、左同名半盲ないし左半側空間無視の存在が疑われた。左上下肢の自発運動を認めず、腱反射は低下ないし消失、Babinski徴候は陰性であった。頭部CTで右中大脳動脈領域の広範な低吸収域を認め、心原性脳塞栓症と診断し脳梗塞に対する治療を開始したが、意識レベル、麻痺の改善は認められなかった。

同年度のMyDの頸部画像所見の再検討結果は、対象30例中頸椎OPLLは4例（男2、女2、13.3%）、椎体癒合が2例（男2、6.6%）、椎間板ヘルニアが4例（男3、女1、13.3%）、椎体cystが1例（男1、6.6%）、そして骨棘形成が6例（男4、女2、20.0%）で認められた。OPLL例4例のうち連続型は1例（男）、分節型は3例（男1、女2）であった。連続型の1例は、罹病期間は23年で、OPLLによる臨床症状はないが、頸椎X-PとCTでC2-5で連続性OPLLを認め、MRIで脊髄の圧迫と偏位が明瞭に描出された。その末梢血リンパ球のDMPK遺伝子のCTG反復長は3.0-3.3Kbで、HbA1c値は5.0であった。OPLL例と非OPLL例の比較では、罹病期間、頸部筋脱力の程度、末梢血リンパ球のDMPK遺伝子のCTG反復長は両群で優位差はなかった。OPLL例のHbA1c値は全例正常域であった。

H15年度の、筋ジスにおける肩関節下方亜脱臼の頻度は、まずFSHで三角筋と棘上筋の筋力の差はなかった。その他の病型でも同様であった。肩甲部痛は、対象30例中、左側は9例、右側も9例（30%）の頻度で認められた。そして肩関節下方亜脱臼は、対象症例全体において左肩では13例（43.3%）、右では11例（36.7%）で認められた。肩甲部筋力別の同亜脱臼の頻度〔亜脱臼例数/該当筋力例数左（右）〕は、筋力4は1/9（1/9）、同3は2/4（1/4）、同2は5/10（6/12）、同1は5/7（3/5）で、肩甲部筋力が弱い例で同亜脱臼例が多い傾向をみた。また肩甲部筋力別の坐位時AHI〔mm, M ± SD（左/右）〕は、筋力4が8.7 ± 1.9（8.3 ± 1.7）、同3が10.5 ± 1.3（10.3 ± 3.2）、同2が14.1 ± 7.6（14.0 ± 7.0）、

同1が18.4 ± 8.9（18.2 ± 13.2）と、同筋力が弱い群程AHIが長い傾向を示した（ γ = 左-0.528, 右-0.464, $p < 0.01$ ）。病型別の同亜脱臼の頻度〔亜脱臼例数（左（右））/該当病型例数〕および坐位時AHI（左/右）はMyDは6（5）/21、10.6 ± 4.6（10.1 ± 4.1）、BMDは1（1）/3、9.0 ± 3.5（8.7 ± 2.9）、FSHは4（4）/4、23.8 ± 7.1（25.5 ± 11.3）、LGは2（1）/2、22.5 ± 5.0（17.0 ± 7.1）であった（頻度・AHIとも優位差なし）。肩関節亜脱臼と肩甲部痛の関係は、疼痛例数/亜脱臼例数〔左（右）〕は8/13（6/11）で、疼痛例数/非亜脱臼例数は1/17（3/19）と少なく、肩甲部痛を訴える症例では亜脱臼の頻度が高いことが示された（左 $p < 0.005$ ）。同亜脱臼の頻度およびAHIは男女差はなく、またAHIと罹病期間およびMyDで末梢血リンパ球のDMPK遺伝子のCTG反復長とは一定の相関関係はなかった。

H16年度のMyDにおける腰痛と腰椎MRI所見の検討結果は、全対象MyD 34例のうち腰痛は18例（52.9%）でみられた。腰痛のある18例と、そのない16例との間で、年齢、罹病期間、性差、CTG反復長、ADLの差はなかった。腰椎MRIを施行した12例の検査結果は、所見の重複を認めるが、椎間板変性が7例（58%）、腰椎の前彎消失が3例（25%）、軽度の後方への椎間板突出が2例（17%）、黄靱帯の肥厚が2例（17%）、中等度の椎間板後方突出とそれによる脊椎管狭窄が1例（8%）で認められた。椎体の圧迫骨折と魚椎変形をみた例はなかった。12例中1例はまったく正常所見であった。黄靱帯の肥厚をみた2例の臨床像は、はじめの1例は49歳、男性で、罹病期間は12年、ADLは車椅子生活である。合併症として両側白内障のほか糖尿病（HbA1c 6.8）、胆石を認め、末梢血リンパ球のDMPK遺伝子のCTG反復長は2.15kbであった。黄靱帯肥厚部の腰椎CTで両側黄靱帯の骨化をみた。頸椎後縦靱帯骨化症（OPLL）はなかった。もう1例は69歳、女性で、罹病期間は7年、ADLは現在も独歩可能で在宅療養をしている。合併症として両側白内障のほか尿路結石の既往があり、末梢血リンパ球の同遺伝子CTG反復長は0.35kbであった。黄靱帯肥厚部の腰椎CTで黄靱帯の骨化はみられなかった。OPLLはなかった。

同年度の多発性筋炎の筋結合織におけるAlpアイソザイムの検討結果は、筋結合織のAlp染色は温度60度60分、1-フェニルアラニン 5mM、1-ロイシン 9.2mMでは阻害されず、レバミゾール 0.29mMで阻害された。このパターンは肝臓と同じであった。

考 察

H14年度の、徐脈性不整脈で心ペースメーカー植え込み術後に脳梗塞が生じたMyDについては、一般に心ペースメーカー植え込み術を行う際は術前より十分な抗凝固療法を行ってから施行すれば脳梗塞を合併することは少ない。しかし今回のように、MyDで急に完全房室ブロックが生じ、緊急に同術を行う際は、術前に十分な抗凝固療法を行わず施行せざるを得ない場合もある。その際には、今回の症例のように脳梗塞が生じる可能性がある。また本例の場合、完全房室ブロックに至る前、完全右脚ブロック+左脚前枝ブロックの時期に心ペースメーカー植え込み術を施行することが望ましかった

と思われる。

同年度のMyDの頸部画像所見の再検討結果については、本邦の一般住民におけるOPLLの発生頻度は約2-3%とされ¹⁾、今回の13.3%という結果は村上ら²⁾の22.7%と優位差はなくMyDではOPLLの合併が多いことが示された。OPLLの病因としては遺伝的要因、局所ストレスそして代謝性要因などが考えられている。まず遺伝的要因については、その責任遺伝子座は第6番染色体上のCOL11A2³⁾や第21番染色体上のTGF 遺伝子などが候補に挙げられている。しかしDMPK遺伝子が存在する19q.13.3近傍の異常は報告されておらず、MyDとOPLLが遺伝子レベルで病因共通性をもつ可能性は現時点では低い。次に局所ストレスについては、MyDでは頸部筋脱力を認め同ストレスの存在が予想される。しかし今回OPLL例と非OPLL例で罹病期間や頸部筋脱力の差はなく、OPLL例で同機序がその発症要因に占める役割は小さいと考えた。代謝性要因では、OPLLと糖尿病との関連を指摘する報告とそれを否定する報告がある⁴⁾。MyDでは糖代謝異常が高率に合併するが、今回のOPLL例はHbA1c値は全例正常域で糖尿病の関与は少ないと思われる。OPLLは副甲状腺機能低下症に高率に合併するが、MyDでは50%以上の症例で偽性副甲状腺機能低下症を来すとする報告がある⁵⁾。従ってMyDでOPLLの合併が多い理由のひとつとしてこのような内分泌系異常を介した機序が考慮された。

H15年度の筋ジスにおける肩関節下方亜脱臼については、まず肩甲部筋力に関しFSHでは初期には肩甲筋のうち三角筋は保たれるとされる⁶⁾が、今回の対象症例は長期療養例であり当該筋間の筋力差はなかった。これは三角筋の廃用性筋萎縮や拘縮などが生じたためと考えられた。他の病型でもその筋力差はなかった。次に肩関節亜脱臼の頻度は左43.3、右36.7%という値が得られた。筋ジスにおける同頻度を述べた報告は見当たらないが筋ジスでは肩関節亜脱臼の頻度はかなり高いと考えられる。また肩甲部脱力が強い例で亜脱臼の頻度、AHIが増加する傾向がみられたが、この結果は同亜脱臼の発生機序、すなわち肩甲部筋の脱力のため上肢の重量により肩関節の不安定性が増すという機序を考えると理解しやすい結果であった。病型間の比較では、FSHでは肩関節下方亜脱臼は高頻度で、AHI値も大きかった。今回有意差を認めるには至らなかったが、FSHは、肩甲部の筋萎縮が高度で上肢遠位で比較的筋容量が保たれる傾向が各病型の中でもとくに顕著であるので、同病型は筋ジスの中でもとくに同亜脱臼を起こしやすい傾向があるかもしれない。次いで、肩関節下方亜脱臼が肩甲部痛を引き起こすかという疑問があり得るが、今回の結果からは同亜脱臼は疼痛の原因のひとつになっている可能性が高いと考えられた。

H16年度のMyDにおける腰痛と腰椎MRI所見については、腰痛の原因は種々考えられるが、一般に筋骨格系病因の頻度が高いと思われる。日本人の健常者におけるこのような腰痛の有病率は、建築業従事者で53.2%⁷⁾、また職業を問わず50-85歳の者で48%⁸⁾という報告がある。今回検討した

MyDではその頻度は52.9%であり、その原因を筋骨格系病因と仮定した場合、腰痛はMyDに於いても健常者と大差ない頻度で生じると考えられた。次に今回、腰痛を訴えるMyD12例の腰椎MRI所見は、1例で中等度の椎間板後方突出、2例で黄靭帯の肥厚(うち1例で同靭帯骨化)をみたほかは、概ね異常所見の程度は軽度であり、全く異常所見を欠く症例もみられた。従って、対象MyDの腰痛の原因としては上記の2例ではMRI異常との関連を疑って良いと考えるが、他の10例についてはMRIで描出される骨、椎間板などの変化よりもむしろ腰背筋脱力などほかの機序に起因する部分が多いと考えた。

同年度の多発性筋炎の結合織におけるAlpアイソザイムの検討については、Alp染色が結合織で陽性に染色されるのは多発性筋炎、特に皮膚筋炎とされてきたが、Alpの5つのアイソザイムのうち、どのアイソザイムが陽性になるかは検討されてこなかった。今回、筋結合織のAlp染色阻害パターンは肝と同じであることが判明し、同組織のAlpは肝臓由来アイソザイムの可能性が高いと結論した。尚、今後、筋結合織に肝臓由来のアイソザイムが筋炎で出現する意義を検討する必要がある。

文 献

- 1) 劉焜泉. 頸椎後縦靭帯骨化症の疫学調査—本邦人と台湾住民の比較—. 日整会誌 64, 401-408, 1990.
- 2) 村上慶郎ら. 筋萎縮症患者における脊柱靭帯骨化について. 筋ジストロフィーの遺伝, 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 p95-96.
- 3) Maeda S et al. Functional impact of human collagen alpha2(XI) gene polymorphism in pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. J Bone Miner Res. 16 : 948-957, 2001
- 4) 川村力ら. 後縦靭帯骨化症により横断性脊髄症を呈した筋緊張性ジストロフィー. 2症例報告. 臨床神経 26: 387-394, 1986.
- 5) Kinoshita M et al. Abnormal calcium metabolism in myotonic dystrophy as shown by the Ellsworth-Howard test and its relation to CTG triplet repeat length. J.neurol. 244: 613-622, 1997
- 6) Copeland SA, Levy O, et al: The shoulder in patients with muscular dystrophy. Clin Orthop. 368: 80-91, 1999
- 7) Ueno S, Hisanaga N, et al: Association between musculoskeletal pain in Japanese construction workers and job, age, alcohol consumption, and smoking. Ind Health 37:449-456, 1999
- 8) Tsuji T, Matsuyama Y, et al: Epidemiology of low back pain in the elderly: correlation with lumbar lordosis. J Orthop Sci. 6: 307-311, 2001

Beta-Blocker Therapy of for Cardiac Dysfunction in Patients with Muscular Dystrophy

Hidemi Kajimoto, Toshio Nakanishi, Kenichi Okumura, Hirofumi Tomimatsu,
Makoto Nakazawa, Kayoko Saito , Makiko Oosawa

Background: In muscular dystrophy, cardiac function deteriorates with time and heart failure is one of the major causes of death. Although the combination of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors and beta-blockers improves cardiac function in adults, little is known about the efficacy of those drugs in patients with muscular dystrophy.

Methods: We studied the effect of beta-blocker, carvedilol, and/or ACE inhibitors on ventricular function in patients with muscular dystrophy. We gave carvedilol and an ACE inhibitor to 14 patients (carvedilol group), mean age 17 years (ranging 8 to 29 years), and an ACE inhibitor only to 13 patients (ACE inhibitor group), mean age 17 years (ranging 7 to 36 years). Diagnoses included Duchenne muscular dystrophy (n=23), Fukuyama muscular dystrophy (n=3), and Emery-Dreifuss muscular dystrophy (n=1). Echocardiographic parameters of the left ventricle were measured during the follow-up period at 6 months interval.

Results: After combination therapy of carvedilol and ACE inhibitor for 23 months, there was a significant increase in left ventricular fractional shortening (LVSF). After administration of ACE inhibitor only for 20 months, there was no significant change in LVSF.

Conclusions: Carvedilol in addition to ACE inhibitors improves left ventricular systolic function in patients with muscular dystrophy.

In muscular dystrophy, cardiac function may deteriorate with age and heart failure is one of the major causes of death in patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD)(1). It has been shown that angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors and beta-blockers are effective to improve symptoms and cardiac function and to decrease mortality in adult patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease or to dilated cardiomyopathy (2, 3,4). However, whether these drugs are effective in the management of patients with muscular dystrophy patients has not been well known. We investigated whether a beta-blocker, carvedilol, in addition to an ACE inhibitor is effective to improve cardiac function in patients with muscular dystrophy.

Methods

Between January 2002 and December 2002, 27 patients, age 17+/-5 years (range 7 to 29 years), were started on cilazapril or enalapril because of ventricular dysfunction. Diagnoses were DMD in 23 patients; Fukuyama-type muscular dystrophy in 3 patients; and Emery-Dreifuss muscular dystrophy in one. The decision to start cilazapril or enalapril was based on echocardiographic find-

ings; these drugs were started when left ventricular shortening fraction (LVSF) was <0.26. The final dosage of cilazapril was 0.03 mg/Kg/day and the final dosage of enalapril was 0.2 to 0.4 mg/Kg/day. After the dosage of ACE inhibitors reached to the final value, the 27 patients were randomly allocated into two groups. One group was given carvedilol in addition to ACE inhibitors (13 patients; age 17+/-5 years, ranging 7-27 years) (carvedilol group), and the other group was given ACE inhibitors only (14 patients; age 17+/-5 years, ranging 8-29 years) (ACE inhibitor group). Carvedilol was initially started at 0.01-0.02 mg/Kg (maximum;1mg) administered twice daily and slowly increased over a period of weeks to a dose of 0.5-1 mg/Kg (maximum; 20mg). The duration of administration of ACE inhibitors in the two groups were similar.

Echocardiographic estimates of left ventricular function included left ventricular diastolic dimension (LVIDd), shortening fraction (SF), and diastolic posterior wall thickness (LVPWTd) measured from the parasternal short-axis view. Patients had measurements at least at 3 or 4 points in time: (1) before starting ACE inhibitor; (2) after having been maintained on ACE inhibitor therapy and before starting carvedilol in the carvedilol group; (3) several months after the maintenance dosage of carvedilol and/or ACE inhibitors. Comparisons between the two groups were made by analysis of variance. Differences were considered significant for $p < 0.05$. All data were expressed as mean +/- SD.

Results

In the ACE inhibitor group, values of echocardiographic parameters were shown at three points; (1) before starting ACE inhibitor;

From: Department of Pediatric Cardiology and Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan
Address for Correspondence:
Toshio Nakanishi, MD
Pediatric Cardiology, Heart Institute of Japan, Tokyo Women's Medical University,
8-1 Kawada-cho, Shinjuku, Tokyo, 162-8666, Japan
Tel: 81-3-3353-8111
FAX: 81-3-3356-0441
E-Mail: pnakanis@hij.twmu.ac.jp

Figure 1A

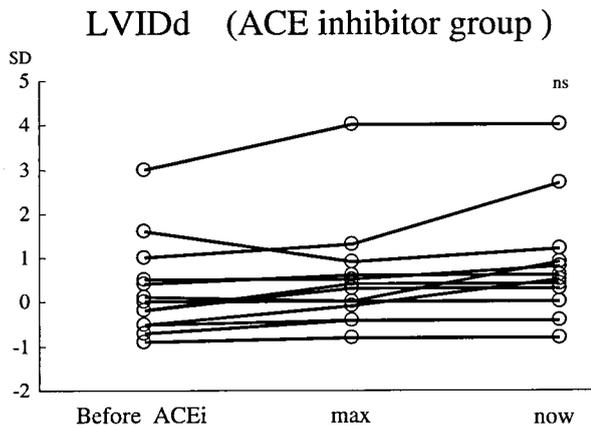


Figure 1A: Left ventricular diastolic dimension (LVIDd) in the ACE inhibitor group. Data at 3 points are shown; 1) before starting ACE inhibitor (before ACEi), 2) after having been maintained on ACE inhibitor therapy, at the time when the highest LVFS value was observed (max), and 3) several months (mean: 23 months) after the highest LVFS value was observed (now). ACEi: angiotensin-converting enzyme inhibitor.

Figure 1B

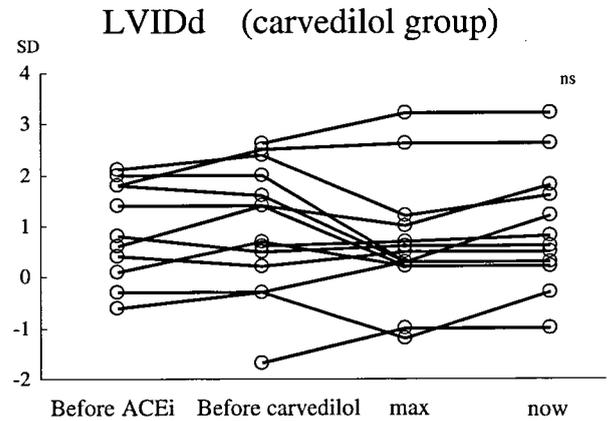


Figure 1B: Left ventricular diastolic dimension (LVIDd) in the carvedilol group. Values of LVIDd were shown at four points; (1) before starting ACE inhibitor; (2) after having been maintained on ACE inhibitor therapy and before administration of carvedilol, (3) at the time when the highest LVFS value was observed after carvedilol was started, and (4) several months (mean: 20 months) after the highest LVFS value was observed on carvedilol.

Figure 2A

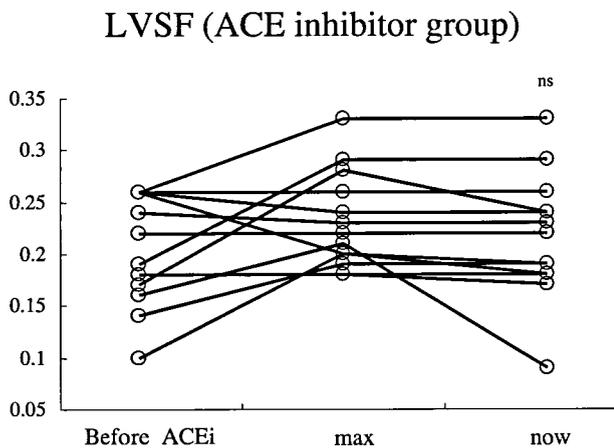


Figure 2A: Left ventricular shortening fraction (LVFS) in the ACE inhibitor group. LVFS increased slightly but the change was not significant.

Figure 2B

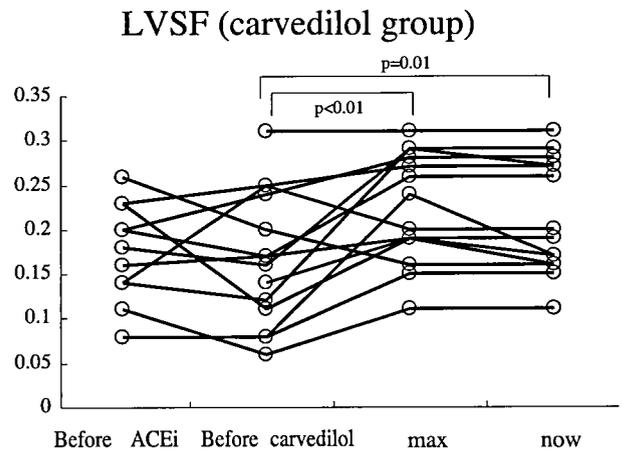


Figure 2B: Left ventricular shortening fraction (LVFS) in the carvedilol group. There was no significant changes in LVFS between the values before and after ACE inhibitor therapy, but there was a significant increase in LVFS after carvedilol therapy.

(2) after having been maintained on ACE inhibitor therapy, at the time when the highest LVFS value was observed, and (3) several months (mean: 23 months) after the highest LVFS value was observed. In the ACE inhibitor group, LVIDd did not change significantly during the study period (Fig. 1A). In the ACE inhibitor group, LVFS increased slightly but the change was not significant (Fig. 2A). In the ACE inhibitor group, LVPWTd did not change significantly during the study period (Fig. 3A).

In the carvedilol group, values of echocardiographic parameters were shown at four points; (1) before starting ACE inhibitor; (2) after having been maintained on ACE inhibitor therapy and before administration of carvedilol, (3) at the time when the highest LVFS

value was observed after carvedilol was started, and (4) several months (mean: 20 months) after the highest LVFS value was observed on carvedilol. In the carvedilol group, LVIDd did not change significantly during the study period (Fig. 1B). In the carvedilol group, there was no significant changes in LVIDd (5.0 ± 0.8 cm vs. 5.1 ± 1.0 cm), FS (0.17 ± 0.06 vs. 0.17 ± 0.08), or LVPWTd (6.7 ± 2.3 mm vs. 6.5 ± 1.5 mm). between the values before and after ACE inhibitor therapy (Figs 1B, 2B, 3B). However, after carvedilol therapy, there was a significant increase in LVFS (0.17 ± 0.08 vs. 0.21 ± 0.06 , $p=0.01$) (Fig. 2B).

No patients had had cardiac symptoms before the administration of carvedilol and/or ACE inhibitors. No patient developed adverse

Figure 3A

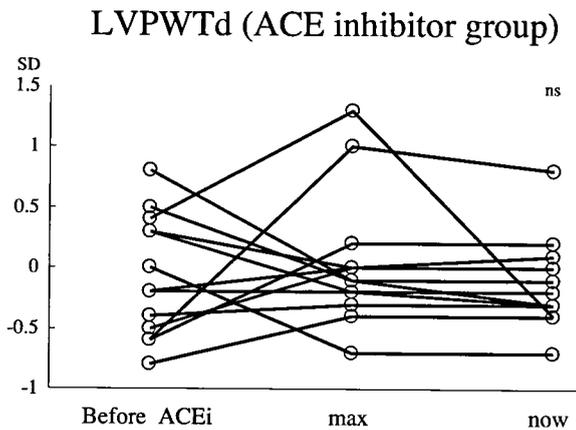


Figure 3A: Left ventricular posterior wall thickness at diastole (LVPWTd) in the ACE inhibitor group. LVPWTd did not change significantly during the study period.

Figure 3B

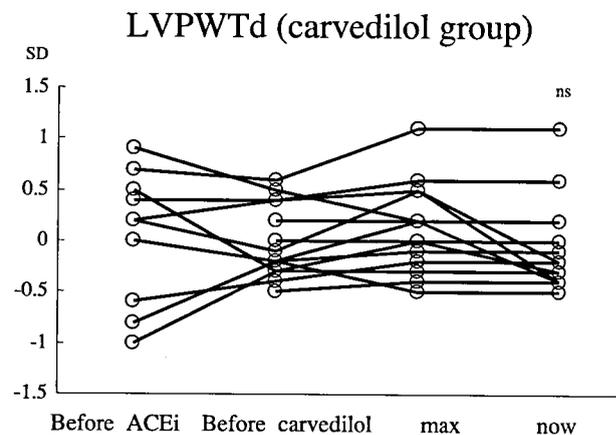


Figure 3B: Left ventricular posterior wall thickness at diastole (LVPWTd) in the carvedilol group. LVPWTd did not change significantly during the study period.

effects of carvedilol and/or ACE inhibitors during the study period.

Discussion

With the development of management system for respiratory insufficiency, the life expectancy of patients with muscular dystrophy has been prolonged (5). As the life span of the patients prolongs, cardiac dysfunction has been observed more frequently, especially in adult patients with muscular dystrophy and now patients with muscular dystrophy often die in chronic heart failure (1). Although the optimal therapy for cardiac dysfunction in patients with muscular dystrophy remains undetermined, ACE inhibitors and beta-blockers may potentially be effective, based on the studies performed in adult patients with cardiac dysfunction due to ischemic heart diseases or dilated cardiomyopathy (2-4). Reports regarding the of ACE inhibitors and beta-blockers in pediatric patients are limited (6,7). However, the efficacy of ACE inhibitors and beta-blockers in pediatric patients similar to that in adult patients may be expected.

In the present study, there was no significant improvement in LVIDd, LVFS, and LVPWTd in the ACE inhibitor group during the study period of 23 months. However, this does not necessarily indicate that ACE inhibitors were not effective to treat ventricular dysfunction in muscular dystrophy, because ventricular function may deteriorate in the natural history of patients with muscular dystrophy and in the present study, there was no control group in which ACE inhibitors were not used.

In the present study, there was a significant improvement in LVFS in the carvedilol group during study the period of 20 months. This suggests that carvedilol may have a positive impact on ventricular function. Whether carvedilol and/or ACE inhibitors prolong a life span of patients with muscular dystrophy remains unclear. The study of long-term effect of carvedilol in patients with muscular dystrophy is warranted. Ishikawa et al (8) also reported the clinical usefulness of beta-blockers in the management of

patients with Duchenne muscular dystrophy.

It was difficult to evaluate if carvedilol was effective in improving cardiac symptoms in the present study, because most patients with DMD and Fukuyama muscular dystrophy had been confined to a wheelchair.

The present study with a beta-blocker in muscular dystrophy raises many questions regarding the types of muscular dystrophy amenable to beta-blockers, the optimal timing of beta-blocker therapy, and the preferable type of beta-blockers. Many types of muscular dystrophy involves cardiac muscle (9-16). Since the number of patients with Becker muscular dystrophy, Fukuyama muscular dystrophy, and Emery-Dreifuss muscular dystrophy was small in the present study, we could not conclude if there was a difference in the effectiveness of beta-blockers among these types of muscular dystrophy.

Most studies in adults with ischemic heart diseases and dilated cardiomyopathy regarding the effect of beta-blockers have been performed in patients with NYHA functional class II or III and with ejection fractions less than 0.40. However, recent guide-lines suggest the use of beta-blockers and/or ACE inhibitors even in asymptomatic patients or in patients with mild cardiac dysfunction (17). In the present study, ACE inhibitors were started when LVFS became <0.26 ($LVEF < 0.58$) and in most patients LVFS was >0.1 ($LVEF > 0.27$). Thus, the degree of depression of systolic function was mild to moderate in the present study. Therefore, it remains unknown whether ACE inhibitors might have been effective if ACE inhibitors were started in patients with severely depressed cardiac function. The optimal type of beta-blockers to be used in muscular dystrophy also requires further study. We chose carvedilol because carvedilol has beta-1, beta-2, and alpha-1 blocking properties and have vasodilating properties.

We conclude that combination of ACE inhibitors and carvedilol is a safe and effective therapy in patients with muscular dystrophy. Further study is warranted to define whether beta-blockers are effective in improving survival of patients with muscular dystro-

phy.

REFERENCES

- Ishihara T. Management of patients with Duchenne muscular dystrophy. *No To Hattatsu* 2004; 36: 130-135.
- Foody JM, Farrel MH, Krumholz HM. Beta-Blocker therapy in heart failure. *JAMA* 2002; 287: 883-889.
- Packer M, Coats AJS, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, Rouleau JL, Tendera M, Castaigne A, Roecker EB, Schultz MK, DeMets DL. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *New Engl J Med* 2001; 344: 1651-1658.
- Bristow MR. Beta-Adrenergic Receptor Blockade in Chronic Heart Failure. *Circulation* 2000; 101: 558-569.
- Eagle M, Baudouin SV, Chandler C, Giddings DR, Bullock R, Bushby K. Survival in Duchenne muscular dystrophy: improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. *Neuromusc Dis* 2002; 12: 926-929.
- Grenier MA, Fioravanti J, Truesdell SC, Mendelsohn AM, Vermilion RP, Lipshultz SE. Angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy for ventricular dysfunction in infants, children and adolescents. *Prog Pediatr Cardiol* 2000; 12: 91-111.
- Shaddy RE, Tani LY, Gidding SS, Pahl E, Orsmond GS, Gilbert EM, and Lemes V. Beta-blocker treatment of dilated cardiomyopathy with congestive heart failure in children: A multi-institutional experience. *J Heart Lung Transplanr* 1999;18:269-274.
- Ishikawa Y, Bach JR, Minami R. Cardioprotection for Duchenne's muscular dystrophy. *Am Heart J* 1999; 137: 895-902.
- Ruiz-Cano MJ, Delgado JF, Jimenez S, Cea-Calvo L, Sanchez V, Escibano P, Gomez MA, Gil-Fraguas L, Saenz de la Calzada C. Successful heart transplantation in patients with inherited myopathies associated with end-stage cardiomyopathy. *Tranplantation Proc* 2003; 35: 1513-1515.
- Mori K, Manabe T, Nii M, Hayabuchi Y, Kuroda Y, Tatara K. Plasma levels of natriuretic peptide and echocardiographic parameters in patients with Duchenne's progressive muscular dystrophy. *Pediatr Cardiol* 2002; 23: 160-166.
- Lanza GA, Russo AD, Giglio V, Luca LD, Messano L, Santini C, Ricci E, Damiani A, Fumagalli G, Martino GD, Mangiola F, Bellocchi F. Impairment of cardiac autonomic function in patients with Duchenne muscular dystrophy: Relationship to myocardial and respiratory function. *Am Heart J* 2001; 141: 808-812.
- Saito M, Kawai H, Akaike M, Adachi K, Nishida Y, Saito S. Cardiac dysfunction with Becker muscular dystrophy. *Am Heart J* 1996; 132: 642-647.
- Giglio V, Pasceri V, Messano L, Mangiola F, Pasquini L, Russo AD, Damiani A, Mirabella M, Galluzzi G, Tonali P, Ricci E. Ultrasound tissue characterization detects preclinical myocardial structural changes in children affected by Duchenne muscular dystrophy. *L Am Coll Cardiol* 2003; 43: 309-319.
- Doing AH, Renlund DG, Smith RA. Becker muscular dystrophy-related cardiomyopathy: A favorable response to medical therapy. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21: 496-498.
- Bosser G, Lucron H, Lethor JP, Burger G, Beltramo F, Marie PY, Marcon F. Evidence of early impairments in both right and left ventricular inotropic reserves in children with Duchenne's muscular dystrophy. *Am J Cardiol* 2004; 93: 724-727.
- Ramaciotti C, Iannaccone ST, Scott WA. Myocardial cell damage in Duchenne muscular dystrophy. *Pediatr Cardiol* 2003; 24: 503-506.
- Hunt SA, Baker DW, Chin MH, Cinquegrani MP, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Goldstein S, Gregoratos G, Jessup ML, Noble RJ, Packer M, Silver MA, Stevenson LW. ACC/AHA Guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: executive summary. *Circulation* 2001; 104: 2996-3007.

Duchenne型筋ジストロフィー患者の心機能障害に対する β遮断薬治療に関する多施設臨床研究 —プロトコル作成からベースライン解析まで—

松村 剛¹⁾, 田村 拓久²⁾, 菊池 泰樹³⁾, 川井 充⁴⁾

要旨：Duchenne型筋ジストロフィーの心機能障害に対するβ遮断薬治療の多施設研究を計画，プロトコルを作成した。心機能により進行期，初期，心機能障害発症前の3段階とし，治療・予防効果だけでなく心機能に応じた安全な導入方法確立を目的とした。2003年から症例登録を開始したが，現在までに27名の登録数で十分とはいいがたく，発症前は全例がβ遮断薬投与を選択した。登録時のベースライン解析では進行期で投与群が非投与群より年齢が低い他は，進行期・初期ともに心機能や運動機能，呼吸管理の有無などに有意差はなかった。さらに症例登録を推進するとともに，個々の症例の分析を通じて治療効果，安全性の検討を行っていきたい。

はじめに

呼吸管理と感染症治療の進歩により，Duchenne型筋ジストロフィー患者（Duchenne muscular dystrophy: DMD）の生命予後は著明に延長した。現在，DMDの生命予後を規定する最大の因子は心不全となっている。一般の慢性心不全では，複数の多施設研究によりACE阻害剤（ACE inhibitor: ACEI）^{1, 2)}とβ遮断薬^{3, 9)}の有効性が確立している。DMDでもACEIについては，本邦における多施設研究¹⁰⁾で有用性が示され，第一選択薬として普及している。一方，β遮断薬については有効性を示した報告¹¹⁾もあるが，否定的なもの¹²⁾もあり，小児におけるデータも少ない^{13, 14)}こと，投与開始期に心機能増悪が懸念されることなどから普及が進んでいない。このような現実を踏まえ，DMD心機能障害におけるβ遮断薬の有効性を評価し，リスクの少ない導入法を開発することは，DMDの心不全治療を確立する上で欠かせない作業と考え，プロジェクトを計画した。

方 法

プロトコル概要

本研究では，一般の慢性心不全でβ遮断薬の有効性が確立していることを踏まえ，無作為割付を基本としつつも自己選択を容認する非盲検試験とした。β遮断薬はcarvedilolを用い，心機能に応じて3段階のプロトコルを作成，治療・予防効果の評価に加え，心機能に応じた適切な導入方法確立を目指した。事務局を長崎大学医学部保健学会に置き，患者の登録・割付や臨床情報の集積・検討を行うこととした。プロトコルは冊子にして各班員に配布し，ホームページ上にも公開

した。その概略を下記に示す。

1) プロジェクト1（進行期心機能障害に対するβ遮断薬の治療効果と安全な導入方法の検討）：心エコー（ultrasonic echocardiogram: UCG）による左室駆出率（left ventricular ejection fraction: LVEF）40%未満の症例を対象とした。ACEIを全例に投与し，ACEIが維持量到達後1ヶ月以上の安定した段階からβ遮断薬・観察を開始する。LVEFが30%未満の症例では，心不全悪化が懸念されるため，β遮断薬投与に先立ちpimobendan投与や経口利尿剤の調整を推奨。Carvedilolは分2投与法で0.625-1.25mg/日（これ以下でも可）の少量から開始し，バイタルサインや臨床症状に留意しながら1週間以上の間隔をおいて慎重に増量し，3ヶ月以内に維持量（5-10mg/日）に到達しない場合は脱落とした。増量期間中の心機能低下，維持量到達後のイベント，心事故への対応については想定可能な範囲でプロトコルに記載し，随時プロジェクトリーダーに相談できるようにした。観察期間は24ヶ月で，一次エンドポイントを心事故，二次エンドポイントをLVEFとBNPとした。それ以外の評価項目では，運動機能・呼吸機能障害や呼吸管理が及ぼす心負荷への影響を考慮し，これらの項目も経時的に評価することとした。

2) プロジェクト2（初期心機能障害に対するβ遮断薬の治療効果評価）：対象はLVEFが40%以上から50%以下の症例だが，ACEI服用中の症例では過去にLVEF50%以下が確認されていれば登録時のLVEFは50%以上でも可とした。ACEIは全例に投与，維持量到達後1ヶ月以上経った段階からβ遮断薬・観察を開始する。Carvedilolは1.25mg/日（これ以下でも可）から開始し，1週間程度の間隔で倍増するが，バイタルサインや臨床症状に応じて適宜加減する。3ヶ月以内に維持量（5-10mg/日）に到達しない場合は脱落とする。観察期間は60ヶ月で，一次エンドポイントは心事故，二次

¹⁾ 独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科 ²⁾ 独立行政法人国立病院機構長崎神経医療センター内科

³⁾ 国立大学法人長崎大学医学部保健学科 ⁴⁾ 独立行政法人国立病院機構東埼玉病院神経内科

著者連絡先：松村 剛

独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科

〒560-8552 大阪府豊中市刀根山5-1-1 TEL: 06-6853-2001 FAX: 06-6853-3127 E-mail: matumura@toneyama.hosp.go.jp

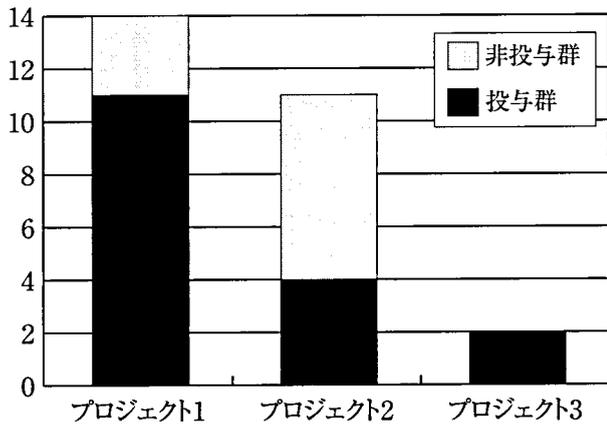


図1. プロジェクト別登録症例数内訳

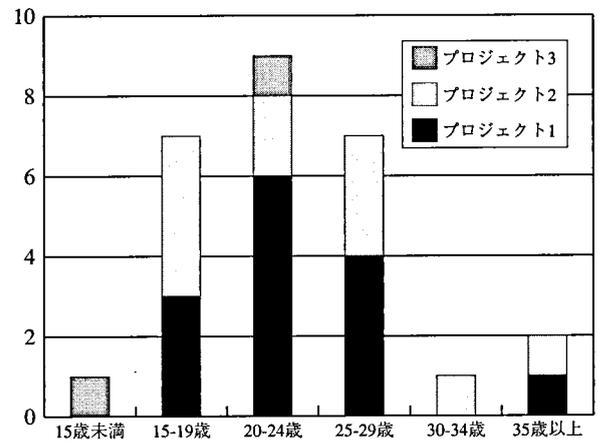


図2. 登録症例年齢構成

表 登録患者のベースライン解析

プロジェクト1

	投与群	非投与群	p
年齢	21.6+/-3.4	30.7+/-8.1	<0.05
CTR	51.6+/-7.7	35.0	n.s.
BNP	122.5+/-209.4	27.8+/-16.6	n.s.
LVEF	24.4+/-10.7	21.5+/-16.3	n.s.
FS	10.7+/-3.8	11.2+/-9.7	n.s.
移動能力(有/無)	4/7	0/3	n.s.
呼吸管理(無/有)	5/6	0/3	n.s.

プロジェクト2

	投与群	非投与群	p
年齢	22.8+/-6.7	24.7+/-7.2	n.s.
CTR	42.5+/-8.7	44.4+/-6.2	n.s.
BNP	7.3+/-6.9	10.0+/-8.9	n.s.
LVEF	56.2+/-8.8	39.2+/-6.7	n.s.
FS	28.8+/-5.0	20.0+/-5.5	n.s.
移動能力(有/無)	0/4	1/6	n.s.
呼吸管理(無/有)	1/3	3/4	n.s.

略語：CTR: cardiothoracic ratio, BNP: brain natriuretic peptide, LVEF: left ventricular ejection fraction, FS: fractional shortening, n.s. not significant

エンドポイントはLVEFとBNPとした。

3) プロジェクト3 (β遮断薬による心機能障害予防効果の評価) : 対象はACEIなどの治療歴がなく、LVEFが50%以上でBNPが20pg/ml未満の症例。この群ではACEI投与は行わず、β遮断薬単独の治療効果を観察する。Carvedilolは1.25-2.5mg/日 (それ以下でも可) から開始し、1週間程度の間隔で倍増するが、バイタルサインや臨床症状に応じて適宜加減し、3ヶ月以内に維持量 (5-10mg/日) に到達しない場合は脱落とする。観察期間は60ヶ月で一次エンドポイントはLVEFとBNP、二次エンドポイントは臨床的心機能障害とした。

患者登録・ベースライン解析

2003年より倫理委員会による承認を受けた施設から登録を開始した。登録症例の統計学的解析については長崎大学医

学部保健学科で実施した。ベースライン解析ではMann-WhitneyのU検定を用いた。

結果

2004年11月末時点の患者登録数は27名で、内訳はプロジェクト1が14名、プロジェクト2が11名、プロジェクト3が2名となっている。β遮断薬投与・非投与の割付は、1名を除き全例が自己選択した。プロジェクト毎の内訳はプロジェクト1が投与群11名、非投与群3名、プロジェクト2が投与群4名、非投与群7名、プロジェクト3は2名とも投与群であった (図1)。年齢構成では20歳代が16名と多く、10歳代が8名であったが、30歳以上の症例も3名あった (図2)。

プロジェクト1, 2のベースライン解析では、プロジェクト

1で投与群の年齢が非投与群より低い以外、心機能指標、運動機能、呼吸管理の有無について有意差はなかった(表)。治療成績については、現時点では統計的解析は行えていないが、これまでに4名で心事故の報告があった。内訳はプロジェクト1で投与群の2名が死亡、1名で導入不能による脱落、プロジェクト2で非投与群1名が心房粗動によりcatheter ablationを受けた。

考 察

虚血性心疾患や心筋症などによる慢性心不全では有効性の確立した β 遮断薬であるが、サルコイドーシスや筋ジストロフィーによる心機能障害では効果が乏しいとされている。この一因として、筋ジストロフィーでは運動機能障害による心負荷減少のため、心機能が低下してもLVEFやBNPなどが異常を呈しにくく^{15,16)}、心不全症状も顕在化しにくい上に呼吸不全症状と紛らわしい場合があり、心機能障害治療導入が遅れる懸念がある。さらに、DMD心機能障害治療ではACEIが第一選択薬とされてきたため、 β 遮断薬はACEIの治療効果が低下した末期の症例に用いられる傾向が強く、導入期リスクが高くなる問題もある。DMDが心筋障害を必発する疾患で、ACEIや β 遮断薬が心筋保護を目的とした薬剤であることを考慮すれば、病初期から定期的な検査で心筋障害の徴候を早期に把握し、初期から治療を開始することで進行を阻止することが最も重要と思われる。こうした事情から、今回の研究では従来の基準に準拠したプロジェクト1に加え、より早期から β 遮断薬を開始するプロジェクト2やLVEF50%以上の段階から β 遮断薬を開始して予防効果を検討することを目的としたプロジェクト3までの3つのプロジェクトを計画した。

残念ながら、現在までの登録症例数は統計学的有意差を得るには十分と言いがたいのが実情である。特に最も重要な10歳代症例の登録が8名と進んでいない。症例登録は現在も継続中であり、一層登録を推進するとともに、個々の症例についての詳細な分析を行い、特に安全な導入・維持についての知見を増やすことが求められる。この点については、本研究以外で β 遮断薬が投与された症例の後方視的研究も並行して実施しており、できるだけ多くの情報を共有することで、適切な治療法確立を図りたい。また、心筋障害をより鋭敏に反映する指標の開発により、適切な治療開始時期決定、治療効果のリアルタイム把握を可能とするシステムの開発も行っていきたい。

参考文献

- 1) The CONSENSUS trial study group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure: results of the cooperative north Scandinavian enalapril survival study (CONSENSUS). *N Engl J Med* 1987; 316: 1429-1435.
- 2) The SOLVD investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325: 293-302.
- 3) Waagstein F, Bristow MR, et al: Beneficial effects of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy. Metoprolol in Dilated Cardiomyopathy (MDC) Trial Study Group. *Lancet* 342 :1441-1446, 1993
- 4) CIBIS Investigators and Committees: A randomized trial of beta-blockade in heart failure. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS). *Circulation* 90:1765-1773, 1994
- 5) Packer M, Bristow MR, et al: The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patient with chronic heart failure. U.S. carvedilol Heart Failure Study Group. *N Engl J Med* 334 : 1349-1355, 1996
- 6) Bristow MR, Gilbert EM, et al: Carvedilol produces dose-related improvements in left ventricular function and survival in subjects with chronic heart failure. MOCHA Investigators. *Circulation* 94:2807-16, 1996
- 7) Packer M, Colucci WS, et al: Double-blind, placebo-controlled study of the effects of carvedilol in patients with moderate to severe heart failure. The PRECISE Trial. Prospective Randomized Evaluation of Carvedilol on Symptoms and Exercise. *Circulation* 94:2793-2799, 1996
- 8) CIBIS-II Investigators and Committees: The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomized trial. *Lancet* 353:9-13, 1999
- 9) Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 353:2001-2007, 1999
- 10) 田村拓久, 澁谷統壽, 飯田光男ら: Duchenne型筋ジストロフィー患者の慢性心機能障害に対するカプトリル治療の臨床評価. *臨床医薬* 12:3635, 1996
- 11) Ishikawa Y, Bach JR, et al: Cardioprotection for Duchenne's muscular dystrophy. *Am Heart J* 137:895-902, 1999
- 12) 斉藤利雄, 松村 剛, 宮井一郎ら: Duchenne型筋ジストロフィーの左心機能障害に対する carvedilol の臨床効果. *臨床神経* 41: 691-694, 2001
- 13) Luke A, Bruns MD, et al: Carvedilol as therapy in pediatric heart failure: An initial multicenter experience. *J Pediatr* 138: 505-511, 2001
- 14) Shaddy RE, Tani LY, et al: Beta-blocker treatment of dilated cardiomyopathy with congestive heart failure in children: A multi-institutional experience. *J Heart Lung Transplant* 18: 269-274, 1999
- 15) Mori K, Manabe T, Nii M, et al: Plasma levels of natriuretic peptide and echocardiographic parameters in patients with Duchenne's progressive muscular dystrophy. *Pediatr Cardiol* 23: 160-166, 2002
- 16) Demachi J, Kagaya Y, Watanabe J, et al: Characteristics of the increase in plasma brain natriuretic peptide level in left ventricular systolic dysfunction, asso-

ciated with muscular dystrophy in comparison with
idiopathic dilated cardiomyopathy. Neuromusc Disord
14: 732-739, 2004

慢性心不全患者に対するβ遮断薬導入後の心事故発生例の特徴

佐々木典子, 安村 良男

要旨：β遮断薬導入後慢性期の心事故発生例の臨床的特徴および予後を検討した。慢性心不全患者連続131例を対象に、左室拡張末期径、左室駆出率（EF）、血中BNP濃度、MIBG心筋シンチの洗い出し率（WR）を計測した後、carvedilolを導入し、以後の心事故を追跡した。平均観察期間は41±20か月。導入成功117例のうち、21例に心事故（突然死6例（4.5%）、心不全増悪入院15例（11.3%））が発生した。突然死例は心不全増悪入院例に比し、導入前EFと血中BNP濃度には有意差を認めなかったがWRが高値かつ左室拡大が高度であった。心不全増悪再入院15例のうち6例は重篤な心事故を発生し、6例は心不全入院を繰り返した。β遮断薬導入後心不全増悪で一度でも再入院すると、その後の心事故発生率が高い。

Key words: β遮断薬, 心事故, 突然死, 心不全再入院, 拡張型心筋症

はじめに

β遮断薬は慢性心不全患者の生存率やQOLを改善することが明らかとなり、慢性心不全治療の基本的な治療薬となった^{1,2}。特に、左室駆出率（LVEF）が大きく改善する症例の予後は極めて良好である³。しかし、β遮断薬導入時に心不全が悪化したり、導入後遠隔期に心事故を発生する患者も存在する。本研究は1)β遮断薬の導入前の情報から導入後の心事故が予測できないか、また2)β遮断薬導入後遠隔期に心事故を起こす症例の特徴は何かを検討した。

対象と方法

1996年4月～2002年12月に国立循環器病センターに入院して拡張型心筋症と診断され、NYHA I～IIIで安定した慢性心不全患者連続131例を対象に、心事故発生につき追跡した。平均観察期間は41±20か月だった。

carvedilol導入前に心エコー法による左室拡張末期径（LVDd）、RI左室造影による駆出率（EF）、血中BNP濃度、心臓交感神経活性の指標としてMIBG心筋シンチグラフィの洗い出し率（WR）を計測した。これらの指標が心事故発生に関連するか否かを検討した。carvedilolは2.5mg/日より開始し、20mg/日を最終到達量とした。心不全増悪入院と突然死を心事故、また心不全増悪入院後に引き続き突然死、心不全死、外科的処置、埋め込み型除細動器（ICD）作動、左心補助装置（LVAS）装着を続発性心事故と定義した。外科的処置、ICD作動、LVAS装着については、そのために延命が得られたと考え、死亡相当事故とした。

結 果

図1にcarvedilol導入後の治療経過を示す。3例（2.3%）

は心不全悪化のためcarvedilolの導入に失敗した。この3症例はいずれも続発性心事故を発生した（死亡2例、僧帽弁形成術1例）。導入成功例117例のうち、21例に心事故が発生した。6例（4.5%）は突然死した。15例（11.3%）は心不全増悪による再入院を要した。図2は心事故発生例の特徴をcarvedilol導入前の諸検査値について比較検討したものである。これによりβ遮断薬導入前に心事故を予測しうる指標を検討した。心事故発生群は非発生群と比べ、心機能や神経体液性因子が悪化していた（EF:21±8 vs 27±8%, p<0.01, Dd:72±8 vs 68±7mm, p<0.01, WR:56±11 vs 46±12%, p<0.01, BNP:514±462 vs 137±148pg/ml, p<0.01（図2））。心事故発生群のうち、突然死群は心不全増悪入院群と比べ、carvedilol導入前WRが高値（60-78%）でかつ左室拡大が高度だった（Dd>70mm）。心不全増悪入院15例中6例は以後にLVASを装着したか死亡した。9例は内科的治療で軽快したが、全例心不全軽快後のNYHAが悪化した（2.1±0.2から2.8±0.3）。また9例中6例はその後2回以上心不全入院を繰り返した。要約すると、心不全増悪入院例15例のうち12例で続発心事故が発生したか、再々入院を要した。このように、β遮断薬導入後にも一度でも心不全のために再入院した患者は、その後に心事故を繰り返す可能性が高い。

また、突然死は突然死には心不全増悪入院が先行していない。突然死例のうち2例は4ヶ月のfollow up前に突然死し、残り4例は全例4ヶ月後のBNPは低下していた（967±773 vs 372±511pg/ml）。

考 察

本研究は対象が全例拡張型心筋症患者で、β遮断薬はcarvedilolを使用していることを特徴としている。①carvedilol導入後、心不全増悪のために再入院する患者は、その後心不全入院のリピーターになる可能性が高い、②突然死例では心不全入院が先行しない、③突然死例ではβ遮断薬

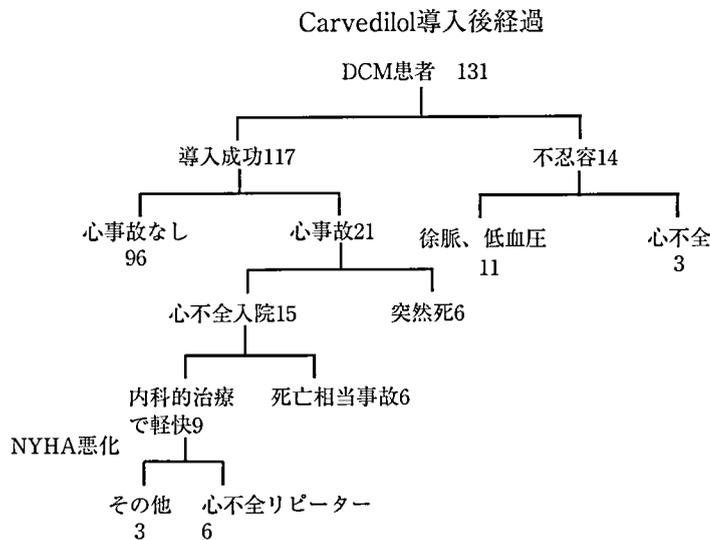


図1 Carvedilol導入後経過

心事故発生例の特徴

- 突然死例(n=6)
- 心不全入院例(n=15)
- ◆ 心事故なし(n=96)

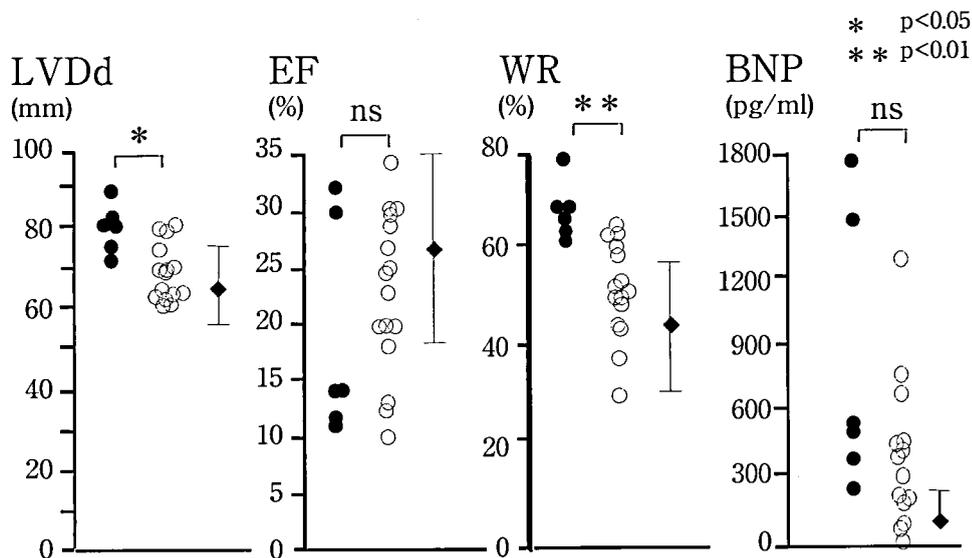


図2 心事故発生例の特徴

導入前に左室拡大と心臓交感神経活性の高度亢進が見られる、という3点が本研究で示された。

慢性心不全患者の心事故予測に血中BNP濃度が有用との報告が多い^{4,7)}。前田らは3ヶ月の至適治療後のBNP値が240pg/mL以上の症例は、治療後も心事故発生率が高いと報告している⁸⁾。本研究においても、心事故発生群は非発生群に比し、慢性心不全安定期かつβ遮断薬導入直前のBNP値が有意に高値だった(514 ± 462 vs 137 ± 148pg/ml, p<0.01)。本研究の特記すべき点は、β遮断薬導入後心事故発生例の予後をみた点である。β遮断薬が目的量まで導入で

きて、その後心不全入院を来す症例が15例(β遮断薬導入例の11.3%)存在した。これらの症例は内服のコンプライアンスは良好で、決して心不全の管理が不十分ではなかった。15例のうち9例は内科的治療で軽快したが、全例NYHAが悪化したほか、そのうち6例は再度心不全入院した。これらの症例は心筋不全の進行がβ遮断薬では抑制できなかったものと考えられる。このようにcarvedilolを目的量まで到達維持できても、心不全が一度でも再発した症例は、その後心事故のリピーターになる可能性が高いため、β遮断薬治療のみに固執せず、両心室ペーシングなど内服治療以外の治療法を

早期に考慮した方がよいと考えられた。

また、慢性心不全患者においてBNP値は突然死の予知に有用との報告がある⁹⁾。しかし、本研究では心不全入院例と突然死例は、いずれも心事故非発症例と比べてBNP値は高いものの、BNP値単独で両者の区別はできなかった。

Kayeらは心臓のNorepinephrine (NE) spilloverを測定し、心臓交感神経活性の亢進は予後不良のサインであることを示した。突然死の予知指標として心臓交感神経活性の亢進度は有用と考えられる。しかしNE spilloverそのものの測定は困難なため、臨床応用された心臓交感神経活性の測定法である、MIBG心筋シンチグラフィによるWR¹⁰⁻¹⁴⁾を本研究では使用した。WRは心事故の予測因子であることがこれまでに報告されており¹⁵⁾、本研究においても心事故発生病例は非発症例と比べWRが高かった。さらに興味深い点は、心事故発生病例のなかでも突然死例は、心不全発症例と比べてcarvedilol導入前WRが高値かつ左室拡大が高度だった。しかも、突然死例は心不全入院が先行しないという特徴があった。残念ながら本研究では不整脈の重症度による予後の解析はなされていない。通常の不整脈の指標では β 遮断薬時代の心筋梗塞患者の突然死を予測できないという報告もあるが¹⁶⁾、WRと突然死の関係は今後さらに研究する必要がある。

結 語

MIBGによるWRおよび心エコーによる左室拡張末期径は、carvedilol導入後の突然死の予知に有用であることが示唆された。また、carvedilol導入成功後遠隔期に一度でも心不全を再発した症例は、心不全軽快後も心事故を再発する可能性が高い。

文 献

- 1) Colucci WS, Packer M, Bristow WS et al. Carvedilol inhibits clinical progression in patients with mild symptoms of heart failure. *Circulation* 94:2800-2806,1996
- 2) Packer M, Coats AJS, Fowler MB et al. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 344:1651-1658
- 3) Metra M, Nodari S, Parrinello G, et al. Marked improvement in left ventricular ejection fraction during long-term β -blockade in patients with chronic heart failure: clinical correlates and prognostic significance. *Am Heart J* 2003;145:292-299
- 4) Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, 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* 1997;96:509-516
- 5) Zugck C, Haunstetter A, Kruger C, et al. Impact of beta-blocker treatment on the prognostic value of cur-

- rently used risk predictors in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1615-1622
- 6) Richards AM, Doughty R, Nicholis MG, et al. Neurohumoral prediction of benefit from carvedilol in ischemic left ventricular dysfunction. *Circulation* 1999;99:786-792
- 7) Stanek B, Frey B, Hulsmann M, et al. Prognostic evaluation of neurohumoral plasma levels before and during beta-blocker therapy in advanced left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:436-442
- 8) Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, et al. High levels of brain natriuretic peptide and interleukin-6 after optimized treatment for heart failure are independent risk factors for morbidity and mortality in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1587-1593
- 9) Berger RB, Huelsman M, Strecker K et al. B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2002;105:2392-2397
- 10) Imamura Y, Ando H, Ashihara T, et al. Myocardial adrenergic nervous activity is intensified in patients with heart failure without left ventricular volume or pressure overload. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 371-375.
- 11) Dae MW, De Marco T, Botvinick EH, et al. Scintigraphic assessment of MIBG uptake in globally denervated human and canine hearts-implications for clinical studies. *J Nucl Med* 1992; 33: 1444-1450.
- 12) Matsui T, Tsutamoto T, Kinoshita M. Relationship between cardiac 123I-metaiodobenzylguanidine imaging and the transcardiac gradient of neurohumoral factors in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ J* 2001;65:1041-1046
- 13) Schoffer J, Spielmann R, Schuchert A, et al. Iodine-123 metaiodobenzylguanidine scintigraphy: a noninvasive method to demonstrate myocardial adrenergic nervous system disintegrity in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1988;12:1252-1258
- 14) Simmons WW, Freeman MR, Grima EA, et al. Abnormalities of cardiac sympathetic function in pacing-induced heart failure as assessed by [123I]metaiodobenzylguanidine scintigraphy. *Circulation* 1994;89:2843-2851
- 15) Yamada T, Shimonagata T, Fukunami M, et al. Comparison of the prognostic value of cardiac iodine-123 metaiodobenzylguanidine imaging and heart rate variability in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:231-238
- 16) Fuikuri HV, Tapanainen JM, Lindgren K, et al. Prediction of sudden cardiac death after myocardial infarction in the beta-blocking era. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:652-658

心不全に対する β ブロッカー療法 ： β 1受容体自己抗体測定の有用性に関する研究

池田 宇一¹⁾²⁾, 去川 睦子³⁾, 山本 啓二³⁾,
吉尾 卓⁴⁾, 矢崎 善一¹⁾, 高橋 将文²⁾

要旨：拡張型心筋症の心筋障害の発症・進展には、 β 1受容体に対する自己免疫機序の関与が推測されている。今回、 β 1受容体抗体測定のためのELISAキットを作成し、拡張型心筋症患者において β 1受容体自己抗体の存在を明らかにした。今後、本自己抗体の測定が β ブロッカー療法の有効性の判別に有用か、また β 1受容体抗体の吸着療法が新たな心不全の治療法として有効か検討していく。

はじめに

心臓におけるアドレナリン受容体の70~80%は β 1受容体である。最近、 β 1受容体に対する自己抗体の存在が報告されている¹⁾。Limasらは、ラット心筋細胞膜を使ったりガンド結合実験より、拡張型心筋症患者の約40%に β 受容体自己抗体が存在することを報告している²⁾。Magnussonらも、拡張型心筋症患者で高頻度で β 1受容体の第2ループに対する自己抗体が存在することを報告している³⁾。拡張型心筋症以外にもChagas心筋症や急性心筋炎患者の血清中で高頻度(30数%)に β 1受容体自己抗体が見出されている⁴⁾。

β 1受容体抗体は心筋刺激作用を有し、心毒性作用を発揮することが報告されており、拡張型心筋症による心不全の病態に関与している可能性が推測される。そこで我々は、拡張型心筋症による心不全発症における β 1受容体自己抗体の関与について検討を行った。

対象と方法

(1) γ グロブリン分画の調整

心不全患者の血清よりカラム法により γ グロブリン分画を調整した。

(2) ラット心筋細胞の培養

生後1日目の新生児ラットの心臓から酵素法にて培養心筋細胞を調整した。自動拍動を呈する心筋細胞に心不全患者の γ グロブリン分画を添加し、心拍数の変化をビデオ下に観察した。

(3) ELISAキットの作成

β 1受容体の第2ループのアミノ酸(197-222; HWWRAESDEARRCYNDPKCCDFVTNR)を合成し、 β 1受容体自己抗体を認識するELISAキットを作成した。同時にアンジオテンシンIIタイプ1受容体(AT1)の第2ループに対する自己抗体を認識するELISAキッ

トも作成した。

(4) 対象患者

拡張型心筋症患者19名、膠原病患者15名、健常対照者12名を対象に、上記ELISAキットを用い血清中の β 1およびAT1受容体抗体価を測定した。

結果

(1) 心筋細胞の拍動におよぼす γ グロブリン分画の作用

拡張型心筋症患者10名の γ グロブリンをラット培養心筋細胞に添加したところ、自動拍動数が減少したのは10名中5名、変化しなかったのが2名、増加したのが3名であり、有意な傾向は認められなかった(図1)。

(2) β 1受容体自己抗体の測定

β 1受容体自己抗体を認識するELISAキットを用い、自己抗体を測定した。まず始めに、自己抗体が産生されやすい膠原病患者15名で β 1受容体自己抗体を測定したところ、15名中8名で陽性であった。

さらに拡張型心筋症患者19名において β 1受容体自己抗体価を測定したところ、健常対照者に比し、有意に高値を示した(図2)。一方、AT1受容体自己抗体価は両群間で差を認めなかった(図3)。

考察

心不全患者において免疫グロブリン吸着療法の臨床試験が開始されており、その有効性が報告されている。免疫グロブリン吸着療法が有効な機序の一つとして、一部の心不全患者では β 1受容体自己抗体が存在し、その自己抗体の作用により常時心筋細胞の β 1受容体が刺激され、心筋障害をきたしている可能性が推測されている。

そこで我々は、まず β 1受容体抗体のbioassayとして、培養ラット心筋細胞の拍動数に対する心不全患者の γ グロブリン分画の作用について検討したが、 γ グロブリン分画には、

¹⁾信州大学医学部循環器内科

²⁾信州大学大学院臓器発生制御医学

³⁾自治医科大学循環器内科

⁴⁾自治医科大学アレルギー膠原病学

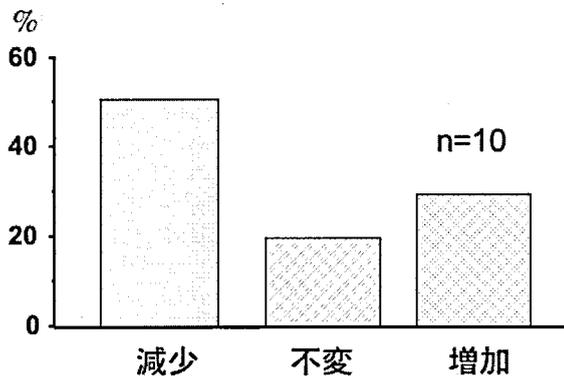


図1. 拡張型心筋症患者のγグロブリン添加によるラット培養心筋細胞の自動拍動数変化

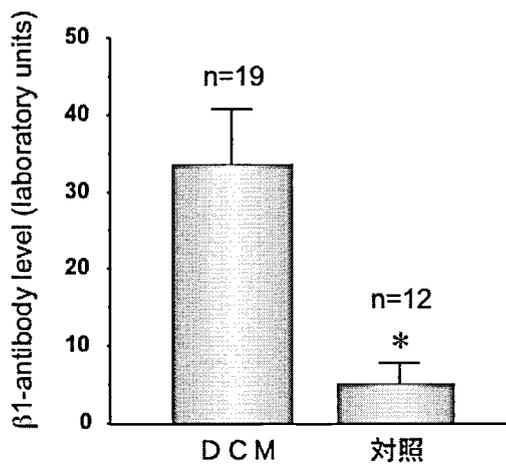


図2. DCM患者のβ1受容体抗体価

β1受容体に対する生理活性は認められなかった。

同時にβ1受容体自己抗体価の測定を行った。まず、市販のELISAキットがないため、β1受容体第2ループのアミノ酸を合成し、ELISAキットを作成した。このキットを用い、膠原病患者の血清でβ1受容体自己抗体を測定したところ、高率に自己抗体が陽性であった。さらに、拡張型心筋症患者でもβ1受容体自己抗体価の上昇を認めた。

実験的には、β1受容体に対する自己免疫機序により心筋病変が発症することが明らかになっている⁹⁾。しかし、臨床的には患者血清中のβ1受容体抗体が病態といかなるかわりを持つかは明らかではない。松井らの報告によると、拡張型心筋症におけるβ1受容体抗体陽性患者と陰性患者との間に、年齢、性別、駆出率、NYHA重症度の差異は認められていない⁹⁾。一方、Chialeらは、心室性不整脈や伝導障害を有する患者でβ1受容体抗体を有する頻度が高いことを報告している⁷⁾。

β1受容体抗体の機能がβ遮断薬によって阻害されること、およびβ遮断薬が拡張型心筋症のQOLおよび予後改善に有効であることを考えあわせると⁹⁾、臨床的に最も興味を持たれるのはβ1受容体自己抗体の有無によりβブロッカーの効果に差異があるか否かという点である。しかし、この点に関してのMagnussonらの検討では、β1受容体抗体の有

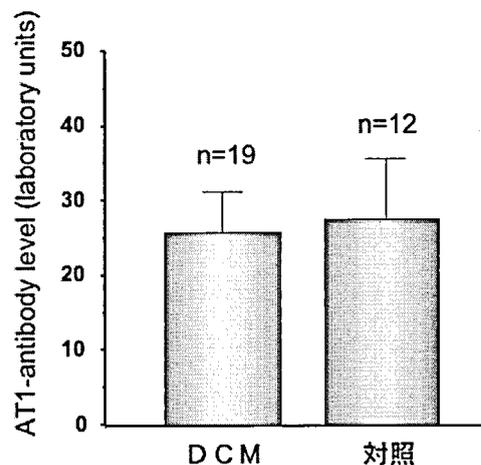


図3. DCM患者のAT1受容体抗体価

無によりβブロッカーの効果に差異は認められなかった⁹⁾。一方、Felixらは、β1受容体抗体陽性の重症心筋症患者を対象に免疫グロブリン吸着療法を行い、β1受容体抗体価、IgG、IgMの低下と共に血行動態の著しい改善を報告している¹⁰⁾。しかし、免疫吸着療法の有効性とβ1受容体抗体価には関連が無いとする報告もあり¹¹⁾、さらなる検討が必要である。

結 語

拡張型心筋症患者においてβ1受容体自己抗体の存在が明らかになった。今後、本自己抗体の測定がβブロッカー療法の有効性の判別に有用か、さらにβ1受容体抗体の吸着療法が新たな心不全の治療法として有効か検討していく。

文 献

- 1) Matsui S, Fu MLX: Characteristic distribution of circulating autoantibodies against G-protein coupled cardiovascular receptors with idiopathic dilated and hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 1996;54:143.
- 2) Limas CJ, Goldenberg IF, Limas C: Autoantibodies against beta-adrenoreceptors in human dilated cardiomyopathy. *Circ Res* 1989;64:97.
- 3) Magnusson Y, Marullo S, Hoyer S, et al: Mapping of functional autoimmune epitope on the beta1-adrenergic receptor in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1990;86:1658.
- 4) Rosenbaum MB, Chiale P, Schejtman D, et al: Antibodies to beta-adrenergic receptor disclosing agonist-like properties in idiopathic cardiomyopathy and Chagas' heart disease. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1994;5:367.
- 5) Matsui S, Fu MLX, Katsuda S, et al: Peptides derived from cardiovascular G-protein coupled receptors

- induce morphological cardiomyopathic changes in immunized rabbits. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:641.
- 6) Matsui S, Fu MLX, Shimizu M, et al: Dilated cardiomyopathy defined serum autoantibodies against G-protein-coupled cardiovascular receptors. *Autoimmunity* 1995;21:85.
- 7) Chiale PA, Rosenbaum MB, Elizari MV, et al: High prevalence of antibodies against beta1- and beta2-adrenoceptors in patients with primary electrical cardiac abnormalities. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:864.
- 8) Packer M, Bristow MR, Cohn JN, et al: The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N Engl J Med* 1996;334:1349.
- 9) Magnusson Y, Hjalmarson A, Hoebek J: beta1-adrenoreceptor autoimmunity in cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 1996;54:137.
- 10) Felix SB, Dorffel WV, Wallukat G, et al: Immunoabsorption as a new therapeutic principle in dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:224A.
- 11) Mobini R, Staudt A, Felix SB, et al: Hemodynamic improvement and removal of autoantibodies against beta1-adrenergic receptor by immunoadsorption therapy in dilated cardiomyopathy. *J Autoimmunity* 2003;20:345.
-

筋ジストロフィー症例の心不全病態と angiotensin-converting enzyme (ACE) 遺伝子多型との関連

分担研究者：田村 拓久*

共同研究者：後藤 公文**, 澁谷 統壽**

要旨：筋ジストロフィー症例の心不全病態を修飾する遺伝的因子を明らかにする目的に、ACE 遺伝子多型と心不全病態との関連を検討した。I/I型 ACE 遺伝子多型を有する筋ジストロフィー症例のLVEFは、D/D型を有する症例のLVEFと比較して有意に低値であった。I/I型 ACE 遺伝子多型が、筋ジストロフィー症例において心機能増悪因子の一つである可能性が示唆される。

はじめに

人工呼吸器管理法の進歩により、呼吸不全を呈する筋ジストロフィー症例のQOLと生命予後は改善している。一方で心不全に対する薬物療法には限界があり、筋ジストロフィー症例の心不全対策は容易ではない。近年 angiotensin-converting enzyme (ACE) 遺伝子多型と心不全病態との相関が指摘されている¹⁾²⁾。本研究では、筋ジストロフィー症例に対し早期から効果的な心不全対策を立案する指標として、遺伝的因子としてのACE 遺伝子多型に注目し、心不全病態との関連を検討した。

対象・方法

1) 対象：当院入院中、あるいは外来通院中のデュシャンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 症例またはベッカー型ジストロフィー症例 14 名 (全例男性、年齢 24.4 ± 4.1 歳 < 平均 \pm SD >、機能障害度は全例 VII 度、夜間 BiPAP 装着者 3 名、気管切開下の人工呼吸器管理症例 4 名)。心不全評価の指標として血漿 HANP 濃度と BNP 濃度を、心機能評価として心臓超音波検査で測定した IVS, PW, LVEF を用いた。

2) 遺伝子解析：ヘパリン加採血の末梢血より DNA を抽出し、以下の設定で PCR を実施した。sense primer : CTGCAGACCACTCCCATCCTTT, antisense primer : GATGTGGCCATCACATTCGTCAG。Initial denaturation 93°C 3 分, annealing 58°C 2 分, polymerization 72°C 2 分, denaturation 93°C 1.5 min x 30 cycles。PCR 産物を 2% アガロースゲルで泳動し、泳動パターンより ACE 遺伝子多型、I/I 型 (490 bp のホモ接合)、I/D 型 (490 bp と 190 bp のヘテロ接合) と D/D 型 (190 bp のホモ接合) を判定した (図 1)。なお本研究は当院倫理委員会承認され、遺伝子解析は本人あるいは保護者より文書による同意を得て実施した。

結 果

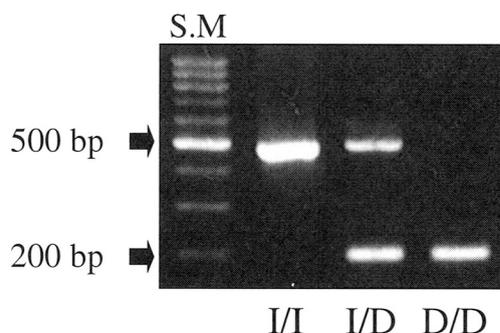


図 1. 末梢血より抽出した DNA を用いて実施した PCR の PCR 産物泳動パターン。

ACE 遺伝子多型、I/I 型 (490 bp のホモ接合)、I/D 型 (490 bp と 190 bp のヘテロ接合) と D/D 型 (190 bp のホモ接合) を判定した。

1) ACE 遺伝子多型の頻度：I/I 型 4 例 (25.7 ± 3.0 歳、罹病期間 22.5 ± 4.1 年)、I/D 型 7 例 (24.7 ± 4.7 歳、 22.3 ± 6.3 年)、D/D 型 3 例 (21.7 ± 5.0 歳、 17.7 ± 7.1 年)。年齢・罹病期間とも各型間で有意差を認めなかった。夜間 BiPAP 装着者は各型に 1 例ずつ、気管切開下の人工呼吸器管理者は I/I 型に 1 例、I/D 型に 3 例含まれた (表 1)。

表 1. 各症例の検査結果

	年齢	罹病期間(年)	HANP (pg/mL)	BNP (pg/mL)	IVS/PW (mm)	LVEF (%)	%VC	pCO2 (Torr)	pO2 (Torr)
I/I	22B	19	6.7	<4.0	8/10	33	30.8	52.4	61.5
	25	19	13.7	37.0*	8/9	31	15.6	50.4	77.7
	29	27	<5.0	<4.0	8/8	34	24.0	52.3	99.5
	27R	25	<5.0	<4.0	7/11	37	N.D	34.7	126.0
I/D	19	18	<5.0	<4.0	9/7	34	15.4	45.2	103.0
	22	20	8.0	6.8	10/8	45	17.2	44.8	87.5
	24	23	5.2	10.3	6/8	38	18.0	48.9	89.9
	32B	18	14.9	32.5*	6/8	35	32.6	57.9	82.2
	23R	21	17.7	22.5*	7/12	46	N.D	24.7	130.0
	24R	20	17.9	15.0	7/8	13	N.D	43.8	112.0
	29R	26	30.1	20.7*	N.D	N.D	N.D	49.1	149.0
D/D	17	10	<5.0	12.8	7/7	42	42.0	51.1	81.8
	21B	19	11.6	<4.0	9/10	38	19.9	56.8	87.9
	27	24	<5.0	<4.0	9/12	58	27.8	49.5	75.8

R: 人工呼吸器管理, B: 夜間BiPAP, N.D: 未実施, 異常高値*, 参考値

* 国立病院機構長崎神経医療センター 内科

** 国立病院機構長崎神経医療センター 神経内科

2) ACE 遺伝子多型と心不全指標の関連：血漿 ANP 濃度は全例で正常範囲または感度以下であった。血漿 BNP 濃度は I/I 型 1 例, I/D 型 3 例で異常高値を示した。IVS ; I/I 型 7.75 ± 0.50 , I/D 型 7.50 ± 1.64 , D/D 型 8.33 ± 1.16 (mm)。PW ; I/I 型 9.50 ± 1.29 , I/D 型 8.50 ± 1.76 , D/D 型 9.67 ± 2.53 (mm)。IVS と PW は各型間で有意差を認めなかった。LVEF ; I/I 型 33.8 ± 2.5 , I/D 型 35.2 ± 12.0 , D/D 型 46.0 ± 10.1 (%)。LVEF は I/I 群が D/D 群と比較して有意に低値であった ($P < 0.05$; Mann-Whitney U 検定) (図 2)。

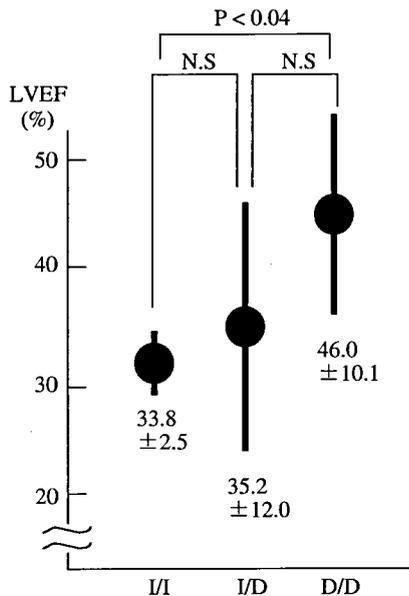


図 2. ACE 多型各群の LVEF.

I/I 群の LVEF は D/D 群の LVEF と比較して有意に低値であった。

考 察

ACE 遺伝子には、第 16 intron 上の Alu 配列(約 300 bp)の挿入/欠失により、遺伝子多型 [insertion(I)/deletion (D)] が存在する。D/D 型を有する症例は血中 ACE 濃度が有意に高いことが知られ、D/D 型が左室肥大の危険因子の一つであること、D/D 型が心不全症例の予後悪化因子の一つである

こと、拡張型心筋症に占める D/D 型の頻度が対照群と比較して有意に高いこと等、ACE 遺伝子多型と心機能の相関に関し肯定的な報告がある。一方で両者の相関に関し否定的な報告もあり、現在も論議が続いている。

今回は僅か 14 例の検討ではあるが、I/I 型の ACE 遺伝子多型を有する筋ジストロフィー症例は、D/D 型を有する症例と比較して LVEF が有意に低値であり、I/I 型が筋ジストロフィー症例において心機能増悪因子の一つである可能性が示唆された。また有意差は認めないが、IVS と PW は DD 型と比較して I/I 型で低値であった。

冠動脈疾患や高血圧症例を対象としたこれまでの検討では、今回の結果と異なり、D/D 型が左室肥大や心不全と相関を有するとの報告が多い。この違いが筋ジストロフィーに特徴的な傾向なのか等を明らかにするために、症例の蓄積が必要と思われる。また、DMD 症例の慢性心不全治療に ACE 阻害剤の有効性が明らかにされている³⁾が、心不全治療における ACE 阻害剤の有効性と ACE 多型との関連が注目されている⁴⁾。筋ジストロフィー症例慢性心不全でも、ACE 多型と ACE 阻害剤治療効果の関連についての検討が望まれる。

文 献

- 1) Raynolds MV, Bristow MR, Bush EW, et al: Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1073-1075
- 2) Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, et al: Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1994; 330: 1634-1638
- 3) 田村拓久, 澁谷統寿: Duchenne 型筋ジストロフィーの慢性心不全の治療に captopril は有効である。 *神経内科* 1995; 42: 22-26
- 4) O' Toole L, Stewart M, Padfield P, et al: Effect of the insertion-deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene on response to angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32: 988-994

Duchenne型筋ジストロフィーの心筋症に対するアンギオテンシン変換酵素阻害剤早期投与の有用性について

本家 一也*, 大野 一郎*, 森尻悠一郎**

要旨：Duchenne型筋ジストロフィー（DMD）の心筋症悪化を防止するためアンギオテンシン変換酵素阻害剤（ACEI）早期治療プロトコルを作成し、10才前の患者に対して2000年4月よりACEIの投与を順次開始している。DMD自然経過例の調査では心不全群の心胸郭比（CTR）は若年より上昇し、0.52以上となっていたが、本プロトコルによるACEI投与1年以上の13例ではCTRは0.52以下で推移しており心不全も認められない。まだ、有効性を確認する段階にはないが、投与によりCTRやBNPが正常化する例もあり、また、副作用も認められずACEI早期治療は十分有用と思われる。

Key words：Duchenne型筋ジストロフィー，心筋症，ACEI，CTR，早期投与

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィー（DMD）では人工呼吸管理が1985年頃から日本に導入された。始めはChest Respirator（CR）による呼吸管理が行われ、換気効率は良くないものの劇的な延命効果が認められた。一方、呼吸機能が低下し呼吸不全の状態になってくると血圧が上昇する患者が多く認められ、これにはレニン-アンギオテンシン-アルドステロン系の亢進が関与していることがわかった¹⁾。そこで心負荷を軽減し、さらに延命をはかるために呼吸不全期になればアンギオテンシン変換酵素阻害剤（ACEI）を使用することが1990年ごろから一般的となった。その後、人工呼吸管理の方法はCRより効率の高いNIPPVに移行し、呼吸不全のコントロールは改善されたが、一方で心不全のコントロールが課題となってきた。一般の心機能障害に対するACEIの成績が1991年頃から出されるようになり²⁾、DMDにおいても心機能改善効果が認められ³⁾、心機能低下例ではACEIが使用されるようになった。しかし、いつ頃から投与を開始するのがよいかは明らかになっておらず、心機能が低下してきてから投与されている場合が多いと思われる。以前の調査では、DMDの15%前後が若年心不全で死亡しており⁴⁾、これを防止するためにはもっと病初期からACEIの投与を開始する必要があると考えている。DMDでは、6才頃からV1R/Sが1以上やdeep Qなどの心電図異常を認めるようになり、10才ではほとんどの症例で異常を認める。このことから本研究では、10才前の患児にACEIの投与を開始し、早期投与の有用性について検討している。

方 法

ACEI早期治療プロトコルを作成し、それに基づき10才前のDMD患者にACEIの投与を開始し、その有効性につ

ては過去の自然経過群と比較し検討することとした。また、ACEIの実際の投与経過を調査し、早期治療プロトコルと比較することにより本プロトコルの検証を行った。

1. DMD患者に対するACEI早期投与

下記のプロトコルを作成し、2000年4月より若年DMD患児に対してACEIの投与を行っている。なお、本プロトコルによるACEI投与については患者、家族に十分な説明を行い、同意と希望のもとに実施している。

・DMD患児に対するACEI早期治療プロトコル（2000年4月）

- 1) ACEI開始年齢：6才頃から投与開始、遅くとも10才以前に開始する。
- 2) 使用ACEI：マレイン酸エナラプリルを使用し、錠剤はレニベース2.5mg、散剤はエナラト細粒を使用する。
- 3) 投与方法：1日1回朝食後に2.5mgの量で内服を開始し、心胸郭比（CTR）、血漿BNP値、血圧、体格、副作用症状の有無を参考にしながら下記の年齢を目安に増量していく。
6才～9才：2.5 mg，9才～12才：5 mg，12才～15才：7.5 mg，15才～：10 mg
- 4) 定期検査：体重、血圧、運動機能障害度は毎月、血液、胸部X-P、ECG、UCGは6ヶ月毎に検査する。

・対象患者

マレイン酸エナラプリルを6才から10才で開始した患者は現在まで15名となっている。投与開始時、CTRは15名中8名で0.52以上であり、ECG異常は15名全員に認められた（表1）。

2. ACEI非投与時代における20才までのCTRの自然経過についての調査

DMD患者にACEIの早期投与を行っていなかった時期において、20才以前に心不全、BNP上昇のためラシックスを投与した群と20才以前にラシックスの投与を必要としな

*国立病院機構医王病院

**富山県立高志学園

表1 対象患者

Case No.	deletion	age	weight(kg)	CTR	ECG
2	D	8	22.0	0.49	VIR/S=1
3	D	9	23.6	0.45	VIR/S>1
4	D	10	43.9	0.46	deep Q
5	D	10	30.0	0.49	deep Q
11	D	7	20.6	0.55	VPC
12	ND	8	18.5	0.53	deep Q
13	D	10	24.2	0.46	VIR/S>1
14	ND	6	20.6	0.52	deep Q
16	D	9	23.9	0.44	VIR/S=1
18	D	10	29.7	0.56	VIR/S>1
20	ND	6	18.5	0.53	deep Q
21	ND	6	20.3	0.52	deep Q
22	D	7	23.5	0.54	deep Q
23	D	9	21.8	0.48	VIR/S>1
24	D	6	18.3	0.55	deep Q

った群に分けて20才までにおけるCTRの経時的変化を調査した。

3. ACEI早期治療の有効性についての検討

ACEI早期投与群と自然経過群を比較することにより、ACEI早期投与の有効性を検討する。

4. ACEI早期治療プロトコルの検証

ACEIの投与を10才以前に開始したDMD患者15名と11才から15才で投与を開始した7名においてACEIの実際の投与経過を調査し、早期治療プロトコルと比較することにより本プロトコルの検証を行った。

結 果

1. DMD患者に対するACEI早期投与

2004年10月現在、15名の若年DMD患者にACEIの投与を行っており、投与期間は4ヶ月から4年6ヶ月となっている。投与後1年以上経過した13例において投与前CTR 0.52以上の7例全てでCTRは1年後0.52以下となり、その後も0.52以下を維持している(図1)。また、全例でBNP値も正常範囲内となっている。血圧低下、咳などの副作用は認めら

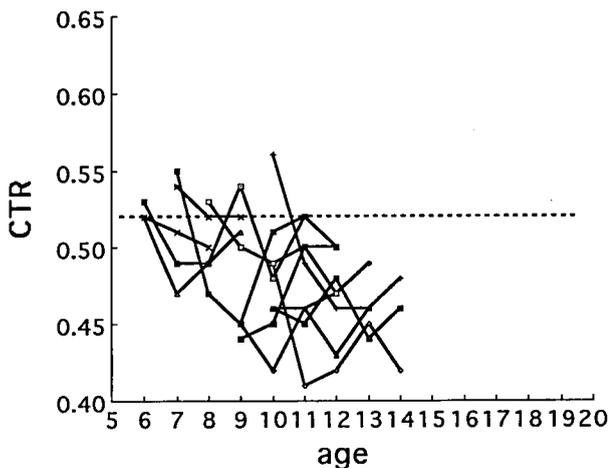


図1 ACEI早期治療群におけるCTRの推移

れず、投与を中止した例はない。

2. ACEI非投与時代における20才までのCTRの自然経過についての調査

自然経過例の調査では、心不全で死亡した患者4名と20才以前に心不全、血漿BNP異常高値を認めラシックスを投与した4名の群では10名のラシックス非投与群に比べ14才以後CTRは有意(P<0.05)に上昇した(図2)。一方、ラシックス非投与群では全例でCTRは0.51以下を維持していた(図3)。

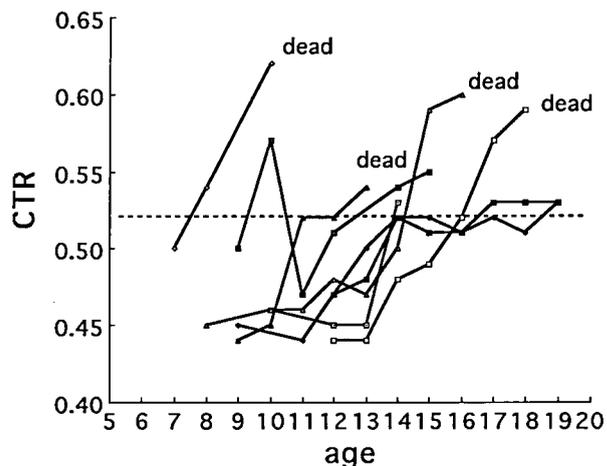


図2 心不全群におけるCTRの推移

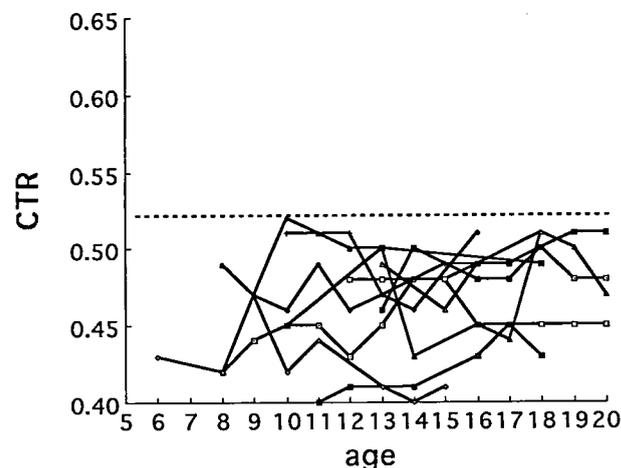


図3 ラシックス非投与群におけるCTRの推移

3. ACEI早期治療の有効性についての検討

自然経過例の心不全群8名では、14才までに2名が死亡しており、14才時6名中4名でCTRが0.52以上であった。一方、早期治療群では15名全員で心不全は認められず、14才に達した3名を含め、CTRは0.52以下となっている。

4. ACEI早期治療プロトコルの検証

10才以前にACEIの投与を開始した15名中5名においてプロトコルより1年早く2.5mgから5mg、あるいは5mgから7.5mg/dayに増量しており、その主な理由はCTRが0.50

以上に上昇したことや血漿BNP値が二桁に上昇したことであった。一方、11才から15才で投与を開始した7名では、投与期間が4年以上となっており、16才以上の6名中3名で7.5mg/dayの投与が続いていた。その3名ではCTR, LVEF, BNPともコントロールされており、体格は小さい。

考 察

ACEIの投与は拡張型心筋症 (DCM)ではNYHA2の時点から開始することが標準となっているが、DMDにおいては標準化されておらず、心機能の低下を認めるようになってから開始されている例が国内では多いと思われる。DMDでは7才頃頃からVIR/S比が1以上やdeep Qなどの心電図異常を認めるようになり、10才時ではほとんどの症例で異常を認める。これらの心電図異常を認める時期はNYHA2に相当すると考えられ、遅くとも10才頃からACEIの投与を開始する必要があると思われる。ただ、DMDの場合、ほとんど全ての患者で心筋症が発症することから、心電図異常を認める前でも心筋保護を目的に、より早期にACEIの投与を開始しても問題はなく、より有効性が高いのではと考えている。そこで本研究では6歳ごろから投与を開始するプロトコルを作成し、早期投与の有用性を検討している。マレイン酸エナラプリルは小児に対する適応は認められておらず、当然投与量の設定もない。成人に対する投与量は5から10mg/dayとなっており、当院では成人のDMD患者に対して以前より10mg/dayを投与しているが問題がないことから、本プロトコルでは、小児薬用量を基本とし、身長、体重などを考慮しながらACEIを増量していくこととした。

DCMに有効とされているACEIについて、全員に心筋症を認めるDMD患者への早期投与の有効性を投与群と非投与群に分けて、前方視的に検討することには問題があると思われる。本研究では、若年DMD患者にACEIが使用されていない時代における自然経過例を調査し、これらと比較することによりACEI早期投与の有効性を検討することとした。DMDでは心機能とCTRに強い相関があることが分かっているが、今回の調査でも20才以前に心不全を認めた群ではCTRが上昇し、20才以前に心不全を認めない群ではCTRは0.51以下を維持していた。一方、以前に行われた若年心不全死のリスクファクターの検討においても10才時でのCTR 0.50以上もその一つに挙げられている⁹⁾。これらのことから心筋症のコントロールにはCTRの拡大を防止していくことが重要と考えられる。本研究における2004年10月現在の最

長投与期間は4年で最高年齢は14才であるが、全例でCTRは0.52以下にコントロールされている。まだ、有効性を確定できる段階にないが、投与によりCTRが低下したり、BNPが低下する例もあり、また、副作用も認められないことから若年DMD患者には十分有用な薬剤と思われる。

なお、ACEI早期治療プロトコルの投与量について実際の症例と比較した結果、若年者では現在のプロトコルより早く増量しないとコントロールが困難と思われる場合があること、一方で16才以上でも体格のためかプロトコルより少ない7.5 mg/dayでコントロール可能と思われる場合があることが分かった。このため、プロトコルの投与方法を見直し、年齢によるACEIの投与量の目安を6~7才: 2.5mg, 8~10才: 2.5~5mg, 11~14才: 5~7.5mg, 15才~: 7.5~10mgに変更する必要がある。また、心筋症悪化例の検討からCTR: 0.52以下、血漿BNP値 10 pg/ml以下の基準でコントロールしていくことをプロトコルに追加したほうがACEI増量の目安になると思われた。

今後も投与を継続し検討していくが、過去の自然経過症例の数を増やすとともに、本プロトコルによる治療症例の数も増やして検討することができれば、より確実な結果を得ることができると思われる。

文 献

- 1) 本家一也, 南聡, 梶原莊平: Duchenne型筋ジストロフィー呼吸不全期のレニン-アンギオテンシン-アルドステロン系の動態と血圧上昇に対するカプトプリルの効果について. 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 319-321
- 2) The SOLVD investigators: Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med*, 325: 293-302, 1991
- 3) 田村拓久, 澁谷統壽, 飯田光男ら: Duchenne型筋ジストロフィー患者の慢性心機能障害に対するカプトプリル治療の臨床評価. *臨床医薬*, 12: 3635-3646, 1996
- 4) 祖父江逸郎, 西谷裕編: 筋ジストロフィー症の臨床, 医試薬出版, 東京, 昭和60年, p247
- 5) 筋ジストロフィーの療養と看護に関する臨床的心理学的研究・心不全マニュアル, 平成3年, p10

Duchenne型筋ジストロフィーの心筋障害の指標

田村 拓久, 福留 隆泰, 後藤 公文, 松尾 秀徳, 澁谷 統壽

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) では、呼吸管理の発展とともに延命が可能となり、近年は心不全で死亡する症例が増加している¹⁾。神経・筋政策医療ネットワークにおける筋ジストロフィー患者データベースに基づく調査により、死因の第一位は心不全であることが明らかとなった²⁾。

筋ジストロフィーは、骨格筋のみならず心筋にも線維化や脂肪浸潤を来すことは知られている。DMDでは心筋変性により拡張型心筋症様病態を呈し心不全を来すが、この心筋障害を心筋シンチグラフィにより同部位の灌流欠損として確認できる^{3,4)}。

脂肪酸代謝を反映するとされる iodine-123 15- (p-iodophenyl) -3-R, S- methylpentadecanoic acid (BMIPP) を用いた心筋シンチグラフィ (心筋シンチ) では、虚血性心疾患や心筋症の病変部位を早期に発見できると言われている^{5,6)}。

心筋障害は心筋細胞の障害と細胞外マトリックスの障害に分類できる。虚血性心疾患や心不全において、進行中の心筋障害の指標の一つとして心筋トロポニン I (cTnI)、細胞外マトリックス障害に関しては procollagen type III amino-terminal peptide (P III NP) が使用されている^{9,10)}。そこで、DMDの心筋障害を BMIPP 心筋シンチ、cTnI と P III NP により評価し、早期診断のための臨床指標を検討した。

対 象

DMD16例を対象とした。年齢は17.2-32.4歳 (平均±標準偏差: 24.0±4.4歳)。骨格筋機能障害度は全例VIII度で、電動車椅子使用が7例、ベッド臥床は9例であった。人工呼吸器は9例が使用し、TIPPVが5例、NIPPVは4例であった。人工呼吸器を使用していない気管切開患者は2例存在した。全症例活動性肝炎や腎不全の既往はなく、研究時現在にも認めなかった。

方 法

心筋細胞障害の指標として、BMIPP心筋シンチでの心臓/縦隔比早期像 (H/M比) と心筋トロポニン I (cTnI)、心筋線維化の指標として P III NP を用いた。さらに、心機能指標として心エコー図から左室駆出率 (EF)、E波からの減速時間 (DcT)、E/A比、体表面積あたりの左室心筋重量

(LVM/BSA) を測定し、各指標の関連を検討した。DcTとE/A比は、連続する3心拍より求めた値を平均した。BMIPP心筋シンチは、電動車椅子使用の6例とベッド臥床例のNIPPV1例およびTIPPV2例に行った。採血および心エコーは安静臥位で全例に施行した。

結 果

1. 心筋細胞障害の指標: cTnIは1例のみ0.7 ng/mlと高値を示したが、他15例は正常範囲であった。H/M比は1.61-2.48 (2.16±0.27, n=9)。H/M比と心機能の関連はなかった (図1)。H/M比と年齢の間に相関はなかったが、cTnI高値例を除く症例に関してみると、H/M比は年長例ほど低い傾向があった (図2)。また、人工呼吸器使用の有無では、H/M比が2.2以下に人工呼吸器使用例とcTnI高値例が存在し、人工呼吸器使用例のH/M比はcTnI高値例に続き低値であった。

2. 線維化の指標: P III NPは1.10 U/mlが2例、1.00 U/mlが2例存在し、他の12例は正常範囲であった。P III NPは年齢、心機能やCK値 (r=-0.007, n=16) と関係なかった (図3, 図4)。また、P III NPの異常の有無と年齢 (p=0.224)、H/M比 (p=0.327) や心機能 (EF: p=0.196, DcT: p=0.983, E/A: p=0.187, LVM/BSA: p=0.829) の関係もなかった。P III NPに異常を認めた4例のDcT (msec) は、173, 133, 121, 107、対応するE/A比は、1.02, 1.69, 1.02, 1.68であった。

3. 症例: EF40%未満の心機能障害例は5例 (EF (%): 4, 21, 21, 37, 39) 存在したが、cTnIとP III NPは全例正常であった。一方、cTnIが高値であった症例は対象例中17.2歳と最も若年でありEFは47%と心機能は保たれていたが、H/M比は1.61と最も低く、P III NPは1.10 U/mlと高値を示した。

考 察

DMDは拡張型心筋症と同様に心筋細胞と細胞外マトリックスの変化を来す。心筋細胞障害の指標として BMIPP 心筋シンチ早期像による H/M比と cTnI を用い、線維化の指標として P III NP を用いて DMD の心筋を評価した。

虚血性心疾患、拡張型や肥大型心筋症を対象とした研究によると、BMIPP心筋シンチにおける集積低下は thallium-201 を用いた心筋シンチと比べより高度であり、BMIPP心筋

図1 心臓/縦隔比

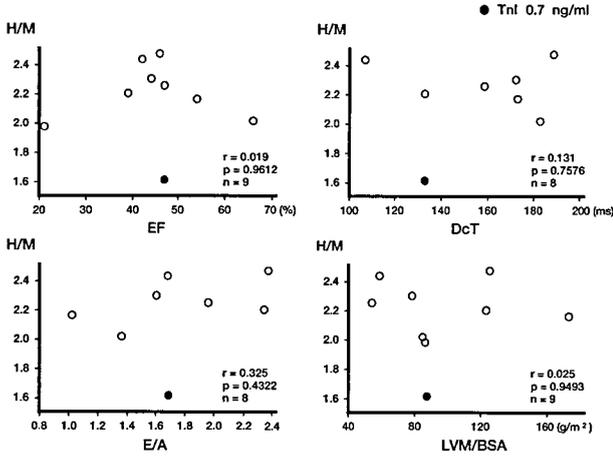


図3 PⅢNP

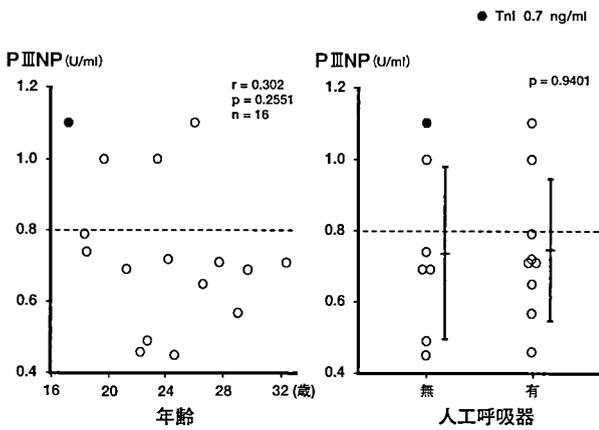


図2 心臓/縦隔比

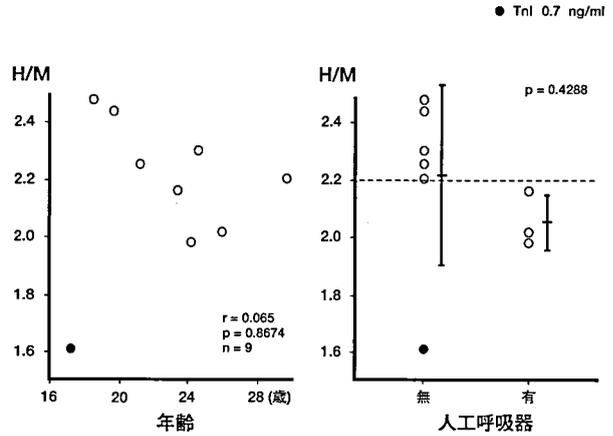
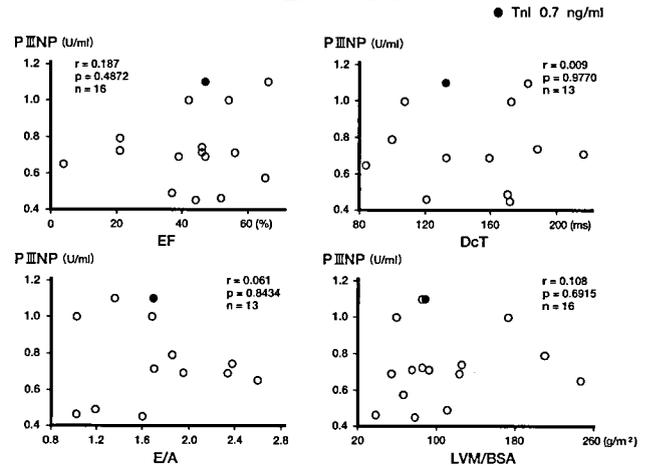


図4 PⅢNP



シンチにより心筋障害を早期に検出できると報告されている^{6),7),11)}。今回の対象例中最年少の症例のH/M比が最も低値で、続く3例が年長の人工呼吸器使用例であったことは興味深い。DMDは進行性の筋疾患であり、呼吸筋障害は骨格筋障害と並行して進行する。人工呼吸器使用例のH/M比が低値であったことは、骨格筋や呼吸筋障害の進行に加え心筋障害も同時に生じていることを疑う。一方、最年少のDMDでは、心機能は保たれているにもかかわらずH/M比は低値であり、原疾患の進行とは関係なく心筋障害が早期に生じている可能性を示唆した。以上の所見よりDMDに関しても、BMIPP心筋シンチは心筋障害の早期発見に有用であることが分かった。

cTnIは進行中の心筋障害の指標として、主に虚血性心疾患の急性期、心不全の病態や予後予測に使用されており、慢性的な骨格筋障害では上昇しないとされている^{7),12)}。今回の検討で、H/M比が低く心筋障害が疑われる人工呼吸器使用例のcTnI値は正常範囲であったが、H/M比が最低値で最年少例のcTnIは高値を示した。BMIPP心筋シンチで得られた画像は脂肪酸代謝障害や病態のmemory imageを反映していることから、比較的定常状態の心筋病変を表現していると言える。一方、cTnIが高値であることは、障害心筋から流出したcTnIの体内動態からも、観察時に活動性の心筋障害が存在していたと解釈できる^{8),13)}。従って、H/M比が低値で

cTnI高値の最年少症例の心筋病変は、人工呼吸器使用例と比べて高度であり進行性である可能性を示唆している。

PⅢNPは組織線維化、拡張型心筋症や心不全の予後の指標として用いられている^{8),9)}。今回の検討では4例に異常を認めた。最年少の1例でもPⅢNPの上昇を認め、上記心筋細胞障害の所見に加え細胞外マトリックス変化の合併も疑われた。しかし、他の3例に関しては、1例を除き左室拡張機能に若干の異常を認めたものの心筋線維化を意味する所見が明らかでなく、今後予後を含めた臨床経過の観察が必要であると考えた。

結 論

Duchenne 型筋ジストロフィーの心筋病変を、BMIPP心筋シンチ、cTnIおよびPⅢNPを用いて評価した。

人工呼吸器使用例では、骨格筋障害や呼吸筋障害に加え心筋障害も進行していることが明らかとなった。さらに、心機能が保たれているにもかかわらず心筋障害が早期に出現している症例も確認できた。BMIPP心筋シンチ早期像のH/M比とcTnIを用いることで、DMDの心筋細胞障害とその程度を早期に診断できることが明らかとなった。一方、PⅢNPによる心筋線維化の診断や予後の評価に関しては、今後の臨床経過と併せてPⅢNPの推移を観察する必要があると考えた。

文 献

- 1) 酒井素子, 本田仁, 飯田光男: Duchenne 型筋ジストロフィーにおける心不全死の検討. 厚生省精神・神経疾患研究委託費「筋ジストロフィーの臨床病態と遺伝及び疫学に関する研究 平成2年度研究報告書」p173-177
- 2) 川井充, 福永秀敏: 神経・筋政策医療ネットワークにおける筋ジストロフィー患者データベースの構築. 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費「筋ジストロフィー患者のケアシステムに関する総合研究 平成11～13年度研究報告書」p263-273
- 3) Tamura T, Shibuya N, Hashiba K, Oku Y, Mori H, Yano K: Evaluation of myocardial damage in Duchenne's muscular dystrophy with thallium-201 myocardial SPECT. *Jpn Heart J* 1993;34:51-61
- 4) 佐々木明: 123I-BMIPPならびに201Tlを用いたデュアル心筋イメージング法による Duchenne 型進行性筋ジストロフィー症の心筋病変の評価. 杏林医学雑誌 1996;27(1):51-60
- 5) Nishimura T, Yanagisawa A, Sakata H, Sakata K, Shimoyama K, Ishihara T, Yoshino H, Ishikawa K: Thallium-201 Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) in Patients With Duchenne's Progressive Muscular Dystrophy - A Histopathologic Correlation Study -. *Jpn Circ J* 2001; 65:99-105.
- 6) 高尾祐治, 村田啓, 小宮山伸之, 小野口昌久, 大竹英二, 丸野廣大: 虚血性心疾患における 123I-BMIPP シンチグラムの臨床的意義 - タリウム負荷心筋シンチグラム所見との比較検討 -. 核医学 1992;29(1):59-68
- 7) 成田充啓, 栗原 正: 拡張型心筋症における心筋脂肪酸代謝: その特徴と予後評価の可能性について. *J Cardiol* 1995;25:223-231
- 8) Missov E, Calzolari C, Pau B: Circulating cardiac troponin I in severe congestive heart failure. *Circulation* 1997;96(9):2953-2958
- 9) Klappacher G, Klappacher G, Franzen P, Haab D, Mehrabi M, Binder M, Plesch K, Pacher R, Grimm M, Pribill I, Eichler HG, Glogar D: Measuring Extracellular Matrix Turnover in the Serum of Patients With Idiopathic or Ischemic Dilated Cardiomyopathy and Impact on Diagnosis and Prognosis. *Am J Cardiol*, 1995; 75: 913-918.
- 10) Zannad F, Zannad F, Alla F, Dousset B, Perez A, Pitt B: Limitation of Excessive Extracellular Matrix Turnover May Contribute to Survival Benefit of Spironolactone Therapy in Patients With Congestive Heart Failure. Insights From the Randomized Aldactone Evaluation Study (RALES). *Circulation*. 2000; 102: 2700-2706.
- 11) 下永田剛, 西村恒彦, 植原敏勇, 汲田伸一郎, 大野朗, 永田正毅, 西武邦夫: 123I-BMIPPによる肥大型心筋症における心筋 viability の評価. 心臓 1992;24(suppl.1): 90-94
- 12) Bodor GS, Porterfield D, Voss EM, Smith S, Apple FS: Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem* 1995;41(12 Pt 1):1710-1715
- 13) Schulz O, Kromer A: Cardiac troponin I: A potential marker of exercise intolerance in patients with moderate heart failure. *Am Heart J* 2002;144:351-358

デュシャンヌ型筋ジストロフィーにおける心筋障害についての 臨床病理学的研究

3年間における研究成果

分担研究者：今野 秀彦¹⁾

共同研究者：高橋 俊明²⁾，佐々木俊明²⁾，大村 清²⁾，大隅 悦子²⁾，吉岡 勝²⁾，木村 格²⁾，
齊藤 博³⁾，本良いよ子⁴⁾，青木 正志⁵⁾，小野寺好明⁵⁾，鈴木 直輝⁵⁾，豎山 真規⁵⁾，
相場 瞳⁶⁾，伊藤真理子⁶⁾，近藤 恵美⁷⁾，糸山 泰人⁵⁾

1) デュシャンヌ型筋ジストロフィー長期例の病理形態学的研究

共同研究者：高橋 俊明，吉岡 勝，齊藤 博，本良いよ子

要旨：デュシャンヌ型筋ジストロフィー（DBD）では，人工呼吸器の使用による呼吸器管理，また心臓の機能障害に対する治要法の開発などにより，寿命の延長が明らかになってきている。このように，延命効果が得られた場合の諸臓器にみられる形態学的な変化を確認することは，今後の治療法を検討する上で意味あることと考えられる。このような観点から，35才で死亡したDMD症例の諸臓器の変化について光学顕微鏡的に検討を行った。

症例：死亡時35才，臨床的にDMDと診断された男性

既往歴：特になし。家族歴：なし。

現病歴：処女歩行は1才8ヶ月。一人歩きはできたが，3才頃には転びやすくなり4才時に某大学病院小児科でデュシャンヌ型筋ジストロフィーと診断された。6才の当科初診時には，動揺性ではあるが一人歩きは可能で立ち上がりもできたが，7才時には階段の昇降が難しく起き上がりもできなくなり，徐々に，歩行に介助を要するようになった。9才時より車椅子を利用し，入院しながら養護学校に通学した。19才時に電動車椅子を新調。26才時に人工呼吸器（NIPPV）が導入され，当初夜間のみであったが，28才時の肺炎を機に終日使用するようになった。人工呼吸器搭載可能なリクライニング式の電動車椅子を利用していたが，31才時には自力操作も不可能になっていた。日常生活は全面介助を要したが，食事は摂取可能であった。

死亡の16日前に両親と行った外出先で，突然意識障害を来とし回復しないまま心不全状態で死亡した。死亡約3ヶ月

前のHANPは50.3，BNPは96.3であり，18日前の人工呼吸器使用時の血液ガス分析結果はPCO₂44.6，PO₂101.7と比較的安定している状態であった。

治療経過：心不全に対し，ジゴキシンは24才時に開始し0.7～2.0ng/mlの血中濃度に維持され，ACE阻害剤（カプトプリル50mg/日）と利尿剤（フロセミド20mg/日，スピロノラクトン25mg/日）は26才時に追加併用となり，死亡直前まで継続された。

病理所見：（死後時間：1時間30分）

骨格筋は，頸部以下で脂肪変性が顕著で横隔膜も黄色調で皮薄化し，舌も形態は保たれているものの脂肪化は明らかであった。胸部大動脈の内径は1.8cm。両側の肺，腎臓，副腎それに膵臓，脾臓などに肉眼的な変化はなかったが，脂肪肝と十二指腸潰瘍が見られた。大脳は重量1400gと肉眼的な異常はないが，脊髄は相対的に太かった。心臓は重量400gと重さを増し左室の拡張が目立ち，全周性の線維化が明瞭であった。冠動脈には細い印象あり。いずれの弁膜にも異常はなく

¹⁾独立行政法人国立病院機構西多賀病院 神経内科

²⁾独立行政法人国立病院機構西多賀病院神経内科、歯科、小児科

³⁾独立行政法人国立病院機構宮城病院神経内科

⁴⁾鳴子町立鳴子温泉病院 内科

⁵⁾東北大学医学部神経内科

⁶⁾独立行政法人国立病院機構西多賀病院臨床検査科

⁷⁾独立行政法人国立病院機構仙台医療センター臨床検査科

また壁在血栓も確認されなかった。

組織学的所見：胸鎖乳突筋、腸腰筋とみられる組織には脂肪組織の浸潤が強く筋構造は消失し、横隔膜には脂肪組織とわずかな膠原線維をみるのみで、舌では豊富な脂肪組織の中に中心核を持つ細い筋線維がわずかに残存した。心筋に見られた線維化は、膠原線維からなるもので左右心室の全周に及ぶものの特に左室の後壁と前壁に高度であった。残存する筋細胞には、大小不同と空胞化がみられ、変形した大型の核が目立った。肺組織では肺胞および肺胞管の拡張を示す肺気腫がみられ、肺胞内にマクロファージを観察した。肺動脈内には血栓形成や塞栓形成が散在した。腎臓の皮質に小梗塞巣が散見された。肝臓では大小種々の空胞化を示す肝細胞が瀰漫性に見られ、脂肪肝の様相を呈したが線維化は見られなかった。食道上部の固有筋層を構成する骨格筋線維には中心核が目立

ち大小不同や虫食い像が観察され線維化を伴い、また粘膜筋板の全周性に及ぶ著しい肥厚が認められた。また、直腸の粘膜筋板にも同様の肥厚が見られ、粘膜固有層には線維化を伴っていた。肛門括約筋の筋線維にも変性像が観察された。

考察：心不全に対しての強心剤や利尿剤或いは呼吸不全に対する人工呼吸器などの治療により延命効果が得られた症例である。肺組織では、肺気腫の組織像とともに肺動脈内の塞栓形成が見られ、腎皮質の梗塞巣なども観察されたことから、陽圧式呼吸器の内圧調整や抗凝固剤による治療についての更なる検討が必要であると思われた。また、食道や直腸に見られた粘膜筋板の肥厚は、消化管を構成する骨格筋線維の変性に伴った二次的な変化であり、機能障害を示した結果と考えられた。

2) 心不全に対する β 遮断薬治療とその開始時期についての検討 —筋ジストロフィー患者において—

共同研究者：本良いよ子⁴⁾、齊藤 博³⁾

目 的

1975年、Waagsteinらによって、拡張型心筋症の心不全に対する β 遮断薬の治療効果が報告されて以来、いくつかの大規模臨床試験が行われ、現在では心不全の治療薬として認められてきている。今回、筋ジストロフィーの心不全に対し β 遮断薬治療を行いその後長期にわたって追跡できた5症例について、 β 遮断薬の治療効果とその投与開始時期についての検討を行ったので報告する。

方 法

心不全症状が見られ、ジギタリス、利尿剤、ACE阻害剤に β 遮断薬を併用した4例と、心臓超音波検査で駆出率が低値であることから β 遮断薬が投与された1例の計5症例において、心臓超音波検査から得られた、左室拡張終期径(LVDd)、一回拍出量(SV)、駆出率(EF)と、心拍数(HR)の変化について計時的に検討を行った。また、同年代で心不全症状が出現、あるいはEFの低下が見られたが β 遮断薬が投与されなかった2例についても、同様の検討を行った。使用された遮断薬は、アテノロールであり、投与量は12.5~25mg/日である。

結 果

β 遮断薬投与の症例1,2は、心不全出現時のEFがそれぞれ40%と20%であったことから、ジギタリス、利尿剤、

ACE阻害剤が投与とされている。その後約1年間にLVFdの増大、SVの減少、EFの低下が見られ心不全として再入院した。 β 遮断薬が開始されたが、それぞれ6週後、2週後に心不全の改善なく死亡した。次に、 β 遮断薬が投与されたその他の3症例(症例3,4,5)であるが、症例3は心不全症状は明らかではなかったが、EF21%と心機能低下が確認されたことから β 遮断薬が開始された。EFは40%に改善、ACE阻害剤を併用し、その後5年間EFは維持され、HRは70/分台に安定している。症例4,5は、心不全症状が見られジギタリス、利尿剤、ACE阻害剤を投与したが、HRが100~120/分と頻脈だったことから β 遮断薬が開始された。症例4は5年、症例5はNIPPVも行い9年の経過になるが、いずれもEFは20%に改善し維持されており、頻脈の再現もない。

β 遮断薬が投与されなかった症例6,7であるが、症例6は心不全症状出現時に、ジギタリス、利尿剤を、その後ACE阻害剤も併用したが、3年を経た現在も尚EFは低下しており、HRも頻脈の傾向にある。症例7は心不全症状は明らかではないが、EFが50%に低下した時点でACE阻害剤の投与が開始された。EFは40%と低下し、頻脈傾向があり3年間経過している。これら2症例ともLVDdは拡大しSVは減少してきている。

考 察

死亡した2症例は、短期間で心機能が低下し β 遮断薬の効果が得られなかったものであるが、いずれも自宅から養護学校へ通っており、これが心不全悪化の一因となったことも否

定はできない。その他の β 遮断薬が投与された3例では、明らかに心機能が改善され維持されている。このような結果より、筋ジストロフィー患者の心不全に対し、ジギタリス、利尿剤、ACE阻害剤等の基本的な治療薬でも十分な効果が得られない場合、すなわちEFは改善せず、頻脈傾向がある時には、 β 遮断薬の投与が考慮されるべきと考える。 β 遮断薬の効果発現まで数ヶ月を要するという報告もあり、早期に開始することが望ましく、適切な投与開始時期を決定するためには、心不全治療の指標となる他の検査方法や検査値なども必要になると思われる。しかし、一方で筋ジストロフィーの心不全症例の中には β 遮断薬を必要としない例や或いは効果が期待できない例もあるように思われ、更なる検討が必要で

ある。

文 献

- 1) Waagstein F, Hjalmarson A, Varnauskas E, et al: Effect of chronic beta-adrenergic receptor blockade in congestive cardiomyopathy. Br. Heart J 1975; 37:1022-1036
- 2) 和泉 徹, 町田陽二, 長田和之: β 遮断薬—いつ, 何を, どう使うか—. 日医雑誌 1999;121:1770-1773
- 3) 安村良男, 北風政史: 心不全治療における β 遮断薬療法の今後の位置づけ. 呼と循. 2002;50:989-997

3) デシャンヌ型筋ジストロフィーにおける嚥下筋の病理

共同研究者: 大村 清²⁾, 高橋 俊明²⁾, 吉岡 勝²⁾

目 的

デュシャンヌ型筋ジストロフィー (DMD) では、病気の進行とともに嚥下障害が出現し、誤嚥性肺炎あるいは窒息の原因として重要な問題となってくる。これまでビデオ嚥下造影検査による検討で、種々の機能障害が明らかにされているが、一方嚥下機能に関与する組織の形態学的な観察は乏しいように思われる。今回、DMDの剖検例で、舌、食道及び咽頭について、他の嚥下障害を伴う神経疾患を対照に組織学的に比較検討を行った。

方 法

DMD 3 症例で、剖検時に採取した舌、食道及び咽頭後壁の組織からパラフィン切片を作成し、H.E.染色及びelastica Masson's trichrome染色を施し光学顕微鏡で観察を行った。舌は中央部の冠状断、食道については、上部、中部、下部の3カ所、咽頭後壁は横断及び縦断面で観察した。対象症例は、18才例(症例1)、22才例(症例2)、32才例(症例3)のDMD 3 症例で、いずれも死亡直前まで工夫をしながらも経口摂取が可能な状態であった。症例1及び2は、それぞれ発熱、窒息を来して緊急搬送され死亡した症例である。対照症例として、運動ニューロン病(MND) 2例(症例1: 76才女性、全経過2年2ヶ月、嚥下不能。症例2: 69才男性、全経過3年2ヶ月、経管栄養、人工呼吸器使用)、脊髄小脳変性症2例(孤発型OPCA:59才男性、全経過9年、DRPLA:72才女性、全経過12年)を用いた。

結 果

DMD 症例の横紋筋線維には様々な変性像が観察された。大

小不同を示す筋線維の間に Opaque's fiber の形成が目立ち、筋線維の壊死を示唆する単核細胞の集簇巣、或いは虫食い像、更に筋線維の縦断像で表層に単核細胞が数珠状に並ぶものなど、また中心核の形成も多数観察された。このような変化は程度の差はあれ3 症例いずれでも認められた。食道上部では、DMD 症例1の筋線維密度に変化はなかったが、症例2では明らかに低下し大小不同を示す細い筋線維間に膠原線維からなる fibrosis が目立った。症例3では筋線維の密度は更に低下し膠原線維も乏しく脂肪織により置換されていた。食道中部の横紋筋線維にも同様の傾向が観察されたが、胃の噴門部に伸びる平滑筋組織には形態学的な変化は確認されなかった。対照症例では、OPCA 例で fibrosis を見たものの、DRPLA 例やMND 例では明らかな変化は見られなかった。咽頭後壁についての観察では、症例1のみであるが、ここの2層の横紋筋組織、即ち palatopharyngeus m. (咽頭口蓋筋) と pharyngeal constrictor m. (咽頭括約筋) にも同様の変性像と明らかな筋線維密度の低下が見られ膠原線維の増加、脂肪織の増加も明らかであった。一方、対照症例のOPCA 例、DRPLA 例に変化は見られなかった。舌筋の観察では、筋線維密度の低下、fibrosis そして脂肪組織の浸潤が見られ、症例3でより高度であった。このDMDの舌病変は、細小化した筋線維変化が舌全体に及んでいるMNDの変化に比して、舌の深部より表層部の筋線維が比較的残存しているのが目立った。OPCA 例、DRPLA 例に明らかな変化は見られなかった。

考 察

DMDにおける嚥下機能の障害は病気の進行に伴って、喉頭蓋谷や梨状かへの食物の残留が見られるようになり、食道入口部の開大不全が出現するという。これには、喉頭筋力低下、奥舌挙上不全や軟口蓋挙上不全などにより鼻咽腔閉鎖不全が生じ、また喉頭蓋反転不全も伴うことから、結果として

咽頭内圧が上昇できないためと考えられている。このような機能不全の解釈は、ビデオ嚥下造影 (Videofluorography:VF) の観察結果によるもので、これを裏付ける組織学的変化についての報告は見られない。

今回の観察結果では、DMD 症例の舌、咽頭口蓋筋、咽頭括約筋さらには食道上部の横紋筋にも他の骨格筋で見られるような変性像が生じていることが示され、また DMD 症例 2 で見られたように筋線維周囲の線維化も生じることが確認された。このような結果は、VF で観察された食道入口部の開大不全には、咽頭筋の減弱で咽頭内圧が上昇できない可能性もあるが、同時に食道上部の線維化の存在も関与することが想定される。即ち、この線維化のために食道入口部の開大が制限されると考えられる。一方、経過の長い DMD 症例 3 では、線維化よりも脂肪織の浸潤が目立っていたことから、

ひとたび形成された線維化が病期によっては消退し得ることも考えられる。この場合、食道入口部の開大不全は解消されることも予想されるが、同時に舌や咽頭部の筋線維脱落が進行していることもあり結果として嚥下障害が継続すると考えられる。従って、DMD における嚥下障害は、経過によってその病態が異なってくるものと予想されるのである。

結 論

3 例の DMD において、舌、咽頭及び食道について組織学的に検討し、他の部位の横紋筋組織と同様の変化のあることを確認した。更に線維化を伴う時期のあることを指摘し、DMD の嚥下障害の病態について考察を行った。

4) 筋強直性ジストロフィーにおける唾液分泌の臨床病理学的検討

共同研究者：佐々木俊明²⁾、大隅 悦子²⁾、高橋 俊明²⁾、吉岡 勝²⁾

目 的

筋強直性ジストロフィー (Myotonic dystrophy: MyD) 患者における齲歯の多さについては、正確な研究結果は見あたらないものの、日常診療の中で実感されることである。その誘因として、口腔内の衛生管理の低下によると考えられている。しかし、訴えはないものの歯科診療の中で dry mouth の多さに気づかされるのも事実である。今回、MyD 患者の唾液分泌量を測定し、同時に本疾患患者の大唾液腺についての組織学的検討を行った。

対象と方法

1) 唾液分泌量の測定

対 象：MyD として当院に入院中或いは通院中の患者で、歯科受診中の症例 17 名 (男性 13 名、女性 4 名、平均年齢 49.1 ± 8.0 歳) を疾患対照群 (MyD 群) とし、これに対し全身疾患がなく、口腔乾燥感のないボランティア 19 名 (男性 11 名、女性 8 名、平均年齢 49.1 ± 8.5 歳) を正常対照群 (ボランティア群) として比較検討した。

測定方法：サクソテスト法 (Saxon test) にて行った。予め重量を測定しておいたサクソテスト用滅菌済みスポンジガーゼ (Kendall 社製) を、唾液を飲み込んだ後に 2 分間噛んでもらい、湿潤したガーゼと口腔内に残った唾液をすべてシャーレに採取し重量を測定し、唾液分泌量 (g/2 分) とした。

結 果：唾液分泌量は、MyD 群で 2.2 ± 1.9 、ボランティア群で 6.7 ± 1.5 であり、MyD 群で有意な低下が見られた

($P < 0.001$)。また、MyD 群の唾液分泌量の最小値と最大値は、それぞれ 0.5、8.9 であり、ボランティア群ではそれぞれの値が 4.2、9.4 であった。

2) 大唾液腺の組織像

対象と方法：MyD 例 (56 歳、男性) と DMD 例 (31 歳、男性) とを対象とした。剖検時に採取された耳下腺および顎下腺のホルマリン固定材料からパラフィン切片を作成し、H.E., PAS, Alcian blue, Elastica Masso's trichrom の各染色を行い光学顕微鏡で観察した。

結 果：MyD の耳下腺組織は、高度な脂肪織の浸潤で腺構造の密度は著しく低下していた。すなわち、serous cell が集合し小さな島状構造を示しながら脂肪織内に疎に散在する構造を示した (図 1)。個々の腺細胞は対照例に比して、

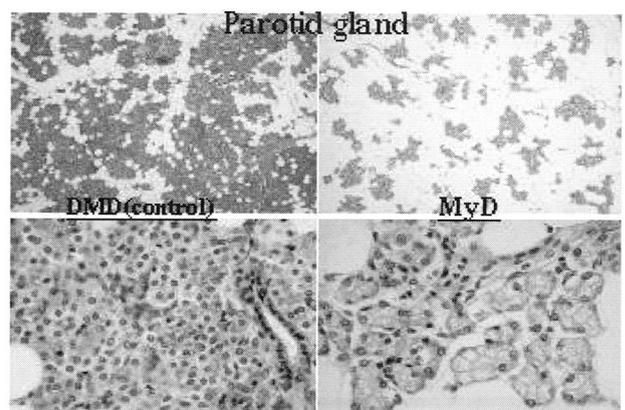


図 1 DMD の耳下腺組織に比較して、MyD では脂肪織の浸潤が著しく、腺組織は萎縮し密度の低下を示していた。(H.E.染色 耳下腺組織)

やや明るく大きく、核の大きさも増大しクロマチンの量は乏しく淡明であった。全体的に見ると細胞密度は著しく低下していた。更に、胞体内に存在するPAS陽性顆粒は乏しくこのことが細胞質淡明化の要因であった。

MyDの顎下腺組織は、耳下腺と同様脂肪織の浸潤が明らかであり、腺細胞の密度にも明らかな低下が見られた。しかし、その程度は耳下腺の像に比較して軽度であった。PAS陽性顆粒も乏しく細胞質は淡明化を示し、核も同様に乏しいクロマチンを呈していた。顎下腺は耳下腺とは異なり、混合腺であるが、対照のDMD例に比して、mucous cellの密度が増していた。

MyDのいずれの腺組織においても、膠原線維の増加は明らかではなく、導管系や血管系の異常も見られなかった。間質への細胞浸潤は対照に比較してやや乏しい印象であった。

考 察

筋強直性ジストロフィーでは、齧歯や歯槽膿漏が早期より多発し若年にして歯牙を失い義歯を利用する症例の多いことは臨床的にもしばしば目にするところである。その要因として、口腔衛生管理の低下¹⁾と考えられてきているが、日々の歯科診療の観察から、自覚症状としては訴えないものの多く

の症例でDry mouthの存在が強く想定された。そこで、今回の検討を行ったものであるが、測定結果は、本疾患における唾液分泌量が明らかに減少していることを示し、我々の予想を裏付けるものであった。シェーグレン症候群などに生じる歯牙の喪失も唾液分泌量の低下との関連で考えられており、両疾患に見られる歯牙の消失には共通する病態のあることが示唆される。

しかし、MyDにおける大唾液腺の組織像は、細胞浸潤の著しいシェーグレン症候群のものとは異なり、既存の腺組織は疎になり減少しているのみであり、またchronic sialadenitisに見られるような線維化もなかった。いずれにしても腺組織の密度の減少が唾液分泌量の低下をきたす要因になっているように思われた。このような細胞反応或いは組織反応の乏しい非特異的な腺組織の減少がMyDにおける大唾液腺の組織学的変化と考えたいが、しかし症例数が乏しく対照症例としたDMD例との年齢差も大きいことから今後の検討課題としたい。

文 献

- 1) 花山耕三, 川越丈夫. 咀嚼および嚥下障害(筋強直性ジストロフィーの治療とケア. 医学書院 2000) pp115-121

5) 日本人三好型遠位型筋ジストロフィーと肢帯型筋ジストロフィー2B型のdysferlin遺伝子変異と臨床経過の比較

共同研究者：高橋 俊明²⁾, 青木 正志⁵⁾, 小野寺好明⁵⁾, 鈴木 直輝⁵⁾,
 豎山 真規⁵⁾, 相場 瞳⁶⁾, 伊藤真理子⁶⁾, 近藤 恵美⁷⁾,
 齋藤 博³⁾, 木村 格²⁾, 糸山 泰人⁵⁾, 今野 秀彦¹⁾

はじめに

三好型遠位型筋ジストロフィーは1967年三好らによりはじめて報告された¹⁾。常染色体劣性遺伝、小児期中期から成人初期に発症、腓腹筋が早期に障害される遠位型、血清CK値の高値を特徴とする²⁾。共著者青木らは1998年三好型遠位型筋ジストロフィーの原因遺伝子をクローニングしdysferlinと名づけた³⁾。同遺伝子はエクソン55個から構成され2,080アミノ酸からなり⁴⁾、肢帯型筋ジストロフィー2B型や前脛骨筋から障害のはじまるdistal anterior compartment myopathyの原因遺伝子であることも判明した。我々は日本人三好型遠位型筋ジストロフィーでの遺伝子変異の特徴として、C1939G, G3370T, 3746delGおよび4870delTの4種の

変異が多くみられ、G3370T変異は発症年齢が遅くG3510A変異は発症年齢が早いことを明らかにしてきた⁵⁾。

今回我々は日本人三好型遠位型筋ジストロフィーと肢帯型筋ジストロフィー2B型の患者においてdysferlin遺伝子変異と臨床経過の比較を行った。

対象・方法

Dysferlin遺伝子解析は当院倫理委員会の承認を得て行った。インフォームドコンセントを得た患者ゲノムDNAから55個のエクソンごとにPCR-SSCP法にて遺伝子変異をスクリーニングし、直接塩基配列決定法にて確認した⁵⁾。Dysferlin遺伝子変異の確定した41家系44人の三好型遠位型筋ジストロフィーと23家系26人の肢帯型筋ジストロフィー

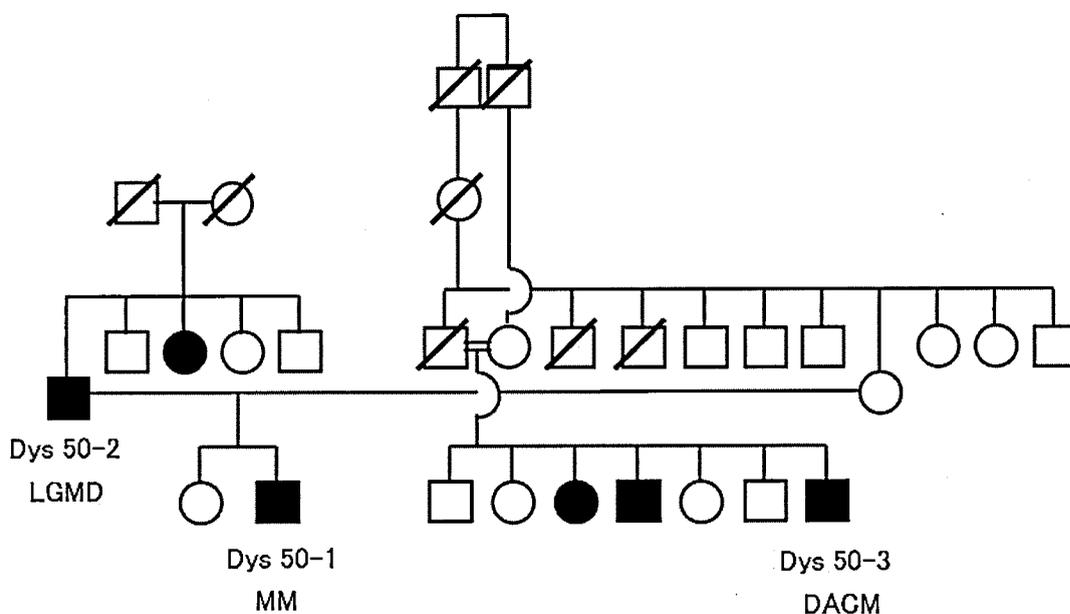


Fig. 1 同一家系内に異なる表現型が認められた家系の家系図。MMは三好型遠位型，LGMDは肢帯型，DACMはdistal anterior compartment myopathy.

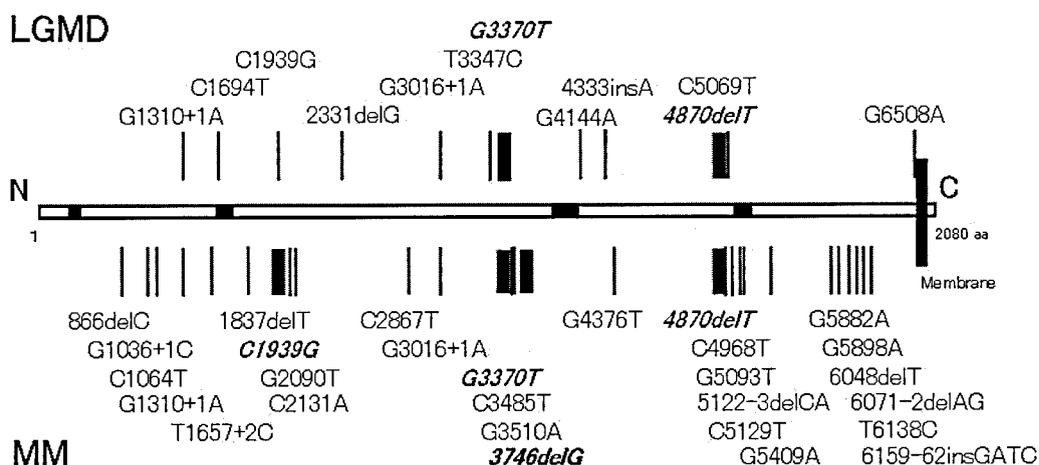


Fig. 2 日本人 dysferlinopathy 患者で見いだされた遺伝子変異。Dysferlin タンパク上に変異の位置をしめす。タンパクより上に肢帯型患者，下に三好型遠位型患者の変異をしめす。変異の位置の太線（イタリック体）はそれぞれの表現型で多く見られた変異。3746delG 変異は三好型遠位型でしか見つかっていない。

2B型の日本人患者を対象とした。両表現型において遺伝子変異の特徴の比較を行った。両表現型において発症年齢，独歩が不可能になった年齢，杖歩行が不可能になった年齢による臨床経過の比較を行った。8例の肢帯型筋ジストロフィー患者では血清CK値の長期追跡が可能であった。

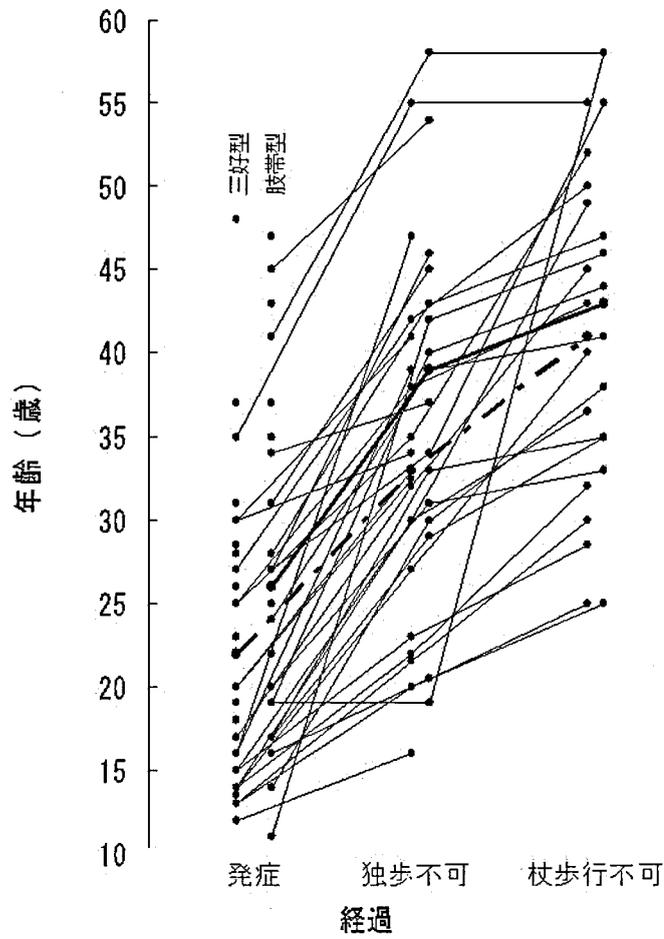
結 果

1家系では家系内に三好型遠位型と肢帯型の両表現型が見られた (Fig. 1)。2世代6人にわたる大きな家系例で発端者 (Dys 50-1) が三好型遠位型，その父 (Dys 50-2) は肢帯型と診断されていた。両親が血族婚の母方のいここにも発症者がいるため，母も保因者で準優性遺伝をしめしたと考えた。

母方いここには前脛骨筋が優位に障害される表現型の患者 (Dys 50-3) もいた。これら3人で dysferlin 遺伝子の検索が行なえたがすべて 4870delT 変異のホモ接合であった6)。

遺伝子変異は三好型遠位型で28種類，肢帯型で12種類 (5種類は共通) が見いだされた (Fig. 2)。三好型遠位型では C1939G 変異，G3370T 変異，3746delG 変異，4870delT 変異が多くみられ48%をしめた。肢帯型でも G3370T 変異と 4870delT 変異が多くみられ52%をしめたが 3746delG 変異はみられなかった。

平均発症年齢は三好型遠位型は 22 ± 9 歳 (12~48歳)，肢帯型では 26 ± 10 歳 (11-43歳) であった。三好型遠位型では G3510A 変異では 13 ± 0 歳，C4968T 変異では 12 ± 0 歳と早く，G3370T 変異を持つ症例は 33 ± 6 歳と遅かった。肢



FFig. 3 三好型遠位型と肢帯型患者の経過。各経過になった年齢を左側に三好型遠位型，右側に肢帯型をプロットし同一患者をむすんだ。太い実線は肢帯型の太い破線は三好型遠位型の平均。

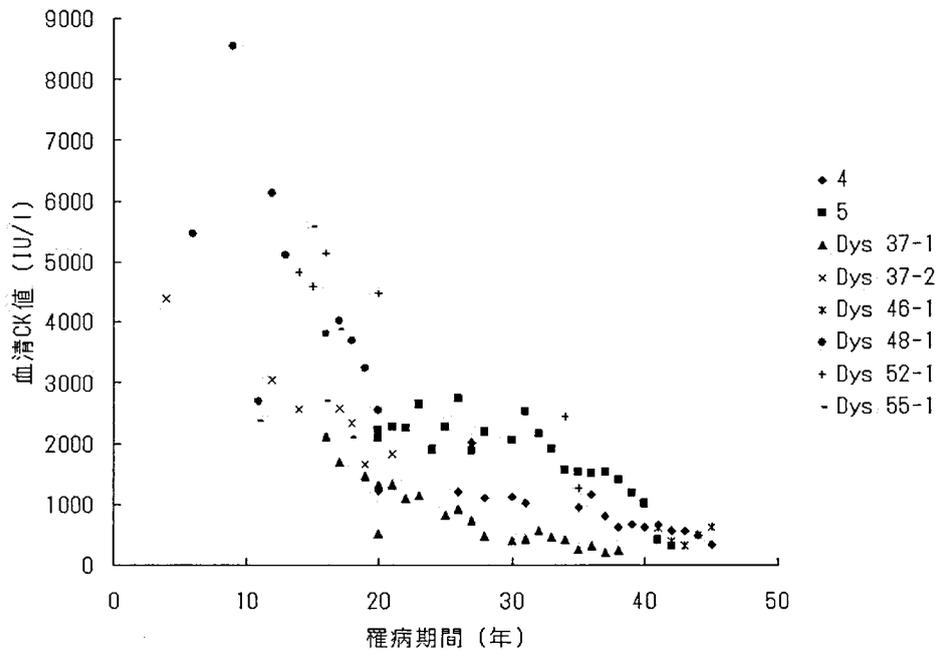


Fig. 4 同一患者での血清CK値の推移。

帯型でも G3370T 変異を持つ症例は発症年齢が 35 ± 10 歳と遅かった。三好型遠位型では平均 33 歳 (発症後平均 14 年)、肢帯型では平均 39 歳 (発症後平均 15 年) で独歩が不可能になる。三好型遠位型では平均 41 歳 (発症後平均 21 年)、肢帯型では平均 45 歳 (発症後平均 21 年) で杖歩行が不可能となった (Fig. 3)。

長期追跡が可能な患者での血清 CK 値は発症直後は非常に高いものの徐々に低下してきていた (Fig. 4)。

考 察

三好型遠位型筋ジストロフィーと肢帯型筋ジストロフィー 2B 型および distal anterior compartment myopathy は 2 番染色体上にある dysferlin 遺伝子の変異により発症するがこれらの表現型を決定する要因は不明である。今回同一の遺伝子型であることが確認されたうえで 3 種の表現型を呈した家系を報告した。そのため表現型の決定には環境因子の関与も考慮しなければならないであろう。一方肢帯型と三好型遠位型の遺伝子変異の比較では、三好型遠位型で多くみられた 4 種の変異のうち 2 種は肢帯型でも多くみられたが 3746delG 変異はみられなかった。この変異がなんらかのしくみで表現型の決定に関与している可能性もあり今後の検討が望まれる。なおこれら 4 種の変異のうち C1939G 変異は本研究では肢帯型でそれほど多くなかったが、SSCP の検出感度の問題が確認されているため今後再検討を計画している。

三好型遠位型と肢帯型は特に下肢で筋力低下の部位に差がある。独歩が不可能になる時期と杖歩行も不可能になる時期で両者の臨床経過を比較したところ、統計的に両者に有意な差はみられなかった。三好型遠位型でも早期に肢帯型の筋萎縮をきたした例もまとめられている²⁾。三好型遠位型は詳細な臨床的特徴が報告されている²⁾。肢帯型でも三好型遠位型との異同をふくめ臨床型の特徴を明らかにする必要がある。

同一患者での追跡により血清 CK 値は経過とともに徐々に

低下していくことがしめされた。これは経過とともに筋肉量が減少していくためと思われる。またこの傾向により発症後の期間の推定にも役立つと思われる。

文 献

- 1) 三好和夫, 西条一夫, 栗生陽次郎ら: Distal myopathy と考えられる 2 家系 4 症例. Jap J Hum Genet 1967; 12 : 113
- 2) Miyoshi K, Kawai H, Iwasa M, 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 1986 ; 109 : 31-54
- 3) Liu J, Aoki M, Illa I, et al : Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. Nature Genet 1998 ; 20 : 31-36
- 4) Aoki M, Liu J, Richard I, et al : Genomic organization of the dysferlin gene and novel mutations in Miyoshi myopathy. Neurology 2001 ; 57 : 271-278
- 5) Takahashi T, Aoki M, Tateyama M, et al : Dysferlin mutations in Japanese Miyoshi myopathy : Relationship to phenotype. Neurology 2003 ; 60 : 1799-1804
- 6) Saito H, Ishiguro H, Hirota K, et al : A Japanese family with various phenotypes of muscular dystrophy due to dysferlin mutation. (投稿中)
- 7) 三好和夫: 三好型遠位型筋ジストロフィー症例の報告数 (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 1996 ; 44 : 61-65

Duchenne筋ジストロフィー (DMD) 症例の心室性不整脈の検討

渡邊 宏雄¹⁾, 加藤 義弘^{1) 2)}

要旨: Duchenne筋ジストロフィー (DMD) 症例においては、心機能の低下とともに心室性不整脈を合併する。臨床の場合において、心室性不整脈をどのように治療するか判断に苦渋することも多い。我々の施設では不整脈に対して、患者の訴えが強いもの、心行動態に悪影響をあたえようとするものを治療の対象としてきた。治療方針として、第一に心不全の軽減をはかり、次に抗不整脈薬などの投与を行なっている。心不全と不整脈に対する治療を再考するために、心室性不整脈について検討した。

2002年は心室性不整脈のホルター心電図による重症度分類と、心不全の各指標、心拍変動解析による自律神経活動との関係について検討した。2003年は頻脈性の不整脈に対して治療を行った症例について治療方法に関する検討を行った。2004年は3年間のホルター心電図所見の変化について検討した。

1. 心室性不整脈の重症度と各心不全の指標や自律神経活動との関係

方 法

入院中のDMD患者31名(16歳から44歳、平均30.0±7.5歳)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(21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(10例)とした。

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。心拍変動解析は、ホルター心電図に記録された心電図のRR間隔を高速フーリエ変換(FFT)解析し、高周波成分(HF)と低周波成分(LF)に分解し、HFを副交感神経活動の指標に、LF/HFを交感神経活動の指標とした。1時間ごとの評価を行ない、24時間の平均と夜間睡眠時の平均を求めた。

結 果

軽症群と重症群の各検査結果の平均±標準偏差を表1に示す。BNPとLVDdにおいて軽症群と重症群の間で有意差がみられた。年齢、平均心拍数、ANP濃度、LVEF、そして心拍変動解析でのHF、LF/HFには有意差はみられなかった。(表中の数字は24時間の平均値)

2. 頻脈性不整脈に対して治療を行った症例の検討

方 法

頻脈性不整脈に対して積極的な治療を行った症例について検討した。今回検討した症例を表2にしめす。心室性期外収

表1

		軽症群 (n=10)	重症群 (n=21)
年齢		30.3 ± 9.2	33.4 ± 6.5
平均HR		87.5 ± 15.1	88.1 ± 11.6
ANP	(pg/ml)	28.7 ± 22.3	45.2 ± 30.9
BNP*	(pg/ml)	15.2 ± 14.1	39.7 ± 40.6
LVD d *	(mm)	42.1 ± 9.8	53.1 ± 9.8
EF	(%)	47.9 ± 12.1	40.2 ± 13.2
HF		349 ± 304	265 ± 211
LF/HF		2.32 ± 0.85	3.40 ± 1.64

* : p<0.05

縮(PVC)の連発が4例、上室性頻拍が4例であった。

PVCではすべて胸部不快感を訴えており、PSVTでは動

表2

症例	年齢	症状(訴え)	不整脈
1	43	胸部不快感	PVC (short run)
2	21	胸部不快感	PVC (short run)
3	26	胸部不快感	PVC (short run)
4	21	胸部不快感	PVC
5	25	動悸	PSVT(WPW synd)
6	29	胸部不快感	PSVT
7	42	動悸	PSVT
8	22	胸部痛	PSVT

悸、胸部痛の訴えであった。

それぞれの症例の心臓超音波による左室拡張末期径(LVDd)と左室駆出率、血中ANP、BNP濃度を表3に示す。PVC群ではPSVT群に比して、LVDdが大きくEFが低い傾向がみられた。また、ANP、BNP濃度についてもPVC群の方が高い傾向がみられた。

表 3

症例	LVD d (mm)	EF (%)	ANP (pg/ml)	BNP (pg/ml)
1	59.3	22	60	122
2	87.7	18.3	140	194
3	62.5	30	178	258
4	51.9	27.1	493	538
5	65.6	25.2	89	60
6	53.4	28.1	79	148
7	48	45.9	10以下	2以下
8	40.1	56.8	22	5.5

症例3, 症例5についての経過を次に示す。

【症例3】

2003年5月28日「胸が苦しい」と訴えあり。心電図モニター上PVCの単発がみられた。その時の検査ではLVDd 62.5mm, EF 30%, ANP 178pg/ml, BNP 258.1pg/mlであった。利尿剤とACE阻害剤を増量した。6月13日心電図モニターにてショートランがみられ、胸部症状も続く為、塩酸リドカイン持続静注を開始したところPVCは減少した。リドカインの減量とともに、塩酸メキシレチンの内服開始、さらに、カルベジロールを1.25mg/日より開始増量した。以後PVCも減少し、胸部症状の訴えもなくなった。

【症例5】

以前より動悸を訴え、頻拍発作がみられ、眼球圧迫により停止可能であった。心電図上デルタ波を認め、WPW症候群として治療していた。最近では発作時に、プロカインアミドの静注を必要としていた。PSVTの予防として、ジソピラミドの内服を行っていた。2003年7月下旬より、頻拍発作が頻回となり、しだいに頻拍発作のコントロール不可能となり、永眠された。

3. 心室性不整脈の経時的変化

方 法

3年間経過観察可能であったDMD患児30名(平均年齢 31 ± 7 歳)を対象とした。2002年と2004年のホルター心電図所見の重症度分類(Lown分類)を検討し、2年間の変化について検討した。ホルター心電図所見と、心エコー検査結果、血中ANP, BNP値との関係についても検討した。

結 果

2年間の経過中に死亡例は4例であった。4例のうち2002年のホルター心電図でのLown分類はIV aが2例、IV bが2例であった。これらの症例では平均で、ANP値は 74.0 ± 22.4 pg/ml, BNP値は 85.9 ± 54.9 pg/ml, 左室拡張末期径 64.5 ± 1.8 mm, 左室駆出率 $25.0 \pm 4.4\%$ であった。

2002年にLown分類が0であった2例は分類Iとなった。分類Iであった4例のうち2例は不変であったが、2例はIV bへと増悪していた。分類IIの4例は、分類Iとなったもの

が2例で、分類IV aとなったものが2例であった。分類IV aであった11例(死亡例を除く)では、分類Iとなったものが7例、不変のものが3例、分類IV bとなったものが1例であった。分類IV bとされた5例(死亡例を除く)のうち4例が不変であったが、1例は分類Iとなった。

Lown分類の変化と、ANP, BNP値の変化にはとくに関係はみられなかった。

考 察

2002年は、DMD患者の不整脈の重症度と心不全の各指標や心拍変動解析による心臓自律神経活動との関係を明らかにすることを目的とした。心拍変動解析は自律神経機能の非侵襲的評価法の一つであり、DMD患者では副交感神経活動の指標となるHF成分が低下することが報告されている^{1) 2)}。今回の対象者でも比較的重症な心不全患者では、HF成分の日内変動は消失し、HF成分の低下する傾向がみられた。しかし、心室性期外収縮の重症群と軽症群を比較では、BNP値やLVDdなどの心不全の重症度と関連する指標では有意差が認められたが、HFとLF/HFとも両群間に有意差はみられなかった。心機能の悪化した心臓では、洞結節の機能も傷害されている可能性があり、洞結節機能が正常であることを前提とした心拍変動解析が不可能となる症例も含まれている可能性がある。

不整脈に関する治療に関する検討では、心室性の不整脈の場合、利尿剤の内服などにより軽快しない場合でも、塩酸リドカイン持続静注にて不整脈は減少したがメキシレチンへ内服への移行が困難であった。他の症例でもカルベジロールにより、リドカインの減量が可能であり、βブロッカーは心室性の不整脈に有効である可能性が考えられた。

上室性頻拍の場合、心機能が低下してからの治療には難渋する。安静時心電図にてWPW症候群と診断され、頻拍発作が予測される場合には、心機能が保たれている時期にカテーテルアブレーションによる積極的な治療選択もあると考えられた。

心室性不整脈について、2年間の観察の結果、重症度分類は大きく変化する場合もありうる。しかし、連発を認める症例では、心機能も悪い症例が多く、予後不良な症例が含まれる。

文 献

- 1) Yotsukura M, et. Al. Nine-year follow-up study of heart rate variability in patients with Duchenne-type progressive muscular dystrophy. Am Heart J 1998;136(2):289-96.
- 2) 土田晃ほか, 小児期Duchenne型進行性筋ジストロフィー症における心拍変動の解析 日児誌 2000; 104(3): 337-340.

Duchenne型筋ジストロフィー女性保因者の心障害の病態と心不全治療の必要性

足立 克仁¹⁾, 齋藤 美穂¹⁾, 木村千代美¹⁾, 柏木 節子¹⁾
乾 俊夫²⁾, 橋口 修二²⁾, 馬木 良文²⁾, 野崎 園子³⁾, 川井 尚臣⁴⁾

要旨：確実な Duchenne 型筋ジストロフィー女性保因者において、心障害の病態を検討し、心不全治療の必要性を述べた。保因者 28 名 (41～61 歳) の心障害の発現者は 18 名 (64.3%) であった。このうち 5 名は心悸亢進などの自覚症状があり心不全の治療を行った。保因者にみられる心筋障害の好発部位は、心エコーの wall motion index, 心筋 SPECT などの検索から、Duchenne 型病者と同様に、左室基部の後下壁に認められた。女性保因者 (母) と子 (病者) の心障害の部位について、両者はほぼ同じ所見がみられたが、機能面は数値的には明らかな関係はなかった。すなわち、母と子の心障害は必ずしも同じ傾向を示さなかった。

本来、本症保因者は一般に病者でないと考えられているが、我々は本症女性保因者は軽症だが心機能に異常を有する場合も多く、自覚症状はなくとも定期的に検診を行い、必要があれば心不全の治療を行うことが重要であると考えた。

はじめに

Duchenne 型筋ジストロフィー患者の母親には、しばしば骨格筋症状や心症状がみられ、時には心不全により死亡した母親の報告¹⁾もみられる。

我々は平成 6 年度より、当院の筋ジストロフィー親の会の協力ののもと、毎年一回、Duchenne 型患者の母親の検診を行い (図 1)、その結果を個々に通知すると共に親の会総会にても検診のまとめを報告してきた。

従来の研究成果として、心障害は拡張型心筋症様であり、その原因は心筋におけるジストロフィンの発現異常に起因することなどを報告した²⁾。

本論文では Duchenne 型女性保因者の心障害の病態を検討し、心不全治療の必要性を述べる。

対象と方法

対象：Duchenne 型患者の母親で、1) 骨格筋のジストロフィン染色で筋線維がモザイク様あるいは patchy な染色像を呈する、2) サザンブロット法による保因者診断でジストロフィン遺伝子の欠失が認められる、3) 遺伝的に definite carrier である、4) Duchenne 型の子にジストロフィン遺伝子の欠失が確認された母親で、血清 CK 活性値の上昇を示す、5) 子にジストロフィン遺伝子の欠失は検出されないが、血清 CK 値の 5 倍以上の上昇が認められる、などの 5 項目のうち、少なくとも 1 項目以上を満たしている例を確実な Duchenne 型女性保因者とした。

我々が調べた Duchenne 型患者の母親 43 名 (最終検診年齢 41～61 歳) のうち、上記の基準に当てはまる確実な保因者は 28 名 (41～61 歳) (65.1%) であった。

方法：心機能として、心電図、胸部 X 線上の心胸郭比、心エコーによる左室拡張末期径、左室短縮率などを調べ、さらに B モード法を用いて Schiller らの方法により wall motion index を算出した。2 例についてはタリウム 201 心筋 SPECT を行った。

骨格筋機能として、血清 CK 値、下肢筋 CT 値など測定した。

加えて、保因者の子 (病者) の心エコーの検索も行った。Duchenne 型患者 (保因者の子) の剖検 13 例についても、心重量、心筋組織などを検討した。

結 果

1. 確実な保因者における骨格筋障害と心筋障害の発現頻度：28 名の確実な保因者のうち、骨格筋障害併発例は 23 名 (82.1%)、心筋障害併発例は 18 名 (64.3%) であった。骨格筋障害・心筋障害ともにある例は 15 名 (53.6%) であり、骨格筋障害はあるが、心筋障害はない例は 8 名 (28.6%)、骨格筋障害はないが、心筋障害はある例は 3 名 (10.7%)、そして骨格筋障害・心筋障害ともない例は 2 名 (7.1%) みられた。
2. 確実な保因者における心筋障害併発の頻度：心筋障害併発 18 名のうち、5 名は心悸亢進などの自覚症状があり、心不全の治療として利尿剤、ACE 阻害剤、アンギオテンシン受容体ブロッカー、抗不整脈剤、などを投与した。このうちの 1 名は自宅で突然死した (図 2)。彼女は 50 歳女性、proba-

1) 国立病院機構徳島病院内科
2) 国立病院機構徳島病院神経内科
3) 国立病院機構徳島病院臨床研究部
4) 高松市民病院

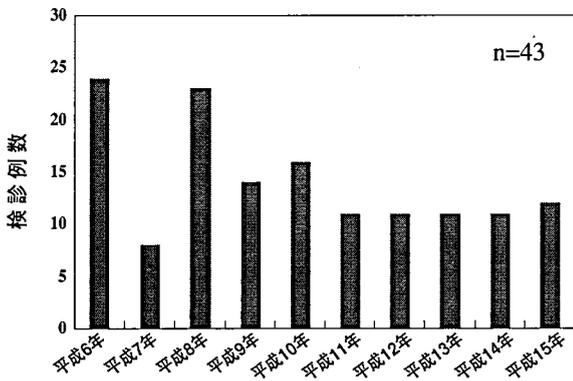


図1 Duchenne型患者の母親の検診例数

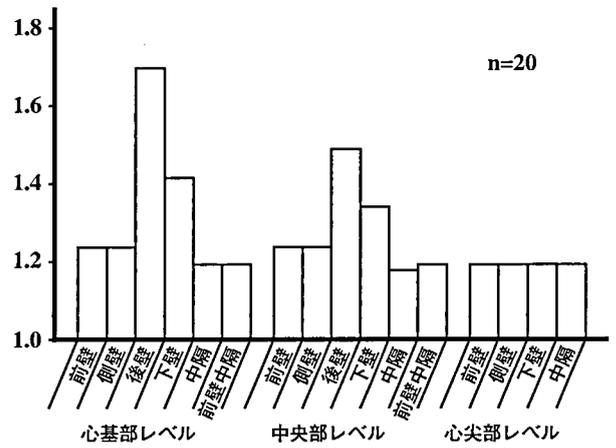


図3 Duchenne型女性保因者の左室の各部位における wall motion score の平均値

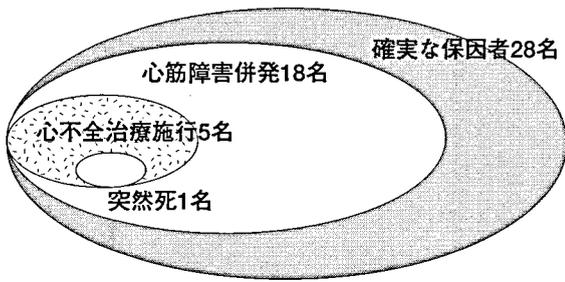
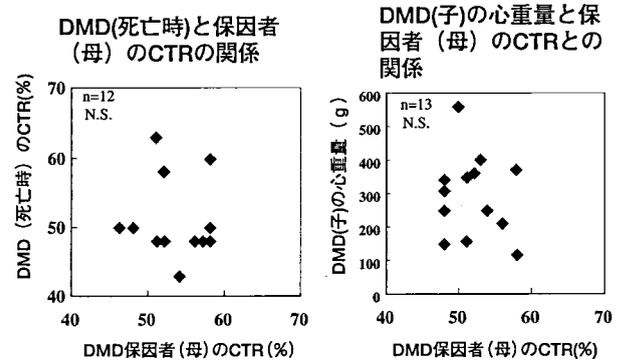


図2 確実な保因者における心筋障害併発の頻度



ble carrierで拡張型心筋症様所見が確認され、利尿剤、ACE阻害剤などの心不全治療を開始したが、その後服薬を自ら中止していた。

3. 保因者の心障害の特徴

- 28名の女性保因者の心電図にて、左室後下壁の障害が推測されるものが5名にみられた。すなわち、V1誘導にて高電位R波が2名、1, aVL, V5-6の深いQ波が3名、II, III, aVFのST低下が3名で認められた。
- 20名の女性保因者で調べた左室の各部位における wall motion score の平均値は、左室の全領域で平均値が1点以上であったが、心基部レベルの後壁が最もスコアが高く(平均1.7点)、次いで中央部レベルの後壁(平均1.5点)、下壁(平均1.4点)であった(図3)。
- 2名の保因者のタリウム 201 心筋 SPECT で左室後下壁に血流低下像が両例ともみられた。
- Duchenne型患者の剖検全例において、左室心筋全周に線維化がみられたが、主として後下壁に線維化が著明であった。
- 女性保因者(母)とその子の左室拡張末期径、左室短縮率は母子間に数値的には関連はみられなかった。
- 子(病者)の死亡直前の心胸郭比と剖検時の心重量と母の心胸郭比との関係についても明らかな関係はみられなかった(図4)。

考 察

我々はDuchenne型患者の母親の検診をはじめて10年が経過したので、その結果をまとめた。

Duchenne型女性保因者の心筋病変の好発部位は、Duchenne型病者と同様に、左室基部の後下壁に認められた。女性保因者(母)と子(病者)の心障害の部位について、両者はほぼ同様な所見がみられたが、機能面は数値的には明らかな関係はなかった。すなわち、母と子の心障害は必ずしも同じ傾向を示さなかった。このことは、保因者の心筋細胞のジストロフィン遺伝子の発現にLyon theory⁹⁾が関与していることが示唆された。

本文に記載したように、Duchenne型女性保因者の2/3に心筋障害がみられ、そのうちの1/4には心不全症状がみられ心不全の治療を要した。さらに、突然死の保因者もみられた。この例は、明確なことはいえないが、生前に拡張型心筋症様所見を確認していることから心不全死が疑われた。

本来、本症保因者は一般に病者でないと言われていたが、我々は本症女性保因者を、軽症だが、心機能に異常を有する場合も多く、自覚症状はなくとも、定期的に検診を行い、必要があれば心不全の治療を行うことが重要である⁶⁾と考えた。

文 献

- 1) 倉橋昌也, 宮本美也子, 大野正雄, 他: 心筋病変を合併したDuchenne型筋ジストロフィー症の女性保因者の1例. 日内会誌 78: 27, 1989
 - 2) Adachi K, Kawai H, 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
 - 3) 上田由利子, 川井尚臣, 足立克仁, 他: 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, 1995
 - 4) Lyon M F: Gene action in the X-chromosome of the mouse(*Mus musculus* L.). Nature 190: 372, 1961
 - 5) Lyon M F: X-chromosome inactivation and developmental patterns in mammals. Biol Rev. 47: 1, 1972
 - 6) 足立克仁, 川井尚臣, 齋藤美穂, 他: 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, 1997
-

筋ジストロフィー剖検心における心筋細胞の細胞接着分子の発現

和田美智子, *香川 典子, 佐野 壽昭, **足立 克仁

要旨: 筋ジストロフィーでは骨格筋のみならず心筋にも変性がみられ, 臨床的に心不全がしばしば問題となる。筋ジストロフィー症例の心不全の一因を解明するため, 今回, Duchenne muscular dystrophy (DMD) の剖検心を用い, その心筋細胞の細胞接着分子の変化を調べた。21例のDMD剖検心より標本を作製し, NCAM, N-cadherin, β -catenin, connexin43の発現を免疫組織化学的に検討した。すべての細胞接着分子は心筋細胞の存在板に存在し, 対照と比較するとその発現は低下していた。細胞接着分子の発現態度と心不全や不整脈などの臨床病態あるいは心重量や死因との関連は明らかにできなかったが, DMDにおいて心筋細胞の細胞接着分子の発現が低下していたことは, 刺激伝播の遅延を引き起こし, 心の収縮力低下や不整脈の一因になると考えられた。

はじめに

筋ジストロフィーでは骨格筋のみならず心筋にも変性がみられ, 臨床的に心不全がしばしば問題となる。筋ジストロフィー, 特にDuchenne muscular dystrophy (DMD) 剖検心の検討では心重量は減少, 正常, 増加例が約1/3ずつあり, なかには拡張型心筋症と同様な病態を呈する症例もある。組織学的には様々な程度に心筋細胞の変性萎縮と線維化が見られ, また残存心筋細胞に肥大が見られることもある。最近, 種々の細胞接着分子が心筋梗塞や心筋症の症例においてその発現が変化し, 心の収縮機構や不整脈の発生に関与することが報告されている^{2,4)}。これまでに筋ジストロフィー症例における心筋傷害とその細胞接着分子についての報告はないことから, 今回, DMD剖検心において各種細胞接着分子の発現について免疫組織化学的に検討した。

対象と方法

対象は1988年より2004年の間に国立病院機構徳島病院で剖検されたDMD 21例である。DMD剖検時の年齢は18歳から40歳まででその平均年齢は24歳, 心重量は150 gから560 gでその平均重量は290 g, 死因は呼吸不全12例, 心不全6例, 敗血症1例, 腹膜炎1例, 失血死1例であった (Table 1)。

パラフィン包埋された左室組織より標本を薄切作製し, labelled streptavidin biotin法 (DAKO LSAB KIT) で免疫染色した。細胞接着分子のそれぞれに対するマウスモノクローナル抗体NCAM (1:100, NOVOCASTRA, UK), N-cadherin (1:100, ZYMED, USA), β -catenin (1:200, Transduction Laboratories, KY) およびポリクローナル抗体Connexin (Cx) 43 (1:2000, SIGMA, USA) を用い, オートクレーブで120℃, 15分加熱処理した後, 室温で60分間反応させた。対照として心病変のない非筋ジストロフィー剖

Table 1 DMD剖検症例の年齢, 心重量, 臨床所見および剖検死因

No.	年齢(歳)	心重量(g)	臨床所見	剖検死因
1	18	560	心不全	心不全
2	20	490	心不全	心不全
3	24	400	DCM	心不全
4	21	350	DCM	心不全
5	32	150	IRBBB	心不全
6	26	160		心不全
7	18	420	心不全	呼吸不全
8	28	370	心不全	敗血症
9	18	170	心不全	呼吸不全
10	25	360	DCM	呼吸不全
11	31	200	PVC	呼吸不全
12	18	160	PVC	呼吸不全
13	27	120	PAT	腹膜炎
14	25	360	WPW	呼吸不全
15	40	250	CRBBB	呼吸不全
16	18	210	IRBBB	呼吸不全
17	31	340		呼吸不全
18	29	310		呼吸不全
19	18	260		失血死
20	30	250		呼吸不全
21	22	210		呼吸不全

DCM; dilated cardiomyopathy, IRBBB; incomplete right bundle branch block, PVC; premature ventricular contraction, PAT; paroximal atrial tachycardia, WPW; Wolff-Parkinson-White syndrome, CRBBB; complete right bundle branch block

検心を用い, 同様に標本を作製し免疫染色した。各種細胞接着分子の反応を-から+++に判定した。

結 果

Table 2 DMD 剖検心における NCAM, N-cadherin, β -catenin, Cx43 の発現

No.	NCAM	N-cadherin	β -catenin	Cx43
1	+	+	±	+
2	+	++	+	++
3	+	++	++	+
4	+	++	+	++
5	+	++	++	+
6	-	+	-	+
7	+	++	+	+
8	+	+	±	+
9	+	++	+	+
10	++	++	++	++
11	+	++	+	++
12	+	++	+	+
13	+	++	+	++
14	++	++	++	+
15	+	++	+	+
16	±	++	+	+
17	+	+	±	+
18	+	++	+	+
19	±	++	+	+
20	++	++	++	+
21	+	++	+	++

NCAM, N-cadherin, β -catenin, Cx43のいずれも対照心においては心筋細胞の介在板に発現していた (Figure 1, 4). DMD 症例でもすべての細胞接着分子は心筋細胞の介在板に存在した. その発現は心筋細胞の変性萎縮に伴い低下し, 不規則な分布が見られた. 細胞接着分子のなかでは N-cadherin の発現が最も保持されていた (Figure 2, Figure 4, Table 2).

なお, 興味深いことに, NCAM は左室壁線維化巣の内外に残存する肥大心筋細胞の細胞膜にその発現が強く認められた (Figure 3).

細胞接着分子の発現態度と臨床病態との関連を調べるため, 21 例を剖検死因が心不全のもの, 臨床所見で心病変あるいは心電図異常のあるもの, その他の 3 グループに分け, またグループ内でも心重量増減との関連を解析したが, 見出せなかった (Table 1, 2).

考 察

DMD ではジストロフィン欠損に起因する細胞膜の脆弱さのため, 心筋細胞は変性し萎縮している. なかには減少した心筋を代償するべく残存心筋が肥大していることもある. また変性壊死の置換として線維化が見られる. 筋ジストロフィー自体による全身の廃用による心筋傷害や循環不全のための虚血もあり, DMD の心不全には複雑な要因が関与している.

最近, 心筋梗塞や心筋症の不全心における心筋細胞の細胞接着分子の発現が検討され, その低下が心の収縮力の低下や不整脈発生に関与していることが報告されている^{21,3)}. 今回の検討では細胞間の接着接合を担う cadherin, β catenin,

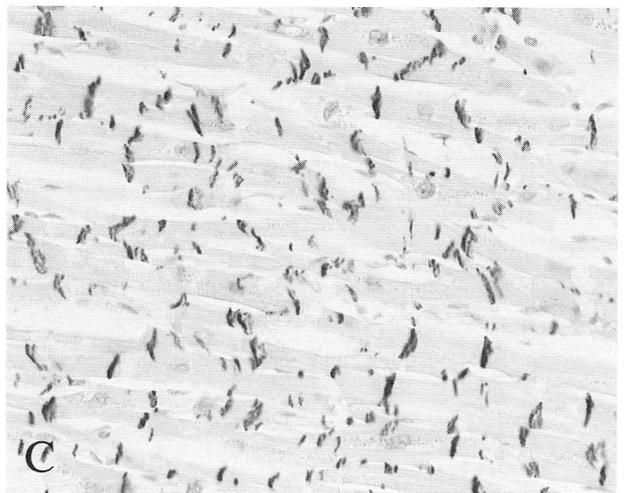


Figure 1 対照者心の心筋細胞の NCAM, N-cadherin, β -catenin の発現

NCAM(A), N-cadherin(B), β -catenin(C)はいずれも心筋細胞の介在板に発現していた. この中では N-cadherin が最も強く発現していた.

gap junction を構成する Cx43 のすべての細胞接着分子が DMD 症例の心筋細胞の介在板に存在していたが, 対照と比較するとその発現は低下していた.

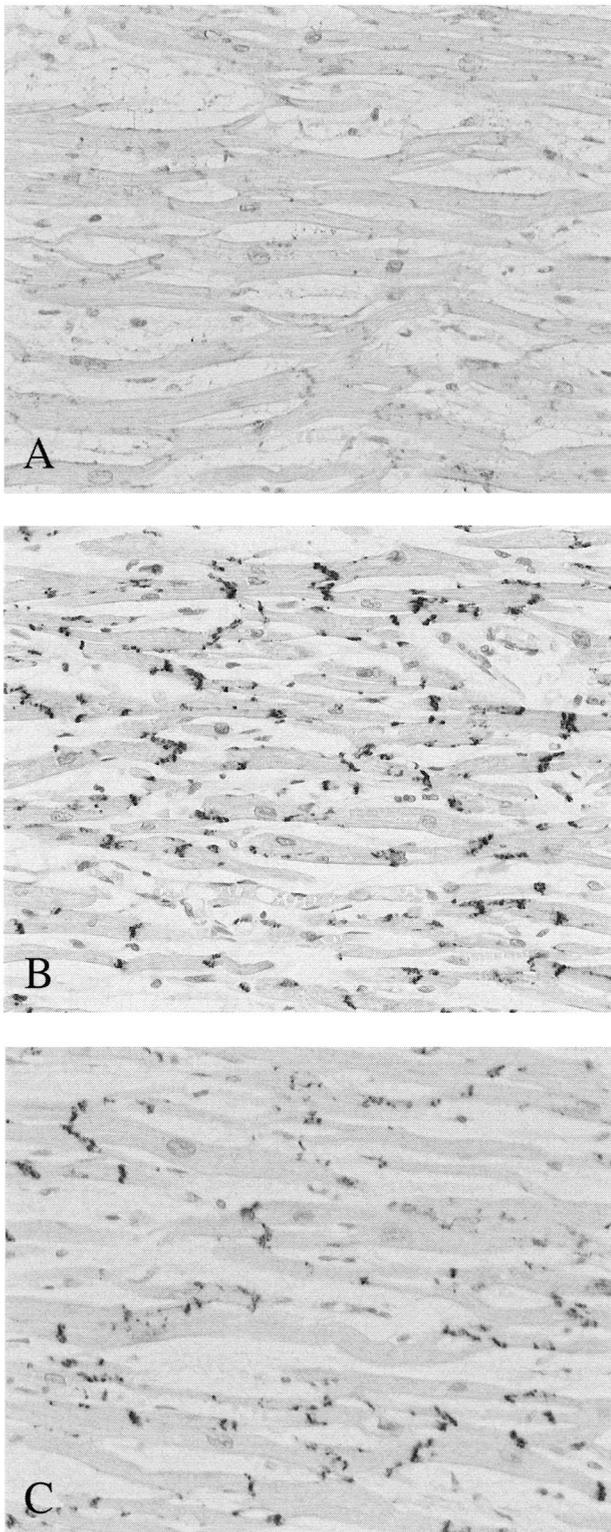


Figure 2 DMD心の心筋細胞のNCAM, N-cadherin, β -cateninの発現
NCAM(A), N-cadherin(B), β -catenin(C)はいずれも心筋細胞の介在板に発現していた。対照と比較するとすべての細胞接着分子の発現が低下していた。この中ではN-cadherinは最も保持されていた。

ラットにおいては心筋梗塞後に、残存心筋細胞での修復過程において初期にはCx43は消失するがcadherinは減少する

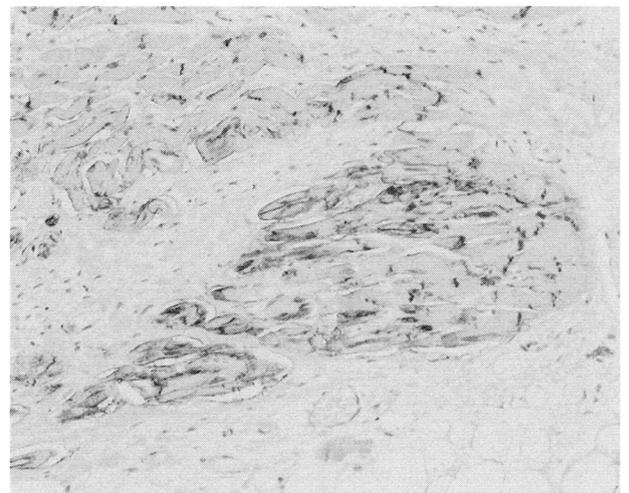


Figure 3 DMD心の左室壁線維化巣内に残存する心筋細胞のNCAMの発現
左室線維化巣に残存する肥大心筋細胞の細胞膜にNCAMが強く発現していた。

も残存する。その後の修復過程ではCxやcadherinは密接に関与しながら増加する。修復後はCx43の分布異常も見られる。さらに虚血状態が続くとcadherinやCxは減少すると報告されている²⁾。今回の検討では変性萎縮した心筋細胞の介在板に見られた細胞接着分子の発現は全例で減少しており、ラットの心筋細胞の修復過程で見られるようなCxやcadherinの増加例はなかった。しかしながら、左室壁内の線維化巣内に残存した肥大心筋にはNCAMの増加が見られた。NCAMは心筋細胞の細胞表面にも存在する⁴⁾、心筋細胞形成時に必要な細胞接着分子であるがcadherinやcateninとはその働きや局在が異なるとの報告もあり^{5),6)}、修復過程で見られるCxやcadherinと同様にNCAMの過剰発現を捕らえたものかもしれない。

心筋細胞におけるgap junctionは心筋間の興奮伝播の場として重要な役割を果たしている。その構成タンパクであるCxには主にCx40, Cx43, Cx45があるが、心室筋にはCx43が優位に発現している⁷⁾。Kostinらによると拡張型心筋症や心筋梗塞患者の不全心の心筋細胞でN-cadherinやCx43の発現は低下し、Cx43の局在異常が見られる⁸⁾。不全心の代償に肥大した心筋ではgap junctionの局在が変化し、介在板付近から心筋細胞の横側へ再分布するともある⁸⁾。我々の検討でもDMD心においてもCx43の発現は低下しており、また不規則な分布も見られた。これらgap junctionを構成するCxの減少や局在の変化は心の興奮伝播の遅延や異常を引き起こし、不整脈発生の要因になると考えられた。しかしながら、今回は臨床的な心不全や不整脈、剖検時の心重量や死因との関連は見出せなかった。

以上、我々はDMD心の心筋細胞における細胞接着分子の発現が低下していることを明らかにし、これが心の興奮伝播を遅延させ、心の収縮力の低下や不整脈発生の一因になることを示唆した。

文 献

- 1) 和田美智子, 香川典子, 佐野 壽昭: Duchenne型筋ジストロフィー剖検登録例の統計学的解析. 神経内科 2001; 54: 453-458
- 2) Matsushita T, Oyamada M, Fujimoto K, et al: Remodeling of cell-cell and cell-extracellular matrix interactions at the border zone of rat myocardial infarcts. *Circ Res* 1999; 85:1046-1055
- 3) Kostin S, Rieger M, Dammer S., et al: Gap junction remodeling and altered connexin 43 expression in the failing human heart. *Mol Cell Biochem* 2003; 242: 135-144
- 4) al-Mahdawi S, Shallal A, Wyse RK: Neural cell adhesion molecule (N-CAM) in fetal and mature human heart. *FEBS Lett* 1990; 267: 183-185
- 5) Soler AP, Knudsen KA: N-cadherin involvement in cardiac myocyte interaction and myofibrillogenesis. *Dev Biol* 1994; 162: 9-17
- 6) Linask KK, KnudsenKA, Gui Y-H:N-cadherin-catenin interaction: necessary component of cardiac cell compartmentalization during early vertebrate heart development. *Dev Biol* 1997; 185: 148-164
- 7) Coppens SR, Kaba RA, Halliday D, et al: Comparison of connexin expression patterns in the developing mouse heart and human fetal heart. *Mol Cell Biochem* 2002; 242: 121-127
- 8) Spach MS, Heidlage F, Dolber PC, et al: Electrophysiological effects of remodeling cardiac gap junction and cell size. Experimental and model studies of normal cardiac growth. *Circ Res* 2000; 86: 302-311

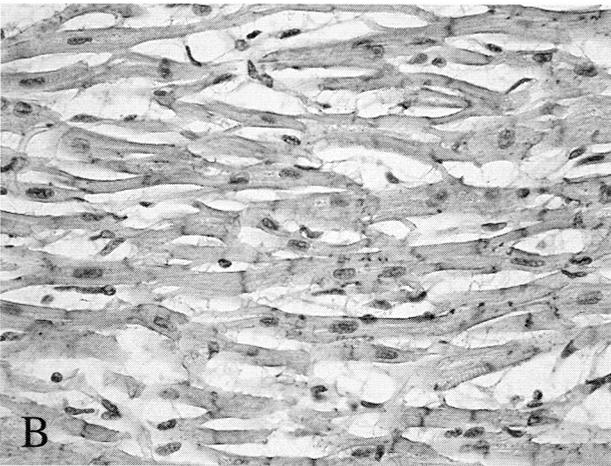
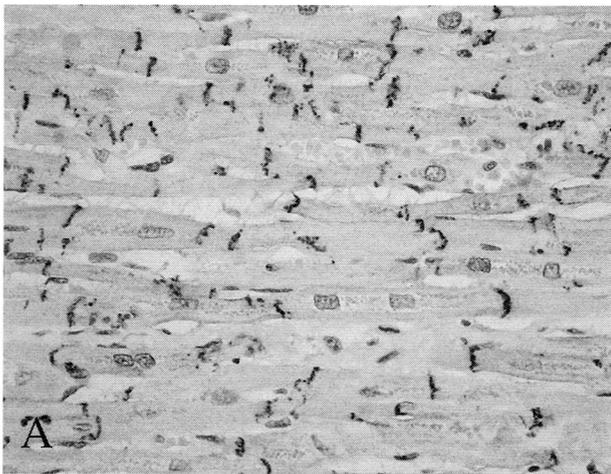


Figure 4 対照者心およびDMD心の心筋細胞のCx43の発現
Cx43は対照者心(A)およびDMD心(B)の心筋細胞の介在板に発現していた。DMDでの発現は対照と比較し低下し、局在の変化も見られた。

重症心不全に対する補助人工心臓治療 —筋ジス症例に対するVAS治療の可能性の検討—

許 俊鋭

1. 序論および研究の目的

内科的薬物治療に抵抗し高度心不全に陥った場合、現時点では心臓移植が究極の治療手段と考えられている。しかし、現在のORGAN PROCUREMENTシステムでは心臓移植が最も普及している米国においても最大限年間2000例の心臓移植施行が限界であり、心臓移植を必要としている症例の10%程度が移植医療を受けられるに過ぎない。それ故、心臓移植に替わる治療法が求められ、薬物治療抵抗性の難治性心不全に対して究極的には心臓移植を受け皿とした各種の外科治療が試みられてきた。これらの外科的治療の試みの中で、現時点で確実に患者を末期的心不全から救出できる治療は治療期間に限界があるにしても人工心臓以外にない。人工心臓には自己心を温存した形で心機能を補助するVAS (VAS=ventricular assist system) と自己心を完全に取り除き人工心臓に置換する完全置換型人工心臓 (TAH=total artificial heart) があり、ともに心臓移植へのブリッジデバイスとして臨床使用されてきた。心機能から見て心臓移植を必要とするが移植適応でない症例に対してHeartMate LVAS治療が内科治療より有効であることを証明するためにREMATCH studyが米国で実施され、一年生存および二年生存においてLVAS治療は内科治療より有意に延命効果が得られた。この結果より、一昨年秋にFDAはDestination TherapyとしてのHeartMate LVAS治療を承認した。VAS治療が心臓移植を受け皿とせずに慢性心不全症例に対しての治療手段として認知されたことになる^(1,2)。

筋ジストロフィー患者の心不全は予後に大きく関与する問題である。人工呼吸器を用いて呼吸不全を最大限サポートした場合に、筋ジストロフィー患者の半数が心不全で死亡するとされている。一般的には内科的治療が奏功しないような重症の心不全に対しては心臓移植が現在のところ最も有効な治療法であるが、Becker型以外の筋ジス症例に対する心臓適応は否定的である。それ故、筋ジストロフィー患者の末期的心不全克服のためには、心臓移植の代替治療としての人工心臓治療に大きな可能性と期待が持たれており、おそらく今日のVASテクノロジーの急速な進歩を鑑みた場合、その予測は正当な観測と言って間違いない。最近では体外設置式の東洋紡LVASは体重20kg前後の小児症例に対しても装着可能なことが分かっており、体格の点のみから議論した場合、筋ジストロフィー患者にも十分装着可能である。但し、胸郭変形や既に存在する高度の呼吸不全など、筋ジス患者に特有の

多くの問題点を検討し、解決していかなければならない。

3年間の研究では、以下の3項目について重点的に検討した。

- (1) LVAS治療の第一の問題は多臓器不全 (MOF) の克服であり初年度はMOF克服のための諸因子を検討し、LVAS流量 (Pump Flow Index=PFI) の重要性を明らかにした。
- (2) 第二年度は、LVAS症例の自己心回復の可能性を検討し、βブロッカーやACE阻害薬治療に加えて両心室ペースティング治療 (CRT) の有効性を明らかにした。
- (3) 第三年度は、体格が小さく胸郭変形の強い筋ジス症例に対して現存するLVASの装着可能性を検討する目的で、10歳 (23kg,BSA= 0.91 m²) と6歳 (16kg, BSA=0.72 m²) の小児症例に装着手術を実施した。更に、サンメディカル社製植込み型小型LVAS [EVAHEART=サイズ58mmx76mm (420g)] の小柄な献体 (BSA=1.4 m²) を用いたフィティングテストを実施した。

2. 心臓移植治療とVAS治療についての一般的事項

United Network for Organ Sharing (UNOS) 統計によれば、心臓移植後の生存率は疾患や年齢・移植前の心不全状態によっても異なるが1年生存率で80%~90%であり、3年生存率は70%~80%である。一方、現在心臓移植へのブリッジデバイスとしてFDA認可を得ているHeartMate LVAS (埋め込み型)、Novacor LVAS (埋め込み型)、Thoratec VAS (体外設置式) のブリッジ症例に対する平均補助期間は45日~148日であり、最長補助期間は566日~1869日であった。埋め込み型VASの中でHeartMate LVASは比較的血栓塞栓症の合併症が少ないため、ブリッジデバイスとしては空気駆動型 (IP) と電気駆動型 (VE) を合わせてNovacor LVASの2倍以上の症例に使用されている。しかし、HeartMate LVASは心臓移植待機が長期化した場合や半永久的使用にもちいた場合には1~2年の遠隔期に感染・機械的トラブルが発生しやすく、逆にNovacor LVASは遠隔期の機械的トラブルは少ない。Cleveland Clinic の報告³⁾では、過去10年間の264例のブリッジ症例を分析し、移植までの生存率は69%で、遠隔期治療成績にとって感染が最も大きな問題であった。本邦では過去10年間 (1992/4~2002/9) に心筋症に対して159例のVAS治療が施行された⁴⁾。全症例の平均補助期間は185日であり、最長補助期間は1090日 (Novacor LVAS) であった。国産型体外設置式の東洋紡LVASも左室脱血で用

いた場合、平均補助期間は267日であり、最長補助期間は1005日であった。心臓移植環境の違いがあるとはいえ米国でブリッジデバイスとしてFDA認可を得ている体外設置式Thoratec VASをはるかに凌駕する治療成績を上げている。159例中2002年度末までに心臓移植に至った症例は17例(本邦11例、米国6例)あり、離脱退院症例10例、補助継続中の症例が29例あった。本邦におけるVAS治療の適応基準は欧米先進国に比較して著しく厳しくほとんどの症例がVAS装着時にはIABPやPCPSなど他の補助循環からの移行あるいは多臓器不全合併症例であり、VASなくしては一ヶ月以内に全例死亡するものと考えられる。その意味で本邦における補助継続中を含めた生存56症例に対しては、VASは立派に心臓移植の代替治療となりえているものと考えられる。

3. 慢性心不全症例に対する延命治療としてのVAS治療

心臓移植にVASがとってかわることができるか否かは、遠隔期 mortality・morbidityを含めた長期予後とQOLの比較検討が必要であるが、心臓移植適応症例に対する両者の前向き無作為割付比較試験は全くない。しかし、心臓移植非適応症例にするVAS治療と内科治療の前向き無作為割付試験REMATCH studyは現在米国で進行しており、VAS治療の有効性を客観的に示すエビデンスはこの研究以外ない。中間報告⁹⁾では末期的慢性心不全129症例(NYHA、度)を対象としてHeartMate VE-LVAS治療と最大限の内科治療成績を比較し、1年生存率はLVAS治療(n=68)で52%、内科治療(n=61)で25%、2年生存率はLVAS治療で23%、内科治療で8%であった。LVAS治療は内科治療に対して1年生存率(P=0.002)、2年生存率(P=0.09)ともに有意に高く、48%の死亡率の減少が得られた。生存期間の中間値はLVAS治療で長く(408日 vs. 150日)、自宅滞在期間の中間値もLVAS治療で長かった(340日 vs. 106日)。また、治療1年後の種々のQOL ScoreもLVAS治療で優れていた。VAS治療が心臓移植の代替治療として成立するか否かは、心臓移植がどの程度実施可能な社会的環境であるかに依存する。米国のUNOS統計に見られるように1年生存率80%~90%、3年生存率70%~80%に比較した場合、現時点のVAS治療は米国の心臓移植適応症例においては心臓移植の代替治療とはなりえない。一方、過去5年間に本邦で実施された17例の心臓移植症例の中で11例がVASのブリッジ症例でありその平均補助期間は428日に昇る事、また現在わが国のブリッジ使用の主流となっている左室脱血型東洋紡LVAS(平均補助期間267日)、Novacor LVAS(平均補助期間301日)、HeartMate VE~LVAS(平均補助期間239日)の補助期間を考慮した場合、わが国においては延命効果という点だけでもVAS治療は心臓移植の代替治療となり得るものと考えられる。それ故、心臓移植の適応除外と考えられる大部分の筋ジストロフィー症例に対するVAS治療は承認されるべきものと考えられる。

4. 本邦で筋ジストロフィー患者にVASを適応する際の考え方

先進国の中で、臓器移植制限法とも言うべき臓器移植法を持つわが国において心臓移植代替治療の要請は極めて高い。その意味において、今日のわが国ではVAS治療は心臓移植以上に重要な地位を占めており、今後更に一層重要な重症心不全治療法となる。1999年に大阪大学で再開第一例目の心臓移植が実施されてから、本邦においても心筋症に対するVAS治療は著しく増加した。しかし、1年間に約40例の新しいVAS治療症例が発生するのに対して心臓移植は7年半で22例に実施されたのみであり、ブリッジ症例は年間平均2例が心臓移植に到達したに過ぎず、VAS離脱生存および海外渡航移植をあわせてもその数は10例に満たない。すなわち、本邦における末期的心不全症例に対するVAS治療は80%の可能性でdestination therapyの側面を持ちっていると考えるべきであろう。それ故、大部分の筋ジストロフィー症例にとって、VAS治療は一般的な重症心不全症例よりも受け入れやすいかもしれない。心臓移植の受け皿の議論よりもQOLの改善が主たる治療目的として限定してよいと考えられるからである。destination therapyにおいては、VAS治療症例にいたずらに入院待機を強いるよりも延命効果、社会復帰効果、QOLの改善にもっと精力を注ぐべきであろう。

5. MOF克服のための諸因子を検討:LVAS流量(Pump Flow Index=PFI)の重要性

1992年以降LVAS治療を施行した末期重症心不全症例35例を対象とし、pump flow index (PFI, LVAS装着後2週間の平均pump流量/BSA)を指標として臓器不全からの回復の有無を、またMOFを克服しながら遠隔期に死亡した10症例についてその死因を検討した。各臓器不全は以下のように定義した。①呼吸不全: 酸素投与下に動脈血酸素分圧70 Torr以下の場合。②肝不全: 血清総ビリルビン値2 mg/dl以上あるいはALT値80 IU/L以上。③腎不全: 0.5 mL/kg/hour以下の乏尿が6時間以上続く、あるいは血清クレアチニン値1.8 mg/dl以上。④感染: 白血球数10000/mm³以上あるいはCRP 3 mg/dl以上あるいは臨床的に明らかに感染症状を有する場合とした。

- (1) 臓器不全克服に必要なpump flowの検討: LVAS補助開始前にMOFを合併した20症例の臓器不全は、①呼吸不全: PFI 2.0 L/min/m²以上 ②肝障害: PFI 2.5 L/min/m²以上 ③腎障害: PFI 2.8 L/min/m²以上 ④感染: PFI 3.0 L/min/m²以上を維持することによりほぼ脱却しうることがそれぞれ明らかとなった。
- (2) 死因: 全身状態が心臓移植可能な状態まで回復しながら生存退院不可能であった10例の死因は、感染(敗血症)4例、脳梗塞・出血4例、VAS離脱後LOS 1例、VAS破損1例であり、脳梗塞の原因としてカニューーラ近傍の感染(1例)や感染性脳動脈瘤破裂が疑われた症例(1例)も含めると感染が原因と思われる症例は6例であった。

重症心不全症例に対するLVAS装着手術を施行するにあたって、個々の患者の状態により目標とすべきポンプ流量が今回の検討より明らかとなった。また、術後遠隔期に最も留意すべき合併症はポンプに起因する血栓塞栓症と共に、感染

多臓器不全克服のためのVAS流量は？

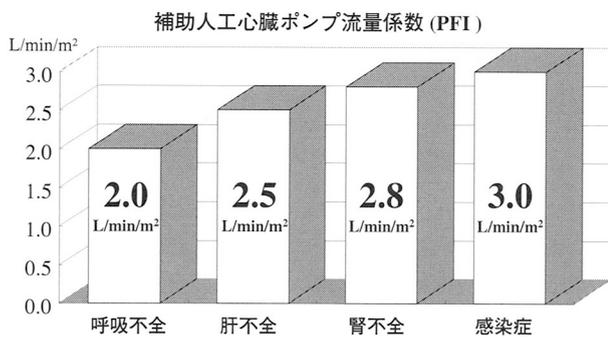


図1 多臓器不全克服のためのVAS補助流量

重症心不全症例に対する補助循環
左心補助人工心臓 (1992-2004)

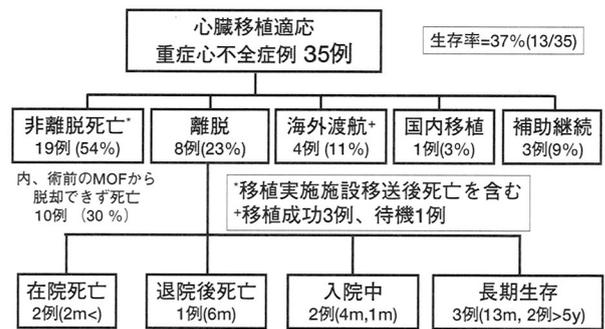


図2 埼玉医科大学におけるVAS治療成績

体外設置型補助人工心臓



小児症例 (10y, 23kg) のVAS治療
1ヵ月後ドイツへ渡航：移植待機中

図3 小児症例に対する東洋紡LVAS(左室脱血)植え込み手術

症が重要であることが判明した。

結論：感染・臓器不全合併するような症例に対するLVAS装着術を成功させるためには、ポンプの流量が3.0 L/min/m²以上を確保できるような装置を選択するべきであり、またそのような術後管理を心がけるべきであると考えられた(図1)が重要であるとかんがえられる。

6. 自己心回復へのVAS治療

VAS装着症例でMOFを克服し安定期に入った症例に対してβ-blockerおよびACE阻害薬を含む内科治療を再開すると同時に、心電図上QRS幅が130msec以上の症例に対して積極的に両心室ペーシングを実施した。1992年～2004年待つまでに35例の心臓移植適応症例にLVAS治療が実施された。その中で8例(23%)が自己心機能回復によりVASから離脱しえた。35例中19例はVAS装着状態で死亡し、内

10例はMOFを克服できず死亡したが9例は心臓移植待機状態でVAS合併症のために死亡した。安定期に入り心臓移植を目的とした海外渡航4例、2年10ヶ月のVAS補助の後国内での心臓移植1例、現時点でVAS補助下に国内移植待機が3例である(図2)。最近の離脱4例に対しては積極的な内科治療に加えて両心室ペーシング治療を実施し、3例で離脱に成功した。1例は離脱後MRSA縦隔炎で失ったが、2例は6ヶ月～18ヶ月の離脱後経過で良好な心機能を維持している(表1)。

7. 小柄な体格に対するVAS装着可能性の検討

(1) 東洋紡VASの小児症例に対する装手術の検討

現在、保険で使用できるVASは東洋紡VAS成人用のみであり、どの程度小柄な症例まで装着手術が可能かについての見当はない。今回、10歳(23kg,BSA=0.91 m²)と

表1 LVAS症例に対する両心室ペーシング治療成績 (埼玉医科大学)

症例	診断	治療	CRT有効性	転帰
1. 50y, M	DCM	VAS+ CRT(手術時)	無効	退院後死亡 VAS(1年4ヶ月)
2. 34y, M	DCM	VAS+ CRT(離脱時)	有効	VAS離脱生存退院
3. 34y, M	慢性心筋炎	VAS+ CRT(離脱時)	有効	VAS離脱後死亡 MRSA 縦隔炎
4. 28y, M	DCM	VAS+ CRT(離脱時)	有効	VAS離脱生存 入院リハビリ中

EVAHEART Cadaver Implantation

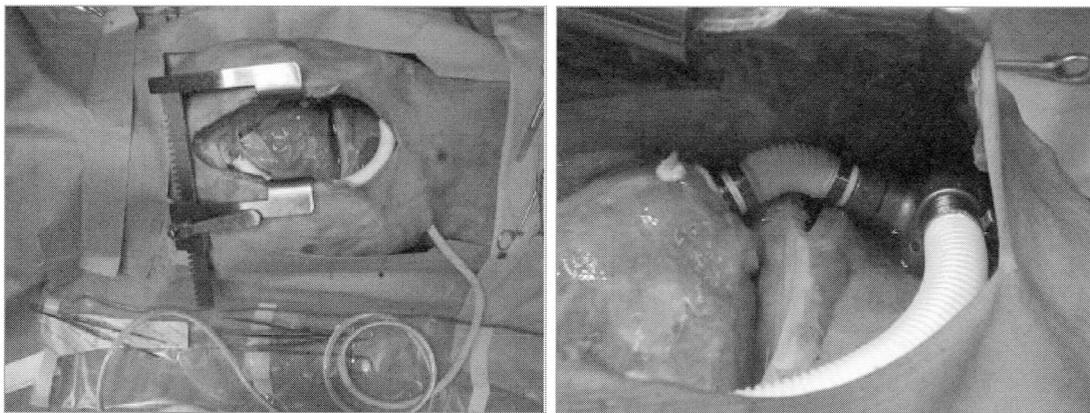


図4 定常流VAS (EVAHEART) の死体植え込み実験

6歳 (16kg, BSA=0.72 m²) の小児症例に装着手術を実施した。装着手術では脱血管トンネルを最適位置に設けるためには肋骨弓の角度が鈍角であることが重要と考えられた (図3)。但し、成人用のポンプサイズ (70ml) に対して一心拍の駆出量 (20ml 程度) が少なくポンプない血栓形成の防止に苦慮した。

(2) 次世代小型植え込み型VAS (EVAHEART) の死体を用いた植え込み試験

サンメディカル社製植え込み型VAS (EVAHEART) は サイズ58mm×76mm (420g) で、小柄な日本人にも容易に装着が可能と考えられる。今回、献体 (BSA=1.4m²) を用いてフィティングテストを実施、筋ジス症例のような更に体格の小さな症例に対する装着可能性について検討した。次世代小型植え込み型VAS (EVAHEART) の死体を用いた植え込み試験ではBSA=1.4m² の小柄な体格でも良好なフィティングテストが得られ、BAS=1.3m² 程度の小柄な体格でも十分埋め込めることが明らかになった (図4)。

東洋紡VASは肋骨弓の角度が良好であれば、手術手技的には体重20kg程度の小柄な体格でも十分装着が可能である。しかし、ポンプサイズと一回駆出量のミスマッチは血栓防止の観点から大きな問題となる。一方、延命を

目的としたVAS治療には体内設置式VASが望ましく、今回のEVAHEARTを用いた検討ではBAS=1.3m²以上の症例で装着可能と判定された。筋ジス症例に対しては今後胸郭変形についても検討を必要とする。

6. 参考文献

- 1) 許 俊鋭, 西村元延: 心臓移植へのVAS-その適応と問題点. 医学のあゆみ 2003; 205(9): 683-687
- 2) 許 俊鋭: 植え込み型人工心臓の現況. 矢崎義雄, 山口徹, 高本真一, 中澤 誠編集「Annual Review 循環器2004」, 中外医学社 (東京). 2003, 169-174
- 3) Navia JL, McCarthy PM, Hoercher KJ, Smedira NG, Banbury MK, Blackstone EH.: Do left ventricular assist device (LVAD) bridge-to-transplantation outcomes predict the results of permanent LVAD implantation? Ann Thorac Surg 2002; 74(6):2051-62
- 4) 中谷武嗣:2001年日本VASレジストリー, 第8回日本臨床VAS研究会 (2002.10.4, 札幌)
- 5) Rose EA, Gelijns AC, Moskowitz AJ, et al: Long-term use of a left ventricular assist device for end-stage heart failure. N Engl J Med 2001;345:1435~43

EM-algorithmによる生存関数の推定

菊池 泰樹*, 野間口謙太郎**, 安楽 和夫**

要旨：臨床試験においては治療中止，転院などによる脱落が生じたり，研究期間の終了時における被験者の生存によって寿命のデータが得られない症例も数多くありうる．このような症例を欠損データとみなしてモデルを構築する．欠損値をもつデータの解析に広く利用されているEM-algorithmによる生存関数の推定法を開発する．

Key words：Gamma-Weibull分布，一般ガンマ分布，EM-algorithm

1. はじめに

生存時間分析においては通常，生存時間 T の分布として指数分布，あるいはWeibull分布が仮定される．本稿ではWeibull分布，およびこの分布を拡張した2つの分布を仮定した場合のEM-algorithm (McLachlan and Krishnan, 1997) による生存関数の推定法について論ずる．

2. データ構造

ここでは，丹後 (2000) に倣って臨床試験によって得られるデータが以下のようにまとめられているとする．

- イベントが確認された相異なる生存時間
 $t_0 (= 0) < t_1 < t_2 < \dots < t_j < \dots < t_m$
- d_j ：同じ生存時間 t_j を記録した症例数， $d_0 = 0$
- 左閉右半開区間 $[t_j, t_{j+1})$ に w_j 例が何らかの理由で追跡不能となり，打ち切られた時間
 $\{t_{j1}, t_{j2}, \dots, t_{jw_j}\}$
- 全症例数： $n_0 = \sum_{j=1}^m d_j + \sum_{j=0}^m w_j$

3. Weibull分布による生存関数の推定

生存時間 T の分布に次の確率密度関数をもつWeibull分布を仮定した場合の推定法について述べる．

$$f(t; \theta) = \frac{c}{\eta} \left(\frac{t}{\eta}\right)^{c-1} \exp\left(-\left(\frac{t}{\eta}\right)^c\right), \quad t \geq 0 \quad (1)$$

ここで，パラメータは $\theta = (\eta, c)$ である．密度関数が (1) で与えられるとき，生存関数は

$$S(t) = P(T \geq t) = \exp\left(-\left(\frac{t}{\eta}\right)^c\right)$$

となり，2節のデータに対して，対数尤度関数は次で与えられる．

$$l(\theta) = \sum_{j=1}^m d_j \log f(t_j; \theta) + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \log S(t_{jk}; \theta)$$

$$= r(\log c - c \log \eta) + (c-1) \sum_{j=1}^m d_j \log t_j - \frac{1}{\eta^c} \left(\sum_{j=1}^m d_j t_j^c + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} t_{jk}^c \right)$$

この場合，パラメータ $\theta = (\eta, c)$ はNewton-Raphson法によって最尤推定値が得られるから，あえてEM-algorithmを用いる必要はない．しかし，EM-algorithmの妥当性について考察するため，あえてEM-algorithmによる解析を行ったところ，これによって得られる推定値がNewton-Raphson法によって得られる推定値へ収束することが確認された．

4. Gamma-Weibull分布による生存関数の推定

本節では3節のWeibull分布を拡張し，次の確率密度関数

$$f(t; \theta) = \frac{1}{\Gamma(\alpha)} \frac{c}{\eta} \left(\frac{t}{\eta}\right)^{c\alpha-1} \exp\left(-\left(\frac{t}{\eta}\right)^c\right), \quad t \geq 0 \quad (2)$$

をもつGamma-Weibull分布を仮定したときの推定法について述べる．ここで，パラメータは $\theta = (\eta, c, \alpha)$ である．密度関数が (2) で与えられるとき，生存関数は

$$\begin{aligned} S(t; \theta) &= P(T \geq t) \\ &= \frac{1}{\Gamma(\alpha)} \int_t^\infty \frac{c}{\eta} \left(\frac{v}{\eta}\right)^{c\alpha-1} \exp\left(-\left(\frac{v}{\eta}\right)^c\right) dv \\ &= \frac{1}{\Gamma(\alpha)} \int_{(t/\eta)^c}^\infty u^{\alpha-1} e^{-u} du \end{aligned}$$

と積分の形で与えられ，2節のデータに対して対数尤度関数は

$$\begin{aligned} l(\theta) &= \sum_{j=1}^m d_j \log f(t_j; \theta) + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \log S(t_{jk}; \theta) \\ &= \sum_{j=1}^m d_j \left\{ -\log \Gamma(\alpha) + \log \frac{c}{\eta} \right. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& + (c\alpha - 1) \log \frac{t_j}{\eta} - \left(\frac{t_j}{\eta} \right)^c \Big\} \\
& + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \left\{ -\log \Gamma(\alpha) \right. \\
& \quad \left. + \log \int_{(t_{jk}/\eta)^c}^{\infty} u^{\alpha-1} e^{-u} du \right\}
\end{aligned}$$

となり、この対数尤度関数から通常の方法で最尤推定量を求める事は容易ではない。そこで、

$$y = (t_j, d_j, t_{jk}; j = 0, 1, \dots, m, k = 1, 2, \dots, w_j)$$

を観測データ (不完全データ) とし、時刻 t_{jk} で観測が打ち切られた症例が追跡不能とならなかったと仮定したときの生存時間を z_{jk} ,

$$z = (z_{jk}; j = 0, 1, \dots, m, k = 1, 2, \dots, w_j)$$

を非観測データ、完全データと

$$x = (y, z)$$

として、EM-algorithm を適用する。完全データ x に対して対数尤度関数は

$$\begin{aligned}
\log f(x|\theta) &= \sum_{j=1}^m d_j \log f(t_j; \theta) \\
&+ \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \log f(z_{jk}; \theta) \\
&= n_0(-\log \Gamma(\alpha) + \log c - c\alpha \log \eta) \\
&- \frac{1}{\eta^c} \left(\sum_{j=1}^m d_j t_j^c + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} z_{jk}^c \right) \\
&+ (c\alpha - 1) \left(\sum_{j=1}^m d_j \log t_j \right. \\
&\quad \left. + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \log z_{jk} \right) \quad (3)
\end{aligned}$$

で与えられる。

E(xpectation)-step

ℓ 回の反復後の推定値 $\hat{\theta}^{(\ell)} = (\hat{\eta}^{(\ell)}, \hat{c}^{(\ell)}, \hat{\alpha}^{(\ell)})$ が得られたとき、 Q -function は y が与えられたときの次の条件付き期待値を求めることによって得られる。

$$\begin{aligned}
& E \left[Z_{jk}^c | y; \hat{\theta}^{(\ell)} \right] \\
&= E \left[Z_{jk}^c | \hat{\theta}^{(\ell)}; Z_{jk} > t_{jk} \right], \\
& E \left[\log Z_{jk} | y; \hat{\theta}^{(\ell)} \right] \\
&= E \left[\log Z_{jk} | \hat{\theta}^{(\ell)}; Z_{jk} > t_{jk} \right].
\end{aligned}$$

T が密度関数 (2) をもつとき、 $\hat{\theta}^{(\ell)}$ が得られたときの、 $Z_{jk} > t_{jk}$ の下での Z_{jk} の条件付き確率密度関数は

$$\begin{aligned}
g_{jk}^{(\ell)}(z_{jk}) &= \frac{1}{A_{jk}^{(\ell)} \hat{\eta}^{(\ell)}} \left(\frac{z_{jk}}{\hat{\eta}^{(\ell)}} \right)^{\hat{c}^{(\ell)} \hat{\alpha}^{(\ell)} - 1} \\
&\cdot \exp \left(- \left(\frac{z_{jk}}{\hat{\eta}^{(\ell)}} \right)^{\hat{c}^{(\ell)}} \right), \quad z_{jk} > t_{jk}
\end{aligned}$$

で与えられる。ここで、

$$\begin{aligned}
A_{jk}^{(\ell)} &= \int_{u_{jk}^{(\ell)}}^{\infty} u^{\hat{c}^{(\ell)} - 1} e^{-u} du, \\
u_{jk}^{(\ell)} &= \left(\frac{t_{jk}}{\hat{\eta}^{(\ell)}} \right)^{\hat{c}^{(\ell)}}
\end{aligned}$$

とおいた。(3) 式より Q -function として次を得る。

$$\begin{aligned}
& Q(\theta | \hat{\theta}^{(\ell)}) \\
&= E \left[\log f((y, Z) | \theta) | y; \hat{\theta}^{(\ell)} \right] \\
&= n_0(-\log \Gamma(\alpha) + \log c - c\alpha \log \eta) \\
&- \frac{1}{\eta^c} \left(\sum_{j=1}^m d_j t_j^c + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} e_{1,jk}^{(\ell)} \right) \\
&+ (c\alpha - 1) \left(\sum_{j=1}^m d_j \log t_j + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} e_{2,jk}^{(\ell)} \right)
\end{aligned}$$

ここで、

$$\begin{aligned}
e_{1,jk}^{(\ell)} &= E \left[Z_{jk}^c | \hat{\theta}^{(\ell)}; Z_{jk} > t_{jk} \right] \\
&= \int_{t_{jk}}^{\infty} t^c g_{jk}^{(\ell)}(t) dt \\
&= \frac{1}{A_{jk}^{(\ell)}} \left(\hat{\eta}^{(\ell)} \right)^c \\
&\cdot \int_{u_{jk}^{(\ell)}}^{\infty} u^{c/\hat{c}^{(\ell)} + \hat{\alpha}^{(\ell)} - 1} e^{-u} du,
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
e_{2,jk}^{(\ell)} &= E \left[\log Z_{jk} | \hat{\theta}^{(\ell)}; Z_{jk} > t_{jk} \right] \\
&= \int_{t_{jk}}^{\infty} \log t g_{jk}^{(\ell)}(t) dt \\
&= \frac{1}{A_{jk}^{(\ell)}} \int_{u_{jk}^{(\ell)}}^{\infty} \left(\log \hat{\eta}^{(\ell)} + \frac{\log u}{\hat{c}^{(\ell)}} \right)
\end{aligned}$$

$$u^{\hat{\alpha}^{(\ell)} - 1} e^{-u} du$$

とおいた。

注意 $e_{1,jk}^{(\ell)}$ は c を含み、 η, α を含まない。 $e_{2,jk}^{(\ell)}$ は η も c も α も含まない。

M(aximization)-step

$Q(\theta | \hat{\theta}^{(\ell)})$ を最大にする $\theta = (\eta, c, \alpha)$ は Newton-Raphson 法によって求められる。

M-step のおける Newton-Raphson 法においては、ガンマ関数の取り扱いに注意を要するため、アルゴリズムの構成にさらなる考察が必要であることがわかってきた。

5. 一般 Gamma 分布による生存関数の推定

本節では 4 節の Gamma-Weibull 分布をさらに拡張し、次の確率密度関数

$$f(t; \theta) = \frac{1}{\Gamma(\alpha)} \frac{c}{\eta} \left(\frac{t-\gamma}{\eta} \right)^{c\alpha-1} \cdot \exp \left(- \left(\frac{t-\gamma}{\eta} \right)^c \right), \quad t \geq \gamma > 0 \quad (4)$$

をもつ一般 Gamma 分布を仮定したときの推定法について述べる。ここで、パラメータは $\theta = (\eta, c, \alpha, \gamma)$ である。密度関数が (4) で与えられるとき、生存関数は

$$\begin{aligned} S(t; \theta) &= P(T \geq t) \\ &= \frac{1}{\Gamma(\alpha)} \int_t^\infty \frac{c}{\eta} \left(\frac{v-\gamma}{\eta} \right)^{c\alpha-1} \exp \left(- \left(\frac{v-\gamma}{\eta} \right)^c \right) dv \\ &= \frac{1}{\Gamma(\alpha)} \int_{((t-\gamma)/\eta)^c}^\infty u^{\alpha-1} e^{-u} du \end{aligned}$$

と積分の形で与えられ、2 節のデータに対して対数尤度関数は

$$\begin{aligned} l(\theta) &= \sum_{j=1}^m d_j \log f(t_j; \theta) + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \log S(t_{jk}; \theta) \\ &= \sum_{j=1}^m d_j \left\{ -\log \Gamma(\alpha) + \log \frac{c}{\eta} \right. \\ &\quad \left. + (c\alpha - 1) \log \frac{t_j - \gamma}{\eta} - \left(\frac{t_j - \gamma}{\eta} \right)^c \right\} \\ &\quad + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \left\{ -\log \Gamma(\alpha) \right. \\ &\quad \left. + \log \int_{((t_{jk}-\gamma)/\eta)^c}^\infty u^{\alpha-1} e^{-u} du \right\} \end{aligned}$$

となり、この対数尤度関数から通常の方法で最尤推定量を求める事は容易ではない。そこで、前節のように完全データ x を設定して、EM-algorithm を適用する。完全データ x に対して対数尤度関数は

$$\log f(x | \theta)$$

$$\begin{aligned} &= \sum_{j=1}^m d_j \log f(t_j; \theta) + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \log f(z_{jk}; \theta) \\ &= n_0(-\log \Gamma(\alpha) + \log c - c\alpha \log \eta) \\ &\quad - \frac{1}{\eta^c} \left(\sum_{j=1}^m d_j (t_j - \gamma)^c \right. \\ &\quad \left. + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} (z_{jk} - \gamma)^c \right) \\ &\quad + (c\alpha - 1) \left(\sum_{j=1}^m d_j \log (t_j - \gamma) \right. \\ &\quad \left. + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} \log (z_{jk} - \gamma) \right) \quad (5) \end{aligned}$$

で与えられる。

E(xpectation)-step

ℓ 回の反復後の推定値 $\hat{\theta}^{(\ell)} = (\hat{\eta}^{(\ell)}, \hat{c}^{(\ell)}, \hat{\alpha}^{(\ell)}, \hat{\gamma}^{(\ell)})$ が得られたとき、 Q -function は y が与えられたときの次の条件付き期待値を求めることによって得られる。

$$\begin{aligned} &E \left[(Z_{jk} - \gamma)^c \mid y; \hat{\theta}^{(\ell)} \right] \\ &= E \left[(Z_{jk} - \gamma)^c \mid \hat{\theta}^{(\ell)}; Z_{jk} > t_{jk} \right], \\ &E \left[\log (Z_{jk} - \gamma) \mid y; \hat{\theta}^{(\ell)} \right] \\ &= E \left[\log (Z_{jk} - \gamma) \mid \hat{\theta}^{(\ell)}; Z_{jk} > t_{jk} \right]. \end{aligned}$$

T が密度関数 (4) をもつとき、 $\hat{\theta}^{(\ell)}$ が得られたときの、 $Z_{jk} > t_{jk}$ の下での Z_{jk} の条件付き確率密度関数は

$$\begin{aligned} &g_{jk}^{(\ell)}(z_{jk}) \\ &= \frac{1}{A_{jk}^{(\ell)} \hat{\eta}^{(\ell)}} \left(\frac{z_{jk} - \hat{\gamma}^{(\ell)}}{\hat{\eta}^{(\ell)}} \right)^{\hat{c}^{(\ell)} \hat{\alpha}^{(\ell)} - 1} \\ &\quad \cdot \exp \left(- \left(\frac{z_{jk} - \hat{\gamma}^{(\ell)}}{\hat{\eta}^{(\ell)}} \right)^{\hat{c}^{(\ell)}} \right), \quad z_{jk} > t_{jk} \end{aligned}$$

で与えられる。ここで、

$$\begin{aligned} A_{jk}^{(\ell)} &= \int_{u_{jk}^{(\ell)}}^\infty u^{\hat{\alpha}^{(\ell)} - 1} e^{-u} du, \\ u_{jk}^{(\ell)} &= \left(\frac{t_{jk} - \hat{\gamma}^{(\ell)}}{\hat{\eta}^{(\ell)}} \right)^{\hat{c}^{(\ell)}} \end{aligned}$$

とおいた。(5) 式より Q -function として次を得る。

$$Q(\theta | \hat{\theta}^{(\ell)})$$

$$\begin{aligned}
&= E \left[\log f((y, Z) | \theta) | y; \hat{\theta}^{(\ell)} \right] \\
&= n_0 (-\log \Gamma(\alpha) + \log c - c\alpha \log \eta) \\
&\quad - \frac{1}{\eta^c} \left(\sum_{j=1}^m d_j (t_j - \gamma)^c + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} e_{1,jk}^{(\ell)} \right) \\
&\quad + (c\alpha - 1) \left(\sum_{j=1}^m d_j \log(t_j - \gamma) \right. \\
&\quad \quad \left. + \sum_{j=0}^m \sum_{k=1}^{w_j} e_{2,jk}^{(\ell)} \right)
\end{aligned}$$

ここで,

$$\begin{aligned}
e_{1,jk}^{(\ell)} &= E \left[(Z_{jk} - \gamma)^c | \hat{\theta}^{(\ell)}; Z_{jk} > t_{jk} \right] \\
&= \int_{t_{jk}}^{\infty} (t - \gamma)^c g_{jk}^{(\ell)}(t) dt \\
&= \frac{1}{A_{jk}^{(\ell)}} \int_{u_{jk}^{(\ell)}}^{\infty} \left(\hat{\eta}^{(\ell)} u^{1/\hat{c}^{(\ell)}} + \hat{\gamma}^{(\ell)} - \gamma \right)^c \\
&\quad u^{\hat{\alpha}^{(\ell)} - 1} e^{-u} du,
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
e_{2,jk}^{(\ell)} &= E \left[\log(Z_{jk} - \gamma) | \hat{\theta}^{(\ell)}; Z_{jk} > t_{jk} \right] \\
&= \int_{t_{jk}}^{\infty} \log(t - \gamma) g_{jk}^{(\ell)}(t) dt \\
&= \frac{1}{A_{jk}^{(\ell)}} \int_{u_{jk}^{(\ell)}}^{\infty} \log \left(\hat{\eta}^{(\ell)} u^{1/\hat{c}^{(\ell)}} + \hat{\gamma}^{(\ell)} - \gamma \right) \\
&\quad u^{\hat{\alpha}^{(\ell)} - 1} e^{-u} du
\end{aligned}$$

とおいた.

注意 $e_{1,jk}^{(\ell)}$ は c, γ を含み, η, α を含まない. $e_{2,jk}^{(\ell)}$ は γ を含み, η も c も α も含まない.

M(maximization)-step

$Q(\theta | \hat{\theta}^{(\ell)})$ を最大にする $\theta = (\eta, c, \alpha, \gamma)$ は Newton-Raphson 法によって求められる.

M-step における Newton-Raphson 法においては, 前節の Gamma-Weibull 分布の場合と同様, Gamma 関数の取り扱いに注意が必要である. さらに, 一般ガンマ分布の場合にはシフトパラメータ γ の推定法に別のアプローチが考えられる.

また, このようなシフトパラメータを含むモデルでは, 分布の正則条件が満たされないため, 推定値の精度の推定が困難である. この問題点についてもさらなる研究が必要である.

参考文献

1. McLachlan GJ, Krishnan, T : The EM Algorithm and extensions, John Wiley & Sons, New York, 1997.
2. 丹後俊郎 : 統計モデル入門, 朝倉書店, 東京, 2000.

3年間における研究成果

尾形 仁子

Duchenne型進行性筋ジストロフィー (DMD) は若年より重篤な心筋障害を合併する場合があります、拡張型心筋症及び心不全発症のハイリスク群と考えられる。本症は骨格筋障害のため心負荷が軽減されており心機能が低下しても無症状で経過する場合が多い。このため症状が出現した時は心不全がかなり進行していると考えられる。DMDにおける心筋障害の問題点として1) 時に短期間に心筋障害が進行することがある、2) 心不全を発症してからは急速に悪化すること、3) 心不全を発症してからACE阻害薬やβ遮断薬を開始した場合予後は改善されるが、長期間心不全症状の反復に悩まされること、があげられる。我々はDMDにおいては早期から心筋障害のスクリーニングを行ない、早期診断、早期治療により心筋保護に努める必要があると考えている。

はじめに

1) DMDの心不全に対する早期治療について

我々は心不全の出現以前から左室収縮能の低下しているDMD患者10例に対しACE阻害薬とβ遮断薬を使用し経過を観察している。年齢は 23.7 ± 7.1 歳、β遮断薬開始年齢 19.3 ± 5.5 歳(12.5—31.3歳)。開始時のLVDd 55.7 ± 4.1 mm, %FS $17.8 \pm 5.0\%$, LVEF $40.7 \pm 9.2\%$, BNP 27.1 ± 33.4 pg/ml。観察期間 5.5 ± 2.9 年(2—10年)。使用しているβ遮断薬はビソプロロール 7名、メトプロロール 2名、カルベジロール 1名。ACE阻害薬はエナラプリル 8名、リジノプリル 2名。10名とも今までに心不全の発症をみていない。以下症例を呈示する。

【症例—1】

現在29歳。遺伝子欠失は不明。DMDの家族歴なし。24歳時、LVDd 63mm, %FS10%と心機能の低下を認めた。BNPは20pg/mlと正常範囲。この時車椅子の生活で自覚症状なし。ACE阻害薬、引き続いてβ遮断薬を開始。現在電動車椅子を使用。現在の処方方はビソプロロール2.5mg, エナラプリル2.5mg, ジゴキシシン0.125mg。治療開始から5年間症状は安定している。経過中左室内腔の拡大は抑制されLVDdは50mm台に保たれ治療開始時に比べると低下の傾向にある。%FSの低下も抑制されている。BNPは20pg/ml以下の低い値で経過している。

【症例—2】

現在24歳。母は保因者でDCM。15歳時ACE阻害薬開始。17歳よりβ遮断薬を開始。治療開始時LVDd 54mm, %FS13%。安定していたが20歳時麻痺性イレウス発症。呼吸不全を併発した。以後NIVに移行。現在電動車椅子使用、夜間のみNIVで心不全症状なし。現在の処方方はビソプロロール2.5mg, リシノプリル2.5mg, ジゴキシシン

0.125mg, フロセミド40mg。治療開始後約4年間心不全の発症なし。LVDdも50mm台, %FSも20%台, BNPも20—40pg/mlの間で経過している。

【症例—3】

現在29歳。母は保因者で心機能は正常。伯母がDCM。ジストロフィン遺伝子のexon44—47の欠失が確認されている。兄がDMDであり19歳時に肺うっ血となった。心不全症状はないが20歳代前半から心機能低下の兆候があり、ハイリスク群と判断し、22歳から治療開始。治療開始時LVDd 57mm, %FS23%, BNP 7pg/ml。現在電動車椅子使用。現在の処方方はビソプロロール5mg, エナラプリル5mg, ジゴキシシン0.125mg, フロセミド20mgである。

治療開始より7年間心不全症状なし。LVDdは50—52mmであり治療開始時に比べて低下傾向にある。%FSは20%台, BNPも5pg/ml前後を維持している。

考 案

現在慢性心不全(CHF)の予後改善効果が強く実証されているのはβ遮断薬とACE阻害薬である。両者は軽症(NYHA Iを含む)から重症までの幅広い重症度のCHFに対し有効であることが明らかとなっている。DMDではNYHA Iの時期に急速に心筋障害が進行する。現在まではLVEFが40%前後となった時期を目安に治療を開始してきたが、至適な治療開始時期の指標の確立が望まれる。

文 献

- 1) Ishikawa Y, Bach JR, Minami R: Cardioprotection for muscular dystrophy. Am Heart J 1999;137:895-902.
- 2) 安村良男, 北風政史: 心不全治療におけるβ遮断薬療法の今後の位置づけ。呼と循 2002;50:989-997.

2) 心筋ストレインイメージング

近年心エコー図 (UCG) 法において組織ドプラー法を用いた心筋ストレインイメージング法が注目されている。ストレインとは物体に力が加わった時の歪みを意味する。心筋ストレイン (ϵ) は心筋の収縮・弛緩に伴い心筋に生じる歪みと考えられ、 $\epsilon = dX/X$ (dX : 変化した心筋の長さ, X : 元の心筋の長さ) で求められる。本法で心臓の壁運動の定量化及び局所心機能の評価が可能となり、その有用性が注目されている。我々は心機能が正常で心不全症状のない未治療のDMDにおいて心筋ストレインに変化が見られた症例を経験した。使用機種はGE社製 Vivid 7。

【健常例】 健常例での左室の radial 方向への収縮期の心筋ストレインは正の値で経過しその後拡張末期に向けてゼロに近づいていくパターンとなる。これは心筋の内膜側及び外膜側で同じパターンである。

【症例—1】 17歳。左室拡張末期径(LVDd) 48mm, 左室内径短縮率(%FS) 36%。左室短軸像乳頭筋レベルの後側壁から後下壁までの心筋ストレインが内膜側, 外膜側ともに負の値を呈する。

【症例—2】 11歳。LVDd 35mm, %FS 30%。後側壁の内膜側, 外膜側のみ心筋ストレインが負の値を呈する。

【症例—3】 16歳。LVDd 47mm, %FS 32%。後側壁の外膜側のみ心筋ストレインが負の値を呈する。

考 案

本症における心筋障害の好発部位は左室後側壁であることが報告されている。心機能が正常で心不全症状がなくとも心エコー図上同部位の心筋ストレインに変化が生じている症例を認めることは興味深い。DMDの心筋障害の早期発見に心筋ストレイン法が役立つ可能性があると思われた。

文 献

- 1) Urheim S, Edvardsen T, Torp H, et al. Myocardial strain by Doppler echocardiography. Validation of a new method to quantify regional myocardial function. *Circulation*.2000;102:1158-1164.
- 2) Nakatani S, Stugaad M, Hanatani A, et al. Quantitative assessment of short-axis wall motion using myocardial strain rate imaging. *Echocardiography* 2003;20:145-149.
- 3) 丸尾 健, 中谷 敏. 組織ストレイン画像を撮るコツ. *心エコー* 2003;4:1058-1067.

脈波伝播速度による Duchenne 型筋ジストロフィー患者 の循環動態の検討

今村 重洋¹⁾, 山口喜久雄¹⁾, 山下 太郎²⁾, 安東由喜雄³⁾,
菅 智宏¹⁾, 山下 眞史¹⁾, 内野 誠²⁾

はじめに

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) では四肢末梢循環不全がしばしばみられ, 日常生活に支障を来すことも多い。DMD 患者の循環動態に関して, 心機能については様々な検討がなされているが, 大動脈や中小動脈の機能に関しては十分に検討されていない。

四肢血圧同時測定による脈波伝播速度測定法 (PWV) は簡便でしかも非侵襲的であり, 心血管系について非常に有用なデータを提供する検査であることが知られている。

我々は, PWV 測定により, DMD 患者において動脈壁の変化, 心機能を検討する目的で, DMD 患者同様, 進行性の筋萎縮をきたし, 長期臥床を余儀なくされる疾患である筋緊張性ジストロフィー (MyD) 患者, 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者の 3 疾患群で PWV を中心とした評価を行い, 統計学的な検討も加え, DMD 患者の特徴を考察した。

対象および方法

DMD 患者 15 例 (男性, 年齢 23 ± 7.4 歳, 何らかの心不全治療中 4 名, TIPPV 4 名, NIPPV 7 名) に from PWV/ABI (日本コーリン社製) を用いて, 四肢血圧, 足関節/上腕血圧比 (ankle brachial index: ABI), 空気容積脈波法により脈波伝播速度 (pulse wave velocity: PWV=脈波伝播距離/脈波伝播時間), 頸動脈の駆動圧波/反射波比 (augmentation index: AI= (反射波振幅-駆動波振幅)/脈圧) の測定を行い, 20~29 歳男性の標準値 (N=74) と比較した。データは平均 \pm SD で表示した。

次に, DMD 患者同様, 長期臥床状態となる疾患である MyD 患者, ALS 患者の 3 疾患群との比較を行った。DMD 患者 14 名 (男性 14 名, 11~37 歳; 平均年齢 23.0 歳), MyD 患者 11 名 (男性 8 名, 女性 3 名, 39~63 歳; 平均年齢 52.0 歳), ALS 患者 5 名 (男性 4 名, 女性 1 名, 52~73 歳; 平均年齢 59.2 歳) に対し baPWV (brachial-ankle Pulse Wave Velocity) を測定した。さらに PWV と BNP, %EF との相関関係を統計学的に検証した。(以下, 右上下肢での PWV を, baPWVRt, 左上下肢での PWV を baPWVLt と記す)

結果

DMD 患者の上腕における血圧は収縮期 102 ± 14.2 mmHg, 拡張期 59.3 ± 7.2 mmHg であった。DMD 患者の PWV は平均 1244.5 ± 577.6 cm/s であり 20 歳台における標準値 1150 ± 130 cm/s と比較して上昇傾向が認められ, 動脈壁の弾力性低下が示唆された。

ABI は平均 0.89 ± 0.09 であり, 基準値 (0.9~1.3) と比較して低下傾向があり, 下肢において動脈の狭窄を疑う所見が得られた。

頸動脈 AI の判定が可能であった 11 例においては, 平均 -15.1 ± 9.7 であり, ばらつきは大きいと正常範囲と考えられた。

上腕における血圧は MyD 患者において男性 $94.6 \pm 10.4 / 59.6 \pm 10.8$ mmHg, 女性 $115.0 \pm 16.0 / 66.0 \pm 10.6$ mmHg, ALS 患者において男性 $110.2 \pm 22.8 / 74.2 \pm 12.0$ mmHg, 女性 $103 / 71$ mmHg であり, DMD 患者結果 $102 \pm 14.2 / 59.3 \pm 7.2$ mmHg と比較して, MyD 女性, ALS 男性患者で高い傾向がみられた。

ABI は MyD 患者において男性 1.1 ± 0.08 , 女性 1.06 ± 0.12 , ALS 患者において男性 1.08 ± 0.08 , 女性 0.85 であった。DMD 患者では 0.89 ± 0.09 であり, 基準値 0.9~1.3 と比較して低下傾向が認められた。女性の ALS 患者以外, ABI の低下傾向は認められなかった。

PWV は MyD 患者において男性 1255 ± 244.1 cm/s, 女性 1633 ± 573.4 cm/s, ALS 患者において男性 1754 ± 503.6 cm/s, 女性 1591 cm/s であった。DMD 患者の PWV は 1244.5 ± 577.6 cm/s であり 20 歳代における標準値 1150 ± 130 cm/s と比較して上昇傾向が認められていたが, MyD 女性患者, ALS 患者においても 50 代における標準値, 男性 1287 ± 155 cm/s, 女性 1230 ± 160 cm/s と比較して, 上昇傾向が認められた。

年齢と PWV との関係は, 3 疾患すべてを合わせると, 相関直線は $baPWVRt = 862 + 12.989$ (寄与率; $R^2 = 0.364$) であり, DMD のみでは相関直線は $baPWVRt = 1145 + 3.673$ (寄与率; $R^2 = 0.04$), MyD のみでは相関直線は $baPWVRt = -416 + 34.137$ (寄与率; $R^2 = 0.454$, ALS のみでは相関直線は $baPWVRt = -1725 + 59.99$ (寄与率; $R^2 = 0.987$) となった。

心駆出率 (EF) と PWV との関係は, 3 疾患すべてを合わ

¹⁾国立病院機構熊本再春荘病院

²⁾熊本大学大学院医学薬学研究部脳神経科学講座神経内科学分野

³⁾同病態情報解析学

せると、相関直線は $baPWVt=1134+4.601$ (寄与率: $R^2=0.031$) であり、DMD のみでは相関直線は $baPWVt=1158+1.683$ (寄与率; $R^2=0.023$)、MyD のみでは相関直線は $baPWVt=2404-16.473$ (寄与率; $R^2=0.202$)、ALS のみでは相関直線は $baPWVt=975+13.758$ (寄与率: $R^2=0.102$) となった。

BNP と PWV との関係は、3 疾患すべてを合わせると、相関直線は $baPWVt=1288+2.757$ (寄与率; $R^2=0.147$) であり、DMD のみでは相関直線は $baPWVt=1333-4.578$ (寄与率; $R^2=0.312$)、MyD のみでは相関直線は $baPWVt=1087+5.102$ (寄与率; $R^2=0.632$)、ALS のみでは相関直線は $baPWVt=1981-0.845$ (寄与率: $R^2=0.025$) となった。

BNP と心駆出率 (EF) との関係は、3 疾患すべてを合わせると、相関直線は $baPWVt=56.65-0.077$ (寄与率; $R^2=0.053$) であり、DMD のみでは相関直線は $baPWVt=49.75-0.158$ (寄与率; $R^2=0.047$)、MyD のみでは相関直線は $baPWVt=67.84-0.126$ (寄与率; $R^2=0.511$)、ALS のみでは相関直線は $baPWVt=42.3+2.281$ (寄与率: $R^2=0.026$) となった。

考 察

DMD 患者の PWV は動脈硬化の評価法として有用とされ、動脈壁硬化、弾性低下に伴って上昇することが知られている。また、高血圧では上昇し、下肢の動脈狭窄に伴い低下するとされる。DMD 患者において PWV の上昇がみられた原因としては、大動脈、小中動脈において中膜平滑筋のジストロフィンが欠損し、動脈の弾性が低下していることによる可能性や、交感神経の過緊張による動脈壁の過収縮状態が影響を及ぼしている可能性などが考えられた。

頸動脈の AI は動脈硬化の初期段階で起こる内皮細胞機能障害による動脈血管壁の硬化の指標とされるが、この上昇は認められず、特に脳動脈においては動脈硬化が生じていないことが示唆された。

本研究において、PWV は DMD 患者のみならず女性の MyD 患者、ALS 患者においても同様に上昇傾向がみられたことから、これら患者において、交感神経の過緊張による動脈壁の過収縮状態、四肢の筋萎縮における血管床の減少、血管径の減少などが関与し、動脈の弾性が低下している可能性が考えられた。

DMD 患者の ABI は平均 0.89 ± 0.09 で、基準値 (0.9 - 1.3) と比較して低下傾向があり、下肢において動脈の狭窄を疑う所見が得られたが、MyD 患者、ALS 患者ではこのような傾向はみられなかった。MyD 患者、ALS 患者は股関節に屈曲拘縮はないことから、DMD 患者においては、長期の車椅子生活により下肢の関節に屈曲拘縮が生じ、これにより動脈が圧迫され狭窄が生じている可能性が考えられた。

DMD では年齢と PWV との相関がないことから、患者の年齢層が若く、年齢による差が動脈変化として現れにくいことが考えられる。MyD は年齢、BNP、EF とともに PWV と良く相関することから、MyD は心機能の変化、動脈変化も年齢に応じて比較的ゆっくりと進行していることが想定された。DMD は BNP と PWV が負の相関となることは、血管の脆弱性が血管の柔らかさとして表現されていると考えられた。

これらのことから、MyD において、PWV は心機能の程度を直接的に示す指標になりうると考えられ、DMD においては、PWV は血管平滑筋の変性の程度も含めた症状の進行度の指標になりうる可能性があると思われた。

臨床的に簡便で、侵襲のない検査で計測可能な PWD が心機能の評価となりうるかどうかを、症例数を増やし、統計的検証をさらに進めることで検討していきたいと思う。

筋ジストロフィーの脊柱側弯治療プロジェクト研究

分担研究者：安東 範明

共同研究者：川井 充*，高相 晶士**，小林 顕***，井ノ上 博也****

1. 筋ジストロフィーにおける脊柱側弯マネージメントの現状

要旨：全国の筋ジストロフィー担当27国立療養所等を対象に，脊柱側弯のマネージメントの現状調査をおこなった。回答施設数20施設。回答率74%だった。側弯未発生例に対し予防のための理学療法を施行しているのは14施設(70%)。施行していない6施設の主たる理由は，理学療法士の人員不足だった。手術については，自施設で施行可能な施設は，筋ジス専門病棟を持たない千葉東病院を加えると6施設で，整形外科が無く不可能9施設。整形外科は有るが不可能6施設だった。整形外科があっても不可能な理由の主なもの，整形外科医の数の不足，整形外科医が脊柱専門でない，手術室などの未整備，リスクが高すぎるから，だった。過去に手術症例を経験した施設は3施設(15%)で，その内，自施設で行ったのは1施設，他施設に依頼は2施設だった。施行経験のない施設は17施設(85%)に及んだ。側弯の保存的治療について，何らかの対策を行っているのは，17施設(85%)で，その内訳は理学療法が17(85%)，体幹装具が14(70%)，その他が5(25%)だった。今後，既手術症例の追跡調査や，手術の普及，術前術後マニュアルの整備と紹介状フォーマットの作成，予防法と保存的治療のエビデンスの見直しや標準化が必要である。

はじめに

Duchenne型筋ジストロフィーに高頻度に見られる脊柱側弯は，歩行不能になる時期から急速に進行する。側弯は座位バランスの悪化を招き，ADLに対して影響を与えることに加え，心肺機能への影響も重大である。今回我々は，全国の筋ジストロフィー担当27国立療養所等を対象に，脊柱側弯のマネージメントの現状調査をおこなった。

対象と方法

対象は，全国の筋ジストロフィー担当27国立療養所等に所属する筋ジストロフィー研究川井班の班員。19項目の質問からなる調査を実施した。調査票の配布と回収は，主として研究班のメーリングリストを通して電子メールで行った。

質問19項目の内訳は，1. 脊柱側弯発生以前の予防対策に関するもの6項目。2. 脊柱側弯の手術に関するもの4項目。3. 脊柱側弯発生後の保存療法に関するもの9項目だった。

結果と考察

回答施設数20施設。回答率74%だった。側弯未発生例に対し予防のための理学療法を施行しているのは14施設(70%)。その内容は，関節可動域訓練14(70%)。歩行訓練12(60%)。起立訓練13(65%)。その他4(20%)。理学療法施行率は14施設中で，拒否されない限り全例8施設(57%)75%以上1(7%)。50~75%0(0%)。25~50%2

(14%)。25%以下3(21%)だった。施行していない6施設の主たる理由は，理学療法士の人員不足，既に側弯発生後の患者が入院してくるから，などだった。理学療法以外の予防対策を行っているのは12施設(60%)で，その主なものは軟性コルセット，車椅子の適合，車椅子へのスパーサーの工夫，良座位姿勢の徹底した指導だった。

手術については，自施設で施行可能な施設は，筋ジス専門病棟を持たない千葉東病院を加えると6施設で，整形外科が無く不可能9施設。整形外科は有るが不可能6施設だった。整形外科があっても不可能な理由の主なものは，整形外科医の数の不足，整形外科医が脊柱専門でない，手術室などの未整備，リスクが高すぎるから，だった。今は不可能だが，将来可能になると答えた施設は無かった。過去に手術症例を経験した施設は3施設(15%)で，その内，自施設で行った1施設，他施設に依頼は2施設だった。施行経験のない施設は17施設(85%)に及んだ。施行症例は総計で20例あり，平成9年以前10例，平成10年1例，平成11年2例，平成12年2例，平成13年2例，平成14年3例だった。

側弯の保存的治療について，何らかの対策を行っているのは，17施設(85%)で，その内訳は理学療法が17(85%)，体幹装具が14(70%)，その他が5(25%)。保存的治療の有効性について，保存的治療を施行している施設の班員の回答は，有効だと思う8人(47%)，有効ではない3人(18%)，どちらとも言えない6人(35%)だった。保存的治療を行っていない3施設の班員からの回答で，理由としては，効果がないから1人，特に理由はなく0人，その他2人だった。側弯に伴う座位バランスの悪化に対して，対策を講じている施設は18施設(90%)。内容は，体幹装具10(50%)，車椅子

国立病院機構奈良医療センター神経内科

*国立病院機構東埼玉病院神経内科，**国立病院機構千葉東病院整形外科，

国立病院機構あきた病院療育指導科，*国立病院機構奈良医療センター神経内科

への挿入具の工夫13 (65%), 座位保持装置9 (45%), その他の工夫として, 車椅子の適合に留意, 電動車椅子のコントロールの位置に配慮などがあつた。

今後, 既手術症例の追跡調査や, 手術の普及, 術前術後マニュアルの整備と紹介状フォーマットの作成, 予防法と保存

的治療法のエビデンスの見直しや標準化が必要である。また, 今後の手術例に対しては, 効果判定を視野に置き, 手術を選択しない群 (保存的治療をする群としない群) との比較調査を厳密にする必要がある。

2. 脊柱変形矯正手術の満足度について

要旨: 欧米で盛んに施行され効果を上げている脊柱変形矯正手術は, 本邦においては, まだ限られた施設しか行われていない。今後, この手術の普及活動を進めるにあたっては, この矯正が, 実際に患者の生活の質の改善に結びつき満足を与えているかどうか, 確認することが大切である。この手術を実際に体験した患者の親御さんに, この手術についての正直な感想を聞くべく, アンケート調査を行った。結果, 座位保持能力の改善, 美容上の改善で特に満足度が高く, 症例によっては排痰が顕著に容易になり呼吸器の改善にも結びついた。全般的に, 若干の問題点は残しながらも手術結果を肯定的にとらえ満足度の高さが認められた。この手術の普及が望まれるとともに, 術後の対策を再検討する必要性が示唆された。

はじめに

海外では, Duchenne型筋ジストロフィーにおける脊柱側弯の治療として, 手術による矯正が当然のように行われている。一方, 日本では少数の患者しかこの手術を受けていないのが現状であり, 今後の普及が期待されている。

手術により脊柱側弯は確実に改善される。しかし, 普及活動を進めるにあたっては, この矯正が, 実際に患者の生活の質の改善に結びついているかどうか確認することが大切である。生活様式など文化の異なる日本において, この手術が術後実際に患者や主たる介助者である両親に満足を与えたかどうか検討することは重要である。そこで, この手術を実際に体験した患者の親御さんに, この手術についての正直な感想を聞くべく, アンケート調査を行った。

対象と方法

現在, 本邦での脊柱変形矯正手術は国立療養所千葉東病院の整形外科によるものがほとんどである。そこで国立療養所千葉東病院で, 脊柱側弯矯正手術を受けた12例の患者の父親もしくは母親に質問紙法で21項目からなる満足度調査を施行した。アンケート内容は以下の通りである。尚, 術後の質問については, 術後1年位の時点の様子を思い出して回答してもらった。

質問1, もし, もう一度機会があれば, (たとえば, もう一人, 筋ジスの子がいて, 脊柱側弯の治療をすると仮定した場合) 脊柱側弯の手術を受けさせたいかどうか。質問2, 歩行を含む移動能力の改善度。質問3, 座位保持の改善に関して。質問4, 座位保持の上肢の関与。質問5, 食事動作。質問6, 消化器機能。質問7, 日中の活動 (通学したり, 読書をしたり, 遊んだりなど)。質問8, 体幹装具の必要性。質問9, 褥瘡。質問10, 呼吸器。質問11, 痛み。質問12, その他の健康上の問題。質問13, 睡眠。質問14, 陰部のケア (清潔など)。質問15, 排泄。質問16, 美容。質問17, 自己イメージ

(自分で自分をどう考えるか, など)。質問18, 生活の質。質問19, 全体的に見て, 手術は成功だったか。質問20, 神経や筋肉の病気で, 脊柱側弯を持った他の患者に, 手術を受けることを薦めたいか。質問21, 脊柱側弯の手術についての自由な感想。

結果と考察

10例の回答が得られた (回収率83%)。調査時の患者の年齢は13歳2ヶ月から20歳8ヶ月。手術時の年齢は11歳6ヶ月から14歳3ヶ月。全例が, 手術による矯正度は良好な症例だった。

質問1については, はいもちろんが2, 多分受けさせるが4, わからないが4, いいえと答えたものは無かった。質問2, 歩行や移動が, 大きく改善0, 中等度改善2, 少し改善1, 不変7。手術前後の時期も筋力の低下は続くのに加え術後の安静の時期もあり, 歩行や移動能力の維持には不利な点が多く厳しい結果が予想された設問であったが, 悪化はなくむしろ改善したと答えたものが3例あったことは注目すべき結果と言える。質問3, 座位姿勢が大きく改善4, 中等度改善3, 少し改善3。質問4, 座位保持の際, 術前上肢を使っていた8例で, 大きく改善3, 中等度に改善1, 少し改善1, 不変3。さすがに座位保持能力の改善については満足度が高かった。良好な座位姿勢が上肢を自由にさせていることが伺えた。質問5と質問6に関しては全例で術前から困難はなかった。質問7, 日中の活動が中等度に改善3, 不変5, 悪化2。悪化の内容としては, 術後長時間座位を取れるようになったが, それに伴い, 臀部 (坐骨結節部) の痛みや皮膚障害が生じたことを理由に挙げている。クッションの工夫などによる苦痛軽減対策が今後の課題と考えられた。質問8に関しては1例で術前の体幹装具の使用があり, それは術後に外れた。質問9で全例術前に褥瘡などの皮膚障害は無かった。前述のように, むしろ長時間座れるようになったことで術後の臀部の褥瘡対策が問題となった。質問10で, 7例は術前から呼吸器の問題は無かった。呼吸器の問題があったとした3例は, 術後に大

大きく改善が1例，中等度に改善が1例，不変が1例だった。質問11は全例術前から鎮痛剤の服用は無かった。質問12のその他の健康については自由回答形式にしたが，術後喀痰の排出が極めて容易になったとする意見がある一方，術後疲れやすくなったとした意見が1例みられた。質問13，睡眠障害のあった2例は術後に改善した。質問14の陰部ケアに問題のあった1例は術後改善した。質問15で術前の更衣困難は5例にあり，これは術後大きく改善が1，不変4だった。質問16の美容上，大きく改善5，中等度改善2，少し改善2，悪化1。悪化の内容として，「術後，座位で体が横に倒れてしまうようになり，支えが必要になり美容上悪化したと思う。」という回答だった。美容上の満足度も高かった。術後，写真をとるのが楽しみになった。と特筆した回答もみられた。質問17セルフイメージは大きく改善3，少し改善4，不変3。質問18の生活の質の改善は患者本人で，大きく改善1，中等度改善5，不変2，悪化2。親で，大きく改善1，中等度改善3，少し改善2，不変2，悪化2。悪化を選んだ理由は，「背筋が伸びて座高が高くなったため手が口まで届かなくなり自力

で食事が困難になった。手元を見るのが難しく読書やゲームボーイが困難になった。」「抱きかかえて介護する際，術前より痛みを訴えることが多くなり介護が困難になった。」だった。質問19，手術は大成功3，まずまず成功5，少し成功1，変化はなかった0，失敗だった0，無回答1。質問20，他患者に絶対薦める1，たぶん薦める6，わからない3，薦めない0。質問21，「美容上の改善で友人と積極的に楽しく付き合うようになった。」「以前は風邪をひくたびのどがゼロゼロして苦しうだったが，術後は排痰がすごく楽になった。」「術後特にメリットを感じなかったが，今後呼吸不全など重症化していくことを考えるとやってよかったと思う。」問題点の指摘としては，「病院が家から遠く大変だった，手術が各県で可能になってほしい。」「首が不安定なまま残ったので首がしっかりすわるようにしてほしい。」がみられた。以上，問題点を残しながらも，手術結果を肯定的にとらえ満足度の高さが認められた。術後の満足度の高さからも，この手術の普及が望まれるとともに，術後の対策を再検討する必要性が示唆された。

3. 脊柱変形の保存的治療についてのまとめ

要旨：筋ジストロフィーの脊柱変形，特に脊柱側弯に対する保存的治療について大きく3つに分けて概説した。

(1) 脊柱変形の発生予防においては，良好な座位姿勢を保つ習慣を身につけさせることが何より大切である。歩行は脊柱の能動矯正として働くので，各種の下肢装具によって歩行可能な期間を延長させる。装具起立訓練や起立台を用いた起立訓練を行う。(2) 脊柱変形の進行予防については，硬性の体幹装具は適応が困難であり軟性コルセットによるトータルコンタクトな矯正を行う。そして(3) 脊柱変形によって生じたADLの低下に対する対策，とりわけ座位保持対策としては，各種の座位保持装置やクッションを，患者の状態に合わせて使用していく。すなわち，全体的な方針としては，できるかぎり脊柱変形の発生を予防する。そして発生に気づいたが様々な事情で手術が困難な場合，利用できる進行阻止手段や座位保持対策を組み合わせ，フルに活用することが重要である。

はじめに

筋ジストロフィーの脊柱変形，特に脊柱側弯に対する保存的治療(手術によらない治療)には大きく分けて3種類がある。すなわち，(1) 脊柱変形の発生予防，(2) 脊柱変形の進行予防，そして(3) 脊柱変形によって生じたADLの低下に対する対策，とりわけ座位保持対策である。

保存的治療については，(2)の脊柱変形進行予防対策としての硬性の体幹装具を思い浮かべる方が多いと思う。そして，この体幹装具はしばしば適応が困難で，患者に皮膚障害の苦痛，座位での上肢を使った作業に制限をもたらしてしまう不満，呼吸運動を妨げてしまう苦痛などにより，よほど熟練したスタッフが，四六時中患者に付き添うほどのケアが可能な環境で以外，長期使用に耐えないことがあり，途中で放棄されたり，無効と結論付ける報告も見られる。

それ故，ともすれば「脊柱変形にたいして手術以外の保存的治療は無効である」といった，保存的治療全体を否定してしまう錯覚に陥る危険性がある。確かに，保存的治療に対する厳密な効果判定は難しい。なぜなら，比較対照を置いた客観的なトライアルが困難だからである。例えば，ある患者に

について，脊柱変形の発生予防から，進行予防，そして座位保持対策と，生活指導から理学療法，装具療法まで，ありとあらゆる保存療法を組み合わせ並行して使用し，手を尽くして頑張った。そして結果的に20度の構築性の側弯が生じた場合，これは対策の効果が出た結果か否かは厳密にはわからないのである。

evidenceを求めるのが非常に難しい分野であるが，それぞれの対策に明確なevidenceが乏しいにしても，現実から目をそらして，脊柱変形が進行していくのをただ見送るのは避けたい。まずはできるかぎり脊柱変形の発生を予防する。そして発生に気づいたが様々な事情で手術が困難な場合，利用できる進行阻止手段や座位保持対策をフルに活用することが重要であろう。

(1) 脊柱変形の発生予防対策

A. 脊柱変形の発生予防対策

脊柱変形に関しては，病勢の進展に伴い脊柱変形，それに関連し惹起される胸郭の変形が大きな問題となる。野島は以下のように要約している。

① 脊柱変形は，側弯の形で進展するが，その際，病勢の進展とともに増悪を示し，とくに12-13歳頃に急激に増悪する

進行型と、側弯度が20度以下にとどまり進展の傾向を示さない非進行型に大別される。

② ①の進行型はGibsonの本症Duchenne型に発生する側弯型式に関し、Group I～IVの経過を呈し、unstableなpathwayを示す。非進行群はGroup I～Vの経過を呈し、stableなpathwayを示す。

③ 脊柱変形は当初は非構築性であるが、側弯の進行とともに構築性、rigidなものとなり、そこにいわゆるcollapse spineを形成する。

④ 進行型は進展とともに後弯を伴い、側弯度の増悪とともに骨盤の傾斜も著明となる。当初、胸椎型、ついで胸腰椎型Cカーブパターンに推移する。非進行型は胸椎型カーブパターンを示す。

⑤ 骨盤傾斜とともに進行型では後弯の形成、非進行型では前弯の形成（いわゆる当初より伸立脊柱）をともなう。この際、前者進行群において、病臥期（stage 7の末期～8）においては後弯が前弯で変化し、同時に骨盤が回旋する様相（Gibsonのいう転換）がみられる。

⑥ 以上の側弯変形は当然肺活量の低下をもたらす。拘束性肺機能障害をきたし、肺胞低換気、高炭酸ガス血症をともなう低酸素血症をきたす。このことは心に直接影響を与え、元来本症により侵される心筋変性に加え心障害を加速せしめるという重大な結果をもたらす。

⑦ 本症にみる脊柱変形発生の要因には、病勢の進展に伴う、脊柱伸立筋の減弱に加え、Siegel、松家らの強調せる歩行可能期における下肢の拘縮変形、とくに、それらの程度の左右不均衡がおおきな役割を演ずるものと考えられる。そこに座位での習慣的な不良姿勢、肥満など、脊柱に加わる機械的不均衡などが関与するものと考えられる。

⑧ 上述3に関連して、装具療法実施例に関しては、その中断後に側弯度が急激に増加する。また、非進行群において、実施中のもの、経験したものが多く認められる。このことから、装具療法は一応高く評価されるべき事実と認められる。

また、DMDの脊柱変形は、体幹を支持する筋群の筋力低下によって脊柱のcollapseによって生じ、歩行不能になる頃より急速に増悪するとされる。これらの事実が示すことは、下肢の筋力低下が進行し、歩行困難が生じ、遂には歩行不能となり車椅子に移行する時期、この歩行不能になる前後のデリケートな時期を、いかに上手に通過させてあげるかが、脊柱変形発生予防のために最も重要である。

ところが、この時期は、未だ呼吸不全や心不全など内科的問題が顕在化する前である。病院との関係もそれほど密接ではなく、特別な管理を受けていない場合があり、大切な時期をフォロー無く過ぎてしまうことがある。出す薬が無くとも、頻回に患者を診察する機会を持ち、まずはこの時期の変形予防に全精力を注ぎ込む必要がある。

B. 日常で良好な座位姿勢を保つ習慣を身につけさせることが何より大切につけさせることが何より大切

小学校入学直後から、左右対称な背筋を伸ばした良好な座位姿勢を常にとらせるように指導することが、脊柱変形予防のための第一歩である。小学校入学はひとつの節目であり、親御さんのみならず、担任の先生方からも「学校生活で何か注意すべきことはありますか。」と質問を受けることが多

いだろう。その時、忘れず座位姿勢について指導する。ポイントは、椅子の背もたれになるべく腰を近づけ深く腰掛けること、すなわち臀部を極力背もたれに近づけ骨盤が後傾するのを防ぐ。背筋を伸ばし、左右対称なまっすぐな姿勢をとることを指導する。学校側から、筋ジストロフィーについての講演会の講師を頼まれたならば、校内の環境を実際に見ることができるし、校長先生以下の教育スタッフの方々に脊柱変形防止の重要性を説明し、協力を要請する良い機会なので、喜んで引き受ける。

各学期末あるいは学期初めの診察の際はできれば担任もしくは養護の先生に同行をお願いし、学校での良座位姿勢の達成度を確認する。

日常生活場面で、患者がどのような姿勢で過ごしているかを把握し、姿勢の崩れがあるようなら早期発見し、姿勢が崩れる原因を分析し、対策に結び付けなければならない。先生には学校での姿勢のスナップ写真を、親には自宅での写真を何枚か撮ってきてもらい、理学療法士と相談して分析するのが良い。

筆者らは、傍脊柱筋X線CTを用いて上位胸椎から下位腰椎レベルまでの傍脊柱筋のCT値を測定し、傍脊柱筋の変性度と脊柱側弯との関係を検討した。そして、中部腰椎レベルの筋変性が最も強く、レベルが上がるにつれて傍脊柱筋は保たれる傾向があること、変性が初期から強い中部腰椎レベルの傍脊柱筋の変性に左右差があると、比較的保たれた側を凸とする脊柱側弯が生じることを見出した⁹⁾。また歩行可能な下肢機能Stage 4の時期に一度傍脊柱筋CTの検討を行い、左右差を認めた症例については将来の進行が危険視される。

筆者の施設では、良姿勢指導の強化や立位訓練の強化等を行うが、習慣の要因でどうしても伸立の姿勢を保つのが不得手な症例の場合は、脊柱伸立位の姿勢で体幹の形に合わせて型を採り、座位保持装置を作成し使用してもらっている。座面の形も臀部の形状に添っているため長時間の移乗が可能となり、良座位姿勢を長時間保持する助けとしている。この、座位保持装置を用いた脊柱変形発生予防は、歩行可能期か、あるいは車椅子期に入った直後で、未だ脊柱変形が生じる以前から行うべきであり、一旦生じた脊柱変形の進行予防としては効果が乏しいものと考えている。

C. 歩行可能な期間を極力延長させる

歩行可能な時期には、歩行自体が脊柱に対して能動矯正として作用していると言う考えに立ち、できるだけ歩行可能期間を延長させるよう努力する。そのためには、関節の可動域訓練は欠かせない。下肢の諸筋肉をストレッチし、立位姿勢の悪化を予防する。あくまでも暴力的にならないように注意しながら、関節の最大伸展位を10秒間保持する伸長運動訓練(stretch exercises)を1日1回ないし2回行う。また、下肢装具を利用して歩行可能期間を延長させる。筆者らの施設では、コンピューターを用いた歩行分析を応用し、患者ごとの踵高やlateral wedgeの設定、フレアーの設定などを行った靴型装具を使用し、歩行可能期間を可及的に延長しようと試みている。

D. 起立訓練は特に重要

毎日20分以上の起立訓練を実施する。自力での立位保持が困難となったものは、胴付き長下肢装具などを利用し装具

起立訓練を行ったり、起立台（ティルトアップテーブル）を利用して訓練を行う。起立台の場合、膝、足関節を固定することでハムストリングやheel cordなどの伸長訓練にもなる。

（2）脊柱変形の進行予防対策

A. 変形の増悪阻止、改善を目的としての伸長運動訓練

能動的運動機能訓練は、当然、変形の増悪阻止、改善にも有効であるが、関節、筋、腱の短縮、退縮の防止のためには、いわゆる筋、腱の伸長運動訓練（stretch exercises）が施行される必要がある。変形の発生予防の項に述べたのと同様に、関節の最大伸展位を10秒間保持する伸長訓練を1日2回、各関節に対し行うのが望ましい。

腱、筋に対する伸長訓練については、下肢の腸腰筋、ハムストリングス、腸脛靭帯、heel cordに重点がおかれる。

尚、機械的伸長訓練としては、起立台（ティルトテーブル）を用い、膝と足関節を固定し、ハムストリング、heel cordなどの伸長を図る機械起立訓練がある。脊柱変形発生あるいは進行予防の観点から極めて重要な訓練であり、日々20分程度は施行したい。

B. 体幹コルセットによる進行予防の問題点

高度の側弯を伴う症例に対しても胸椎装具は用いられるが、これは矯正を主たる目的にしているのではなく、体幹筋力の弱化による姿勢悪化を防止するのが目的である。筋ジストロフィー患者はシートベルトに寄りかかった姿勢、すなわち前傾位で電動車椅子を操作するので束縛が強すぎると運転姿勢をとるのが困難と訴え、胸椎装具の受け入れは良くない。このように、筋ジストロフィーの体幹装具療法は、長期間使用させるためには患者や家族の理解と協力が必須である。矯正効果に加えて、患者や家族のQOLと受け入れを考慮しなければいけないところに、筋ジストロフィーの装具療法の最大の困難が存在する。

また、Siegel先生は体幹装具について以下のように述べている。体幹装具は短期間の日中、30度以下のカーブに対して、あるいは脊柱の矯正固定術後に座位のバランスを維持するため、あるいは脊柱固定術が医学的には本質的に適応ではない（すなわち、肺活量が1回換気量と同じ値を示し、肺機能が著しく阻害されている時など）とき、長期にわたり座位姿勢を保持するために用いられる。

硬性の体幹装具は3点で固定され、腰椎の前弯に対して腰椎部に良く適合した胸椎装具は脊柱の側方運動を制限し、強剛性（rigid）の動かない腰椎前弯位で伸立した脊柱を形成するようになる（可機性のある腰椎が脊柱に関して種々の障害に対して防護的なものか明らかにされていない）。そして、以上の経緯により、側弯の進展を遅らせる。しかし、このような装具は、傍脊柱筋の弱化をもたらし、カーブの進展を制御することができず、時には肋骨の運動性の障害をもたらし、肺機能を低下させることも少なくない。

また、ミルウォーキーブレース（Milwaukee brace）は、本来は動的装具であり、筋ジストロフィーの場合、装具装着下で運動訓練を実施するに足る筋力が十分無いので有用でないとされている。

C. 軟性コルセットをもちいたトータルコンタクトによる矯正

以上のように、硬性の体幹装具の適応は大変難しい。あえて進行予防を座椅子型装具や硬性コルセットで行おうとすると、装着は容易だが、徐々に体幹に対して体幹装具がずれていったり、どうしても装具と強く接する部分が生じ、痛みのため長時間の装着が困難であることが多い。そのため結果的に実用的なのは軟性コルセットということになる。その場合矯正力が問題となるが、徳島病院での例のように、個々の症例に応じて丁寧に適応し、軟性コルセットに除圧のためのメートルの内張りやスポンジパッドを利用することで、十分な矯正効果と長時間の装着による進行予防効果を得ている。軟性コルセットは強度においては硬性コルセットに劣るが、このように体幹に対してトータルコンタクトによって矯正する方法は有効である。理学療法士の指導の下、ぜひ試みたい。軟性コルセットの効果についても、厳密な客観的、数量的判定はなかなか難しい。しかし、筆者の経験でも確かに良好な効果を上げている感触がある。発生直後の変形が軽度なうちに、ぜひ他の治療法と組み合わせてトライすべき選択肢だと思ふ。

（3）脊柱変形に伴う座位保持困難に対する対策—車椅子期の座位保持対策

A. 座圧分散型車椅子用クッション

長時間の座位姿勢を支える座面の工夫に関しては、様々なタイプの車椅子クッションが開発され市販されている。中でも座圧の分散が良好で、手軽に使用できるものとして、アメリカ合衆国のNASAで開発された圧分散素材「テンパーフォーム」がある。これは、加えられた圧の大きさに応じて形状を変化し、圧を分散する素材であり筆者らは圧計測センサーを用いてその効果を確認している。1例を示す。

症 例

症例は17歳、男性、DMD、下肢機能障害度ステージⅦ。脊柱左側弯32度+後弯（胸腰椎型）。左坐骨結節部に座圧の集中があり、同部に痛みや皮膚障害を繰り返していた。座圧分析の結果、テンパーフォーム製クッションを使用すると、座面の圧が有効に分散し、坐骨結節部への強い圧の集中が減少することがわかった。このクッションを車椅子に乗せて使用したことで、苦痛は顕著に改善し、長期の使用で褥瘡などの皮膚障害も改善した。ただし、このクッションは、その圧分散のメリットの反面、上体が傾いた場合、どんどんその方向に座面が沈み込み、自力で上体を起こせない患者の場合、座位姿勢の保持という面ではデメリットがある。したがって使用時期としては自力で座位姿勢をある程度はコントロールできる時期までか、シートベルトで強力に上体を固定するなどの対策が別に要求される。もはや、自力で上体を固定できない高度機能障害の時期には別の対策が求められる。

B. 適切な座位保持対策の選択

圧分散性が良好な座位保持装置として、Pin・dot社製の「コントロールU」がある。これは「Kiss simulator」とよばれる作成システムを用いて製作される座位保持装置である。Kiss simulatorの座面と背もたれとなるゴム製のバッグの中には多数の小さなビーズ玉と空気が入っており、患者を座ら

せた後、エアポンプを用いてバッグ内の空気を抜くことで、ゴム製バッグには患者の臀部や大腿、体幹背部の形どおりの型が残る。このバッグに残った型の上に整形外科用のギブス包帯を巻き陽性モデルを作成し、これの形にウレタンフォームで座位保持装置の座面と背もたれを作成する。したがって座面の圧分散性に優れ、作成の仕方によっては上体が各方面に傾いた時の支持性も良好である。

筆者らは、圧分析で各種のクッションや座位保持装置の特性を比較検討した。その結果、以下のような結論に至った。すなわち、一般的に、まだ車椅子期に入ったばかりで、主として手動型車椅子を使用しており、これを自分で操作でき、活動性の高い時期は通常のウレタンフォームクッションを使用する。次に、電動型車椅子に移行したが、自力での座面の調節が可能な時期はテンパーフォーム性クッションを用いる。そして、もはや自力で座面の調節ができず、一定の座位姿勢を続けることを余儀なくされた時期には、コントロールUなどの体の形に合わせて作成するタイプの座位保持装置、それも必要に応じて、座圧のピークの部分（坐骨結節部など）を切り抜き調整したものが適切だと考えられた。これに対して、早期から座位保持装置が望ましい場合としては、脊柱変形が高度で、通常のクッションでは座位保持が困難で、体幹の支持が強く要求される場合や、今後の体幹変形の進行が予

想され、良い座位保持姿勢（脊柱伸立位）を早期から強制的に持続的に保たせる必要がある場合が考えられた。

尚、これらの座位保持対策がADL向上に役立っているか評価することが大切である。そのひとつとして座位姿勢の改善が上肢機能の改善に結びついているか否かの確認が必要である。客観的、定量的かつ簡便で患者に負担が少ない上肢機能評価システムの開発が望まれる。

おわりに

脊柱変形の保存的治療法について概説した。未だ本邦では、全ての地域で脊柱変形の矯正手術が問題なく行える状況には無い。今後も保存的治療の重要性は変わらないだろう。保存的治療のカギを握るのは、治療する側が、常に脊柱変形の危険性を念頭に於いて患者を見ているかに尽きると思う。いままで述べてきた中で、一番重要な対策をひとつ選べと問われれば、迷わず小学校入学時からの良座位姿勢指導だと言い切れる。保存的治療による対応は労多くして益が少ない、効率の悪い茨の道かもしれない。しかし困難を十分承知した上で、使える手段は全て利用してこの問題に当たっていききたい。

4. 筋ジストロフィーにおける脊柱変形の治療・ケアマニュアル

はじめに

平成14年度には、全国の筋ジストロフィー担当27国立療養所等を対象に、脊柱側弯のマネージメントの現状調査をおこなった。側弯未発生例に対し予防のための理学療法を施行しているのは70%。施行していない施設の主たる理由は、理学療法士の人員不足だった。手術については、自施設で施行可能な施設は、筋ジス専門病棟を持たない千葉東病院を加えると6施設で、整形外科が無く不可能9施設。整形外科は有るが不可能6施設だった。そして、現実に定常的に手術を行っているのは千葉東病院1施設のみだった。整形外科があっても不可能な理由の主なもの、整形外科医の数の不足、整形外科医が脊柱専門でない、手術室などの未整備、リスクが高すぎるから、だった。今は不可能だが、将来可能になると答えた施設は無かった。過去に実際に手術症例を経験した施設は15%で、その内、自施設で行い得たのはわずか1施設だった。施行経験のない施設85%に及んだ。側弯の保存的治療について、何らかの対策を行っているのは、85%だった。意見としては、「手術も考慮したいが、自施設では不可能だし紹介先も無い。」「紹介に必要とされる情報が具体的にわからない」「手術以外の標準的な予防法や治療法が解らないし、施行しても無駄だと認識している。」などだった。さらに、脊柱変形マネージメントに対する施設ごとの取り組み具合が、主治医などの担当者の交代によって変化してしまうとする指摘もあった。

平成15年度には、実際に手術を受けた患者さんとその親御さんを対象に、手術の満足度を調査した。結果、満足度の高さが明らかになった。手術を受けられる地域は限られるが、実際に施行されるとその効果は高いことがわかった。

このように脊柱変形のマネージメントの現状は、地域によって、また、施設によって大きな差が存在した。標準的な脊柱変形マネージメントマニュアルの必要性が示唆された。今回、我々は筋ジストロフィーの脊柱変形マネージメントマニュアルの作成を行った。

対象と方法

読者として想定された対象は、全国国立病院機構等の筋ジストロフィー担当施設に勤務している医師、看護師、理学療法士、作業療法士などである。これら担当者が、脊柱変形の諸問題に対応するとき参考にできるハンディーなマニュアルの作成を考えた。マニュアルの企画・編集をプロジェクトリーダーの安東が行い、各章の執筆を脊柱側弯プロジェクトの川井、高相、小林、安東が分担して担当した。

結果と考察

脊柱変形のケアは筋ジストロフィー治療担当者と患者本人、そして患者家族の共同作業となる。患者や家族に脊柱変形マネージメントの重要性を説明し、十分理解してもらい必要がある。第1章に「脊柱変形マネージメントの重要性」についての章を設けた。そして、担当者は、本邦の脊柱変形マネージメントの現状を知り、何が行われているのか、何が可能

なのかを把握する必要がある。第2章はこれらの現状について述べた。第3章から第5章は脊柱変形矯正手術について述べられた部分である。まず、脊柱の構造と筋ジストロフィーにおける脊柱変形の評価法が詳説された。提示された「筋ジストロフィーの脊柱変形調査票」は整形外科医へ手術を依頼するときに紹介状に添える情報として大いに役立つものと考えられる。第4章では、実際に手術を行っている整形外科医の立場から、手術適応と手術紹介の注意点、手術方法の実際と術後の注意点について記載された。今後、手術を行う予定の整形外科医はもちろん、手術目的で患者を紹介する前に一読すると良いと考えられる。第5章では、実際に手術を受けた患者と家族の満足度について記載された。高い満足度は今後の手術普及の必要性を示すものだと思う。第6章では脊柱側弯手術と呼吸機能の関係について述べられた。手術は呼吸機能悪化の進行を止めるものではないが、気道狭窄を改善し気管無名動脈瘤などの合併症を防ぐことなどで呼吸機能改善に寄与する事などが述べられた。また、呼吸機能からみた手術選択の基準について重要な記載がされた。

最終第7章では、手術を行い得ない場合の保存的治療について述べられた。現状では今後も手術を行うのが困難な地域が多いと考えられる。手術が難しい場合でもあきらめて放置するのではなく可能な手段は尽くすべきであり保存的治療の必要性は高いと思う。またこの章では、早期からの脊柱変形予防の重要性についても記載された。結果として、完成したマニュアルは以下の構成となった。

(1) 題名

筋ジストロフィーにおける脊柱変形の治療・ケアマニュアル

(2) 章立て

第1章. 脊柱側弯マネジメントの重要性 (川井)

第2章. 本邦における脊柱変形マネジメントの現状について (安東)

第3章. 脊柱の構造と筋ジストロフィーの脊柱変形の診断と評価 (小林)

第4章. 筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対する外科的療法

—紹介から手術、そして術後のケアまで— (高相)

第5章. 脊柱変形矯正手術の満足度について (安東)

第6章. 脊柱側弯手術と呼吸機能について (川井)

第7章. 脊柱変形の保存的治療について (安東)

(3) 想定した読者

全国国立病院機構等の筋ジストロフィー担当施設において勤務している医師、看護師、理学療法士、作業療法士など

(4) 体裁

B5判2段組76頁。使用文字は13級および12級を使用した。

筋ジストロフィー研究班が作成した脊柱変形のマネジメントマニュアルはこれがはじめてである。本マニュアルは最初の骨組みを提供したと考えられる。今後、順次追加や改訂がなされ充実していくことが望まれる。

5. 筋ジストロフィーの簡便な定量的上肢機能解析

筋ジストロフィーの動作を定量的に解析した報告は、過去には重心解析、立ち上がり動作、歩行などがみられ、体幹、下肢、歩行機能が中心であった。筋ジストロフィーの場合、車椅子移乗を余儀なくされた後は、座位で上肢を用いた生活が長期に及ぶ。筋ジストロフィーの機能評価においては上肢機能を評価することが重要である。しかし、筋力ではなく上肢機能を、簡便かつ定量的に解析する装置は存在しない。上肢機能の中で、特に描画機能について、極めて簡便に定量的に解析する装置を開発した。

対象はDuchenne型筋ジストロフィー (DMD) 5例 (13.2 ± 1.3歳)。脊柱側弯は17.0 ± 7.1度 (cobb法)。および対照の健常者12例 (28.2 ± 8.9歳)。開発した上肢機能解析装置はパーソナルコンピューターとカラーモニター、パーソナルコンピューターに接続されたタブレットおよび電子ペンからなる。タブレット面上に任意の大きさの1.円, 2.矩形, 3.正弦波を提示し、それを被験者になぞらせる。評価項目は、1.軌跡長, 2.描画速度最大値, 3.描画速度最小値, 4.描画速度平均値, 5.描画加速度最大値, 6.描画加速度最小値, 7.描画加速度平均値, 8.描画図形の外周からのみ出し面積, 9.描画時間, 10.描画中断回数, 11.描画中断時 (%), 12.ずれ平均値, 13.ずれ標準偏差, 14. (+) 偏角平均値 (度), 15. (+) 偏角標準偏差, 16. (-) 偏角平均値 (度), 17. (-) 偏角標準偏差, 18.モデル図形との相関係数。半径5cmの円,

一辺10cmの正方形, 波長, 振幅10cmの正弦波について解析した。被験者には、提示された図形を電子ペンでできるだけ正確かつ速くなぞるように要求した。その際、手をタブレット上につけるかつかないかは特に制限しなかった。それぞれの試行回数は10回として平均値などを比較検討した。

結果と考察1

DMDにおいては、描画された円とモデル円の相関係数はわずかに劣る程度で、比較的正確に描画できていた。健常者に比べ、偏角が大であり、モデル図形からずれていく傾向があった。初期速度を上げて、描画速度を早期に最大速度に高め、その速度を健常者より速く保つことで一気に短時間で書き上げ、ずれを最小限に留める傾向があった。これは上肢近位筋の筋力低下を代償した動作と考えられた。

正方形においては、健常者の (+) 偏角平均値が3.29, (-) 偏角平均値が・5.18に対して、DMDは6.76, ・6.64とあきらかに大きく、そのためモデル正方形との相関係数は健常者0.97に対しDMDは0.86と明らかに描画の正確性を欠いていた。正弦波については健常者の相関係数0.98に対してDMDは0.98と健常者並みの正確さを示していた。速さについては円と同じ傾向があり、正方形、正弦波ともにDMDは健常者よりも早く書き上げた。円は、常に同じ方向に軌跡が変化する課題として、正方形については各辺の方向は変わらず一定である課題として、そして正弦波については軌跡の方

向が常に変化する課題として設定した。DMDにおいては軌跡変化がある円や正弓玄波は比較的正確に描画できるが、軌跡方向の変化がない直線については描画の正確性が低下していることが示唆された。

今回は群間で比較したが、同一症例で経時的に計測することで、上肢機能のフォローアップが可能となる。また、例えば脊柱側弯矯正術前後で計測し値を比較するなど、治療の効果判定にも有用であると考えられた。

6. Duchenne型筋ジストロフィーの消化管障害の検討

奈良医療センターに入院中の17名のDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)において、4名で強度の鼓腸やイレウスなどの消化管障害の既往が認められた。4名の特徴としては、

- 1) 排便は毎日あるにもかかわらず、強度の腹痛などのイレウス様症状をきたした。
- 2) イレウス症状のときには腸管蠕動運動の亢進を認めた。
- 3) 経管栄養をしている患者ほどイレウスや鼓腸をきたしやすい印象がある。
- 4) 4例ともNIPPVをしている。

などである。当院では入院患者ほぼ全例で酸化マグネシウム製剤を処方している。それに加えて、特に腹部の症状を訴える患者にはバントテン酸やアリナミンF(R)、ガスコン(R)、ガスモチン(R)などを処方している。また、適宜グリセリン浣腸や、用手圧迫、直腸からの脱気、温罨法などを組み合わせて、便秘のないようにしている。症例の中には過敏性腸症候群を思わせる例もあり、抗不安薬の投与で腹痛が軽快した。

重症化した消化管イレウスの代表的症例を示す。

症例；27歳男性

主訴；腹痛

現病歴；3ヶ月検診で肝機能障害を疑われた。2歳時に体の動きが悪いことに気づき、10歳時に歩行困難となり、当院に紹介された。その後、13歳時に当院へ入院し、療養生活となった。21歳時にPco₂が60を超えたためNIPPVの導入となっていた。食事も徐々に嚥下困難が進み、全粥・軟きざみと、濃厚流動の併用を行っていた。27歳時に強度の腹痛を訴えた。

現症；座位保持は不可。ベッドでの生活が主体である。腹部所見はsoftであるが、全体的に圧痛を認める。筋性防御なし。体温36.3℃。体重25kg

経過；胃部疼痛と、腹部膨満に対し、経鼻的にチューブを挿入し、絶食とし、持続点滴とした。徐々に腹痛も強く認めるようになり、ベンタジン(R)筋注施行した。このときは一旦疼痛は治まった。その後、腸管の蠕動運動とともに腹痛を認めた。適宜ブスコパン(R)の投与を行い、疼痛をしのいでいたが、主訴から3日後、腹部CTにて腸管のイレクス像と腹水を認めたため、近医消化器外科紹介となった。

処置；緊急大腸ファイバーでは明らかな狭窄と、器質的な病変を認めず。ネラトンカテーテルにて脱気を施行した。翌日夕より泥状便と排ガスを認め、腹痛も軽減した。転院後約1週間で3分粥の経口摂取開始となる。また転院4日後に施行した注腸造影では明らかな狭窄や、結腸の走行異常は認められず、以上より機能的イレウスと診断された。DMDでは呼

吸不全や心不全の合併はよく検討されているが、消化管機能障害の全国レベルでの実態把握は不十分である。今回呈示した例も含めて消化管のトラブルをかかえる症例は多く存在すると考えられる。DMDにおいて、腹部膨満や、鼓腸、イレウスが起こりうる原因として、

- 1) 長期臥床による腸管蠕動運動の低下
- 2) 胸郭や脊柱の変形による体幹の体積の減少
- 3) NIPPVによる消化管への空気の送り込み
- 4) 腸管(平滑筋)自体の変性
- 5) 腸間膜動脈の変形、狭窄による腸管の虚血
- 6) 腹圧の弱さ

などが考えられる。これら複数の要因がからみあって生じると思われる。また、排便は毎日あるにもかかわらず、イレウス症状をきたした例も認められるといったような普通のイレウスと違った印象をうける感がある。さらに、投薬内容もまちまちで統一された見解が存在しない。そして治療に難渋する症例がある。

今後、消化管運動機能障害の頻度、その臨床的特徴、原因や病態、対策や治療について全国的に多くの症例で検討し、QOLの向上に寄与する必要がある。

文 献

- 1) 野島元雄：筋ジストロフィーに対するリハビリテーション。愛媛大学医学部整形外科学教室、1987、p. 139-143
- 2) Rodillo EB et al: Prevention of rapidly progressive scoliosis in Duchenne muscular dystrophy by prolongation of walking with orthoses. J Child Neurol 3: 269-274, 1988
- 3) Rideau Y et al: The treatment of scoliosis in Duchenne muscular dystrophy. Muscle Nerve 7: 281, 1984
- 4) Cambride W et al: Scoliosis associated with Duchenne muscular dystrophy. J Pediatr Orthop 7: 436, 1987
- 5) Bridwell K H et al: Process measures and patient/parent evaluation of surgical management of spinal deformities in patients with progressive flaccid neuromuscular scoliosis (Duchenne muscular dystrophy and spinal muscular atrophy). Spine 1998;24: 1300-1309
- 6) Hsu JD: The natural history of spine curvature progression in the nonambulatory Duchenne muscular dystrophy patient. Spine 6: 771-775, 1983
- 7) 坪井 純他：進行性筋ジストロフィー症の脊柱変形について。中部整・災外 28：439, 1985
- 8) 安東範明 他：Duchenne筋ジストロフィー症における脊柱側弯発生のメカニズム—傍脊柱筋X線CTによる検討—。臨床神経 32：956-961, 1992

- 10) Ando N et al: A new wheelchair to prevent scoliosis in Duchenne muscular dystrophy. Muscle Nerve (Supple 1): S253, 1994
- 11) 安東範明他：Duchenne筋ジストロフィー症の脊柱側弯予防車椅子の開発。厚生省精神・神経疾患研究委託費，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5年度研究成果報告書，1994，p. 87-90
- 12) 安東範明 他：Duchenne筋ジストロフィー症の新しい歩行分析。臨床神経 32：962-968, 1992
- 13) 安東範明他：障害者の動作分析—新しい歩行分析法による検討。リハ医学 31：483-489, 1994
- 14) 安東範明他：筋ジストロフィー症の新しい靴型装具開発の試み。神経治療 11：355-358, 1994
- 15) 安東範明他：筋ジストロフィー症の新しい靴型装具の効果—3次元歩行解析による検討—。神経治療 11：599-602, 1994
- 16) 田中信彦：筋ジストロフィー患者の装具療法。装具療法—モデルと適応のすべて。メジカルビュー社，東京，2003，p. 176-181
- 17) Siegel IM (野島元雄 他訳)：神経筋疾患のマネージメント インテグレイテッド アプローチ。三輪書店，東京，1992
- 18) 茅田羅勝義 他：筋ジストロフィーの脊柱変形に対する軟性コルセットの使用。厚生省精神・神経疾患研究委託費，筋ジストロフィーの療養と看護に関する臨床的，社会学的研究平成7年度研究成果報告書，1996，p. 307-309
- 19) 武田純子：脊柱変形とその対策。筋ジストロフィーのリハビリテーション。医歯薬出版，東京，2003，p. 129-142
- 20) 安東範明他：筋ジストロフィー症の車椅子用クッションの検討。神経治療 11：273-277, 1994
- 21) 安東範明：疾患と処方のポイント・肢帯型筋ジストロフィー。臨床リハ 2：667-670, 1997
- 22) 安東範明他：筋ジストロフィーの適切な座位保持対策—各種のクッションと座位保持装置の特性について—。厚生省精神・神経疾患研究委託費，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年度研究成果報告書，1995，p. 34-36

筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対する 外科的治療の検討

整形外科医長 高相 晶士

諸言：筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対する治療は確立されておらず，その治療法はいまだ，多岐にわたっている．実際，筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対する治療は以前より保存療法も行なわれてきた．保存療法とは硬性のコルセットにより，体幹変形の矯正状態を維持し変形の進行を予防する事であるが，硬い素材が絶えず皮膚に接触するため皮膚のトラブルや痛みの訴えが多く，結局はずさざるを得なくなったり，たとえ装着していても進行性で，治療にも抵抗性であるため脊柱変形は進行してしまうことが多いとされてきた．このため，外科的治療が必要であるという意見が海外では一般的である．このため，筆者らも進行性であろうと推定される筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対しては積極的に外科的治療を行なってきた．筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対する手術治療は筆者らの経験や，以前の報告等を含めても我が国においては，未だその数は十分とは言えず，治療体系は確立されていない．

筆者らは筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対し症例を重ねているので，この外科的治療法につき検討し考察したい．

手術適応

通常の思春期特発性側弯症では，Cobb法において 50° を超える症例に対して美容上の問題点や成長終了後の変形の進行や経年的な心肺機能の低下，腰背部痛の出現と増悪なども考慮して患者や家族と相談したうえで手術を考慮する．しかし，筋ジストロフィーに伴う脊柱変形は 40° を超えると進行のスピードは増していく傾向にある．また，ひとたび変形に加速度がつくと高度変形に至ることも筆者らはよく経験している．よって筆者らは現在では， 40° を超えてきた時，手技上，変形の矯正の容易さ，手術時間，出血量においても手術適応として良いと考えている．逆に 60° を超える症例は手術時間も長く出血量も多いことが筆者らの経験において近年明らかになってきた．できるだけ，早期の手術を勧めるゆえんである．

術前の合併症として重要なのは心不全と呼吸不全であるが，内科医，麻酔科医との密なる相談のもと，専門医による手術中止の示唆がない限り手術を行ってきた．現在に至るまで，2例の手術中止勧告があったが，いずれも心エコーにおいて心壁の動きが悪く，心拍出率が30%以下の高度な心不全を合併する症例であった．

手術のための紹介の注意点

変形が進行性であると思われたなら，できるだけ早期の専門医紹介を考慮すべきである．特に，Cobb角が40度を超えるようであれば，早期の手術が望ましい．手術時間も短く，出血量も少なく，何より，矯正もよく良好な成績が期待でき

る．また手術に実際移行できるかは，呼吸能力，心機能にかかっている．実際我々も手術を行なうか否かはこの2点で決定している．紹介の際には，長きの経過の把握が重要である．また手術を行なう可能性のある患者は，床擦れを作らぬように注意して，また，背中のにきびを作らぬ様気をつける必要がある．手術後感染の機会が増すからである．さらに，尿路感染をおこしている患者も多く，ぜひ管理に気をつける必要がある．

手術方法

筆者らは筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対し後方矯正固定術を14症例に行なってきた．方法はすべてインプラントを用いた脊椎後方矯正固定術である．インプラントとはフック，ワイヤー，椎弓根スクリュー，ロッドである(Fig-1)．これらはステンレスあるいはチタン合金でできたものである．変

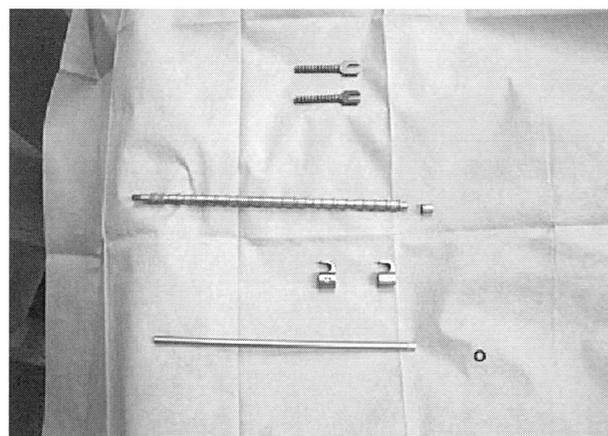


Fig.1



Fig.2

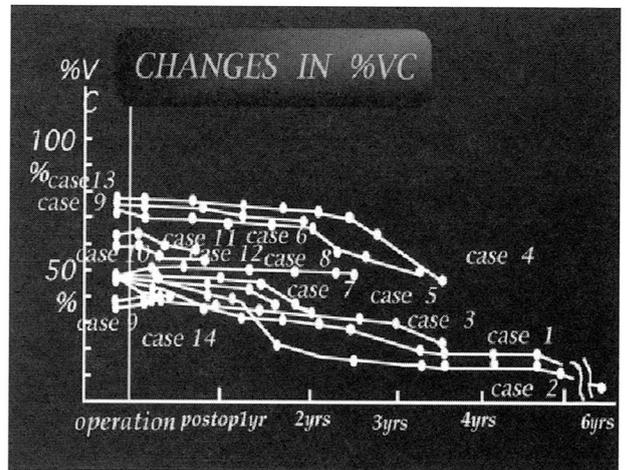


Fig.4

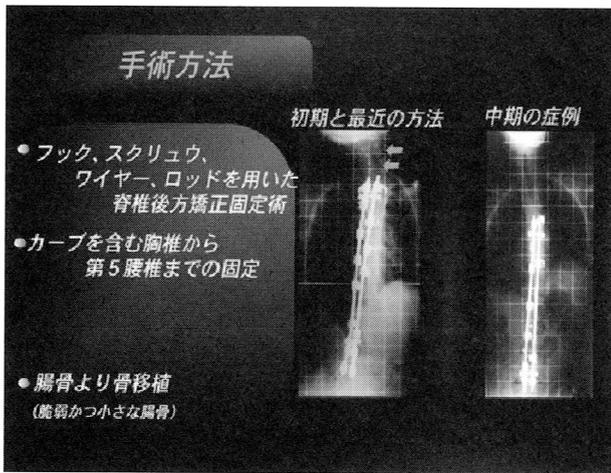


Fig.3

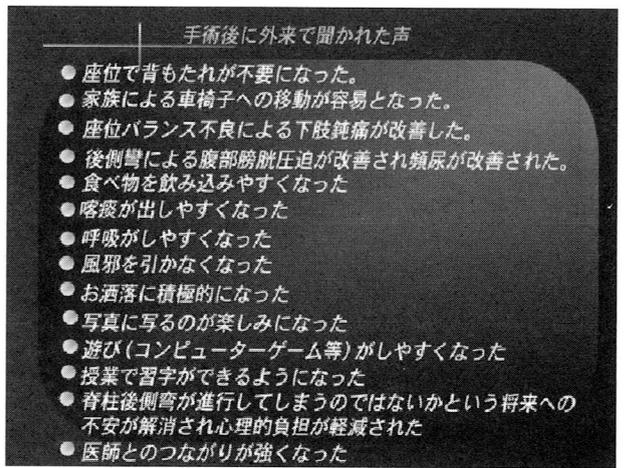


Fig.5

形を矯正したところでこれらインプラントで矯正位を維持する様に固定する。矯正し固定する範囲はカーブを含み、上位は胸椎、下位は第5腰椎までとしている。矯正の永年の維持のため骨移植により脊椎固定をおこなう。移植を行なった骨が母床に生着すると変形が矯正された状態で脊柱が固まるわけである。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から症例9まで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たが、固定せず残した上位の脊柱の変形が進行することが判明しての10例目の症例からは上位胸椎までの固定範囲としている。また、症例6までは手術時間短縮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。

出血量と輸血

脊柱変形の手術は大掛かりであり、一般に輸血なしでは不可能である。近年、同種血輸血に伴う種々の合併症を回避するため、整形外科領域を中心に自己血輸血が盛んに行なわれてきている。筆者らも、クリティカルパスにおいても示したとおり、現在では全症例で術前自己血貯血を行い、1000～1200ml (14例平均1080ml) の貯血にて手術にのぞんでいる。この間、全例にエリスロポエチンの注射投与と鉄剤の投与を

行う。出血量は、平均1517ml (630～2755ml) で、通常の側彎症手術に比べ多かったが、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による回収血で対処し、同種血輸血は全例回避可能であった。しかし、側彎度が60°をこえると有意に出血量も多く手術時間も有意に長くなる傾向にあるため、早期の手術が必要と考えているゆえんである。また、今後は安全のため、貯血期間を延長し、さらに自己血貯血量を増やしていきたいとも考えている。

筆者らによる手術の経験の実際

手術の方法

1997年7月から2003年7月までに筋ジストロフィーに伴う脊柱変形に対し脊柱変形の手術を行ったのは14症例である。疾患の内訳はDuchenne型筋ジストロフィー(DMD)13例、肢帯型筋ジストロフィー(LGMD)1例であり、LGMDの1例が女性であり、他のDMDの13例は男性であった。全症例前述のように自己血を1000ml～1200ml貯血し、術中はセルセーバーによる回収血輸血も併用した。手術方法は脊髄後方矯正固定術である。術中の展開創部の固定終了時の様子を示した(Fig-2)。

初期の2例は上位胸椎までの固定を行っているが、症例3以後は頸椎を含めた上位胸椎の可撓性の温存のため、中位胸

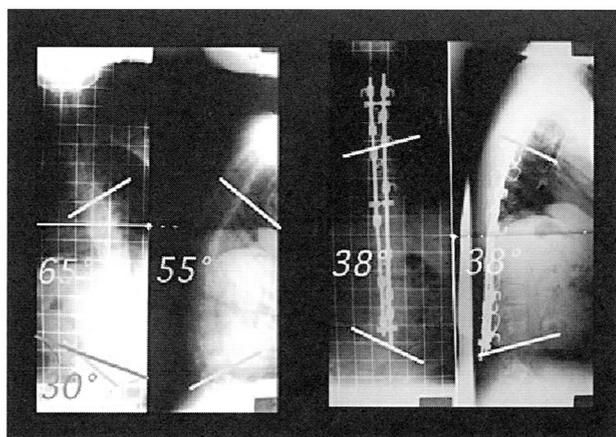


Fig.6



Fig.8

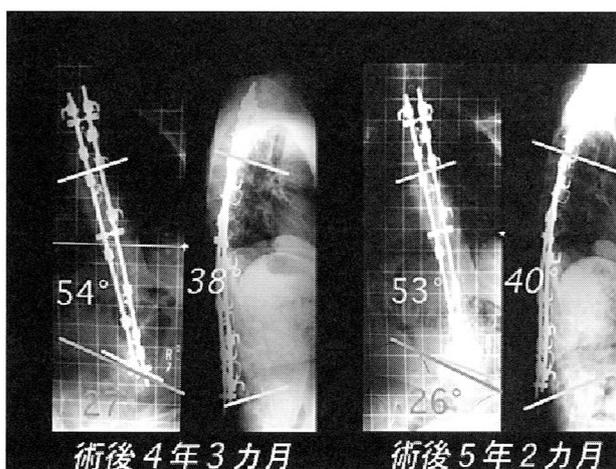


Fig.7

椎までの固定として固定範囲を短縮したが、最近の症例は固定を行わなかった部分の脊柱で新たな変形が生じてくることが判明してきたため、上位胸椎まで固定している (Fig-3)。また、下位固定範囲はDMDの13例は第5腰椎までとし、LGMDは第2腰椎までとした。

症例6までは時間短縮の考慮からワイヤーとフックのみの脊柱への設置としたが、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。それらの症例について、術前術中術後の問題点や合併症、変形の矯正、手術時間、出血量、呼吸能の変化、生活上での変化を検討、考察したので解説を含め述べたいと思う。

結 果

側弯度は平均で術前69°が術後27°に、後彎は術前73°が術後34°に矯正された。脊柱変形の矯正が呼吸能力におよぼす影響を調査するために呼吸能の変化を%VCで経過観察した。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ず、一時的にせよ%VCが良くなった症例も存在した。しかし経過を長くみると、呼吸能の低下は続き、その経過様式は自然経過と同様であると考えられた (Fig-4)。手術時間は、通常の側弯症手術と比べ、固定範囲も大きく、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

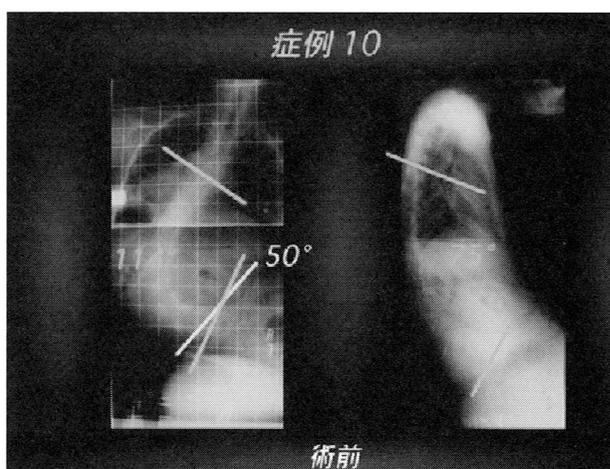


Fig.9

るために、平均7時間5分 (5時間36分～9時間7分) であり、以前より諸家により報告されているように長い傾向であった。出血量は、平均1531ml (630～2755ml) 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、同種血輸血は全例行っていない。

術前と術後の変化した点において検討すると、DMDの13例とも術前座位バランスが悪く自力保持が困難であり、LGMDの1例は歩行可能であったが、バランスが悪く、美容上の問題も大きかった。術後体幹のバランスは著しく改善された。

またDMD5例に座位での強い腰痛を認めたが、術後早期に消失した。その他、座位がとりやすくなった、家族による介助が容易になった、下肢鈍痛がとれた、飲食が容易になった、呼吸が楽になった、喘息の発作回数が減少した、遊びが楽になった、将来の不安が解消された、などであり、Quality of Lifeの向上が認められた (Fig-5)。

問題点は、術前としては自己血貯血採血中に迷走神経反射を来した2例、術前の尿検査にて尿路感染を認めた3例、肘の屈曲拘縮が強かったり、血管が細かったり、血管周囲の脂肪組織が豊富なために自己血採血が極めて困難であった4例が挙げられる。

術後の問題点としては、創部離開4例、尿路感染3例、心

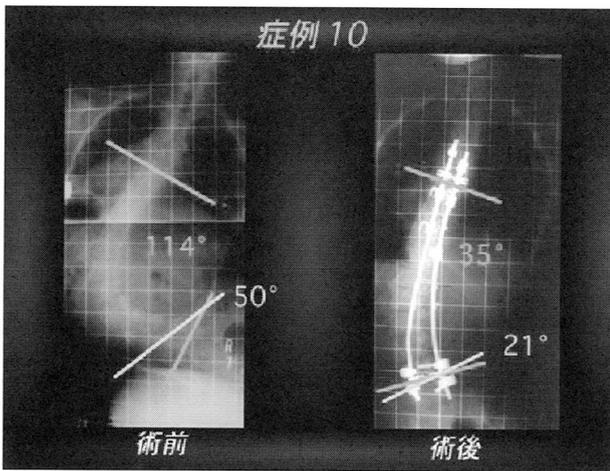


Fig.10

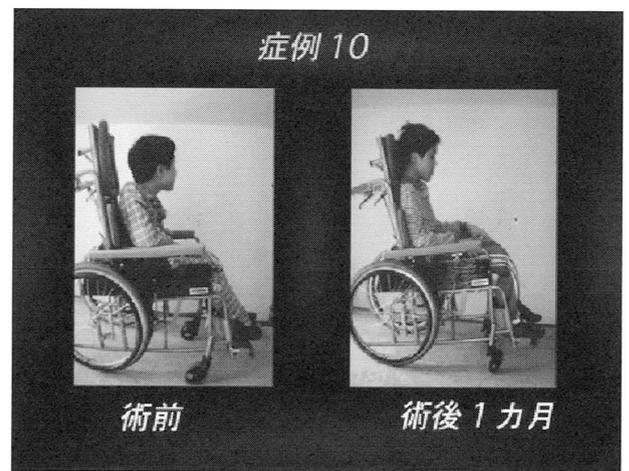


Fig.12

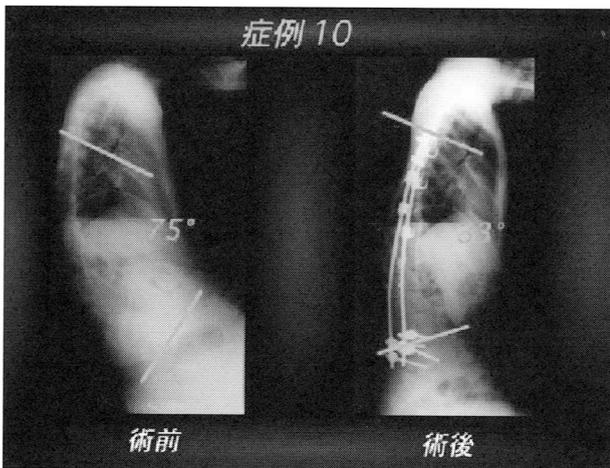


Fig.11



Fig.13

不全(頻脈)3例,術後短期間の呼吸抑制1例,座位での強い腰痛4例,頸部の筋力低下6例,感染徴候を認めない原因不明の発熱5例が認められたが,全例軽快した.しかし,原因不明の発熱の1例は尿中ミオグロビン陽性であり,臨床的問題はなかったが,潜在的な悪性高熱症をも疑わざるを得なかった.また,その他,インプラントの問題として,体の小さな症例には既存のインプラントが大きすぎ,手術において,閉創するのに,皮膚と皮下組織がとどかず,形成処置が必要である症例が存在したり,手術後数年経ってから,判明してきた事実として,病状が進行し,るい瘦が進むにつれ,設置した体内のインプラントが外より触れる症例が現れたり,固定範囲が通常側弯症手術と比べ大きいため,インプラントの上部先端や下部先端が,皮下を突き抜け出ようとしてきている症例も存在した.いずれの問題のあった症例も一部抜去などの追加処置により問題解決可能であったが,今後インプラントの形状やサイズの選択は益々慎重であるべきと考えられた.

また,術直後は体幹バランスが良くとも経時的に悪化する症例も存在し,さらなるインプラント設置範囲と固定範囲の検討も必要であると思われる.

症例供覧

手術2例目の症例

4才にてDMDと診断された.9才より車椅子移動となり,12才にて,脊柱変形指摘された.13才8ヵ月にて脊柱変形高度となり当科紹介入院となった.術前%VC50% 心機能に問題はなかった.

術前65°の側彎,55°の後彎を認めた.フックとワイヤー,ロッドによる後方矯正固定術を行い,側彎38°後彎38°の矯正を獲得した(Fig-6).術後4年3ヵ月,5年2ヵ月にて経時的に非固定椎で側彎の悪化と,体幹バランスの悪化をレントゲン写真上で認めた(Fig-7).しかしながら,外観上は手術前と比べ,明らかに車椅子座位の状態は良好であり,ADLの向上につながっていると考えられた(Fig-8).本症例のように,経過観察中において固定範囲以外の脊柱において新たな変形を生じることがあり,注意が必要である.

手術10例目の症例

4歳にてDMDと診断され,8歳より車椅子,10歳にて側彎を指摘され,その後増強し,11歳4ヵ月にて手術のため入院となった.術術前にて,%VC40.0%,頻脈を認め,心筋障害を認めた.

術前114°の側彎,75°の後彎,骨盤傾斜角50°であり,著

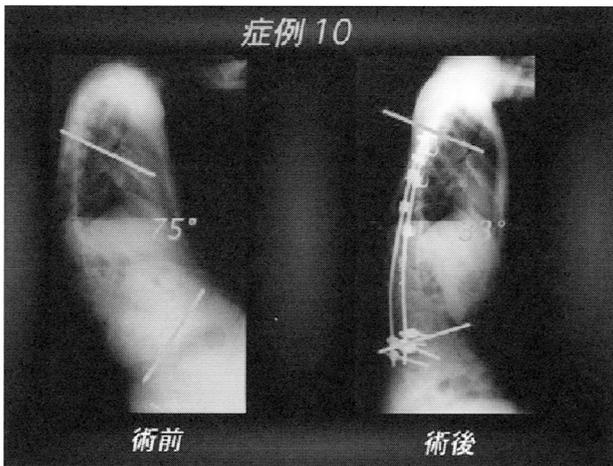


Fig.14

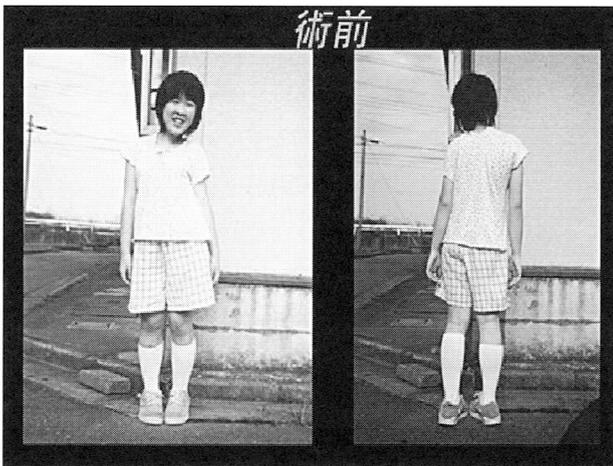


Fig.15



Fig.16

しい脊柱変形を認めた (Fig-9).

腰椎には椎弓根スクリューを用い、後方矯正固定術をおこない、側彎35°、骨盤傾斜角21°の矯正を獲得しました (Fig-10)。後彎は33°の矯正を獲得した (Fig-11)。

手術前とくらべ、車椅子座位での状態は良好となり、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

の改善は著明で、座位バランスの著しい改善を認めた (Fig-12)。以後も座位バランスは良好であった (Fig-13)。

手術12例目の症例

4歳にてLGMDと診断され、9歳にて側彎を指摘され、その後増強し、14歳4ヵ月にて手術目的にて入院となった。術前にて、%VC50.0%、心機能は特に異常はなかった。術前68°、58°の側彎、56°の後彎を認めた。

腰椎には椎弓根スクリューを用い、後方矯正固定術をおこない、側彎22°、22°の矯正と、後彎30°の矯正を獲得した (Fig-14)。

手術前と比べ、立位の状態は良好となり、美容上も著しい改善が認められた (Fig-15) (Fig-16)。

考察と結論

近年の筋ジストロフィー患者の生命的予後は急速に改善されつつある。筆者らの14例の手術経験を通じて判明してきた事は、呼吸能と延命効果については、当初、呼吸能の改善をも期待したが、実際には、%VCの改善は認めず、不変もしくは軽減の傾向を認め、手術を行わない症例の自然経過と変わりのない経過をたどる事が判明しつつある。そこで、現在、筆者らは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や、人工呼吸器への移行を容易にしたり、管理が容易になる効果があると推察している。結論的には、脊柱変形に対する手術の最大の効用は、自然経過に任せてしまえば、ADLが悪化の一途をたどることが必至の筋ジストロフィー患者のQuality of Lifeの向上を図ることであると考えられた。しかし筋ジストロフィー患者は心不全や呼吸不全をすでに合併していることが多く、その他のリスクも高く、周術期の問題は極めて多い。このため、手術にあたっては十分な医師、医療従事者よりの説明と患者とその家族との深い理解と信頼関係の樹立が不可欠であり、その上に立った慎重な手術適応の決定が極めて重要である。

文献

- 1) Broom,M.J.,et al.:Spinal fusion augmented by Luque-rod segmental instrumentation for neuromuscular scoliosis.J.BoneJoint Surg.,71-A:32-44,1989.
- 2) Dupont,G.et al.:Spinal deformities and wheel-chair seating in Duchenne muscular dystrophy:Twenty year of research clinical experience. Seminars in Neurology,15:29-57,1995.
- 3) Galasko,C.S.B.,etal.: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 the L5 in Duchenne muscular dystrophy. Thirty-third Annual Meeting. Scoliosis Research Society Meeting. 1998.
- 5) Marchesi,D.M.,et al.:Modification of the original Luque technique in the treatment of Duchenne's neuromus-

- cular scoliosis. J. Pediatr. Orthop., 17:743-749, 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: デュシャンヌ型筋ジストロフィーにおける脊柱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 the 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・災外, 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) Sook, J.E., et al.: Paralytic Scoliosis. The textbook of spinal surgery. 2nd Ed. Lippincott Raven, Philadelphia, 839-880, 1997.
-

筋ジストロフィー患者へのクレアチン投与の試み

福留 隆泰, 田村 拓久, 渋谷 統壽

はじめに

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。これら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, 歩行可能な患者群での短期間投与における効果が報告されている。本研究では機能障害度の高い筋ジストロフィー患者に長期間クレアチンを投与して, 筋力改善の有無および副作用の発現について検討した。

対象と方法

研究の実施にあたり長崎神経医療センター倫理委員会の承認を得た。また, 被検者には研究の方法と意義および予想される危険性について十分に説明し同意を得た。

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, DMD2: 19歳機能障害度VIII, DMD3: 23歳機能障害度VII) と福山型筋ジストロフィー2名 (FCMD1: 19歳機能障害度VIII, FCMD2: 18歳機能障害度VIII) を対象として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1週間その後は一日5gを11週間投与し, 最終的に一日2.5gを維持量として合計12ヶ月間投与した。

投与前後で①体重, ②FIMスコア, ③利き手のピンチ力, ④呼吸機能, および⑤血液・尿生化学検査の測定を行った。

結 果

DMD1例は肝機能障害が出現したため3ヶ月で投与を中止したが同様の測定を行った。

① 体重の変化 (表1)

投与前, 3ヶ月後, 6ヶ月後および12ヶ月後の体重の変化をみると, 3ヶ月で投与を中止したDMD1例以外は体重が減少していた。

② FIMスコアとピンチ力の変化 (表2)

投与前と12ヶ月後のFIMスコアを比較すると, DMD1では72点が67点に減少 (5点減少) していたが, DMD2とDMD3では減少したものの1点減少でFCMD1とFCMD2は不変であった。

表1. 体重の変化

	投与前	3ヶ月後	6ヶ月後	12ヶ月後
DMD1	163cm / 41.1kg	42.3kg	43.1kg	44.9kg
DMD2	163cm / 29.6kg	27.7kg	26.4kg	28.4kg
DMD3	165cm / 41.7kg	41.2kg	40.7kg	40.1kg
FCMD1	157cm / 34.9kg	33.3kg	33.2kg	30.9kg
FCMD2	153cm / 36.6kg	36.2kg	33.5kg	35.4kg

表2. FIMスコアと利き手のピンチ力の変化

FIMスコア (点) / ピンチ力 (kg)	投与前	3ヶ月後	6ヶ月後	12ヶ月後
DMD1	1972.2.7	1972.2.3	1972.1.1	1967.1.3
DMD2	1967.1.2	67 / -	1967.1.8	1966.1.3
DMD3	1968.1.2	68 / 0.9	1968.1.2	1967.1.2
FCMD1	55 / 0.7	55 / 0.7	55 / 0.2	55 / 0.7
FCMD2	1961.1.1	1961.1.1	61 / -	61 / 1.0

投与前と12ヶ月後のピンチ力を比較すると, DMD1では2.7kgが1.3kgに減少 (1.4kg減少) していたが, DMD3とFCMD2では減少したものの0.1kg減少でFCMD1は不変, DMD2は0.1kg増加していた。

③ 呼吸機能の変化 (図1)

投与24ヶ月前から投与開始までの%VCの変化をみると, FCMD2を除き全例で%VCは漸減している。投与後6ヶ月でDMD1, DMD2およびFCMD2において%VCが一過性に増加したが, 12ヶ月後には再び減少した。%VC漸減の割合に注目すると, DMD1とDMD2ではクレアチン投与後に

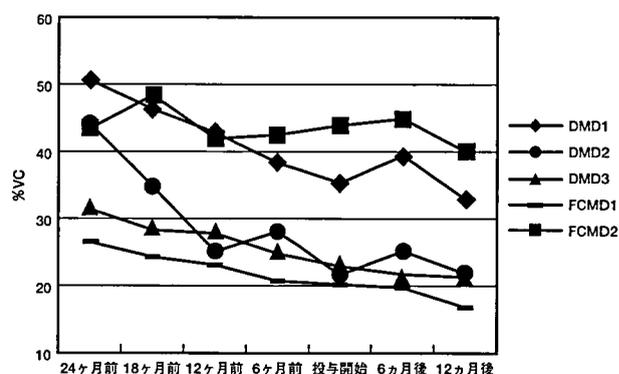


図1. 呼吸機能 (%VC) の変化

表3. CPKとLDHの変化

CPK/LDH (IU/L)	投与前	3ヵ月後	6ヵ月後	12ヵ月後
DMD1	3091/557	2689/578	2580/599	1332/474
DMD2	637/325	653/300	563/330	413/360
DMD3	917/408	1067/389	894/491	696/403
FCMD1	280/348	372/360	518/498	217/347
FCMD2	1443/446	969/456	991/450	695/494
6例の平均 (mean ± S.E.)	1473 ± 493 / 417 ± 41	1150 ± 404 / 417 ± 48	1109 ± 340 / 474 ± 39	671 ± 169 / 416 ± 27

表4. GOT, GPTおよびγGTPの変化

CPK/LDH / γGTP (IU/L)	投与前	3ヵ月後	6ヵ月後	12ヵ月後
DMD1	51/122/42	77/262/45	55/155/147	40/107/38
DMD2	29/27/37	29/29/78	33/33/130	26/22/19
DMD3	36/67/30	44/65/25	39/63/31	35/47/29
FCMD1	22/22/16	19/14/12	28/18/13	2019.12.19
FCMD2	39/37/24	42/45/20	28/25/15	34/32/17

減少の割合が低くなっている。

④ 血液・尿生化学検査の変化 (表4.5.6)

CPK値 (IU/L) は全例で減少し、6例の平均で投与前 1273 ± 493が12ヵ月後には671 ± 169となった。LDH値は不変だった (表3)。

GOT/GPT値 (IU/L) はDMD1例において3ヵ月後に77/262と上昇したため投与を中止した。6ヵ月後に前値に戻ったが、γGTPは147 IU/Lに上昇した。12ヵ月後にはGOT, GPT, γGTPの全て前値に戻った。DMD2例では、γGTP値が3ヵ月後78 IU/Lで6ヵ月後130 IU/Lであったが、12ヵ月後には減少していた (表4)。

尿中の24時間クレアチン排泄量 (mg/day) は全例で3ヵ月後に著増し、6例の平均で投与前 617 ± 144が3ヵ月後には3033 ± 679であった。その後DMD1は投与を中止し、他は投与量を減量した。6ヶ月後はDMD1を除く全例でクレアチン排泄量は増加しており、5例の平均は3722 ± 820であった。12ヵ月後でも投与前に比べてクレアチン排泄量は増加しており、5例の平均は1797 ± 313であった (表5)。

表5. 一日尿中クレアチン排泄量の変化 (mg/day)

	投与前	3ヵ月後	6ヵ月後	12ヵ月後
DMD1	1018.5	3625	849.1	1310.4
DMD2	290.5	1428.8	1424	858
DMD3	894.3	1450	4047.3	2072.4
FCMD1	494.1	4786.6	5316.9	2137.1
FCMD2	385.8	3872.4	4100	2121.3
平均 (mean ± S.E.)	617 ± 144	3033 ± 679	3722 ± 820*	1797 ± 313*

*DMD1を除く5例の平均

考 察

FIMスコアや利き手のピンチ力はクレアチン中止例で減少が大きかった。また、%VCは漸減が抑制される例があった。クレアチンの効果発現にはトレーニングが必要であることから、利き手の運動や呼吸器リハビリテーションの併用が有用であったと考えられる。CPK値は全例で低下していた。これは自然経過の可能性はあるが、クレアチンが骨格筋の変性・壊死を予防した可能性を示唆する。機能障害度が高い筋ジストロフィー患者でも筋力が維持できる可能性が示唆された。一般にクレアチンの維持量は5gとされているが、2.5gでも尿中のクレアチン排泄量は高値であり血中濃度は保たれていると考えられる。γGTPが上昇した例 (DMD2) では減量後に正常化しており、副作用の予防の上でも少量投与が重要と考えられる。また、血中濃度が高濃度で維持されるとCr transporter proteinの発現が抑制されるとする報告2)があることから、維持量を少なくすることが重要と考えられる。

クレアチン投与後に肝機能障害が出現した例 (DMD1) では、中止後に値は改善し腹部CTでも異常所見を認めなかった。γGTP上昇例 (DMD2) はクレアチン減量後に値は改善した。福山型筋ジストロフィーではクレアチン投与後に痙攣発作が生じたとする報告があるが、われわれの例では認めなかった。

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

筋ジストロフィー患者におけるクレアチン療法の試み

松村 剛¹⁾, 横江 勝²⁾, 中森 雅之²⁾, 服部 憲明³⁾,
齊藤 利雄¹⁾, 野崎 園子¹⁾, 藤村 晴俊¹⁾, 神野 進¹⁾

要旨：筋ジストロフィー患者23名を含む29名でクレアチンを9週間投与し、前後で筋力、ADL、高次脳機能、心肺機能、MRSなどを評価した。動きやすさなどの自覚的改善が12名で見られ、右大腿四頭筋の定量的筋力が軽度増加した。投与前にエルゴメーター(15ワット15分)を完遂できなかった6名のうち4名は投与後に施行できた。有害事象は10名が訴えたがいずれも軽度で、有害事象による脱落例はなかった。心肺機能や高次脳機能には変化無く、下腿のクレアチンリン酸測定にも有意な変化を認めなかったが、筋ジストロフィーでもクレアチンが有効な例があると考えられた。今後至適投与法、長期投与の心肺機能への影響などの検討が今後の課題である。
キーワード：クレアチン、サプリメント、筋ジストロフィー、治療

はじめに

クレアチンは、細胞内で即時利用可能なエネルギー源として重要な役割を担っている。スポーツの分野では、クレアチンの摂取により骨格筋内のクレアチン濃度が上昇し、その結果高負荷の運動がより持続的に行え、トレーニング効果が向上するとして広く応用が進んでいる。臨床の分野でも、ミトコンドリア脳筋症や糖原病、筋ジストロフィー (progressive muscular dystrophy: PMD) などの神経筋疾患において、クレアチン投与が運動能力の改善をもたらしたとする報告が見られるようになってきている¹⁻¹⁰⁾。さらに、神経変性疾患や血管障害、外傷、無酸素脳症などにおいて神経保護作用を報告したものもある¹¹⁻¹⁵⁾。われわれは、PMD患者におけるクレアチンの骨格筋障害や高次脳機能に対する効果および安全性を評価する目的でopen trialを実施したので報告する。

対象・方法

本研究は当院倫理委員会にて承認を得て実施した。当院にて診療中で本研究に同意した、歩行可能なPMD患者23名および健常対照者6名が参加した。患者の内訳は、筋強直性ジストロフィー (myotonic dystrophy: DM) 14名、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (facioscapulothoracic muscular dystrophy: FSHD) 7名、肢帯型筋ジストロフィー (limb-girdle muscular dystrophy: LGMD) 2名である。DM、FSHD全例およびLGMDの1名 (LGMD1:LGMD2B) は遺伝子診断で確定、LGMDのもう1名は臨床症状および筋病理で診断した。対象者のサマリーをtable 1に示した。

クレアチンの投与は、経口で十分な水分と共に摂取するよ

う指導した。投与量は、投与開始1週間は20g/日 (5g × 4回)、以後8週間は5g/日 (5g × 1回) とした。日常生活については、投与前の生活レベルを維持し負荷の高いトレーニングなどは行わないよう指示した。全例で投与開始前に栄養指導を行ない、炭水化物や脂質の過剰摂取を避けること、体重変化に留意するよう指示した。

クレアチン投与前後で、身体測定、自由口述による自覚的評価、筋力・ADL評価、心肺機能検査、高次脳機能評価、血液検査、magnetic resonance spectroscopy (MRS) などを実施した。健常者では臨床的筋力変化、ADL評価、心肺機能検査、高次脳機能評価は省略した。臨床的筋力評価はMedical Research Council Scale (MRC) による徒手筋力テストを実施した。ADLは、functional independence measure (FIM) scoreを用いて評価した。定量的筋力評価はKINCOM®を用いて右大腿四頭筋のisometric powerを、座位にて膝を60度に固定し、15秒間最大限の努力で膝を持続伸展させる動作を2秒間隔 (一呼吸) の休息をはさみ4回施行して、各施行の最大筋力および平均筋力を測定した。サイクルエルゴメーターは、15ワットの抵抗で60回転/分の速度で15分間ペダルを漕ぎ、脈拍、酸素飽和度、血清乳酸・ピルビン酸濃度などを測定した。

左下腿のクレアチンリン酸 (phosphocreatine: PCr) を、3.0テスラのMRI装置 (GE Medical systems社製) を用いたMRSで、外部標準を用いた半定量法で測定した。測定部位の再現性を確保するため、被検者の下腿を型取りして固定具を作成、Spin Echo法によるT1強調MRI画像で位置を確認した。PCrの測定は、直径8cmの³¹P表面コイルを用いてfree induction decay chemical shift imaging法により実施した。外部標準として、表面コイルの筋に接する面と反対側の中央部に固定した10mlバイアル内の0.32mol/l pyrophos-

¹⁾ 独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科 [〒560-8552 大阪府豊中市刀根山5-1-1 TEL: 06-6853-2001, FAX: 06-6853-3127]

²⁾ 大阪大学大学院医学系研究科神経機能医学 [〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2 TEL: 06-6879-3571, FAX: 06-6879-3579]

³⁾ ビーエフ研究所 [〒565-0873 大阪府吹田市藤白台5-7-1 国立循環器病センター内 TEL: 06-6872-7646, FAX: 06-6872-8761]

著者連絡先：松村 剛

独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科

[〒560-8552 大阪府豊中市刀根山5-1-1 TEL: 06-6853-2001, FAX: 06-6853-3127 E-mail: matumura@toneyama.hosp.go.jp]

Table 1. Clinical profile of participants

Patient	M/F	Age	Disease	Onset	Severity
DM1	M	36	DM	25	Climb stairs without any assistance
DM2	F	31	DM	19	Unable to climb stairs
DM3	F	45	DM	15	Climb stairs with pushing knee
DM4	F	51	DM	41	Climb stairs with handrail
DM5	M	55	DM	44	Climb stairs with handrail
DM6	M	28	DM	12	Unable to climb stairs
DM7	F	36	DM	15	Climb stairs without any assistance
DM8	M	24	DM	0	Climb stairs with handrail
DM9	M	20	DM	3	Climb stairs with pushing knee
DM10	M	36	DM	29	Climb stairs with pushing knee
DM11	M	55	DM	40	Climb stairs without any assistance
DM12	F	38	DM	20	Climb stairs with pushing knee
DM13	M	40	DM	13	Climb stairs without any assistance
DM14	M	43	DM	33	Climb stairs with handrail
FSHD1	F	30	FSHD	13	Climb stairs without any assistance
FSHD2	F	16	FSHD	11	Climb stairs without any assistance
FSHD3	M	58	FSHD	55	Climb stairs with pushing knee
FSHD4	F	60	FSHD	53	Climb stairs with handrail
FSHD5	F	29	FSHD	15	Climb stairs without any assistance
FSHD6	F	32	FSHD	14	Unable to climb stairs
FSHD7	M	43	FSHD	14	Unable to climb stairs
LGMD1	M	55	LGMD2B	40	Climb stairs with handrail
LGMD2	F	25	LGMD	16	Climb stairs with handrail
C1	M	33	Control		
C2	M	38	Control		
C3	M	36	Control		
C4	M	27	Control		
C5	F	28	Control		
C6	F	25	Control		

Abbreviation: M/F: Male/Female, DM: Myotonic dystrophy, FSHD: facioscapulohumeral muscular dystrophy, LGMD: Limb-Girdle muscular dystrophy

phoric acid (PPA) 溶液の信号を同時に測定した。計測は連続3回行い、それぞれPCrおよびPPAのピーク面積を測定し、PCr/PPA比の平均値を求めた。なお、今回用いたMRS装置は研究用の機械であったため、ビーエフ研究所(大阪府吹田市)の基準を満たした成人で、同意を得られた22名(DM 11名, FSHD 6名, LGMD 2名, 健常者3名)についてのみ実施した。

高次脳機能評価はmini-mental state examination (MMSE) と odd ball 法によるP300で実施した。心機能は心エコーによる左室駆出率(left ventricular ejection fraction; LVEF) および血漿 brain natriuretic peptide (BNP) で、呼吸機能は努力肺活量(forced vital capacity; FVC) にて評価した。

得られたデータについて、student's t testを用いて統計学的検討を行い、 $p < 0.05$ を有意として判断した。

結 果

DMの2名(DM4, DM14)が転居・家族の反対などの個人的理由により脱落したが、他の27名は重篤な有害事象なく投与を終えた。

自覚的改善が12名で見られ、その内訳は動作のしやすさ6名、持続力の増加3名、運動後の筋肉痛消失2名、気分がすっきりした感じ1名であった。改善を訴えたのは、階段昇降不能な4名中3名に対し、階段昇降に支持が不要な7名中は

1名のみで、重症度の高い症例が困難な動作の改善・持続延長を訴えたものが多かった。有害事象についても10名が訴え、内訳は眠気5名、腹部不快、下痢などの消化器症状4名、発汗3名(複数回答)が主なものであったが、いずれも軽微で投与中止を希望したものはなかった。体重は投与後でむしろ減少し、DMでその傾向が強かったが、体脂肪率に変化はなかった(table 2)。

MRC score, FIM score, 心肺機能については明らかな変化を認めなかった。MMSEやP300にも有意な変化は認められなかった。血液検査で異常変動を示したものはなく、血清CK値も変化なかったが、Ca濃度が小幅ながら有意に低下した(table 2)。

定量的筋力評価において、患者で最大筋力と平均筋力の増加を認めた(table 2)。サイクルエルゴメーターでは、投与前に6名が15分間ペダルを漕ぎ続けることができなかったが、投与後はそのうち4名が漕ぎ続けられた。脈拍数や酸素飽和度、乳酸・ピルビン酸などには有意な変化はなかった。MRSでは投与前後で下腿のPCrに変化を認めなかった(table 2)。

考 察

スポーツの分野において応用が広がったクレアチンだが、近年では神経筋疾患でも試みられ、有効性が報告されるようになった¹⁻¹⁰⁾。筋肉に対する効果だけでなく、変性疾患や脳

Table 2. Summary of evaluations

		pre-trial	post-trial	p value
Body measurement				
Body weight	(kg)			
All participants		59.0 ± 13.7	58.4 ± 13.3	0.048#
DM		65.6 ± 15.5	64.2 ± 15.4	0.017#
FSHD		49.6 ± 9.0	49.3 ± 8.5	0.493
LGMD		52.0 ± 11.3	53.0 ± 11.3	
Controls		59.0 ± 8.8	59.2 ± 9.1	0.363
Quantitative muscle power				
Maximum peak torque		(Nm)		
All patients		92.5 ± 54.9	98.2 ± 54.9	0.001\$
DM		94.3 ± 44.7	103.3 ± 45.0	0.002\$
FSHD		74.6 ± 46.0	77.6 ± 45.0	0.272
LGMD		31.2 ± 1.7	32.0 ± 2.8	
Controls		169.1 ± 20.5	170.1 ± 15.8	0.792
Average torque	(Nm/sec)			
All patients		70.9 ± 42.6	76.6 ± 44.0	0.009\$
DM		72.9 ± 34.7	79.9 ± 33.7	0.024#
FSHD		47.9 ± 32.3	52.0 ± 37.1	0.333
LGMD		20.9 ± 1.3	21.9 ± 2.7	
Controls		139.1 ± 20.5	141.6 ± 19.4	0.663
³¹ P MRS				
Phosphocreatine	(PCr/PPA)			
All participants		0.542 ± 0.329	0.535 ± 0.334	0.943
DM		0.380 ± 0.328	0.365 ± 0.323	0.338
FSHD		0.741 ± 0.170	0.756 ± 0.165	0.420
LGMD		0.343 ± 0.165	0.360 ± 0.245	
Controls		0.997 ± 0.192	0.977 ± 0.199	0.524
Spirogram				
FVC	(ml)			
All patients		2600 ± 722	2540 ± 708	0.236
DM		2527 ± 521	2529 ± 551	0.983
FSHD		2399 ± 862	2274 ± 835	0.049#
LGMD		3740 ± 212	3540 ± 70	
UCG				
LVEF	(%)			
All patients		66.4 ± 8.0	65.5 ± 7.6	0.295
DM		65.0 ± 8.2	63.9 ± 7.7	0.425
FSHD		69.7 ± 8.1	68.4 ± 8.1	0.336
LGMD		62.5 ± 5.0	64.0 ± 4.2	
Cognitive function				
MMSE				
All patients		27.4 ± 4.8	28.4 ± 2.9	0.132
DM		25.6 ± 6.0	27.3 ± 3.6	0.173
FSHD		29.9 ± 0.4	29.9 ± 0.4	1.000
LGMD		28.5 ± 2.1	29.5 ± 0.7	
P300	(msec)			
All patients		316.9 ± 21.8	323.4 ± 25.4	0.428
DM		324.1 ± 28.5	312.6 ± 27.1	0.354
FSHD		306.3 ± 13.0	330.7 ± 24.6	0.109
LGMD		331.2 ± 11.3	332.8 ± 29.4	
Laboratory data				
CK	(IU/L)			
All participants		671.2 ± 1867.4	526.2 ± 1120.2	0.355
DM		284.8 ± 153.9	271.7 ± 133.4	0.583
FSHD		257.7 ± 138.9	264.9 ± 110.5	0.892
LGMD		5479.5 ± 5743.8	3628.5 ± 2980.5	
Controls		149.7 ± 59.7	196.3 ± 87.5	0.063
Ca	(mg/dl)			
All participants		9.136 ± 0.412	8.868 ± 0.333	0.0002\$
DM		9.050 ± 0.412	8.767 ± 0.284	0.008\$
FSHD		9.143 ± 0.503	8.886 ± 0.212	0.100
LGMD		8.950 ± 0.071	8.650 ± 0.071	
Controls		9.475 ± 0.150	9.250 ± 0.480	0.299

#: p<0.05, \$: p<0.01

Abbreviations:

MRS: magnetic resonance spectroscopy, PCr: phosphocreatine, PPA: pyrophosphoric acid, UCG: ultrasonic cardiogram, LVEF: left ventricular ejection fraction, CK: creatine kinase

血管障害、頭部外傷などで中枢神経保護作用が報告されるようになった¹¹⁻¹⁵⁾。一方で、有効性を疑問視する報告¹⁶⁻¹⁹⁾もあり、効果のメカニズムや安全性評価はまだ十分とはいえない。しかし、このような情報はインターネットなどを通じて一般にも流れており、サプリメント食品として市販されているため、自己購入し服用している患者も少なくない。このような状況下では、期待できる効果と安全性を客観的に評価し、適切な情報を発信することが求められている。

今回の研究では、対象者の40%以上が自覚的な効果を訴え、定量的筋力評価でも改善が見られた、エルゴメーターで施行完遂者が増加したなど臨床の評価は有効性を示唆した。しかし、MRSでは筋肉中のPCrの増加は証明できなかった。この理由として、MRSの技術的問題についても検討したが、1) 3.0 Teslaという十分な磁場強度を用いて検索したこと、2) 固定具やMRI画像を用いて測定部位の再現性を厳密に確認したこと、3) アデノシン三リン酸との対比ではなく外部標準との絶対比を用いたこと、4) 同時に測定したピーク値の再現性が高かったことなどから否定的と考える。われわれと同様に^{31P} MRSを用いた測定でPCrに変化を認めなかった報告^{19, 20)}や、生検筋の検索で遊離クレアチンに比べPCrの増加が乏しかったとする報告²¹⁾もあり、クレアチン内服によるクレアチンの増加は遊離クレアチンが主である可能性がある。

総クレアチンが増加しなかった可能性も否定できず、幾つかの理由が考慮される。第一は栄養と運動の問題である。一般に、クレアチンの細胞内への取り込みには運動と炭水化物摂取が重要とされている²²⁾。今回、われわれは体重増加を抑制するため炭水化物・脂質を控えるよう指導し、筋肉への過剰な負荷を避けるため通常以上の運動は行わないよう指導したが、これらがクレアチンの吸収効率を低下させた可能性がある。次に、神経筋疾患において骨格筋でのクレアチン担体の発現が低下しているとの報告^{23, 24)}があり、神経筋疾患ではクレアチンが吸収されにくいことも考えられる。三番目に、クレアチンの長期投与で総クレアチン量が減少するとの報告²⁵⁻²⁷⁾もあり、細胞外のクレアチン濃度によりクレアチン担体の発現制御がなされている可能性がある²⁸⁾。神経筋疾患患者において、クレアチンの効果を十分に得るにはこれらの問題を解明する必要がある。

PCrの増加なしに臨床的效果が認められたことについて、プラセボ効果やKINCOM®やサイクルエルゴメーターに対する訓練効果は否定できない。しかし、起立に手の支持が不要になる、エルゴメーターが完遂できるなど質的な変化を認めた症例が存在することは、少なくとも筋ジストロフィーの一部にクレアチンが有効な症例が存在する可能性を示すものと考えられる。幾つかの二重盲検法^{6, 8)}で有効性が示されていることもこれを支持する。総クレアチンが増加していれば、エネルギー代謝が改善した可能性があるが、mdxマウスでは、クレアチン投与により細胞内へのカルシウム流入と筋変性が低下したことが報告されており²⁹⁾、エネルギー代謝以外の効果も寄与しているかもしれない。

Myotonic dystrophyについて、2つのdouble-blind cross-over trials^{17, 19)}では効果を認めず本研究と矛盾する。しかし、Walterらは¹⁷⁾、cross-overの後半ではクレアチンがプラセボ

より効果を認めており、クレアチンの効果を否定できないとしている。また、本研究の参加者は比較的重症度が高く、この点が影響した可能性もある。

今回の研究では、心肺機能や高次脳機能についても注目したが明らかな変化はなかった。これらについては、評価期間が短すぎた可能性が高く、より長期の評価が必要と思われる。ところで、重篤なものはなかったものの、有害事象の頻度が一般の報告に比べて高く、導入期の1週間に著明であった。今回はスポーツ分野での標準的投与量を用いたが、高用量投与で副作用を生じた報告もあり²⁰⁾、筋肉の量が減少している神経筋疾患患者においては過剰投与にも留意すべきと思われる。

クレアチンは筋ジストロフィーにおいて有効である可能性があるが、疾患や重症度に応じた至適投与量と投与中の適切な栄養摂取・運動量の設定が今後の課題である。また、長期投与における心肺機能への影響も留意すべき課題と考える。軽微とはいえ、有害事象も少なくなかったことを踏まえれば、現時点でクレアチンの投与は適切な医学的管理の下で行われるべきであろう。

謝辞：MRSについて、技術的指導を頂いた明治鍼灸大学医療情報学教室の梅田雅宏先生に深謝いたします。本研究は厚生労働省精神・研究委託費（14指-5）を受けて行った。本研究の要旨は第44回日本神経学会総会にて発表した。

参考文献

1. Tarnopolsky MA, Roy BD, MacDonald JR: A randomized, controlled trial of creatine monohydrate in patients with mitochondrial cytopathies. *Muscle Nerve* 1997;20:1502-1509
2. Tarnopolsky M, Martin J: Creatine monohydrate increases strength in patients with neuromuscular disease. *Neurology* 1999;52:854-857
3. Borchert A, Wilichowski E, Hanefeld F: Supplementation with creatine monohydrate in children with mitochondrial encephalomyopathies. *Muscle Nerve* 1999;22:1299-1300
4. Felber S, Skladal D, Wyss M, et al: Oral creatine supplementation in Duchenne muscular dystrophy: a clinical and ^{31P} magnetic resonance spectroscopy study. *Neurol Res* 2000;22:145-150
5. Ikeda K, Kinoshita M, Iwasaki Y, et al: Creatine monohydrate increases strength in patients with neuromuscular disease. *Neurology* 2000;54:537
6. Walter MC, Lochmüller H, Reilich P, et al: Creatine monohydrate in muscular dystrophies: A double-blind, placebo-controlled clinical study. *Neurology* 2000;54:1848-1850
7. Mazzini L, Balzarini C, Colombo R, et al: Effects of creatine supplementation on exercise performance and muscular strength in amyotrophic lateral sclerosis: preliminary results. *J Neurol Sci* 2001;191:139-144
8. Vorgerd M, Grehl T, Jäger M, et al: Creatine therapy

- in myophosphorylase deficiency (McArdle disease): a placebo-controlled crossover trial. *Arch Neurol* 2000;57:956-963
9. 齋藤加代子, 中野和俊, 中山智博ら: MELASにおけるクレアチン療法有効性の検討. 厚生省精神・神経疾患研究委託費による12年度研究報告集 2002:399
 10. 栗原彩子, 足立芳樹, 三宅正大ら: Charcot-Marie-Tooth病に対するクレアチン療法. *神経内科* 2003;59:57-60
 11. Matthews RT, Yang L, Jenkins BG, et al: Neuroprotective effects of creatine and cyclocreatine in animal models of Huntington's disease. *J Neurosci* 1998;18:156-163
 12. Matthews RT, Ferrante RJ, Klivenyi P, et al: Creatine and cyclocreatine attenuate MPTP neurotoxicity. *Exp Neurol* 1999;157:142-149
 13. Wick M, Fujimori H, Michaelis T, et al: Brain water diffusion in normal and creatine-supplemented rats during transient global ischemia. *Magn Reson Med* 1999;42:798-802
 14. Sullivan PG, Geiger JD, Mattson MP, et al: Dietary supplement creatine protects against traumatic brain injury. *Ann Neurol* 2000;48:723-729
 15. Hausmann ON, Fouad K, Wallimann T, et al: Protective effects of oral creatine supplementation on spinal cord injury in rats. *Spinal Cord* 2002;40:449-456
 16. Klopstock T, Querner V, Schmidt F, et al: A placebo-controlled crossover trial of creatine in mitochondrial diseases. *Neurology* 2000;55:1748-1751
 17. Walter MC, Reilich P, Lochmuller H, et al: Creatine monohydrate in myotonic dystrophy: A double-blind, placebo-controlled clinical study. *J Neurol* 2002;249:1717-1722
 18. Groeneveld GJ, Veldink JH, van der Tweel I, et al: A randomized sequential trial of creatine in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 2003;53:437-445
 19. Tarnopolsky M, Mahoney D, Thompson T, et al: Creatine monohydrate supplementation does not increase muscle strength, lean body mass, or muscle phosphocreatine in patients with myotonic dystrophy type 1. *Muscle Nerve* 2004;29:51-58
 20. Vorgerd M, Zange J, Kley R, et al: Effect of high-dose creatine therapy on symptoms of exercise intolerance in McArdle disease: double-blind, placebo-controlled crossover study. *Arch Neurol* 2002;59:97-101
 21. Hultman E, Söderlund K, Timmons JA, et al: Muscle creatine loading in men. *J Appl Physiol* 1996;81:232-237
 22. Zange J, Kornblum C, Müller K, et al: Creatine supplementation results in elevated phosphocreatine/adenosine triphosphate (ATP) ratios in the calf muscle of athletes but not in patients with myopathies. *Ann Neurol* 2002;52:126; author reply 126-127
 23. Guerrero-Ontiveros ML, Wallimann T: 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. *Mol Cell Biochem* 1998;184:427-437
 24. Tarnopolsky MA, Parshad A, Walzel B, et al: Creatine transporter and mitochondrial creatine kinase protein content in myopathies. *Muscle Nerve* 2001;24:682-688
 25. Vandenberghe K, Goris M, Van Hecke P, et al: Long-term creatine intake is beneficial to muscle performance during resistance training. *J Appl Physiol* 1997;83:2055-2063
 26. Hespel P, Op't Eijnde B, Van Leemputte M, et al: Oral creatine supplementation facilitates the rehabilitation of disuse atrophy and alters the expression of muscle myogenic factors in humans. *J Physiol* 2001;536:625-633
 27. Derave W, Eijnde BO, Hespel P: Creatine supplementation in health and disease: what is the evidence for long-term efficacy? *Mol Cell Biochem* 2003;244:49-55
 28. Loike JD, Zalutsky DL, Kaback E, et al: Extracellular creatine regulates creatine transport in rat and human muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:807-811
 29. Pulido SM, Passaquin AC, Leijendekker WJ, et al: Creatine supplementation improves intracellular Ca²⁺ handling and survival in mdx skeletal muscle cells. *FEBS Lett* 1998;439:357-362

A clinical trial of creatine monohydrate in muscular dystrophy patients

Tsuyoshi Matsumura¹, Masaru Yokoe², Masayuki Nakamori², Noriaki Hattori³, Toshio Saito¹,
Sonoko Nozaki¹, Harutoshi Fujimura¹, Susumu Shinnol

1: Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital, Toneyama 5-1-1,
Toyonaka, Osaka 560-8552, Japan. Tel: 06-6853-2001, Fax: 06-6853-3127.

2: Department of Neurology, Graduated school of Osaka University, Yamadaoka 2-2,
Suita, Osaka 565-0871, Japan. Tel: 06-6879-3571, FAX: 06-6879-3579

3: BF Research Institute, Inc, National Cardiovascular Center, Fujishirodai 5-7-1,
Suita, Osaka 565-0873, Japan. Tel: 06-6834-7646, FAX: 06-6872-8761

Corresponding author: Tsuyoshi Matsumura

Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital
Toneyama 5-1-1, Toyonaka, Osaka 560-8552, Japan

Tel: 06-6853-2001, Fax: 06-6853+3127.

E-mail: matumura@toneyama.hosp.go.jp

Abstract

To investigate the effects of creatine monohydrate on muscle performance and cognitive functions in muscular dystrophy patients, we made an open trial. Twenty-nine individuals, including 14 myotonic dystrophy (DM), seven facioscapulo-humeral muscular dystrophy (FSHD), two limb-girdle muscular dystrophy and six healthy volunteers, were enrolled in this study and 27 participants completed it. All participants took creatine 20g/day for an initial week and 5g/day for successive eight weeks. Somatometric measurements, global subjective assessment, muscle performance, cardiopulmonary function, cognitive function, laboratory studies and magnetic resonance spectroscopy (MRS) were evaluated at both pre and post examination.

Subjective improvements were reported from twelve individuals. Contrary adverse effects were also complained from ten individuals, although all these problems were not serious. Quantitative muscle power was slightly but significantly increased in patients and the number of patients who failed to complete cycle ergometer test was decreased. Phosphocreatine concentrations of left calf muscle were not different between pre and post trial examination. No obvious changes were detected in cardiopulmonary assessment, cognitive function and laboratory data.

Creatine has certain expectance for muscular dystrophy patients in motor performance. The effect may be achieved not only by increase of energy buffer, because clinical improvements were observed in our study nevertheless no increase was detected in phosphocreatine concentration. The usage of creatine should be managed under medical monitoring since ideal protocol has not yet been established and adverse effects can not be ignored.

Keywords: creatine, supplement, muscular dystrophy, therapy

筋ジストロフィー患者の尿路結石に対する健康茶（流石茶®） の効果について

後藤 勝政，島崎 里恵，佐藤紀美子，伊藤 知子

要旨：患者は長期臥床状態のDuchenne型筋ジストロフィーの28歳，男性．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た．適当な治療法もなく，経過観察していたが，家族の希望により平成14年の6月頃から健康茶（流石茶®）を飲用し始めたところ，結石の陰影が薄くなっているのが認められた．長期間寝たきりで，移動の困難な筋ジストロフィー患者の尿路結石の治療に関して，健康茶（流石茶®）は有効であると思われた．

緒 言

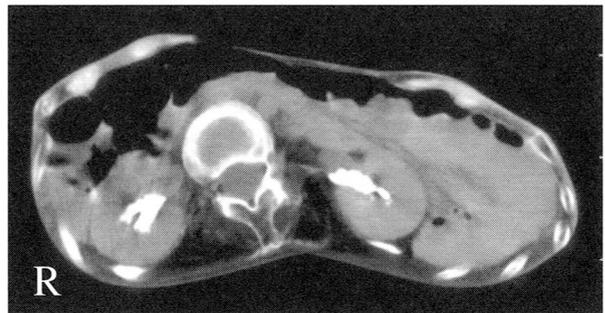
われわれは以前，長期臥床状態の筋ジストロフィー患者において大きな尿路結石が生じている症例を報告し，筋ジストロフィー患者では尿路結石がおきやすいことを報告した¹⁾．筋ジストロフィー患者の尿路結石の原因としては，長期臥床による尿流停滞や尿濃縮の影響，およびビタミンD剤などの薬物による影響が大きいものと思われた²⁾．尿路結石の内服治療には有効なものがないとされているが，この患者は家族の希望で平成14年6月頃から健康茶（流石茶®）を飲用しており，若干の効果が認められたので報告する．

症 例

患者は28歳のDuchenne型筋ジストロフィーの男性である．9歳で歩行不能となり，平成1年10月から座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の使用を開始した．平成4年1月からはほぼ終日使用するようになった．平成6年1月より体外式陰圧式人工呼吸器から鼻マスクによる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った．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た．図1のCTは平成11年6月17日，腹部単純写真は平成12年10月5日のものであるが，両側の腎盂，腎杯を占める大きな腎結石が認められる．

臨床経過

適当な治療法もなく，経過観察していたが，今回，家族の希望により平成14年の6月頃から健康茶（流石茶®）を飲用し始めた（1袋を1500mlの水に煎じて毎食前100mlずつ1日3回飲用）．平成14年8月22日撮影の腹部単純写真にて腎結石の陰影が薄くなっているのが認められた．9月21日，強



腹部単純CT 平成11年6月17日
両側の腎結石を認める。



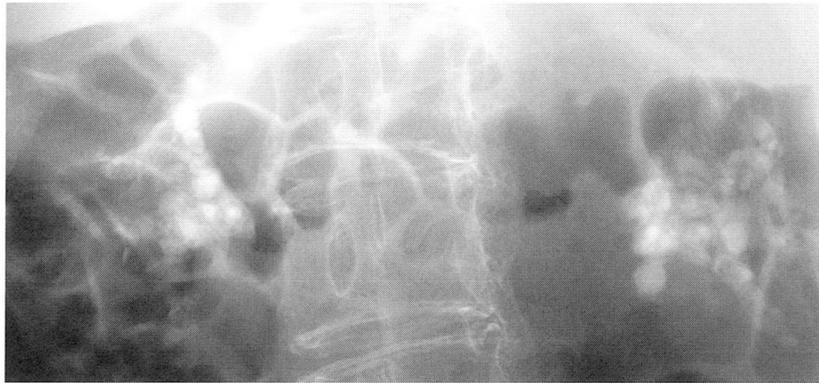
腹部単純写真 平成12年10月5日

図1

い左背部痛を訴えたため，レントゲン撮影を行ったところ結石がひとつ左の尿管内に下りているのが認められた．9月24日には別の小さな結石が1個排出された．9月26日，尿量が減少し，血圧の低下などが認められたため，持続点滴，昇圧剤の点滴などを開始し，30日から尿はよく流出するようになった．腹痛，血尿はなく，点滴を減量し，11月5日に中止した．

腹部単純写真の経過（図2）

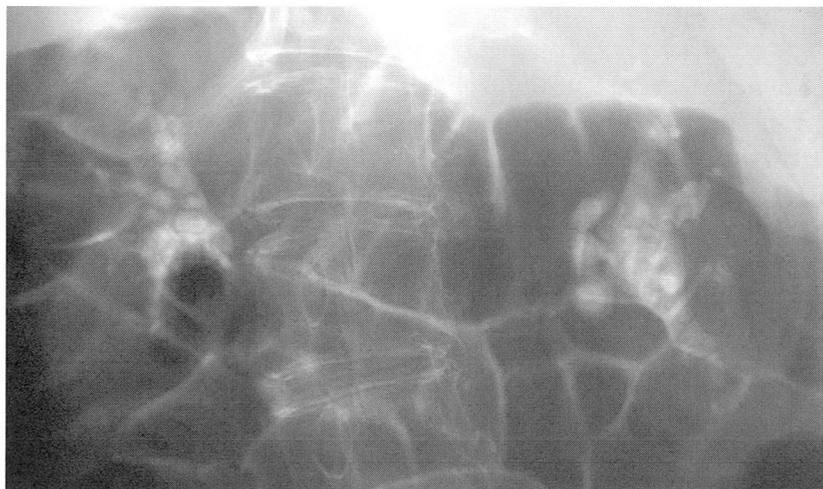
流石茶®を飲用し始めてからの腹部単純写真の経過を示す．平成14年8月22日の写真では腎結石が薄くなっていると思われる．9月26日の写真では左の尿管に石がひとつ下り



平成14年8月22日



平成14年9月26日



平成14年11月25日

図2 腹部単純写真の経過

ているのが認められる。11月25日の写真ではこの尿管結石はなくなっており、さらに腎結石が小さくなっているのが認められた。

検査結果（表）

表に平成11年と14年の検査結果を示す。平成11年に比べ

ると平成14年は、血清Ca、P、Mg、尿酸、オステオカルシン（骨形成マーカー）、尿中デオキシピリジノリン（骨吸収マーカー）、尿中クエン酸の低下、血清ICTP（骨吸収マーカー）の上昇などがみられた。

考 察

表 検査成績

	検査項目	平成11年	平成14年	正常値
血清	Ca	8.8	7.8	7.8-10.2mg/dl
	P	3.6	1.9	2.4-4.4 mg/dl
	Mg	2.8	2.0	1.8-2.6 mg/dl
	尿酸	4.1	1.6	2.9-6.5 mg/dl
	PTH	68	68	10-65 pg/ml
	ビタミンD	74.9	97.0	20-60 pg/ml
	オステオカルシン	13.0	6.0	2.5-13 ng/ml
	PICP	136	112	<160 ng/ml
	ICTP	5.2	9.3	<4.5 ng/ml
尿	尿量	700	1700	ml
	Ca	70	204	100-250 mg/day
	P	0.03	0.13	0.5-2.0 g/day
	Mg	0.34	0.06	0.02-0.13 g/day
	尿酸	0.16	0.20	0.3-1.0 g/day
	デオキシピリジノリン	106.5	86.1	2.1-3.5 nmol/mmolCRE
	シュウ酸	15.4	12.1	10.3-41.5 mg/day
	クエン酸	502	109	mg/l

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、その成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しられている。筋ジストロフィー患者は長期臥床を余儀なく強いられることがあり、尿路結石が生じやすい病態であると考えられる¹⁾。

一般に尿路結石の治療として、ESWL（体外衝撃波碎石術）、TUL（経尿道的尿管碎石術）などがあるが、24時間人工呼吸を行っている寝たきりの筋ジストロフィー患者では施行が困難である。また、結石を溶かす薬はないとされている。今回、家族の希望で健康茶（流石茶）の飲用を開始したが、結石の陰影が薄くなっているのが認められた。

流石茶®は野草等混合茶という分類で、原材料は、あかめがしわ、柿葉、くまざさ、はぶ茶、くこ、ばいきせい、となっている²⁾。流石茶®の効果は高いがそのメカニズムはいまだに明らかではない²⁾。薬草の効能²⁾について、あかめがしわは胆汁分泌に対する作用、抗腫瘍作用、抗ヘルペス活性があるとされており、柿の葉には大量のビタミンCが含まれて

おり、エビスグサには便を柔らかくする作用、コレステロール低下作用、腎機能向上作用などがある。クマザサには体内の有害物質を排出させる作用がある。中国の明の李時珍（りじちん）が著した『本草綱目』に、クコの効用について次のように書かれている。「クコは、毒性がなく、熱をさまし、体内にこもる邪気、体内に滞る邪魔者を除き、腹部や胸部の炎症をとる。久しく使用すると、全身が壮快になって暑さや寒さにも負けない若々しい体となる」とある。ばいきせいは靈芝サルノコシカケである。

文 献

- 1) 後藤勝政, 島崎里恵, 佐藤紀美子, 森 照明: 筋ジストロフィー患者における尿路結石. 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報告書. 598-600, 2002.
- 2) 松山家昌: 新・流石茶で体内結石が消える. ぶんぶん書房. p50-63, 1999.

Proportional assist ventilation を用いた、呼吸筋力低下患者の呼吸器系の elastance と resistance の測定

大矢 寧, 小川 雅文, 川井 充

要旨：呼吸筋力が低下し人工呼吸器使用の適応がある筋疾患患者 20 例で proportional assist ventilation を用い、呼吸器系全体の elastance と resistance を測定した。elastance は酸性マルターゼ欠損症 4 例や筋強直性ジストロフィー (MyD) 5 例で比較的低かったが、筋短縮を生じやすい Duchenne 型筋ジストロフィー 7 例、肢帯型筋ジストロフィー 1 例、先天性ミオパチー 2 例、胸郭可動性を失った例外的な MyD の 1 例で高値で、elastance は筋短縮の臨床的印象に合致する有用な指標だった。肺活量が低下すると 1 秒率では閉塞性換気障害は評価が困難になり、肺気腫などが進行した 2 例で 1 秒率は正常でも resistance は上昇し、resistance 測定は閉塞性肺病変検出に有用だった。

Key words : proportional assist ventilation, 非侵襲的陽圧換気, 胸郭可動性, 筋ジストロフィー, 筋短縮

はじめに

低換気状態の筋疾患患者では非侵襲的陽圧換気によって QOL を保ちながら寿命を延長することができるようになったが、気道感染の際の排痰には強制吸気などを行う必要があり、強制吸気には胸郭可動性 (compliance^{1,6)}) の保持が大切である²⁾。筋ジストロフィーは筋萎縮による筋力低下に加え、筋組織の線維化による筋短縮が生じ、胸郭可動性は低下しやすい。しかし肺活量 (VC) と 1 秒率を中心とした呼吸機能検査では、胸郭可動性は評価できない。また VC が低下すると、見かけ上 1 秒率は改善するため、閉塞性障害の評価も 1 秒率では困難になる。そこで、呼吸筋力が著しく低下した筋疾患患者では、拘束性換気障害と閉塞性換気障害の指標として、それぞれ呼吸器系の elastance (compliance の逆数) と resistance が重要であると考えられる。(ここで呼吸器系 elastance は肺 elastance と胸郭 elastance の和である。)

Proportional assist ventilation (PAV; 按分比例補助換気)⁷⁻¹⁰⁾ は、従量式や従圧式と異なり、換気量や吸気圧が一定ではなく、吸気流速と吸気量を測定しながら、患者の吸気努力に比例した補助をする換気方式である。PAV で設定するのは圧・流量関係の係数 elastive volume assist (VA) と圧・流量関係の係数 resistive flow assist (FA) であり、

PAV の気道内圧 = (VA × 吸気量) + (FA × 吸気流速)、

気道内圧 + 吸気努力 = 呼吸器系 elastance × 吸気量 + 呼吸器系 resistance × 吸気流速⁷⁾

PAV では、呼吸器が作った気道内陽圧による吸気流速上昇に対してさらに気道内陽圧を上げ、呼吸器自体の出力が入力になるので、増幅が一定の限界を越えると発振現象を生じる。

吸気努力の弾性成分 = (呼吸器系 elastance - VA) × 吸気量

吸気努力の抵抗成分 = (呼吸器系 resistance - FA) × 吸気流速 であるため、

ここで VA を呼吸器系 elastance 以上に、もしくは FA を呼吸器系 resistance 以上に設定すると、吸気努力は不要になり、圧・流量が高すぎる状態が生じる (run-away 現象)⁷⁾。この run-away 現象が起きる条件を調べることで呼吸器系 elastance と resistance を測定できる。

健常者では呼吸筋の随意収縮の程度により変動し、測定が難しいことがあるが、呼吸筋が萎縮した患者では実用的で、PAV を病態把握や経過観察に役立てる試みを報告する。

対 象

呼吸筋力低下のため人工呼吸器療法が必要な筋疾患患者 20 例で行った。内訳は Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 7 例 (20 ~ 27 歳)、肢帯型筋ジストロフィー (LG) 1 例 (58 歳)、先天性ミオパチー (CM) 2 例 (47, 68 歳)、acid maltase deficiency (AMD; 糖原病 II 型) 4 例 (25 ~ 62 歳)、筋強直性ジストロフィー (MyD; DM1) 6 例 (52 ~ 66 歳) である。DMD 患者の他、CM の 1 例は肢帯筋や手指に筋短縮傾向が目立ち、AMD と MyD の患者では筋萎縮・筋力低下に比し筋短縮が目立たなかった。20 例中の 18 例は人工呼吸器使用患者で、DMD, CM, AMD の各 1 例は気管切開で従量式、15 例は鼻マスクによる非侵襲的陽圧換気 (non-invasive positive pressure ventilation; NIPPV) で、そのうち 13 例は従圧式、LG, MyD の各 1 例は従量式人工呼吸を行っていた。また人工呼吸器使用開始時から測定できたのは 5 例であった。座位の VC が 1.0L 以下は 18 例で、AMD の 1 例と MyD の 1 例は臥位で VC 1.0L 以下で、夜間低酸素のため NIPPV 導入を要した。MyD の 2 例は継続的な人工呼吸器使用は希望せず、検査のみを行った。MyD の 3 例は NIPPV の導入したものの、長時間の人工呼吸は継続できなかった。DMD の 4 例では側弯が著明で、うち DMD の 1 例は精神発達遅滞のため指示に従えず、VC 測定は出来なかった。またコントロールは気管支喘息の既往がある 2 人を含めた、その他は健常な者 7 人

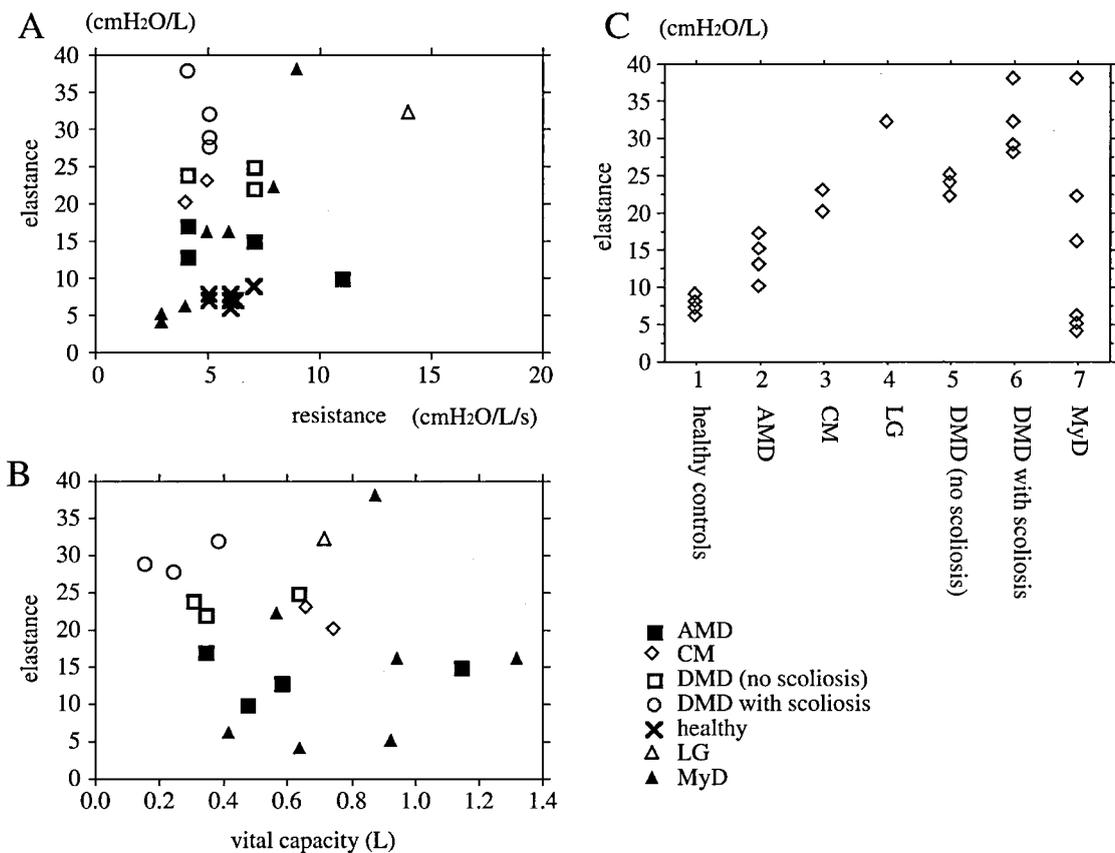


Fig 1:

A: Respiratory system elastance (cmH₂O/L) and resistance (cmH₂O/L/s): Initial measurement. No correlation between elastance and resistance in 20 patients. (■: acid maltase deficiency (AMD), ◇: congenital myopathy (CM) (unclassified), △: limb-girdle type muscular dystrophy (LG), □: Duchenne type muscular dystrophy (DMD) without scoliosis, ○: DMD with scoliosis, ▲: myotonic dystrophy (MyD), ×: healthy controls)

B: Respiratory system elastance (cmH₂O/L) and vital capacity (L): Initial measurement. No correlation between elastance and vital capacity in 19 patients. (■: acid maltase deficiency (AMD), ◇: congenital myopathy (CM) (unclassified), △: limb-girdle type muscular dystrophy (LG), □: Duchenne type muscular dystrophy (DMD) without scoliosis, ○: DMD with scoliosis, ▲: myotonic dystrophy (MyD))

C: Differences in respiratory elastance (cmH₂O/L): Patients with Duchenne type muscular dystrophy and congenital myopathy show higher elastance than patients with acid maltase deficiency and myotonic dystrophy (MyD) except one MyD patient.

(26～49歳) で測定した。

方 法

喀痰が絡んでいない時に、人工呼吸器 BiPAP Vision (Respironics 社製、フジ・レスピロニクス) の PAV モードで assist 100% とし、気道圧の上下が急速になり、恣意的に設定した上限 20cmH₂O に達しやすくなる (健常者では、あるいは 1 回換気量が上限 1.5 L 以上になる) 条件の volume assist (VA) (cmH₂O/L), flow assist (FA) (cmH₂O/L/s) を求めた。患者に鼻マスクで (気管切開では直接装着し) 通常の呼吸をするように指示し、圧・換気量を観察しながら、FA 0 (cmH₂O/L/s) で VA を 4 (cmH₂O/L) から漸増し run-away 現象が生じる VA を求め、呼吸器系 elastance とし

た。漸増で求めた VA の値は、漸減での VA の値より低いことがあり、VA の漸増・漸減を反復して両者が収束する VA を求めた。次に VA 0～3 (cmH₂O/L) とし、FA を 3 (cmH₂O/L/s) から漸増し run-away 現象が生じる FA 値を、呼吸器系 resistance とした。入院中は座位と臥位で測定を試み、外来での経過観察では主に車椅子座位で測定し、座位をとれなかった一部の DMD 患者は臥位でのみ評価した。再現性の確認に間隔をおいて複数回測定した。DMD 2 例、CM と LG の各 1 例、AMD の 3 例で半年～1 年の経過を追った。

結 果

結果を図に示す (Fig 1A)。呼吸筋萎縮が著明な患者では run-away 現象は気道圧が上昇し、その条件はほぼ一定して

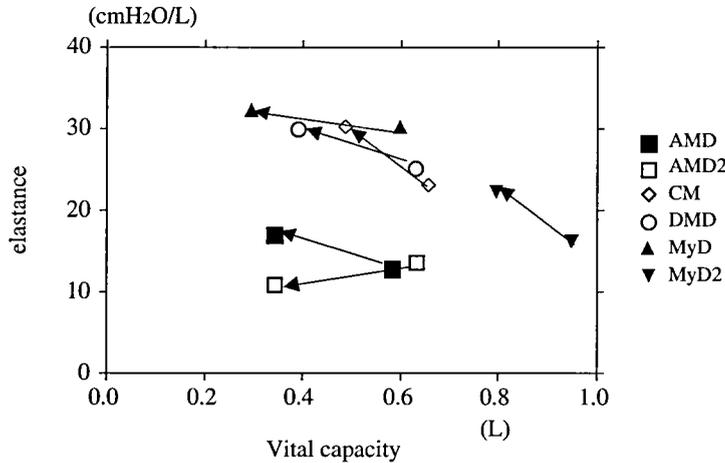


Fig 2: Changes in respiratory system elastance (cmH₂O/L) and vital capacity (L) from sitting position to supine position in 6 patients. One AMD, 1 DMD and 2 MyD patients show increase in respiratory system elastance and decrease in vital capacity; however, respiratory system elastance decreases in 1 AMD patient (□).

いて, elastance も resistance も, 変動の幅がほぼ±1 の範囲内で定まった。1 週以内の再検査では再現性がみられた。コントロールでは run-away 現象は換気量著増のこともあった。コントロールの elastance の平均±標準偏差は座位 7.4 ± 1.0, 臥位 5.9 ± 0.7 (cmH₂O/L), resistance は座位 7.4 ± 1.0, 臥位 7.2 ± 1.3 (cmH₂O/L/s) だった。

肺活量が低いほど呼吸器系 elastance が高い傾向は必ずしもみられなかった。(Fig 1B)

呼吸器系 elastance は, DMD で 22~38 (cmH₂O/L), LG で 32, CM で 20~23, AMD で 11~20, MyD で 1 例を除き 5~22, 例外的な MyD の 1 例は 38 (cmH₂O/L) だった (Fig 1C)。肺活量 0.5L 前後の患者では MyD と AMD で 22 (cmH₂O/L) 以下, DMD で 22 以上だった。CM の 1 例は四肢の他, 傍脊柱筋や小胸筋など胸部周囲に筋短縮があり, 呼吸器系 elastance 高値と合っていた。LG 例は胸郭形成術の既往があり, 胸郭が硬かったが, やはり高値だった。MyD 患者で板状無気肺がみられても, 必ずしも呼吸器系 elastance は高くはなかった。DMD では側弯が殆どない患者に比べ, 側弯がある患者ではより高値の傾向がみられた。

半年~1年の時間経過では呼吸器系 elastance は, DMD 2 例と CM 1 例では 2~5 (cmH₂O/L) 上昇したが, AMD の 3 例では殆ど変わらなかった。

MyD の 1 例は呼吸器系 elastance が著しく高く 38 (cmH₂O/L), 1ヶ月後の再検では BiPAP Vision で設定し得る上限 VA 58 (cmH₂O/L) でも圧は 17cm H₂O までで, 不快感も訴えず, 計測範囲を越えていた。この症例は胸腰椎椎体の骨棘形成が著明で胸腰推可動性がなく後弯し, 腹部内臓脂肪が多く, 胸郭可動性は高度に制限されていた。他の MyD 1 例も 1 年の経過で胸郭可動性が低下し, 呼吸器系 elastance は 9 から 30 (cmH₂O/L) に増加した。

呼吸器系 resistance は 10 (cmH₂O/L/s) 以下で, 殆どの患者では 4~7 で閉塞性障害はなかった。ただし, 肺結核と胸郭形成術の既往がある LG 患者は 14 (cmH₂O/L/s) と高めだった。CM の 1 例は 1 秒率は 90% 以上そのまま推移したが,

呼吸器系 resistance が 1 年で 5 から 12 (cmH₂O/L/s) に上昇し, 胸部 CT では右優位に肺尖部 bulla のみがあった所見が, 1 年後には右上葉優位の肺気腫性病変に進展していた。

座位と臥位で, 呼吸器系 elastance と VC とが一部の患者では変化した (Fig 2)。VC が臥位で座位より減少する AMD と CM の各 1 例では, 呼吸器系 elastance は座位より臥位で高かった。DMD の 1 例と MyD の 2 例でも軽度に変化した。しかし AMD の 1 例は VC が低下する臥位の方が elastance はむしろ低く, 実際, 従圧式人工呼吸で同一の吸気圧では, 座位より臥位の方が 1 回換気量は多かった。

考 察

呼吸筋力低下のみで呼吸器系 elastance が低ければ, 陽圧換気で吸気圧が高くなくとも換気量は確保できる。そのため, 呼吸器系 elastance の評価は呼吸筋力が低下した患者の呼吸管理では重要である。Duchenne 型筋ジストロフィーでは陽圧換気の有無によらず気胸の合併は少なくなく¹¹⁾, 陽圧換気での吸気圧の増大は気胸を悪化させる可能性がある。呼吸器系 elastance を低く維持できれば, 必要な換気量を確保するのに吸気圧を高く上げる必要がなく, 緊張性気胸を生じる危険性も低くなると考えられる。

従圧式人工呼吸に比べ, PAV を筋疾患患者で呼吸補助として使用する利点は少ないが¹²⁾, 呼吸器系の elastance と resistance の測定は一般に複雑で困難である¹²⁾。健常者では随意収縮により呼吸筋を硬くすると呼吸器系 elastance は上昇しうるが, 呼吸筋萎縮が著しい患者では患者自身による換気の成分が少ないため, PAV での測定は難しくなかった。同一患者でも呼吸器系 elastance は本来, 吸気量によっても変化する, PAV による測定方法でも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。換気量が大きいと PAV で正確な測定が出来ない可能性もあるが⁹⁾, 正常値は呼吸器系 elastance は約 10 cmH₂O/L 以下, resistance は 10 cmH₂O/L/s 以下と考えられ, 実際, 健常者で

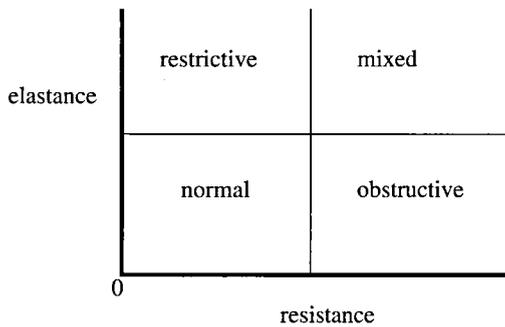


Fig 3: Alterations in ventilatory function. Elastance and resistance of respiratory system are the indicators of restrictive and obstructive ventilatory dysfunction, respectively, instead of vital capacity (or total lung capacity) and ratio FEV1/FVC, in myopathy patients with ventilator support.

assist 100%でVA 15cmH₂O/L以上もしくはFA 12cm H₂O/L/s以上の設定でPAVを継続するのは困難である。

過去の筋疾患での測定²⁶⁾は検査方法が異なり、呼気での測定も吸気での測定もあるが、呼吸器系 elastance は呼吸筋障害患者で正常者より高く²⁶⁾、DMD 19例で7~25³⁵⁾、AMD 2例で14~18²⁾、LG 2例で8~21²⁾、MyD 2例で約13⁴⁾ (各cmH₂O/L, 小数点以下を四捨五入)の報告がある。報告された値は今回の検討結果に比し低めであるが、VCが1.0L以下に低下した症例はDMD 8例、AMD 2例、LG 1例と少数で、軽症例が多く含まれていた。

間質性肺炎などの合併がない筋疾患患者では、肺自体の elastance の影響は少なく、呼吸器系 elastance は主に胸郭 elastance を反映すると考えた。今回の検討では、低下したVCと呼吸器系 elastance との間に相関は必ずしも認められなかった。VCには呼吸筋の筋力が直接反映されるが、elastance には筋力は直接には影響しないので、本来、相関は高くはないと考えられる。また elastance 上昇に microatelectasis の関与はありうるが^{2,13)}、MyD 患者の1例で板状無気肺があっても必ずしも呼吸器系 elastance は高いとは言えなかった。

測定患者の呼吸器系 elastance の分布は疾患によって差が認められた。とくに同程度のVCでも、呼吸器系 elastance 値は個々の患者の病態で異なり、DMD では高くなるが、AMD では比較的に低い傾向であった。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という臨床的印象¹⁴⁾と合致していた。またMyDはNIPPVの適応であっても、呼吸器系 elastance は低い傾向で、筋短縮はDMDなどに比較して生じにくいことに合致していた。筋短縮があるCMやLGの症例の呼吸器系 elastance は高かった。筋短縮は、臨床的に腓腹筋や大腿直筋、手指伸筋などの二関節ないし多関節筋では確認できるが、一関節筋では関節可動域制限が関節自体の変化か筋短縮かの鑑別は困難である。臨床的に筋短縮の定量的評価は難しく、とくに呼吸筋では今後の検討課題であると考えられる。

MyDでは、胸椎後彎・可動性消失と腹部内臓脂肪増加に伴

い、呼吸器系 elastance が著明に高くなる患者がいて、胸郭 elastance には胸椎可動性や内臓脂肪も関わることを示された。MyD患者は腹部内臓脂肪が増加していることが多く¹⁵⁾、換気条件を悪化させないためにも、腹部内臓脂肪の増加を防ぐことが必要である。さらに胸椎可動性を保ち、胸椎後彎を防ぐようにする理学療法の意義は高いと考えられる。一般に腹部膨満は呼吸器系 elastance を高める¹⁶⁾。DMD患者では腹部内臓脂肪は少ないことが多いが、平滑筋障害や便秘による腸内ガス増加が生じうるので、MyD患者でのintestinal pseudoobstruction¹⁷⁾とともに、呼吸器系 elastance 上昇に結びつく因子として注意を要すると考えられる。

側弯が目立つDMD患者では呼吸器系 elastance が高かった。しかし一般に手術¹⁸⁾でも装具¹⁹⁾でも脊柱変形の矯正のみでは elastance の改善は生じず、脊柱変形そのものの影響というよりも側弯のあるDMD患者では呼吸筋の筋短縮も著しかったと考えられる。

なお対象患者のVCの分布は疾患によって差がみられたが、呼吸不全を来たした時点で測定したために、VCの分布が異なると考えられる。DMDではVCは著しく低下するまで呼吸不全は発症しにくいのにに対し、AMDでは運動機能が比較的良い時点で呼吸不全が生じ、MyDでもVC低下の程度に比し呼吸不全が強い傾向がある。AMDとMyDでは、VCが臥位で低下する患者が少なくなく、測定対象のVCはDMDに比し高めであった。

PAVによる測定法は従来の方法と異なり、様々な姿勢で容易に行える利点がある。一部の患者では、座位と臥位で呼吸器系 elastance が異なった。その場合に、姿勢によるVCの変化と呼吸器系 elastance の変化がある程度までは対応することが多く、VCの変化の一部は、呼吸器系 elastance の変化による可能性がある。但し elastance の変化で説明できないVCの変化は、横隔膜などの残存呼吸筋筋力の分布状況によると考えた。

またPAVによる評価は息溜めやVC測定が出来ない患者でも行える。最大強制吸気量 (MIC)¹²⁰⁾がVCに近い患者では呼吸器系 elastance は高かったが、MICの測定には息溜めが必須で、訓練が必要なことも多く、MyDやCMの患者では息溜めが十分に出来ないことが少なくない。また知能低下のあるとVCもMICも測定できないことがある。

次に、呼吸器系 resistance 測定による閉塞性換気障害の評価について述べる。VCが低下すると、1秒率は見かけ上、改善するため、閉塞性換気障害を見逃すことになり、注意が必要である。PAVによる呼吸器系 resistance は、殆どのVC低下患者でも正常で、閉塞性換気障害は認められなかった。しかし肺気腫が進展した患者では1秒率は正常のままで呼吸器系 resistance は上昇し、閉塞性障害が示された。VCが低下した患者では、呼吸器系 resistance は1秒率よりも肺気腫などの肺合併症の検索に有用な指標と考えられる。

検討した気管切開患者では、鼻マスク使用をできず、気管切開と切開非施行での呼吸器系 resistance は比較できなかった。ただし気管カニューレによる抵抗は口呼吸での抵抗とほぼ同じで、気管切開カニューレ抜去の前後で resistance に有意な変化はないとされる²⁰⁾。また覚醒時の鼻マスク使用では、鼻閉がなければ resistance は高くならないと考えられる。

PAVによる測定には、患者が従圧式人工呼吸器使用に慣れていて、換気条件の変更が可能であることが必要である。PAVでの測定は容易で、経過も観察できるが、肺活量が約0.3L以下に著しく低下した状態では、換気条件の変更が難しく、PAVによる測定は困難になる。

拘束性換気障害は筋力低下によるVC低下のみでなく、筋短縮や骨格・腹部などの変化に伴う胸郭elastanceの上昇があり、呼吸器系elastanceは筋短縮の臨床的印象と合う有用な指標で、理学療法の効果や経過観察にも役立つと考えられる。また呼吸器系resistanceもVCが低下した患者で閉塞性肺病変の検出に有用である。肺気腫の合併例では、呼吸器系resistanceが上昇した。呼吸不全のため行わざるを得ない陽圧換気で肺気腫はむしろ進行するおそれがあり、気胸の危険も高くなりうる。陽圧を低く抑えるために呼吸器系elastanceが上昇しないよう保つ必要がある。

呼吸筋力低下が著しくなった筋疾患患者での呼吸機能評価は、拘束性換気障害の指標は呼吸器系のelastance、閉塞性換気障害の指標は呼吸器系のresistanceであるともいえる(Fig 3)。呼吸器系elastanceとresistanceの双方を低く維持することが望ましく、そのための呼吸管理・治療方法を今後検討する必要があると考える。

付記：この論文の内容は 臨床神経 44巻2004年4月号に掲載された。

文 献

- 1) Bach JR, Kang SW: Disorders of ventilation. Weakness, stiffness, and mobilization. *Chest* 2000; 117: 301-303
- 2) Gibson GJ, Pride NB, Davis JN, et al: Pulmonary mechanics in patients with respiratory muscle weakness. *Am Rev Respir Dis* 1997; 115: 389-395
- 3) De Troyer A, Deisser P: The effects of intermittent positive pressure breathing on patients with respiratory muscle weakness. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124: 132-137
- 4) McCool FD, Mayewski RF, Shayne DS, et al: Intermittent positive pressure breathing in patients with respiratory muscle weakness. Alterations in total respiratory system compliance. *Chest* 1986; 90: 546-552
- 5) Baydur A: Respiratory muscle strength and control of ventilation in patients with neuromuscular disease. *Chest* 1991; 99: 330-338
- 6) Estenne M, Heilporn A, Delhez L, et al: Chest wall stiffness in patients with chronic respiratory muscle weakness. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 1002-1007
- 7) Younes M: Proportional assist ventilation, a new approach to ventilatory support. *Theory. Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 114-120
- 8) Younes M, Puddy A, Roberts D, et al: Proportional assist ventilation. Results of an initial clinical trial. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 121-129
- 9) Younes M, Webster K, Kun J, et al: A method for measuring passive elastance during proportional assist ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 50-60
- 10) Younes M, Kun J, Masiowski B, et al: A method for noninvasive determination of inspiratory resistance during proportional assist ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 829-839
- 11) 山本知孝, 川井 充: Duchenne型筋ジストロフィーにおける自然気胸. *臨床神経* 1994; 34: 552-556
- 12) Hart N, Hunt A, Polkey MI, et al: Comparison of proportional assist ventilation and pressure support ventilation in chronic respiratory failure due to neuromuscular and chest wall deformity. *Thorax* 2002; 57: 979-981
- 13) Estenne M, Gevenois PA, Kinnear W, et al: Lung volume restriction in patients with chronic respiratory muscle weakness: the role of microatelectasis. *Thorax* 1993; 48:698-701
- 14) 大矢 寧, 森田浩之, 小川雅文ら: 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* 2001; 41: 390-396
- 15) 野崎園子, 宮井一郎, 姜 進: Myotonic dystrophyにおける内臓脂肪. *臨床神経* 1992; 32: 521-523
- 16) Ranieri VM, Brienza N, Santostasi S, et al: Impairment of lung and chest wall mechanics in patients with acute respiratory distress syndrome: Role of abdominal distension. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1082-1091
- 17) 斉藤利雄, 宮井一郎, 松村 剛ら: Intestinal pseudo-obstruction syndromeを呈した筋強直性ジストロフィーの1例. *臨床神経* 1999; 39: 1064-1066
- 18) Baydur A, Swank SM, Stiles CM, et al: Respiratory mechanics in anesthetized young patients with kyphoscoliosis. Immediate and delayed effects of corrective spinal surgery. *Chest* 1990; 97: 1157-1164
- 19) Ferrari K, Goti P, Sanna A, et al: Short term effects of bracing on exercise performance in mild idiopathic thoracic scoliosis. *Lung* 1997; 175: 299-310
- 20) Kang SW, Bach JR: Maximum insufflation capacity. *Chest* 2000; 118: 61-65
- 21) Chadda K, Louis B, Benaissa L, et al: Physiological effects of decannulation in tracheostomized patients. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1761-1767

筋疾患における呼吸機能スクリーニングとしての最大発声時間

豊田千純子, 小川 雅文, 大矢 寧, 川井 充

要旨：最大発声時間 (MPT) と肺活量 (VC) の関係を調べ、筋疾患における呼吸機能スクリーニングとしての MPT の有用性を検討した。健康成人 18 名, 筋疾患患者 32 名で, 座位で VC と最大吸気の後「アー」と声の続く限り発声させ, その持続時間を測定した。さらに, 患者 6 名で舌咽頭呼吸を行い MPT の変化を調べた。健康成人では MPT と VC に有意な相関はなかったが, 患者では MPT と VC は有意に正相関し, MPT 15 秒未満の患者の VC は 1.5 ℓ 以下だった。また, 舌咽頭呼吸で MPT は増加した。筋疾患患者では, MPT は VC 低下のスクリーニングや舌咽頭呼吸の効果の判定に有用である。

Key words : 筋疾患, 肺活量, 発声時間, 舌咽頭呼吸

はじめに

筋疾患患者では, 呼吸筋力低下により肺活量 (vital capacity: VC) やピークフローが低下し, その結果, 肺胞低換気による呼吸不全や痰喀出困難が生じることが多い。これらを早期に予測し, 非侵襲的陽圧換気 (non-intermittent ventilation; NIV) などの導入を速やかに行うことが, 予後の改善につながると考えられる。外来で頻回に呼吸機能検査を行うには時間と労力を要する。そこで, われわれは簡便に呼吸機能を測定する方法として, 最大発声時間 (maximum phonation time: MPT, 最大発声持続時間 maximal phonation duration ともいう)¹⁾に注目した。健常者と筋疾患患者で MPT を測定し, 呼吸管理における MPT の臨床的意義を検討した。

対 象

健康成人 18 名 (男性 8 名, 女性 10 名), 筋疾患患者 32 名 (男性 24 名, 女性 8 名; 表 1)。

方 法

1. 健康成人の MPT の再現性

健康成人で, 座位で最大吸気の後「アー」と声の続く限り発声させ, その持続時間 (MPT) を測定した。その際, 特に音量の規定はせず, 可能な限り発声を維持するように指示した。以上の方法で 2 回連続して MPT を測定しその再現性を調べた。

2. 健康成人の MPT と VC の相関

健康成人で, 座位で流量計 (シチズン Respirometer RM121) を用いて, VC を測定し, MPT との相関を検討した。その際, MPT はより大きいデータを用いた。

3. 筋疾患患者の MPT と VC の相関

筋疾患患者で, 同様の方法を用いて MPT と VC を測定し,

それらの相関を検討した。

4. 舌咽頭呼吸の効果

舌咽頭呼吸を習得していた, 肢帯型筋ジストロフィー 1 名 (患者 18), Duchenne 型筋ジストロフィー 3 名 (患者 22, 23, 24), 糖原病 II 型 1 名 (患者 28), 強直性脊椎症候群 1 名 (患者 31) で, 舌咽頭呼吸による息溜めを行い, MPT と VC の変化を調べた。

結 果

結果 1. 健康成人の MPT の再現性 (Figure 1)

横軸に 1 回目の MPT, 縦軸に 2 回目の MPT をとり, 両者の相関を回帰分析を用いて調べたところ, $r^2=0.88$, $p<0.0001$ で強い相関を認めた。よって健康成人での MPT には再現性があると考えた。

結果 2. 健康成人の MPT と VC の相関 (Figure 2)

MPT (s) は, 全体で 25.3 ± 10.4 (14.9 ~ 35.7), 男性 29.9 ± 11.8 (18.1 ~ 41.7), 女性 21.7 ± 7.8 (13.9 ~ 29.5), VC (ℓ) は, 全体で 3.6 ± 1.1 (2.5 ~ 4.7), 男性 4.6 ± 0.9 (3.7 ~ 5.5), 女性 2.9 ± 0.6 (2.3 ~ 3.5) だった。MPT と VC の相関を回帰分析を用いて調べたところ, $r^2=0.1$, $p=0.2$ で, 両者に有意な相関は認められなかった。

結果 3. 筋疾患患者の MPT と VC の相関

MPT (s) は全体で 12.8 ± 7.1 (5.7 ~ 19.9), 男性 13.5 ± 7.9 (5.6 ~ 21.4), 女性 10.9 ± 3.4 (7.5 ~ 14.3) だった。VC (ℓ) は全体で 1.4 ± 1.1 (0.3 ~ 2.5), 男性 1.5 ± 1.3 (0.2 ~ 2.8), 女性 1.2 ± 0.7 (0.5 ~ 1.9) だった。回帰分析では, MPT と VC は有意に正相関し, $r^2=0.25$, $p=0.003$ だった。

健康成人男女の MPT 最低値 (男性 18, 女性 14) 以下に分布する患者をみると VC 1.5 ℓ 以下の 22 例のうち 73% が MPT 15 秒未満だった (Figure 3)。

縦軸を %VC に換算しても MPT と有意に正相関し, $r^2=0.21$, $p=0.008$ であり, %VC 50% 以下の 23 例中, 78% が MPT 15 秒未満だった (Figure 4)。

結果 4. 舌咽頭呼吸の効果 (Figure 5)

Table 1: Subjects characteristics

	Number		Age (mean±SD)		
	(male : female)	total	male	female	
healthy control	18 (8 : 10)	33.9±10.8	30.0±7.6	37.0±12.3	
myopathic patients	32 (24 : 8)	43.9±14.8	42.1±15.2	49.1±13.1	
myotonic dystrophy	14 (12 : 2)	50.6± 8.5	50.2± 8.7	53.5± 9.2	
limb girdle muscular dystrophy	4 (3 : 1)	53.8±10.7	51.0±11.3		
Duchenne muscular dystrophy	6 (6 : 0)		20.7±4	62	
Becker muscular dystrophy	2 (2 : 0)		36		
Glycogen storage disease type II (acid maltase deficiency)	3 (1 : 2)	51.0±20.1	60		46.5±26.2
Nemaline myopathy	1 (0 : 1)				52
Rigid spine syndrome	1 (0 : 1)				37
Miyoshi distal muscular dystrophy	1 (0 : 1)				42

LGMD: limb girdle muscular dystrophy, DMD:Duchenne type muscular dystrophy, BMD:Becker type muscular dystrophy, GSD II:glycogen storage disease type II (acid maltase deficiency), RSS:rigid spine syndrome

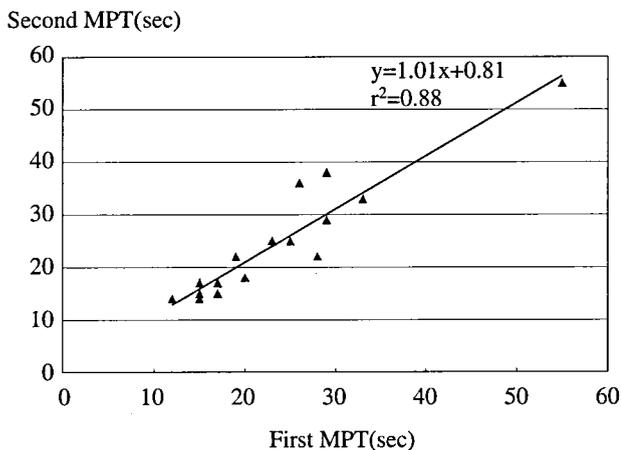


Figure 1: Reproducibility of MPT in the healthy control group. Significant correlation between the first and the second MPTs.

舌咽頭呼吸を習得している6名は、息溜めの後にMPT, VCとも増加し、舌咽頭呼吸の効果があると考えた。但し、その増加量は個々で差があった。

考 察

健常成人でのMPTの実測値は、男性は女性よりもMPTが長い傾向にあり、これまでの報告¹⁾と同様の値であった。健常人でMPTのばらつきは大きいことが知られており²⁾、健康な男女計12名のMPTとVCに有意な関連性はなかったという報告もある³⁾。われわれも、健常成人では、同じ個人でのMPTの再現性はあったが、MPTとVCに有意な相関を認めなかった。発声トレーニングを受けた者の方が、受けな

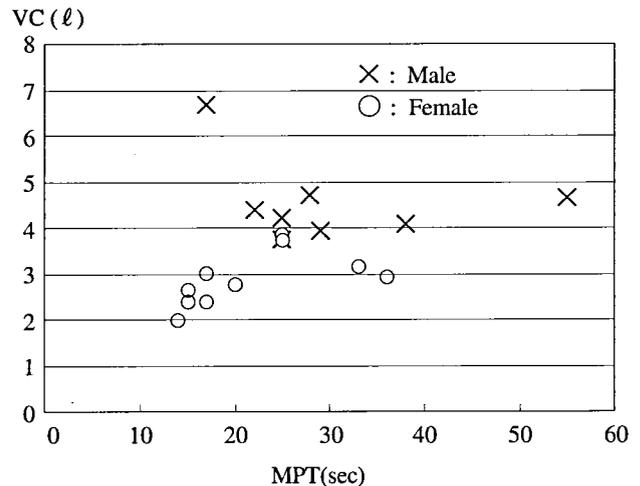


Figure 2: Relationship of MPT and VC in the healthy control group. No significant correlation between MPT and VC was noted.

かった者と比較してMPTの変化が大きかったという報告⁴⁾があるが、健常人では、個々の発声の技量や努力によってMPTが変化しやすく、各個人差が出やすいために、相関がみられなかったと考えた。

一方、Hillelら⁵⁾は41名のALS患者でわれわれと同様の報告をしている。彼らは、筋力低下によりVCがある値を以下になると、MPTは一定の値以下になり、その後VCの低下とともにMPTも低下することが予想され、この時期を見逃さないことが大切であると述べている。今回の検討から、MPTが15秒以下に低下すると、おおよその目安としてVCが1.5ℓあるいは%VCが50%以下であることがわかった。%VCが50%以下になると筋萎縮性側索硬化症や筋ジストロフィーでは呼吸管理の開始を検討する必要があることが

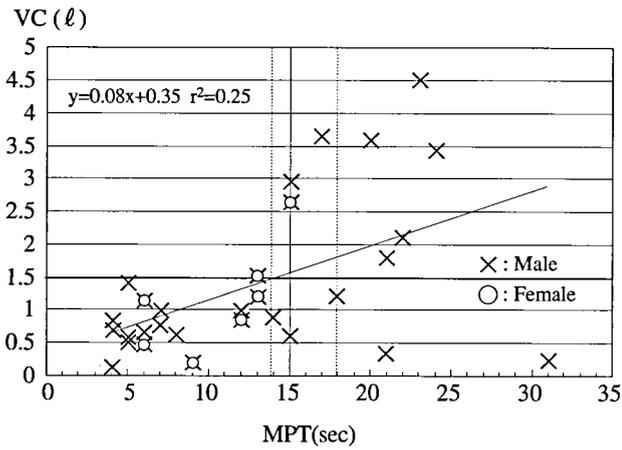


Figure 3: Relationship of MPT and VC in the myopathy patients. They showed a significant correlation between MPT and VC. Patients with MPT under normal limit (15 sec) had VC less than 1.5 l .

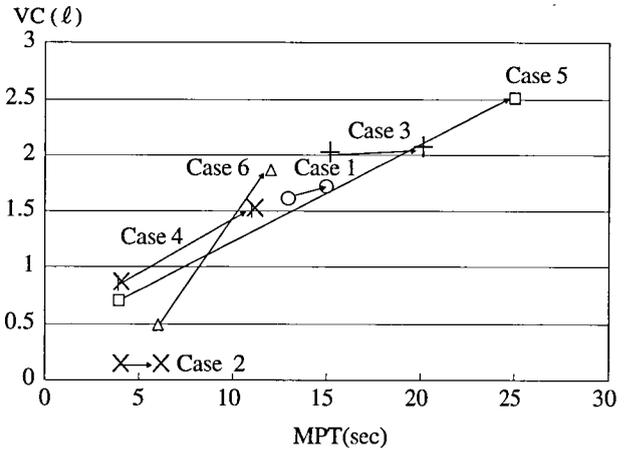


Figure 5: The effect of glossopharyngeal breathing in the myopathic patients. In all patients, MPT increased after glossopharyngeal breathing.

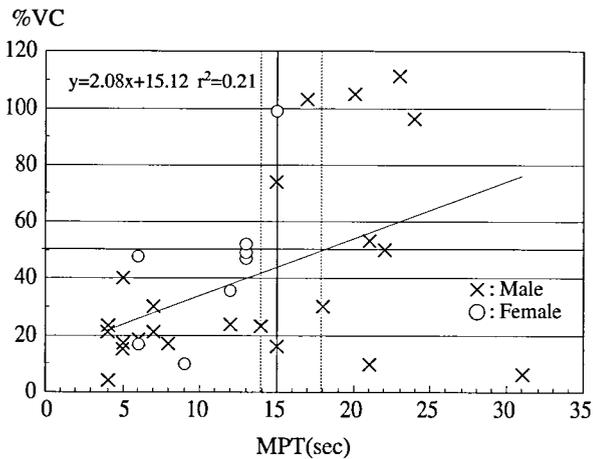


Figure 4: Relationship of MPT and %VC in the myopathy patients. MPT and %VC showed a good correlation($p=0.008$). Patients with MPT less than 15 seconds had %VC less than 50%.

多い。MPT 15秒以下が筋疾患患者における観察を要する目安となると考えた。

MPTは呼吸機能検査に替えられるものではなく、呼吸管理の判断の基準となるデータはあくまでも呼吸機能検査によって得られるべきである。われわれが検討した患者でも、MPTが15秒以上であるにもかかわらず、VCは1.5 l以下の者が数名みられた。しかし、MPTは簡易に測定できるので、往診先などで呼吸機能検査を行えない状況や検査の時間的な余裕がないときでも、とりあえず呼吸機能をスクリーニングする手段として用いることができる。さらに、同一の個

人であれば、再現性はよいので、患者自身が一人で実施して、自分の呼吸機能を評価することができる。患者の療養指導の一環として取り入れることにも意義がある。舌咽頭呼吸や蘇生バッグによる息溜め (air-stacking) の練習の成果を患者自身が自分で評価するのに役立つ。また本研究では座位でのMPTについて検討したが、横隔膜の筋力低下では仰臥位の肺活量は座位に比較して低下するが、座位と仰臥位での肺活量の差も、姿勢によるMPTの差として検出する。

最大発声時間は、適切に解釈すれば、筋疾患患者で、きわめて有用な診察法であると考えた。

付記：この論文の内容は 脳と神経 56巻2004年10月号に掲載された。

文 献

- 1) Kent RD, Kent JF, Rosenbek JC: Maximum performance tests of speech production. J Speech Hear Disord 1987; 52: 367-387
- 2) Hillel AD, Yorkston K, Miller RM: Using Phonation Time to Estimate Vital Capacity in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Arch Phys Med Rehabil 1989; 70: 618-620
- 3) Solomon NP, Garlitz SJ, Milbrath RL: Respiratory and laryngeal contributions to maximum phonation duration. J Voice 2000; 14: 331-340
- 4) Stemple JC, Lee L, D'Amico B, Pickup B: Efficacy of vocal function exercises as a method of improving voice production. J Voice 1994; 8: 271-278

筋ジストロフィー患者における母指の動作解析と母指動作に関連した手内筋の表面筋電図に関する研究

森島 大静¹⁾, 小林 顕²⁾, 沼 とう子¹⁾, 松本 知大¹⁾, 猪又 八郎²⁾, 井上 浩¹⁾

要旨：〔目的〕近年、筋ジストロフィー（PMD）患者におけるパソコンの普及はめざましく、QOLの向上につながっている。PMD患者では筋萎縮が進行し、握力低下や手指関節の拘縮のため入力装置の操作が困難になってくる。本研究ではPMD患者が指先の弱い力でも操作できるような入力装置を開発するための基礎的研究として母指の動作解析と表面筋電図の同時計測を試み、患者に特徴的な所見の抽出を試みた。また表面筋電図の病状に関する評価や診断における有用性の検討も目的とした。〔方法〕動作解析は母指の伸展、外転、屈曲、内転動作を順にゆっくり行うことを指示し、固定したデジタルビデオカメラによって正面方向及び真上方向の2方向より母指の動作の撮影を行うことで3次元解析とした。撮影された動画をパソコンに取り込み、動きの時間経過をグラフ上にプロットした。母指の運動に関連する手内筋（短母指外転筋および第1背側骨格筋）の表面筋電図は双極誘導法を用い、電極は脳波測定用の円盤電極を用いた。測定データの処理に際しては差動アンプを用い、カイザー窓による窓関数法を用いて帯域通過フィルタ(band pass filter:BPF)を設計することにより動作に伴う位置の変化によるアーチファクトを除去し、さらにフーリエ変換を用いた周波数選択性フィルタを用いて商用周波数を除去した。記録は動作解析結果と表面筋電図を同期させて行い、両データを同一時間スケールで表示した。対象は健常者12名と筋ジス患者（Duchenne型筋ジストロフィー（DMD）患者6名、筋強直性ジストロフィー（MyD）患者9名）15名の測定を行った。〔結果・考察〕同期させた動作解析と筋電図の解析の結果、健常者と比べて各疾患の特徴を抽出することができた。MyD患者では特徴的なsaccadicな動作が検出された。この知見は病状の進行と共に動作の調節が難しくなり、滑らかな動作が困難になっていくことを示唆した。表面筋電図にて、MyDではミオトニア放電が観測されたがそのほかに、MyDにおいては動作と筋電位を照らし合わせたところ、動作をしていない時に、時折スパイク様の電位が発生することが検出された。一方、DMD患者では大体において、滑らかな動作をすることは可能であったが、動作範囲がMyD患者に比べ極端に狭いことが確認できた。MyD症例に対し我々はさらに、上・下・左・右の各動作の筋電図の実効値を求め、握力との関連を検討したが、実効値の各動作における有意の差、あるいは実効値と握力との相関はみられなかった。〔結論〕母指の動きと表面筋電図において筋ジストロフィー患者の特徴的な経時的所見が抽出された。これにより、表面筋電図を利用した筋ジストロフィーの新たな病状の評価指針の開発の可能性が示された。今回の研究結果は筋ジストロフィー患者に特異的な動作傾向の定量化あるいは補助機器開発にむけての基礎的な知見になると考えられる。

キーワード：筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィー、Duchenne型筋ジストロフィー、動作解析、表面筋電図

はじめに

近年、ノーマライゼーションの理念のもとに、社会のバリアフリー化が進み、それに伴い障害者の積極的な社会参加が進んでいる。そして、これに呼応して福祉機器の開発が進んでいる。しかし、それらの機器にも、まだ使いにくいものも多く、病状が日々進行していく筋ジストロフィー（以下筋ジス）患者においても、一般に普及しているものでは使用が困難なものが多い。

昨今、パーソナルコンピュータ（以下パソコン）による情報通信の普及によりインターネットが広く親しまれる様になり、筋ジス患者にとっても大きな楽しみとなっている。現在普及しているインテリマウスやマープルマウス（トラックボ

ール）などでは、筋萎縮が進行すると手を広範囲に動かすことができず、使用が困難となっていく。また同様にハンディマウスやタブレット（ペン型マウス）でも筋力の衰えにより使用が困難となる。そして、現在最も使いやすいスライドポインタでさえ自分の希望通りに動かすのが困難である¹⁾。またその他、音声や瞬目、視線などを用いた多種多様な入力装置があるが、どれをとっても病状の進行とともに使用が困難になってしまう。このため、機能障害が進行した筋ジス患者でも用意に使えるような、パソコンのポインタの入力装置が求められる。本研究の目的の第1はそのような筋ジス患者のためのポインタの入力装置の開発につながる基礎的データの獲得である。

昨今、筋ジスの診断においても遺伝子診断がより積極的に進められてきている。しかし遺伝子診断は多額の費用と労力

秋田大学大学院工学資源学研究所¹⁾
独立行政法人国立病院機構あきた病院²⁾

を要するため、従来の臨床症状、針筋電図、筋生検などによる診断は依然として重要である。針筋電図は、針電極を筋肉内に直接刺入するものであり被験者に苦痛を与え、通常、医師の立ち会いが必要となる。本研究の目的の第2は、針筋電図に代わるものとして表面筋電図に着目し、表面筋電図の精度や診断能力の向上を試みようとするのである。

筋ジス患者と健常者の筋電位の傾向や特徴を把握するため、母指の動作解析とそれに伴う筋電位の検出を行った。表面筋電位の検出には、脳波用電極を用いた。これを皮膚上に貼り付け、表面筋電位の検出を行った。これは、針筋電図に比べ被験者への負担が小さく、比較的簡易に検出が可能である。また、母指の動作解析は、固定したビデオカメラにより撮影し、利き手（主に右手）を上、下、左、右に動作する指示を出し、測定を行った。

対象と方法

1) 動作解析

a) 動作解析方法²⁾

母指の動作は、固定したビデオカメラ（Panasonic製NV-MX3000）によって、利き手（主に右手）の母指の撮影を行った。この際、腕や手はほぼ無拘束状態にしておき被験者に

とって最も動作しやすい状態にして測定を行った。母指動作を詳細に解析するため正面方向及び真上方向の2方向より撮影を行うことで3次元解析として検討した（Fig.1）。測定は全て机の上に置いた撮影台で行った。

b) 動画の処理方法²⁾

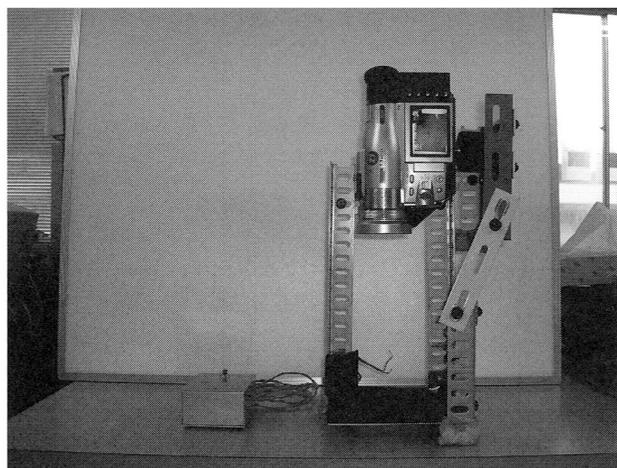
動画の処理は、デジタルビデオカメラによって撮影された動画をDV端子により29.97fpsでパソコンに取り込んだ。測定開始点は発光ダイオードにより同期して読み取った。時間分だけ取り込んだ動画をAdobe社Premiere6.0により3fpsでbmp形式の静止画に出力した。これを1枚ずつMicrosoft社ペイントによって開き、母指の先端を720×480 PixelのPixel値で読み取った。これを全ての静止画に繰り返し、母指の動作位置とした²⁾。Fig.2に処理の流れ、Fig.3に発光ダイオードの発光の読み取りを示す。

2) 表面筋電図²⁾³⁾

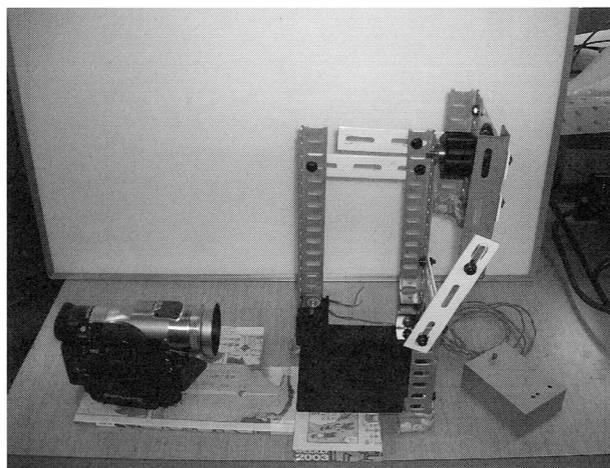
a) 測定筋

測定には短母指外転筋及び第1背側骨間筋を用いた。これらは比較的皮膚の浅層に位置して母指動作に作用することから選択した。短母指外転筋は、母指の外転・屈曲に作用する。第1背側骨間筋は、母指の内転・屈曲に作用する。

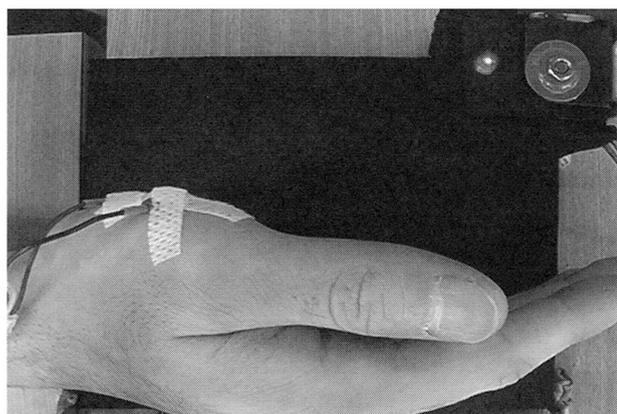
b) 測定方法



(a) 真上方向からの撮影



(b) 正面方向からの撮影



(c) 真上方向から撮影し取り出したフレーム



(d) 正面方向から撮影し取り出したフレーム

Fig.1 動作解析の撮影方法と用いた機器の配置、および解析のために取り出したフレーム

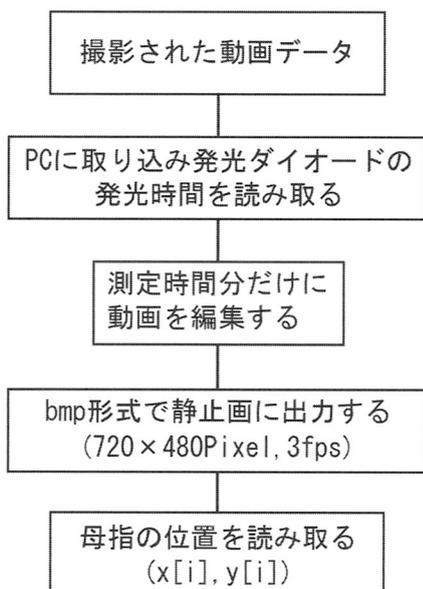


Fig.2 動画データのコンピューター処理方法

Fig.4に測定に用いた測定系, Fig.5に表面電極の貼付位置を示した. 短母指外転筋は, Fig.5 (a)に示すように母指を小指につけた際に堅くなる部分に存在し, 第1背側骨間筋は, Fig.5 (b)に示すように母指を示指につけた際に膨らむ部分にあたる. また, 用いた高感度増幅器は差動増幅器であるため, 2点間で間隔をあけて電極を貼り付け, また少し離れた位置に基準電極を貼り付け, 電位差による測定を行った. 電極は脳波測定用の円盤電極を用い, 皮膚との間に電解ペーストを介在させた.

3) 表面筋電図測定後の処理について

a) 動作によるアーチファクトの除去²⁾⁴⁾⁵⁾

測定により検出された結果より筋電位信号のみを取り出すため, データの二段階のフィルタ処理を行った. まず1段階として, 電極と皮膚の間に生じる摩擦によるアーチファクト(およそ0~2 Hz) 除去を行った. これには筋電図の周波数帯域である2~2kHzを考慮した. フィルタには直線位相FIRフィルタを用い, 設計にはカイザー窓による窓関数法を用いた. カイザー窓は次式で与えられる.

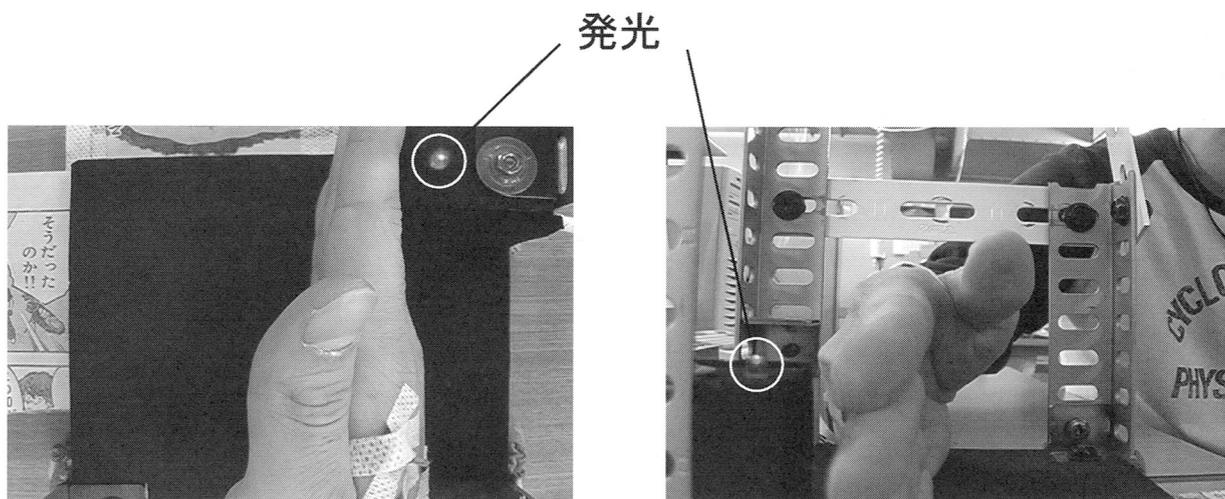


Fig.3 発光ダイオードの発光

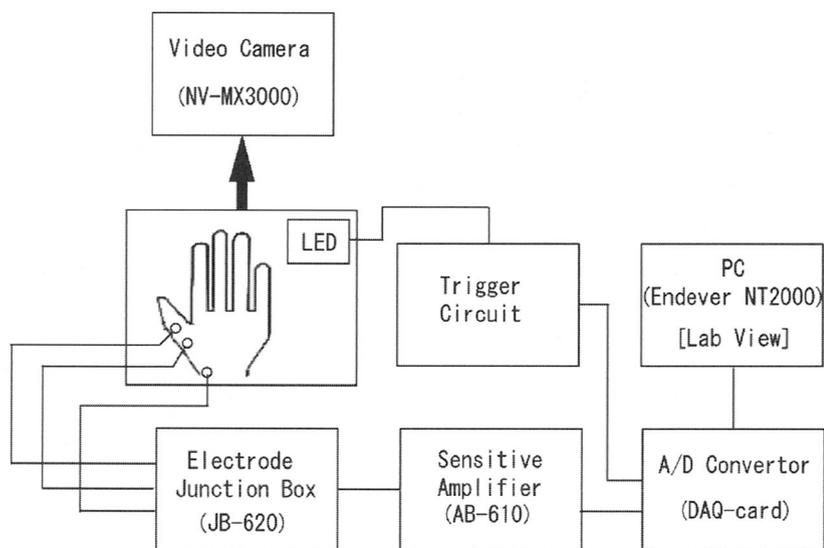
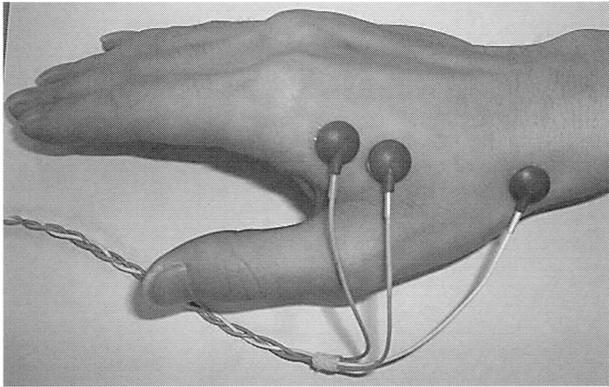
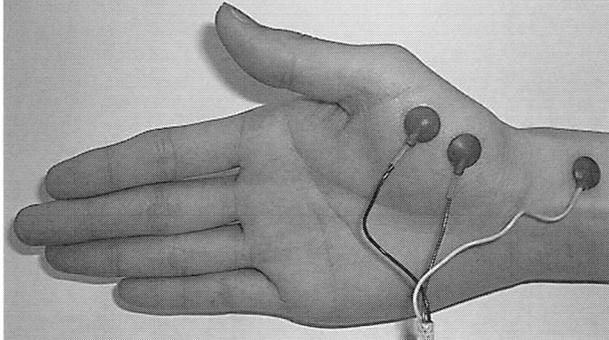


Fig.4 表面筋電図の測定系



(a) 第1背側骨間筋の表面筋電図測定における電極の位置



(b) 短母指外転筋の表面筋電図測定における電極の位置

Fig.5 表面筋電図の電極の貼付位置

$$\omega_k(n) = \frac{I_0 \left[\alpha \sqrt{1 - \left(\frac{2n}{N-1} \right)^2} \right]}{I_0(\alpha)} \quad (1)$$

ここで $I_0(x)$ は 0 次第 1 種変形ベッセル関数であり、次式で与えられる。

$$I_0(x) = 1 + \sum_{n=1}^{\infty} \left(\frac{(x/2)^n}{n!} \right)^2 \quad (2)$$

式 (2) では無限和の代わりに $n = 19$ とした。 ($I_0(x)$ は $n = 20$ 程度で打ち切っても十分は精度が得られるとされている⁵⁾⁶⁾。カイザー窓の特徴はパラメータ a を単に変えるだけでサイドローブの減衰量を連続的に変えられることである。このため、メインローブ幅とサイドローブのピーク値のトレードオフを実現できる。メインローブの最も急峻な減衰を実現するという意味でカイザー窓は最適である。また、 a は次式で計算される。(この式は実験的に求められたものである⁷⁾。 A は阻止帯域中での減衰量の最悪値の dB 値である。

$$\alpha = \begin{cases} 0.1102(A - 8.7), & A \geq 50 \\ 0.5842(A - 21)^{0.4} + 0.07886(A - 21), & 21 < A < 50 \\ 0, & A \leq 50 \end{cases} \quad (3)$$

求めた $\omega(n)$ より、低域通過フィルタの単位インパルスを算出する。単位インパルス $h_L(n)$ は次式によって求める。

$$h(n) = \frac{\omega_c}{\pi} \text{sinc} \frac{\omega_c}{\pi} n \cdot \omega(n), n = -\frac{N-1}{2} \sim \frac{N-1}{2} \quad (4)$$

ここで ω_c は低域通過フィルタの遮断周波数である。

筋電図の周波数帯域はおよそ 2 ~ 2kHz なので、除去を行う帯域は 0 ~ 2Hz および 2kHz 以上である。通過帯域幅は 1998Hz なので、ここでの低域遮断周波数は 999Hz となる。

次にこれを次式により帯域通過フィルタへ周波数変換した。

$$h_{BPF}(n) = 2 \cos n \omega_0 \cdot h_L(n) \quad (5)$$

$$\omega_1 = \omega_0 - \omega_{cL}, \omega_2 = \omega_0 + \omega_{cL}$$

ただし $\omega_{cL} < \omega_0 < \pi - \omega_{cL}$ である。

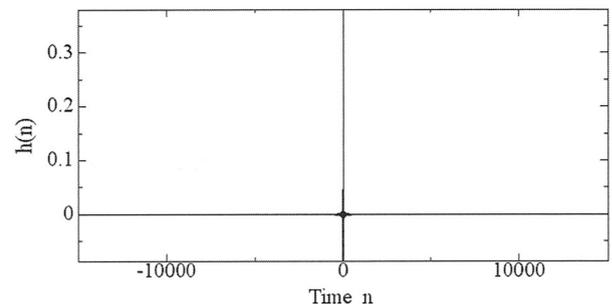
ここで ω_0 は帯域通過フィルタの中心周波数であり、 ω_1, ω_2 は帯域通過フィルタ (band pass filter: BPF) の遮断周波数である。

ここでは上記より BPF の中心周波数は 1001Hz となり、遮断周波数はそれぞれ 2Hz, 2kHz となる。これによって求められた BPF により、時系列データをたたみ込み和 (convolution sum) によってフィルタ処理を行った。以下に簡略式を示す。

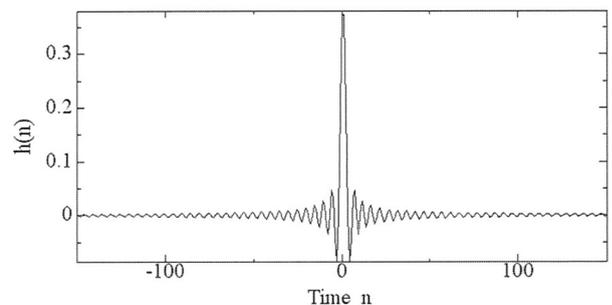
$$y(n) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} h(k)x(n-k) \quad (6)$$

ここで $x(n)$ は元の測定した時系列データであり、 $y(n)$ はフィルタ処理後のデータである。またここでは、単位インパルス応答は有限区間の数列であるため式 (6) の無限大は設計したフィルタの次数とする。

Table 1 に設計した BPF のパラメータを示す。Fig. 6 に設



(a) 全体図



(b) 拡大図

Fig.6 設計した BPF のインパルス応答

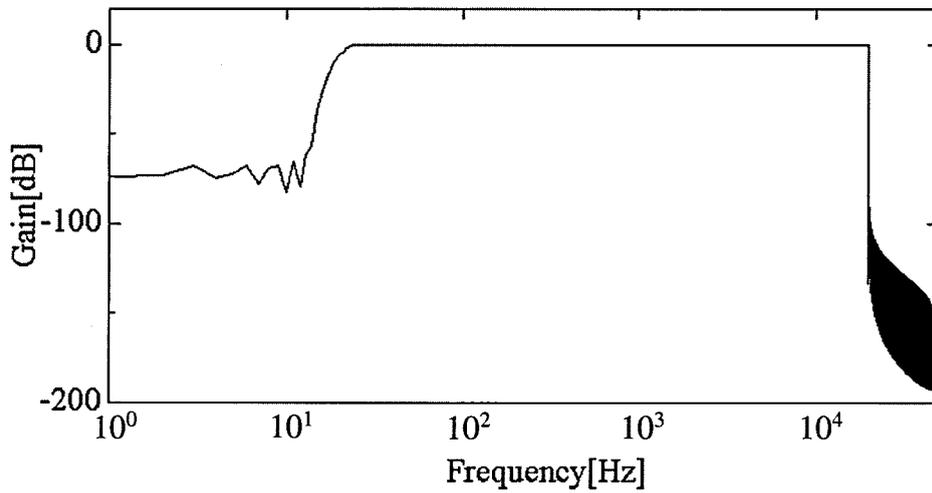
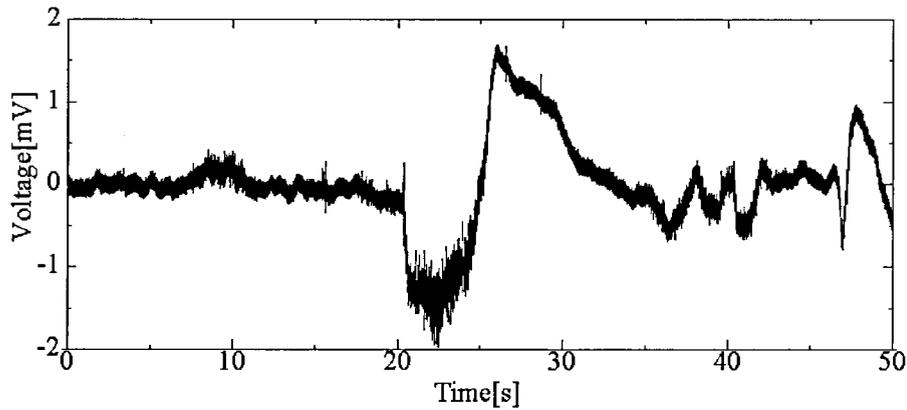
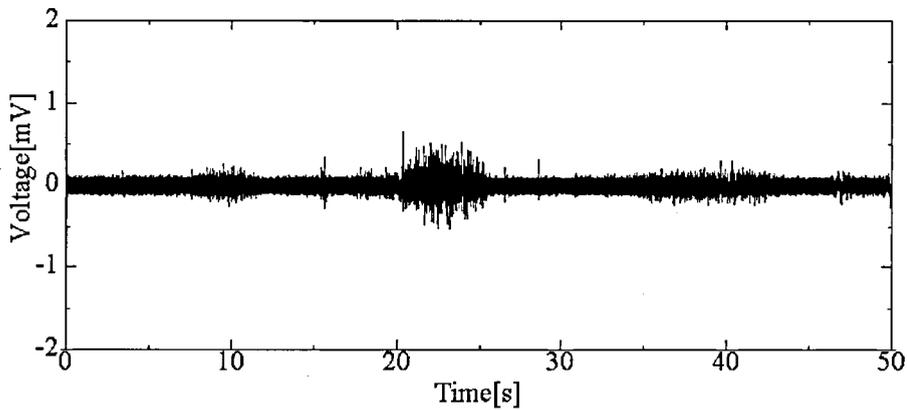


Fig.7 設計したBPFの周波数特性



(a) フィルタ処理前の波形



(b) フィルタ処理後の波形

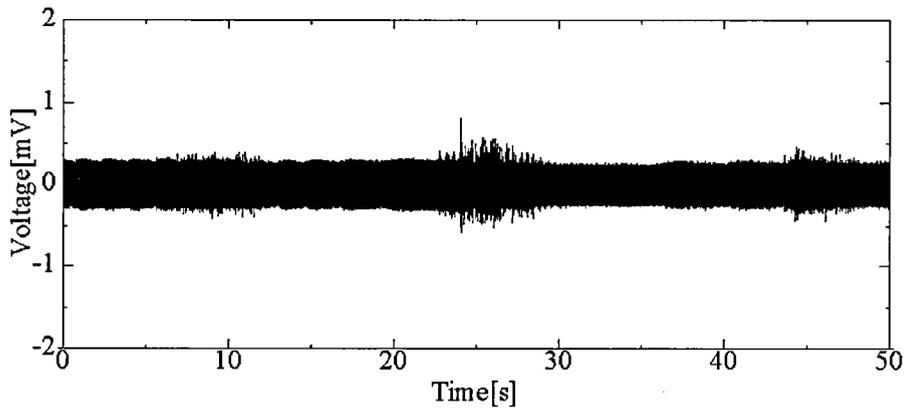
Fig.8 帯域通過フィルタ(band pass filter : BPF)の効果. (a)は処理前の波形, (b)は(a)の波形のBPF処理後の波形を示す.

計したBPFのインパルス応答及びその拡大図, Fig.7に周波数特性を示す. またFig.8に処理前後の波形例を示す. 動きによるアーチファクトが除去できていることが分かる.

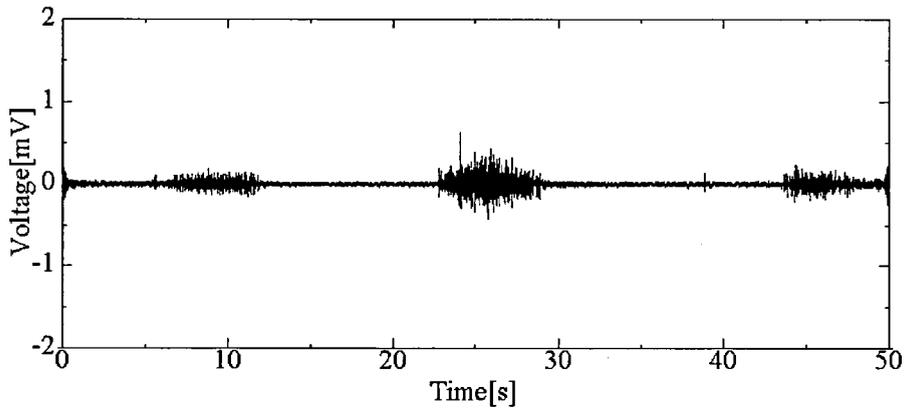
b)商用周波数の除去

次にBPF処理後の結果に, 商用周波数あるいはその高調

派成分と考えられる, 周波数特性が50Hzおよびその整数倍の成分の混入が確認された. このため, これらの除去を行うため離散フーリエ変換(DFT)による周波数選択性デジタルフィルタを設計し除去を行った. これは, すでにBPFでフィルタ処理されたデータを, まずDFTにより時間領域か



(a) 処理前の波形



(b) 処理後の波形

Fig.9 フーリエ変換を用いた商用周波数の除去。(a)は処理前の波形、(b)は(a)の波形の処理後の波形を示す。

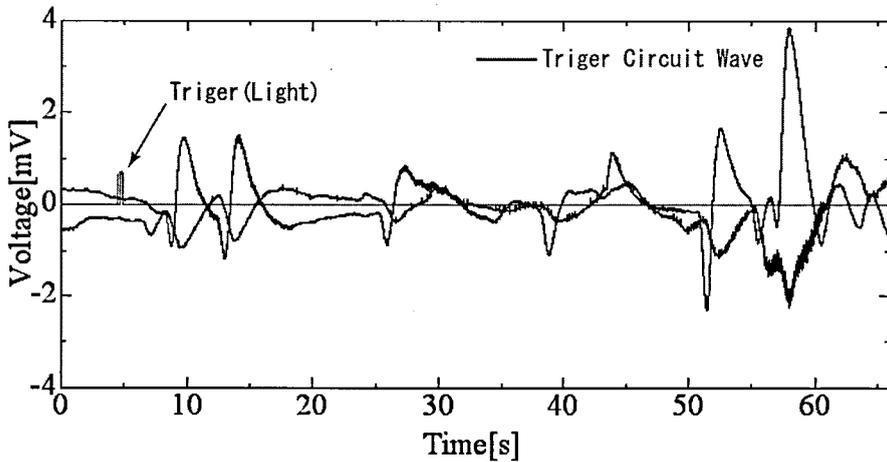


Fig. 10 トリガーと筋電図の検出例

ら周波数領域に変換し、このうち商用周波数の50Hz及び整数倍である高調波成分の帯域を零とし、これを逆離散フーリエ変換 (IDFT) し、これにより完全な除去を行った。Fig. 9に処理前と処理後の電位波形を示す。

4) 母指動作と筋電図の同期について

解析にあたり母指動作と筋電図を同期させて記録する必要がある。まず、動画については、動画から発光を読み取り、測定時間分をパソコンに取り込み、処理を行う。表面筋電図については動画に記録させた発光ダイオードの発光の際に発

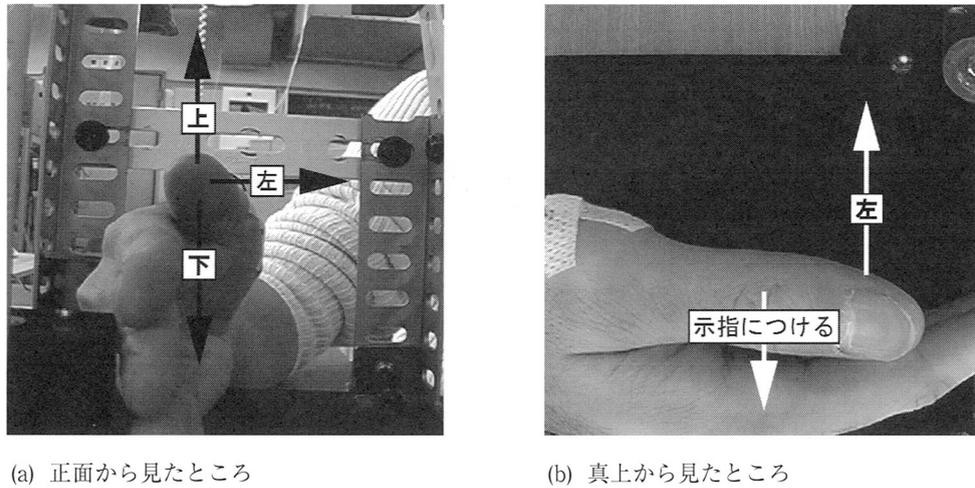


Fig.11 測定した母指動作の方向. 母指の伸展, 外転, 屈曲, 内転動作を順にゆっくり行うことを指示し, 固定したビデオカメラによって, 正面方向(a)および真上方向(b)の2方向より動作の撮影を行った.

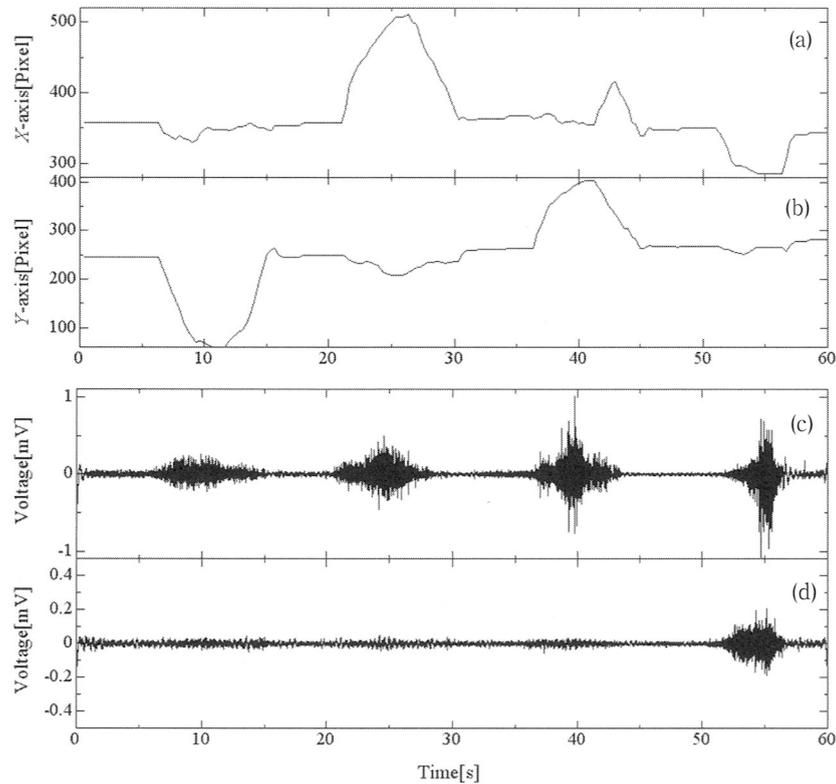


Fig.12 健常者の測定結果. 母指の(a)横(X)方向の動作, (b)縦(Y)方向の動作, (c)短母指外転筋の筋電位, (d)第1背側骨間筋の筋電位である. (b)は(a)の波形のBPF処理後の波形を示す.

生させたトリガーをパソコン画面で筋電位と同様に取り込み, そのトリガーを測定開始点として読み取る. そして, この開始点より測定時間分を抽出して同期時間データとした. Fig.10 にトリガーと筋電図の検出例を示す.

5) 対象

本研究において, 母指の x,y,z 軸の3次元動作解析と, それと同時に短母指外転筋と第1背側骨間筋の二つの筋の筋電図を測定した対象を Table 2 に示す. 対象はデュシェンヌ型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy : DMD)

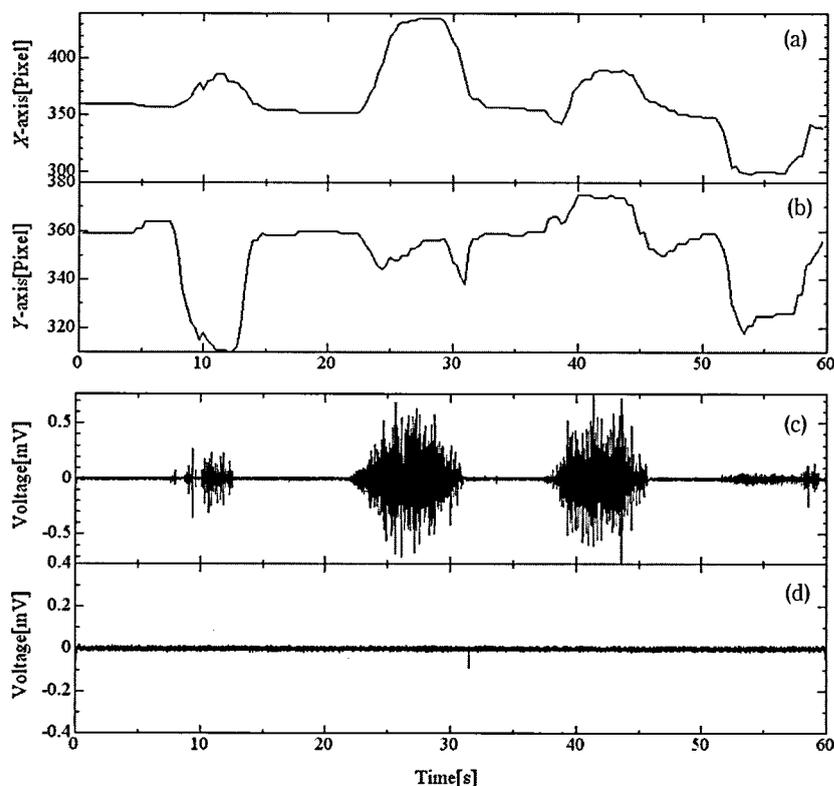


Fig.13 DMD患者の測定結果. 母指の(a)横(X)方向の動作, (b)縦(Y)方向の動作, (c)短母指外転筋の筋電位, (d)第1背側骨間筋の筋電位である.

6名 (30.0 ± 4.7 歳), 筋強直性ジストロフィー (Myotonic dystrophy : MyD) 9名 (49.1 ± 9.0 歳), 健常者12名 (26.4 ± 7.5 歳)であった. x軸は母指を左右に動作する方向, y軸は母指を上下に動作する方法, z軸は母指を前後に動作する方向とした.

6) 測定における動作の順序および時間経過

母指の動作手順を Table 3 に示す. MyD患者に対しては, 疾患の特徴から難聴や理解力低下がみられるので, 時間制限をある程度緩和せざるを得なかった.

7) 筋電位の実効値の測定

筋電図波形の評価のために筋電位の実効値を算出し, これにより各動作の筋電図実効値の違い, また握力との関係について検討した. 動作解析の結果から各動作に関して動作している時間を読み取った. 上下方向はy方向, 左右方向はx方向の動作解析の結果を用いた. これにより動作開始時間と終了時間を読み取り, その区間の実効値を算出した. また, 病状の進行程度との比較のため, 実効値と握力の比較を行った.

結 果

母指の動作と表面筋電図に関して, Fig.12に健常者の測定結果の典型例, Fig.13にDMD患者の測定結果の典型例, Fig.14にMyD患者の測定結果の典型例を示す. Fig.12~14においては, いずれも (a)は母指の縦(x)方向の動作,

(b)は横(y)方向の動作, (c)は短母指外転筋の筋電位, (d)は第1背側骨間筋の筋電位を示す. 動作に関しては, 健常者においては母指の動作の範囲は広く, 個人差もあまりみられなかった. また検者の出す指示をよく理解し, 一連の動作を忠実に実行した. 運動の制御が良くできているためか, 動作軌跡は滑らかであった. ただ動作の実行に慎重であるためか, あるいは緊張のためか動作時に多少の母指の震えのみられる例があった. DMD患者では, 検者の指示に対する理解度は高かったが, 筋力の低下や手指の拘縮のため動作範囲は極端に狭かった. MyDでは疾病の特徴である理解力の低下のため, 検者の指示を理解できない例も見られた. また動きが滑らかでなく saccadic に動作する傾向があり, これにはミオトニアの存在, あるいは運動の調節の障害などが関連していると考えられた. 以上の疾患に特徴的な所見は Table 4にまとめてある.

表面筋電図所見に関しては, 健常者では筋電位にあまり乱れがなく各動作に関してグラフ上で菱形あるいは紡錘形の筋電位の経過パターンを示した. DMDでは筋電位は健常者同様の包絡線が観測できたが, 上下方向の動作においての短母指外転筋及び全ての動作において第1背側骨間筋の筋電位の発生が殆ど見られなかった. これは上下方向の動作で短母指外転筋や第1背側骨間筋以外の前腕の筋群など使っている事を示唆した. またMyDにおいては動作を行っていない時にも持続的な筋電位の発生が観測され, ミオトニー放電を観測していることが推定できた.

表面筋電図で得られた信号の定量化の試みとして, 母指の

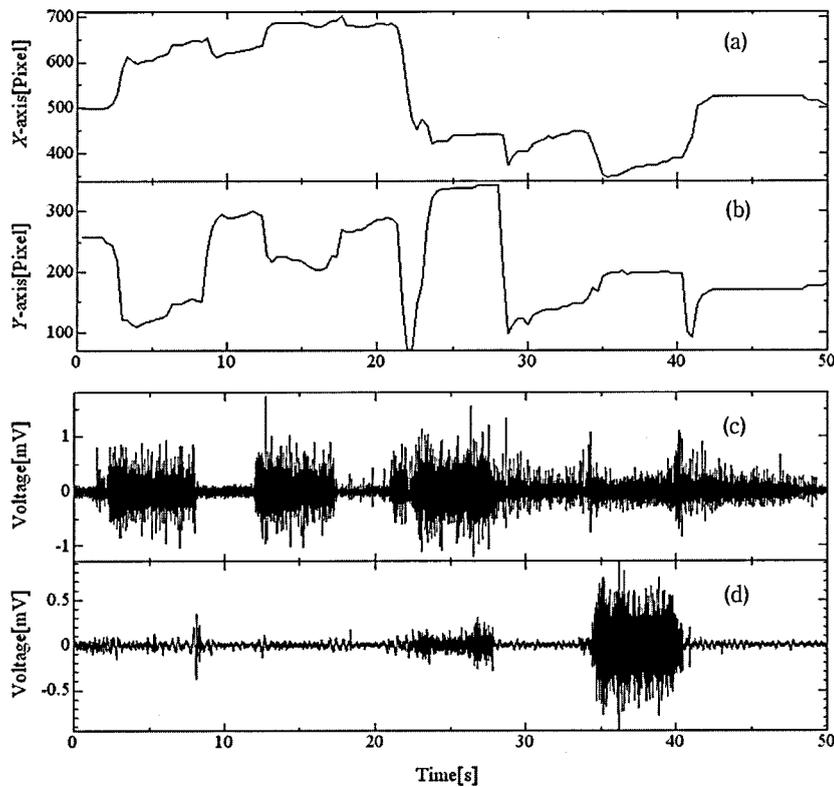


Fig.14 MyD患者の測定結果. 母指の(a)横(X)方向の動作, (b)縦(Y)方向の動作, (c)短母指外転筋の筋電位, (d)第1背側骨間筋の筋電位である.

Table 1 BPFのパラメータ

次数	3000
減衰量	60[dB]
通過帯域	2-2kHz
遷移域	0.6[Hz]
リップル	0.009[dB]

Table 2 測定被検者一覧

DMD患者				MyD患者				健常者		
登録番号	性別	年齢(歳)	機能障害度	登録番号	性別	年齢(歳)	機能障害度	登録番号	性別	年齢(歳)
D-1	男	27	VII	M-4	女	56	VIII	H-3	女	22
D-2	男	23	VII	M-5	男	55	IV	H-4	男	22
D-3	男	30	VIII	M-6	女	60	VI	H-5	女	24
D-4	男	32	VII	M-7	男	42	V	H-6	男	22
D-5	男	37	VII	M-8	女	53	VI	H-7	男	22
D-6	男	31	VII	M-9	女	50	VII	H-8	男	23
				M-10	女	38	V	H-9	男	22
				M-11	男	34	II	H-10	男	44
				M-12	男	54	VII	H-11	男	34
								H-12	男	37
								H-13	男	23
								H-14	男	22
平均年齢		30		平均年齢		49		平均年齢		26
標準偏差		4.7		標準偏差		9		標準偏差		7.5

各動作によって発生する筋電位の実効値を算出し, Table 5に示した. MyD患者の母指動作に伴う筋電位の実効値に関しては, 動作方向に伴う一定の規則性や傾向は一切得られなかった. また筋電位の実効値と握力の関連も得られなかった.

考 察

筋はそれを支配する運動神経からの興奮で収縮する. 神経の興奮は神経筋接合部を介して筋線維に伝わり活動電位を生じさせる. これにより筋小胞体から放出されるカルシウムイオンが筋収縮の引き金となる. 筋電図 (electromyography) は, 筋線維が興奮する際に発生する活動電位を記録するもの

である. 筋電図は針電極を用いて筋の運動単位電位を導出分析する針筋電図と, 表面電極を用いて筋の活動電位を導出する表面筋電図がある. 針筋電図は神経-筋興奮の最小単位(運動単位: motor unit)の筋活動電位を記録することができ, 針電極を筋肉内へ刺入したときの刺入電位, 安静弛緩時の電位, 軽度随意収縮時の筋活動電位, 最大収縮時の干渉波形などについて観察する. そして筋力低下や筋萎縮の原因診断や, 神経原性の障害の場合は障害レベルの局在診断なども可能である. 表面筋電図では筋全体の活動を連続して, また多チャンネルで同時記録することができる. また, 表面筋電位は, 筋膜・皮下組織・皮膚などの厚さの分だけ筋肉から離れた皮膚表面で, しかも通常ある程度の大きさの面積を持つ表面電極により, 筋肉の電気現象を観察するので, 無数の運

Table 3 測定した母指動作の順序および時間経過

測定時間	0 ~ 5	~ 10	~ 15	~ 20	~ 25	~ 30	~ 35	~ 40	~ 45	~ 50	~ 55	~ 60
母指動作	静止	上に移動	下に移動 (元に戻す)	静止	左に移動	右に移動 (元に戻す)	静止	下に移動	下に移動 (元に戻す)	静止	人差し指に 母指を つける	緩めて静止

Table 4 母指動作における各疾患の特徴および特異的所見

	動作軌跡	動作指示に対する理解度	動作範囲	手指の震え等
健常者	滑らか	おおかた指示を理解し、指示に忠実に実行。	広く、個人差があまりない。	細かい震えのみられる例がある。
DMD患者	滑らか(時に saccadic)	おおかた指示を理解するが、忠実に行えない例もある。	極端に狭い例があり、個人差が大きい。	特にみられない。
MyD患者	saccadic	指示に対する理解度が低く、間違いが多い。	広く、個人差が大きい。	ミオトニアの発生がみられる例が多い。

Table 5 MyD患者の母指の動作に関する筋電図の実効値と握力

被検者	上方向[mV]	左方向[mV]	下方向[mV]	右方向[mV]	握力[kg/平方cm]
M-1	5.58	6.71	6.33	3.1	0.047
M-2	14.9	13.7	10.2	7.91	0.09
M-3	7.62	16.3	8.2	8.72	0.086
M-4	8.3	9.2	9.58	5.43	0.107
M-5	12.1	16.6	15	7.36	0.065
M-6	19.2	16.8	25.6	13.6	0.047

動単位の筋電位活動が時間的空間的に加算された筋全体の総合的な活動状態を観察していることになる。本研究においては、針筋電図では検査に伴い痛みが生ずるなど被験者への負担が大きいため、筋肉の活動のモニターに際して表面筋電図を用いた。

筋で発生する筋電位は皮下組織と皮膚を介して体表面に現れる。これを表面から検出するのに利用されるのが表面電極である。表面電極は、皮膚と電極間の電気抵抗のため、単に適当な金属片や導線を体表面に貼り付けただけではその役割を果たすことは出来ない。適切な電解ペーストと銀-塩化銀などの適切な電極材を用いた電極が必要になる。皮膚の電気抵抗に大きく影響を与えるのは皮膚の湿潤度と皮膚角化層の厚さである。皮膚の電気抵抗は、よく発汗して湿った状態の場合、数10kΩ程度まで小さくなるが、発汗がなく乾燥した状態では数MΩまで大きくなる。皮膚の発汗や乾燥の状態は時々刻々と変わるため、このままで筋電位を測定しようとしてもまともな測定はできない。そこで外から電解液を与えて常時十分湿った状態にするために電解ペーストが利用される。

針筋電図と比較しての表面筋電図の長所と短所をあげる。長所としては針の刺入に関連する痛みがないこと、また針筋電図の白金電極などと異なり表面筋電図の電極は比較的安価であることなどがあり、それゆえデータ処理機構が確立していれば、多数の電極を同時に用いて複雑な動作解析を行うこ

とも比較的容易である。短所としては針筋電図では観測される個々の運動単位電位 (motor unit potential:MUP) の観測は表面筋電図では不可能であるということである。さらに表面筋電図では横の広がりにおいても深さにおいてもかなり広い範囲の筋電位を拾ってしまい、測定部位の選択性が低い。しかも複数の筋肉が密に存在する部位の測定においては記録された表面筋電図がどの筋から発生しているのか決めるのが難しいという点がある⁸⁾。

導出方法には単極誘導法と双極誘導法がある。単極誘導法では筋腹中央の皮膚上に陰極(活性電極または探査電極)を、陽極(基準電極)を被検筋以外の不活性部位(骨頭、腱など)におく。この方法はアーチファクトが入りやすいが、基準電極が不活性の部位であれば、記録された活動電位は真の値を示すものとして評価することができる。一方、双極誘導法では、通常3~4cm間隔で2つの電極を装着する。その場合、2つの電極の装着方法が筋線維の走行に平行する場合とよぎる場合があるが、いずれの場合も記録された電位は両電極の電位差として表されるので、所見の評価にあたっては注意を要する。双極誘導法においては通常、差動アンプによる信号処理が行われる。検出された筋電位信号に混在しているノイズは差動アンプにより効果的に除去できる。本研究では双極誘導法による導出法を用いた。

本研究における表面筋電図の情報処理で最も重要な部分は筋電位信号に対する帯域通過フィルター(BPF)の設計であ

る。一般に筋活動電位を構成する正弦波の振動数は1Hzから10kHzに含まれ、筋電図検査に用いる周波数特性はこの範囲が理想的と考えられる³⁾⁹⁾。高周波フィルタを下げすぎると高周波成分が不均等に減少し、波形が正しく再現できない。低周波フィルタを上げすぎると再現された波形が本来の電位ではなく、その変化率(微分波形)に近くなる。また、高周波フィルタを上げすぎると背景にある雑音が必要に増加し、低周波フィルタを下げすぎると徐々に変化する生体電位の影響のための基線が不安定となり記録に支障をきたす。実際には高周波の雑音や低周波の基線の動きを避けるため、範囲を絞って記録されることが多い。本研究ではスペクトル解析や参考文献⁹⁾等を参考に周波数帯域を2Hzから2kHzとした。

次に結果に関連した考察であるが、母指の動作解析で、検者が発する指示は母指をゆっくり動かすというものであるがMyD症例においては、指をすばやく動かす傾向があった。我々はこれをsaccadicと表現した。このことに関連して我々はかつて、同様の測定系を用いて、MyD症例と健常者に対して母指の前後・左右の動作についてその瞬時加速度を求めたことがある。その結果MyD患者では加速度のピーク値の絶対値が他の被験者に比べ大きい傾向が得られている¹⁰⁾。動作がすばやくなってしまう原因として考えることは、MyDの症状として知能の低下がみられるので検者の指示が理解できないこと、また症状として難聴がみられるため検者の指示が聞き取れないこと、さらにミオトニアや筋力の低下などの症状により母指の運動の微妙な調整ができないため、検者の指示通りにゆっくり動かさずともできず、急峻な動作になってしまうことなどが考えられる。

結 論

本研究では、筋ジス患者のためのポインタの入力装置の開発につながる基礎的データを獲得するため、また表面筋電図の精度や診断能力の向上を目的として、母指の各種動作解析とそれに伴う表面筋電図の測定を行った。はじめに、我々の先行する研究を基にして、母指の動作解析法、表面筋電図の測定方法とデータ処理方法を吟味した。すなわち動作解析は正面方向及び真上方向の2方向より撮影を行うことで3次元解析とした。表面筋電図の測定データの処理に際してはカイザー窓による窓関数法を用いて帯域通過フィルタを設計することにより動作に伴う位置の変化によるアーチファクトを除去し、フーリエ変換を用いて商用周波数を除去した。そして動作解析と表面筋電図を同期させて記録し、両者を同じ時間軸上にプロットすることにより、種々の動作に伴う筋電位の

実効値を求めることが可能になった。本研究においては健常者12名と筋ジス患者(DMD患者6名、MyD患者9名)15名、総計27名の測定を行った。そして動作解析と筋電図の解析の結果、健常者と比べて各疾患の特徴を抽出することができた。MyD患者では特徴的なsaccadicな動作やミオトニア放電が検出された。MyD症例では、上・下・左・右の各動作の筋電図の実効値を求め、さらに握力との関連を検討したが、実効値の各動作における有意の差、あるいは実効値と握力との相関はみられなかった。今後の課題であるが、動作解析に関しては今回のビデオカメラの画像から解析する方法はかなりの手間と時間を要するためより容易にできる方法を模索したい。また今回、筋電位信号の定量化の端緒として実効値を求めたが、今後、筋電図波形のデータ処理の過程でリアルタイムで定量化する方法を検討したい。

参考文献

- 1) <http://www.jmda.or.jp/index.html> (社団法人日本筋ジストロフィー協会ホームページ)
- 2) 沼とう子, 井上浩, 小林顕, 猪又八郎; 福祉機器利用のための筋ジストロフィー患者の指の微小動作計測. 計測自動制御学会東北支部第203回研究集会資料, 資料番号203-10, 2002
- 3) 木村淳; 誘発電位と筋電図-理論と応用. 医学書院, 東京, 1990
- 4) 布施力恵, 井上浩, 猪又八郎; 低体温過程における無拘束ラットの心拍・血圧変動の計測. 第41回日本エム・イー学会大会論文集, 151-02, p195, 2002
- 5) 樋口龍雄, 川又政征; “デジタル信号処理-MATLAB応用-”, 昭晃堂, 東京, 2000
- 6) 三上直樹; デジタル信号処理の基礎. CQ出版社, 東京, 1998
- 7) 宮川洋, 今井秀樹訳 (R. W. Hamming 著) “デジタル・フィルタ (Digital filters)”, 科学技術出版社, 1983
- 8) 米国保健福祉省公衆衛生局疾病予防センター国立産業安全保健研究所; 表面筋電図の人間工学応用. 労働科学研究所出版部, 2004
- 9) 藤原哲司, “A Manual of Electromyography and Evoked Potential 筋電図・誘発電位マニュアル改訂3版”, 金芳堂, 1999
- 10) 井上浩, 沼とう子, 小林顕, 猪又八郎; 筋ジストロフィー患者の母指の動きと筋電図の測定, 第42回日本エム・イー学会大会論文集, OR6-2, p190, 2003

Mechanomyography (筋音図) を用いた筋ジストロフィーの 評価法の検討

園田 至人¹⁾, 内田 裕一¹⁾, 丸田 恭子²⁾, 下川 充芳³⁾, 福永 秀敏¹⁾,
三田 勝己²⁾, 赤滝 久美³⁾, 有村 公良⁴⁾, Arlene Ng⁴⁾

緒 言

筋ジストロフィーを中心とする筋疾患での臨床神経生理学的検討はこれまで筋電図が中心に行われてきた。一方、体表面筋微細振動 (筋音図:MMG) は注目されていたにもかかわらず、解析方法、機器の問題で十分な検討はされてこなかった。しかし、近年、トランスデューサーとして小型加速時計を応用することにより、MMGの周波数分析などが容易になっている¹⁾。運動生理学ではMMGを用いた研究が進んでいるが、臨床ではこれまでは国内外でこの筋音を用いた筋疾患での検討はほとんどなされていない。

本研究は筋音図を用いた検査方法、臨床症状との関連を検討することが目的である。今回は筋ジストロフィー患者の横隔膜収縮機能をMMGを用いることにより評価を行った。またPost activation potentiation:PAP²⁾ (最大随意収縮:Maximam voluntary contractionの後に筋収縮力が増大する現象でありtype2 fiberで顕著であるとされる)をMMGで捉える事で傷害される筋線維のタイプが同定可能か否かを検討した。

対象・方法

横隔膜収縮機能に関して、

正常コントロールとして健常男性8例(22-30歳, 24.4-30.0歳)を、またDuchenne型筋ジストロフィー患者6例(12-28歳, 20.1-7.0歳)を対象とした(表1)。横隔神経を頸部で経皮的最大上電気刺激を行い、第8肋間上で表面電極を用い、横隔膜の複合筋活動電位(CMAP)を記録すると同時に、小型加速時計(トランスデューサー)を用い筋音を測定した⁴⁾。記録は加速度計で得られた信号をプリアンプ、フィルターを通してメインアンプで増幅するという方法で観察した。呼吸の影響を最小限にするために、0.5Hzの刺激頻度に設定し、その刺激に合わせて呼息と吸息を繰り返し記録を行った。刺激-記録電極間距離、CMAP及びMMGの潜時、振幅を測定し、%VC、側弯(Cobb角)、E-C coupling timeとの関連を検討した。

筋線維タイプの同定に関する検討

筋疾患16例、非筋疾患16例、正常コントロール16例(表

表1. 対象 (横隔膜収縮特性の検討)

症例	年齢	機能障害度	%VC	Cobb角
1	12	V	82.1	8
2	14	VI	31.2	38
3	15	VII	32.3	21
4	21	VII	23.7	29
5	23	VII	27.2	17
6	28	VIII	22.4	14

2)で、肘関節を90度に屈曲、ベルトで固定し上腕二頭筋筋腹上に加速度計を置き、皮膚上より電気刺激を行いMMGを記録した。まずMMGを5回の最大上刺激で誘発されたMMGのpeak to peak amplitudeを平均し、前値とし、2分間の安静後、10秒の最大随意収縮を行い、その後の5回の刺激で誘発されるMMGの最初のamplitudeを測定、PAPを算出した。

結 果

横隔膜収縮機能に関して (図1)

- 1) 正常コントロール、DMD共に呼気終末と吸気終末の比較ではDMAP amplitudeは呼気終末に、一方MMGは吸気終末に潜時の短縮が見られた。これは横隔膜の動きに伴い、記録部での活動電位、筋収縮のベクトルの向きの変化にともなうものと考えられた。
- 2) 正常コントロールと比較し、DMD患者ではCMAP amplitude、MMG amplitudeが有意に低下を認めた。特にMMGでの低下が著明であった。
- 3) E-C couplingに要する時間、Cobb角、%VCとの関連は明らかではなかった。

筋線維タイプの同定に関する検討 (図2)

Myopathyの群では疾患コントロール、正常コントロールと比較しPAPの有意な低下が認められた。またmyopathyの群では病理学的にtype2 fiber atrophyの強い例で、PAPが低下する傾向が見られた。

考 察

筋ジストロフィーを中心とする筋疾患での臨床神経生理学

¹⁾国立病院機構南九州病院,

²⁾川崎医療福祉大学医療技術学部医療情報学科,

³⁾愛知県身障者コロニー・発達障害研究所,

⁴⁾鹿児島大学大学院神経病学講座神経内科・老年病学

表2. 対象 (傷害筋線維タイプ同定に関する検討)

筋疾患	No.	疾患コントロール	No.
Dermatomyositis	2	HyperCKnemia (did not satisfy	
Polymyositis	2	diagnosis of myopathy)	1
Overlap syndrome (polymyositis & scleroderma)	1	Beri-Beri associated poly-	
Hypokalemic myopathy	1	neuropathy	1
Hyperthyroid myopathy	1	DM polyneuropathy	2
Hypothyroid myopathy	1	DM amyotrophy (lower ext)	1
Steroid myopathy	1	Primary lateral sclerosis	1
Painful muscle spasm	2	Amyotrophic lateral sclerosis	
metabolic abnormality	1	definite	1
Myopathy with nemaline bodies	1	probable	2
Mitochondrial myopathy	1	Kennedy-Alter-Sung disease	2
Becker muscular dystrophy	1	Spinocerebellar degeneration	1
Oculopharyngeal muscular dystrophy	1	HAM/TSP	1
Limb-Girdle Muscular dystrophy	2	Parkinson' s diseas	1
		Cerebral toxoplasmosis	1
		Mild truncal ataxia w/ hyperreflexia	1

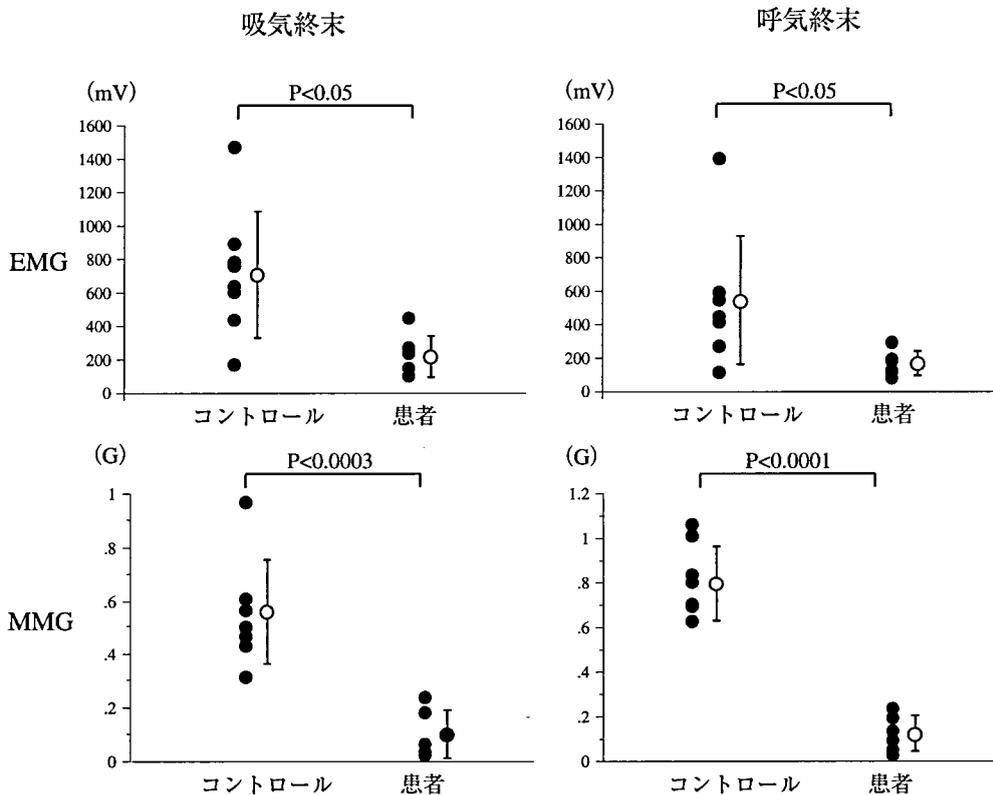


図1 横隔神経刺激によるEMG, MMG (横隔膜での記録)

的検討は筋電図が中心に行われてきたが、神経原性疾患と比較し、得られる情報は限られていた。一方、体表面筋微細振動 (MMG) は注目されていたにもかかわらずこれまで臨床応用は殆どなされていなかった。MMG発生メカニズムは筋線維が収縮する際の側方への拡大変形の結果発生する一種の圧波 (pressure wave) に起源を持つと言われている¹⁾²⁾。このMMGの利点としては

- 1) 非侵襲的である。
- 2) 筋収縮特性を測定できる。
- 3) recruitment patternと収縮速度の差を利用してtype1fiberとtype2fiberを区別できる。(type1 fiberはrecruitmentが速く収縮速度が遅いと言われる)。等が挙げられる⁵⁾⁶⁾⁷⁾。

今回、横隔膜でのMMG記録はCMAPと比較し、正常コ

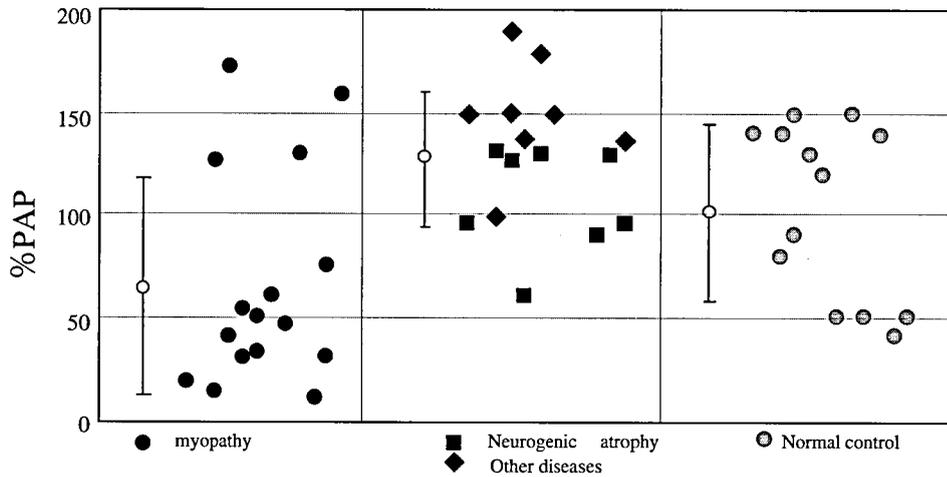


図2 傷害筋線維タイプ同定に関する検討

ントロールとDMD患者で著明な低下が認められた。これはDMD患者では筋の変性, 脱落のため, 機械的収縮の同期が不十分であるためだろうと推定された。

筋線維タイプの同定に関する検討に関してはPAPはmyopathyの群では疾患コントロール, 正常コントロールと比較し, 有意に低下が見られた。これはtype2 fiber atrophyを反映したものと考えられ⁸⁾, 実際, 病理学的にもその傾向が認められた。

今後, 症例の累積, 解析方法の工夫により筋疾患に於いて, MMGは多くの情報を得る方法に成り得ると考えられた。

結 論

1. 横隔神経刺激による横隔膜でのMMG記録ではDMD患者で有意なamplitudeの低下が見られ, これはCMAPより顕著であった。これは収縮の同期が不十分であるためだろうと推定された
2. 筋線維タイプの同定に関する検討では疾患コントロール, 正常コントロールと比較し, myopathy患者ではMMG-PAPが有意に低下していた。これはtype2 fiber atrophyを反映したものと考えられ, 生検筋の筋線維タイプの分布とMMG-PAPの低下はほぼ相関していた。

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, 三田勝己: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) Hamada T, Sale DG, MacDougall JD, Tarnopolsky MA. Postactivation potentiation, fiber type, and twitch contraction time in human knee extensor muscles. J Appl Physiol 2000; 88: 2131-2137.
- 4) Petitjean,M., Bellemare,F.: Phonomyogram of the diaphragm during unilateral and bilateral phrenic nerve stimulation and changes with fatigue. Muscle Nerve. 17:1201-1209,1994
- 5) Marchetti M, Felici F, Bernardi M, Minasi P, Di Filippo L. Can evoked phonomyography be used to recognize fast and slow muscle in man? Int J Sports Med 1992; 13:65-68.
- 6) Yoshitake Y, Moritani T. The muscle sound properties of different muscle fiber types during voluntary and electrically induced contractions. J. Electromyogr Kinesiol 1999; 9:209-217.
- 7) 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.Phisiol. 84:19-25,2001
- 8) Krarup C. Evoked responses in normal and diseased muscle with particular reference to twitch potentiation. Acta Neurol Scand 1983; 68:269-315.

Aberrant Neuronal Migration in the Brainstem of Fukuyama-Type Congenital Muscular Dystrophy

YOSHIAKI SAITO, MD, PHD, MAKIO KOBAYASHI, MD, PHD, MASAYUKI ITOH, MD, PHD, KAYOKO SAITO, MD, PHD, MASASHI MIZUGUCHI, MD, PHD, HIROSHI SASAKI, MD, PHD, KUNIMASA ARIMA, MD, PHD, TOMOKO YAMAMOTO, MD, PHD, SACHIO TAKASHIMA, MD, PHD, MASAYUKI SASAKI, MD, PHD, KITAMI HAYASHI, MD, PHD, AND MAKIKO OSAWA, MD, PHD

Abstract. We examined the brainstem of 10 patients with Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD). In the midbrain we noted leptomeningeal glioneuronal heterotopia (LGH) ($n = 9$) and intramural "micropolygyria" ($n = 1$) in the tectum, as well as tyrosine hydroxylase-positive ectopic neurons/fibers ventral to the cerebral peduncle ($n = 3$). In the pontomedullary region, glial fibrillary acidic protein-positive subpial tissue intermingled with neurons and myelinated fibers was present in the ventrolateral pontine surface in all cases and extended over the lateral surface of the upper medulla oblongata. This subpial gliotic band was often contiguous with the extra-pial LGH tissues. The gliotic band protruded from the ventrolateral pontine surface in 3 cases and appeared to include ectopic neurons of the pontine nucleus. Disarrangement of the arcuate nuclei ($n = 3$) was also noted in the medulla oblongata. We hypothesize that both the radial and tangential neuronal migration systems are disrupted in the FCMD brainstem in addition to altered neuronal migration in the cerebral and cerebellar cortex. Fukutin protein may play a part in the morphogenesis of certain neuronal structures in the brainstem and the dysplastic structure termed "aberrant pyramidal tract" in previous reports may essentially result from an ectopic migration of pontine nucleus neurons.

Key Words: Fukutin; Pontine migratory stream; Precerebellar neuroepithelium; Subpial migration pathway; Substantia nigra.

INTRODUCTION

Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD) is characterized by micropolygyria of the cerebral and cerebellar cortex (1-3). Previous studies have shown breaches of basal lamina/glia-limitans in fetal FCMD cases (4, 5), through which cortical neurons had overmigrated, suggesting that a fragile glia-limitans is the primary cause of micropolygyria. However, after the fukutin gene was identified as the causative agent for FCMD (6), immunohistochemical (7) and *in situ* hybridization (8) studies have revealed expression of fukutin protein in the migrating neurons and at lower levels in the glial cells (9) that form the glia-limitans. The reduced expression of fukutin protein in the developing FCMD cortex (7)

suggests that the fukutin protein may be involved primarily in the settling process of migrating neurons. However it remains unclear whether or not the fukutin protein is involved in the stabilization of glia-limitans and/or neuro-glia interaction during corticogenesis.

Neuropathological studies of the FCMD brainstem have identified leptomeningeal glioneuronal heterotopia (LGH) and an "aberrant pyramidal tract" (1, 3). LGH is defined as microscopic pial buds or nests of disorganized glioneuronal tissue within the sub-arachnoid space (10), and is often associated with congenital anomalies or perinatal destructive lesions of the brain (11, 12). It is unclear whether the presence of LGH in the FCMD brainstem is related to a process of breakdown of the fragile glia-limitans, as is hypothesized for the cerebral cortex. The pathology underlying the aberrant pyramidal tract also remains obscure.

In this study, we demonstrate that certain neuronal structures are selectively vulnerable in FCMD brainstem. Based on these observations, we hypothesize that the migration anomalies may result not only from the physical fragility of the glia limitans, but also from disrupted neuro-glia interactions in specific populations of migrating neurons.

MATERIALS AND METHODS

Brains from 10 FCMD patients (aged 2 to 27 years; 5 males, 5 females) and 12 control subjects (aged 1 to 17 years) were examined. The former patients were diagnosed with FCMD based on clinical features and pathological findings on muscle biopsy. All

From the Departments of Pediatrics (YS, KS, KH, MO), Pathology (MK, TY), and Anatomy (HS), Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan; Department of Pediatric Neurology (YS), Yokohama Ryo-iku En, Yokohama, Japan; Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neurology (MI), National Center of Neurology and Psychiatry, Kodaira, Japan; Department of Pediatrics (MM), Jichi Medical School, Minami-Kawachi, Japan; Departments of Laboratory Medicine (KA) and Pediatric Neurology (MS), National Center Hospital for Mental, Nervous and Muscular Disorders, National Center of Neurology and Psychiatry, Kodaira, Japan; Yanagawa Institute for Developmental Disabilities (ST), International University of Health and Welfare, Yanagawa, Japan.

Correspondence to: Yoshiaki Saito, Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan. E-mail: saitoyo@fb3.so-net.ne.jp

This work was partly supported by Grants-in-Aids from the Ministry of Health, Labor and Welfare and the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.

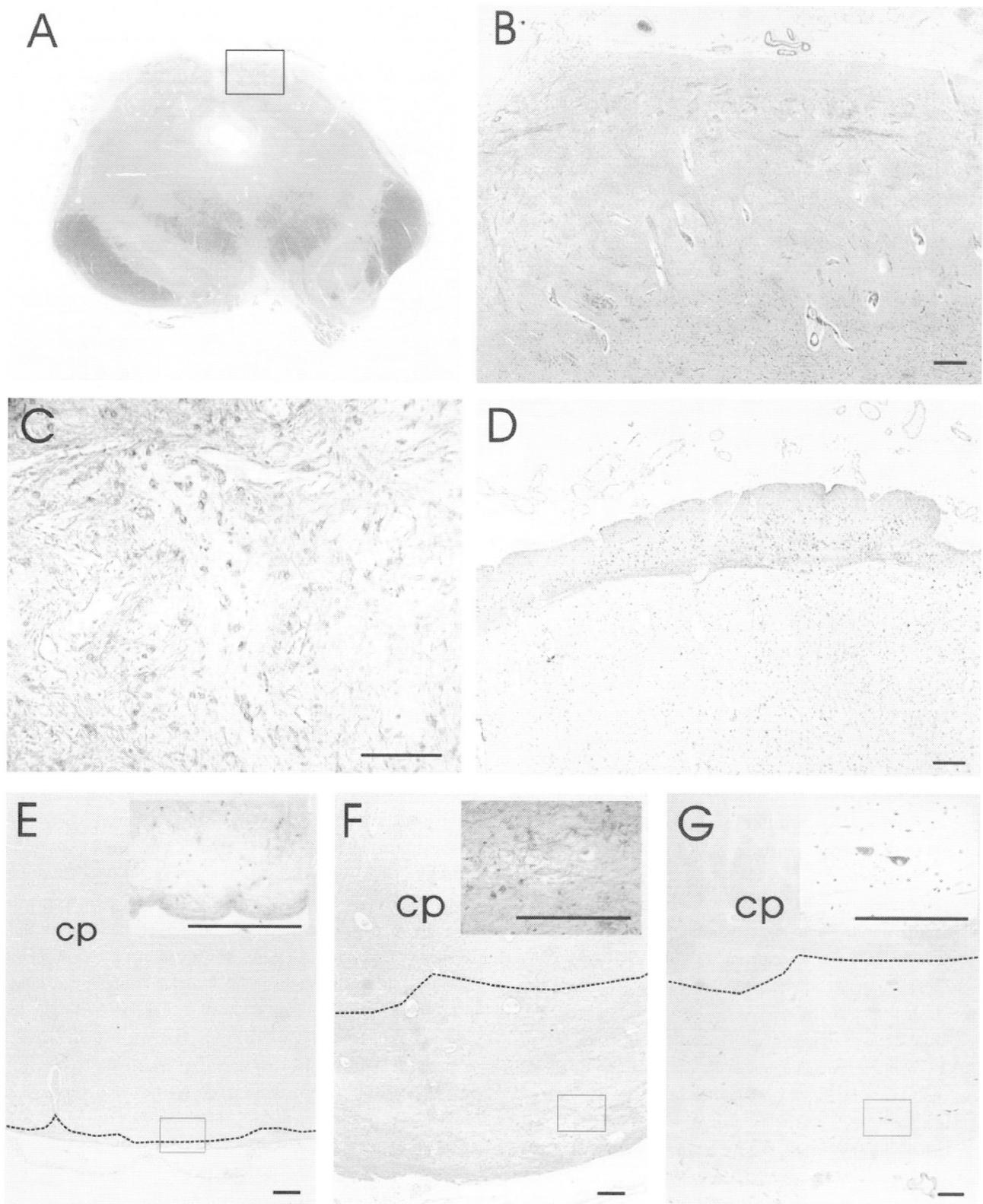


Fig. 1. Neuropathological findings of the midbrain in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD). **A-C:** Dysplastic glioneuronal tissue noted in the lower tectum of patient 1. **B, C:** Higher magnification of the tissue within the inset in panel (A). **D:** The leptomeningeal glioneuronal heterotopia (LGH) over the tectum in patient 8. **E-G:** Ventral surface of the cerebral peduncle in a 2-year-old control subject (E) and patient 1 (F, G). Dotted lines indicate the border between the cerebral peduncle and the glial tissue. **F:** A probable neuron within the gliotic tissue is shown in the inset. **G:** Tyrosine hydroxylase (TH)-immunoreactive neurons and fibers (inset) located in the area ventral to the cerebral peduncle. cp: cerebral peduncle. **A, B:** Luxol fast blue-Periodic acid Schiff staining; **C-F:** GFAP immunostaining; **G:** TH immunostaining. Scale bar 200 μ m.

TABLE 1
Clinical Features of the FCMD Cases

Patient	Age	Sex	Consanguinity /familial history	Peak motor development	Intelligence	Neurophysiological assessment	Cardiac involvement	Cause of death
1	2 yr	M	(-)	Head control (-)	Social smile	Epilepsy; EEG dys-rhythmia	TOF	Respiratory/cardiac failure
2	6 yr	F	Younger brother FCMD	Shuffle	Sentences	NE	Normal	Drowning
3	14 yr	M	(-)	Walk	Sentences	Epilepsy; extreme spindle	Mild RVH	Sudden death
4	14 yr	F	(-)	Keep sitting	Sentences	Normal EEG	NE	Sudden death
5	15 yr	F	(+)	Walk with help	Sentences	Febrile convulsion	Normal	Suffocation
6	15 yr	M	Younger sister FCMD	Keep sitting	Sentences	Febrile convulsion ABR delayed V wave; VEP, SSEP normal	IRBBB	Sudden death
7	15 yr	M	(-)	Shuffle	Single words	EEG frontal spikes	DCM during respiratory infection	Heart failure
8	17 yr	F	(-)	Walk with help	Sentences	VEP normal	Mild RVH	Sudden death
9	17 yr	F	Elder brother FCMD	Keep sitting	Sentences	EEG dysrhythmia	Mild RVH	Sudden death
10	27 yr	M	(-)	Walk	Sentences	Normal EEG	DCM	Respiratory failure

ABR, auditory brainstem response; DCM, dilated cardiomyopathy; EEG, electroencephalography; IRBBB, incomplete right bundle branch block; NE, not examined; RVH, right ventricular hyperplasia; SSEP, short latency somatosensory evoked potential; TOF, tetralogy of Fallot; VEP, visual evoked potential.

patients had motor and intellectual disabilities (Table 1). Sudden unexpected death occurred in 5 cases. Analysis of the fukutin gene, carried out in 6 cases, revealed a heterozygous mutation consisting of a 3-kb insertion on 1 allele and a point mutation on the other allele in 1 case (patient 1), and homozygous 3-kb insertions in 5 cases (patients 2, 3, 5, 8, and 10). The clinical and neuropathological features of 3 patients (patients 2, 4, and 5) have been previously described (13).

Brain tissues were obtained at autopsy within 24 hours after death. After macroscopic inspection, the formalin-fixed brains were cut coronally and several portions of the cerebrum, cerebellum, midbrain, pons, and medulla oblongata were embedded in paraffin. In both the FCMD and control cases, we examined microscopically at least 5 sections of each brainstem, and selected identical areas of upper midbrain (through the superior colliculus and red nucleus), lower midbrain (through the inferior colliculus and decussation of the superior cerebellar peduncle), upper pons (through the locus ceruleus), lower pons (through the facial nucleus), and upper medulla oblongata (through the inferior olive). Anatomical structures without apparent dysplasia were identified according to the atlas of Paxinos (14) and the text of Olszewski and Baxter (15). Whenever necessary, the sections were examined blind to whether the tissues were taken from FCMD or control patients. Four-mm-thick sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E), Luxol-fast-blue/periodic acid Schiff or by Klüver-Barrera and Holzer methods, as well as immunohistochemically using a polyclonal antibody against glial fibrillary acidic protein (GFAP) (DAKO Corporation, Santa Barbara, CA). Since

we found ectopic neurons ventral to the cerebral peduncle in FCMD brains, we used a monoclonal antibody against tyrosine hydroxylase (TH) (Chemicon International, Temecula, CA) to characterize such ectopic neurons. The brainstem sections were immersed in 3% hydrogen peroxide for 5 min to abolish endogenous peroxidase activity. Microwave treatment for 14 min at 95°C was performed to retrieve the TH antigen. The sections were incubated with the primary antibody (diluted at 1:1,000 for GFAP and 1:100 for TH) overnight at 4°C (GFAP) or for 2 hours at room temperature (TH). In negative control experiments, the primary antibodies were omitted and replaced with normal rabbit or mouse antisera. The avidin-biotin complex conjugated with peroxidase was used to visualize antibody binding. Between each step, the sections were thoroughly washed with phosphate-buffered saline 3 times. The immuno-products were developed with 0.05% 3,3'-diaminobenzidine and 0.0085% hydrogen peroxide and sections were counterstained with hematoxylin.

RESULTS

General Examinations (Table 2)

Micropolygyria of the cerebral cortex of varying severity was observed both macroscopically and microscopically in all cases. Patient 1, who had a heterozygous fukutin gene mutation, had the most widespread micropolygyria as well as prominent agyria/pachygyria in the temporal lobes. Cerebellar micropolygyria was identified in all cases. The middle cerebellar peduncle and basal pons appeared hypoplastic in 3 cases. The ventral medulla

TABLE 2
Neuropathological Findings and Genotypes of FCMD Cases

Patient	Fukutin gene haplotype	Neuropathology						
		Cerebral cortex	Cerebellar cortex	Midbrain		Pons	Medulla oblongata	Pontomedullary subpial glial band
				MPG	Tectum	Ectopic TH-positive neurons/Ebers	Protruding pontine nucleus	
1	Hetero	Severe	(+)	MPG-like	(+)	(+)	(+)	(+)
2	Homo	Moderate	(+)	LGH	(-)	(-)	(+)	(+)
3	Homo	Mild	(+)	LGH	(+)	(-)	(-)	(+)
4	NE	Mild	(+)	LGH	(-)	(-)	(-)	(+)
5	Homo	Mild	(+)	LGH	(-)	(-)	(-)	(+)
6	NE	Moderate	(+)	LGH	(+)	(+)	(-)	(+)
7	NE	Mild	(+)	LGH	(-)	(-)	(-)	(+)
8	Homo	Mild	(+)	LGH	(-)	(-)	(-)	(+)
9	NE	Moderate	(+)	LGH	(-)	(+)	(+)	(+)
10	Homo	Mild	(+)	LGH	(-)	(-)	(-)	(+)

Hetero, heterozygotic of 3 kb-insertion; Homo, homozygotic of 3 kb-insertion; LGH, leptomenigeal glioneuronal heterotopia; MPG, micropolygyria; NE, not examined; TH, tyrosine hydroxylase; (+), present; (-), not confirmed.

was flat and the protrusion of pyramids was indistinct in 8 cases.

Midbrain Neuropathology of FCMD

In the lower tectum of patient 1 there was an anomalous structure (Fig. 1A, B) resembling the cerebral cortical micropolygyria, in which GFAP-positive glial cells and fibers (Fig. 1C), neuronal somata, and blood vessels (Fig. 1B) were intermingled. The other 9 patients had LGH with multiple pial-glial bridges in the tectum, the extent of which varied among patients (Fig. 1D). The LGH was less conspicuous in the lateral and ventral border of the midbrain surrounding the cerebral peduncle. However, the subpial GFAP-positive layer was often thicker (Fig. 1F) than the glia-limitans of control subjects (Fig. 1E), and occasionally contained neuronal somata (Fig. 1F, inset). Some of these neurons and their axons were immunopositive for TH in 3 FCMD cases (Fig. 1G). Elsewhere, TH-positive neurons were distributed normally in the substantia nigra, ventral tegmentum, and periaqueductal areas. No labeling was noted in the control sections incubated with normal mouse serum.

Pontine Neuropathology of FCMD

The longitudinal fascicles in the basal pons were disorganized (Fig. 2A, B) to varying degrees and were partly shifted to the ventral-most area at the lower pontine level (Fig. 2C, D) in 3 cases. The transverse fibers were also disordered and the circumscribing fascicles of pontocerebellar fibers that course into the middle cerebellar peduncle (Fig. 2B) were often hypoplastic or fragmentary (Fig. 2A).

The pontine nuclei exhibited some neuronal clusters that protruded into the subarachnoid space at the ventrolateral pontine surface,

in association with blood vessels and myelinated fibers (Fig. 2E, F). This parenchymal protrusion extended ventromedially, tangential to the pontine surface, which was consistent with the migratory trajectory of the pontine nucleus neurons during development. In addition, 2 patients had an LGH-like portion of neuronal leakage through multiple bridges into the glial tissue that was lying over the surface of the pontine base (Fig. 3A). These protruding and LGH-like lesions were generally immunopositive for GFAP (Fig. 3B), but contained only a small number of astrocyte cell somata. In the basal pontine regions that lacked these lesions there was a thick GFAP-positive layer (Fig. 3C) containing up to hundreds of neurons per section. In many areas this layer was covered by the pia mater (Fig. 3C), resembling the glia-limitans of control subjects (Fig. 3D).

This glioneuronal tissue was contiguous with the lateral aspects of the rostral pontine tegmentum and reached the angle between the medial lemniscus (dorsomedial) and the bundle of pontocerebellar fibers (ventromedial) (Fig. 3E, F), where glioneuronal tissue was present in the subpial (Fig. 3E) and LGH-like extra-pial (not shown) locations. In the dorsal aspects of the pontine tegmentum there was occasionally a typical LGH with multiple pialglial bridges resembling that of the midbrain tectum. Thimmunoreactive neurons were distributed normally in the area of the locus ceruleus (not shown).

Medullary Neuropathology of FCMD

All the FCMD cases had a band of gliotic tissue along the lateral surface of the rostral medulla oblongata (Fig. 4A-C, E), which was thicker than the glia-limitans of control subjects (Fig. 4D). Except for 1 case that showed neuronal clustering (Fig. 4A, B), the number of neurons in this structure was less than 5 per section, much

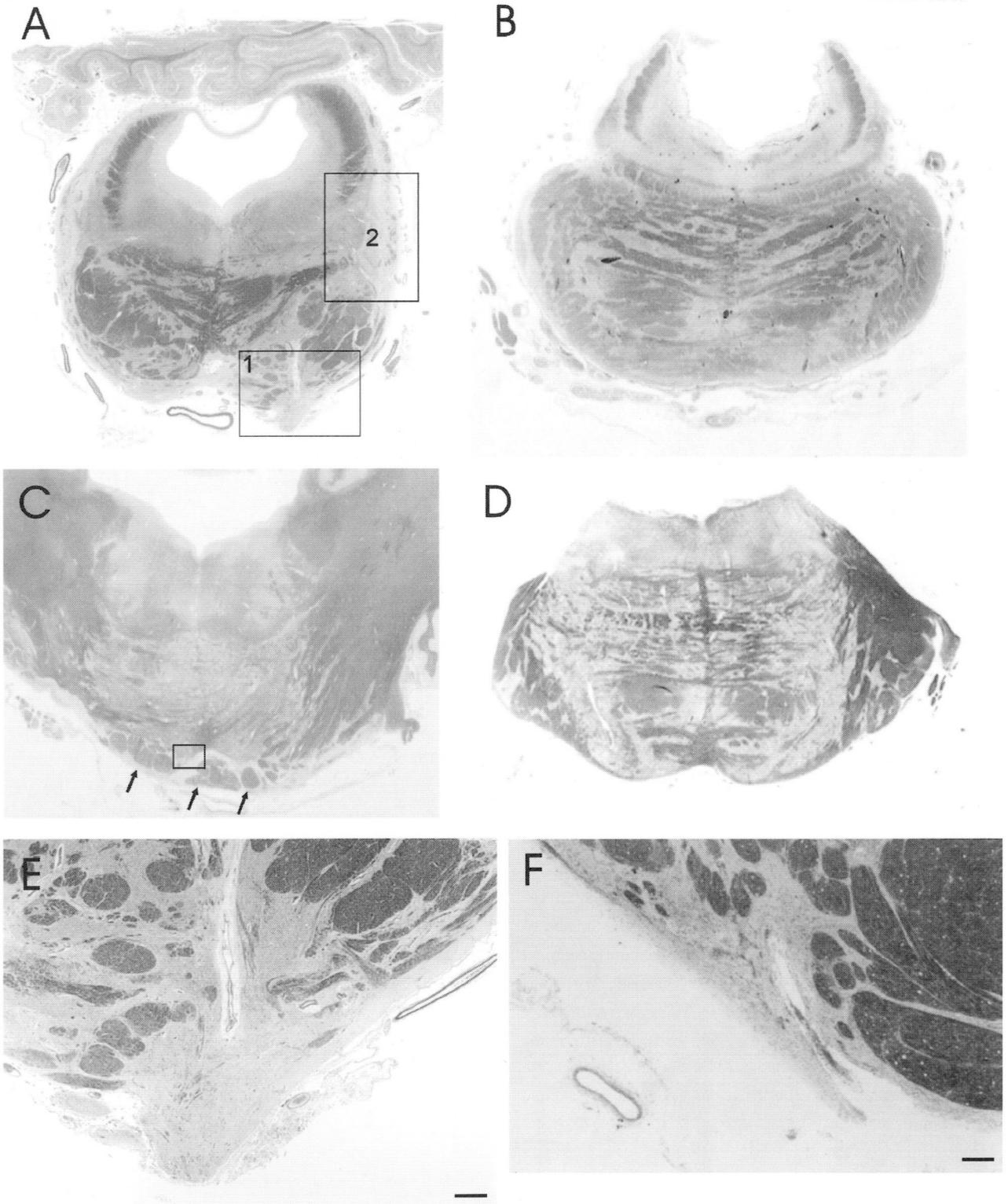
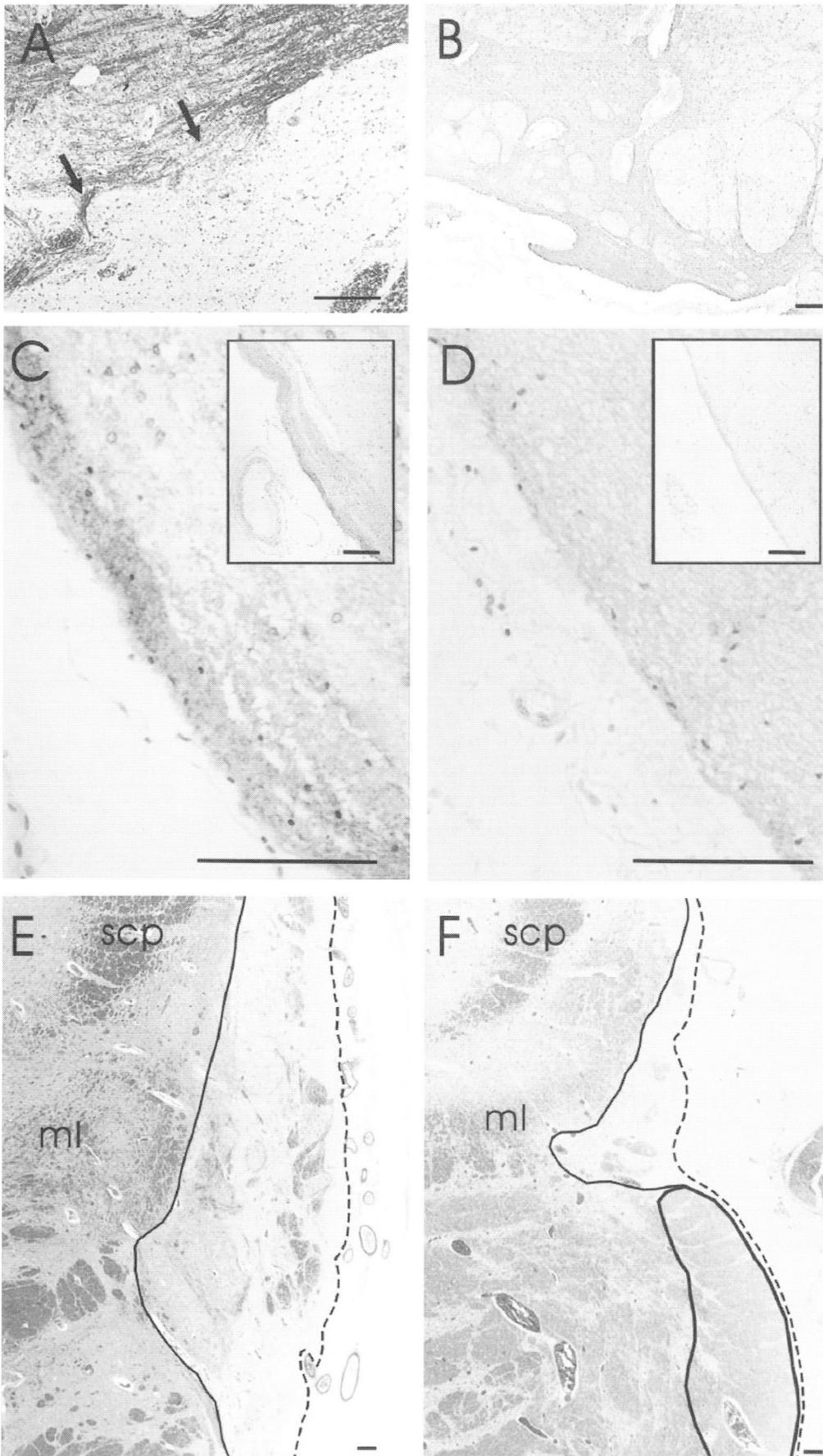


Fig. 2. Morphology of the pons in FCMD. Upper (A: patient 1; B: 2-year-old control subject) and lower (C: patient 4; D: 3-year-old control subject) pontine levels are shown. C: Longitudinal fibers are shifted to the ventral-most area (arrows). E, F: Protruding tissue in the ventrolateral region of the basal pons (E: the area shown as the inset 1 in panel (A), F: patient 9). A,E: Luxol fast blue-Periodic acid Schiff staining; B-D, F: Klüver-Barrera staining. Scale bar = 200 μ m.



smaller than in the pontine base lesion. Although extra-pial protrusion of glial tissue was occasionally observed (Fig. 4F), most of the glial band was located beneath the pial surface (Fig. 4G), resembling the glia-limitans of the control subjects (Fig. 4H). Dorsally, this subpial band extended over the inferior cerebellar peduncle (Fig. 4C) and reached the lateral recess of the fourth ventricle (Fig. 5A). The pontobulbar body (Fig. 5B) was covered by the glial band in each case and was involved within this band in 2 cases (Fig. 5A).

The pyramidal tracts were either hypoplastic (Fig. 5C), asymmetrical (Fig. 5D), or multi-lobulated (Fig. 5E). The arcuate nucleus showed disarrangement in 3 cases, being either ill-defined (Fig. 5C) or protruded (Fig. 5D). In 3 cases, some clusters of neurons were noted in the area dorsolateral to the inferior olivary nucleus or lateral to the ambiguus nucleus (Fig. 5E). Such neuronal clusters were not observed in control subjects (Fig. 5F).

In contrast, the configuration of other neuronal structures in the lateral medulla oblongata, including the external cuneate, spinal trigeminal, and inferior olivary nuclei, appeared normal. The labeling of Thimmunoreactive neurons in the ventrolateral medulla oblongata was often weak compared to the control subjects, but their distribution was normal (not shown).

DISCUSSION

In this study, we observed various dysplastic lesions in the brainstem of FCMD patients, mostly distributed along the surface of the brainstem. In particular, morphogenesis of the pontine nucleus was severely affected, which appeared to be closely related to aberrant development of the pyramidal tract. To understand the implication of these abnormal findings in FCMD, we discuss in the following sections the developmental aspect of their constituents from the viewpoint of neuronal migration.

Subpial Extramural Pontine Migratory Stream (Fig. 6)

In all FCMD cases, we found abnormal glial tissue distributed extensively over the basal pontine areas, consistent with previous reports (1). This tissue involved the pontine nucleus, which originates in the precerebellar neuroepithelium, a matrix tissue located ventromedial to the lateral recess of the fourth ventricle in the dorsolateral rhombencephalon (16). Young neurons then migrate ventrally in a circumferential or tangential course (Fig. 6B), forming a

subpial strand (the anterior extramural precerebellar migratory stream) to reach the pontine flexure (17, 18) between 11 and 17 gestational weeks, when the pyramidal tract fibers descend through the pontine level. Packed within this subpial stream, the immature neurons migrate along the tangentially oriented neuronal processes (19), directed by chemoattractants from the floor plate and other unknown cues (20).

Protrusion of the pontine nucleus into the tangential direction, reminiscent of the vertical overmigration of the cortical neurons in FCMD (4, 5), suggested a primary defect in the migration of pontine nucleus neurons. Disarrangement of this nucleus may lead to subsequent disorganization of longitudinal (corticospinal and corticopontine) and transverse (pontocerebellar) fibers in the basal pons. Consistent with this, preliminary experiments have shown fukutin immunoreactivity localized in the pontine migratory stream in the normally developing human brainstem during the early fetal period (unpublished data), suggesting that the fukutin protein may play a role in the migration and settling process of the neurons in this migratory stream.

Medullary Structures Originating from the Precerebellar Neuroepithelium

In the ventrolateral medulla oblongata, we observed superficial glial tissue that was less extensive and contained fewer neuronal components than the basal pontine areas. The external cuneate and lateral reticular nuclei showed normal location and arrangement, although their neurons form a tangential, subpial extramural migratory stream like those of the pontine nucleus (21). These regional differences may reflect different mechanisms of regulation of migration between subpopulations of the "precerebellar system" that originate from the precerebellar neuroepithelium and send afferent (mossy and climbing) fiber projections to the cerebellum (16, 20).

The arcuate nuclei and the pontobulbar body of Essick (22) were either disarranged or involved within the glial tissue. These nuclei also are likely to originate in the precerebellar neuroepithelium (23) (Fig. 6C) and have efferent projections to the cerebellum (24). Although the pathological findings here were less conspicuous than in the pontine nucleus, fukutin protein may play a role in the development of these nuclei. The neurons in the superficial glial tissue (Fig. 4B) may represent an ectopic settling of the neurons of the arcuate nucleus and the pontobulbar body. However, we have

←
Fig. 3. Glioneuronal tissue in the pontine surface of the FCMD brains. **A, B:** LGH-like lesions. **A:** Leakage of neurons from the pontine nucleus to the external glial tissue. Multiple bridge-like structures are indicated by arrows. **B:** Bundles of longitudinal fibers are involved in the glial tissue. **C, D:** The subpial glioneuronal tissue in patient 8 (**C**) and the glia-limitans in a 16-year-old control subject (**D**). **E, F:** Lateral surface of the upper pons. **E:** Patient 1, shown in inset 2 in Figure 2A. **F:** Two-year-old control subject. Dotted lines indicate the pial surface. Thick line in panel (**F**) demarcates the bundle of pontocerebellar fibers, which is absent in panel (**E**) (see Fig. 2A). Note the area lateral to the thin line is larger and involves disarrayed neuronal clusters in (**E**), compared with that in (**F**). Abbreviations: ml: medial lemniscus, scp: superior cerebellar peduncle. **A, E:** Luxol fast blue-Periodic acid Schiff staining; **B-D:** GFAP immunostaining. **F:** Klüver-Barrera staining. Scale bar = 200 μm.

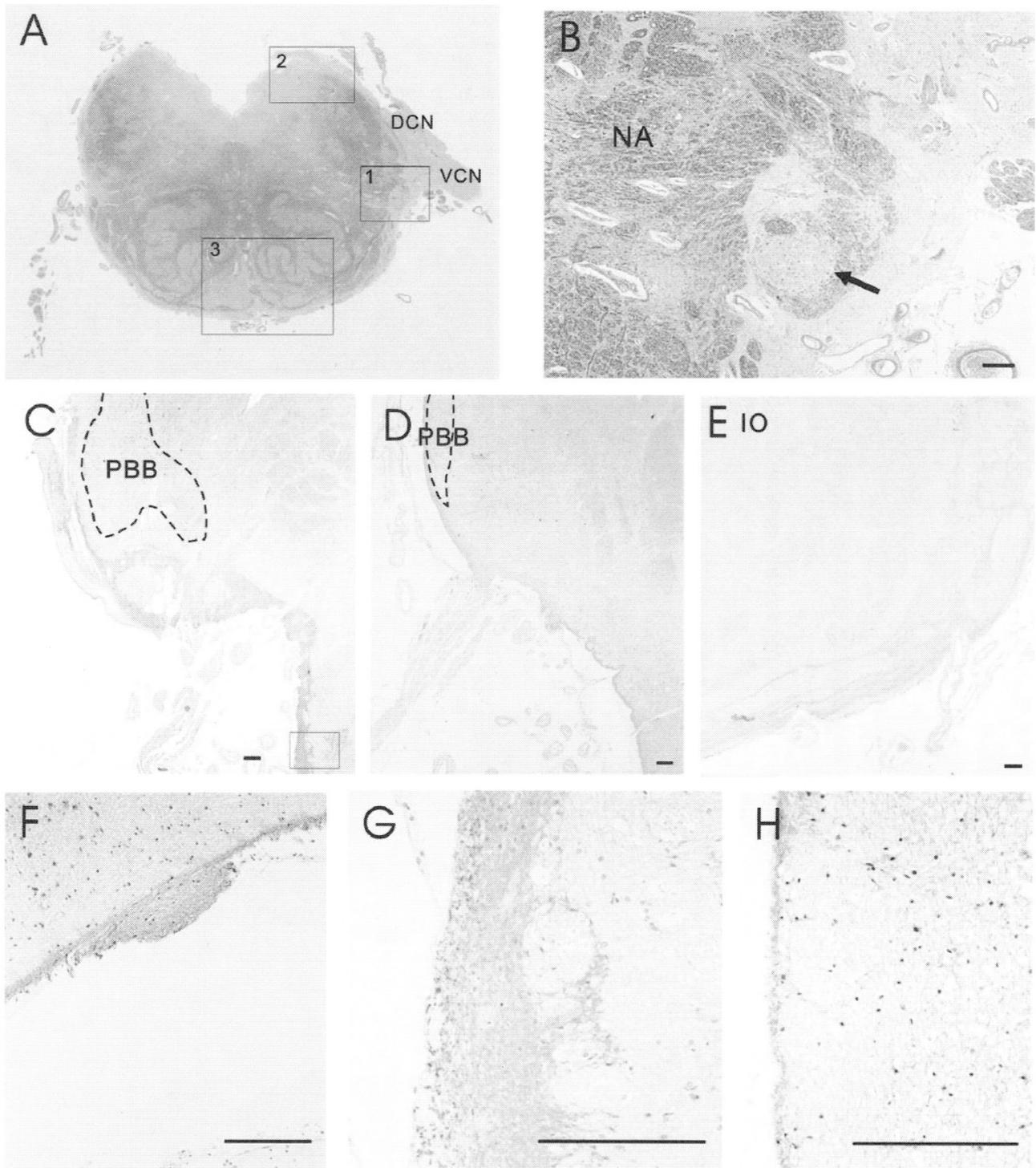


Fig. 4. Neuropathological findings of the FCMD medulla oblongata. **A:** Medulla oblongata of patient 1. **B:** Higher magnification of the tissue within the inset 1 in panel (A). An aberrant cluster of neurons is indicated by an arrow. **C-E:** Thick glioneuronal tissue covers over the lateral surface of patient 5 (C, E), in contrast to the thin glia-limitans of a 16-year-old control subject (D). **F:** Extra-pial glial tissue in the ventrolateral surface of medulla (patient 8). **G, H:** Lateral surface of medulla in patient 5 (H, and inset in panel C) and a 6-year-old control subject (H). Abbreviations: DCN: dorsal cochlear nucleus, IO: inferior olivary nucleus, NA: ambiguus nucleus, PBB: pontobulbar body, VCN: ventral cochlear nucleus. **A, B:** Luxol fast blue-Periodic acid Schiff staining; **C-H:** GFAP immunostaining. Scale bar = 200 μ m.

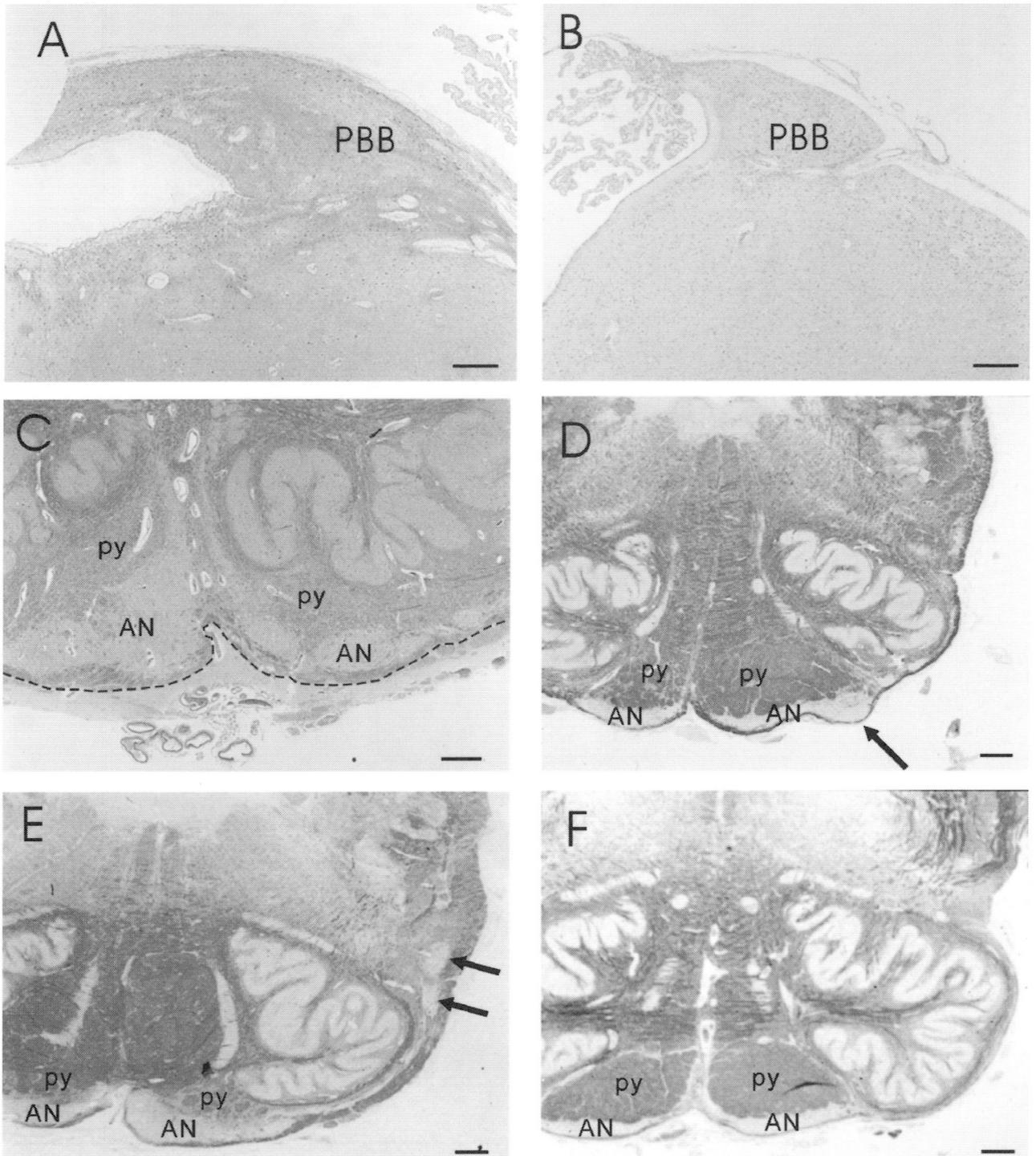


Fig. 5. Neuropathology of the dorsal and ventral medulla oblongata in FCMD. **A:** Enlargement of the area shown in inset 2 of Figure 4A. Neurons of the pontobulbar body (PBB) are intermingled in the glial tissue. **B:** Comparable area in a 2-year-old control subject. **C:** Higher magnification of the tissue in Figure 4A inset 3. In a consecutive section the area ventral to the dotted line is immunopositive for GFAP (not shown). **D:** Protuberance of the arcuate nucleus (arrow) in patient 9. **E:** Neuronal clusters (arrows) dorsolateral to the inferior olivary nucleus in patient 6. **F:** Medulla oblongata of a 3-year-old control subject. PBB: pontobulbar body. **A, B:** GFAP immunostaining; **C-F:** Klüver-Barrera staining. Scale bars: **A-C** = 200 μ m; **D-F** = 500 μ m.

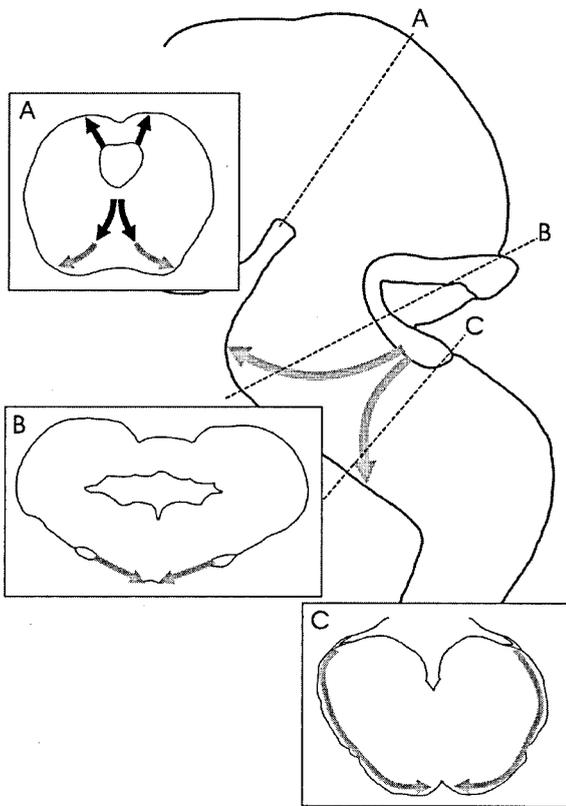


Fig. 6. Radial (black arrows) and tangential (gray arrows) migration of neurons affected in the FCMD brainstem. **A:** Fetal mesencephalon. **B, C:** Fetal rhombencephalon. Migration trajectories of neurons in the tectum and the substantia nigra (**A**), the pontine nucleus (**B**), and the arcuate nucleus (**C**) are shown.

so far been unable to obtain evidence for this by immunohistochemistry of the muscarinic acetylcholine receptor, a marker of the arcuate nucleus (25).

Interestingly, the inferior olivary nuclei appeared normal in FCMD, in contrast to the dysgenesis of this structure in Miller-Dieker lissencephaly (26) and Walker-Warburg syndrome (27). Perhaps LIS-1 (28) and fukutin protein play different specific roles in the guidance of migrating neurons.

Radial and Tangential Migration Pathways in the Developing Midbrain

In the tectum of midbrain, immature neurons migrate radially along the glial fibers and form a laminated structure, as they do in the cerebral cortex (29, 30). We found LGH or abnormal glioneuronal tissue (patient 1) with disorganized lamination and multiple pial-glial bridges in the tectum of FCMD patients. The similarity of these lesions to cerebral micropolygyria suggests a common mechanism of dysplasia.

Dopaminergic neurons of the substantia nigra originate in the ventricular zone of the floor plate, migrate radially along the glial fibers (31) and then tangentially along nerve fibers (32) (Fig. 6A), and accumulate beneath the ventral pial surface before the corti-

cospinal fibers descend to this level (32, 33). The ectopic TH-immunopositive neurons ventral to the cerebral peduncle may be the remnants of this population, although it is unclear whether this pathogenesis is due to disruption of radial or tangential migration.

Subpial Gliotic Band and the Pathogenesis of FCMD

In contrast to LGH in the midbrain tectum and pontine tegmentum, the superficial glioneuronal tissue over the dorsolateral medulla oblongata and the ventrolateral pons were mostly located beneath the pia mater. This pattern of distribution of the subpial gliotic band corresponds to the migration trajectory zone of the precerebellar system. Since neurons of the subpial tangential migratory stream pass through the spaces interior to the glial endfeet (34), the dysplastic glioneuronal tissue may result from a decreased integrity of the subpial glial structure. Other anomalous structures located in the subpial areas, including the tectum and dopaminergic neurons in the midbrain and the arcuate nucleus in the medulla oblongata, may be explained by a similar mechanism. Alternatively, these may result from some intrinsic change in the migrating neurons, since fukutin protein is expressed predominantly in migrating neurons during fetal period (7, 35). The selective involvement of the pontine nucleus among the precerebellar system may also support this latter possibility.

Although little is known about the function of fukutin, this protein is suspected to be a glycosylation enzyme (36, 37). A possible target molecule of fukutin is dystroglycan, since this molecule is not glycosylated normally in FCMD skeletal muscle (38). Conditional knockout of dystroglycan in mice resulted in gyral fusion and neuronal disarrangement in the cerebral cortex and persistence of the external granular cells in the cerebellar cortex (36). These findings resemble those of FCMD and implicate hypoglycosylation of dystroglycan in the brain malformation in FCMD. Although no brainstem pathology was described in this knockout mouse, neuronal expression of dystroglycan is robust in the brain of adult mice, including the brainstem (39). To further elucidate the pathogenesis of brainstem anomalies in FCMD, future studies should focus on dystroglycan and other possible target proteins in the migrating pontine nucleus neurons (40).

In conclusion, this study provides considerable evidence for perturbation of the radial and tangential migration systems in the FCMD brainstem. With regard to the biochemical function of fukutin protein, it should be further explored to determine whether this aberrant migration results from a decreased integrity of the glial structure or an altered neuronal property with subsequent disruption of glioneuronal interaction.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Mr. Hideyuki Takeiri and Mr. Mizuho Karita in TWU, and Ms. Kazu Iwasawa at the National Center of Neurology and Psychiatry for their technical assistance.

REFERENCES

1. Kamoshita S, Konishi Y, Segawa M, Fukuyama Y. Congenital muscular dystrophy as a disease of the central nervous system. *Arch Neurol* 1976;33:513-16
2. Nonaka I, Chou SM. Congenital muscular dystrophy. In: Vinken PJ, Bruyn GW, eds. *Handbook of clinical neurology*, Vol 41. Disease of muscle, part II. Amsterdam: North-Holland, 1979:27-50
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. 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* 1987;74:300-306
5. Nakano I. 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 an FCMD fetus. *Acta Neuropathol* 1996;91:313-21
6. Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, et al. An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 1998;394:388-92
7. Saito Y, Mizuguchi M, Oka A, Takashima S. Fukutin protein is expressed in neurons of the normal developing human brain but is reduced in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy brain. *Ann Neurol* 2000;47:756-64
8. Sasaki J, Ishikawa K, Kobayashi K, et al. Neuronal expression of the fukutin gene. *Hum Mol Genet* 2000;9:3083-90
9. Yamamoto T, Kato Y, Karita M, et al. Fukutin expression in glial cells and neurons: Implication in the brain lesions of Fukuyama congenital muscular dystrophy. *Acta Neuropathol* 2002;104: 217-24
10. Friede RL. *Developmental neuropathology*. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, 1989:341
11. Hirano S, Houdou S, Hasegawa M, Kamei A, Takashima S. Clinicopathologic studies on leptomeningeal glioneuronal heterotopia in congenital anomalies. *Pediatr Neurol* 1992;8:441-44
12. Mizuguchi M, Maekawa S, Kamoshita S. Distribution of leptomeningeal glioneuronal heterotopia in alobar holoprosencephaly. *Arch Neurol* 1994;51:951-54
13. Shishikura K, Osawa M, Suzuki H, et al. Clinicopathologic study of congenital progressive muscular dystrophy (Fukuyama type). (in Japanese) *Journal of Japan Pediatric Society* 1988;92:215-24
14. Paxinos G, Wang H. *Atlas of the human brainstem*. San Diego: Academic Press, 1995
15. Olszewski J, Baxter D. *Cytoarchitecture of the human brainstem* (2nd ed.). Basel: Karger, 1982
16. Altman J, Bayer SA. Development of the precerebellar nuclei in the rat: I. The precerebellar neuroepithelium of the rhombencephalon. *J Comp Neurol* 1987;257:477-89
17. Altman J, Bayer SA. Development of the precerebellar nuclei in the rat: II. The intramural olivary migratory stream and the neurogenetic organization of the inferior olive. *J Comp Neurol* 1987; 257:490-512
18. Altman J, Bayer SA. Development of the precerebellar nuclei in the rat: IV. The anterior precerebellar extramural migratory stream and the nucleus reticularis tegmenti pontis and the basal pontine gray. *J Comp Neurol* 1987;257:529-52
19. Ono K, Kawamura K. Migration of immature neurons along tangentially oriented fibers in the subpial part of the fetal mouse medulla oblongata. *Exp Brain Res* 1989;78:290-300
20. Yee KT, Simon HH, Tessier-Lavigne M, O'Leary DDM. Extension of long leading processes and neuronal migration in the mammalian brain directed by the chemoattractant netrin-1. *Neuron* 1999;24: 607-22
21. Altman J, Bayer SA. Development of the precerebellar nuclei in the rat: III. The posterior precerebellar extramural migratory stream and the lateral reticular and external cuneate nuclei. *J Comp Neurol* 1987;257:513-28
22. Essick CR. The corpus ponto-bulbare. A hitherto undescribed nuclear mass in the human hindbrain. *Am J Anat* 1907;7:119-35
23. Essick CR. The development of the nuclei pontis and the nucleus arcuatus in man. *Am J Anat* 1912;13:25-54
24. Szenta'gothai J. The use of degenerative methods in the investigation of short neuronal connexions. *Prog Brain Res* 1965;14:1-32
25. Mallard C, Tolcos M, Leditschke J, Campbell P, Rees S. Reduction in choline acetyltransferase immunoreactivity but not muscarinic2 receptor immunoreactivity in the brainstem of SIDS infants. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999;58:255-64
26. Jellinger K, Rett A. Agyria-pachygyria (lissencephaly syndrome). *Neuropadiatrie* 1976;7:66-91
27. Miller G, Ladda RL, Towfighi J. Cerebro-ocular dysplasia-muscular dystrophy (Walker-Warburg) syndrome. Findings in 20-week-old fetus. *Acta Neuropathol* 1991;82:234-38
28. Reiner O, Carrozzo R, Shen Y, et al. Isolation of a Miller-Dieker lissencephaly gene containing G protein-subunit-like receptors. *Nature* 1993;364:717-21
29. Monzon-Mayor M, Yanes C, Ghandour MS, de Barry J, Gombos G. Glial fibrillary acidic protein and vimentin immunohistochemistry in the developing and adult midbrain of the lizard *Gallotia galloti*. *J Comp Neurol* 1990;295:569-79
30. Becker T, Becker CG. Cell migration along glial fibers in dissociated cell culture of the frog optic tectum. *Brain Res* 1991;553: 331-35
31. Shults CW, Hashimoto RH, Brady RM, Gage FH. Dopaminergic cells align along radial glia in the developing mesencephalon of the rat. *Neuroscience* 1990;38:427-36
32. Kawano H, Ohyama K, Kawamura K, Nagatsu I. Migration of dopaminergic neurons in the embryonic mesencephalon of mice. *Dev Brain Res* 1995;86:101-13
33. Verney C, Zecevic N, Puelles L. Structure of longitudinal brain

- zones that provide the origin for the substantia nigra and ventral tegmental area in human embryos, as revealed by cytoarchitecture and tyrosine hydroxylase, calretinin, calbindin, and GABA immunoreactions. *J Comp Neurol* 2001;429:22-44
34. Ono K, Kawamura K. Mode of neuronal migration of the pontine stream in fetal mice. *Anat Embryol* 1990;182:11-19
35. Horie M, Kobayashi K, Takeda S, Nakamura Y, Lyons GE, Toda T. Isolation and characterization of the mouse ortholog of the Fukuyama-type congenital muscular dystrophy gene. *Genomics* 2002; 80:482-86
36. Moore SA, Saito F, Chen J, et al. Deletion of brain dystroglycan recapitulates aspects of congenital muscular dystrophy. *Nature* 2002;418:422-25
37. Aravind L, Koonin EV. The fukutin protein family-predicted enzymes modifying cell-surface molecules. *Curr Biol* 1999;9:R836-37
38. Hayashi YK, Ogawa M, Tagawa K, et al. Selective deficiency of alpha-dystroglycan in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Neurology* 2001;57:115-21
39. Zaccaria ML, Di Tommaso F, Brancaccio A, Paggi P, Petrucci TC. Dystroglycan distribution in adult mouse brain: A light and electron microscopy study. *Neuroscience* 2001;104:311-24
40. Gesemann M, Litwack ED, Yee KT, Christen U, O'Leary DM. Identification of candidate genes for controlling development of the basilar pons by differential display PCR. *Mol Cell Neurosci* 2001; 18:1-12

Received August 6, 2002

Revision received October 28, 2002 and January 7, 2003

Accepted January 14, 2003

デュシェンヌ型筋ジストロフィーでは赤血球膜脆弱性が存在する

松村 剛¹⁾, 高橋 正紀²⁾, 中森 雅之^{1,2)}, 齊藤 利雄¹⁾,
野崎 園子¹⁾, 藤村 晴俊¹⁾, 神野 進¹⁾

要旨: Duchenne muscular dystrophy (DMD) で, 間欠的に間接型ビリルビン高値を示す症例をみるこゝがある。DMD で報告されている血管内皮障害が赤血球膜脆弱性を生じ溶血を引き起こす可能性を疑い, DMD や amyotrophic lateral sclerosis (ALS) など 73 名で赤血球浸透圧抵抗試験などを検査した。DMD で年齢の一致した健常男性に比べ溶血開始点が高い, 異形赤血球が多いなど赤血球膜脆弱性が示されたが, tissue plasminogen activator inhibitor-1 は正常範囲で抵抗値とも相関せず, 内皮障害の関与は証明できなかった。DMD では赤血球膜脂質組成異常と凝固異常の関連や血小板機能異常も指摘されており, 血球膜脆弱性を来す病態固有のメカニズムが存在する可能性がある。

キーワード: デュシェンヌ型筋ジストロフィー, ビルルビン血症, 赤血球膜脆弱性, 浸透圧抵抗試験, 異形赤血球

はじめに

Duchenne muscular dystrophy (DMD) では, 年齢に比し血栓症の頻度が高いことが報告されており^{1,2)}, 筋崩壊と凝固線溶系との関連が示されている^{3,4)}。一方, われわれは thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) を合併した DMD の 1 例を報告した⁵⁾が, この症例では経過中に血清 CK 値は変化無く, 筋崩壊とは別の血栓形成メカニズムが存在する可能性が示唆された。さらに, この症例を含む複数の DMD 患者で, 間接型ビリルビンが間欠的に高値を示す現象が見られた。TTP は血管内皮障害と関連するが, DMD でも内皮障害が報告⁶⁾されており, 血管内皮障害が赤血球膜脆弱性を引き起こすのではないかと疑った。これらの点を検証するため, DMD, myotonic dystrophy (DM), amyotrophic lateral sclerosis (ALS) で赤血球浸透圧抵抗試験を実施, 血管内皮障害を確認する目的で tissue plasminogen activator inhibitor-1 (tPAI-1) を測定したので報告する。

対象・方法

本研究は, 当院の倫理委員会の承認を受けて, 文書による informed consent が得られた, 血液疾患の既往歴・家族歴を有さない DMD 患者 25 名 (全例男性, 平均年齢 29.9 ± 7.6 歳), DM 患者 12 名 (男性 5 名, 女性 7 名, 平均年齢 48.0 ± 10.5 歳), ALS 患者 12 名 (男性 7 名, 女性 5 名, 平均年齢 62.2 ± 10.2 歳) と健常者 24 名 (男性 15 名, 女性 9 名, 平均年齢 33.0 ± 8.4 歳, 男性平均年齢 34.2 ± 8.7 歳: DMD との t 検定 p=0.11) について行った。運動機能・呼吸機能は, DMD は全例が呼吸管理を受け, 臥床生活・リクライニング座位レベルであった。DM は 3 名が自力歩行可能, 9 名が車椅子自力操作可能

で, 7 名が呼吸管理を受けていた。ALS は 1 名が歩行可能, 1 名が車椅子自力操作可能な他は臥床生活・リクライニング座位レベルで, 11 名が呼吸管理を受けていた。

対象者全員で, 採血後 2 時間以内の新鮮血を用いて, Giffin-Sanford 変法により最小抵抗値 (溶血開始点) と最大抵抗値 (完全溶血点) を測定した。一部の患者 (DMD 11 名, DM 9 名, ALS 6 名) では末梢血塗抹標本で赤血球形態を観察した。これらの検索は, 氏名を記号化し特定不能にした上で複数の人間で判定した。25 名 (DMD 17 名, DM 8 名) では tPAI-1 も測定した。直近の心エコーによる左室駆出率, BNP, 末梢血, 生化学 (総ビリルビン, CK など), 止血機能検査 (PT, APTT, FDP) と抵抗値の相関も検討した。

統計学的検討は, 抵抗値の疾患別差異について Mann-Whitney U 検定を, 異形赤血球数や心機能, 血液検査値と抵抗値との相関は Spearman の順位相関を用いて検討した。結果

最小抵抗値の平均は, DMD 0.447 ± 0.016%, DM 0.440 ± 0.015%, ALS 0.423 ± 0.017%, 健常者全体 0.423 ± 0.016%, 健常男性 0.425 ± 0.018% で, DMD と健常男性, DM と健常者全体で有意差を認めた (Figure A)。TTP の既往がある DMD 症例は, 最小抵抗値が 0.48% と最高値を示した。ALS は健常者と変わりなかった。総ビリルビン値が最小抵抗値と弱い相関 (全体: p=0.029, DMD: p=0.042) を認めた。一方, 最大抵抗値の平均は DMD 0.306 ± 0.021%, DM 0.323 ± 0.021%, ALS 0.310 ± 0.018%, 健常者全体 0.326 ± 0.017%, 健常男性 0.331 ± 0.023% で, DMD は健常男性に比べ低値で, ALS も健常者全体に比べ低い傾向を示した (Figure B)。

末梢血塗抹標本では, 有棘・楕円などの異形赤血球が, 400 倍視野当たり DMD 35.45 ± 41.17 個, DM 16.00 ± 15.88 個, ALS 9.17 ± 12.50 個と DMD で多い傾向が見られたが (Figure C), 異形赤血球数比率と抵抗値の間には明らかな

¹⁾独立行政法人国立病院機構刀根山病院神経内科 [〒560-8552 大阪府豊中市刀根山 5-1-1]

²⁾大阪大学大学院医学系研究科神経機能医学 [〒565-0871 吹田市山田丘 2-2]

相関を認めなかった。

tPAI-1は全例が正常範囲で、抵抗値との相関も無かった。止血機能や心機能、筋疾患患者の血清CK値と抵抗値の間にも相関は認めなかった。

考 察

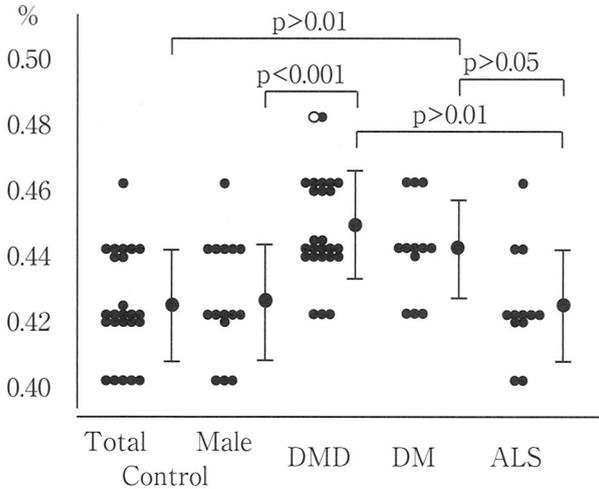
赤血球浸透圧抵抗試験、異形赤血球数の検討から、DMDで赤血球膜脆弱性が存在することが示された。DMもDMDと健常者の中間的な変化を示し、その可能性が疑われた。

筋ジストロフィーでは筋細胞膜の異常を類推する目的で、過去に赤血球膜の異常が精力的に検索され、赤血球形態異常⁷⁾や膜の透水性低下⁸⁾などが報告されているが、臨床的意義を報告したものは少なく、分子遺伝学に研究の首座が移ってからは関心が薄れていた。しかし、近年DMDやDMで赤血球膜ヘキサコサン酸が蓄積し血液凝固能異常を引き起こす可能性を指摘した報告⁹⁾や、DMDで血小板の機能異常が存在し手術時の出血が多いとする報告¹⁰⁾などがあり、血球膜の脆弱性は臨床的観点からも注目すべき問題と考えられる。また、心機能や肝機能評価上ビリルビンを用いる場合は、溶血により異常高値を示す可能性があることも念頭に置く必要がある。

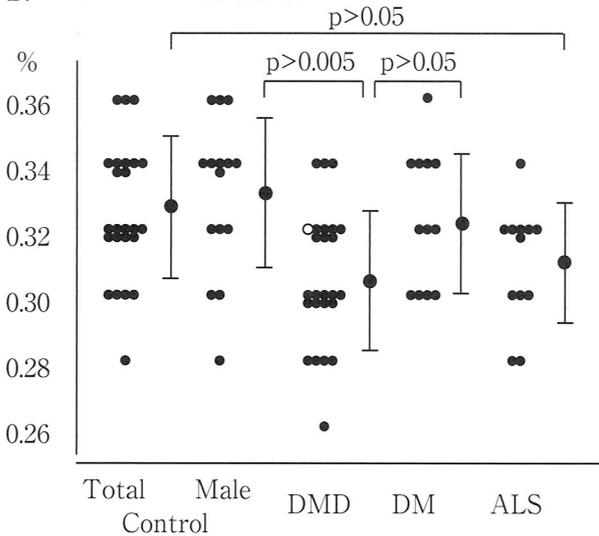
今回、われわれは血管内皮障害と赤血球膜脆弱性の関連を検討したが、tPAI-1は全例が正常範囲で抵抗値とも相関しなかった。心機能指標や血清CK値も抵抗値と相関を認めなかった。運動機能や呼吸機能がDMDと同程度のALSは健常者と差が無いことから、DMDでは赤血球膜脆弱性を来す病態に固有のメカニズムが存在する可能性がある。今後、赤血球膜脂質組成異常の検索を含めた検討により、原因や臨床的意義を追求する必要がある。

謝辞：本研究は厚生労働省精神・研究委託費（14指-5）を受けて行った。

A. Minimum Resistance



B. Maximum Resistance



C. Picture of a peripheral blood slide

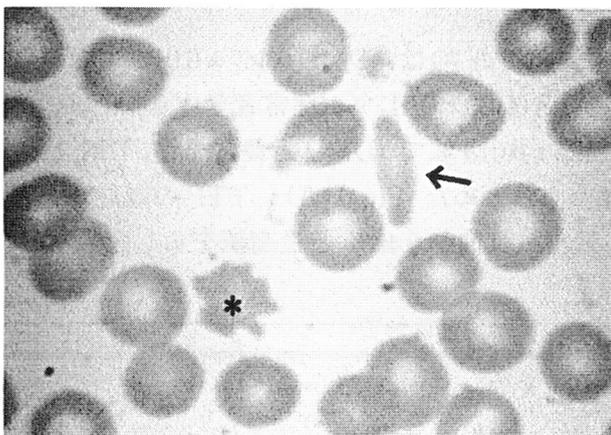


Figure legends

Osmotic resistance test and microscopic view of erythrocytes

Osmotic resistance test was performed for all participants with fresh peripheral blood. Statistical analysis was performed with Mann-Whitney U test. Open circle indicates the case who had complicated with thrombotic thrombocytopenic purpura.

A. Minimum resistance (beginning point of hemolysis)

DMD showed higher value ($0.447 \pm 0.016\%$) than age matched male controls ($0.425 \pm 0.018\%$). DM also presented higher value ($0.440 \pm 0.015\%$) compare to total controls ($0.423 \pm 0.016\%$).

B. Maximum resistance (point of complete hemolysis)

DMD showed lower value ($0.306 \pm 0.021\%$) compared to age matched male controls ($0.331 \pm 0.023\%$) and DM ($0.323 \pm 0.021\%$). ALS also presented lower value ($0.310 \pm 0.018\%$) than total controls ($0.326 \pm 0.017\%$).

C. Picture of peripheral blood slide (Wright stain)

Light microscopic picture of the peripheral blood cells from a representative DMD case. Echinocytes (asterisk) and ovalocytes (arrow) etc. were more frequently observed in DMD (35.45 ± 41.17 cells/HF) than in DM (16.00 ± 15.88 cells/HF) and ALS (9.17 ± 12.50 cells/HF).

Abbreviation: DMD: Duchenne muscular dystrophy, DM: myotonic dystrophy, ALS: amyotrophic lateral sclerosis, HF: high power field

参考文献

- 1) Riggs T: Cardiomyopathy and pulmonary emboli in terminal Duchenne's muscular dystrophy. *Am Heart J* 1990; 119: 690-693
- 2) Hanajima R, Kawai M: Incidence of cerebral infarction in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 1996; 19: 928
- 3) 齊藤祐子, 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* 1997; 37: 374-378
- 4) Saito T, Takenaka M, Miyai I, et al: Coagulation and fibrinolysis disorder in muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2001; 24: 399-402
- 5) 松村 剛, 横江 勝, 齊藤利雄ら: 血栓性血小板減少性紫斑病を合併したデュシェンヌ型筋ジストロフィーの1例. *臨床神経* 2003; 43: 31-34
- 6) Müike T, Sugino S, Ohtani Y, et al: Vascular endothelial cell injury and platelet embolism in Duchenne muscular dystrophy at the preclinical stage. *J Neurol Sci* 1987; 82: 67-80
- 7) Matheson DW and Howland JL: Erythrocyte deformation in human muscular dystrophy. *Science* 1974; 184: 165-166
- 8) Ashley DL and Goldstein JH: In vitro erythrocyte water transport in Duchenne muscular dystrophy: An NMR investigation. *Neurology* 1983; 33: 1206-1209
- 9) 小池文彦, 安德恭演, 酒井徹雄ら: 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. 平成12年度厚生省精神・神経疾患研究委託費による研究報告書 2000; 52
- 10) Forst J, Forst R, Leithe H, et al: Platelet function deficiency in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 1998; 8: 46-49

Erythrocyte from Duchenne muscular dystrophy is fragile

Tsuyoshi Matsumura¹⁾, Masanori P. Takahashi²⁾, Masayuki Nakamori¹⁾, Toshio Saito¹⁾,
Sonoko Nozaki¹⁾, Harutoshi Fujimura¹⁾, Susumu Shinno¹⁾

¹⁾Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital

²⁾Department of Neurology, Graduated School of Medicine, Osaka University

Corresponding Author: Tsuyoshi Matsumura

Department of Neurology, National Hospital Organization Toneyama National Hospital

Toneyama 5-1-1, Toyonaka, Osaka 560-8552, Japan.

E-mail: matumura@toneyama.hosp.go.jp,

Telephone: +81-6-6853-2001, Fax: +81-6-6853-3127.

Abstract

Intermittent indirect hyperbilirubinemia was occasionally observed in Duchenne muscular dystrophy (DMD) patients. We suspected that hyperbilirubinemia might be caused by hemolysis of fragile erythrocytes due to damaged endothelium, which was reported in DMD. To examine the fragility of erythrocytes, we performed osmotic resistance test in 25 DMD, 12 myotonic dystrophy (DM), 12 amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and 24 healthy volunteers (male 15, female 9). Minimum resistance (beginning point of hemolysis) of DMD ($0.447 \pm 0.016\%$) was higher than that of age matched male controls ($0.425 \pm 0.018\%$; $p=0.0008$) and that of DM ($0.440 \pm 0.015\%$) was also higher than that of total controls ($0.423 \pm 0.016\%$, $p=0.0077$). The number of poikilocytes was increased in DMD (35.45 ± 41.17 per a high magnitude field), however no obvious correlation was detected between the ratio of poikilocytes and resistances. Total bilirubin showed correlation ($p=0.029$) to minimum resistance. These findings suggested that erythrocyte membrane is fragile in DMD.

Involvement of endothelial damage could not be proven, because all investigated patients showed normal tissue plasminogen activator inhibitor-1. Although the mechanism of fragile erythrocytes in DMD is still unknown, we should pay attention to interpret bilirubin in DMD, because hemolysis due to erythrocyte fragility may influence the value.

Key words: Duchenne muscular dystrophy, hyperbilirubinemia, erythrocyte membrane fragility, osmotic resistance test, poikilocyte

経管栄養下神経・筋疾患患者における栄養状態に関する検討

*小山 慶信, 高田 博仁, 今 清覚

要旨：当科入院中の人工呼吸器装着下で経管栄養が施行されている筋強直性ジストロフィー (MyD) 5例および筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 13例, 人工呼吸器未装着の経口摂取している MyD23例の栄養状態を比較検討した。MyDではALSに比し血清トランスアミナーゼの高値をみとめ内臓脂肪蓄積の頻度が高かった。経管栄養の投与カロリーおよび投与期間にはMyDとALSで有意差をみとめなかったことから同程度のカロリーでもMyDではALSに比し内臓脂肪蓄積を起こしやすいと考えられた。

Key words 経管栄養, 人工呼吸器装着, 筋強直性ジストロフィー, 筋萎縮性側索硬化症, 栄養状態

目 的

筋強直性ジストロフィー (MyD) や筋萎縮性側索硬化症 (ALS) などの神経・筋疾患患者の人工呼吸器装着かつ経管栄養状態下での適切な必要エネルギー量に関する報告は少ない¹⁾²⁾。とくにMyDでは内分泌・代謝異常や内臓脂肪蓄積が指摘されており³⁾⁴⁾身体状況に見合った栄養カロリーを投与することが重要と考えられる。今回、我々は人工呼吸器装着・経管栄養状態下のMyD患者の適切な必要エネルギー量および経管栄養上の問題点を明らかにする目的でMyDおよびALS患者の栄養状態を比較検討した。

方 法

対象は当科入院中のALS患者13例, MyD患者28例をALS: 気管切開下24時間人工呼吸器装着で経管栄養のALS患者13例, T-MyD: 気管切開下24時間人工呼吸器装着で経管栄養のMyD患者5例, N-MyD: 人工呼吸器未装着または鼻マスクによる人工呼吸を施行している患者で経口摂取しているMyD患者23例, の3群に分類した (Table 1)。

Table 1 Summary of ALS, T-MyD and N-MyD

	ALS (n=13)	T-MyD (n=5)	N-MyD (n=23)
sex(M/F)	7/6	3/2	15/8
age(years)	67.9 ± 2.7*	62.6 ± 1.7*	50.5 ± 1.7*
duration of illness (years)	5.7 ± 0.7**	14.8 ± 4.9	19.8 ± 1.8**
duration of tube feeding(years)	2.0 ± 0.5	3.1 ± 0.8	-

mean ± SE

*p<0.05, ALS and T-MyD vs N-MyD; **p<0.01, ALS vs N-MyD

3群間で投与カロリー, 腹部CTにより計測した内臓脂肪面積, body mass index, ヘモグロビン (Hb), 血清総蛋白 (TP), アルブミン (Alb), 血清総コレステロール (T.Chol), 中性脂肪 (TG), HDLコレステロール (HDL-C), 血糖 (BS), インスリン (IRI), 血清トランスアミナーゼ (GOT, GPT), γ -GTP, 血清鉄 (Fe), 血清銅 (Cu), 血清亜鉛 (Zn), 血清ビタミンB1 (VitB1), 血清ビタミンB12 (VitB12) を測定し比較検討した。なお日本肥満学会の基準⁵⁾により内臓脂肪面積100cm²以上を内臓脂肪蓄積ありと判定した。各群間の比較検討はpost hoc test (Scheffe法)によりp<0.05をもって有意と検定した。

結 果

結果を表に示す (Table 2)。

ALSとT-MyDでは投与カロリー, 血中微量元素, ビタミンに有意差をみとめなかった。T-MyDでALSに比し有意なGOTの高値をみとめた。有意差をみとめなかったがT-MyDとN-MyDはALSに比し血清トランスアミナーゼと γ -GTPが高い傾向がみられた。内臓脂肪蓄積の頻度は各群間で有意差をみとめなかったがALSで38%, T-MyDで80%, N-MyDで60%とMyDで高かった (Fig 1)。

考 察

MyDでALSに比しトランスアミナーゼと γ -GTPの高値をみとめたがこれは1)ミオトニアや心機能障害などの合併症に対して投与されている薬剤による薬剤性肝障害によるもの, 2) 内臓脂肪蓄積の頻度が高いことから脂肪肝によるもの, あるいは1)と2)の合併によることが考えられた。T-MyDでAlbが有意に低くTPは有意差がなく, N-MyDでAlbには有意差がなくTPが有意に低かった。この理由は明らかではないがHb, 微量元素, ビタミンの低下をみとめなかったことから投与カロリー不足よりもMyDでみとめられた肝機能障害が関与しているのかもしれない。ALSでVitB12の高値をみとめたがビタミン剤 (メコバラミン) が投与されていたためと考えられた。

Table 2 Laboratory data of ALS, T-MyD and N-MyD

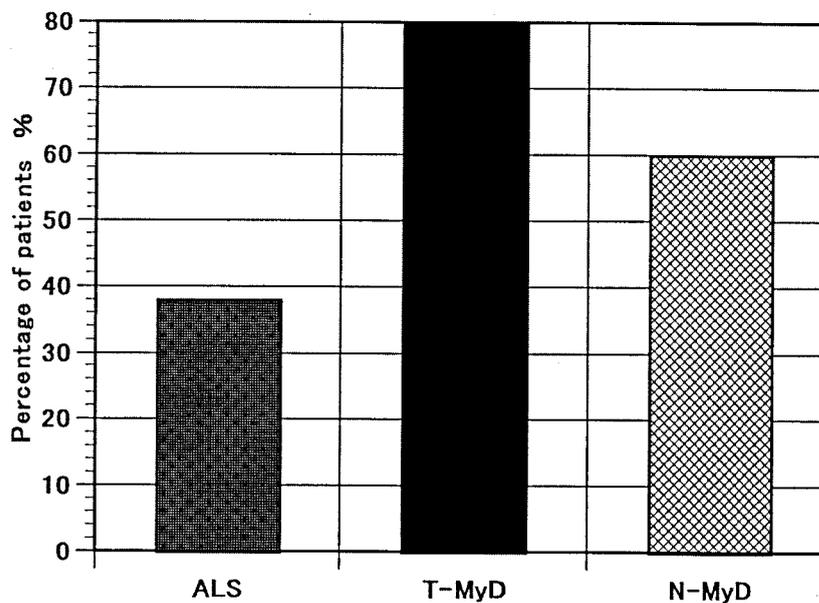
	ALS	T-MyD	N-MyD	normal range
daily caloric intake(kcal)	1104 ± 48.9*	930 ± 141.1*	1660 ± 30.6*	
visceral fat area	82.2 ± 14.8	111.0 ± 14.7	129.1 ± 14.6	<100cm ²
body mass index	18.4 ± 0.8**	18.3 ± 0.5	22.6 ± 0.8**	18.5 ≤ < 25
Hb	11.8 ± 0.4	12.6 ± 0.4	12.2 ± 0.4	M13.5-17.6,F11.3-15.2 g/dl
TP	6.8 ± 0.1*	6.6 ± 0.3*	5.8 ± 0.1*	6.7-8.3 g/dl
Alb	3.6 ± 0.1***	3.3 ± 0.1***	3.6 ± 0.1***	4.0-5.0 g/dl
T.Chol	172.8 ± 11.1	183.8 ± 24.0	197.7 ± 9.3	128-219 mg/dl
TG	153.2 ± 23.2	245.8 ± 125.0	145.4 ± 15.9	30-149 mg/dl
HDL-C	40.5 ± 2.6	38.2 ± 7.2	50.7 ± 2.6	40-96 mg/dl
BS	98.8 ± 7.6	133.2 ± 38.0	111.0 ± 9.0	70-110 mg/dl
IRI	16.19 ± 6.13	20.41 ± 10.40	29.89 ± 9.0	3.06-16.9 μ U/ml
GOT	21.8 ± 2.9****	39.0 ± 6.9****	31.0 ± 2.6	13-33 IU/l
GPT	21.0 ± 4.3	43.2 ± 9.0	34.8 ± 5.3	M8-42,F6-27 IU/l
γ-GTP	53.9 ± 8.2	332.2 ± 181.9	283.7 ± 79.5	10-47 IU/l
Fe	58.5 ± 6.0	63.0 ± 10.0	75.0 ± 5.0	M54-181.F43-172 μ g/dl
Cu	134.0 ± 5.4	113.6 ± 8.9	119.0 ± 5.0	68-128 μ g/dl
Zn	74.8 ± 2.0	69.0 ± 3.2	81.0 ± 3.6	65-110 μ g/dl
VitB1	159.2 ± 106.9	50.8 ± 4.5	42.2 ± 10.3	20-50 ng/ml
VitB12	1013.8 ± 88.6**	842.0 ± 190.8	500.4 ± 67.3**	180-914 pg/ml

mean ± SE

*p<0.01, ALS and T-MyD vs N-MyD; **p<0.01, ALS vs N-MyD;

p<0.05, ALS and N-MyD vs T-MyD; *p<0.05, ALS vs T-MyD

Fig.1 percentage of patients with excess visceral fat accumulation



ALSとT-MyDでは投与カロリーおよび経管栄養の期間に有意差はなくT-MyDで内臓脂肪蓄積の頻度が高かったことから同程度の投与カロリーでもMyDではALSに比し内臓脂肪蓄積を起こしやすいと考えられた。以前の報告⁴⁾のように我々の結果でもMyDでは内臓脂肪が蓄積しやすい傾向にあ

った。

今回の研究ではT-MyDの経管栄養の平均投与期間は3年であったが投与期間が長くなるにつれて内臓脂肪蓄積の頻度が増加するの否か、脳梗塞や糖尿病などの合併症の発症につき今後注意深く経過を追ってゆく必要があると考えられ

た。またMyDの経管栄養の至適投与カロリーの設定に向け今後症例の蓄積が必要と考えられた。

文 献

- 1) 清水俊夫, 林 秀明, 田邊 等: 呼吸器補助・経管栄養下のALS患者の必要エネルギー量の検討. 臨床神経 1991; 31: 255-259
- 2) 関 晴朗, 亀谷 剛, 木村 格: 全国国立療養所におけるALS患者の栄養療法の現状について. 臨床神経 2000; 40: 1083-1089
- 3) 山本敏之: 筋強直性ジストロフィーの内分泌障害. 神経内科 2004; 60: 377-381
- 4) 野崎園子, 宮井一郎, 姜 進: Myotonic dystrophyにおける内臓脂肪. 臨床神経 1992; 32: 521-523
- 5) 藤田幸一, 中村 正: 肥満の分類-肥満症診断基準. 別冊・医学のあゆみ 糖尿病・代謝症候群, 門脇 孝, 小川佳宏, 下村伊一郎 編, 医歯薬出版, 東京, 2004, pp384-387

進行性筋萎縮症における下肢深部静脈血栓症

川上 英孝, 中島 孝, 亀井 啓史, 他田 真理, 米持 洋介, *榛沢 和彦

要旨：進行性筋萎縮症では、臥床、下肢麻痺が危険因子となり、下肢の深部静脈血栓症が発症することが考えられる。下肢の静脈血栓症の内、肺塞栓を起こすのは症状のない深部静脈血栓症であり、積極的な検査が望ましい。今回、当科入院中のDMD, MyDなどの進行性筋萎縮症患者における下肢深部静脈血栓症の実態について下肢静脈超音波検査を用いて検討したところ、DMD 12例中3例, MD 6例中1例など高率にヒラメ静脈の血栓を認めた。DVT発症群と非発症群との間に、不動となってからの年数や、体格、脂質および凝固線溶系パラメーターの統計学的有意差はなかった。下肢静脈超音波検査は簡便で非侵襲的であり、進行性筋萎縮症では早期から肺塞栓予防のため施行したい。

はじめに

肺血栓塞栓症 (PE) の90%以上は下肢、あるいは骨盤内深部静脈に形成された血栓の遊離により惹起される。この深部静脈血栓症 (DVT) では下肢の腫張、疼痛のない例が多い。本邦ではDVT/PEは稀と考えられてきたが、この10年間で死亡者数は約3倍となっている¹⁾。術後あるいは、慢性疾患による長期臥床により血栓の発症が危惧される。肺血栓塞栓症 (PE) / 深部静脈血栓症 (DVT) 予防ガイドラインが発表され、2004年4月からストッキングや間歇的空気圧迫装置の使用が保険適応となった。ガイドラインでは、長期臥床を中等度のリスク、下肢麻痺を強いリスクとしており、それぞれ進行性筋萎縮症に共通する問題となる (表1)。また、リスクの程度により、弾性ストッキングや薬物療法が予防法として選択される (表2)。本邦におけるDVT/PEの発症頻度と臨床的特徴については、術後発症例の研究では前方疫学調査で173例中、1例でPEが発症、41例でDVTが発症したという報告がある²⁾。本邦では、欧米と異なり遺伝的血栓性素因によるものは少なく、環境因子や妊娠、分娩、手術侵

襲によるものが大半である。これについては、本邦の急性PE 309例中、先天的凝固異常は17例 (5.5%)、一方ヨーロッパでは29%という報告がある。今回、進行性筋萎縮症におけるDVTの実態を下肢静脈エコーを用いて調べ、その発症に関与する因子を検討した。

対象と方法

対象は当科入院中の車椅子レベルの31症例で、内訳はDMD 12例 (年齢16~29才, 平均22才), MyD 6例 (年齢47~56才, 平均51才), LGMD 4例 (年齢62~70才, 平均66才) 他9例 (Nemalin 2, Werdnig-Hoffman 2, 眼咽頭型筋ジス1, RVを伴った遠位型2, 非福山型1, 糖尿病III型1) (年齢16~63才, 平均37才) である。方法としては、全例に下肢静脈超音波検査を施行した。超音波検査はAloka社製SSD-5500を用い、7.5MHzのリニアプローブにて、下腿を下垂させる方法で行った。

表1 肺血栓塞栓症 (PE) / 深部静脈血栓症 (DVT) 予防ガイドライン
内科領域における危険因子の強度

	基本リスク	急性リスク
弱い	肥満, 喫煙歴, 下肢静脈瘤, 脱水 ホルモン補充療法, 経口避妊薬服用	人工呼吸器が不要な慢性閉塞性肺疾患の急性増悪
中程度	70歳以上の高齢, 長期臥床 進行痛, 妊娠 中心静脈カテーテル留置 ネフローゼ症候群 炎症性腸疾患, 骨髄増殖性疾患	感染症 (安静臥床を要する) 人工呼吸器が必要な慢性閉塞性肺疾患 敗血症 心筋梗塞 うっ血性心不全 (NYHA分類 III, IV度)
強い	静脈血栓塞栓症の既往 血栓性素因 下肢麻痺	麻痺を伴う脳卒中

表2 肺血栓塞栓症 (PE) / 深部静脈血栓症 (DVT) 予防ガイドライン
内科領域における静脈血栓塞栓症の予防

リスクレベル	下腿 DVT (%)	中枢型 DVT (%)	症候性 PE (%)	致死性 PE (%)	推奨予防法
低リスク	2	0.4	0.2	0.002	早期離床および積極的な運動
中リスク	10~20	4~8	2~4	0.1~0.4	ESあるいはIPC
高リスク	20~40	4~8	2~4	0.4~1.0	IPCあるいは低用量未分画ヘパリン
最高リスク	40~80	10~20	4~10	0.2~5	低用量未分画ヘパリンとIPCの併用) あるいは (低用量未分画ヘパリンとESの併用)

(低用量未分画ヘパリンとIPCの併用) や (低用量未分画ヘパリンとESの併用) の代わりに、用量調節未分画ヘパリンや用量調節ワルファリンを選択してもよい。ES：弾性ストッキング、IPC：間欠的空気圧迫法

結 果

結 語

DMDでは12例中3例にDVTを認め、他の進行性筋萎縮症でも高頻度にDVTを認めた(表3)。DVT陽性群、陰性

表3 ヒラメ静脈の血栓と拡張の頻度

	ヒラメ静脈の血栓	ヒラメ静脈の拡張
DMD	12例中3例 (内、1例でPE発症)	12例中3例
MyD	6例中1例	6例中3例
LGMD	4例中1例 (内、1例でPE発症)	4例中1例
Other	9例中1例	9例中2例

群の間の各種パラメーターの比較では不動となつてからの年数や体格や脂質、凝固系因子などの要素は関係が乏しかった(表4)。

本邦のDVT/PEの発症頻度と臨床的特徴については進行性筋萎縮症において明らかでないばかりか、他の疾患群でも文献的報告はさわめて少ない。DVTは一般に疼痛や浮腫などの症状を呈することは少ない。また、DVT陽性群、陰性群の間に不動となつてからの年数や体格や脂質は統計学的有意差がなかった。また、DMD等においてTATやfibrinopeptide A等の凝固系指標が高値を示し血栓準備状態であるという報告はあるが、今回の横断的検討では凝固系因子などのパラメーターに有意差はなかった。従つて、これらのパラメーターからは実際の発症を予測することが困難であり、下肢静脈超音波検査をしなければ検出し得ないと考えられる。欧米ではスクリーニングの第1選択とされる下肢静脈超音波検査は本邦ではまだ十分普及していないが、当検査は簡便で非侵襲的であり、進行性筋萎縮症では早期から肺塞栓予防のため施行したい。

表4 DVTの有無による各種パラメーターの比較

	DVT陽性群	DVT陰性群	統計学的有意差
N数	6	25	
年齢	39 ± 18.4	38.6 ± 18.3	n.s.
車椅子の期間(年)	8.6 ± 3.5	11.0 ± 8.9	n.s.
BMI	16.7 ± 5.0	17.6 ± 4.5	n.s.
血小板数(万/μL)	19.9 ± 3.5	23.2 ± 8.2	n.s.
APTT(秒)	30.4 ± 5.8	29.1 ± 3.2	n.s.
Fibrinogen(mg/dL)	313 ± 98	295 ± 64	n.s.
FDP(μg/dL)	<2.5	<2.5	n.s.
D-dimer(μg/dL)	0.3 ± 0.3	0.5 ± 0.6	n.s.
AT3(%)	112 ± 18	98 ± 13	n.s.
Alb(g/dL)	3.9 ± 0.2	3.7 ± 0.4	n.s.
T-Cho(mg/dL)	199 ± 50	186 ± 46	n.s.

文 献

- 1) Sakuma M, et al: Increasing mortality from pulmonary embolism in Japan, 1951-2000. *Circ J* 66:1144,2002
 - 2) 鳥居ら, 日本血栓止血学会誌 14:409,2003
-

DMDにおける中枢画像 — 小脳のMRS所見について

樋口 嘉久, 本郷 政子

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、言語機能に関わる認知障害が指摘される。17才から20才までのDMD患者5名に対しMRS撮像を行い、右小脳半球のCreatine (Cr), N-acetylaspartate (NAA), Cho (Choline compound) のSpectra値を測定した。Cho/CrおよびCho/NAAは新版K式によるDQ値と相関する傾向がみられ、特にCho/Crと言語社会性DQは有意の相関を示した。DMDにおける脳機能障害において小脳Cho量の変化が関連していると考えられた。

はじめに

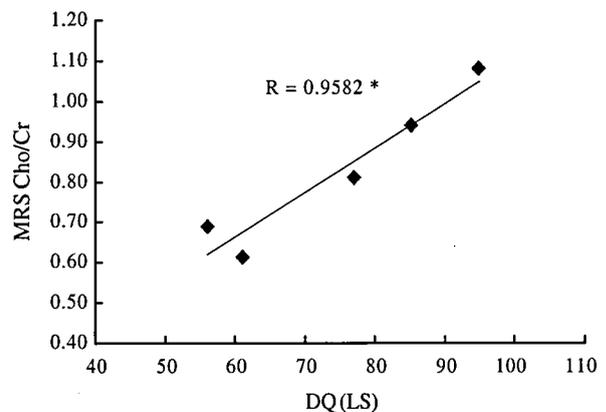
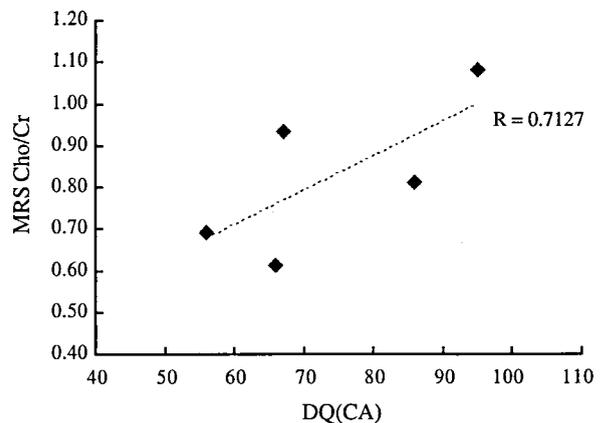
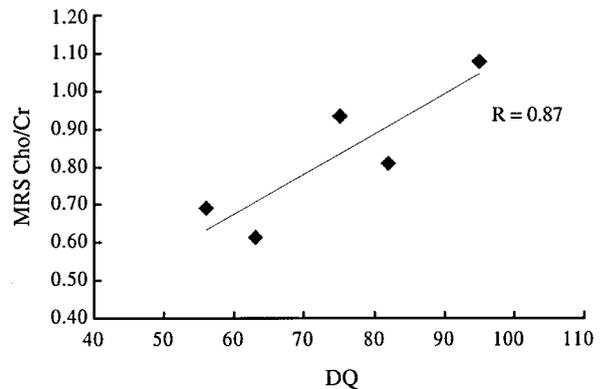
Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) にはしばしば知的障害を合併する¹⁾²⁾。また知的障害のない患者において言語性IQが低い傾向が報告されている³⁾⁴⁾。DystrophinはDystrophin-Glycoprotein Complexを形成して脳機能にも関与している。しかし細胞レベルと臨床症状をつなぐ検討はまだ不十分である⁵⁾。この中でMagnetic Resonance Spectroscopy (MRS)を用いた検討が注目される。RaeらはDMD男児15人とcontrol群において前頭葉と小脳に関心領域 (ROI)を設定し代謝産物を測定した。その結果、前頭葉では両群間に差は見られないが小脳においてはDMD群のCholine compound (Cho)量がcontrol群に比べ増加しており、また増加の程度は心理テストの結果と相関していた⁶⁾。そこで我々は今回小脳におけるMRSと新版K式によるDQ値との関連を検討した。

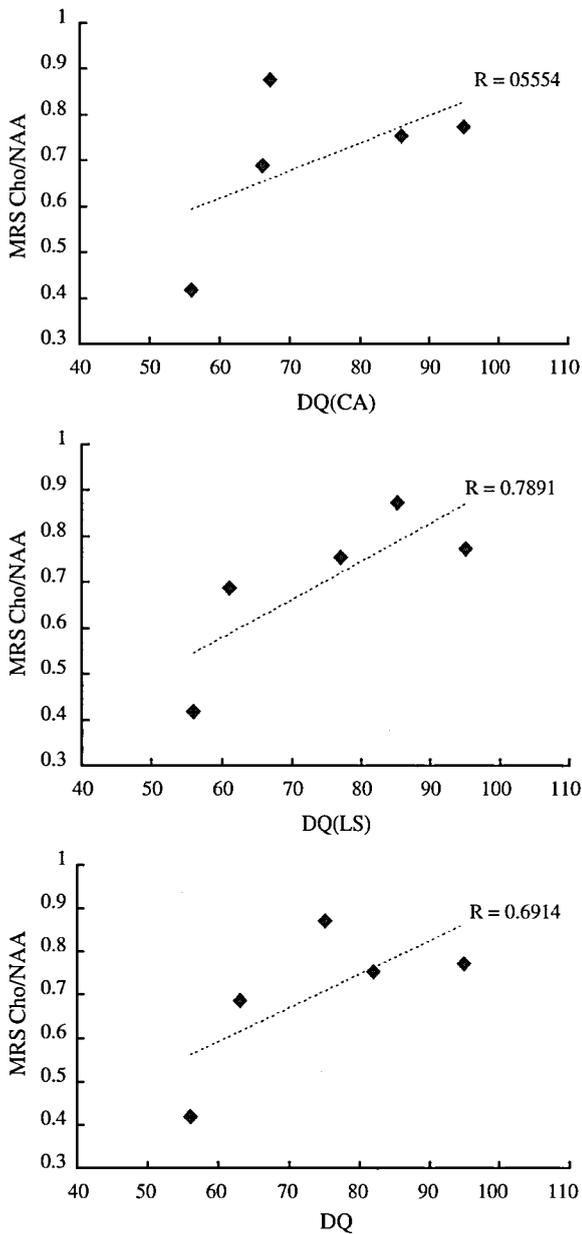
方法

1. MRS対象は17才から20才までのDMD患者5名に対し、臨床検査のMRIを撮像する際に本人の了承を得てMRS撮像も行った。ROIを右小脳半球に設定し、Siemens Symphony (1.5T)を用いTR1500/TE135にて撮像し、付属のソフトウェアにてCreatine (Cr), N-acetylaspartate (NAA), ChoのSpectra値を測定した。
2. 1の結果と新版K式によるDQ (全領域 (Total), 認知適応 (CA), 言語社会 (LS))値との相関を検討した。

結果

小脳におけるCho/Cr, およびCho/NAA値はDQ値と相関する傾向を認めた。特にDQ(LS)値とCho/Cr値は有意 ($p < 0.05$) の相関を認めた。(図)





図

考 察

今回の検討で小脳におけるChoがDQ値、特に言語社会的DQ値と相関することが示された。MRSは非侵襲的にin vivoで脳内代謝産物の測定が可能である。NAAはneuron特異的markerとして、Crは細胞の活動性のmarkerとして考えられる。一方Choは細胞膜のmarkerと考えられている⁷⁾。Raeらの検討で小脳Cho量(Cho/NAA)がDMDではcontrol群に比べ増加しており、なおかつ心理テスト結果が高いほどChoも増加していた⁶⁾。われわれの検討ではCho/Crが有意に増加したが、Cho/NAAも相関する傾向を示しており小脳Cho量と脳機能の相関が確認された。RaeらはCho増加の原因として細胞密度の増加や膜のturnoverの亢進を否定できるとしてAcetylcholine系の機能亢進を挙げている⁶⁾。この説明はまだ推定の段階ではあるが今後の研究方向や治療

戦略を考える上で重要と考えている。われわれは今回control群を設定しなかったがRaeらのcontrol群の値(Cho/NAA=0.76, Cho/Cr=1.12)を仮に用いると、DQ値が高い例ではcontrol群よりCho高値であることが示された。

Dystrophinは脳に発現しており、その機能不全から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⁸⁾。しかしそのメカニズムは今なお明らかではない。Dystrophinには8つのisoformがあり、それぞれが中枢神経の特異的な部位に発現している。そしてそれぞれが特異的なcomplexを形成し機能しているためと思われる。現在考えられているdystrophinの役割として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(ここにはSynapse形成も含まれる)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、などがある。このためDMDにおける中枢機能障害のmechanismも複数にわたる可能性がある。Dystrophin欠失とのgenotype-phenotype関係は明らかではなく、DMD同胞例の一方のみに知的障害が生じる例もある一方で、Dp140のpromotorであるにおいて重度MRの発症との関連が指摘されている⁹⁾。

DMDの知的障害については多くの検討がされてきた。第一にIQの分布が80を平均としているため約1/3の症例がIQ70以下になる^{11) 12)}。次にDMDの知的障害の特異点として言語性IQ(VIQ)が低い傾向が報告されている³⁾。Cottonらのmeta-analysisによるとVIQ-PIQ差は5程度である⁴⁾。ただしVIQの低下がDMDの知的障害を全て説明するわけではない。KaraganらはVIQ-PIQ差の多い群ではTotal IQが高いという報告している⁵⁾。一方HintonらはTotal IQに関わらず言語機能障害の存在を指摘しており¹⁰⁾、心理テストからもDMDの認知障害の原因が単一ではないことが示唆されている。

小脳ではDystrophinの発現が中枢神経系の中でも高く、Purkinje細胞にはisoformのP型が発現している³⁾。小脳機能は運動制御と考えられているが、認知機能にも深く関与しており、小脳病変の手術後には半数以上の症例に認知障害やmutismが生じることが報告されている¹³⁾。またFunctional imagingにおいて言語記憶や動作性記憶時に活性化が認められている¹²⁾。DMD小脳における生化学的所見としてRaeらの他にもFDG-PETを用いた検討がされている。Bresolinらは50人のDMD患者について検討し各大脳皮質のglucose取り込み低下には個人差が見られるが、小脳では全例Glucose取り込み低下を認めている¹³⁾。またLeeらもmedial temporalなどとともにDMD小脳におけるGlucose取り込み低下を報告している¹⁴⁾。

以上述べたようにDMDにおける中枢機能障害と小脳機能は密接に関連していると考えられる。小脳Cho量の変化は重要な手掛りであり、DMDにおける中枢機能障害の解明につながると期待される。

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枢症状。脳と発達。2001; 33: 480-486。

- 2) Billard C, Gillet P, Barthez M et al.: Intellect and behaviour in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 1992;2:371-8.
- 3) Leibowitz D, Dubowitz V: Intellect and behaviour in Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol.* 1981; 23:577-590.
- 4) Cotton S, Voudouris NJ, Greenwood KM: Intelligence and Duchenne muscular dystrophy: Full-Scale, Verbal, and Performance intelligence quotients. *Dev Med Child Neurol* 2001; 43: 497-501
- 5) Mehler MF: Brain dystrophin, neurogenetics and mental retardation. *Brain Res Rev* 2000; 32: 277-307
- 6) Rae C, Scott RB, Thompson CH et al: Brain biochemistry in Duchenne muscular dystrophy: A 1H magnetic resonance and neuropsychological study. *J Neurol Sci* 1998;160: 148-157
- 7) Ross AJ, Sachdev PS: Magnetic resonance spectroscopy in cognitive research. *Brain Res Rev* 2004;44: 83-102
- 8) Felisari G, Martinelli Boneschi F, Bardoni A et al: Loss of Dp140 dystrophin isoform and intellectual impairment in Duchenne dystrophy. *Neurology* 2000; 55:559-64.
- 9) Karagan NJ, Zellweger HU: Early verbal disability in children with Duchenne Muscular Dystrophy. *Dev Med Child Neurol* 1978; 20: 435-41
- 10) Hinton VJ, De Vivio DC, Nereo NE et al: Poor verbal working memory across intellectual level in boys with Duchenne Muscular Dystrophy. *Neurology* 2000; 54: 2127-32
- 11) Steinlin M, Imfeld S, Zulauf P et al: Neuropsychological long-term sequelae after posterior fossa tumour resection during childhood. *Brain* 2003; 126: 1998-2008
- 12) Cabeza R, Nyberg L: *Imaging Cognition II: an empirical review.* *J Cogn Neurosci* 2000;12: 1-47
- 13) Bresolin N, Castelli E, Comi GP et al: Cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular disord* 1994;4:359-369
- 14) Lee JS, Pfund Z, Juhasz C, Behen ME: Altered regional brain glucose metabolism in Duchenne muscular dystrophy: a pet study. *Muscle Nerve.* 2002;26:506-12.

軽度の筋症状を呈した三好型遠位型筋ジストロフィーの 保因者の臨床像と遺伝子異常

乾 俊夫¹⁾, 足立 克仁²⁾, 橋口 修二¹⁾, 馬木 良文¹⁾,
高橋 俊明³⁾, 青木 正志³⁾, 川井 尚臣⁴⁾

緒 言

三好型遠位型筋ジストロフィー（以下三好型）は常染色体劣性遺伝型であり、多くの症例で病者の両親に近親婚がある。早期から下腿腓腹筋に萎縮をきたすのが特徴的であり、つま先立ちが困難となる。血清CK活性値は病者では高度に上昇し、また、プレクリニカルな症例が存在し、それらの症例でも血清CK活性値が高度に上昇するなどの特徴が知られている¹⁾。我々は三好型の家系員で家系内の病者と同じdysferlin遺伝子異常をヘテロアレリックに有し、軽度の筋症状を示した保因者を経験した。筋萎縮の分布は病者とは異なり、下腿腓腹筋に萎縮は無く、傍脊柱筋、頸部の筋群に軽度の筋萎縮をみとめた。本保因者について臨床像と遺伝子異常を報告した。

方 法

症例はMiyoshiらがBrain誌に発表した家系の59歳、男性である。両親に近親婚があり父は三好型の病者であった。母は保因者と考えられる。二人の妹は共に三好型の病者である¹⁾（図1）。40歳頃まで遠洋漁業に従事した。既往歴に胃潰瘍がある。現病歴は、幼小児期に異常はなかったが、走るのは遅かった。17歳にはよく躓くようになった。25歳には歩行時に腰痛を来した。30歳には握力が低下し、船内でよく転ぶようになった。40歳には筋力低下のため遠洋漁業に従事できなくなった。50歳に腰痛のため徳島病院に入院した。本保因者の臨床像ならびに血液化学検査、筋CT像を調べた。左外側広筋の生検筋組織でルーチンな染色法および免疫組織化学検査としてdystrophin, α -sarcoglycan, そしてdysferlin染色を行った。本例と二人の妹ではdysferlin遺伝子検索を行った。また、保因者と考えられる母には筋症状は無かったが、筋CTを検索し本症例のものと比較した。対象症例には検索の同意を得た。

結 果

意識清明で知能は正常。運動系では歩行姿勢は頸を後屈し上半身を反らしていた。この歩行姿勢は父も同じであった。筋萎縮、筋力低下が頸部、腰部部そして大腿にあった。徒手

筋力テストは、傍脊柱筋が2/5、胸鎖乳突筋、広背筋、腸腰筋そして大臀筋が3/5であった。感覚神経系、自律神経系および協調運動に異常なし。四肢深部反射は低下し、病的反射はなかった。検査所見は血清CK活性値は正常であった。筋CTでは上記の筋群に萎縮がみられた。腓腹筋に萎縮はなかった。母の筋CT所見は正常で筋萎縮はなかった図2。生検筋組織は筋線維の大小不同、fiber splittingそして希に壊死線維がみられた。dystrophin, α -sarcoglycan染色は正常に染色された。一方dysferlin染色は正常対象に比べ染色性が低下していた。病者である妹の同染色性は欠如していた図3。Dysferlin遺伝子検索では、二人の妹の異常であるC4968T (Thr1532Met) 異常がヘテロアレリックに存在した。

考 察

本症例は、三好型病者である妹と同じdysferlin遺伝子異常をヘテロアレリックに有する保因者である。筋障害の分布は腰帯の筋、傍脊柱筋そして頸部の筋に著明であり三好型の特徴である腓腹筋に萎縮はなかった。本症例と同様の遺伝子異常を持つ保因者と考えられる母には筋症状はなく、筋CT像には全く異常はなかった。この相違を説明するにはdysferlin遺伝子異常のみでは困難と思われる。同じ保因者である母との相違は、性と生活歴が挙げられる。これらの相違が臨床像に影響した可能性を否定はできない。

三好型症例では、一般的には早期から下腿遠位筋の腓腹筋に萎縮がみられつま先立ちが困難となる症例が多い。一方、腓腹筋は障害されるものの早期から近位筋に萎縮をきたす症例の発表がある²⁾³⁾。三好型の同一家系内においても典型的な三好型の症例とそれらの症例とは筋障害の分布が異なり近位筋に萎縮を認める同胞症例のあることが知られている⁴⁾。Dysferlin遺伝子異常のあり方が臨床型に及ぼす影響では、Takahasiらの報告があるが⁵⁾、障害筋の分布の相違、早期から近位筋が障害されることの説明はできないと思われる。Dysferlin遺伝子異常の他に臨床像を修飾する要因の存在が推測されているが未解決である²⁾。

一方、三好型の保因者については、病者ほど症例の蓄積がない。本症例では、血清CK活性値は正常であったが、軽度ながら上昇する保因者もある¹⁾。年齢による血清CK値の変動かもしれない。本症例の筋障害の分布は、頸部の屈筋である胸鎖乳突筋、伸筋の上部僧帽筋、傍脊柱筋、広背筋、腸腰

¹⁾独立行政法人国立病院機構徳島病院 神経内科、

²⁾独立行政法人国立病院機構徳島病院 内科

³⁾東北大学医学部神経内科

⁴⁾高松市民病院

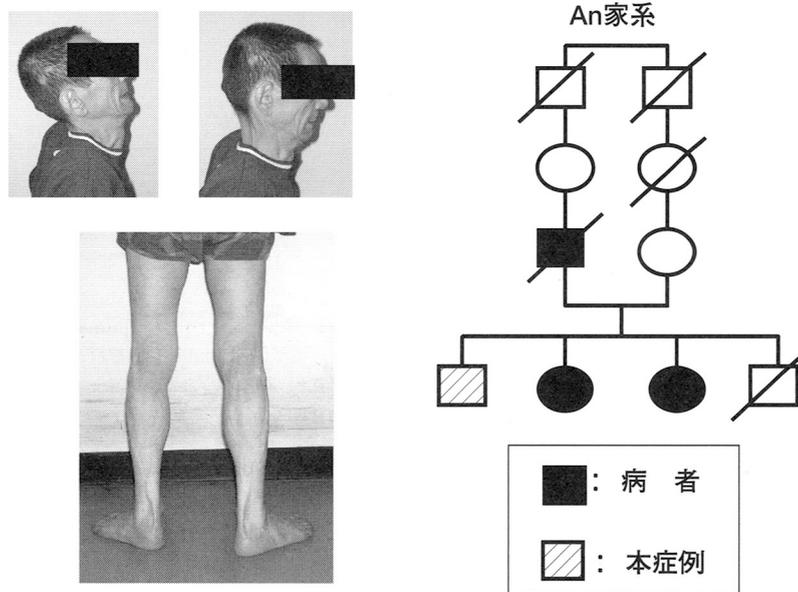


図1：本症例と家系図

左上は頸部後屈位、右は前屈位である。歩行時は頸部を後屈位にして歩く。前屈は制限されている。左下は下腿の後面でふくらはぎに萎縮はない。家系図では両親に近親婚があり、父と二人の妹は患者である。母は保因者と考えられる。

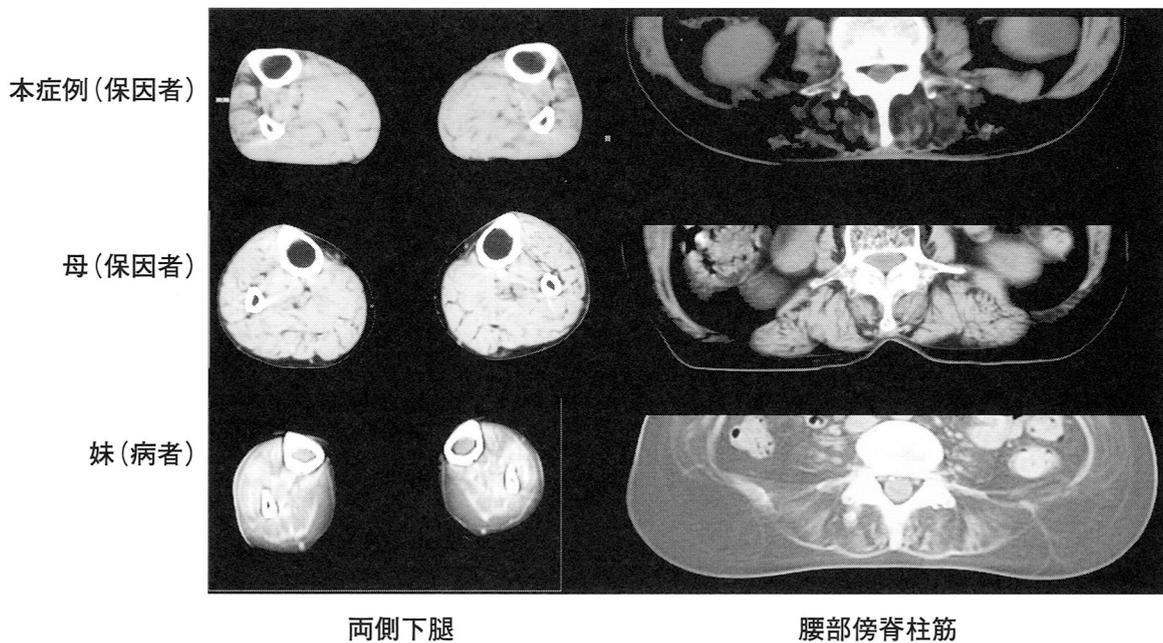


図2：本症例、母そして妹（患者）のCT像の比較

母の腓腹筋および傍脊柱筋に萎縮はない。患者では、両筋に明らかな萎縮、脂肪置換を認める。保因者では、腓腹筋に萎縮はないが、傍脊柱筋は明らかに萎縮がみられる。

筋そして大臀筋などいわゆる近位筋に優位であった。これら筋群の筋力低下、筋萎縮のために上半身を反らして、頸部を少し後屈して歩く特徴的な歩行姿勢になるものと思われた。また、腰痛は脊柱を起立位に保つ傍脊柱筋の萎縮が要因と思

われた。本症例のこの立位および歩行姿勢は父とまったく同じであった。妹は三好型の患者であるが、臨床上、父や本保因者のような起立、歩行姿勢ではなかった。Dysferlin 遺伝子異常の他に筋病変を発症させる未知の遺伝子の異常が父と

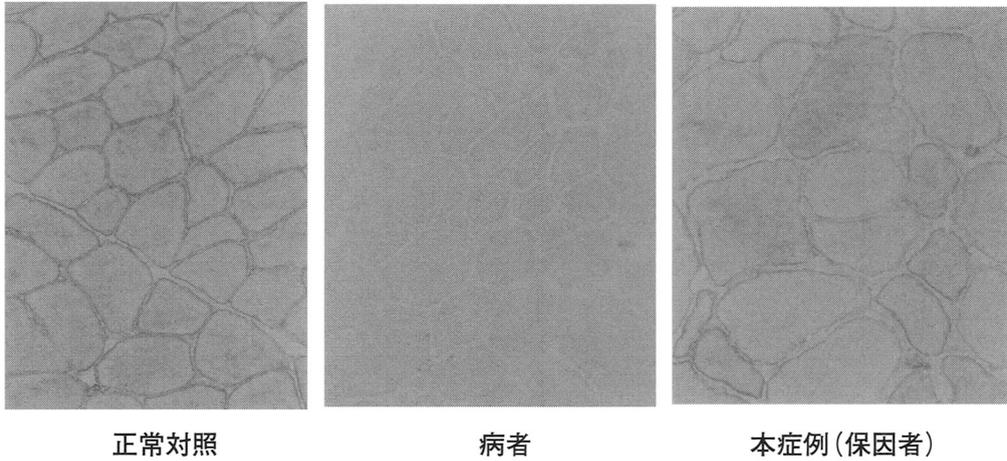


図3：筋のdysferlin染色像

左の正常対照ではdysferlinは筋細胞全周性に一様に染色されている。病者では染色性が欠如している。保因者では、染色性は正常に比べ低下しており、筋線維全周性に一様な染色性ではない。

本症例で臨床型として現れた可能性は否定できない。三好型病者において筋障害の分布に相違を示す症例が存在することは述べたが、同一家系内の保因者のレベルでも臨床型に相違がある事実は興味深い。父は三好型の病者であった。したがって、父の両親にも近親婚のあったことが推測される。本家系は県南の島に長く在住している。このように、常染色体劣性遺伝型の家系では、dysferlin以外にも異常な遺伝子が引き継がれる可能性は高いと思われる。このことはdysferlin遺伝子異常以外の別の異常遺伝子の存在を推測させる。

結 論

三好型の1家系で病者と同じ遺伝子異常をヘテロアレルに有する保因者で軽度ながら腰帯、傍脊柱そして頸部などいわゆる肢体型に筋萎縮を呈した症例を報告した。Dysferlin遺伝子のみでなく臨床像を修飾する他の要因の存在が推測された。

参考文献

- 1) 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* 1986; 109 : 31-54
- 2) 西田善彦, 石本進士, 小林卓郎ら: 早期に肢体筋の罹患を認めた常染色体劣性遠位型筋ジストロフィー症(三好型)の姉妹例. *臨床神経* 1987 ; 27 : 756-759
- 3) Argov Z, Sadeh M, Mazor K, et al: Muscular dystrophy due to dysferlin deficiency in Libyan Jews. Clinical and genetic features. *Brain*. 2000 ; 123:1229-1237
- 4) 栗田 正, 三条順子, 浅野次義ら: 同胞内に近位筋優位の脱力分布を認めた常染色体劣性遠位型筋ジストロフィー(三好型)の1家系. *臨床神経* 1991 ; 34 : 65-70
- 5) Takahashi T, Aoki M, Tateyama M, et al: Dysferlin mutations in Japanese Miyoshi myopathy: relationship to phenotype. *Neurology*. 2003 ; 60:1799-1804

Dysferlin expression in tubular aggregates: their possible relationship to endoplasmic reticulum stress

Koji Ikezoe · Hirokazu Furuya · Yasumasa Ohyagi
Manabu Osoegawa · Ichizo Nishino · Ikuya Nonaka
Jun-ichi Kira

Received: 17 December 2002 / Accepted: 15 January 2003 / Published online: 8 March 2003
©Springer-Verlag 2003

Abstract

Dysferlin is a newly identified sarcolemmal protein related to Miyoshi myopathy and limb-girdle muscular dystrophy. Although its function is still unknown, it is inferred from the presence of C2 domains and a transmembrane domain in its sequence that dysferlin may be expressed or located not only at the sarcolemma but also in other membranous organelles to interact with Ca^{2+} . Tubular aggregates (TAs) are derived from sarcoplasmic reticulum (SR) and found in various myopathies, especially in those related to disturbed intra-sarcoplasmic Ca^{2+} homeostasis. To clarify the expression of dysferlin in TAs and the relationship among TA formation, dysferlin expression, and endoplasmic reticulum (ER) stress, we examined the expression of dysferlin and other sarcolemmal proteins by immunohistochemistry in 12 muscle biopsy specimens with TAs from 11 cases of periodic paralysis and 1 case of myalgia/cramps syndrome. Moreover, the expression of glucose-regulated protein 78 (GRP78) and GRP94, which are up-regulated under ER stress, was also examined by immunohistochemistry and immunoblotting. TAs showed strong expression of dysferlin. GRP78 and GRP94 were also intensely expressed in TAs. Total amounts of GRP78 and GRP94 were significantly increased in muscles with TAs compared with normal controls. These results indicate that muscles with TAs seem to be under ER stress, probably resulting from disturbed intra-sarcoplasmic Ca^{2+} homeostasis. Strong expression of dysferlin in TAs suggests the possibility that

it is located not only at the sarcolemma but also in the SR, at least in the pathological conditions.

Keywords Dysferlin. Endoplasmic reticulum stress. Tubular aggregates. Periodic paralysis. Sarcoplasmic reticulum

Introduction

Dysferlin is a transmembrane protein defect of which causes limb-girdle muscular dystrophy 2B (LGMD2B) and Miyoshi myopathy (MM) [4, 10]. Its physiological role is still unknown. Although it localizes at the sarcolemma of normal skeletal muscle, dysferlin is not a component of a dystrophin-glycoprotein complex [3, 13]. However, fer-1, a homologous protein of dysferlin in *C. elegans* is essential in the fusion of the sperm to other membranous organelles [1]. In addition, dysferlin has six C2 domains in its sequence [10]. C2 domains have the capacity to bind Ca^{2+} , to mediate Ca^{2+} -dependent signaling events, and are present in many membrane-associated proteins [5, 18].

Tubular aggregates (TAs) are pathological organelles found in various myopathies: periodic paralysis [16], congenital myasthenic syndromes [21], myalgia/cramps syndrome [19], and malignant hyperthermia [17]. TAs have been so far reported to be derived from the sarcoplasmic reticulum (SR) [20, 28]. The machinery to form them and their function are still unknown. However, it is quite possible that TAs are related to the maintenance of intra-sarcoplasmic Ca^{2+} homeostasis because: (1) the SR functions in intra-sarcoplasmic Ca^{2+} homeostasis, (2) TAs are reported to have Ca^{2+} -loading capacity [25], and (3) periodic paralysis, myalgia/cramps syndrome and malignant hyperthermia are related to disturbed intra-sarcoplasmic Ca^{2+} homeostasis [11, 23, 25, 26].

From these lines of evidence, it seemed possible that dysferlin is expressed in the SR or TAs, at least in pathological conditions. To

K. Ikezoe (✉) · H. Furuya · Y. Ohyagi · M. Osoegawa · J. Kira
Department of Neurology, Neurological Institute,
Graduate School of Medical Sciences,
Kyushu University 60, 812-8582 Fukuoka, Japan
Tel.: +81-92-6425340, Fax: +81-92-6425352,
e-mail: kikezoe@neuro.med.kyushu-u.ac.jp

I. Nishino
Department of Neuromuscular Research,
National Institute of Neuroscience,
National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP),
187-8502 Kodaira, Tokyo, Japan

I. Nonaka
National Center Hospital for Mental,
Nervous and Muscular Disorders, NCNP,
187-8551 Kodaira, Tokyo, Japan

Table 1 Clinical, laboratory, and pathologic findings. The ratio of muscle fibers is given as: +, less than 1%; ++, 1-10%; +++, more than 10% [CK creatine kinase (normal <50 IU/l), TAS tubular aggregates, necrosis/regeneration necrotic muscle fiber/regenerating muscle fiber, PP periodic paralysis, BB biceps brachii, QF quadriceps femoris]

Patient	Age (years)/sex	Clinical diagnosis	Muscle biopsy	Duration (years)	Permanent weakness	Myalgia/cramps	Serum K during an attack(mEq/l)	Serum CK (IU/l)	Pathological findings			
									TAS	Vacuoles	Necrosis/regeneration	
Familial												
1	14/M	Unclassified PP	BB	12	-	Not available	Not available	95	+	-	-/-	
2	11/F	Hyperkalemic PP	Not available	8	-	-/+	6.2	Unknown	+++	++	-/-	
Sporadic												
3	15/M	Hypokalemic PP	BB	1.5	-	Not available	1.8	176	++	+	-/-	
4	27/M	Hypokalemic PP	Not available	0.5	-	-/+	2.3	69	+++	-	+/-	
5	14/M	Unclassified PP	BB	12	+	+/+	Not available	438	+	-	-/+	
6	12/F	Unclassified PP	BB	9	+	-/+	3.5	114	+++	+++	-/-	
7	26/M	Unclassified PP	QF	21	+	-/-	3.6	80	+	-	-/+	
8	14/M	Unclassified PP	Not available	0.5	+	-/-	4.1	395	+++	-	-/+	
9	30/M	Unclassified PP	BB	0.3	-	-/+	3.6	2300	+	-	-/+	
10	2.5/M	Hypokalemic PP	Not available	0.5	+	-/-	2.6	600	+	-	+/-	
11	8/M	Unclassified PP	BB	2	-	-/-	Not available	Not available	++	-	-/-	
12	28/M	Myalgia/cramps syndrome	QF	2	-	+/+	3.9	300	++	+	-/-	

test this hypothesis, we examined the expression of dysferlin and other sarcolemmal proteins in muscle biopsy specimens with TAs by immuno-histochemistry and immunoblotting. The results showed that among sarcolemmal proteins only dysferlin is strongly expressed in TAs. In addition, glucose-regulated protein 78 (GRP78) and GRP94, the proteins located in the endoplasmic reticulum (ER)/SR and up-regulated under conditions of ER stress [24], are also increased in TAs. We discuss the nature of TAs, possible function of dysferlin, and their relationship to ER stress.

Materials and methods

Patients

We examined samples from 11 patients with periodic paralysis (1 hyperkalemic, 3 hypokalemic, and 7 unclassified) and 1 with myalgia/cramps syndrome, whose muscle biopsy specimens had TAs. All but patients 1 and 2 were sporadic. A summary of their clinical and laboratory features is shown in Table 1. In addition, we examined 5 biopsied muscles with nondiagnostic findings as normal controls.

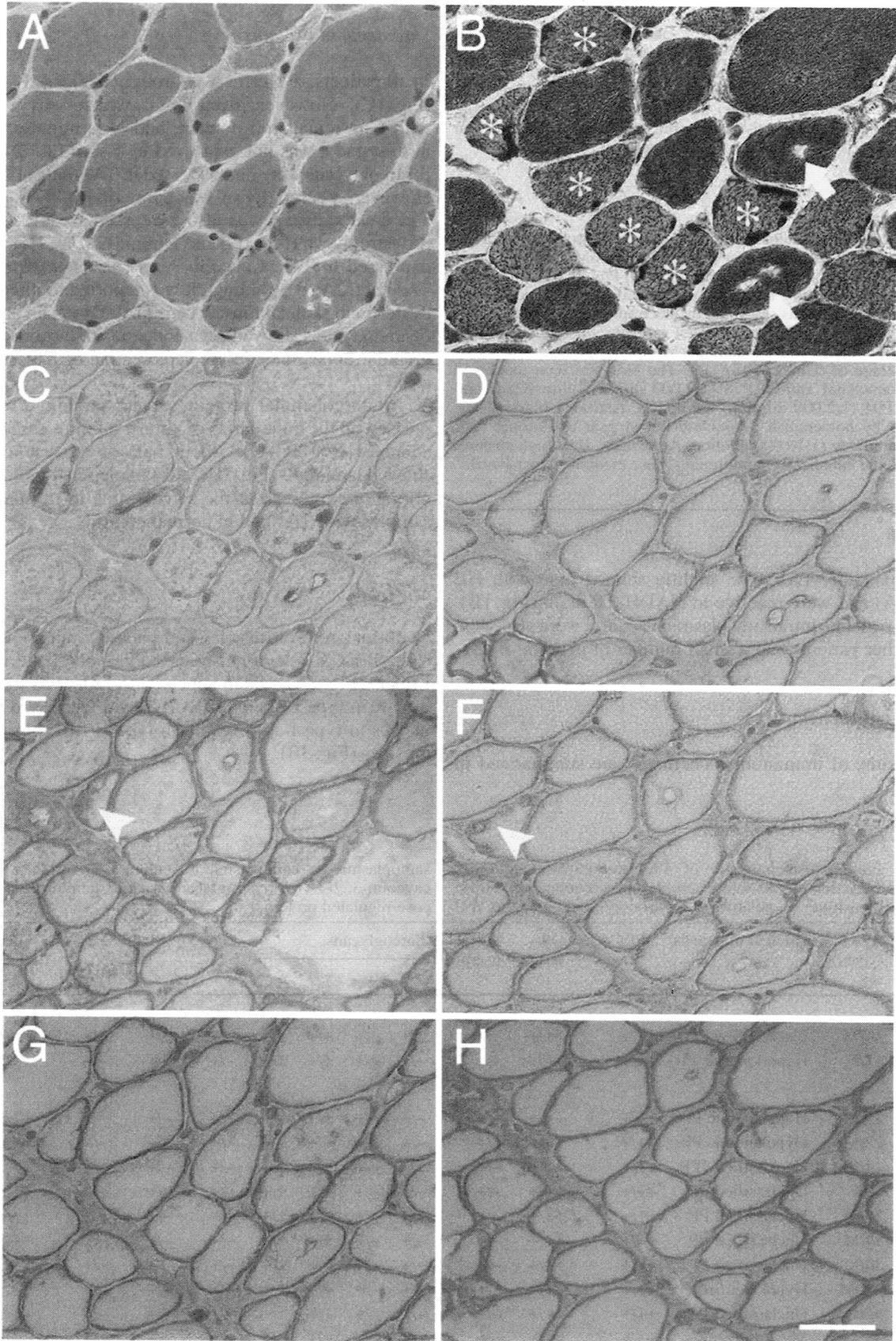
Immunohistochemistry

Muscle biopsy specimens were frozen in isopentane cooled in liquid nitrogen. Serial sections, 7 μ m thick cut on a cryostat, were fixed in 4% paraformaldehyde at 4°C for 15 min. In cases in which the peroxidase method was used, endogenous peroxidase was blocked initially with 0.3% H₂O₂. All sections were then immersed in blocking solution containing 5% goat serum and 2% bovine serum albumin at room temperature for 30 min and incubated with primary antibodies diluted with 2% bovine serum albumin in 0.01 M phosphate-buffered saline at 4°C overnight. In addition, we used nonimmune rabbit serum or normal mouse IgG in place of primary antibodies as negative controls. The next day, sections were incubated with biotinylated or fluorescein isothiocyanate (FITC)-la-beled secondary antibodies at 37°C for 1 h. Then, sections were reacted with streptavidin-conjugated horseradish peroxidase and visualized with 3,3'-diaminobenzidine, or examined by fluorescence microscopy. We also examined these specimens with hematoxylin and eosin (HE), modified Gomori trichrome, and NADH tetrazolium reductase (NADH-TR) staining.

Antibodies

The following primary antibodies were used for immunohisto-

Fig. 1 Immunohistochemical detection of dysferlin, dystrophin, γ -sarcoglycan, δ -sarcoglycan, β -dystroglycan, and laminin-2 in a muscle of patient 6. **A, B** Fibers with TAs (*asterisks*) and intra-sarcoplasmic vacuoles (*arrows*) are shown with hematoxylin and eosin (**A**), and NADH tetrazolium reductase (**B**) stains. **C** Dysferlin is strongly expressed in TAs and on the boundaries of intra-sarcoplasmic vacuoles. **D** Dystrophin is not expressed in TAs. However, the boundaries of intra-sarcoplasmic vacuoles are positively stained. **E** γ -sarcoglycan is expressed in TAs (*arrowhead*) in addition to the boundaries of intra-sarcoplasmic vacuoles. **F** δ -sarcoglycan is also weakly expressed in TAs (*arrowhead*) in addition to the boundaries of intrasarcoplasmic vacuoles. **G, H** β -dystroglycan and laminin-2 are expressed on the boundaries of intra-sarcoplasmic vacuoles but not in TAs (*TA tubular aggregate*). **A-H** Serial sections; *bar* 40 μ m



chemistry: polyclonal anti-GRP78 (1 : 100 dilution, StressGen, Victoria, BC, Canada) and anti-GRP94 (1 : 100, StressGen), and monoclonal anti-dystrophin (DYS) 1, 2, and 3 (1:20, 1:20, and neat, Novocastra, Newcastle-upon-Tyne, UK), anti- α -, β -, γ -, and δ -sarcoglycan (1:100, 1:50, 1:100, and 1:25, Novocastra), anti- β -dystroglycan (1:1W, Novocastra), anti-caveolin-3 (1:200, Novocastra), anti-dysferlin (1: 20, Novocastra), anti-laminin-2 (1:2,000, Chemicon, Temecula, Calif.), and anti-sarcoplasmic or endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase 2 (SERCA-2, 1:100, Novocastra).

Immunoblotting

The total cellular protein was extracted from muscle cryosections with a reducing sample buffer [10% SDS, 70mM TRIS-HCl (pH 6.7), 5% b-mercaptoethanol 10 mM EDTA]. Protein concentrations were determined using the Bradford method. Twenty micrograms of protein per lane was separated by electrophoresis on a 9% SDS-polyacrylamide gel. The resulting gel was subsequently transferred to an Immobilon PVDF membrane (Millipore, Bedford, Mass.) by an amperage of 5mA/cm² for 1 h. The blot was then incubated with monoclonal anti-GRP78 (1:2,000 dilution, StressGen) and anti-GRP94 (1:2,000 dilution) antibodies. Antibody binding was revealed by horseradish peroxidase-linked goat anti-mouse secondary antibody (1:10,000 dilution, Amersham, Buckinghamshire, UK) and the enhanced chemiluminescence method (Amersham).

Results

In all patients, TAs were slightly stained blue with HE (Fig. 1A) and were reactive to NADH-TR stain (Fig. 1B).

In four patients, intra-sarcoplasmic vacuoles were also seen.

Two other patients had a small number of necrotic fibers.

Immunohistochemistry

The results of immunohistochemistry are summarized in Table 2.

Table 2 Immunohistochemistry of TAs and intra-sarcoplasmic vacuoles. Reaction in TAs/intra-sarcoplasmic vacuoles is given as: \pm , weakly positive; +, positive; ++, strongly positive (SERCA-2 sarcoplasmic or endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase 2, Cav-3 caveolin-3, β -DG β -dystroglycan, Lama-2 laminin-2, GRPs glucose-regulated proteins)

Patient	Age (years)/sex	Clinical diagnosis	SERCA-2	Dysferlin	Dystrophin	Sarcoglycans				Cav-3	β -DG	Lama-2	GRPs	
						α	β	γ	δ				78	94
Familial														
1	14/M	Unclassified PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/+	++/ \pm	++/ \pm
2	11/P	Hyperkalemic PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/-	++/ \pm	++/ \pm
Sporadic														
3	15/M	Hypokalemic PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	\pm /+	-/+	-/+	-/+	-/+	++/ \pm	++/ \pm
4	27/N	Hypokalemic PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/-	++/ \pm	++/ \pm
5	14/M	Unclassified 7PP	+++	+++	-/+	\pm /+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/+	++/ \pm	++/ \pm
6	12/P	Unclassified PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/+	++/ \pm	++/ \pm
7	26/M	Unclassified PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/-	++/ \pm	++/ \pm
8	14/N	Unclassified PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	\pm /+	\pm /+	-/+	-/+	-/+	++/ \pm	++/ \pm
9	30/M	Unclassified PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/+	++/ \pm	++/ \pm
10	2.5/N	Hypokalemic PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/-	++/ \pm	++/ \pm
11	8/W	Unclassified PP	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	\pm /+	-/+	-/+	-/-	++/ \pm	++/ \pm
12	28/M	Myalgia/cramps syndrome	+++	+++	-/+	-/+	-/+	+/+	-/+	-/+	-/+	-/-	++/ \pm	++/ \pm

Sarcolemmal proteins

In all patients, dysferlin was strongly expressed in all TAs (Fig. 1C). However, dystrophin, which was examined with C-terminal, rod domain, and N-terminal antibodies in this study, was not expressed in TAs (Fig. 1D). α - and β -sarcoglycans were not expressed in TAs (data not shown). However, γ -sarcoglycan was expressed in TAs (Fig. 1E) and δ -sarcoglycan was also expressed weakly (Fig. 1F). β -dystroglycan (Fig. 1G) and laminin-2 (Fig. 1H) were not expressed in TAs. Caveolin-3 was also not expressed in TAs (Fig. 2A, B), although it was reported to interact with dysferlin in skeletal muscle cells [14]. Dysferlin and γ - and δ -sarcoglycans showed occasional positive staining with a granular appearance in the sarcolemma of patients' muscles.

All sarcolemmal proteins except laminin-2 were expressed on the boundaries of almost all intra-sarcoplasmic vacuoles (Fig. 1C-G). About half of the vacuoles also showed laminin-2 (Fig. 1H). All sarcolemmal proteins were normally expressed at the sarcolemma in muscle biopsy samples with TAs and in normal controls.

SERCA-2

In normal control muscles and patients' muscles with no TAs, SERCA-2 staining showed a granular pattern in type I fibers (Fig. 3A), which appeared to reflect its location in the SR in type I fibers. SERCA-2 was expressed strongly in TAs in type I and weakly in type II fibers in patients' muscles (Fig. 3B).

GRP78 and GRP94

GRP78 (Fig. 4A) and GRP94 (Fig. 4B) were also intensely expressed in TAs in all patients. They were weakly expressed on the boundaries of intra-sarcoplasmic vacuoles. In normal controls,

Fig. 2 Dysferlin and caveolin-3 localization detected in a muscle of patient 7 with FITC immunofluorescence.

A Dysferlin is expressed in TAs in addition to at the sarcolemma.

B Caveolin-3 is expressed at the sarcolemma but not in TAs. *Bar* 40µm)

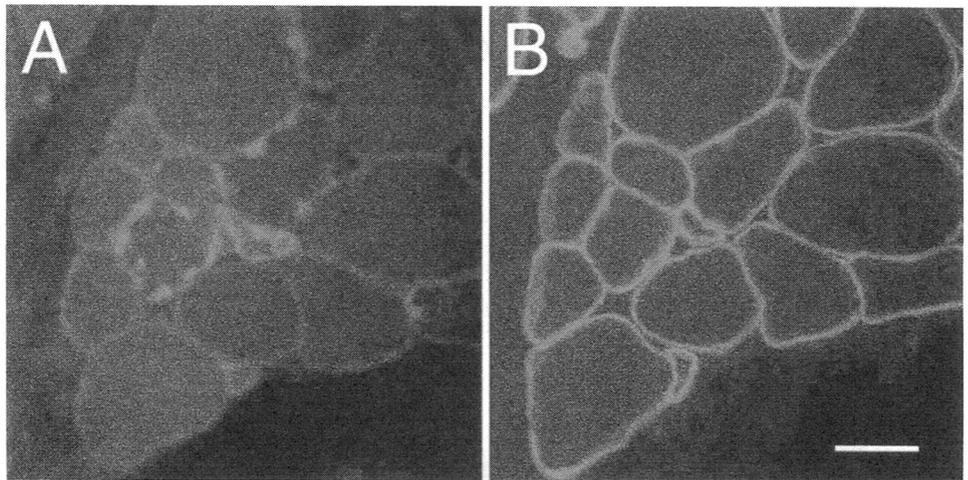


Fig. 3 SERCA-2 immunofluorescence with FITC.

A In a normal control muscle, SERCA-2 has a granular appearance in type I fibers.

B In a muscle of patient 1, SERCA-2 is strongly expressed in TAs in type I fibers. In addition, TAs in type II fibers are weakly stained (not shown), *Bar* 40 µm

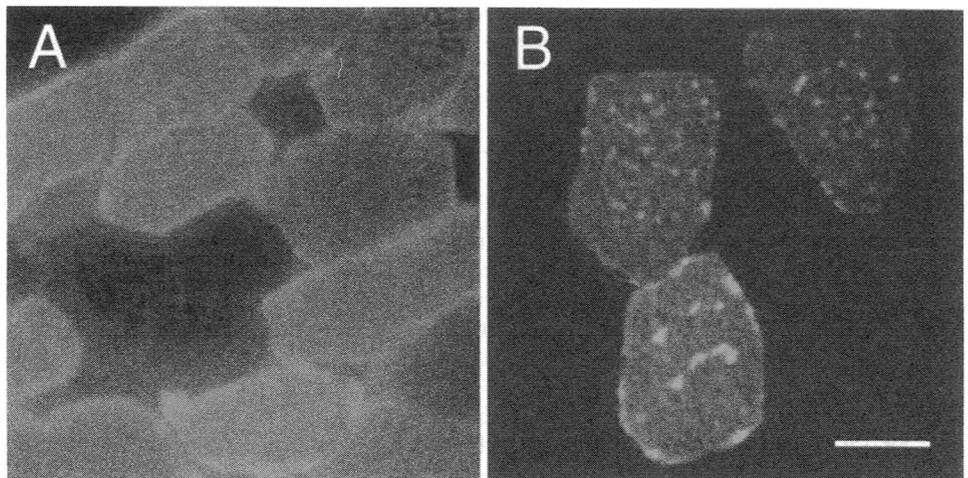
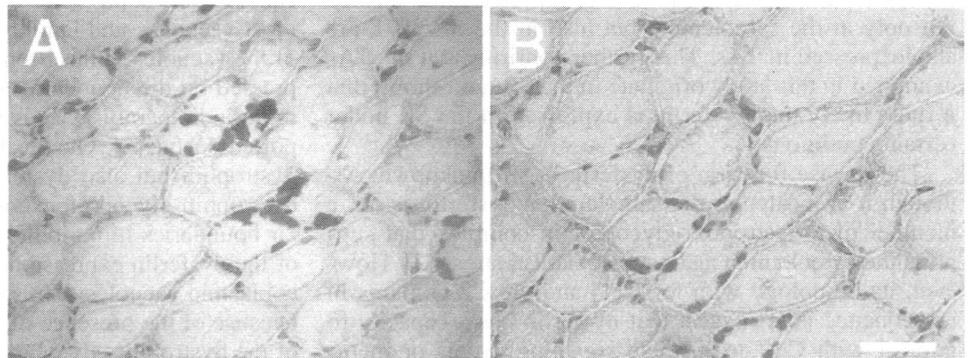


Fig. 4 Intense expression of GRP78 and GRP94 in TAs.

A GRP78 is intensely expressed in TAs and weakly on the boundaries of intra-sarcoplasmic vacuoles.

B GRP94 expression is similar to GRP78 expression.

A Patient 11, **B** patient 6; serial section of Fig. 1A-H (*GRP* glucose-regulated protein). *Bar* 30 µm



they were occasionally stained with a weak granular appearance in the sarcoplasm (not shown).

Immunoblotting

We carried out further immunoblotting analysis of GRP78 and GRP94 in patients 11 and 12 to confirm the increase of their expression in muscle biopsy specimens with TAs. These muscles showed significantly increased expression of GRP78 and GRP94 compared with normal controls, in which these proteins were

expressed very weakly (Fig. 5).

Discussion

In this study we demonstrated that dysferlin was strongly expressed in TAs without exception. Moreover, GRP78 and GRP94 were also intensely expressed in TAs, and the total amounts of their expression were increased in muscle biopsy specimens with TAs compared with normal controls.

Previous studies had found that TAs are derived from the SR [20,

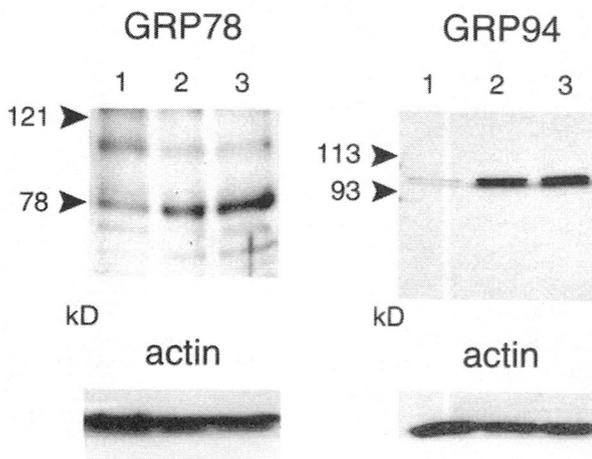


Fig. 5 Immunoblot analysis of GRP78 and GRP94 in muscles of patients and a normal control. The expression of GRP78 and GRP94 is significantly increased in patient 11 (*lane 2*) and patient 12 (*lane 3*) compared with a normal control (*lane 1*)

28], and that SERCA-2, which is located in the ER/SR, is also expressed in TAs [20, 28], similar to the results in the present study. In addition, g- and d-sarcoglycans, which have been recently reported to be located not only at the sarcolemma but also in the SR [27], are also expressed in TAs. This further confirms that the TAs examined in this study originate in the SR, and shows that it is quite likely that dysferlin is expressed in the SR under certain conditions.

The precise function of dysferlin is still unknown. Although it is located at the sarcolemma, dysferlin is not a member of a dystrophin-glycoprotein complex that supports the sarcolemma against mechanical stress [3]. However, its homology with fer-1 [1] and the C2 domains in its sequence [10] suggest that dysferlin has a capacity to interact with Ca^{2+} to mediate signaling events or membrane fusions, and can be located in other membranous organelles in addition to the sarcolemma.

It is thought that TAs might be formed from the proliferated SRs to compensate for increased intra-sarcoplasmic Ca^{2+} [20]. The following evidence supports this hypothesis: TAs have been reported to have Ca^{2+} -loading capacity and to act as a Ca^{2+} -sink like the SR [20]. In addition, most pathological conditions showing TAs, such as myalgia/cramps syndrome [23], malignant hyperthermia [11], and hypokalemic periodic paralysis [15, 25, 26] are related to disturbed intra-sarcoplasmic Ca^{2+} homeostasis. Consequently, there is a possibility that dysferlin is expressed in the SR or TAs to deal with stressful intra-sarcoplasmic conditions, such as disturbed intra-sarcoplasmic Ca^{2+} homeostasis.

We also observed an intense expression of GRP78 and GRP94 in TAs. These are ER chaperone proteins that remove unfolded proteins from the ER/SR [24]. One of the major functions of the ER/SR is the folding, processing, and exporting of newly synthesized proteins. Various abnormal conditions such as the presence of unfolded or abnormally glycosylated proteins, and disturbed intracellular Ca^{2+} homeostasis, disrupt the ER/SR function, resulting in

the accumulation of unfolded or misfolded proteins in the ER/SR, namely ER stress. Under ER stress, cells evoke the 'unfolded protein response', one of which is upregulation of ER chaperone proteins, to avoid falling into apoptosis. Therefore, it is quite likely that muscle cells with TAs are under ER stress, and that TA formation is a response to ER stress. Dysferlin expression in TAs also seems to be a response to ER stress due mainly to disturbed intra-sarcoplasmic Ca^{2+} regulation. We have found that rimmed vacuole formation in chloroquine-treated rats is related to the ER stress, and dysferlin and other sarcolemmal proteins such as dystrophin are always expressed around rimmed vacuoles (data not shown). The expression of heat shock protein 72 (HSP72) in TAs has already been reported [12]. HSP72 acts on the relaxation and refolding of the tertiary structure of partly denatured proteins. In addition, TAs are reported to be found in spindle muscle fibers of horse lumbrical muscle [8]. This muscle shows various degrees of regression and regeneration due to its limited activity in the limbs. The authors suggested that TA formation might be an adaptation to the cellular stress.

With respect to intra-sarcoplasmic vacuoles, not only dysferlin but also dystrophin, sarcoglycans, β -dystroglycan, and caveolin-3 are expressed on the boundaries of most vacuoles, and laminin-2 is positively stained in half of the vacuoles. It has been reported that dystrophin is expressed on the boundaries of intra-sarcoplasmic vacuoles in periodic paralysis, as is frequently laminin in cases reported so far [6]. Our results clearly show that not only dystrophin but also dysferlin and other members of the dystrophin-glycoprotein complex are expressed on vacuolar boundaries in periodic paralysis. Therefore, the cause of the dysferlin expression on the boundaries of intra-sarcoplasmic vacuoles seems to be distinct from that of TAs because of the presence of dystrophin and other members of the dystrophin-glycoprotein complex.

TAs are also found in normal aged male mice [2, 9]. It is reported that muscle mass decreases with age, via a decrease in fiber number and atrophy of the remaining fibers, due to apoptosis [7, 22]. Moreover, apoptotic signaling pathways in this muscle fiber loss are not limited to the mitochondrial-mediated pathways with cytochrome c release [7]. Accordingly, it is possible that TA formation in aged mice is an adaptation mechanism to avoid apoptotic cell death resulting from ER stress.

In conclusion, muscle cells with TAs seem to be under stressful conditions, especially ER stress, that probably results from disturbed intra-sarcoplasmic Ca^{2+} homeostasis. In addition, it is possible that dysferlin expression in TAs is a response to ER stress.

Acknowledgement We are grateful to Miss O. Kosugi for her excellent technical assistance.

References

1. Achanzar WE, Ward S (1997) A nematode gene required for sperm vesicle fusion. *J Cell Sci* 110:1073-1081
2. Agbulut O, Destombes J, Thiesson D, Butler-Browne G (2000)

- Age-related appearance of tubular aggregates in skeletal muscle of almost all male inbred mice. *Histochem Cell Biol* 114: 477-481
3. Anderson LVB, Davison K, Moss JA, Young C, Cullen MJ, Walsh J, Johnson MA, Bashir R, Britton S, Keers S, Argov Z, Mahjneh I, Fougere F, Beckmann JS, Bushby KMD (1999) Dysferlin is a plasma membrane protein and is expressed early in human development. *Hum Mol Genet* 8:855-861
 4. Bashir R, Britton S, Strachan T, Keers S, Vafiadaki E, Lako M, Richard I, Marchwald S, Bourg N, Argov Z, Sadeh M, Mahjneh I, Marconi G, Passos-Bueno MR, Moreira Ede S, Zatz M, Beckmann JS, Bushby K (1998) A gene related to *Caenorhabditis elegans* spermatogenesis factor *fer-1* is mutated in limb girdle muscular dystrophy type 2B. *Nat Genet* 20:37-42
 5. Davis DB, Doherty KR, Delmonte AJ, McNally EM (2002) Calcium-sensitive phospholipid binding properties of normal and mutant ferlin C2 domains. *J Biol Chem* 277:22883-22888
 6. De Bleeker JL, Engel AG, Winkelmann JC (1993) Localization of dystrophin and β -spectrin in vacuolar myopathies. *Am J Pathol* 143: 1200-1208
 7. Dirks A, Leeuwenburgh C (2002) Apoptosis in skeletal muscle in aging. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 282:R519-R527
 8. Klomkleaw W, Kasashima Y, Kobayashi A, Fuller GA, Morimoto M, Nakade T, Muto M, Oba T, Hamlin RL, Yamaguchi M (2001) Tubular aggregates observed in spindle muscle fiber of horse lumbrical muscle. *Acta Neuropathol* 101:509-517
 9. Kuncel RW, Pestronk A, Lane J, Alexander E (1989) The MRL^{+/+} mouse: a new model of tubular aggregates which are gender- and age-related. *Acta Neuropathol* 78:615-620
 10. 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, Jong PJ de, Brown RH Jr (1998) Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. *Nat Genet* 20:31-36
 11. MacLennan DH, Phillips MS (1992) Malignant hyperthermia. *Science* 256:789-794
 12. Martin JE, Mather K, Swash M, Gray AB (1991) Expression of heat shock protein epitopes in tubular aggregates. *Muscle Nerve* 14:219-225
 13. Matsuda C, Aoki M, Hayashi YK, Ho MF, Arahata K, Brown RH Jr (1999) Dysferlin is a surface membrane-associated protein that is absent in Miyoshi myopathy. *Neurology* 53:1 119-1122
 14. Matsuda C, Hayashi YK, Ogawa M, Aoki M, Murayama K, Nishino I, Nonaka I, Arahata K, Brown RH Jr (2001) The sarcolemmal proteins dysferlin and caveolin-3 interact in skeletal muscle. *Hum Mol Genet* 10: 1761-1766
 15. Morrill JA, Cannon SC (1999) Effects of mutations causing hypokalaemic periodic paralysis on the skeletal muscle L-type Ca^{2+} channel expression in *Xenopus laevis* oocytes. *J Physiol* 520:321-336
 16. Odor DL, Patel AN, Pearce LA (1967) Familial hypokalemic periodic paralysis with permanent myopathy: a clinical and ultrastructural study. *J Neuropathol Exp Neurol* 26:98-114
 17. Reske-Nielsen E, Haase J, Kelstrup J (1975) Malignant hyperthermia in a family. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 83:651-660
 18. Rizo J, Sudhof TC (1998) C2-domains, structure and function of a universal Ca^{2+} -binding domain. *J Biol Chem* 273:15879-15882
 19. Rosenberg NL, Neville HE, Ringel SP (1985) Tubular aggregates. Their association with neuromuscular diseases, including the syndrome of myalgias/cramps. *Arch Neurol* 42:973-976
 20. SaIviati G, Pierobon-Bormioli S, Betto R, Damiani E, Angelini C, Ringel SP, Salvatori S, Maugey A (1985) Tubular aggregates: sarcoplasmic reticulum origin, calcium storage ability, and functional implications. *Muscle Nerve* 8:299-306
 21. Sieb JP, Talksdorf K, Dengler R, Jerusalem F (1996) An autosomal-recessive congenital myasthenic syndrome with tubular aggregates in a Libyan family. *Neuromuscul Disord* 6:115-119
 22. Strasser H, Tiefenthaler M, Steinlechner M, Eder I, Bartsch G, Konwalinka G (2000) Age-dependent apoptosis and loss of rhabdosphincter cells. *J Urol* 164:1781-1785
 23. Taylor DJ, Brosnan MJ, Arnold DL, Bore PJ, Styles P, Walton J, Radda GK (1988) Ca^{2+} -ATPase deficiency in a patient with an exertional muscle pain syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 51:1425-1433
 24. Tirasophon W, Welihinda AA, Kaufman RJ (1998) A stress response pathway from the endoplasmic reticulum to the nucleus requires a novel bifunctional protein kinase/endonuclease (Irelp) in mammalian cells. *Genes Dev* 12:1812-1824
 25. Tricarico D, Servidei S, Tonali P, Jurkat-Rott K, Camerino DC (1999) Impairment of skeletal muscle adenosine triphosphate-sensitive K^{+} channels in patients with hypokalemic periodic paralysis. *J Clin Invest* 103:675-682
 26. Tricarico D, Barbieri M, Camerino DC (2000) Acetazolamide opens the muscular $K_{Ca^{2+}}$ Channel: a novel mechanism of action that may explain the therapeutic effect of the drug in hypokalemic periodic paralysis. *Ann Neurol* 48:304-312
 27. Ueda H, Ueda K, Baba T, Ohno S (2001) d- and g-sarcoglycan localization in the sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle. *J Histochem Cytochem* 49:529-537
 28. Vielhaber S, Schroder R, Winkler K, Weis S, Sailer M, Feistner H, Heinze H-J, Schroder M, Kunz WS (2001) Defective mitochondrial oxidative phosphorylation in myopathies with tubular aggregates originating from sarcoplasmic reticulum. *J Neuropathol Exp Neurol* 11:1032-1040

脳塞栓症を合併したベッカー型筋ジストロフィーの2例

後藤 勝政, 伊藤 知子, 佐藤紀美子, 島崎 里恵

要旨：心不全を合併したベッカー型筋ジストロフィーの患者において、脳塞栓症をきたした症例を2例経験したので報告する。症例1は53歳、男性。心拡大を認め、平成6年6月から内服治療を行っていた。平成9年7月と平成11月7月に脳梗塞の既往歴があった。平成15年10月3日、急に意識障害と右片麻痺をきたし、脳塞栓症が疑われた。MRAで左内頸動脈の途絶を認め保存的治療が行われたが、心不全の増悪と肺炎を併発し、死亡した。症例2は54歳、男性。平成10年9月頃から明らかな心拡大、心室性不整脈を認めた。平成15年6月29日、脳梗塞（左片麻痺）をおこし、保存的治療を受けた。MRIで右側頭葉に小梗塞巣を認めた。脳梗塞の後遺症はほとんどなく、7月14日当院に転院し、リハビリを続けていたが、7月19日、脳梗塞再発を起こした。頭部CTで前回とは反対側の左大脳半球に広い低吸収域を認め、脳塞栓症と考えた。

これら2例は脳梗塞を起こした時には、心電図で心房細動は認められなかったが、心不全の合併があることから、心原性の塞栓による脳梗塞と考えられた。

はじめに

筋ジストロフィーでは様々な合併症をおこすことがあるが、脳梗塞を生じることも報告されている^{1,5)}。われわれは最近、心不全を合併したベッカー型筋ジストロフィーの患者において、脳塞栓症をきたした症例を2例経験した。筋ジストロフィーと脳梗塞の関係について報告する。

症例1

患者は53歳、男性、ベッカー型筋ジストロフィー。エクソン45、47欠失。3歳ころから歩行障害が出現したが、40歳ころまでは歩行可能であった。その後は手動車椅子を使い、就労していた。心拡大を認めたため、平成6年6月から利尿剤を使用した。その後、ジギタリス製剤、ACE阻害剤を使用していた。

平成9年7月と平成11月7月に軽度の左片麻痺が出現し、頭部CTを行ったところ、脳梗塞が認められた。保存的治療にて軽快し、後遺症として軽度の左片麻痺を認めるものの外来通院し、仕事を続けていた。平成14年9月10日は心胸郭比(CTR)52%、脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)32.8pg/ml(基準値<20pg/ml)、平成15年3月11日はCTR52%、平成15年9月25日はCTR54%、BNP62.7pg/ml

であった。

平成15年10月3日、午後3時ころ、座位で工作中、急に倒れ救急車で来院した。意識レベルは100で左片麻痺、左共同偏視を認めた。頭部CT単純撮影では新しい梗塞巣は認められず、塞栓症が疑われ(血栓溶解療法の適応ではないかと考えられたため)、近くの病院に転送した。CTRは57%、心電図では心房細動は認めなかった。凝固機能はPT118%(基準値75-120%)、INR0.90、APTT30.6sec(基準値25-40sec)、フィブリノーゲン484μg/dl(基準値200-450μg/dl)であった。頭部MRIでは、左側頭葉に拡散強調画像にて軽度のhigh density areaを認め、FLAIRは右側頭葉の陳旧性脳梗塞のみであった。しかし、MRAで左内頸動脈の途絶があり、残念ながら血栓溶解療法の適応にはならず、ヘパリンによる抗凝固、エダラボン、高張グリセロール、シチコリンによる保存的治療が行われた(図1)。その後、意識レベルの低下

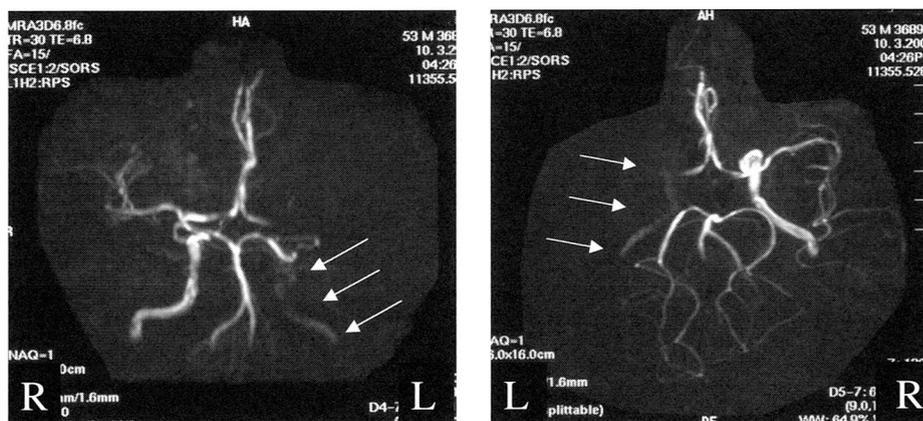


図1 MRA症例1(平成15年10月3日)
左内頸動脈がほとんど描出されていない(矢印)。

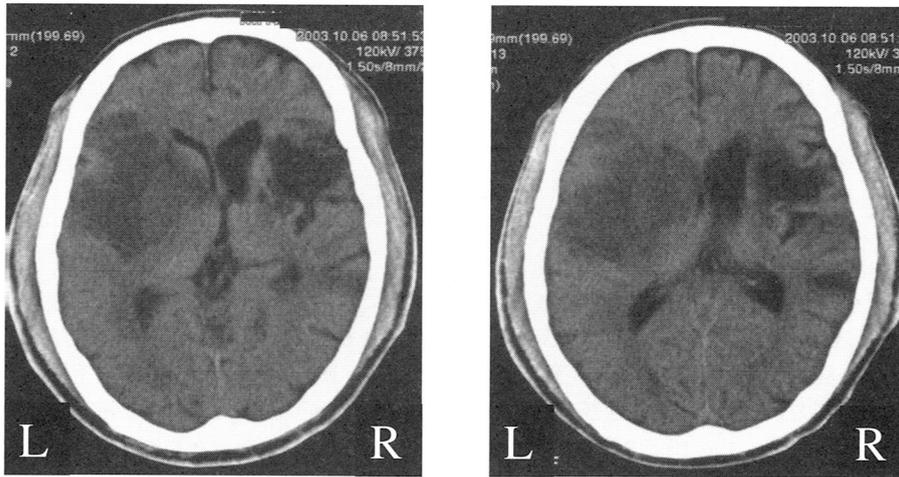
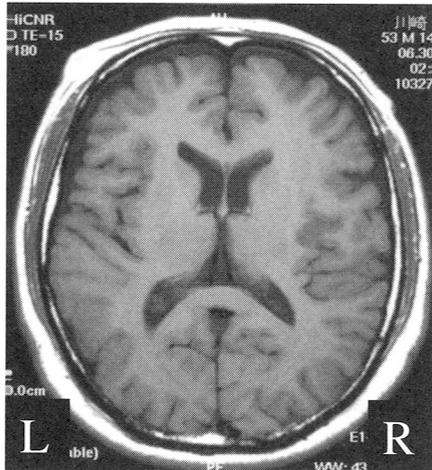
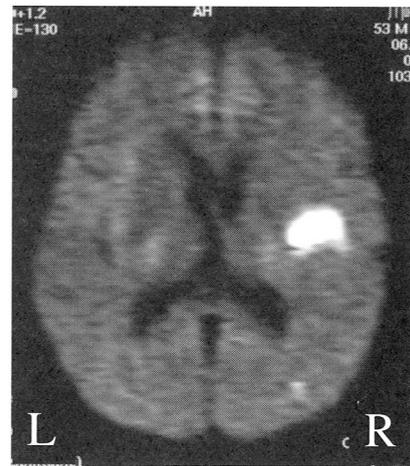


図2 頭部CT症例1 (平成15年10月6日)
 左側頭葉の梗塞により、右へのmid line shiftを認める。
 右側頭葉には陳旧性の梗塞が認められる。

MRI T1WI



MRI DWI



MRI T2WI

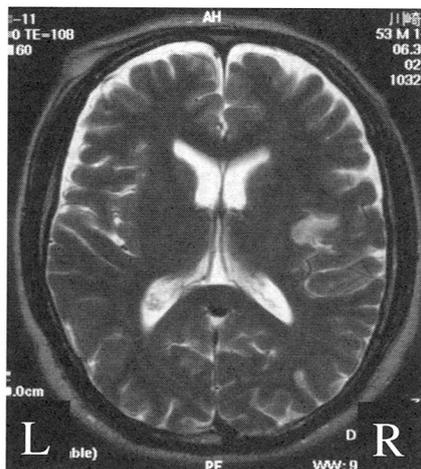


図3 頭部MRI症例2 (平成15年6月30日)
 右側頭葉に小梗塞を認める。

を認め、followのCTで右へのmid line shiftを認めたが、減圧開頭術の適応にはならなかった (図2)。

平成15年12月1日、当院に入院した。開眼しているが、発語はなく、指示にはまったく応じない状態であった。ベッ

ドに寝たきりで、四肢麻痺を認め、頭部を左につよく向けた状態で左への共同偏視を認めた。経鼻経管栄養を行っていた。その後、意識状態が改善することはなく、次第に心不全の増悪を認め、肺炎も併発し、平成16年8月7日に死亡した。

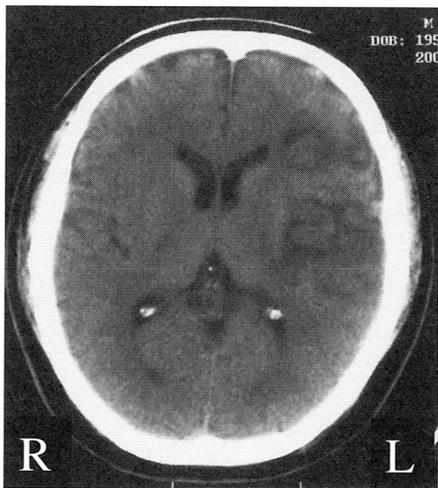


図4 頭部CT症例2(平成15年7月22日)
左側頭葉に新しい梗塞が生じている。

症例2

患者は54歳、男性、ベッカー型筋ジストロフィー。エクソン45、47欠失。45歳頃までは、起立可能であった。平成10年9月頃から明らかな心拡大(CTR55%)、心室性不整脈を認めたため、ジギタリス製剤、利尿剤、抗不整脈剤を投与していた。平成15年になって血糖値が高いことがわかり、副作用も考えられたため3月5日から利尿剤を中止した。CTRは47%程度、BNPは平成15年2月5日が9.6pg/ml、6月25日が22.6pg/mlであった。

平成15年6月29日(53歳)、夜10時20分ころ嘔吐があり、しゃべりにくい感じがした。30日朝に救急車で来院した。神経学的所見では軽度の意識障害、顔面を含む左片麻痺、構音障害、欠伸(あくび)を認めた。感覚は左右差なかった。当院のCT装置が工事中で撮影できないため近医に紹介入院し、保存的治療を受けた。CTRは56%、心電図では心房細動はなかった。MRIで右側頭葉に小梗塞巣を認めた(図3)。心エコーでは左心室はdiffuse hypokinesis(特に後壁側がhypo)であった。血栓は明らかではなかった。Ejection Fraction(EF)は49%。凝固系の検査ではPT106%(基準値75-120%)、INR0.96、APTT34.2sec(基準値25-40sec)、フィブリノーゲン278 μ g/dl(基準値200-450 μ g/dl)であった。脳梗塞の後遺症はほとんどなく、リハビリテーションを続けるため、7月14日当院に転院した。

7月19日の夕方、急激に意識障害、右片麻痺、運動性失語が出現し、脳梗塞再発(脳塞栓症)と考えられ、エダラボン、高張グリセロールにて治療した。頭部CTにて左大脳半球に広い低吸収域を認めた(図4)。その後、頭頂部に軽度の出血性梗塞がみられたが、症状は徐々に回復した。

現在は軽度の運動失語と右片麻痺を認めるものの外来通院している。

考 察

心不全を合併したベッカー型筋ジストロフィーにおいて、

脳塞栓症をきたした2例を経験した。脳塞栓症を起こした時には、心電図で心房細動は認められず、心不全の合併があることから、心不全によって左心室内血栓が生じたための心原性塞栓による脳梗塞が疑われた。

筋ジストロフィーでは、凝固能の亢進があり、肺梗塞が多いと報告されている。Gaffneyら⁶⁾は左心室の塞栓とうっ血性心筋症を伴った17歳のデュシャンヌ型筋ジストロフィー患者で肺、脾、腎梗塞を起こした例を報告している。そのほかに脳梗塞の合併が報告されている¹⁻⁵⁾。

Billerら¹⁾は131例のデュシャンヌ型筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィー、ベッカー型筋ジストロフィー、フリードライヒ失調症のうち、脳梗塞は2例にみられ、それらは心筋症と心房細動あるいは心房粗動を合併していたと報告している。Hanajimaら²⁾はデュシャンヌ型筋ジストロフィー667人中7例に脳梗塞が認められ、発症率は約1%であると報告している。年齢は16~20歳であり、脳梗塞を起こした7例のうち、6例に心拡大が認められ、心房細動は1例のみであった。心エコーでは心内血栓はみられていない。Diaz Buschmannら³⁾は拡張型心筋症を伴っている13歳のデュシャンヌ型筋ジストロフィー患者において再発性脳梗塞を起こした1例を報告している。ベッカー型筋ジストロフィーにおける脳梗塞の報告は少ないが、Atsumiら⁴⁾によるうっ血性心不全と心房細動を伴った65歳のベッカー型筋ジストロフィー患者で脳塞栓を起こした症例の報告がある。また、松岡らもデュシャンヌ型筋ジストロフィー58例、ベッカー型筋ジストロフィー13例、肢帯型筋ジストロフィー15例、福山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4例、筋強直性ジストロフィー43例の計138例を頭部CTで検討した結果、ベッカー型筋ジストロフィー2例、デュシャンヌ型筋ジストロフィー1例、筋強直性ジストロフィー2例で明らかな脳血管障害が確認されたと報告している⁵⁾。ベッカー型筋ジストロフィーの脳血管障害の原因として、いずれも心臓の障害があり、心原性の塞栓によるものと考えられるとしている⁵⁾。

今回のように広範な脳塞栓症をきたすことがあることを考えると、心不全を合併した筋ジストロフィー患者において、凝固能の亢進状態にある症例においては抗凝固剤を投与したほうがよいのではないかと考えさせられた。

文 献

- 1) Biller J, Ionasescu V, et al.: Frequency of cerebral infarction in patients with inherited neuromuscular diseases. *Stroke*. 18(4):805-7.1987.
- 2) Hanajima R, Kawai M.: Incidence of cerebral infarction in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*. 19(7):928.1996.
- 3) Diaz Buschmann C, Ruiz Falco ML, et al.: Repeated cerebral infarction in a patient with Duchenne's muscular dystrophy. *Rev Neurol*. 38(6):533-6.2004.
- 4) Atsumi M, Tanaka A, et al.: Cerebral embolism associated with Becker muscular dystrophy-related dilated cardiomyopathy. *No To Shinkei*. 56(2):163-7.2004.

- 5) 松岡幸彦, 小長谷正明ら: 筋ジストロフィー患者頭部CTにおける脳血管障害の検討. 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. 121-122, 1999.
- 6) Gaffney JF, Kingston WJ, et al.: Left ventricular thrombus and systemic emboli complicating the cardiomyopathy of Duchenne's muscular dystrophy. Arch Neurol. 46(11):1249-52.1989.
-

平成14－16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治療と医学的管理に関する臨床研究 論文集

2005年3月発行

編集発行者 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治療と医学的管理に関する臨床研究班
主任研究者 川井 充

印刷所 有限会社新星社