

総括研究報告書（3頁）

分担研究報告書（17頁）

平成10年度
厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

生検材料による神経・筋疾患等の成因解明と治療に関する研究

主任研究者：埜中征哉（国立精神・神経センター武蔵病院）

分担研究者：橋本和季（国立療養所道北病院）

石川幸達（国立療養所八雲病院）

木村格（国立療養所山形病院）

石原傳幸（国立療養所東埼玉病院）

宮内潤（国立小児病院）

斎田孝彦（国立療養所宇多野病院）

高橋桂一（国立療養所兵庫中央病院）

澁谷統壽（国立療養所川棚病院）

岩崎祐三（国立療養所宮城病院）

総括研究報告書

生検材料による神経・筋疾患等の成因解明と治療に関する研究

主任研究者 埜中 征哉 国立精神・神経センター武蔵病院院長

研究要旨：神経・筋疾患を中心として、その病因解明のための研究資源（research resource）を確保するためのバンクシステムの基盤体制を国立病院、療養所間 10 施設で確立した。それらの施設でバンク入りした検体のデータベースを作り、さらにそれを公開するための研究資源ネットワーク（research resource networks: RRN）を樹立するための体制作りを行った。平成 10 年度からは病理、遺伝子診断、検体保存に関わる倫理的問題をクリアした新しい書式の使用を開始した。倫理面がクリアした検体は Hospnet 上に登録が開始され、検体がすでにデータベース化されている。

分担研究者

橋本和季：国立療養所道北病院 神経内科医長
石川幸辰：国立療養所八雲病院 副院長
木村 格：国立療養所山形病院 院長
石原傳幸：国立療養所東埼玉病院 副院長
宮内 潤：国立小児病院 研究検査科長
斎田孝彦：国立療養所宇多野病院 院長
高橋桂一：国立療養所兵庫中央病院 院長
渋谷統寿：国立療養所川棚病院 院長
岩崎祐三：国立療養所宮城病院 院長

A. 研究目的

神経・筋疾患を中心とする神経難病の病因解明には研究の対象をなす検体が必要である。例えば生検筋を凍結保存しておけば病理、生化学的研究だけでなく、DNA、RNA レベルでの研究、in situ hybridization での研究が推進できる。そのような研究資源を大切に保存（バンク化）し、さらにそれを全世界の研究者に情報公開、供与することは研究を進める上で極めて重要である。検体には患者情報が附加されることもあるので、倫理的問題が常につきまとう。以上のことを解決し、さらに研究者に検体を供与することを本研究の目的とした。

B. 研究方法

まず筋生検、DNA 診断などが日常的に行われている国立病院、療養所 10 カ所を選び、次の 4 項目について検討を開始、実施した。

- ①生検筋等のバンクシステムの樹立
- ②バンク公開のためのデータベース作成
- ③診断、検体保存に關する承諾書の使用
- ④検体供与に関するルール作り

C. 研究結果

- ①生検筋等のバンクシステムの樹立
神経・筋疾患の診断の際、生検された骨格筋、培養細胞、血液から分離した DNA を -80°C のディープフリーザー内で保管し、バンク化することをスタートした。国立精神・神経センターが中心となり、約 1,200 件の検体をバンク入りさせた。バンク入りさせるためには正しい診断を下すことが大前提で生検材料には色々な組織化学、免疫組織化学染色、DNA 解析が行われた。また生検筋、皮膚の培養細胞も次々とバンク入りしている。
- ②バンク公開のためのデータベース作成
バンク内の検体は広く研究用に供さなければバンク樹立の意味がない。その内容を公開するためのデータベース作成を開始し、606 検体がすでに登録された。検体の種類、最終診断名、供与可能検体、最小限の患者情報（年齢、性別）を入力する様式を作成し、Hospnet を通じての公開システムが確立され、運用されている。
- ③倫理問題の検討

DNA 診断のみならず病理学的診断に関わる倫理問題、また検体保存に関する倫理問題を法律家（矢島上智大学助教授）とともに検討した。診断に関する承諾書（表 1）とそれを補充する役目をはたす患者への説明のガイドラインを作成し、平

成 10 年度より運用開始した。現在までその様式は広く利用され、承諾のあるもののみが Hospnet を通じて登録されている。

④検体使用に関するガイドラインの作成

バンク内に登録された検体を研究用に供与する際のガイドラインと、供与申込書（表 1）、研究計画書（表 2）、提供承諾書（表 3）を作成し平成 11 年度から本格的な供与を開始することとした。

表 1

組織提供依頼書 兼 誓約書

年 月 日

殿

氏 名
職 名
所属機関
部・室・課・講座名
所属機関住所〒

TEL FAX
e-mail

下記の組織について提供を依頼いたします。

保存施設名
番 号
組織名

当該組織の使用にあたりましては、
 (1) リサーチ・リソース・ネットワークの組織の提供に関する基本原則を十分に踏まえた上で、
 (2) 研究計画書に明記された目的・方法・研究担当等々の範囲内に限って、かつ、
 (3) 組織の提供を行う施設との間で合意し、組織提供承諾書に明記された事項を遵守しつつ、
 実施することを誓約いたします。
 また、研究実施の後は、
 (1) 組織の提供を行う施設に対して、研究結果を報告し、それを内容として公表した
 た刊行物（学会発表等を含む）を送付し、
 (2) 研究成果の公表に際して、その研究がリサーチ・リソース・ネットワークを通じて
 提供を受けた組織による旨を明示し、その成果を公表した刊行物等（1部）をリ
 サーチ・リソース・ネットワーク事務局に送付いたします。

依頼者氏名（自署・捺印のこと）

提供施設 殿

表 2

研究計画書

I 依頼者の記載事項

研究題名

研究内容与方法
 (詳細な研究内容は、記載しなくても結構です)
 (免疫組織化学、DNA、RNA など、どのような方法で組織を使用するかは、記載して下
 さい)

提供希望の組織の種類
 (染色標本、パラフィン切片、凍結切片、凍結組織、電顕包埋試料など、具体的に記載し
 てください)

II 提供者の記載事項

提供した組織の番号と検体の種類

表 3

組織提供承諾書

年 月 日

国立精神・神経センター内
リサーチ・リソース・ネットワーク事務局 御中

承諾者氏名
所属機関

下記の組織について依頼がありました

依頼者氏名
所属機関
TEL FAX

に対して、組織の提供を承諾いたします。
 ただし、当事者間の協議の結果、提供の際の使用条件については、下記のように定めま
 した。

保存施設名
番 号
組織名
使用条件

- ・ 研究計画の内容
- ・ 組織の第三者分与の範囲
- ・ 依頼者と提供施設との関係
- ・ 必要経費の負担
- ・ その他

D. 考察

初年度からバンクシステムの樹立がほぼ完成し、多数の検体がネットワーク化し、登録を開始したことは大きな成果であった。いよいよ本研究班の研究は軌道に乗るようになった。

本研究班の最大の成果は倫理面での問題をほぼクリアしたことである。倫理面をクリアし、患者からの承諾書が得られたもののみで登録されている。本研究班で倫理問題に真剣に取り組み、本年度からバンク登録の運用が開始されたことは高く評価される。

E. 結論

本研究班では研究方法に記載した4大目標を進めるため、精力的な研究を行った。初期の目標はほぼ達成され、今後数多くの検体が保存され、バンク用検体は研究資源としてスムーズに活用される研究基盤が完成した。

F. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Nonaka I, Murakami N, Suzuki Y, Kawai M: Distal myopathy with rimmed vacuoles. Neuromuscul Disord 8:333-337, 1998
 - 2) Nonaka I: Animal models of muscular dystrophies. Lab Animal Sci 48:8-17, 1998.
 - 3) Kobayashi K, Nakahori Y, Nonaka I, et al:

Founder-haplotype analysis in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD). *Hum Genet* 103:323-327, 1998

- 4) Nishino I, Minami N, Nonaka I, et al: *MTM1* gene mutations in Japanese patients with the severe infantile form of myotubular myopathy. *Neuromuscul Disord* 8:453-458, 1998
- 5) Kubo S, Tsukahara T, Nonaka I, et al: Presence of emerinopathy in cases of rigid spine syndrome. *Neuromuscul Disord* 8:502-507. 1998
- 6) Makino M, Horai S, Yu-ichi Goto Nonaka I: Confirmation that a T-to-C mutation at 9176 in mitochondrial DNA is an additional candidate mutation for Leigh's syndrome. *Neuromuscul Disord* 8:149-151, 1998
- 7) Kobayashi K, Nakahori Y, Nonaka I, et al: An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 394:388-392, 1998

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

神経周膜における免疫組織学的検討

分担研究者 橋本 和季 国立療養所道北病院神経内科医長

研究要旨：末梢神経系の基底膜の主要構成蛋白といわれているラミニン-2（メロシン）の局在について、生検末梢神経を用い免疫組織学的に検討した。メロシンは Schwann 細胞の髄鞘外表に強く発現したが、同じ基底膜を有する神経周膜や血管には発現しなかった。末梢神経系ではそれぞれの構造に異なったアイソフォームが分布していると考えられ、基底膜を構成する蛋白の相違により、異なった機能を有している可能性が示唆された。

A. 研究目的

我々は、これまで末梢神経病変における神経周膜異常について検討してきた。神経周膜はその表面に基底膜を有することが形態的な一つの特徴として知られている。基底膜の主要構成蛋白としてラミニンが知られており、近年神経系・筋ではそのアイソフォームであるラミニン-2(メロシン)が主に存在しているとされる。今回我々は、生検末梢神経におけるメロシンの局在について検討した。

B. 研究方法

対象は、3例の生検末梢神経で、形態的に正常である1例と慢性軸索障害を示すビタミン欠乏性ニューロパチー2例である。方法は、生検腓腹神経凍結標本を用い、抗メロシンモノクローナル抗体でABC法で免疫染色した。

C. 研究結果

正常例では、神経外鞘の血管にメロシンの発現は認めず、神経周膜にもなかった。神経内鞘には、メロシンは Schwann 細胞特に髄鞘外表に強く発現していた。髄鞘と軸索の接合面にはその発現を認めなかった。神経内鞘の血管にもメロシンの発現はなかった。慢性軸索性ニューロパチー例では、正常例と同様に髄鞘にメロシンの発現を認め、差はみられなかった。

D. 考察

ラミニンは基底膜の主要構成蛋白であり、基底膜の構造構築に関わる役割とともに、インテグリンなどの細胞表面の受容体と結合し多様な生物活性を示すことが知られている。また、ラミニンは α 鎖・ β 鎖・ γ 鎖という異なる3本鎖から成る糖蛋白分子であり、各鎖には複数のアイソフォームがあり、異なる鎖構成を持つラミニンアイソフォームが組織特異的に発現しているとされる。骨格筋、心筋、末梢神経、胎盤などの組織で主に発現しているのはラミニン-2（メロシン： $\alpha 2 \cdot \beta 1 \cdot \gamma 1$ ）といわれている。前年度の研究では、神経周膜にラミニン-1（ $\alpha 1 \cdot \beta 1 \cdot \gamma 1$ ）の発現が認められることを明らかにしており、今回メロシンを用いた検討では、メロシンは髄鞘に発現するものの、神経周膜や血管には発現していなかった。したがって、末梢神経系ではそれぞれの構造に異なったアイソフォームが分布していると考えられ、この相違により異なった機能を有している可能性が示唆された。

E. 結論

ラミニン-1は神経周膜、メロシンは髄鞘に選択的に発現している。このことからラミニンは末梢神経の髄鞘と神経周膜で異なったアイソフォームが局在しており、この差違によりラミニンの機能がそれぞれの構造で異なっている可能性が示唆された。

ヒト正常培養筋細胞におけるジストロフィンmRNA発現 に対するメチルプレドニゾロンの影響

分担研究者 石川幸展 国立療養所八雲病院小児科 副院長

研究要旨 Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) の遺伝子解析に充分量の筋管細胞を得ることと、さらに、DMDに対するステロイドの臨床的作用機序を探る目的で、ヒト正常培養筋細胞におけるジストロフィンmRNA発現に対するメチルプレドニゾロンの影響について検討した。Dystrophinは、fusion mediumに変更し培養後、2週で遺伝子解析に充分量のcDNAが得られた。Methylprednisoloneを1 μ Mの終濃度で培養すると、無添加と比較し β -Glucuronidaseを内部標準とした相対的なDystrophin mRNA発現は、1.6~4.8倍にエンハンスされた。以上の結果は、少量のステロイド投与がDMDの運動機能低下を軽減するという臨床的效果の機序のひとつと考えられた。

[はじめに] 神経・筋疾患の成因解明は、従来の病理組織的、生化学的検索から、原因遺伝子の同定など分子生物学的研究に主眼が移行している。従って、原因遺伝子の分子レベルの表現型と臨床症状との相関を詳細に検討することが、疾患の真の病因解明に繋がるものと考えられ、さらには、治療法の応用にも繋がる。今年度は、生検筋よりの筋芽細胞の培養とその保存法について検討を行なった。Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) の遺伝子解析の効果的な解析に充分量の筋管細胞を得ることと、さらに、DMDに対するステロイドの臨床的作用機序を探る目的で、ヒト正常培養筋細胞におけるジストロフィンmRNA発現に対するメチルプレドニゾロンの影響について検討した。

[方法] 手術時に得られた正常腹直筋 (成人女性) を用いた。方法は、Blauら、渡辺らの方法に準じ、GM: Ham F-10/2% chicken embryo extract/20% FCS、FM: DME/2% horse serumを用い、35mmゼラチンコートシャーレで培養した。Myoblastが80%以上になった時点で、mediumをGMよりFMに変更した。一方にmethylprednisoloneを1 μ Mの濃度で添加して培養した。Cell pelletsよりtotal RNAを抽出し、primer 3AB/3CD (exon 31-38, 1091 bp) でRT-nested PCRを行なった。内部標準として、 β -Glucuronidase gene (302bp) を増幅した。増幅されたPCR産物は、DyNA Quant 200 Fluorometerで定量し、Dystrophin/ β -Glucuronidase比を求め、Dystrophin mRNA発現を

FM変更して培養後、1、2、3週で比較した。

[結果および考察] 今年度は、3例の培養筋細胞を液体窒素下で保存した。再融解による培養実験にても培養が可能であった。ヒト培養筋細胞より、total RNAを抽出し、RT-nested PCRにより、Dystrophin、 β -Glucuronidaseを増幅した。Dystrophinは、fusion mediumに変更し培養後、2週で遺伝子解析に充分量のcDNAが得られた。Methylprednisoloneを1 μ Mの終濃度で培養すると、無添加と比較し β -Glucuronidaseを内部標準とした相対的なDystrophin mRNA発現は、1.6~4.8倍にエンハンスされた。Methylprednisoloneを添加した培養筋細胞は、形態的にfusionが無添加より遅く、培養3週後のcell deathが少ない印象があった。以上の結果は、最近、報告されている少量のステロイド投与がDuchenne muscular dystrophyの運動機能低下を軽減するという臨床的效果の機序のひとつと考えられた。

[参考文献]

- 1 Lev AA, Feener CC, Kunkel LM, Brown Jr, RH. *J Biol Chem* 1987; 262: 15817-20.
- 2 Sklar RM, Brown Jr, RH. *J Neural Sci* 1991; 101: 73-81.
- 3 Hardiman O, Brown Jr, RH, Beggs AH, Specht L, Sklar RM. *Neurology* 1992; 42: 1085-91.
- 4 Hardiman O, Sklar RM, Brown Jr, RH. *Neurology* 1993; 43: 342-5.

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

RESEARCH RESOURCE BANK の県内・隣接県におけるモデル運用事業とそのネットワークを利用した神経・筋疾患の分子生物学的基礎研究

分担研究者 木村 格 国立療養所山形病院長

研究要旨 国立精神神経センター武蔵病院を核とする全国脳バンク・ネットワークの東北地方拠点病院の1つとして国立療養所山形病院に神経難病の病理診断および遺伝子診断のできる基盤整備を行った。単一施設での剖検・生検材料の登録量の不足を補い、地域での共同研究促進のために県内および県外施設間医療ネットワークを利用できる環境整備を行った。

A. 研究目的

本研究ネットワークの目的に沿って、当病院に東北地区における神経・筋疾患の研究とそのために必要な研究材料の登録・管理のできる機能および施設整備を行い、合わせて本事業を効率良く運営するために近隣県の神経難病専門病院間の医療ネットワークを構築して、モデル事業を実施し、その成果を検証する。

B. 研究方法

神経難病を担当する全ての山形県内17病院で神経難病医療ネットワークを構築し、診療および地域でのケアと平行して、共同研究を推進するための研究材料登録・管理システムを構成する。

東北近隣県での医療ネットワークは、みちのくてんかん仮想病院構想に関する研究（平成8年度厚生科学研究費による）を利用し、施設間での電子会議システムに新たな機能を付加する。

C. 研究成果

1. 拠点病院における機能付与と施設環境整備

東北大学医学部病理学教室、広南病院病理部門、山形大学病理学教室、同第3内科と病理解剖および病理診断の契約を結び、本研究班のガイドラインにそった研究材料の収集・登録を可能にした。

遺伝性神経疾患の解明のためにDNA、mRNA解析等の遺伝子診断・研究のための基本的な設備を整備した。

2. 県内・県外の協力体制の整備

県内で神経難病を担当する17病院に参加を呼び掛け、山形県神経難病医療ネットワークを構築した。その定期的な協議会において、各地域において在宅療養する神経難病患者の医療指導を依頼し、神経難病患者の病院以外での死亡に対しても迅速な剖検が得られる体制を準備している。

隣接県での神経専門施設間の協力体制は、東北管内5国立療養所間で構築しているHOSPNET上に乗せた電子会議システム「厚生科学研究費によるみちのくてんかん仮想病院システム」を利用した。その中で剖検の連絡、剖検・生検材料の共同利用、共通の課題による共同研究体制の準備をしている。

D. 考察

国立療養所においてさえも神経難病患者の在院日数が徐々に短縮化し、地域在宅ケア体制の整備に従って在宅療養指向が強まり、死亡まで長期入院し、そのまま剖検できる機会は減少している。在宅での死亡例に対しても迅速な剖検ができる地域医療ネットワーク体制の整備が大切である。

当院を含め国立センター以外の地域神経難病専門とする国立病院・療養所においては地域医療ネットワークを利用した共同運用が重要と考える。

E. 研究発表

1. 論文発表

神経難病医療ネットワーク：山形県難病医療（山形県保健医療部発行）、1998

2. 学会発表

-Kimura and Kimura (1998) Expression of somatostatin 2A receptor in neuroendocrine tumors. Arch Anat Cyto Path Clin Exp. Path, 46: 366, 1998 (Nice)

-Kimura and Kimura (1998) Expression of somatostatin receptor 2A in neuroendocrine tumors. International J Molecular Medicine, 2; 125

G. 共同研究者

●関 晴朗、亀谷 剛、高橋健二、池野知康、守川 新人、仲島（国立療養所山形病院神経てんかんセンター）

●木村伯子（東北大学医学部病理学教室）

平成10年度 分担研究報告書

筋ジストロフィー遺伝子に関する研究

分担研究者 石原傳幸 国立療養所東埼玉病院 副院長

研究要旨：Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）の1/3はジストロフィン遺伝子の微小変異が原因となっている。DMD家系においては保因者診断に基づく遺伝相談は臨床重要な意義を持つが、微小変異が原因となったDMDの家系の保因者診断に関する報告は少なくその診断方法も確立していない。本研究ではジストロフィン遺伝子に微小変異を認めたDMD 7家系の12名の女性について、genomic DNAを直接塩基配列決定し保因者診断を行った。対象者のうち7家系のすべての母親は発端者と同じ変異と正常の塩基配列をもつヘテロ接合体であり保因者と診断できた。その他の対象となった女性5名のうち2名も同様に保因者と診断できた。本研究の結果より、微小変異が原因となったDMD家系の保因者診断には直接塩基配列決定法も有用な手段のひとつと考えられた。

研究目的

現在DMDの約30%の原因とされる微小変異を簡便にスクリーニングする技術はないが、患者からの生体試料を保存管理しておけばこれらの異常も将来の技術によって解明される可能性が高い。前年度までに凍結保存した脾臓が従来の遺伝子検査に使用できること、また微小変異の検出が直接塩基配列決定法にて可能であることを報告した。今年度は微小変異の保因者診断について検討する。

研究方法

対象は国立療養所東埼玉病院に入院中のDMD患者の7家系で、母親7名、姉妹4名、姪1名である。これらの家系の発端者に関しては既に微小変異を同定している。母親7名中3名はdefinite carrierであったが、残りの母親4名にはDMDの家族歴はなかった。対象者のDNAは末梢血リンパ球から抽出し精製した。genomic DNAの直接塩基配列決定には新たに設計したプライマーを用いた。PCR産物は精製後、Dye Primer法と自動シーケンサーを用いて直接塩基配列決定を行った。

研究結果

7家系の母親は全員保因者であることが確認できた。発端者の姉妹4名については2名が保因者と判断された。今回の保因者診断によりすべての母親が保因者と診断できたことから、DMDの遺伝歴のない4家系の突然変異は発端者のジストロフィン遺伝子に生じたのではなく、母親あるいはそれ以前の祖先のジストロフィン遺伝子に

生じたことが判明した。

考察

ジストロフィン遺伝子の変異が検出できない場合の保因者診断は種々のマーカーを使って連鎖解析が行われている。しかしその信頼度は必ずしも高くない。そこでわれわれはスクリーニングで欠失や重複が検出できないDMD家系について、直接塩基配列決定法を用いて保因者診断を行い、DMD 7家系の女性12名全員で正常と異常の塩基配列を持つヘテロ接合体であるか否かを判定して保因者診断を行うことができた。直接塩基配列決定法による保因者診断はgenomic DNAを試料とするため手技が比較的簡単で自動シーケンサー以外は特殊な機器を必要としないことから、広い臨床応用が可能であると考えた。

結論

今回の研究から従来のスクリーニングでジストロフィン遺伝子に変異を検出できないDMD家系の保因者診断には直接塩基配列決定法により微小変異を検出することが連鎖解析よりも信頼性の高い有力な方法であると考えられた。

論文発表

ジストロフィン遺伝子に微小変異を認めたデュシャンヌ型筋ジストロフィーの保因者診断 医療52;591-595、1998

分担研究報告書

二度の筋生検による病像変化に関する検討： 小児封入体筋炎の1例を通して

分担研究者 宮内 潤 国立小児病院研究検査科長
研究協力者 二瓶健次 国立小児病院神経科医長

研究要旨

我々は前回の班会議にて、筋生検を2回施行することは診断・治療の病像変化の経過を知る上で、また種々の筋疾患の病態を明らかにする上で臨床的に有益であることを報告した。今回、7歳時の筋生検で多発性筋炎と診断されたが、5年後に2度目の筋生検にて、小児では極めて稀な封入体筋炎を診断し得た1例を報告する。この症例は成人の封入体筋炎と臨床像が異なることから、病態解析を進める上で Research Resource Network の有用性を示す1例と考えられた。

A. 研究目的

封入体筋炎 (IBM) は、一般に中年期以降に発症し、慢性進行性の経過を示し、ステロイド剤による治療が無効なことが多いなどの特徴をもつ筋炎である。小児では稀な疾患であり、その病態は依然として不明な点が多い。今回我々は、多発筋炎を発症した後に、封入体筋炎の形で再び筋炎を発症した12歳男児例を経験し、筋生検を2回施行して見出した稀少症例を通して、Research resource Network の有用性について検討した。

B. 方法

【症例】12歳、男児。既往歴は妊娠・分娩歴を含め異常なし。家族歴に特記すべき事項なし。

現病歴：7歳時に感冒に罹患。2週間後に上肢挙上が困難となり、当科に初診。多発筋炎の精査・治療目的にて当科入院となった。入院中はガンマグロブリン大量療法、ステロイド投与にて、一旦は軽快した。その後もプレドニゾロン10mgから15mgの隔日投与を継続していた。筋力低下は遷延した。12歳時、走れなくなり、血清中のCK 9653 IU/L、Aldolase 120.8 IU/Lと上昇が認められ、ステロイドを増量するも軽快せず、今回、多発筋炎の再発について精査・加療目的にて入院となった。

入院時現症：体重32.1 Kg。身長141.2 cm。全身状態良好。一般内科的所見に異常なし。神経学的所見：意識は清明。精神遅滞なし。脳神経系は異常なし。深部腱反

射：両上・下肢とも消失。左右差なし。Babinski 反射なし。運動：動揺歩行であるが歩行は可能で、走ることは不可能。筋力は近位筋優位の筋力低下を認めた。感覚障害なし。検査所見：CK、Aldolase の高値。抗核抗体・抗DNA抗体・抗Jo-1 抗体は陰性。神経伝導速度：異常なし。筋生検：rimmed vacuole の形成を認め、電顕にて自己貪食空胞の出現と核内封入体を認めた。

入院後の経過：ガンマグロブリンを投与したが無効で、外来より継続していたプレドニンを3 mg/Kg/日に増量にて、血清CK値、Aldolaseは徐々に低値になり改善傾向を示した。しかし、徒手筋力テストは徐々に悪化し、体位変換、寝返りが自力できなくなり、L5の圧迫骨折を認めた。その後プレドニン20 mg/日の隔日投与まで減量し、血清CK、Aldolaseの増悪ないことを確認し、退院を許可し、外来でのリハビリを継続し、現在、体位変換時に上肢の補助が必要であるもの、歩行可能となり、筋力低下は軽快している。

C. 結果

1. 筋生検を2回施行し、多発筋炎を発症した後に、封入体筋炎の形で再び筋炎を発症した12歳男児例である。
2. 筋病理所見では、光顕的にrimmed vacuoleの形成を認め、電顕にて自己貪食空胞の出現と核内封入体を認めた。
3. 臨床的には成人型封入体筋炎とは異なり、ステロイドに反応性があった。

D. 考察

本例ではステロイドに反応性があり、rimmed vacuoleも成人型と異なった形態をとるので、成人型封入体筋炎と異なった発症機序がある可能性が示唆された。本来ならば、多発性筋炎の再発であると見落とされたかもしれない症例が、小児では稀な封入体筋炎であり、成人型と異なる経過を示したことは、興味あることであり、今後、さらに検討したい。臨床像の変化、再発、増悪などがみられる場合は、筋生検を再検することは重要である。2度目の生検で初めて組織診断ができる場合、病理像が変化する場合や病態が変化する場合などがみられた。再生検は慎重でなければならないが、本例のように5年という長い年月の後に再検することがあり、2回の病理像を比較検討することにより、成因解明や治療へのアプローチに有用であることがあるので、検体のバンク化、ネットワーク化は有用である。病態解明上、2度検査を行う可能性があり、検体のバンク化は意義があるものと考えられる。

E. 結論

病態解明、治療法の確立の上で、Research resource Networkは有用である。

F. 研究発表

(1) 論文

1. Miyauchi J: All-trans retinoic acid and hematopoietic growth factors regulating the growth and differentiation of blast progenitors in acute promyelocytic leukemia. *Leuk.*

Lymphoma 1999 (in press)

2. Miyauchi J: Hematopoietic growth factors and blast progenitors in acute leukemia. *Hematology* 2:435-458, 1998
 3. 宮内 潤: ATRA で分化した急性前骨髄球性白血病細胞の形態. 血液腫瘍科 36(3):250-257, 1998
 4. 有賀賢典、二瓶健次: 多発神経炎. 小児の治療指針 1999年 (in press)
 5. 松岡健太郎、宮内 潤: 大腸の海面状血管腫の1例. こども医療センター医学誌 27:246-247, 1998
 6. 宮内 潤、松岡健太郎、: 若年性慢性骨髄性白血病に若年性黄色肉芽腫を合併した1例. こども医療センター医学誌 27:249-250, 1998
 7. 松岡健太郎、宮内 潤: 肝内門脈形成不全を伴った特発性門脈圧亢進症の1例. こども医療センター医学誌 27:181-182, 1998
 8. 松岡健太郎、宮内 潤: 本態性血小板減少性紫斑病の治療後に閉塞性細気管支炎/器質化肺炎(BOOP)様の肺病変をきたした1例. こども医療センター医学誌 27:132-133, 1998
 9. 金城僚、佐伯守洋、中野美和子、黒田達夫、鳥飼源史、宮内 潤、松岡健太郎、東範行: 神経芽腫と網膜芽腫を合併した1男児例. 日本小児外科学会誌 34(5):921-925, 1998
 10. 松岡健太郎、宮内 潤: P-ANCA 関連糸球体腎炎の1例. こども医療センター医学誌 27:55-56, 1998
- (2) 学会発表
1. Shen L, Miyauchi J, Matsuoka K, Tsunematsu Y, Saeki M, Honna T, Mizutani S: Immunohistochemical demonstration of the negative cell cycle regulators p16^{INK4}, p27^{KIP1} and retinoblastoma protein in pediatric cancers. 30th meeting of the International Society of Pediatric Oncology (October 4-8, 1998, Yokohama)
 2. Matsuoka K, Miyauchi J, Tsuchida Y, Honna T, Oka T, Bessho F, Hayashi Y, Hirato J, Ikeda H: Evaluation of histopathological findings in neuroblastoma after intensive induction chemotherapy. 30th meeting of the International Society of Pediatric Oncology (October 4-8, 1998, Yokohama)
 3. Masaki H, Saeki M, Honna T, Tsunematsu Y, Miyauchi J: Intraoperative radiation therapy (IORT) for neuroblastoma. 30th meeting of the International Society of Pediatric Oncology (October 4-8, 1998, Yokohama)
 4. 宮内 潤、松岡健太郎: 細胞周期制御因子 p16、p27 および pRB の小児固形がんにおける局在の免疫組織化

学的研究. 第87回日本病理学会総会
(1998年4月14-16日、広島)

5. 有賀賢典、鈴木葉子、越智友子、内藤春子、二瓶健次、埜中征哉：非福山型先天性筋ジストロフィーの1例. 関東小児神経学会関東地方会
6. 松岡健太郎、宮内 潤、清水興一：肺動静脈瘻が疑われた門脈狭窄の一部検例. 第18回日本小児病理研究会(1998年8月1日、福岡)
7. 大石芳久、熊谷昌明、長谷川有紀、塩田曜子、松岡健太郎、宮内 潤、番場正博、恒松由記子：Wiskott-

Aldrich症候群の経過中に15才で非ホジキンリンパ腫を併発した1例. 第40回日本小児血液学会総会(1998年9月18-19日、広島)

8. 熊谷昌明、森鉄也、塩田曜子、坂巻豊教、松岡健太郎、宮内 潤、恒松由記子：CPM+THP-ADR+VCR, IFO+VP-16による化学療法とBu+L-PAMを前処置とした自家骨髄移植が奏功した中足骨原発Ewing肉腫多発骨転移例. 第14回日本小児がん学会総会(1998年10月19-20日、札幌)

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

CROW-FUKASE 症候群のBrain Bank による組織化学・免疫・凝固学的研究

分担研究者 齋田 孝彦 国立療養所宇多野病院長

研究要旨

未治療の初期のCROW-FUKASE症候群5例の生検神経の検索で、血管内皮細胞の早期の変化と血小板の付着異常、特に小血管へのthrombin-anti-thrombin complex(TAT)の沈着などが認められた。血清VEGFの高値と凝固因子の異常も認められ、それらが関与する血管病変が本病の初期の変化として重要であることを発見した。

国立療養所宇多野病院 齋田孝彦 川上秀史
岩村京子
国立療養所西奈良病院 齋田恭子

A. 研究目的

Multiple Myeloma, Plasmacytoma, Benign Monoclonal Gammopathy に polyneuropathy が合併することはそれまでに報告されてきた。1968年深瀬、西谷らにより subacute sensori-motor polyneuropathy に IgG lambda 型 monoclonal gammopathy、皮膚色素沈着 (acanthocytosis nigricance)、浮腫、肝脾腫、糖尿、amenorrhea があり、solitary plasmacytoma を摘出することにより末梢神経障害や内分泌症状が改善した症例が報告された。さらに本邦では厚生省研究班で中西らにより102例がまとめられてCrow-Fukase症候群として報告されている。以来欧米、中国、南米、インド人での報告があるが、症例数は本邦に特に多い難病である。病原因子や人種、環境と関連の研究が待たれる。末梢神経では脱髄と軸索変性、T細胞浸潤があり、血清ではIL-6,TNF-alphaの高値、凝固因子異常が報告されている。近年血管透過性亢進因子であるvascular endothelial growth factor(VEGF)の血清中での著名な上昇が発見され、浮腫のみでなく末梢神経障害原因物質である可能性も考察され注目されている。

我々はまた免疫、凝固系の異常につき検索した。

B. 研究方法

(1) 患者は1985年以来国立療養所宇多野病院でBrain Bankを利用し、発症3ヶ月以内の早期に神経生検を行った未治療の5症例。光顕的・電顕的検索を行った。(2) 神経および皮膚の組織

化学は凍結切片にてLAB法で行った。抗体は殆どDACOより購入した。(3) 患者の血清ではELISA法にてIL-1,IL-2,IL-6,TNF-alpha およびGM1, GM2, GD1a, GD1b, sulfatide, Gal-Cer, MAG 抗体を測定した。凝固因子とホルモン測定はSRL co.で行った。血清中でのvascular endothelial growth factor(VEGF)測定はELISA法キットを用いて施行した。(4) 患者は症例により predonine, melphalan, irradiation, INF-alpha あるいは抗thrombin 製剤で治療した。

C. 結果

(1) 神経生検：神経内鞘内の毛細血管の狭小化、閉塞が共通して認められた。毛細血管径の定量で統計的に有意な現象が認められた。毛細血管の60%に閉塞ないし狭小化がみとめられる。そうした部位には血小板の付着や免疫染色でthrombin-anti-thrombin complex(TAT)やトロンビンの付着が認められた。

血管への細胞浸潤や小血管周囲への細胞浸潤がみられた。免疫染色ではほとんどがCD68+, HLA-DR+のマクロファージである。

電顕的検索で特徴的脱髄である髄鞘層間の腫脹がみとめられた。軸索変性編成も認める。

(2) 免疫組織化学：TATは一部の神経外、周および内鞘、皮膚血管腫の小血管に沈着していた。浸潤細胞、髄鞘あるいはその周囲のSchwann細胞はHLA-DR+であった。神経内鞘および皮膚血管腫周辺の間質はIgG、IgM、C3、fibrin抗体陽性であった。IgG monoclonal gammopathyのある患者血清をコントロール神経にかけ抗lambda抗体を作用させると髄鞘と内鞘が染まりblood-brain barrierの破綻の存在が確認された。

(3) 凝固因子：5例全てでVEGFの上昇を認め

た。thrombin-anti-thrombin complex(TAT)、fibrinogen、fibrinopeptide A は浮腫のある患者では増加していた。

(4) 血清抗体：Galactocerebrosideおよびsulphatide 抗体2/4、1/4で少量増加していたが、他のGM1, GM2, GD1a, GD1b, MAG 抗体は測定された症例では正常であった。

(5) サイトカイン：患者血清中のIL-1alpha & beta, IL-2, IL-6, TNF-alpha は5/5で正常範囲内であった。未治療であったが、どの患者も浮腫が強い病極期ではなかった。コントロールのリウマチ患者は高値をしめした。

(6) 臨床：患者は研究期間のいずれかの時期に次の症状を示した。すなわちpolyneuropathy 5/5, hemangioma like skin lesions 3/5, edema 5/5, pigmentation 5/5, hepato-with or without splenomegaly 3/5, hypertrichosis 2/5, bone lesions 3/5, nephropathy 2/5, 軽度のhypothyroidism 2/5である。IgGk gammopathy 2/5, IgG1 1/5, IgA1 1/5, polyclonal 1/5, nerve conduction slowing(MCV 4/5, SCV5/5)、CSFの蛋白上昇は5/5の見られ、LgG indexは4人で0.7-1.0で、細胞数殆ど増加していなかった。

(7) 治療：患者はその後predonine単独治療には十分に反応しなかった。次にmelphalanを試用した。抗トロンビン製剤は神経症状や浮腫を改善するようには見えなかったが、CSFやNCVは変化しなかった。INF-alpha 追加後1-2カ月で3/5人の患者では諸症状が改善され、CSFやNCVのデータも改善した。

D. 考案

初期のCROW-FUKASE症候群で末梢神経の生検を実施しえた5例をBrain Bank を利用し初期の血管病変と凝固系の変化に注目して検索した。初期の末梢神経には脱髄、軸索変性と血管周囲への細胞浸潤があるが、そうした血管にはthrombin-anti-thrombin complex(TAT)の沈着があったことは、VEGFや血管内皮細胞の異常や血清にみられた凝固因子異常と併せて、この疾患の臨床症状発現に小血管における凝固異常が関与していることを強く示唆している。神経内鞘でのIgG、IgM、C3、fibrin 抗体陽性所見は末梢神経内の血管神経バリアーが破壊されていることを示している。

抗lambda 抗体を作用させると髄鞘が染まったこと、また浸潤細胞、髄鞘あるいはその周囲のSchwann 細胞はHLA-DR+などを併せて考えると、この疾患には少なくとも幾つかの要因が関与していると考えられる。

我々の症例の血清ではIL-6の上昇がみられなかった。高値を示したコントロールのリウマチ患者が浮腫や内分泌異常などを示さないことは、IL-6の高値のみがこの疾患の病因に関与しているのではないと考えられる。治療はplasma cell dysplasia に対するpredonine、melphalan、IFN-a に加え、凝固異常にたいしては抗トロンビン製剤が効果があると考えられるが、さらに検討をようする。

F. 結論

未治療の初期のCROW-FUKASE症候群5例の生検神経の検索で、血管内皮細胞の早期の変化と血小板の付着異常、特に小血管へのthrombin-anti-thrombin complex(TAT)の沈着などが認められた。血清VEGFの高値と凝固因子の異常も認められ、それらが関与する血管病変が本病の初期の変化として重要と考えられる。

F. 研究発表

1. Saïda K, Ohta M, Kawakami H, Saïda T: Cytokines and myelin antibodies in Crow-Fukase syndrome. Muscle & Nerve, 19: 1620-1622, 1996.

2 Saïda K, Kawakami H, Ohta M, Iwamura K: Coagulation and vascular abnormalities in Crow-Fukase syndrome. Muscle & Nerve, 20: 486-492, 1997.

生検および剖検資料を用いた神経・筋疾患の遺伝子解析に関する研究

分担研究者 高橋 桂一 国立療養所兵庫中央病院 院長

研究要旨：神経筋疾患の原因は未だ不明の疾患が多く、また遺伝性のものが少なくない。原因の解明や遺伝相談を的確に行うためには、生検や剖検でえられた資料を適当な条件下で保存し、日進月歩の技術により解析し、患者やその家族に還元することが重要である。当院のRRN登録の現状と高CK血症の遺伝子解析例を例示し、考察した。

A. 研究目的

神経筋疾患には原因の未だ不明の疾患が少なくない。学術の進歩により、既に死亡した症例の原因が保存資料の存在により解明され、また遺伝相談をより正確に行うことが可能となる。当院のResearch Resource Network(RRN)への登録の現状と解析例を述べる。

B. 研究方法

生検および剖検資料のRRNへの登録を行う。保存生検筋の免疫組織化学と患者DNAの解析を行う。

C. 研究結果

1)登録の現状

平成11年1月現在で剖検脳および脊髄7例、生検筋34例を登録した。

2)高CK血症のため精査目的で来院する例は少なくないがその原因の解明は必ずしも容易ではない。遺伝性ミオパチーあるいはその保因者、炎症性、中毒性、代謝性、薬物性など種々の原因がある。ここではその一例を報告する。

症例：15歳女性、14歳時に血清GOT、GPTの高値のため肝機能障害を疑われて入院治療を受け、翌年高CK血症があることが判り、当院へ紹介された。現症は軽度の肥満があり、筋力はほぼ正常であり、心肥大はなかった。家族歴および既往に特記すべきものなし。検査では血清CKは7585(MM 97.5, MB 2.5%), LDH 1189, GOT 125, GPT 133, γ -GTP 5 IU/l, Cr 0.75, Crn 0.4 mg/dl, 尿 Cr 0.8, Crn 39.9 mg/dlでミオパチーを示唆した。左四頭筋で行った筋生検ではHE染色で極一部に壊組織維があり、貪食細胞の浸潤を認めた。Novo Castra社のジストロフィンのモノクローナル抗体によるABC染色ではC端, rod domain, N端(exon10-12のエピトープを認識)でいずれも正常で、モザイク像や濃淡はなく、DMD/

BMDの保因者の典型所見ではなかった。血球より得たDNAのサザンプロットではexon1-11領域で8,9のバンドが正常よりやや薄く、患者で異常バンドが認められた。8,9 exonの点変異を考え検討したが、結論が得られなかった。この異常バンドに再注目し、制限酵素を変えて、再検討した。やはりHin dIIIでは患者で3.7Kbに異常バンドが確認され、Eco RIでは正常と同じ8および9 exonが認められ、Hin dIII/SphIでは正常と同じバンドに加えて2.7Kbの異常バンドが認められた。この結果SphIによる切断部位より2.7Kb上流で、Hin dIIIの3.7Kb上流のそれに一致する塩基番号109,100の前後にprimerを設定し、PCRを行った。サブクローニング後直接シーケンシングを行った。その結果患者では塩基番号109,097~109,099の3塩基が欠失し、AAGCTTなるHin dIIIの切断部位が新たに形成された結果による異常バンドが出現することが明らかとなった。

D. 考察

この症例の欠失部位はイントロン7であり、多形性の解明は出来たが直接ミオパチーをきたす証拠にはならない。この異常のためスプライシングの異常をもたらす可能性はあるが、現時点で確証はない。来院時より約10年が経過し、筋力低下が進行している。筋CTでも萎縮の進行が見られる。作られたジストロフィンの質的あるいは量的異常はないのか、他の膜構成物の異常はないのか更に検討を要する結果となった。

E. 結論

稀少例や原因不明の疾患はその資料を適当な条件下で保存し、必要に応じて共同研究をして解明することが重要である。その意味でもRRNの果たす役割は大きい。

刊行論文

論題

Loss of catecholaminergic neurons in the medullary reticular formation in myotonic dystrophy

雑誌名 巻号頁 年
NEUROLOGY 51:1121-1124,1998

執筆者氏名
S.Ono
K.Takahashi
K.Jinnai
et al

Collagen abnormalities in the spinal cord from patients with amyotrophic lateral sclerosis

J Neurol Sci 160:140-147,1998

S.Ono
T.Imai
S.Munakata
K.Takahashi
et al

Fatal liver cirrhosis and esophageal variceal hemorrhage in a patient with type IIIa glycogen storage disease

Internal Medicine
37:1055-1057,1998

S.Okuda
F.Kanda
K.Takahashi
et al

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
精神・神経疾患リサーチリソースネットワーク研究報告書

精神・神経リサーチリソースネットワーク (RRN) の運用と RRN データベースの現況
RRN 委員会委員長 渋谷統寿 国立療養所川棚病院長

研究要旨

HOSPnet 内のイントラネットとして WWW ブラウザーを利用した精神・神経 RRN を構築し、RRN システムの運用規程の作成を行った。平成 10 年 4 月に RRN データベース手順書を作成し 7 月に RRN 認証のための新しいユーザ ID、パスワードを配付し、RRN データベースの運用を開始した。平成 10 年 12 月 25 日現在で剖検登録は 313 例、生検登録は 497 例である。RRN がスタートとして約 5 ヶ月であるが着実に症例が集積されつつあり、RRN データベースを活用した脳科学研究の進展が期待される。

RRN 委員会

高嶋幸男	国立精神・神経センター 武蔵病院臨床検査部長
埜中征哉	国立精神・神経センター 武蔵病院院長
後藤雄一	国立精神・神経センター 神経研究所室長
巻淵隆夫	国立療養所犀潟病院 研究検査科長

A. 研究目的

国立医療機関における精神・神経科学研究を支援する精神・神経 RRN システムを構築し、生検・剖検データベースが有効に利用出来るネットワーク環境を整えることを目的とした。

B. 研究方法

RRN システム運用に向けて利用手順書を作成し、RRN 認証のためのユーザ ID、パスワードを配付し、RRN データベースの構築を開始した。また RRN システム運用規程を作成し運用体制・管理体制を整えた。そして WWW を利用し RRN データベースの現況を調査した。

C. 研究結果

① RRN システム運用体制

システム運用規程を作成し運用管理体制を確立した。すなわち RRN システムの運用・管理はネットワーク委員会で行うが、ネットワーク委員会のもとにシステム管理者および生検と剖検のデータベ

ース管理者を置き、RRN システムが円滑に行える体制とした（図 1）。また剖検、生検、ネットワーク、倫理等に関するワーキンググループを設け、RRN システムの専門委員として管理・運営上の諸問題の解決に当たることを定めた。

② RRN データベースの現況

本研究への参加は国立医療機関 22 施設である。平成 10 年 12 月 25 日現在の RRN データベース登録数は生検が 6 施設から 497 例で、剖検が 14 施設から 313 例である（表 1）。登録された主な疾患は生検データとして筋ジストロフィー 165 例（デュシャン型 37 例、肢帯型 36 例、ベッカー型 30 例、筋緊張型 24 例、顔面肩甲上腕型 12 例、その他 27 例）、炎症性ミオパチー 67 例（多発性筋炎 49 例、皮膚筋炎 9 例、封入体封炎 9 例）、ミトコンドリア脳筋症 61 例、先天性ミオパチー 58 例、悪性高熱 19 例など 79 疾患の 497 例である（表 2）。

剖検データとして登録された主要な診断名は内側側頭葉硬化 34 例、筋萎縮性側索硬化症 22 例、精神分裂症 14 例、アルツハイマー病 10 例、進行性核上性麻痺 10 例など 82 疾患の 313 例である（表 3）。

D. 考察

国立医療機関における精神・神経科学研究を効率的かつ効果的に推進するには HOSPnet Work System を利用して貴重な症例を集積していく必要がある。そこで平成 9 年度に HOSPnet 内のイントラネット

として精神・神経 RRN システムを構築し、RRN データベースの共同利用へ向けての要件定義と条件整備を行った。

平成 10 年 7 月 RRN ユーザー ID とパスワード並びに利用手順書を配付し RRN システム運用を開始した。平成 10 年 12 月に精神・神経 RRN システム運用規程を作成したことにより運用・管理体制が確立した。

平成 10 年 10 月に本研究参加の 2 2 施設に対し登録予定症例数についてのアンケート調査を行った。アンケート調査では生検登録予定は 9 7 0 例、剖検登録予定は 5 1 9 例であった。平成 10 年 12 月 25 日現在での RRN データベースは生検登録が 3 1 3 例、剖検登録が 4 9 7 例で、それぞれアンケート調査の 6 0 % と 5 1 % に過ぎない状態であり未登録施設からの早い登録が望まれる。

RRN システムについては WWW ブラウザーの検索機能に改善すべき項目がいくつかみられた。例えば全検索が出来ないこと、登録番号の一覧が表示されず重複登録のチェックが出来ないこと、検索および情報の供与の一覧がとれないことなどである。また今後の運用においても登録病名が必ずしも臨床・病理診断名 (ICD 1 0 コードに準拠) に基づいていないことなど早期に解決すべき要件もいくつかあり今後の課題である。

現在、RRN システムは本研究参加の 2 2 施設で試験的に運用されているが、RRN システムには HOSPnet に接続されているすべての PC 端末からアクセスが可能であるので将来的にはすべての国立医療機関が RRN に参加できるよう条件整備が必要である。RRN システムが国立医療機関の共同財産として利用され脳・神経科学研究が飛躍的に進展するような体制の整備が望まれる。

E. 結論

精神・神経 RRN システムが完成し、WWW ブラウザーを利用した RRN 認証から登録、検索が可能となった。生検・剖検の登録症例も着実に集積されつつあり、今後の脳・神経科学研究のツールとして役立つものと期待される。集積された精

神・神経 RRN データベースが国立医療機関の共同財産として発展し運用されるように今後の整備が望まれる。

図 1. 管理運用体制図

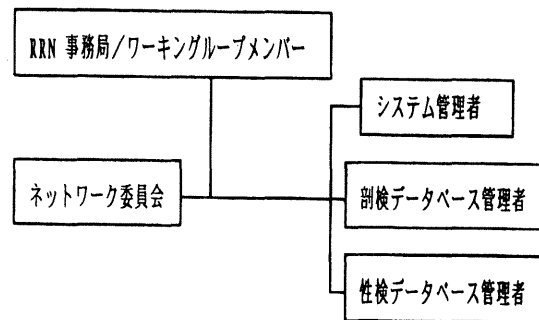


表 1. 精神・神経 RRN データベース登録数 (施設別) 1998 年 12 月 25 日現在

病院名	剖検	生検
国立精神・神経センター	129	447
国立療養所静岡東病院	48	0
国立肥前病院	24	0
国立療養所東名古屋病院	23	0
国立療養所宮城病院	20	1
国立療養所南岡山病院	16	0
国立下総療養所	11	0
国立療養所川郷病院	10	10
国立療養所東埼玉病院	9	3
国立療養所厚労病院	8	0
国立療養所兵庫中央病院	7	34
国立療養所中部病院・長寿医療研究センター	5	0
国立療養所山形病院	2	0
国立療養所道北病院	1	2
国立療養所八雲病院	0	0
国立小児病院	0	0
国立療養所宇多野病院	0	0
国立療養所下志津病院	0	0
国立札幌病院	0	0
国立療養所久米浜病院	0	0
	313例	497例

表2. 主な生検登録

1998年12月25日現在

診断名	登録数	内訳
1. Muscular Dystrophy	165	
Duchenne		37
LG		36
Becker		30
Myotonic		24
FSH		12
Fukuyama		11
non-Fukuyama		10
Distal		1
Miyoshi		1
Other	3	
2. Inflammatory myopathy	67	
PM		49
DM		9
IBM		9
3. Mitochondrial Encephalomyopathies	61	
MELAS		7
CPEO		11
Leigh		8
MERRF		2
Others	23	
4. Congenital Myopathy	58	
Nemaline		3
CFTD		10
Myotubular		8
Central core		7
Other		9
5. Malignant hyperthermia	19	
6. High CK	17	
7. SPA	13	
type II		9
type III	4	
8. ALS	8	
9. X-linked bulbospinal neuropathy	7	
10. Arthrogyposis multiplex congenita	6	
11. その他 49 疾患	76	
総計	497	

表3. 主な剖検データ

1998年12月25日現在

診断名	剖検登録
Mesial temporal sclerosis	34
Amyotrophic lateral sclerosis	22
Schizophrenia	14
Alzheimer's disease	10
Progressive supranuclear palsy	10
DRPLA	9
Cortical dysplasia	8
Duchenne muscular dystrophy	8
Intracerebral hemorrhage	8
Parkinson disease	6
Fukuyama type congenital muscular dystrophy	5
Holoprosencephaly	5
Hypoxic-ischemic encephalopathy	5
Myotonic dystrophy	5
Spinocerebellar degeneration	5
Trisomy 18	5
Diffuse Lewy body disease	4
Multiple system atrophy	4
その他 64 疾患	150
総計	313

筋疾患における DNA 傷害の検出および病態への関与について

分担研究者 岩崎祐三 国立療養所宮城病院長

研究要旨

筋疾患および正常筋 14 例の凍結筋組織を用い、in situ Nick Translation 法により Single-Strand Breaks (SSB) の検出を試み、DNA 傷害の病態への関与について検討した。SSB は黒色銀粒子として認められ、炎症性筋疾患である PM、IBM のみならず OPMD においても著明な増加が認められた。また、OPDM においても軽度増加が認められたが、神経原性疾患である ALS や正常筋では SSB 増加は認められなかった。SSB 増加は、DNA 損傷および DNA 修復障害を示しており、これらが病態に関与している可能性が示唆された。

飛田宗重、岩崎祐三
国立療養所宮城病院神経内科

A. 研究の目的及び意義

近年、炎症性疾患における神経・筋細胞の変性機序に DNA 修復障害が関与している可能性が指摘されるようになった。我々は既に、HTLV-1 associated myelopathy (HAM) 脊髄において脊髄実質細胞および血管周囲、髄膜周囲の一部で SSB 増加が著明であり、炎症性脊髄病変での SSB 増加と病態機序との関連性について報告した (Tobita et al, 1999)。今回は、筋疾患において DNA 傷害の検出を試み、病態への関与について検討した。

B. 研究方法

筋疾患および組織学的に正常と診断された 14 例の凍結生検筋組織を用いた。内訳は polymyositis (PM) 3 例、inclusion body myositis (IBM) 1 例、oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) 2 例、oculopharyngodistal myopathy (OPDM) 1 例、MELAS 1 例、limb girdle

muscular dystrophy (LGMD) 2 例、ALS 2 例、正常筋 2 例である。凍結筋組織を 10 μ に薄切し既に報告した in situ Nick Translation 法 (Tobita et al, 1995) により Single-Strand Breaks (SSB) の検出を試みた。

C. 研究結果

(1) 本研究に先立ち、炎症性胃粘膜病変を用いて DNA 傷害の定量的評価に関して予備実験を施行し、本法により DNA 傷害の定量的評価が可能であること、SSB 増加の程度は炎症の程度及び細胞傷害の程度と相関することを示した (Yabuki et al, 1997)。

(2) SSB は黒色銀粒子として認められ、炎症性筋疾患である PM、IBM のみならず OPMD においても著明な増加が認められた。PM においては、再生線維および浸潤単核球、壊死線維で SSB 増加が著明だった。IBM では、再生線維、壊死線維、小角化線維、正常と思われる筋線維で SSB 増加が認められた。OPMD では、小角化線維、正常と思われる筋線維で SSB 増加が認められた。また、OPDM においても軽度増加が認められたが、LGMD、ALS、